



HAL
open science

Le développement de l'insémination artificielle chez le vison d'Europe (*Mustela lutreola*) : intérêt de l'utilisation du furet domestique (*Mustela putorius furo*) comme modèle

Morgane Vauthier

► To cite this version:

Morgane Vauthier. Le développement de l'insémination artificielle chez le vison d'Europe (*Mustela lutreola*) : intérêt de l'utilisation du furet domestique (*Mustela putorius furo*) comme modèle. Médecine vétérinaire et santé animale. 2020. dumas-04826328

HAL Id: dumas-04826328

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04826328v1>

Submitted on 9 Dec 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Copyright

Année 2020

**LE DÉVELOPPEMENT DE L'INSÉMINATION ARTIFICIELLE
CHEZ LE VISON D'EUROPE (*MUSTELA LUTREOLA*) :
INTÉRÊT DE L'UTILISATION DU FURET DOMESTIQUE
(*MUSTELA PUTORIUS FURO*) COMME MODÈLE
EXPÉRIMENTAL**

THÈSE

pour obtenir le diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)

le 10 décembre 2020

par

Morgane Mielle VAUTHIER

sous la direction de

Alain FONTBONNE

Président du jury : M. Claude SOUSSY

1^{er} Assesseur : M. Alain FONTBONNE

2nd Assesseur : M. Pascal ARNÉ

Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL

Professeur à l'EnvA

Maître de Conférences à l'EnvA

Liste des membres du corps enseignant



Directeur : Pr Christophe Degueurce
Directeur des formations : Pr Henry Chateau
Directrice de la scolarité et de la vie étudiante : Dr Catherine Colmin
Directeurs honoraires : MM. les Professeurs C. Pilet, B. Toma, A.-L. Parodi, R. Moraillon, J.-P. Cotard, J.-P. Mialot & M. Gogny

Département d'Élevage et de Pathologie des Équidés et des Carnivores (DEPEC)

Chef du département : Pr Grandjean Dominique - **Adjoint** : Pr Blot Stéphane

<p>Unité pédagogique d'anesthésie, réanimation, urgences, soins intensifs</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Fernandez Parra Rocio, Maître de conférences associée - Pr Verwaerde Patrick* <p>Unité pédagogique de clinique équine</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Audigé Fabrice - Dr Bertoni Léila, Maître de conférences - Dr Bourzac Céline, Chargée d'enseignement contractuelle - Dr Coudry Virginie, Praticien hospitalier - Pr Denoix Jean-Marie - Dr Giraudet Aude, Praticien hospitalier - Dr Jacquet Sandrine, Praticien hospitalier - Dr Mespoulhès-Rivière Céline, Praticien hospitalier* - Dr Moiroud Claire, Praticien hospitalier - Dr Tanquerel Ludovic, Chargé d'enseignement contractuel <p>Unité pédagogique de médecine et imagerie médicale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Benchekroun Ghita, Maître de conférences - Pr Blot Stéphane* - Dr Canonne-Guibert Morgane, Maître de conférences - Dr Freiche-Legros Valérie, Praticien hospitalier - Dr Maurey-Guénéac Christelle, Maître de conférences 	<p>Unité pédagogique de médecine de l'élevage et du sport</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Cabrera Gonzales Joaquin, Chargé d'enseignement contractuel - Dr Fontbonne Alain, Maître de conférences - Pr Grandjean Dominique* - Dr Hoummady Sara, Chargée d'enseignement contractuelle - Dr Maenhoudt Cindy, Praticien hospitalier - Dr Nudelmann Nicolas, Maître de conférences - Dr Ribeiro dos Santos Natalia, Praticien hospitalier <p>Unité pédagogique de pathologie chirurgicale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Decambon Adeline, Maître de conférences - Pr Fayolle Pascal - Dr Manassero Mathieu, Maître de conférences - Pr Viateau-Duval Véronique* <p>Discipline : cardiologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Chetboul Valérie - Dr Saponaro Vittorio, Praticien hospitalier <p>Discipline : ophtalmologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Chahory Sabine, Maître de conférences <p>Discipline : nouveaux animaux de compagnie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Pignon Charly, Praticien hospitalier - Dr Volait Laetitia, Praticien hospitalier
--	--

Département des Productions Animales et de Santé Publique (DPASP)

Chef du département : Pr Millemann Yves - **Adjoint** : Pr Dufour Barbara

<p>Unité pédagogique d'hygiène, qualité et sécurité des aliments</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Bolnot François, Maître de conférences - Pr Carlier Vincent - Dr Gauthier Michel, Maître de conférences associé - Dr Mtimet Narjes, Chargée d'enseignement contractuelle <p>Unité pédagogique de maladies réglementées, zoonoses et épidémiologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Crozet Guillaume, Chargé d'enseignement contractuel - Pr Dufour Barbara* - Pr Haddad/Hoang-Xuan Nadia - Dr Rivière Julie, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de pathologie des animaux de production</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Adjou Karim - Dr Belbis Guillaume, Maître de conférences* - Dr Delsart Maxime, Maître de conférences associé - Pr Millemann Yves - Dr Plassard Vincent, Praticien hospitalier - Dr Ravary-Plumioën Bérandère, Maître de conférences 	<p>Unité pédagogique de reproduction animale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Constant Fabienne, Maître de conférences* - Dr Denis Marine, Chargée d'enseignement contractuelle - Dr Desbois Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - Dr Mauffré Vincent, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de zootechnie, économie rurale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Arné Pascal, Maître de conférences - Dr Barassin Isabelle, Maître de conférences - Pr Bossé Philippe* - Dr De Paula Reis Alline, Maître de conférences - Pr Grimard-Ballif Bénédicte - Pr Ponter Andrew <p>Rattachée DPASP</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Wolgust Valérie, Praticien hospitalier
--	---

Département des Sciences Biologiques et Pharmaceutiques (DSBP)

Chef du département : Pr Desquilbet Loïc - **Adjoint** : Pr Pilot-Storck Fanny

<p>Unité pédagogique d'anatomie des animaux domestiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Boissady Emilie, Chargée d'enseignement contractuelle - Pr Chateau Henry - Pr Crevier-Denoix Nathalie - Pr Robert Céline* <p>Unité pédagogique de bactériologie, immunologie, virologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Boulouis Henri-Jean - Pr Elloit Marc - Dr Lagrée Anne-Claire, Maître de conférences - Pr Le Poder Sophie - Dr Le Roux Delphine, Maître de conférences* <p>Unité pédagogique de biochimie, biologie clinique</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Bellier Sylvain* - Dr Deshuillers Pierre, Maître de conférences - Dr Lagrange Isabelle, Praticien hospitalier <p>Unité pédagogique d'histologie, anatomie pathologique</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Cordonnier-Lefort Nathalie, Maître de conférences - Pr Fontaine Jean-Jacques - Dr Laloy Eve, Maître de conférences - Dr Reyes-Gomez Edouard, Maître de conférences* <p>Unité pédagogique de management, communication, outils scientifiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme Conan Muriel, Professeur certifié (Anglais) - Pr Desquilbet Loïc, (Biostatistique, Epidémiologie) - Dr Legrand Chantal, Maître de conférences associée - Dr Marignac Geneviève, Maître de conférences* - Dr Rose Hélène, Maître de conférences associée <p>* responsable d'unité pédagogique</p>	<p>Unité de parasitologie, maladies parasitaires, dermatologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Blaga Radu, Maître de conférences (rattaché au DPASP) - Dr Briand Amaury, Assistant d'Enseignement et de Recherche Contractuel (rattaché au DEPEC) - Dr Cochet-Faivre Noëlle, Praticien hospitalier (rattachée au DEPEC) - Pr Guillot Jacques* - Dr Polack Bruno, Maître de conférences - Dr Risco-Castillo Veronica, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de pharmacie et toxicologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Kohlhauer Matthias, Maître de conférences - Dr Perrot Sébastien, Maître de conférences* - Pr Tissier Renaud <p>Unité pédagogique de physiologie, éthologie, génétique</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Chevallier Lucie, Maître de conférences (Génétique) - Dr Crépeaux Guillemette, Maître de conférences (Physiologie, Pharmacologie) - Pr Gilbert Caroline (Ethologie) - Pr Pilot-Storck Fanny (Physiologie, Pharmacologie) - Pr Tiret Laurent (Physiologie, Pharmacologie)* - Dr Titeux Emmanuelle (Ethologie), Praticien hospitalier <p>Discipline : éducation physique et sportive</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. Philips Pascal, Professeur certifié
--	--

Professeurs émérites : Pr Combrisson Hélène, Pr Enriquez Brigitte, Pr Panthier Jean-Jacques, Pr Paragon Bernard.

Remerciements

A M. Claude SOUSSY, Président du Jury de cette thèse et Professeur à la Faculté de Médecine de Créteil,

Un immense merci pour avoir accepté de présider le Jury de cette thèse.

A M. Alain FONTBONNE, Professeur à l'EnvA,

Merci infiniment de m'avoir proposé ce sujet si intéressant. Cela m'a confirmé que je voulais travailler dans la conservation mais d'une manière bien plus concrète. Merci pour tous vos conseils, pour votre patience, pour votre disponibilité malgré votre emploi du temps si complet. J'espère vivement que nous pourrons mener ce projet à bien et qu'il y en aura d'autres ensuite.

A M. Pascal ARNÉ, Maître de conférences à l'EnvA,

Mes plus sincères remerciements pour avoir accepté de relire ma thèse. Merci encore pour votre rapidité et votre rigueur, malgré la période bien chargée. J'espère que vous ferez partie de ce projet lorsqu'il sera enfin possible de le réaliser. Et merci aussi pour tout ce que vous faites pour la faune sauvage. Le CEDAF fut très formateur pour moi.

A Mmes Christelle BELLANGER, Cheffe de projet appui scientifique et développement à l'Office Français de la Biodiversité et à la Direction Régionale Nouvelle Aquitaine, et Laurie BERTHOMIEU, Docteur vétérinaire à Zoodyssee,

Mes plus vifs remerciements pour avoir été si disponibles et passionnées par ce sujet. Merci pour tous les appels où vous vous êtes rendues disponibles malgré vos emplois du temps bien chargés, vous avez fortement contribué à développer ma passion pour ce petit Carnivore. J'espère sincèrement que notre projet verra le jour, je suis toujours autant motivée. A très bientôt !

A mes parents,

Cela n'est pas la soutenance de thèse dont nous avons rêvé mais je sais que vous serez avec moi. Vous êtes mon plus grand soutien, depuis toujours. Vous avez même cru bien plus en moi à certains moments que moi. Je n'aurais pu être Docteur Vétérinaire sans vous, c'est certain. Merci encore pour tout, vous êtes les meilleurs parents du monde, je vous aime profondément. On fêtera ça à Noël ! Et je croise les doigts pour qu'on ait une vraie remise de diplôme un jour.

A ma sœur,

Heureusement que la vie m'a donné une petite sœur. Cela aurait été si triste, si vide sans toi. Sache que tu deviens une jeune femme extrêmement talentueuse et pleine de qualités (en plus d'avoir les mêmes animaux que moi). J'ai hâte d'être à ta remise de diplôme (parce que ça sera redevenu à la normale d'ici-là, ok), hâte de te voir t'épanouir dans cette voie qui est faite pour toi. Je n'aurais pu rêver meilleure sœur. Même si on ne se le dit jamais, je t'aime ma Nanamoon.

A mon papi,

Il y a tellement de choses pour lesquelles je te remercie. Tu es toujours derrière moi et je n'aurais pu devenir Docteur Vétérinaire sans toi, c'est sûr. Merci pour tous les stages, les contacts et le soutien que tu m'apportes depuis toujours. Merci infiniment d'être mon papi. Merci aussi encore pour La Réunion. Une escapade dont j'avais énormément besoin à ce

moment-là. Je sais que tu seras derrière moi pour la soutenance. On fêtera ça au plus vite ! Fais attention à toi. Je t'embrasse fort !

A Tonton, Tata & Lohé,

Merci pour tout votre soutien, pour tous vos conseils sur tout. On ne se voit pas assez souvent mais c'est toujours de super moments. La famille c'est important ! Et vous l'êtes énormément pour moi. Je promets de plus venir vous voir une fois cette catastrophe passée. Merci encore infiniment pour La Réunion, ce fut une parenthèse enchantée qui me fit énormément de bien. Hâte de voir quel métier tu finiras par exercer Lohé mais je suis certaine que tu excelleras. Plein de bisous, je vous aime !

A Bloupy, Tacky, Jésus, Roquefort, Lola, Sam, Sky, Tite Grise, Dodette, Crocky & Harrington,

Vous êtes ceux qui m'ont donné cette envie d'en sauver plein d'autres et d'en faire mon métier-passion. Merci d'avoir rythmé ma vie depuis toujours, de m'avoir donné tant de bonheur. Je ne peux maintenant vivre sans être entourée d'animaux. Merci à Harrington d'avoir réconcilié maman avec les chats.

A Martin,

Evidemment, ces années vétérinaires auraient été bien différentes si notre niveau d'anglais (ou le hasard ?) ne nous avait pas mis dans le même groupe de TD. Avec toi, ça a tout de suite été naturel, pas de prise de tête, la même façon de voir beaucoup de choses, la même envie de voyager, merci de m'avoir poussé à faire rentrer Toton dans ma vie. Et merci pour tellement d'autres choses. Je t'aime un peu je crois. Gros bisous à tes parents et à Yoyo.

A toi, Morgane,

Eh oui. Tu en rêvais depuis des années quand même. Tu n'y croyais même pas au début. A quoi bon tenter la prépa, on sera refusé. Et te voilà, 8 ans plus tard, Docteur Vétérinaire. Tu as réussi. J'espère que tu es fière de toi. C'est parti pour exercer ce métier de nos rêves pour en accomplir encore plein d'autres. Rêve. Ne t'arrête jamais.

Table des matières

Liste des figures	5
Liste des tableaux	9
Liste des abréviations	11
Introduction	13
Première partie : étude bibliographique	15
1. Le Vison d'Europe : une espèce menacée	15
A. <i>Une aire de répartition réduite</i>	15
a. Au niveau mondial.....	15
b. En France	19
B. <i>Une population en déclin</i>	19
a. Au niveau mondial.....	19
b. En France	20
C. <i>Menaces sur le Vison d'Europe</i>	20
a. Destruction, dégradation, fragmentation et pollution de son habitat	20
b. Compétition avec le Vison d'Amérique (Neovison vison)	21
c. Mortalité accidentelle	24
d. Faible diversité génétique	27
2. Le Vison d'Europe : une espèce faisant l'objet de programmes de conservation.....	27
A. <i>Statuts</i>	27
a. Statut de conservation	27
a. Statut juridique	28
B. <i>Programmes de conservation antérieurs</i>	30
a. Dans le monde.....	30
b. En France	32
C. <i>Programmes de conservation actuels</i>	33
a. Conservation in situ et ex situ	33
b. EEP.....	34
c. LIFE Vison (2017-2022).....	35
D. <i>Programmes de conservation à venir</i>	37
3. Biotechnologies de la reproduction.....	38
A. <i>Reproduction en captivité et biotechnologies de la reproduction</i>	38
a. Problèmes en captivité.....	38
b. Avantages des biotechnologies de la reproduction	39
B. <i>Création d'une banque de sperme</i>	41
a. Recueillir le sperme.....	41
b. Analyse du sperme prélevé.....	48
c. Conservation du sperme	53
C. <i>Insémination artificielle</i>	53
a. Induction de l'ovulation.....	54
b. Anesthésie	54
c. Insémination artificielle.....	54
D. <i>Collecte et transfert d'embryons</i>	57
4. Le Vison d'Europe et le Furet domestique : deux espèces très proches.....	58
A. <i>Phylogénétique</i>	58
B. <i>Anatomie de l'appareil reproducteur</i>	61
a. Mâles	61
b. Femelles	63
C. <i>Physiologie de la reproduction</i>	66
a. Mâles	66
b. Femelles	69

c. Accouplement – Gestation	78
Deuxième partie : étude expérimentale	81
1. Introduction	81
2. Matériels et méthodes	81
A. <i>Matériel</i>	81
a. Les animaux.....	81
b. Cathétérisme urétral.....	81
c. Banque génomique de sperme	82
d. Insémination artificielle.....	82
B. <i>Appel au don</i>	83
3. Résultats	83
A. <i>Plaquette</i>	83
B. <i>Réunions</i>	89
C. <i>Le SARS-CoV-2</i>	89
4. Discussion.....	89
A. <i>Pertinence du choix du Furet domestique comme espèce modèle</i>	89
a. D'un point de vue phylogénétique.....	89
b. D'un point de vue anatomique	89
c. D'un point de vue physiologique	90
d. D'un point de vue de la méthode de récolte de la semence.....	91
e. D'un point de vue de la méthode d'insémination artificielle.....	91
f. D'un point de vue anesthésique.....	91
B. <i>Limites du choix du Furet domestique comme espèce modèle</i>	91
a. Une proximité qui peut évoluer	92
b. Une physiologie de la reproduction incomplète.....	92
c. Des risques anesthésiques	92
Conclusion.....	95
Liste des références bibliographiques	97
Annexe 1: Conservation du sperme.....	105
Annexe 2 : Collecte et transfert d'embryons	109
a. Collecte d'embryons.....	109
b. Transfert d'embryons	109
c. Cryoconservation des embryons.....	110

Liste des figures

Figure 1 : Aire de répartition du Vison d'Europe (International Union for Conservation of Nature, 2015)	16
Figure 2 : Répartition actuelle du Vison d'Europe (points blancs) et du Vison d'Amérique (points noirs) en Espagne (Palazón et Melero, 2014)	17
Figure 3 : Données sur la répartition historique du Vison d'Europe (Maran, 2007)	18
Figure 4 : Aire de répartition du Vison d'Europe en France (Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, 2019)	19
Figure 5 : Répartition par bassins versants des observations de Visons d'Amérique collectées pour la période 2000-2015 en France (Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, 2019)	22
Figure 6 : Comparaison Vison d'Europe et Vison d'Amérique (Direction Régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement de Nouvelle-Aquitaine, 2020)	25
Figure 7 : Comparaison Vison d'Europe et Putois d'Europe (Direction Régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement de Nouvelle-Aquitaine, 2020)	26
Figure 8 : Classification IUCN du Vison d'Europe (International Union for Conservation of Nature, 2015)	28
Figure 9 : Petits Visons d'Europe âgés de 3 mois à Zoodyssée en août 2020 (Source : Zoodyssée)	34
Figure 10 : Territoire d'action du programme LIFE Vison (LIFE Vison, 2017)	36
Figure 11 : Carte des zones refuges pour le Vison d'Europe (LIFE Vison, 2017).....	37
Figure 12 : Sonde rectale bipolaire (Aulerich <i>et al.</i> , 1972)	43
Figure 13 : Cathéter urinaire 3,0 Fr de 11 cm de long à bout ouvert en silicone (Source : Smiths Medical).....	45
Figure 14 : Localisation et dilatation de l'ouverture de l'urètre d'un Furet à pieds noirs à l'aide d'un cathéter veineux sans mandrin et de la rainure de l'os pénien comme guide (Mackie <i>et al.</i> , 2020)	46
Figure 15 : Visualisation du placement de la sonde de renutrition flexible en silicone de 3,5 Fr par 31 cm de long dans l'urètre d'un Furet à pieds noirs après un avancement de 7-8 cm après le retrait du cathéter (Mackie <i>et al.</i> , 2020).....	47
Figure 16 : Catégories fréquentes d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes appliquées au Furet domestique et au Furet à pieds noirs (Curry <i>et al.</i> , 1989)	50

Figure 17 : Catégories d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes rarement représentées appliquées au Furet domestique et au Furet à pieds noirs (Curry <i>et al.</i> , 1989)	51
Figure 18 : Formes morphologiques des spermatozoïdes dans les éjaculats des Furets à pieds noirs observés au microscope à contraste de phase au grossissement x1000 (Santymire <i>et al.</i> , 2006)	52
Figure 19 : Évaluation morphologique des spermatozoïdes de Furets à pieds noirs observés au microscope après fixation par du Paraformaldéhyde à 1 % (Mackie <i>et al.</i> , 2020)	53
Figure 20 : Matériel pour l'insémination artificielle transcervicale chez le Furet domestique (Kidder <i>et al.</i> , 1998).....	56
Figure 21 : Arbre phylogénétique s'appuyant sur les séquences du gène du cytochrome b et de l'ARN ribosomique mitochondrial 12S (Kurose <i>et al.</i> , 2008).....	59
Figure 22 : Image radiographique de profil de l'os pénien en J du Furet mâle (Jekl et Hauptman, 2017).....	62
Figure 23 : Cathéter urinaire permettant de visualiser l'orifice urétral d'un Furet domestique mâle placé en décubitus dorsal (Jekl et Hauptman, 2017).....	62
Figure 24 : Sondage urétral d'un Vison d'Europe mâle permettant de mettre en évidence l'extrémité du pénis courbée en J (Santucci, 2019)	63
Figure 25 : Visualisation de l'appareil génital du Furet domestique femelle (Jekl et Hauptman, 2017).....	64
Figure 26 : Visualisation de l'appareil génital du Furet domestique femelle (Jekl et Hauptman, 2017).....	65
Figure 27 : Utérus bicornué d'une femelle Vison d'Europe (Santucci, 2019).....	65
Figure 28 : Evolution du 20-oxo-prégnane au cours de l'année chez des Visons d'Europe femelles (Nagl <i>et al.</i> , 2015).....	73
Figure 29 : Vulve œdémateuse et gonflée d'une Furette domestique en chaleurs avec coloration du pelage par de l'urine.....	75
Figure 30 : Frottis vaginal d'une Vison d'Europe femelle en fin de proœstrus observé au microscope au grossissement x100 après coloration de Harris Shorr (Santucci, 2019)	76
Figure 31 : Frottis vaginal d'une Vison d'Europe femelle en début de diœstrus observé au microscope au grossissement x100 après coloration de Harris Shorr (Santucci, 2019)	77
Figure 32 : Cathéter urinaire 3,0 Fr de 11 cm de long à bout ouvert en silicone (Source : Smiths Medical).....	82
Figure 33 : Sonde vésicale de chat PORTEX en nylon flexible mesurant 30 cm de longueur et 1 cm de diamètre (Source : Coveto)	83
Figure 34 : Première page de la plaquette pour le Vison d'Europe	84
Figure 35 : Deuxième page de la plaquette pour le Vison d'Europe	85

Figure 36 : Troisième page de la plaquette pour le Vison d'Europe.....	86
Figure 37 : Quatrième page de la plaquette pour le Vison d'Europe	87
Figure 38 : Cinquième page de la plaquette pour le Vison d'Europe.....	88

Liste des tableaux

Tableau 1 : Nombre de chromosomes des Mustélidés et du Vison d'Amérique (traduit d'après Kurose <i>et al.</i> , 2008).....	60
Tableau 2 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique d'un point de vue phylogénétique (Source : synthèse personnelle d'après Wildt <i>et al.</i> (1989) ; Ternovskaya et Ternovskaya (1994) ; Davison <i>et al.</i> (1999) ; Davison <i>et al.</i> (2000) ; Sidorovich (2001) ; Tumanov et Abramov (2002) ; Peltier et Lodé (2003) ; Michaux <i>et al.</i> (2004) ; Amstislavsky <i>et al.</i> (2004) ; Lodé <i>et al.</i> (2005) ; Kurose <i>et al.</i> (2008) ; Amstislavsky <i>et al.</i> (2008) ; Sato <i>et al.</i> (2012))	61
Tableau 3 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique mâles du point de vue de l'anatomie de l'appareil reproducteur (Source : synthèse personnelle d'après Jekl et Hauptman (2017) ; Santucci, (2019)).....	63
Tableau 4 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue de l'anatomie de l'appareil reproducteur (Source : synthèse personnelle d'après Fox et Marini (2014) ; Jekl et Hauptman (2017) ; Santucci (2019))	66
Tableau 5 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique mâles du point de vue de la maturité sexuelle (Source : synthèse personnelle d'après Amstislavsky et Ternovskaya (2000) ; Amstislavsky <i>et al.</i> (2009) ; Jekl et Hauptman (2017)).....	67
Tableau 6 : Période d'activité sexuelle de Visons d'Europe mâles sauvages en France (Mazzola-Rossi, 2006).....	68
Tableau 7 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique mâles du point de vue de la période d'activité sexuelle (Source : synthèse personnelle d'après Youngman (1990) ; Marini <i>et al.</i> (2002) ; Mazzola-Rossi (2006) ; Amstislavsky <i>et al.</i> (2009) ; Mayer <i>et al.</i> (2015) ; Jekl et Hauptman (2017))	68
Tableau 8 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue de la maturité sexuelle (Source : synthèse personnelle d'après Youngman (1990) ; Mayer <i>et al.</i> (2015) ; Jekl et Hauptman (2017))	69
Tableau 9 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue du cycle œstral (Source : synthèse personnelle d'après Youngman (1990) ; Amstislavsky et Ternovskaya (2000) ; Lindeberg (2003) ; Amstislavsky <i>et al.</i> (2004) ; Mazzola-Rossi (2006) ; Lindeberg (2008) ; Amstislavsky <i>et al.</i> (2009) ; Nagl <i>et al.</i> (2015) ; Jekl et Hauptman (2017))	70
Tableau 10 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue du cycle ovarien (Source : synthèse personnelle d'après Carroll <i>et al.</i> (1985) ; Youngman (1990) ; Amstislavsky et Ternovskaya (2000) ; Lindeberg (2003) ; Mayer <i>et al.</i> (2015) ; Jekl et Hauptman (2017))	71

Tableau 11 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue de l'activité ovarienne (Source : synthèse personnelle d'après Amstislavsky et Ternovskaya (2000) ; Mayer <i>et al.</i> (2015) ; Jekl et Hauptman (2017)).....	72
Tableau 12 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue du cycle endocrinien (Source : synthèse personnelle d'après Lindeberg (2008) ; Amstislavsky <i>et al.</i> (2009) ; Nagl <i>et al.</i> (2015) ; Jekl et Hauptman (2017))	74
Tableau 13 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue du cycle comportemental (Source : synthèse personnelle d'après Amstislavsky et Ternovskaya (2000) ; Jekl et Hauptman (2017))	75
Tableau 14 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue du cycle génital (Source : synthèse personnelle d'après Lindeberg (2003) ; Amstislavsky <i>et al.</i> (2004) ; Lindeberg (2008) ; Amstislavsky <i>et al.</i> (2009) ; Mayer <i>et al.</i> (2015) ; Jekl et Hauptman (2017))	78
Tableau 15 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue de l'accouplement et la gestation (Source : synthèse personnelle d'après Buchanan (1966) ; Enders et Schlafke (1972) ; Youngman (1990) ; Mazzola-Rossi (2006) ; Lindeberg (2008) ; Mayer <i>et al.</i> (2015) ; Jekl et Hauptman (2017) ; Kneidinger <i>et al.</i> (2018))	80

Liste des abréviations

ACTH = Adreno CorticoTropic Hormone (hormone corticotrope)

ADN = Acide DésoxyriboNucléique

ARN = Acide RiboNucléique

ATP = Adénosine TriPhosphate

BRG = Banque de Ressources Génomiques

CITES = Convention on International Trade of Endangered Species (Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction)

CPA = cryoprotecteur

CR = en danger critique dans la liste rouge IUCN

DD = manque de données

DMSO = diméthylsulfoxyde

DREAL = Direction régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement

DSS = dodécylsulfate de sodium

EAZA = European Association of Zoos and Aquaria (Association Européenne des Zoos et Aquariums)

eCG = equine Chorionic Gonadotropin (gonadotrophine chorionique équine)

EEP = European Endangered species Programme (Programme Européen pour les Espèces menacées)

EN = en danger dans la liste rouge IUCN

EW = éteinte dans la nature dans la liste rouge IUCN

EX = éteinte dans la liste rouge IUCN

FIEB = Fundación para la Investigación en Etología y Biodiversidad (Fondation pour la Recherche en Ethologie et Biodiversité)

FSH = Follicle Stimulating Hormone (Hormone Folliculo-Stimulante)

GnRH = Gonadotropin Releasing Hormone (Hormone de libération des gonadotrophines hypophysaires)

GREGE = Groupe de Recherche et d'Etude pour la Gestion de l'Environnement

hCG = human Chorionic Gonadotropin (gonadotrophine chorionique humaine)

IA = insémination artificielle

IPBES = Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services
(Plateforme intergouvernementale scientifique et politique sur la biodiversité et les services écosystémiques)

IUCN / UICN = International Union for Conservation of Nature / Union Internationale pour la Conservation de la Nature

LC = préoccupation mineure dans la liste rouge IUCN

LH = Hormone Lutéinisante

LPO = Ligue pour la Protection des Oiseaux

LSS = laurylsulfate de sodium

ND = pas de données dans l'étude de Mazzola-Rossi (2006)

NE = non évaluée dans la liste rouge IUCN

NT = quasiment menacée dans la liste rouge IUCN

OFB = Office Français de la Biodiversité

ONCFS = Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage

PNA = Plan National d'Actions

TES (milieu) = dilueur dont la composition est détaillée en Annexe 1

TEST = voir TES

TYB = voir TES

UI = Unités Internationales

UICN = voir IUCN

URSS = Union des Républiques Socialistes Soviétiques

VU = vulnérable dans la liste rouge IUCN

Introduction

Le rapport de l'IPBES (Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services) publié en 2019 a établi un constat très alarmant (Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services, 2019). Un million d'espèces animales et végétales sont menacées d'extinction : la nature décline à un rythme sans précédent dans l'histoire humaine et le taux d'extinction des espèces s'accélère, provoquant dès à présent des effets graves sur les populations humaines du monde entier. Mais ce rapport nous indique aussi qu'il n'est pas trop tard pour agir. Cependant, il faut intervenir dès à présent, du plan local au niveau mondial.

Le Vison d'Europe (*Mustela lutreola*) est l'un des mammifères carnivores les plus menacés d'Europe. Il est classé en danger critique d'extinction sur la liste rouge mondiale de l'IUCN. On connaît peu de choses sur cette espèce, notamment sur la physiologie de sa reproduction. Or, pour sauver une espèce de l'extinction, il est nécessaire de la connaître le mieux possible afin d'agir sur tous les leviers possibles.

Certaines espèces de mustélidés ont pu être sauvées de l'extinction comme, par exemple, le Furet à pieds noirs (*Mustela nigripes*). Grâce à l'insémination artificielle et à la mise en place d'une banque de sperme cryoconservé, de nombreux descendants ont pu être mis au monde malgré un effectif initial de reproducteurs extrêmement réduit avec seulement 18 individus.

Cependant, il n'est pas concevable de réaliser une étude expérimentale sur une espèce menacée et sensible au stress. Notre objectif est donc d'évaluer en quoi le Furet domestique (*Mustela putorius furo*) pourrait représenter une espèce modèle pour le Vison d'Europe afin de développer des programmes d'insémination artificielle qui seraient expérimentées chez le Furet domestique avant d'être appliqués au Vison d'Europe.

Dans ce travail, nous proposerons en premier lieu une étude bibliographique afin de faire un bilan des connaissances scientifiques disponibles sur le Vison d'Europe en soulignant son caractère d'espèce particulièrement menacée par différents facteurs qui ont fait diminuer son aire de répartition et sa population. Nous dresserons l'état des lieux des programmes de conservation depuis plusieurs années au niveau européen et national. Nous verrons dans une troisième partie que la conservation passe aussi par la maîtrise de la reproduction d'où le développement de biotechnologies de la reproduction chez les Mustélidés avec notamment la mise en place de banques de sperme et de l'insémination artificielle. Enfin, nous insisterons sur l'importance d'avoir une espèce modèle pour développer ces techniques—ce qui fera l'objet de la dernière partie avec la comparaison aux niveaux phylogénétique, anatomique et physiologique du Furet domestique et du Vison d'Europe.

Première partie : étude bibliographique

L'objet de cette première partie est de dresser le bilan actualisé des connaissances portant sur le Vison d'Europe. Nous allons envisager les différentes menaces pesant sur le Vison d'Europe. Nous présenterons ensuite les programmes de conservation en cours ou à venir. Les biotechnologies de la reproduction des Mustélidés avec les dernières avancées chez le Vison d'Europe seront abordées par la suite. Enfin, la proximité génétique, anatomique et physiologique du Furet domestique avec le Vison d'Europe montreront l'intérêt d'utiliser le Furet-comme espèce modèle.

1. Le Vison d'Europe : une espèce menacée

A. Une aire de répartition réduite

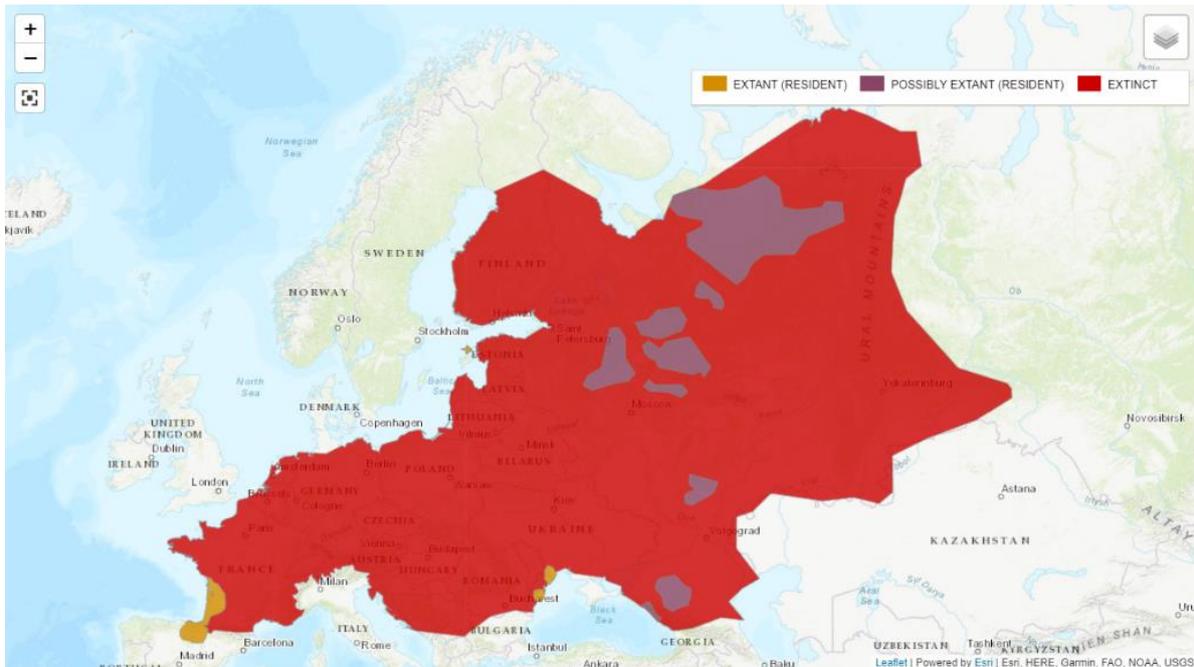
a. *Au niveau mondial*

Au XIX^{ème} siècle, l'aire de répartition mondiale historique du Vison d'Europe s'étendait de la Finlande à l'est des montagnes de l'Oural, au nord de l'Espagne et aux montagnes du Caucase (Youngman, 1990 ; Maran, 2007 ; Palazón et Melero, 2014). Elle s'est trouvée réduite de plus de 85 % depuis le milieu du XIX^{ème} siècle (Maran *et al.*, 2016) et l'espèce s'est éteinte dans 20 pays différents (Sidorovich, 2000). Elle occupe donc désormais moins de 20 % de son territoire originel avec une aire de répartition actuelle comptant une population isolée dans le nord de l'Espagne et l'ouest de la France, largement séparée géographiquement de celle du delta du Danube en Roumanie, en Ukraine et possiblement en Russie (Maran, 2007) (Figure 1). Chacune de ces populations isolées voit ses effectifs décliner continuellement (Maran *et al.*, 2016) et le Vison d'Europe a récemment disparu en Estonie (Maran, 2006).

Figure 1 : Aire de répartition du Vison d'Europe (International Union for Conservation of Nature, 2015)

En orange, cela représente des zones géographiques où il est certain qu'il existe encore des Visons d'Europe à l'état sauvage. En violet, cela représente des zones géographiques où il est suspecté qu'il y a des populations sauvages de Vison d'Europe. En rouge, cela représente l'ancienne aire de répartition du Vison d'Europe où il est aujourd'hui éteint à l'état sauvage

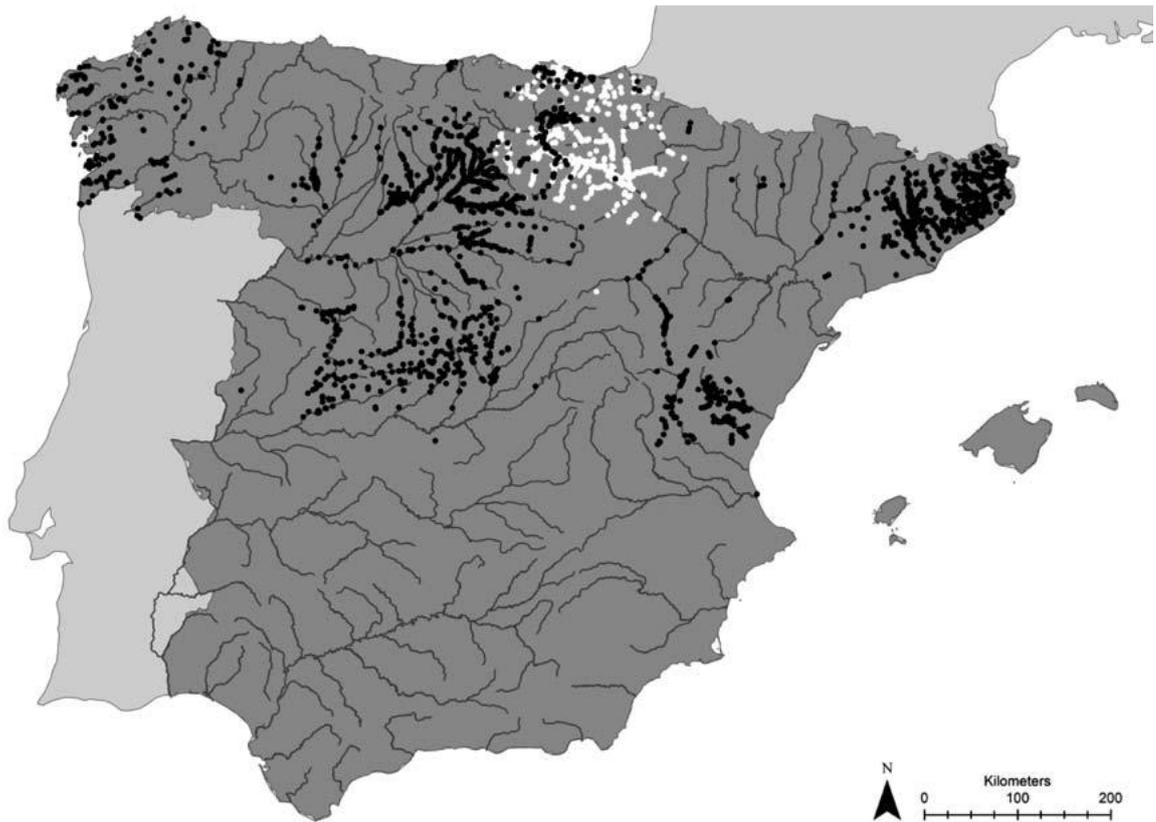
« Extant » = encore présent ; « resident » = résident ; « possibly extant » = éventuellement encore présent ; « extinct » = éteint



La découverte relativement récente du Vison d'Europe en France (1839) et dans l'est de l'Espagne (1951) suggère une expansion tardive de l'espèce vers l'Ouest (Michaux *et al.*, 2005). Mais l'évolution précise de cette expansion aussi bien vers l'Ouest que vers l'Est n'est pas encore élucidée à ce jour car différentes versions s'opposent (Novikov, 1939 ; Youngman, 1990 ; Michaux *et al.*, 2005).

En Espagne, le Vison d'Europe est actuellement réparti le long de la Navarre, de La Rioja, du Pays Basque, de la Castille-et-León (nord-ouest de Burgos et nord de Soria) et dans le centre de l'Aragon (à l'ouest de Saragosse) (Palazón *et al.*, 2003) (Figure 2). D'autres populations fragmentées et plus petites ont été trouvées en Cantabrie, vers Burgos et à l'extrême sud-est de la Catalogne (Palazón et Melero, 2014).

Figure 2 : Répartition actuelle du Vison d'Europe (points blancs) et du Vison d'Amérique (points noirs) en Espagne (Palazón et Melero, 2014)



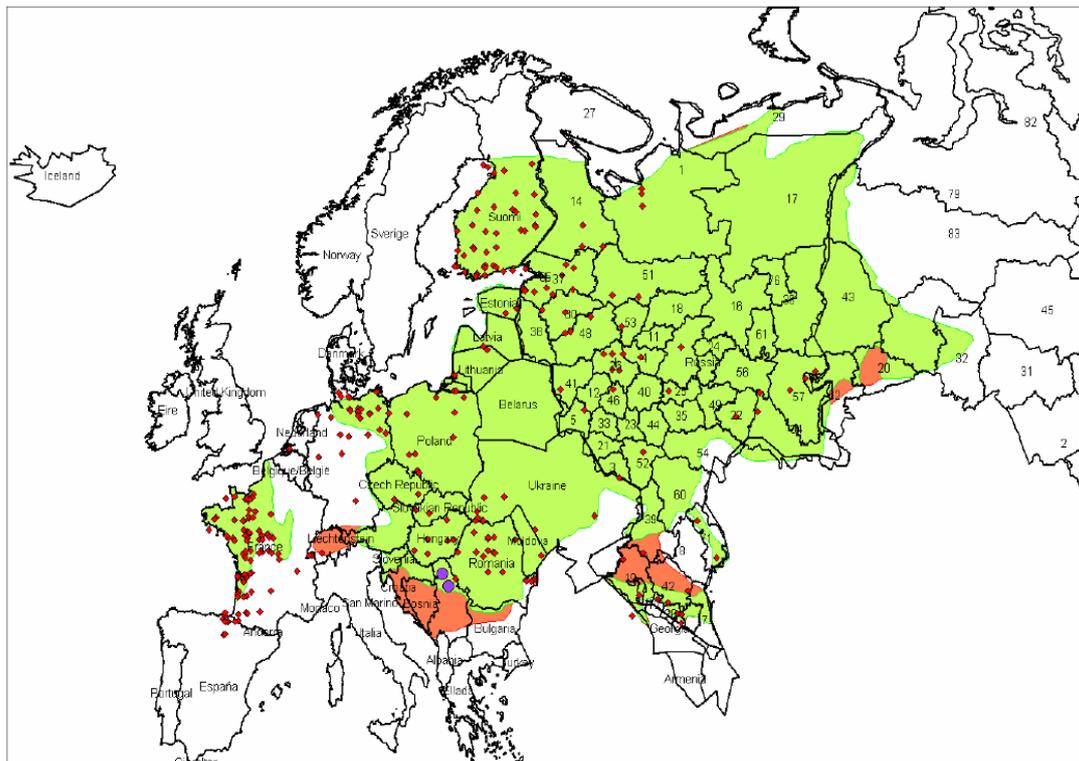
Une étude réalisée par Skumatov (2005) a permis de mettre en évidence la présence du Vison d'Europe dans 22 régions de Russie (Arkhangelsk, Briansk, Gorkovskaya/Nizhnegorodskaya, Ivanovskaya, Kaluzhskaya, Kirovskaya, République socialiste soviétique autonome des Komis, Kostromskaya, Kraï de Krasnodar et République d'Adyguée, Moscou, Novgorod, Permskaya et Komi-Permyatskiy AO, Pskovskaya, Saint Pétersbourg, Saratov, Smolenskaya, Kraï de Stavropol, Tschuvashkii, Tverskaya, Volgograd, Vologda et Yaroslavskaya) de manière certaine et dans cinq (République des Maris, Orenbourg, Tulsckaya, Oulianovsk et Voronej) de manière probable, les dernières données datant parfois des années 1990 (Figure 3). Le nom des régions correspondent aux territoires avant la dissolution de l'URSS (Union des Républiques Socialistes Soviétiques) puisque les premières données et la carte utilisée pour répertorier les populations de Vison d'Europe datent d'avant 1991, comme nous pouvons le voir sur la Figure 3.

Figure 3 : Données sur la répartition historique du Vison d'Europe (Maran, 2007)

En vert : répartition établie par Novikov (1939) ; En rouge : modifications par Heptner et al. (1967) ; Points violets : rapports de la présence du Vison d'Europe dans le Nord de la Serbie par Krustufek et al. (1994) ; Carrés rouges : rapports de la présence du Vison d'Europe basés sur des spécimens de musées et données littéraires par (Youngman, 1982)

Les régions de la Russie sont numérotées. Celles qui nous intéressent sont le 1 = Arkhangelsk ; 5 = Briansk ; 9 = Gorkovskaya /Nizhnegorodskaya ; 11 = Ivanovskaya ; 12 = Kaluzhskaya ; 16 = Kirovskaya ; 17 = République socialiste soviétique autonome des Komis ; 18 = Kostromskaya ; 19 = Kraï de Krasnodar et République d'Adyguée ; 24 = République des Maris ; 26 = Moscou ; 30 = Novgorod ; 34 = Orenbourg ; 36 = Permskaya et Komi-Permyatskiy AO ; 38 = Pskovskaya ; 37 = Saint Pétersbourg ; 54 = Saratov ; 41 = Smolenskaya ; 42 = Kraï de Stavropol ; Sans numéro = Tschuvashkii ; 46 = Tulskaia ; 48 = Tverskaya ; 49 = Oulianovsk ; 60 = Volgograd ; 51 = Vologda ; 52 = Voronej ; 53 = Yaroslavskaia

« Albania » = Albanie ; « Andorra » = Andorre ; « Armenia » = Arménie ; « Belarus » = Biélorussie ; « Bosnia » = Bosnie ; « Bulgaria » = Bulgarie ; « Croatia » = Croatie ; « Czech Republic » = République Tchèque ; « Danmark » = Danemark ; « Eire » = Irlande ; « Ellada » = Grèce ; « España » = Espagne ; « Estonia » = Estonie ; « Georgia » = Géorgie ; « Hungary » = Hongrie ; « Iceland » = Islande ; « Italia » = Italie ; « Latvia » = Lettonie ; « Lithuania » = Lituanie ; « Moldova » = Moldavie ; « Nederland » = Pays-Bas ; « Norway » = Norvège ; « Poland » = Pologne ; « Romania » = Roumanie ; « Russia » = Russie ; « Slovakian Republic » = Slovaquie ; « Slovenia » = Slovénie ; « Suomi » = Finlande ; « Sverige » = Suède ; « Turkey » = Turquie ; « United Kingdom » = Royaume-Uni

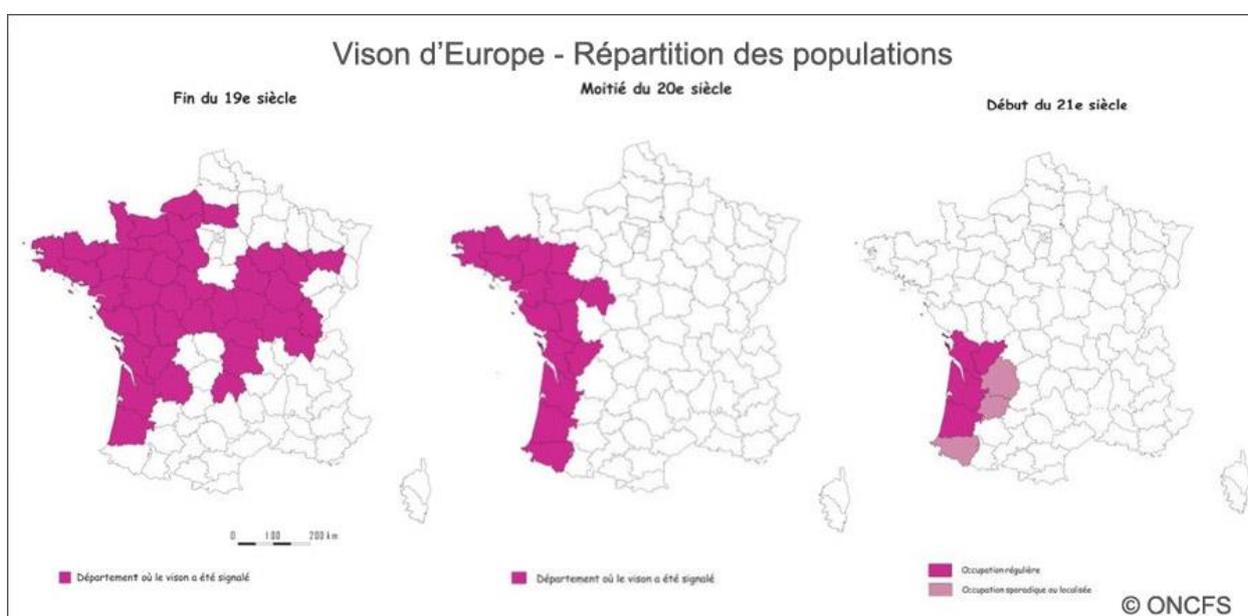


b. En France

L'aire de répartition française de l'espèce s'étend sur 11 départements du sud-ouest soit un territoire deux fois moins vaste que celui occupé il y a encore vingt ans (Figure 4) (Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, 2019).

Figure 4 : Aire de répartition du Vison d'Europe en France (Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, 2019)

A gauche : aire de répartition du Vison d'Europe en France à la fin du XIX^{ème} siècle avec en rose les départements où le Vison d'Europe a été signalé ; Au centre : aire de répartition du Vison d'Europe en France à la moitié du XX^{ème} siècle avec en rose les départements où le Vison d'Europe a été signalé ; à droite : aire de répartition du Vison d'Europe en France au début du XXI^{ème} siècle avec en rose foncé les départements que le Vison d'Europe occupe régulièrement et, en rose pâle, ceux qu'il occupe de manière sporadique ou localisée



B. Une population en déclin

a. Au niveau mondial

La population totale de Vison d'Europe aurait diminué de plus de 90 % au cours du XX^{ème} siècle. La population relictuelle, peu dense est fragmentée et en déclin (Maran *et al.*, 2016). Les données suivantes sont donc probablement surestimées.

La population la plus viable occupe le Delta du Danube, en Roumanie. Selon les résultats d'une mission de l'IUCN menée dans ce pays en 2014, 1 000 à 1 500 individus vivaient encore dans le delta (Maran *et al.*, 2016).

La population russe a été évaluée à 20 000 spécimens mais aucun recensement n'ayant été réalisé à grande échelle, ce nombre demeure incertain. Une viabilité du Vison d'Europe à plus de 10 ans serait possible dans seulement 12 des 60 régions recensées. Les preuves les plus récentes de sa présence proviennent des régions de Vologda (2011), Tver (2012), Krasnodar (2013), Kostroma (2013) et Arkhangelsk (2014) (Maran *et al.*, 2016).

En Espagne, les effectifs de l'espèce sont estimés à près de 500 individus au total (Palazón et Melero, 2014). La population la plus importante se trouve le long des 250 km du cours supérieur de l'Ebre et de ses affluents. Toutefois, la distribution totale couvre 2 300 km de cours d'eau, principalement de faible et moyenne importance, à débit lent, avec de vastes forêts, une végétation rivulaire dense (par exemple appartenant aux genres *Rubus* L., *Phragmites*, *Alnus* et *Salix*) et une bonne qualité de l'eau.

En Estonie, le dernier individu sauvage piégé l'a été en 1996. L'espèce est donc considérée comme éteinte dans le milieu naturel. L'établissement d'une population sur l'île de Hiiumaa a cependant débuté en 2000 laquelle compte moins de 100 reproducteurs (Maran *et al.*, 2016).

En Biélorussie, l'espèce est considérée comme éteinte (Maran *et al.*, 2016).

b. En France

En France, la population sauvage est estimée à moins de 250 individus (Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, 2019). Mais, les dernières données datent de 2004 (Maran *et al.*, 2016).

C. Menaces sur le Vison d'Europe

La population du Vison d'Europe a dû et doit faire face à de nombreuses menaces, la plupart liées aux activités humaines. Certaines menaces ont pu se combiner successivement ou concomitamment accélérant le déclin de l'espèce. Le délai entre l'apparition d'une menace et l'extinction de l'espèce peut être très variable : c'est le délai d'extinction ou de déclin (Baillie *et al.*, 2004). Dans la grande majorité des cas, les causes principales de la raréfaction d'une espèce sont la destruction de son habitat, une surexploitation et une chasse trop intensives, les effets de la pollution et les impacts négatifs d'une espèce envahissante nouvellement présente (Frankham, 2003). Le Vison d'Europe ne fait pas exception et illustre une partie de ces concepts.

a. Destruction, dégradation, fragmentation et pollution de son habitat

Le Vison d'Europe a des exigences particulières en matière d'habitat. Il est semi-aquatique et habite les rives à végétation dense des rivières et des ruisseaux et parfois, pendant la saison chaude, il peut exploiter les rives des lacs. On le trouve rarement à plus de 100 mètres de l'eau douce. Il n'existe aucune trace de sa présence sur le littoral maritime. Il chasse à la fois dans les zones riveraines et dans l'eau, des amphibiens, des crustacés, des poissons, des petits mammifères, des insectes et des oiseaux (Maran *et al.*, 1998 ; Palazón *et al.*, 2004 ; Palazón *et al.*, 2008).

Il est donc strictement dépendant des zones humides à la fois pour son habitat et sa nourriture. Or, au cours du XX^{ème} siècle, ces biotopes ont subi une réduction à la fois quantitative et qualitative à cause de l'assèchement des zones humides pour développer des cultures d'une part et de la dégradation de la qualité de l'eau d'autre part. Ces modifications environnementales semblent impacter plus encore les populations occidentales de Vison d'Europe notamment en France et en Espagne (Maran *et al.*, 2016). Les perturbations de son habitat et la pollution de l'eau ont été identifiées comme les principales causes de la disparition de l'espèce en Bretagne (Lodé *et al.*, 2001). L'urbanisation et l'expansion de

l'agriculture ont eu des effets majeurs. Mais le rapide déclin du Vison d'Europe même dans des endroits non aménagés ou pollués doivent impliquer d'autres facteurs (Maran, 2007).

b. Compétition avec le Vison d'Amérique (Neovison vison)

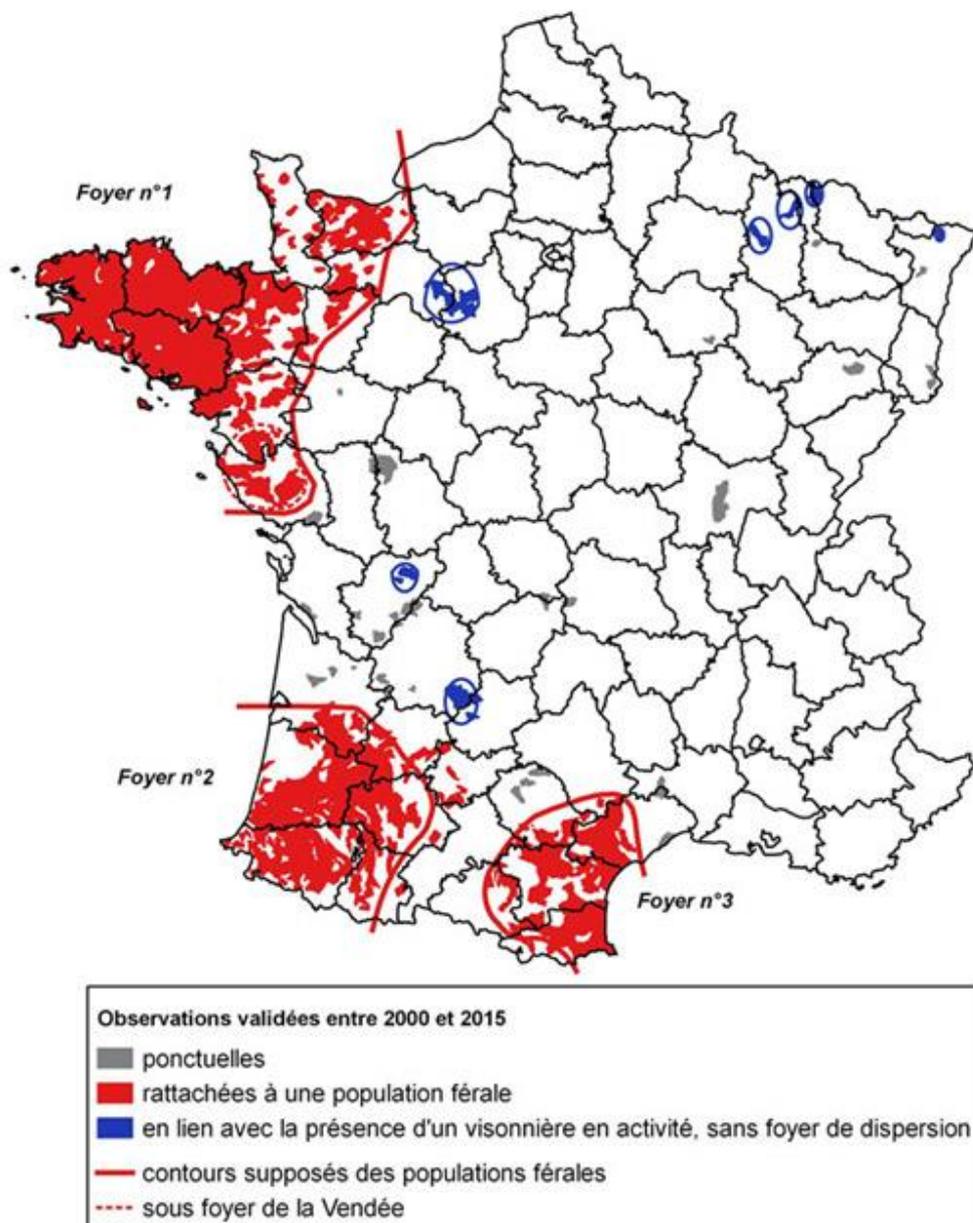
Le rôle de cette espèce allochtone a longtemps été jugé comme secondaire ou mineur, mettant en lumière le fait que le déclin du Vison d'Europe avait commencé avant son introduction (Maran et Henttonen, 1995 ; Lodé *et al.*, 2001 ; Lodé, 2002).

Le Vison d'Amérique a été importé en Europe en 1926 afin d'être élevé pour la production de sa fourrure. Le problème est qu'il possède la même niche écologique que le Vison d'Europe et se nourrit des mêmes proies. Le développement intensif de l'élevage combiné à une gestion défectueuse des exploitations a conduit à des échappées récurrentes d'individus quand ce n'est pas le déclin de la fourrure qui a conduit à l'abandon des installations et la dispersion des visons d'élevage dans la nature donnant alors naissance à une population férale en Europe. Dans une étude réalisée au Danemark, Hammershøj *et al.* (2005) ont conclu que 86 % des Visons d'Amérique vivant en liberté provenaient de ces fermes d'élevage.

La répartition de l'espèce américaine ne cesse de s'étendre en France et leurs populations férales chevauchent celles du Vison d'Europe (Figure 5).

Figure 5 : Répartition par bassins versants des observations de Visons d'Amérique collectées pour la période 2000-2015 en France (Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, 2019)

En gris : observations ponctuelles de Visons d'Amérique entre 2000 et 2015 ; en rouge : observations de Visons d'Amérique s'étant initialement échappés d'élevages de Vison d'Amérique mais constituant désormais une population sauvage viable entre 2000 et 2015 ; en bleu : observations de Visons d'Amérique fugitifs à proximité d'élevages de Vison d'Amérique ; la ligne rouge continue délimite les 3 foyers supposés de populations sauvages de Visons d'Amérique ; la ligne rouge discontinue délimite un sous-foyer en Vendée correspondant à une population semblant se développer à partir d'un élevage défectueux



Le développement invasif du Vison d'Amérique est aussi noté en Russie où il est maintenant présent sur toute l'aire de répartition du Vison d'Europe et semble même devenir prépondérant particulièrement là où l'espèce autochtone était la plus florissante. Dans les

régions de Vologda et de Kostroma, la proportion de peaux de Visons d'Europe chassés est passée de 50-70 % à 1-10 % en 5 à 7 ans. Dans la région d'Arkhangelsk, en 2010 une caméra permettait d'observer des Visons d'Europe tandis qu'en 2014, la majorité des animaux filmés était des Visons d'Amérique. En République des Komis, seuls des Visons d'Europe étaient enregistrés en 2000 alors que de 2011 à 2014, le Vison d'Amérique est devenu l'espèce dominante (Maran *et al.*, 2016).

De même, en Espagne, la fragmentation de la population du Vison d'Europe a été observée dans le cours supérieur de l'Ebre, consécutivement à l'invasion de la région par le Vison d'Amérique de 2011 à 2014 (Maran *et al.*, 2016). Ceci a donné lieu à une étude par Põdra *et al.* (2013) au cours de laquelle 27 Visons d'Europe ont été relâchés après qu'une élimination partielle du Vison d'Amérique ait été effectuée. Ils ont été suivis pendant 5 mois et la cause de leur mort répertoriée. Ainsi, seulement 22 % des Visons d'Europe étaient encore vivants 5 mois plus tard, la cause de mortalité la plus importante (76 %) étant la prédation par un carnivore de même taille dans un cas sur 2. De plus, un Vison d'Amérique mâle a été identifié comme étant le responsable direct de la mort de 6 des Visons d'Europe soit de 29 % de tous les morts et de 38 % des individus victimes de prédation. Ceci souligne le fait que, même si la population de Visons d'Amérique est contrôlée et maintenue à un faible niveau, sa présence peut être un véritable problème pour la réintroduction ou le renforcement des populations du Vison d'Europe.

Il faut d'ailleurs noter que l'ancienne aire de répartition du Vison d'Europe s'étendait parfois sur des réserves naturelles préservées de l'altération du milieu naturel ou de la chasse (Maran *et al.*, 2016).

Le problème posé par le Vison d'Amérique est qu'il représente à la fois une menace directe et indirecte sur le Vison d'Europe. Ternovsky et Ternovskaya (1994) ont observé que même si les deux espèces peuvent cohabiter par endroits, la population du Vison d'Europe a tendance à décliner tandis que celle du Vison d'Amérique augmente. Ceci peut être expliqué par une agressivité plus grande du second qui se trouve aussi être plus grand et plus puissant que le premier. Ceci a été constaté par Sidorovich (2000, 2006) en Biélorussie où la majorité des contacts entre les deux espèces était des attaques fréquentes du Vison d'Amérique envers le Vison d'Europe qui devait alors se réfugier dans des habitats moins optimaux.

La particularité de la reproduction du Vison d'Amérique est également un facteur de sa supériorité sur le Vison d'Europe (Amstislavsky *et al.*, 2008). Les Visons d'Amérique femelles sont capables de faire une diapause embryonnaire, c'est-à-dire de retarder l'implantation des embryons dans l'utérus, et elles peuvent présenter une superfétation, ce qui correspond à l'implantation de nouveaux embryons alors que l'animal est déjà gestant (Shackelford, 1952 ; M. D. Thom *et al.*, 2004). De même, les femelles seraient polyandres en captivité (Michael D. Thom *et al.*, 2004) ce qui signifie qu'elles peuvent copuler avec plusieurs mâles contrairement aux Visons d'Europe. La combinaison de ces trois caractéristiques représente clairement un avantage pour le Vison d'Amérique et accroît très nettement la probabilité de se reproduire, génère davantage de diversité génétique et crée les conditions d'une meilleure adaptation de l'espèce à de nouveaux environnements (Amstislavsky *et al.*, 2008). La femelle copulant avec plusieurs mâles aura davantage de chance d'être fécondée, pourra conduire deux gestations en parallèle d'où une progéniture

plus prolifique. Elle peut également retarder l'implantation si les conditions environnementales ne sont pas optimales réduisant ainsi la mortalité. Ces éléments s'avèrent cruciaux pour l'adaptation réussie du Vison d'Amérique (MacDonald et Harrington, 2003) mais sont responsables par ricochet du déclin du Vison d'Europe. La supériorité des performances de reproduction du Vison d'Amérique sur le Vison d'Europe se confirme en captivité avec un nombre de visonneaux par portée plus important pour le Vison d'Amérique soit $5,4 \pm 0,35$ vs. $4,3 \pm 0,10$ (Ternovsky et Ternovskaya, 1994), chiffre qui peut même atteindre quasiment 6 petits par portée en moyenne parfois (Kharlamova et Trapezov, 1999). Enfin, le Vison d'Amérique mâle présente une période d'activité sexuelle plus tôt dans l'année que le Vison d'Europe. Or, des hybrides *in vitro* sont possibles entre ces deux espèces mais ils ne donnent pas naissance à des individus viables (Ternovsky et Ternovskaya, 1994). Des Visons d'Europe femelles fécondées par des Visons d'Amérique ne seraient donc pas à même de participer à la reproduction de l'espèce pendant une année. De tels hybrides n'ont jamais été mis en évidence dans la nature, où les comportements agressifs semblent prédominer (Sidorovich, 2000).

Une nouvelle complication semble être la tendance en France à garder des Visons d'Amérique comme animal de compagnie (Maran *et al.*, 2016).

Enfin, le Vison d'Amérique serait porteur de maladies mortelles et les transmettrait au Vison d'Europe, à l'instar de la maladie aléoutienne (Mañas *et al.*, 2001 ; Fournier-Chambrillon *et al.*, 2004). Mais ceci reste encore à prouver puisqu'en captivité, il n'y a pas eu de transmission constatée entre les Visons d'Amérique et d'Europe.

c. Mortalité accidentelle

Le Vison d'Europe peut aussi être victime de mortalité accidentelle à cause de collisions avec des voitures ou d'attaques par les chats (*Felis silvestris catus*) ou les chiens (*Canis lupus familiaris*). Le Vison d'Europe peut aussi être victime de piégeage accidentel par confusion avec le Vison d'Amérique ou le Putois d'Europe (*Mustela putorius*), morphologiquement assez semblables (Figures 6 et 7).

Figure 6 : Comparaison Vison d'Europe et Vison d'Amérique (Direction Régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement de Nouvelle-Aquitaine, 2020)

A gauche, on retrouve les caractéristiques du Vison d'Europe (*Mustela lutreola*) avec l'intervalle de poids des femelles et mâles à l'âge adulte puis les différences notables au niveau du pelage avec le Vison d'Amérique comme la présence de blanc sur la lèvre supérieure et le menton qui ne sont pas retrouvées chez le *Neovison vison* ; à droite, on retrouve les caractéristiques du Vison d'Amérique avec son ancien nom *Mustela vison* appelé désormais *Neovison vison*, les intervalles de poids des individus adultes et ses différences avec le Vison d'Europe comme le fait qu'il soit plus grand, qu'il n'ait pas de blanc sur la lèvre supérieure et une forme variable de de tâche sous le menton

Vison d'Europe (<i>Mustela lutreola</i>)	Vison d'Amérique (<i>Mustela vison</i>)
<p>Femelle : 400 à 650 g Mâle : 600 à 1200 g</p>	<p>Femelle : 550 à 1000 g Mâle : 800 à 2000 g</p>
Couleur et silhouette semblables	
<div data-bbox="344 898 707 1178" style="text-align: center;">  </div> <p data-bbox="344 1227 746 1256">Présence de blanc sur la lèvre supérieure</p> <p data-bbox="357 1279 683 1308">Présence de blanc sur le menton</p>	<div data-bbox="963 887 1185 920" style="text-align: center;">Taille plus grande</div> <div data-bbox="895 931 1257 1205" style="text-align: center;">  </div> <p data-bbox="911 1227 1297 1256">Jamais de blanc sur la lèvre supérieure</p> <p data-bbox="868 1272 1273 1323">Forme variable de la tâche sur le menton (peut même être absente)</p>
<div data-bbox="355 1323 699 1630" style="text-align: center;">  </div>	<div data-bbox="903 1323 1246 1637" style="text-align: center;">  </div>

Figure 7 : Comparaison Vison d'Europe et Putois d'Europe (Direction Régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement de Nouvelle-Aquitaine, 2020)

A gauche, on retrouve les caractéristiques du Vison d'Europe (*Mustela lutreola*) avec l'intervalle de poids des femelles et mâles à l'âge adulte puis les différences notables au niveau du pelage avec le Putois d'Europe comme l'absence de masque facial, le poil de jarre, correspondant à la partie visible du pelage, uniformément brun chocolat et le poil de bourre, correspondant au sous-poil, brun-gris ; à droite, on retrouve les caractéristiques du Putois d'Europe (*Mustela putorius*) avec les intervalles de poids des individus adultes et ses différences avec le Vison d'Europe comme le fait qu'il ait un masque facial blanc-jaunâtre entre les oreilles et les yeux, un contour des oreilles jaunâtre ou blanchâtre, un poil de jarre noir et un poil de bourre jaune

<p>Vison d'Europe (<i>Mustela lutreola</i>)</p>	<p>Putois d'Europe (<i>Mustela putorius</i>)</p>
<p><u>Femelle</u> : 400 à 650 g <u>Mâle</u> : 600 à 1200 g</p>	<p><u>Femelle</u> : 500 à 900 g <u>Mâle</u> : 700 à 1600 g</p>
<div style="text-align: center;">  </div> <p style="text-align: center;"> PAS de masque facial Poil de jarre uniformément brun chocolat Poil de bourre brun-gris </p>	<p>Présence d'un masque facial blanc-jaunâtre entre les oreilles et les yeux Contour des oreilles jaunâtre ou blanchâtre Présence de blanc sur la lèvre supérieure et le menton Poil de jarre noir Poil de bourre jaune</p> <div style="text-align: center;">  </div>
<p>Attention aux jeunes putois ainsi qu'aux adultes mélaniques dont le masque facial est peu visible, voire absent - Le poil de bourre reste toujours jaunâtre et non brun-gris</p>	
<div style="text-align: center;">  </div>	<div style="text-align: center;">  </div>

Des morts sont aussi possibles par intoxication suite à la consommation de proies ayant ingurgité des anticoagulants (Maran *et al.*, 2016).

d. Faible diversité génétique

Michaux *et al.*, (2004, 2005) ont étudié la génétique des populations de Vison d'Europe relictuelles pour définir des stratégies de conservation. Ils ont étudié l'ADN mitochondrial en utilisant la séquence complète de la région D-loop. Ils ont alors trouvé qu'il n'y avait plus qu'un haplotype dans la population d'Europe occidentale tandis que celle du nord-est de l'Europe s'avérait bien plus diversifiée avec 10 haplotypes différents présents et celle du sud-est de l'Europe était intermédiaire. La population occidentale descendrait donc de quelques animaux fondateurs ayant colonisé la France et l'Espagne, sûrement suite à une introduction humaine. Cela a donné lieu à des hypothèses sur une origine étrangère du Vison d'Europe en Espagne et en France (Clavero, 2014 ; Carbonell, 2015). Cependant, selon Díez-León *et al.* (2015), la très faible diversité génétique de cette population ne suffit nullement à conclure que le Vison d'Europe fut introduit par l'Homme en Espagne comme en France. Cela indique que l'espèce est dans un goulot d'étranglement démographique, une période où l'effectif de la population est extrêmement réduit, mais cela ne renseigne pas directement sur les causes de ce goulot d'étranglement (Díez-León *et al.*, 2015).

2. Le Vison d'Europe : une espèce faisant l'objet de programmes de conservation

Aujourd'hui, le Vison d'Europe est une espèce protégée. Son statut a évolué au cours du temps et de nombreux programmes de conservation ont vu le jour, dont certains sont encore en cours.

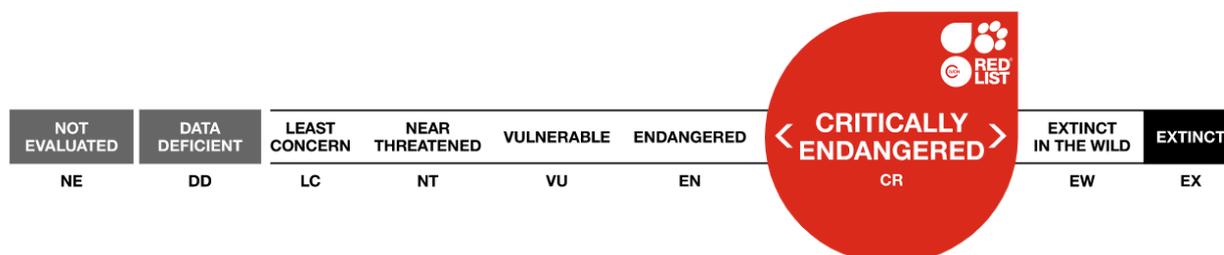
A. Statuts

a. Statut de conservation

Le statut du Vison d'Europe a évolué depuis une trentaine d'année de manière péjorative. Initialement considéré comme « vulnérable » à partir de 1988, il a été placé dans la catégorie « en danger » à partir de 1994 et est actuellement classé « en danger critique d'extinction sur la liste rouge » de l'IUCN (Union Internationale pour la Conservation de la Nature) pour la France et l'Espagne depuis 2010 et sur la liste mondiale et Européenne depuis 2011 (Figure 8). C'est la dernière étape avant d'être considéré comme « éteint dans le milieu naturel ».

Figure 8 : Classification IUCN du Vison d'Europe (International Union for Conservation of Nature, 2015)

Les catégories de la classification sont, en partant du moins grave au plus grave, non évaluée (NE) puis manque de données (DD) puis préoccupation mineure (LC), quasiment menacée (NT), vulnérable (VU), en danger (EN), en danger critique (CR), éteinte dans le milieu naturel (EW) et enfin éteinte (EX).



Cette espèce est classée dans la catégorie « en danger critique d'extinction » en raison d'une réduction continue de ses effectifs. Au cours des dix dernières années (une période de plus de trois générations), on a observé la perte de plus de la moitié de la population et on prévoit que ce déclin s'intensifiera au cours des dix prochaines années pour aboutir à un taux de déclin supérieur à 80 % en raison de la dégradation et/ou de la perte de l'habitat et des effets délétères des espèces introduites, notamment le Vison d'Amérique (Maran *et al.*, 2016).

a. Statut juridique

Même si le Vison d'Europe ne figure pas dans les annexes de la Convention Washington qui régit le Commerce International des Espèces Menacées d'Extinction (CITES) (Convention sur le Commerce International des Espèces de Faune et de Flore Sauvages Menacées D'Extinction, 1973), cette espèce est prise en compte par de nombreuses réglementations, au niveau mondial, européen et national.

- *Au niveau mondial*

Le Vison d'Europe fait partie de l'Annexe II de la « conservation de la vie sauvage et du milieu naturel de l'Europe » de la Convention de Berne du 19 Septembre 1979, parmi les « espèces de faune strictement protégées » (Convention relative à la conservation de la vie sauvage et du milieu naturel de l'Europe, 1979). Cette Convention a pour objectif « d'assurer la conservation de la flore et de la faune sauvages et de leurs habitats naturels, notamment des espèces et des habitats dont la conservation nécessite la coopération de plusieurs Etats, et de promouvoir une telle coopération ».

Chaque partie doit donc prendre « les mesures législatives et réglementaires appropriées et nécessaires pour protéger les habitats » du Vison d'Europe en tenant compte dans les « politiques d'aménagement et de développement, des besoins de la conservation des zones protégées [...], afin d'éviter ou de réduire le plus possible toute détérioration de telles zones ».

La Convention interdit ensuite « toutes formes de capture intentionnelle, de détention et de mise à mort intentionnelle » du Vison d'Europe, toute « détérioration ou [...] destruction

intentionnelles des sites de reproduction ou des aires de repos », toute « perturbation intentionnelle de la faune sauvage, notamment durant la période de reproduction » et toute « détention et [tout] commerce interne de ces animaux, vivants ou morts, y compris des animaux naturalisés, et de toute partie ou de tout produit, facilement identifiables, obtenus à partir de l'animal ».

- *Au niveau Européen*

Le Vison d'Europe est inscrit comme une espèce d'intérêt communautaire des annexes II et IV de la directive Habitat-Faune-Flore datant du 21 mai 1992 (Conseil de l'Union européenne, 1992). Elle est considérée en danger et donc prioritaire. Sa conservation relève d'une responsabilité particulière de la part de la Communauté Européenne. La Directive, s'appuyant sur la Convention de Berne, a pour objectif de « contribuer à assurer la biodiversité par la conservation des habitats naturels ainsi que de la faune et de la flore sauvages sur le territoire européen des États membres où le traité s'applique », de prendre des mesures pour assurer le maintien ou le rétablissement, dans un état de conservation favorable, des habitats naturels et des espèces de faune et de flore sauvages d'intérêt communautaire » et enfin, ces mesures « tiennent compte des exigences économiques, sociales et culturelles, ainsi que des particularités régionales et locales ». Un état de conservation favorable est défini comme un état où « les données relatives à la dynamique de la population de l'espèce en question indiquent que cette espèce continue et est susceptible de continuer à long terme à constituer un élément viable des habitats naturels auxquels elle appartient et [que] l'aire de répartition naturelle de l'espèce ne diminue ni ne risque de diminuer dans un avenir prévisible et [qu'enfin] il existe et il continuera probablement d'exister un habitat suffisamment étendu pour que ses populations se maintiennent à long terme ».

- *Au niveau national*

Le Vison d'Europe a un statut d'espèce protégée depuis l'arrêté du 9 juillet 1999 « fixant la liste des espèces de vertébrés protégées menacées d'extinction en France et dont l'aire de répartition excède le territoire d'un département » (Ministre de l'Aménagement du territoire et de l'environnement et Ministre de l'Agriculture et de la pêche, 1999).

Ceci est renforcé par l'arrêté du 23 avril 2007 « fixant la liste des mammifères terrestres protégés sur l'ensemble du territoire et les modalités de leur protection » (Ministre de l'Ecologie, Développement et Aménagement durables et Ministre de l'Aménagement du territoire et de l'environnement, 2007). Ainsi, pour le Vison d'Europe, il est interdit « sur tout le territoire métropolitain et en tout temps » de détruire, mutiler, capturer, enlever ou perturber intentionnellement « les animaux dans le milieu naturel », « sur les parties du territoire métropolitain où l'espèce est présente, ainsi que dans l'aire de déplacement naturel des noyaux de populations existants », il est interdit de détruire, altérer ou dégrader les « sites de reproduction et [les] aires de repos des animaux. Ces interdictions s'appliquent aux éléments physiques ou biologiques réputés nécessaires à la reproduction ou au repos de l'espèce considérée, aussi longtemps qu'ils sont effectivement utilisés ou utilisables au cours des cycles successifs de reproduction ou de repos de cette espèce et pour autant que la destruction, l'altération ou la dégradation remette en cause le bon accomplissement de ces cycles biologiques ». Enfin, « sont interdits sur tout le territoire national et en tout temps la détention, le transport, la naturalisation, le colportage, la mise en vente, la vente ou

l'achat, l'utilisation commerciale ou non, des spécimens de mammifères prélevés dans le milieu naturel du territoire métropolitain de la France, après le 19 mai 1981 et dans le milieu naturel du territoire européen des autres Etats membres de l'Union européenne, après la date d'entrée en vigueur de la directive du 21 mai 1992 susvisée ».

L'arrêté du 23 avril 2007 implique aussi d'avoir une autorisation préalable pour colporter, mettre en vente, vendre, acheter, prêter avec contrepartie, échanger ou utiliser à des fins commerciales tout Vison d'Europe ne provenant pas du milieu naturel de France ou de l'Union Européenne. Cette autorisation est « délivrée par le préfet du département du domicile de la personne physique ou morale demanderesse ». Si le Vison d'Europe provient d'un autre Etat membre de l'Union Européenne, « l'autorisation délivrée par l'autorité compétente de cet Etat membre vaut autorisation ».

B. Programmes de conservation antérieurs

a. Dans le monde

- *Allemagne*

Deux programmes de réintroduction ont eu lieu en Sarre (depuis 2006) et au lac de Steinhude, en Basse-Saxe (depuis 2010) (Maran *et al.*, 2016). En 2018, 14 mâles et 5 femelles nés dans l'année ont été relâchés au lac de Steinhude (Nemvalts *et al.*, 2018).

- *Espagne*

Huit Visons d'Europe élevés en captivité (un mâle et sept femelles) ont été libérés en 2008 puis 16 (huit mâles et huit femelles) en 2009 et trois femelles en 2010. Tous ont été relâchés à Salburua (Álava) et suivis pour évaluer leur adaptation à la nature (Palazón et Melero, 2014). Le principal problème observé dans la nature était la prédation par les Visons d'Amérique, les Chiens, les Chats sauvages et les Rapaces (Pödra *et al.*, 2013). Les mâles survivaient davantage que les femelles, à l'instar de ceux libérés au moyen d'installations de relâcher progressif (Palazón et Melero, 2014).

Une surveillance du Vison d'Europe s'est déroulée dans différentes communautés autonomes comme la Navarre (2004, 2005), La Rioja (2007, 2011), la province d'Álava (2007, 2009) et en Aragon (2008, 2009, 2010, 2012). Une étude portant sur les accidents de la route a eu lieu à La Rioja en 2007. En 2014, le projet EU LIFE a été lancé pour une durée de cinq ans afin d'établir un système de contrôle et de surveillance des Visons d'Europe au Pays basque, à La Rioja, en Aragon et autour de Valence (Maran *et al.*, 2016).

En 2018, des Visons d'Europe nés en captivité ont été relâchés par groupes dans le bassin de l'Ebre. Sept spécimens ont été lâchés dans la zone humide de Salburua en Álava et huit dans l'Ebre à La Rioja. Plus de la moitié d'entre eux ont survécu au premier mois après le lâcher, s'adaptant bien à la nature. Une enquête de terrain sera nécessaire dans les années à venir pour évaluer l'efficacité globale et l'impact sur la population (Nemvalts *et al.*, 2018).

- *Estonie*

En Estonie, deux îles (Hiiumaa, d'environ 1 000 km² de superficie, et Saaremaa, d'environ 2 400 km²) ont été sélectionnées pour l'établissement de populations de Visons d'Europe à

partir de fondateurs nés en captivité. Une population sauvage de Visons d'Amérique existait sur l'île de Hiiumaa nécessitant une opération préalable d'éradication entreprise de 1998 à 2000 (Maran, 2006). Suite à cela, un total de 295 Visons d'Europe a été libéré entre 2000 et 2006. Le groupe était composé de 131 mâles, de 131 femelles non gravides et de 33 femelles gravides. Si les petits naissaient dans la nature, leurs chances de survie pourraient s'avérer supérieures à celles des animaux nés en captivité, bien qu'il existât un risque potentiel de mortalité plus élevée chez les femelles gestantes au moment de leur libération. Les animaux sélectionnés pour cette mise en liberté avaient été spécialement préparés en minimisant les contacts avec les gardiens, en leur fournissant des proies vivantes disponibles dans la nature, en les entraînant à la natation, à la plongée et à la pêche, en enrichissant les enclos avec des objets naturels et en les exposant aux chiens domestiques pour optimiser le développement d'un comportement antiprédateur. Cependant, durant la plupart des années de relâchés, le taux de survie évalué au printemps suivant la libération s'est avéré très faible ne dépassant pas 10 à 15 % (Maran, 2006) à l'exception notable de 2006 où des traces de Visons d'Europe ont été détectées le long de la plupart des ruisseaux et rivières de l'île de Hiiumaa. Des portées nées d'accouplements dans la nature ont aussi été enregistrées et la taille de la population a été estimée à au moins 25 animaux (Maran, 2006). Des réintroductions ont encore eu lieu les années d'après. En 2018, la population était stabilisée depuis deux ans alors qu'aucun renforcement n'était intervenu depuis 2017. En 2019, dix Visons d'Europe ont été attrapés lors du suivi annuel et tous étaient nés dans la nature, dont l'un avait déjà été piégé lors du suivi de 2017 (Nemvalts *et al.*, 2018).

De plus, en 2018, trois Visons d'Europe femelles provenant d'Espagne ont été accueillis au Zoo de Tallinn afin de les faire se reproduire avec les mâles locaux pour augmenter la variabilité génétique de la population de Vison d'Europe de l'Ouest. Deux seulement ont fini par mettre bas des portées, comptant un et quatre visonneaux respectivement. Cela confirme que les deux populations, même isolées géographiquement et ne possédant pas la même diversité génétique, peuvent se reproduire entre elles. Une femelle de chaque portée a ensuite été renvoyée en Espagne quelques mois plus tard, les autres restant au Zoo de Tallinn. Cette même année, il y a donc eu 42 rejetons au total, en comptant ceux des femelles espagnoles, soit 25 mâles et 17 femelles (Nemvalts *et al.*, 2018).

- *Roumanie*

En 2011, un plan pour la conservation du Vison d'Europe a été élaboré dans le manuel du Vison d'Europe pour la réserve du Delta du Danube (Maran *et al.*, 2016).

- *Russie*

La plus grande entreprise de reconstitution d'une population vivant en milieu naturel à partir d'animaux captifs a été mise en œuvre dans l'Est russe, où les deux plus grandes îles de la chaîne des Kouriles, Kunashir et Iturup avec une superficie d'environ 1 550 et 6 725 km² respectivement, avaient été choisies (Ternovsky et Ternovskaya, 1994). Les deux îles étaient suffisamment éloignées du continent et des autres îles pour empêcher toute invasion par le Vison d'Amérique. De jeunes Visons d'Europe répartis en huit groupes, soit un total de 388 animaux, ont été relâchés sur les îles, généralement en septembre, entre 1981 et 1989. Avant leur mise en liberté, les animaux ont été entraînés à nager, à construire un terrier, à explorer leur environnement et à chasser (Ternovsky et Ternovskaya, 1994). À cette fin, les familles sélectionnées pour la mise en liberté ont d'abord été placées sur un territoire

particulier appartenant à la station de recherche, qui ressemblait à l'habitat naturel, et l'élevage de ces animaux après la phase d'apprentissage dirigée a été réduit au minimum. Grâce à cette action à grande échelle, deux populations viables de Visons d'Europe ont été établies avec succès sur les deux îles (Ternovsky et Ternovskaya, 1994).

Selon les études, la densité de population serait de 0,1 à 3,5 animaux par kilomètre-carré. Mais, une étude réalisée plus de 10 ans après les premiers relâchés a montré qu'il y avait bien une population reproductrice de Visons d'Europe sur l'île de Kunashir (Amstislavsky *et al.*, 2008).

b. En France

- *Le 1^{er} Plan National d'Actions (PNA) (1999-2003)*

Le premier programme de conservation pour le Vison d'Europe en France a été établi pour les années 1999 à 2003. Il a été coordonné par le Groupe de Recherche et d'Etude pour la Gestion de l'Environnement (GREGE) et a eu comme objectifs principaux de réaliser des campagnes de prospection afin de recueillir des informations notamment sur la répartition des Visons d'Europe, d'identifier les facteurs menaçant la population et de mettre en place des premières actions afin de limiter leur impact et d'intégrer cette espèce dans la politique Natura 2000.

- *Le 2^e PNA (2007-2011)*

Le premier PNA n'ayant pas donné de résultats suffisamment satisfaisants, un deuxième a vu le jour pour la période 2007 à 2011. Il a été coordonné cette fois par la DREAL (Direction régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement) de la Nouvelle-Aquitaine et animé par l'ONCFS (Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage). Il comprenait quatre objectifs plus précis visant à mettre la conservation du Vison d'Europe au cœur des politiques publiques et notamment concernant la gestion des zones humides, à protéger *in situ* les représentants de cette espèce, à mettre au point toutes les conditions nécessaires pour un programme de renforcement et de réintroduction de populations et à développer l'animation et la communication concernant ce plan national d'actions. Ceci a été rendu possible en privilégiant l'élevage de spécimens et la réimplantation du Vison d'Europe sur les territoires concernés par le PNA, en adaptant les pratiques de piégeage, la régulation des espèces nuisibles et la lutte contre le Vison d'Amérique et en traitant le problème des collisions routières.

- *Le Plan National d'Actions Intermédiaire (2015-2019)*

En 2014, un plan national intermédiaire a été établi afin de servir de base pour la rédaction d'un 3^{ème} PNA. Il a été coordonné par la DREAL Nouvelle Aquitaine avec l'ONCFS et l'association Cistude Nature. Il avait pour objectifs principaux d'actualiser la répartition du Vison d'Europe selon un protocole précis et uniforme, de poursuivre la lutte contre le Vison d'Amérique en protégeant les territoires occupés par le Vison d'Europe à l'aide de radeaux à empreintes, permettant de détecter la présence de l'espèce allochtone et d'en capturer les individus de manière plus efficace que les méthodes traditionnelles de piégeage en étant plus sélectif et, enfin, de développer un élevage conservatoire de Visons d'Europe à Zoodyssée (Deux-Sèvres, 79). Cet élevage a ouvert en 2015 et d'autres reproducteurs sont placés à la réserve zoologique de Calviac-en-Périgord (Dordogne, 24).

Les objectifs secondaires concernaient la limitation des risques de mortalité par collision routière à l'aide d'aménagements dédiés, la recherche de techniques innovantes pour différencier le Vison d'Europe du Vison d'Amérique et du Putois d'Europe, la vérification de l'étanchéité des élevages de Vison d'Amérique en activité, le partage des connaissances avec le grand public et avec les professionnels et enfin la coordination nationale des différents programmes portant sur le Vison d'Europe avec un partage de connaissances avec les partenaires européens.

C. Programmes de conservation actuels

a. Conservation *in situ* et *ex situ*

L'élevage du Vison d'Europe en captivité se développe dans de nombreux pays depuis plusieurs années.

- *Allemagne*

En Allemagne, un programme d'élevage conservatoire à Osnabrück est géré par la Fondation EuroNerz dans le cadre du programme européen pour les espèces menacées (EEP) depuis 1998. Il rassemblait environ 40 individus en 2008 et 24 portées ont été observées en 2018, correspondant à un total de 45 petits (Nemvalts *et al.*, 2018).

- *Espagne*

En Espagne, un programme d'élevage conservatoire du Vison d'Europe a été lancé depuis 2004, basé à El Port de Suert (Lleida, Espagne) et couvrant une superficie de 2 970 mètres carrés (Amstislavsky *et al.*, 2008). L'objectif de ce programme est de maintenir une population occidentale de Visons d'Europe en captivité et de renforcer la population sauvage par de nouveaux lâchers. Neuf visons capturés en 2004 et deux autres capturés en 2005 ont constitué les fondateurs du programme. Au total, 108 visons sont nés entre 2005 et 2012 de 30 portées différentes (Palazón et Melero, 2014). Chaque enclos comporte des zones extérieures et intérieures, avec des nichoirs et les installations extérieures incluant la végétation des berges et l'accès à l'eau (Amstislavsky *et al.*, 2008).

D'autres centres de reproduction ont ouvert dans la suite du premier comme celui de la Fondation pour la Recherche en Ethologie et Biodiversité (FIEB en espagnol) qui a ouvert en 2013 et une autre petite structure à Álava. Six autres établissements et zoos participent au programme de reproduction mais servent pour la plupart du temps à conserver les animaux surnuméraires. Depuis 2015, 49 Visons d'Europe sont nés dont 35 au FIEB (Nemvalts *et al.*, 2018).

Un groupe de travail sur le Vison d'Europe a été créé en 1999 et est coordonné par le Ministère de l'Agriculture et de l'Environnement (Palazón et Melero, 2014).

- *Estonie*

En Estonie, les centres conservatoires ont commencé dans les années 1980, permettant d'obtenir une reproduction régulière depuis les années 1990. La population captive est maintenue à Tallinn qui représente le noyau principal du Programme européen pour les espèces menacées (EEP). Sur plus de 200 animaux au total hébergés dans 17 structures impliquées, plus de la moitié est localisée au Zoo de Tallinn soit 105 à 120 animaux, à savoir

la plus grande population élevée en captivité en Europe et dans le monde (Amstislavsky *et al.*, 2008). Cependant, selon Maran (2006), la taille de la population captive qu'il faudrait atteindre pour maintenir 90 % de l'hétérozygotie du Vison d'Europe serait de 364 à 693 animaux. En parallèle, des études sont réalisées portant sur la physiologie de la reproduction de l'espèce, sur la survie et l'adaptation dans le cadre de programmes de réintroduction, sur la génétique et sur l'impact des conditions de captivité sur le stress (Maran *et al.*, 2016).

- *France*

En France, depuis 2015, il y a donc les élevages conservatoires de Zoodyssée et de Calviac qui tentent de faire se reproduire le Vison d'Europe par monte naturelle. En juillet 2019, quatre petits sont nés puis 14 petits répartis sur trois portées en mai 2020 (Figure 9).

Figure 9 : Petits Visons d'Europe âgés de 3 mois à Zoodyssée en août 2020 (Source : Zoodyssée)



- *Pays-Bas*

Un élevage conservatoire est réalisé au GaiaZoo à Kerkrade où deux Visons d'Europe provenant de Tallinn ont été installés dans des enclos neufs en septembre 2018 (Nemvalts *et al.*, 2018).

- *Roumanie*

Depuis 2001, en Roumanie, un suivi régulier du Vison d'Europe est effectué dans le delta du Danube (Maran *et al.*, 2016).

- *Russie*

En Russie, cela fait plus de 40 ans qu'il y a un élevage conservatoire à Novossibirsk ayant permis d'obtenir plus de 500 portées (Amstislavsky *et al.*, 2008).

b. EEP

Un Programme Européen pour les Espèces menacées est un programme dirigé par l'Association Européenne des Zoos et des Aquariums (EAZA) ayant pour but la conservation

d'une espèce. Il en existe un pour le Vison d'Europe depuis 1992. Le programme est coordonné par les Jardins zoologiques de Tallinn et la Fondation Lutreola (Estonie) et a pour but de coordonner et standardiser les actions mises en place dans les différents pays s'impliquant dans la conservation *ex situ* du Vison d'Europe.

Les objectifs de ce programme sont de maintenir une métapopulation, c'est-à-dire un ensemble de populations de Visons d'Europe séparées spatialement, représentant au minimum 85 % de la diversité initiale dans les zoos d'Europe et les structures d'élevage, d'encourager et de soutenir toute action de réintroduction ou de création de population viable en Europe, de maintenir une cohérence et un renfort mutuel entre les actions de conservation *in* et *ex situ*, de sensibiliser les visiteurs de zoo à l'urgence de la situation et aux dommages pouvant être causés par les espèces envahissantes comme le Vison d'Amérique, de soutenir la recherche sur la conservation du Vison d'Europe et d'encourager le public et les instituts de recherche à s'y impliquer et d'enfin de sensibiliser et de pousser l'Union Européenne à élaborer des législations et des politiques pour le Vison d'Europe.

c. LIFE Vison (2017-2022)

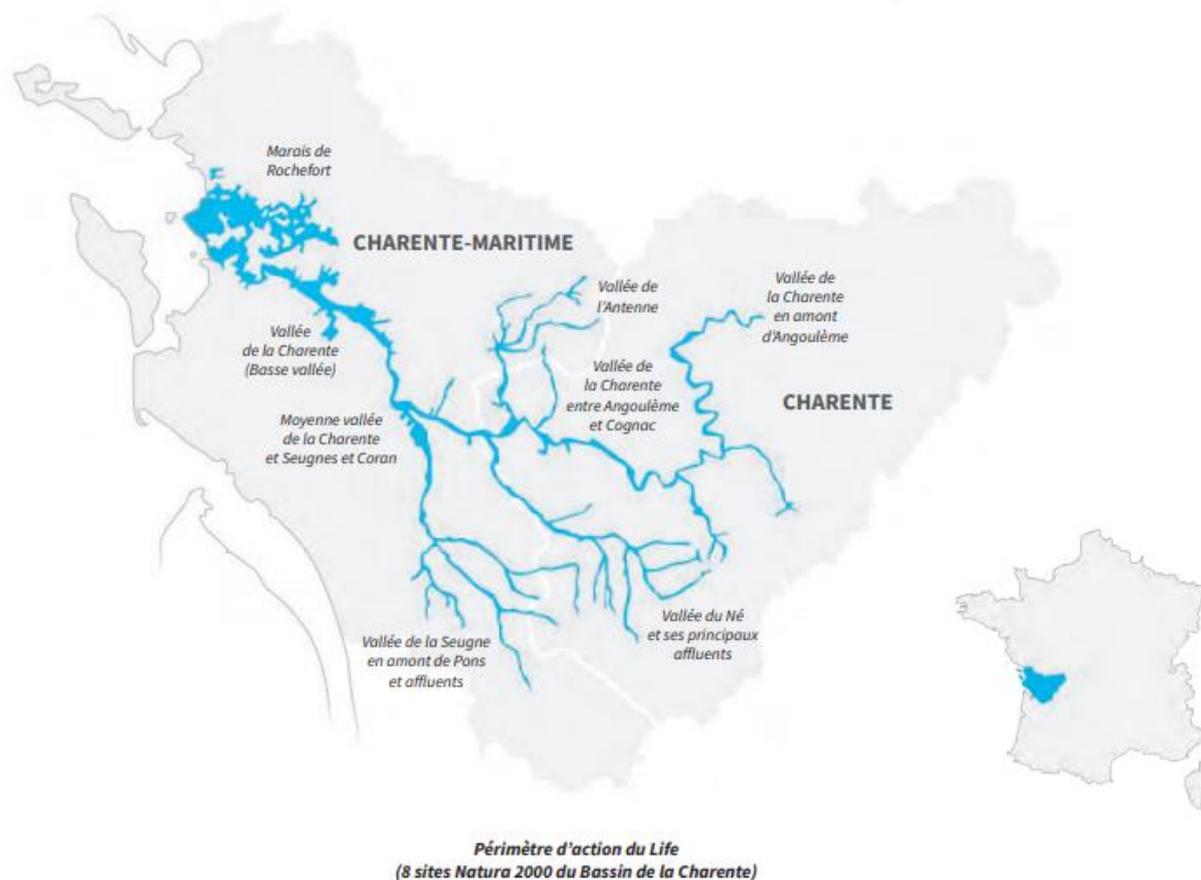
LIFE est l'instrument financier de l'Union européenne dédié à soutenir des projets dans les domaines de l'environnement et du climat. Il contribue à la mise en œuvre, au développement et au renforcement de la politique et de la législation environnementales communautaires en cofinçant des actions pilotes et des projets démonstratifs, d'intérêt européen (Ligue pour la Protection des Oiseaux *et al.*, 2017).

Le coordinateur du programme est la Ligue pour la Protection des Oiseaux (LPO) qui est l'un des principaux gestionnaires d'espaces naturels en France et notamment de zones humides. Elle est par ailleurs déjà animatrice de 5 des 8 sites Natura 2000 concernés par le programme LIFE Vison. Des partenaires bénéficiaires sont aussi impliqués comme le Groupe de Recherche et d'Etude et de Gestion de l'Environnement (GREGE), déjà engagé dans l'étude et la conservation des Mammifères semi-aquatiques et le Conseil départemental de Charente-Maritime.

L'objectif principal du LIFE Vison est de sauver le Vison d'Europe dans un de ses derniers noyaux de population en France, le bassin de la Charente, où le Vison d'Amérique n'est pas présent (Figure 10). C'est un programme sur 5 ans, regroupant 23 actions et quatre objectifs principaux : « localiser les différents noyaux de population et améliorer les connaissances sur la période sensible de reproduction, afin de cibler les mesures de protection, accroître la disponibilité en habitats favorables, réduire les causes directes de mortalité [et] intégrer réellement la conservation du Vison d'Europe dans les politiques locales d'aménagement du territoire » (LIFE Vison, 2017).

Figure 10 : Territoire d'action du programme LIFE Vison (LIFE Vison, 2017)

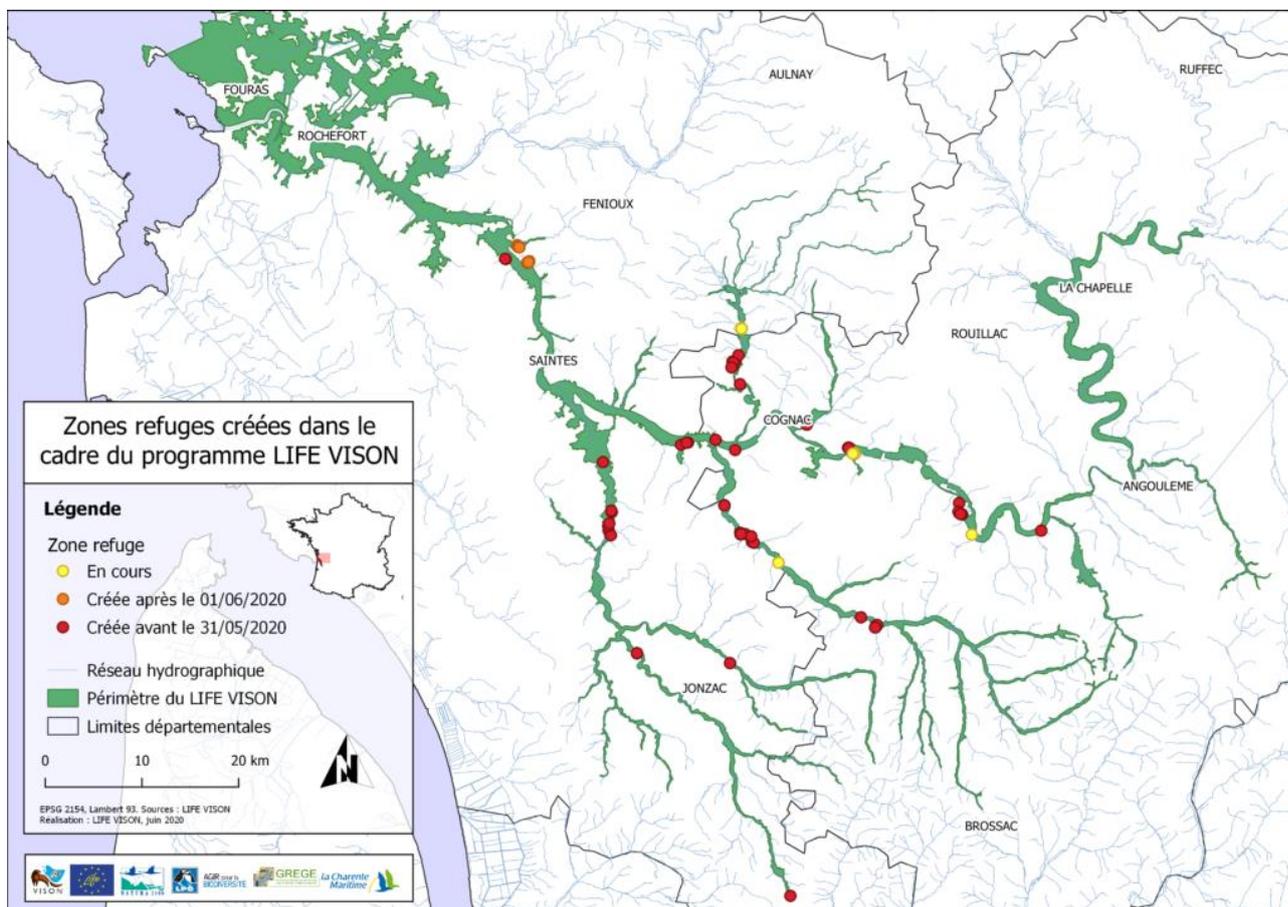
On peut voir sur cette carte les huit zones Natura 2000 concernées par le programme LIFE Vison dans l'un de ses derniers noyaux de population, le bassin de la Charente : le Marais de Rochefort, la Vallée de la Charente (Basse vallée), la Moyenne vallée de la Charente et Seugnes et Coran, la Vallée de la Seugne en amont de Pons et affluents, la Vallée de l'Antenne, la Vallée de la Charente entre Angoulême et Cognac, la Vallée de la Charente en amont d'Angoulême, la Vallée de l'Antenne, la Vallée de la Charente entre Angoulême et Cognac, la Vallée de la Charente en amont d'Angoulême et la Vallée du Né et ses principaux affluents



Les particuliers s'engagent aussi pour sa protection. Des zones refuges ont été créées et sont désormais au nombre de 40 sur le territoire du LIFE Vison (Figure 11).

Figure 11 : Carte des zones refuges pour le Vison d'Europe (LIFE Vison, 2017)

On peut observer les différentes zones refuges créées dans le cadre du programme LIFE Vison avec en point jaune les zones refuges en cours, en point orange celles créées après le 01/06/2020, en point rouge celles créées avant le 31/05/2020. Le réseau hydrographique est représenté par les lignes bleutées, le périmètre du LIFE Vison est représenté par tout ce qui est en vert et les limites départementales apparaissent en lignes noires.



D. Programmes de conservation à venir

Les deux PNA n'ayant pas permis d'assurer la pérennité des populations de Vison d'Europe françaises, un troisième est en cours de rédaction. Il est coordonné par la DREAL de Nouvelle-Aquitaine, l'Office Français de la Biodiversité et l'association Cistude Nature. Depuis le 1^{er} janvier 2020, l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS) et l'Agence Française pour la Biodiversité (AFB) forment l'Office Français de la Biodiversité (OFB).

Les objectifs de ce programme seront d'effectuer des campagnes de prospection afin d'actualiser la carte de répartition du Vison d'Europe, de réaliser des opérations de lutte contre le Vison d'Amérique, d'améliorer l'habitat en restaurant les corridors écologiques, de former et sensibiliser les professionnels et le grand public à cette problématique, de renforcer les populations avec le centre d'élevage de Zoodyssée et d'entretenir des partenariats nationaux et internationaux pour une meilleure coordination et un échange d'expériences.

Nous avons donc vu que le Vison d'Europe était une espèce en danger critique d'extinction en dépit des différents programmes de conservation qui ont été mis en œuvre. Il devient donc plus que nécessaire de trouver d'autres moyens de sauver le petit Carnivore. Un autre outil s'est montré très efficace pour sauver d'autres espèces de l'extinction : les biotechnologies de la reproduction.

3. Biotechnologies de la reproduction

La conservation des espèces menacées peut tirer profit des outils de laboratoire permettant de mieux comprendre les particularités physiologiques propres à chaque espèce pour pouvoir améliorer la gestion de leur reproduction naturelle ou assistée et intégrer ces données dans des programmes multidisciplinaires préservant l'intégrité des espèces *ex situ* et *in situ*. Les biotechnologies de la reproduction seraient optimisées par le développement d'une banque de ressources génomiques comprenant le dépôt de semences, d'ovules et d'embryons sous forme cryopréservée. Cette stratégie garantirait la préservation du matériel génétique pour les générations futures (Howard *et al.*, 2016). Nous nous limiterons cependant à l'insémination artificielle dans notre étude.

A. Reproduction en captivité et biotechnologies de la reproduction

a. Problèmes en captivité

Les animaux en captivité sont dans des conditions qui ne sont pas toujours propices à l'expression d'une bonne fonction de reproduction.

La captivité peut être une source de stress pour l'animal du fait des conditions de vie artificielles qu'elle impose tels un substrat et des sons non naturels, un espace disponible réduit, une densité animale élevée et des contacts fréquents avec l'Homme ce qui peut entraîner une augmentation de l'occurrence de maladies, une altération de la fonction de reproduction et des effets délétères sur les capacités cognitives de l'animal indispensables à sa survie une fois relâché dans son milieu naturel (Barja *et al.*, 2007 ; Teixeira *et al.*, 2007 ; Poessel *et al.*, 2011). Le Vison d'Europe, en particulier, présente indéniablement des difficultés à se reproduire dans ces conditions car il est particulièrement sensible au stress notamment à cause du comportement agressif ou trop passif de la part des mâles nés en captivité envers les femelles (Amstislavsky *et al.*, 2008). Cette inadaptation comportementale l'emporterait sur la motivation sexuelle, même si les individus sont matures sexuellement et donc seraient normalement capables de s'accoupler (Amstislavsky *et al.*, 2008). Les échecs des accouplements en captivité ne sont en outre pas imputables à un dysfonctionnement physiologique du cycle œstral de la femelle (Nagl *et al.*, 2015), mais davantage à un comportement inadapté des mâles nés en captivité ce qui entraîne un succès nettement supérieur de leurs alter egos nés à l'état sauvage (65 % contre 11 %) (Kiik *et al.*, 2013). Une telle différence n'est pas observée concernant les femelles et le comportement du mâle ne dépend pas de l'identité de la femelle. L'agressivité ou la passivité ne sont donc que des expressions du mâle traduisant son incapacité à s'accoupler. Chaque mâle peut réagir différemment, exprimant soit trop d'agressivité soit trop de passivité et, selon les mâles, l'agressivité peut s'exprimer par de la passivité dans des situations non agressives et réciproquement, contribuant à l'échec de la reproduction (Kiik *et al.*, 2013). En Allemagne, pour surmonter ce problème, les portées sont maintenues en groupe jusqu'à la fin de

l'automne ou de l'hiver. Cela a permis d'améliorer la socialisation et le succès de la reproduction (Amstislavsky *et al.*, 2008).

L'enrichissement de l'environnement peut contribuer à diminuer le stress de la captivité. Poessel *et al.* (2011) ont montré que les métabolites des glucocorticoïdes fécaux étaient diminués chez les Furets à pieds noirs (*Mustela nigripes*) mâles pré-pubères mais augmentaient chez les femelles adultes après avoir été exposé à un milieu enrichi. Il n'y avait aucun effet constaté chez les femelles pré-pubères et les mâles adultes. Or, ces métabolites fécaux sont sécrétés lorsque l'animal est sujet à un stress : l'axe hypothalamo-hypophysaire est stimulé, l'ACTH est sécrétée déclenchant à son tour la sécrétion de glucocorticoïdes (Axelrod et Reisine, 1984 ; Young *et al.*, 2004 ; Webster Marketon et Glaser, 2008). Le dosage des métabolites fécaux est moins invasif que la mesure des glucocorticoïdes sanguins. De plus, du fait d'un taux d'excrétion plus lent des métabolites dans les fèces, les données obtenues à partir d'un prélèvement reflèteront finalement une concentration moyenne en glucocorticoïdes correspondant à une certaine période avant le prélèvement. Par ailleurs, l'analyse sanguine mesure les glucocorticoïdes au moment de la prise de sang donc l'impact de la capture, de la manipulation et de la contention peut affecter le résultat, alors que ces procédures stressantes ne sont pas nécessaires pour les métabolites fécaux obtenus à partir de multiples échantillons sans déranger les animaux ou les mettre en danger (Harper et Austad, 2000 ; Wasser *et al.*, 2000 ; Millsbaugh et Washburn, 2004). L'enrichissement du milieu pourrait donc avoir un intérêt pour les jeunes mâles quand bien même aucun impact sur l'incidence des maladies ou la capacité des furets à se reproduire lors de la saison de reproduction suivante n'a été noté (Poessel *et al.*, 2011).

L'enrichissement est aussi intéressant pour réduire les comportements stéréotypiques et développer des comportements nécessaires à la survie des animaux une fois réintroduits dans la nature comme la faculté de tuer des proies (Shepherdson *et al.*, 1998 ; Vargas et Anderson, 1999 ; Swaisgood *et al.*, 2001). Il en résulte des taux de survie plus importants par rapport à des animaux élevés dans des milieux pauvres en enrichissements comme l'ont montré Biggins *et al.* (1999) avec un taux de survie dans le Wyoming, (Etats-Unis d'Amérique), à 30 jours plus élevé chez des Furets à pieds noirs élevés dans des enclos extérieurs avec des systèmes de fouilles/enfouissement/terriers et exposition constante à des proies vivantes comme des chiens de prairies (*Cynomys spp.*) par rapport à des furets élevés dans des cages standards avec une exposition limitée aux chiens de prairies.

b. Avantages des biotechnologies de la reproduction

Les biotechnologies de la reproduction concernent toutes les biotechnologies utilisées pour améliorer cette fonction, obtenir une gestation et traiter l'infertilité (Jewgenow *et al.*, 2017). Elles ont été développées pour répondre d'abord aux problèmes de reproduction humaine et pour améliorer les performances des productions animales (Wildt *et al.*, 2010). Ces outils, appliqués aux populations sauvages, sont connus depuis plusieurs dizaines d'années (Veprintsev et Rott, 1979 ; Holt et Moore, 1988 ; Holt *et al.*, 1996).

Les besoins qui ont suscité l'essor de ces biotechnologies ont été associés à des incitations financières substantielles qui ont permis de comprendre la biologie reproductive fondamentale de l'homme et des animaux domestiques qui, à leur tour, ont contribué à vaincre de nombreux types d'infertilités humaines et d'améliorer les résultats des animaux de

ferme. L'application de ces mêmes outils technologiques aux espèces sauvages a été problématique, principalement en raison des différences entre les espèces en matière d'anatomie et de physiologie (mécanismes régulant les processus de reproduction) (Pukazhenthil et Wildt, 2004 ; Wildt *et al.*, 2010). Malgré cet obstacle et même sans soutien financier important pour la recherche fondamentale, des descendants ont été produits à partir de nombreuses espèces sauvages en utilisant des biotechnologies qui reposent sur l'utilisation de gamètes ou d'embryons frais (Pukazhenthil et Wildt, 2004 ; Comizzoli *et al.*, 2012 ; Jewgenow et Songsasen, 2014).

Du fait des problèmes de reproduction propres au Vison d'Europe captif, il est essentiel de trouver une solution pour éviter l'extinction de cette espèce. A l'instar du Furet à pieds noirs (Howard et Wildt, 2009) et du Panda géant *Ailuropoda melanoleuca* (Huang *et al.*, 2012), les biotechnologies de la reproduction et notamment la combinaison entre insémination artificielle et cryopréservation des spermatozoïdes se sont montrées efficaces pour sauver des espèces. Pour *Mustela nigripes*, cela avait permis dès 2009 d'obtenir 140 individus par insémination artificielle avec du sperme frais ou congelé (Howard et Wildt, 2009).

Les biotechnologies de la reproduction offrent des avantages non négligeables par rapport à la reproduction naturelle, en particulier pour les espèces menacées bénéficiant d'un EEP et présentes dans des parcs zoologiques à travers le monde. En effet, le sperme congelé ou réfrigéré peut facilement être transporté et peut même, dans le cas de la semence congelée, être utilisé des années après la collecte initiale (Howard et Wildt, 2009).

Les techniques de reproduction assistée permettent d'améliorer l'efficacité de la reproduction dans les programmes d'élevage en assurant la reproduction des individus de haute valeur sur le plan génétique, c'est-à-dire ceux possédant des gènes intéressants pour la survie de l'espèce comme, par exemple, ceux associés à une prolificité ou des poids de portée accrus. Une reproduction plus efficace dans les programmes d'élevage est aussi conditionnée par la réduction des incompatibilités entre individus liées aux comportements et en renforçant la représentativité des fondateurs dans les petites populations. Les techniques de reproduction constituent aussi une assurance contre les catastrophes naturelles et les épidémies. Elles permettent enfin l'échange de matériel génétique entre les populations *ex situ* en évitant les risques et les coûts liés à l'expédition d'animaux pour la reproduction. Cela permet aussi d'instiller une diversité génétique dans les populations captives *ex situ* si des animaux *in situ* sont prélevés, tout en laissant ces derniers dans leur habitat pour le protéger. Enfin, des échanges de matériel génétique peuvent être réalisés depuis des populations *ex situ* vers des populations *in situ* ou entre des populations *in situ* afin de restaurer la vigueur génétique des populations sauvages fragmentées tout en évitant la transmission potentielle de maladies et le transport d'animaux potentiellement stressant (Howard et Wildt, 2009).

Le protocole général de la mise à la reproduction des animaux de parcs zoologiques requiert généralement le déplacement physique des animaux vers une autre structure éloignée géographiquement afin de maintenir ou accroître la diversité génétique pour assurer l'intégrité, la santé et la survie à terme de l'espèce. Cela entraîne des complexités logistiques, des dépenses et surtout un stress pour les animaux non négligeables. La reproduction assistée a donc comme principal avantage de ne transférer que les gamètes plutôt que les animaux vivants, sensibles au stress et qui pourraient finalement se révéler

incompatibles sur le plan comportemental avec le partenaire attribué et ne pas se reproduire (Howard et Wildt, 2009).

Enfin, l'une des utilités les plus importantes des biotechnologies de la reproduction pour les animaux sauvages est la gestion des petites populations en assurant à chaque individu important en matière de patrimoine génétique de se reproduire pour transmettre ses gènes à la génération suivante. Ceci est très bien illustré par l'histoire du Furet à pieds noirs qui a évité l'extinction grâce aux biotechnologies de la reproduction alors qu'il ne restait plus que 18 animaux dont seulement 7 étaient génétiquement intéressants pour la diversité génétique. Il était alors essentiel que chacun d'entre eux se reproduise. Cette étude a permis de mettre en évidence l'importance de la cryopréservation du sperme avec des naissances obtenues à l'aide de sperme congelé depuis des années. La banque de sperme permet donc d'intégrer du matériel génétique des années après la mort de son donneur pour relancer la diversité génétique de l'espèce (Howard et Wildt, 2009) et donc d'espacer l'intervalle entre générations (Howard *et al.*, 2016).

Parmi tous les outils de reproduction assistée, l'insémination artificielle a été reconnue comme la plus utile pour répondre aux priorités listées ci-dessus pour la conservation des animaux sauvages *ex situ* (Pukazhenthil et Wildt, 2004). Le principe en est connu depuis de nombreuses années mais son développement pour chaque espèce est long du fait de la nécessité de bien comprendre les particularités physiologiques de l'espèce avant sa mise en œuvre (Wildt *et al.*, 2001).

B. Création d'une banque de sperme

Après les populations *in situ* et *ex situ*, les banques de ressources génomiques (BRG) représentent le troisième réservoir génétique, nécessaire pour assurer l'intégrité et la survie des espèces (Wildt *et al.*, 1997). Mais pour mettre au point une banque, il faut d'abord étudier les spermatozoïdes de l'espèce et notamment leur capacité à résister à l'exposition aux cryoprotecteurs, aux perturbations osmotiques, au refroidissement, à la formation de cristaux de glace intracellulaires et enfin au retour à la température ambiante (Pukazhenthil et Wildt, 2004). Une fois cela déterminé, des protocoles peuvent être élaborés afin d'obtenir un maximum de spermatozoïdes viables après la décongélation et de produire une progéniture à partir de ces spermatozoïdes comme ce fut le cas pour le Furet à pieds noirs dont des furetons ont pu être obtenus à partir d'insémination artificielle avec du sperme congelé de donneurs morts depuis de nombreuses années (Howard et Wildt, 2009).

Ainsi, au moyen de capture d'animaux à court terme, d'induction d'ovulation, d'insémination artificielle à partir d'échantillons congelés puis de réintroduction de femelles gestantes, il sera possible de relancer une diversité génétique dans une petite population d'animaux sans avoir à les retirer de leur milieu naturel.

a. Recueillir le sperme

Dans le but de rester le plus près possible du Vison d'Europe, seules les méthodes développées chez le Furet domestique, le Furet à pieds noirs, le Putois d'Europe et le Vison d'Amérique seront détaillées ici.

La première étape de la création d'une banque de sperme est le recueil de la semence. Pour cela, différentes méthodes ont été décrites.

- *Collecte post-mortem à partir de l'épididyme et/ou du conduit déférent*

Cette méthode a été utilisée dans les premières études sur le Furet domestique (Chang, 1965 ; Chang, 1968) mais elle est toujours d'actualité.

- *Electroéjaculation*

Les premiers essais chez le Furet domestique ont été réalisés dans les années 1970 (Shump *et al.*, 1976 ; Shump *et al.*, 1977). C'était la méthode privilégiée dans les années 2000 pour collecter la semence des furets (Santymire *et al.*, 2006) car elle ne nécessitait pas de tuer les animaux et que leur performance reproductrice ultérieure n'était pas compromise.

- Anesthésie

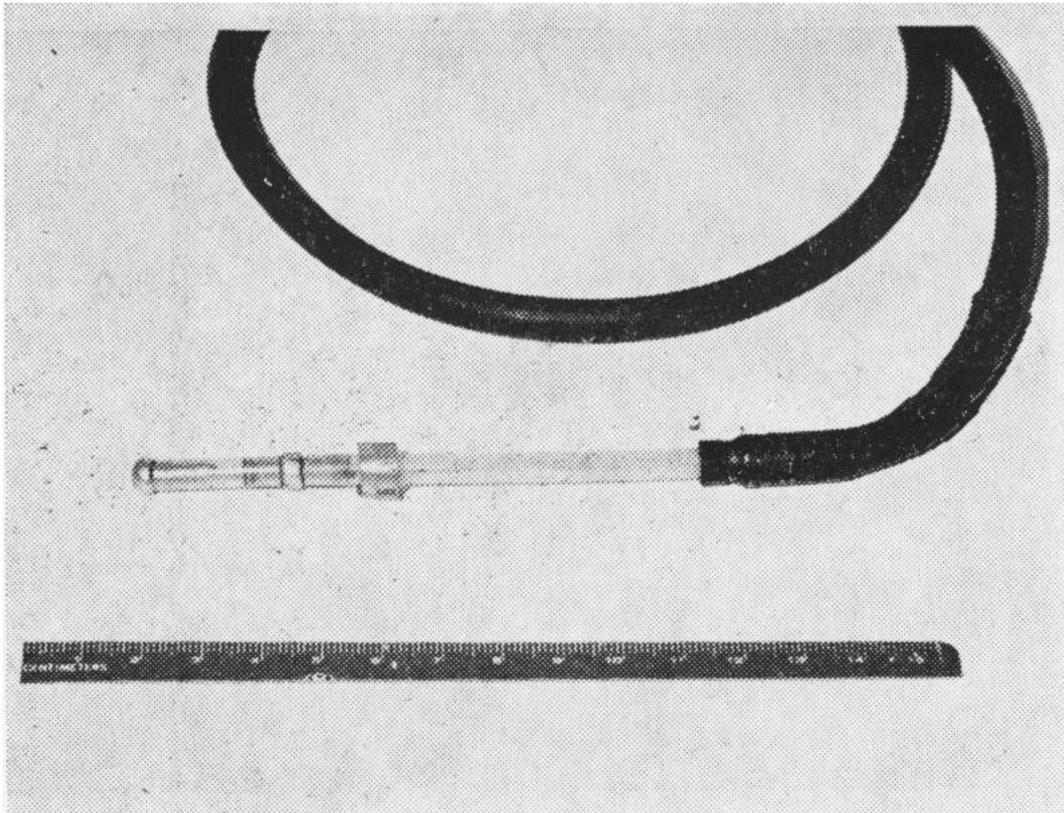
Des Visons d'Amérique mâles anesthésiés (0,3 à 0,4 mg/kg d'hydroxyde de phéncyclidine) et non anesthésiés ont subi le même protocole d'électroéjaculation. L'anesthésie n'était donc pas indispensable pour obtenir des éjaculations mais une anesthésie légère permettait de réduire la contention et le nombre de *stimuli* nécessaires pour obtenir l'éjaculation (Aulerich *et al.*, 1972). Cependant, cette molécule est aujourd'hui retirée du marché du fait de ses effets secondaires chez l'Homme (hallucinations).

Les études suivantes ont toujours été effectuées sur des animaux anesthésiés. Des protocoles par voie intramusculaire ont été décrits chez le Furet domestique à base d'hydrochloride de kétamine à la dose de 60 mg par animal (Atherton *et al.*, 1989) ou à la dose de 5 mg/kg associée à 0,08 mg/kg d'hydrochloride de médétomidine (Toledano-Díaz *et al.*, 2020), de kétamine à la dose de 10 mg/kg (van der Horst *et al.*, 2009) ou de tilétamine et zolazépam à la dose de 13 mg/kg (Wildt *et al.*, 1989 ; Howard *et al.*, 1991) et chez le Furet à pieds noirs à base d'hydrochloride de kétamine (38,8 mg/kg) et de diazépam (0,06 mg/kg) (Wolf *et al.*, 2000a ; Wolf *et al.*, 2000b ; Santymire *et al.*, 2006 ; Santymire *et al.*, 2007) ou de kétamine seule à la dose de 10 mg/kg (van der Horst *et al.*, 2009). L'effet anesthésique était généralement observé en trois minutes et durait 30 minutes (Wolf *et al.*, 2000b). Chez le Furet domestique, une anesthésie hebdomadaire durant 30 minutes pendant 50 à 65 semaines consécutives est possible sans répercussion (Wildt *et al.*, 1989).

- Procédure

Aulerich *et al.* (1972) ont été les premiers à essayer de mettre au point un protocole pour l'électroéjaculation chez le Vison d'Amérique à l'aide d'une sonde rectale bipolaire (Figure 12).

Figure 12 : Sonde rectale bipolaire (Aulerich *et al.*, 1972)



Pour faciliter la contention et mieux déterminer le moment de l'éjaculation, les mâles étaient tenus en position inversée dans un appui en forme de V par un assistant. Les pattes arrières étaient étendues et le pénis extériorisé. Pour recueillir le sperme, une fiole en verre préchauffée (1,25 x 3,75 cm) était utilisée. L'électrode rectale était ensuite insérée sur environ 3,75 cm. Un premier *stimulus* était émis. Si une quinzaine de *stimuli* n'entraînait pas d'éjaculation, les manipulations étaient arrêtées. L'éjaculation était plus rapidement obtenue après un *stimulus* de 2 à 8 V et de 0,15 à 0,6 mA pendant environ 4 secondes répété toutes les 10 secondes. Le placement de la sonde à 3,5 cm et 4 cm semblait optimal. Une tumescence du pénis était généralement observée après le *stimulus* initial et le sperme était éjaculé plus fréquemment entre la troisième et la dixième stimulation (Aulerich *et al.*, 1972).

Chez le Furet domestique, une première étude a recouru à une sonde rectale longitudinale bipolaire, de 9,1 mm de diamètre, insérée approximativement de 35 mm dans le rectum (Atherton *et al.*, 1989). Les *stimuli* commençaient à 7 mA et 6,3 mV, augmentant graduellement jusqu'à 41 mA et 12,6 mV si nécessaire. Les stimulations duraient 2 secondes avec une pause d'environ 1 seconde entre chaque. Cinq stimulations étaient d'abord effectuées à la première valeur de *stimuli* puis cinq stimulations à la deuxième valeur de *stimuli* puis de manière identique pour la troisième et la quatrième valeur de *stimuli*. Si aucune semence n'était collectée, jusqu'à 100 *stimuli* étaient appliquées à la cinquième valeur de *stimuli*. Si là encore aucune semence n'était récoltée, 50 stimulations étaient effectuées à la sixième valeur de *stimuli*. S'il y avait besoin de plus de *stimuli*, la valeur de stimulation retournait à la précédente (Atherton *et al.*, 1989). Dans une deuxième étude menée par Wildt *et al.* (1989), un électroéjaculateur de 60 Hz sinusoïdal avec une sonde rectale de 6 mm de diamètre et 3 électrodes longitudinales ont été utilisés. Les *stimuli* électriques étaient appliqués pendant trois secondes suivies par trois secondes de repos

avec une augmentation progressive du milliampérage de zéro à la valeur souhaitée puis retour à zéro. Cinq séries étaient effectuées constituées de 30 puis 30 puis 20 puis 20 puis 10 *stimuli* avec trois à quatre minutes de repos entre chaque série. La première série commençait à 20 mA, la deuxième à 25, la troisième et quatrième à 50 puis la dernière à 65 mA (Wildt *et al.*, 1989).

La même procédure et le même matériel furent utilisés chez le Furet à pieds noirs (Wolf *et al.*, 2000a ; Wolf *et al.*, 2000b). La dernière série était cependant constituée de 20 *stimuli* et c'était le voltage qui était mesuré. Les cinq séries étaient réparties comme suit : une première série de 30 *stimuli* à 2, 3 et 4 V, 10 fois chacun, une deuxième série sur le même schéma mais à 3, 4 et 5 V, une troisième et quatrième série de 20 *stimuli* chacune réparties en 10 fois 4 V et 10 fois 5 V et enfin une dernière série de 20 *stimuli* de 10 fois 5 V et 10 fois 6 V. Entre chaque série, l'animal était laissé au repos en pratiquant un massage de l'anus avec la sonde (Wolf *et al.*, 2000a ; Wolf *et al.*, 2000b). Santymire *et al.* (2006, 2007) ont utilisé pour deux études chez les Furets à pieds noirs une sonde rectale de 6 mm de diamètre avec seulement deux électrodes longitudinales de 12 mm de longueur et un éjaculateur sinusoïdal. Cent *stimuli* électriques étaient ensuite effectués compris entre 2 et 5 V en 4 séries constituées de 20 à 30 *stimuli*. Une dernière étude menée par Toledano-Díaz *et al.* (2020) utilisait un électroéjaculateur Lane Pulsator IIIZ (Lane Manufacturing Inc.) contenant une sonde d'électroéjaculation de 4 mm de diamètre qui était insérée sur 4 cm dans le rectum après avoir été enduite de carboxyméthylcellulose. Chaque Furet à pieds noirs a ensuite été soumis à quatre cycles de 14 *stimuli* électriques de plus en plus forts, chaque cycle comprenant deux *stimuli* de 2 V, deux de 3 V, deux de 4 V, deux de 5 V, deux de 6 V, deux de 7 V et deux de 8 V. Chaque *stimulus* a duré quatre secondes avec une pause de 10 secondes entre les *stimuli*, pendant laquelle un léger massage rectal était effectué avec la sonde. La stimulation était arrêtée au moment de l'éjaculation ou lorsque quatre cycles avaient été effectués sans éjaculation.

- *Cathétérisme urétral*

Cette procédure est encore récente chez les Mustéolidés et n'a pas été étudiée chez beaucoup d'espèces, encore moins pour récolter de la semence. C'est pourquoi nous détaillerons d'abord ce qui a été fait chez les Mustéolidés puis évoquerons ce qu'il est de coutume de faire chez le Chat, chez qui la méthode est utilisée depuis plusieurs années.

- Anesthésie

Une anesthésie générale est nécessaire pour appliquer cette méthode (Brown et Pollock, 2011). Des Furets à pieds noirs ont reçu un protocole par voie intramusculaire à base de kétamine à la dose de 2 mg/kg, de midazolam à la dose de 0,2 mg/kg et de dexmédétomidine à la dose de 25 µg/kg (Mackie *et al.*, 2020). De la kétamine pouvait être rajoutée par voie sous-cutanée si nécessaire. D'après Swanson *et al.* (2017), la collecte était réalisée 25 minutes après l'induction de l'anesthésie afin de permettre à la dexmédétomidine d'agir et de stimuler la libération de la semence.

- Procédure

Une première méthode a été décrite par Brown et Pollock (2011) afin de traiter les obstructions du tractus urinaire du furet domestique mâle. Le placement du cathéter urétral est compliqué chez cette espèce du fait de sa petite taille et de son pénis en forme de J

(Brown et Pollock, 2011). Un cathéter urinaire 3,0 Fr de 11 cm de long, à bout ouvert, en silicone possède une taille et une flexibilité parfaite pour le furet (Figure 13). Un cathéter urétral en 3,0 Fr existe aussi mais peut ne pas être assez long pour tous les furets. Des cathéters veineux de 20 ou 22 gauges ou un cathéter de 3,5 Fr en caoutchouc peuvent aussi être employés mais avec un risque accru de perforation de l'urètre du fait d'une moins bonne flexibilité (Brown et Pollock, 2011).

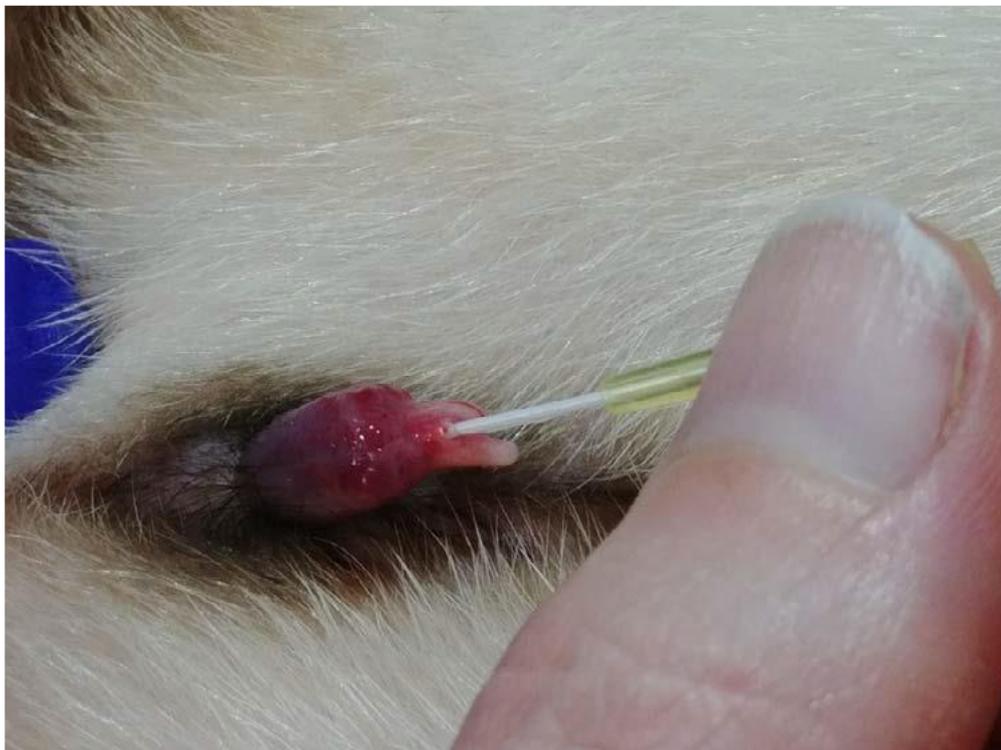
**Figure 13 : Cathéter urinaire 3,0 Fr de 11 cm de long à bout ouvert en silicone
(Source : Smiths Medical)**



Une dernière méthode consiste à utiliser un cathéter veineux de 24 gauges sans le mandrin pour repérer et dilater l'ouverture de l'urètre. Il faut ensuite l'insérer avec précaution dans la rainure de l'os pénien (Figure 14). Une fois l'urètre bien dilaté, l'insertion du cathéter urinaire ou urétral est plus facile (Brown et Pollock, 2011).

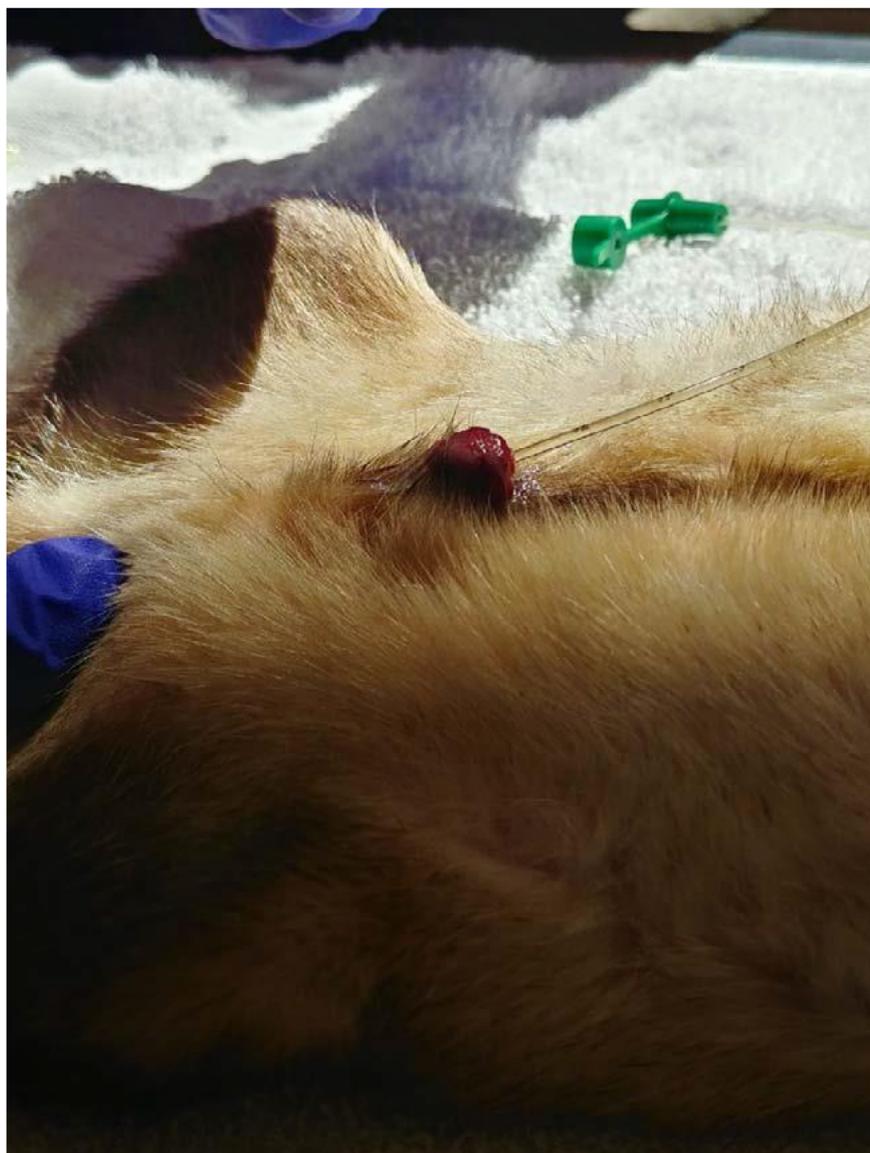
Figure 14 : Localisation et dilatation de l'ouverture de l'urètre d'un Furet à pieds noirs à l'aide d'un cathéter veineux sans mandrin et de la rainure de l'os pénien comme guide (Mackie *et al.*, 2020)

Un cathéter de 24 gauges sans mandrin (cathéter jaune) est inséré dans l'ouverture de l'urètre puis la rainure de l'os pénien lui sert de guide pour continuer sa progression.



C'est cette technique qui a donc été utilisée par Mackie *et al.*(2020) chez le Furet à pieds noirs pour la première fois afin de collecter la semence. Une sonde de renutrition, c'est-à-dire utilisée normalement pour nourrir les animaux refusant de s'alimenter, que l'on peut dans cet usage faire passer par une cavité nasale jusqu'à l'œsophage ou l'estomac, flexible en silicone de 3,5 Fr par 31 cm de long a été ensuite insérée à côté du cathéter. Ce dernier était ensuite enlevé lentement puis la sonde avancée de 7 à 8 cm (Figure 15). Une pression négative était créée en aspirant 0,1 à 0,2 mL à l'aide d'une seringue de 3 mL. Après 30 secondes en place, la sonde était reculée de 4 cm puis 0,2 mL était encore retiré à l'aide de la seringue afin de maintenir la pression négative pendant encore 30 secondes avant d'enlever la sonde.

Figure 15 : Visualisation du placement de la sonde de renutrition flexible en silicone de 3,5 Fr par 31 cm de long dans l'urètre d'un Furet à pieds noirs après un avancement de 7-8 cm après le retrait du cathéter (Mackie *et al.*, 2020)



□ Chez le Chat

C'est une méthode qui est utilisée depuis plusieurs années pour recueillir du sperme chez le Chat, laquelle a été décrite en premier par Zambelli *et al.* (2008). D'après l'analyse de la littérature scientifique, Johnson (2018) a établi que le protocole donnant les meilleurs résultats pour obtenir un échantillon était d'utiliser de la dexmédétomidine pour l'anesthésie, d'attendre 20 minutes, d'insérer ensuite une sonde urinaire sur 9 cm dans l'urètre en extériorisant bien le pénis pour éviter d'atteindre la vessie, de laisser reposer la sonde pendant 1 à 2 minutes avant de la retirer lentement.

• *Autres techniques*

Une autre technique pouvant être utilisée est la castration (Chang, 1965). Il faut ensuite retirer les vaisseaux, couper la queue de l'épididyme avec le canal déférent, les mettre dans un récipient en verre stérile contenant un milieu de culture tissulaire. Le canal déférent est

pressuré longitudinalement avec des pinces plusieurs fois afin d'en expulser tous les spermatozoïdes tandis que la queue de l'épididyme est hachée et pressée.

b. Analyse du sperme prélevé

Une fois le sperme collecté, il est important de l'analyser afin de savoir s'il pourra être utilisé. Il est important de procéder ainsi pour le sperme frais mais aussi pour la semence décongelée afin de vérifier que la congélation ne l'a pas trop dénaturé. Pour savoir si les caractéristiques du sperme sont dans les normes et envisager ainsi une gestation, des études se sont intéressées aux Furets domestique et à pieds noirs ainsi qu'au Vison et au Putois d'Europe.

- *Volume*

Une première mesure simple et indicative est le volume de sperme prélevé.

Pour le Putois d'Europe, les volumes prélevés par électroéjaculation allaient de 5 à 20 μL (Shump *et al.*, 1976). Chez le Furet domestique et à pieds noirs, les volumes prélevés par électroéjaculation allaient de 30 à 50 μL (Curry *et al.*, 1989). Les volumes pour le Furet à pieds noirs, également obtenus par électroéjaculation dans d'autres études, étaient légèrement plus faibles allant de 26,9 $\mu\text{L} \pm 3,1$ à 31,0 $\mu\text{L} \pm 0,002$ (Santymire *et al.*, 2006 ; Santymire *et al.*, 2007). Les seules valeurs chez le Vison d'Europe sont celles mesurées par Santucci (2019) dans le cadre de sa thèse vétérinaire qui se situaient entre 10 et 40 μL , après récolte par électroéjaculation.

- *Mobilité*

La mobilité doit être estimée sous microscope sur une platine chauffante ou en utilisant un analyseur assisté par ordinateur calibré pour les spermatozoïdes félines (Johnson, 2018). La mobilité subjective correspond au pourcentage de spermatozoïdes mobiles fléchants (Lorton, 2014) mais elle souvent évaluée subjectivement sur une échelle de 0 à 5 avec 5 pour le score le plus élevé (Wildt *et al.*, 1989 ; Santymire *et al.*, 2006 ; Santymire *et al.*, 2007 ; Mackie *et al.*, 2020).

- Electroéjaculation

La mobilité totale des spermatozoïdes était similaire entre le Furet domestique et le Putois des steppes *Mustela eversmannii* (81 %), mais plus basse chez le Furet à pieds noirs par électroéjaculation soit 51 % (Howard et Wildt, 2009) ou 58,9 $\pm 1,3$ à 62,2 $\pm 2,3$ % (Wildt *et al.*, 1989). Elle était nettement plus élevée dans l'étude de van der Horst *et al.* (2009) avec des valeurs de 95 ± 2 % pour le Furet domestique, 93 ± 6 % pour le Putois des steppes et 87 ± 3 % pour le Furet à pieds noirs. Pour le Putois d'Europe, la mobilité variait de 70,2 % à 77,3 % (Shump *et al.*, 1977).

Pour le Furet à pieds noirs, la mobilité subjective était de 2,9 $\pm 0,1$ (Santymire *et al.*, 2006 ; Santymire *et al.*, 2007).

- Cathétérisme urétral

La mobilité totale du Furet à pieds noirs allait de 50 à 90 % et la mobilité subjective de 2 à 5 (Mackie *et al.*, 2020)

- *Concentration*

La concentration peut être obtenue en utilisant un hémocytomètre (Lorton, 2014) à une dilution de 1 % ou un compteur de cellules automatique (Johnson, 2018). Pour le Furet domestique, à l'aide d'une chambre de comptage Makler, elle était de $40,7 \pm 6,5 \times 10^6$ / mL par électroéjaculation (van der Horst *et al.*, 2009). Pour le Putois d'Europe, elle était, en moyenne, de 342 à 448×10^6 / mL après mesure avec un hémocytomètre (Shump *et al.*, 1977).

Pour le Furet à pieds noirs, la concentration après électroéjaculation, mesurée à l'aide d'une chambre de comptage Makler, était de $0,8 \pm 0,2$ à $3,2 \pm 0,8 \times 10^6$ / mL (van der Horst *et al.*, 2009), tandis qu'elle variait de $558,6 \pm 121,5$ à $583,9 \pm 59,8 \times 10^6$ / mL à l'aide d'un hémocytomètre (Santymire *et al.*, 2006 ; Santymire *et al.*, 2007) et de $10,5$ à $26,0 \times 10^6$ / mL par cathétérisme urétral (Mackie *et al.*, 2020). Ces différences, notamment entre l'étude de van der Horst *et al.* (2009) et celles de Santymire *et al.* (2006, 2007), peuvent premièrement s'expliquer par des méthodes différentes pour estimer la concentration mais aussi par des volumes différents, avec probablement une portion prostatique plus élevée pour van der Horst *et al.* (2009) d'où une concentration plus faible. Il vaut donc mieux calculer le nombre total de spermatozoïdes plutôt que la concentration par unité de volume.

- *Nombre total de spermatozoïdes*

Chez l'hybride Furet domestique x Putois d'Europe, le nombre total de spermatozoïdes variait de 82 à 621 millions (Chang, 1965). Les différences n'étaient pas reliées au poids de l'animal. En fin de saison d'activité sexuelle, la numération moyenne était de 243 millions de spermatozoïdes.

- *Examen morphologique des spermatozoïdes*

Il faut évaluer le pourcentage de spermatozoïdes normaux et le pourcentage de formes anormales (Jelinkova *et al.*, 2018). Selon Howard et Wildt (2009), des spermatozoïdes normaux provenant d'éjaculats tératospermiques ont une capacité de fécondation compromise, du fait de moins bonnes capacitation, réaction de l'acrosome, pénétration dans la zone pellucide, fécondation des ovocytes et survie à la cryopréservation.

- Electroéjaculation

Le Furet domestique avait une plus grande proportion de spermatozoïdes coudés, sans queue et sans tête (Figure 16). Le Furet à pieds noirs avait une plus grande proportion de pièce moyenne enroulée ou de flagelle noué (Curry *et al.*, 1989). Chez les deux espèces, le pourcentage de spermatozoïdes normaux demeurerait très faible ($9,6 \pm 1,2$ % (sperme frais) et $12,1 \pm 0,86$ % (sperme décongelé) pour le Furet domestique et 11 % $\pm 3,2$ chez le Furet à pieds noirs). Certaines anomalies (bicéphalie, macrocéphalie, microcéphalie, biflagellés, queues enroulées/nouées et gaine mitochondriale manquante) (Figure 17) semblent être le résultat d'une spermatogenèse défectueuse (Wildt *et al.*, 1983). Les anomalies plus subtiles telles que les queues pliées semblent plutôt être le résultat d'un dysfonctionnement des canaux déférents (Wildt *et al.*, 1983) ou dues à la fixation pour observer les anomalies morphologiques (Curry *et al.*, 1989).

Figure 16 : Catégories fréquentes d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes appliquées au Furet domestique et au Furet à pieds noirs (Curry *et al.*, 1989)

(A) droit/sinusoïdal (considéré comme normal) ; (B) plié au niveau de la pièce intermédiaire (une seule courbure de moins de 90°) ; (C) queue enroulée ; (D) plié au niveau de la pièce intermédiaire (une ou deux courbures de 90° à 180°) ; (E) enroulé ; (F) plié après la pièce intermédiaire ; (G) sans queue ni tête ; (H) plié au niveau de la pièce intermédiaire/ plié dans la pièce principale

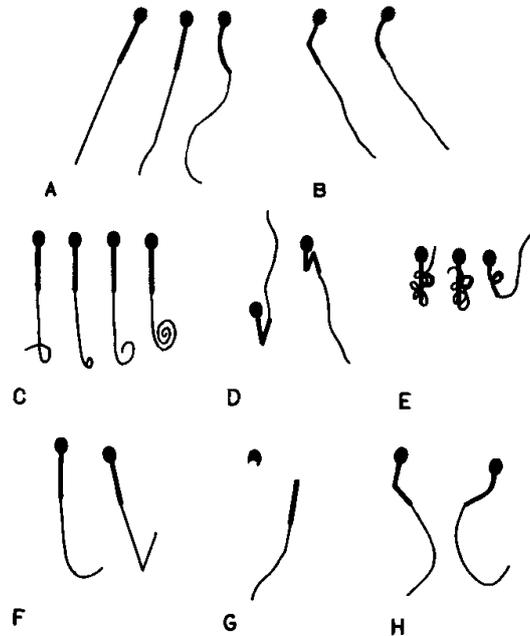
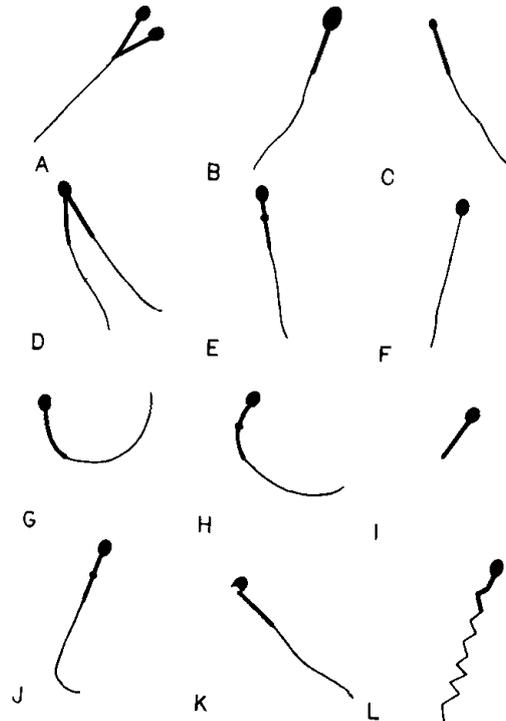


Figure 17 : Catégories d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes rarement représentées appliquées au Furet domestique et au Furet à pieds noirs (Curry *et al.*, 1989)

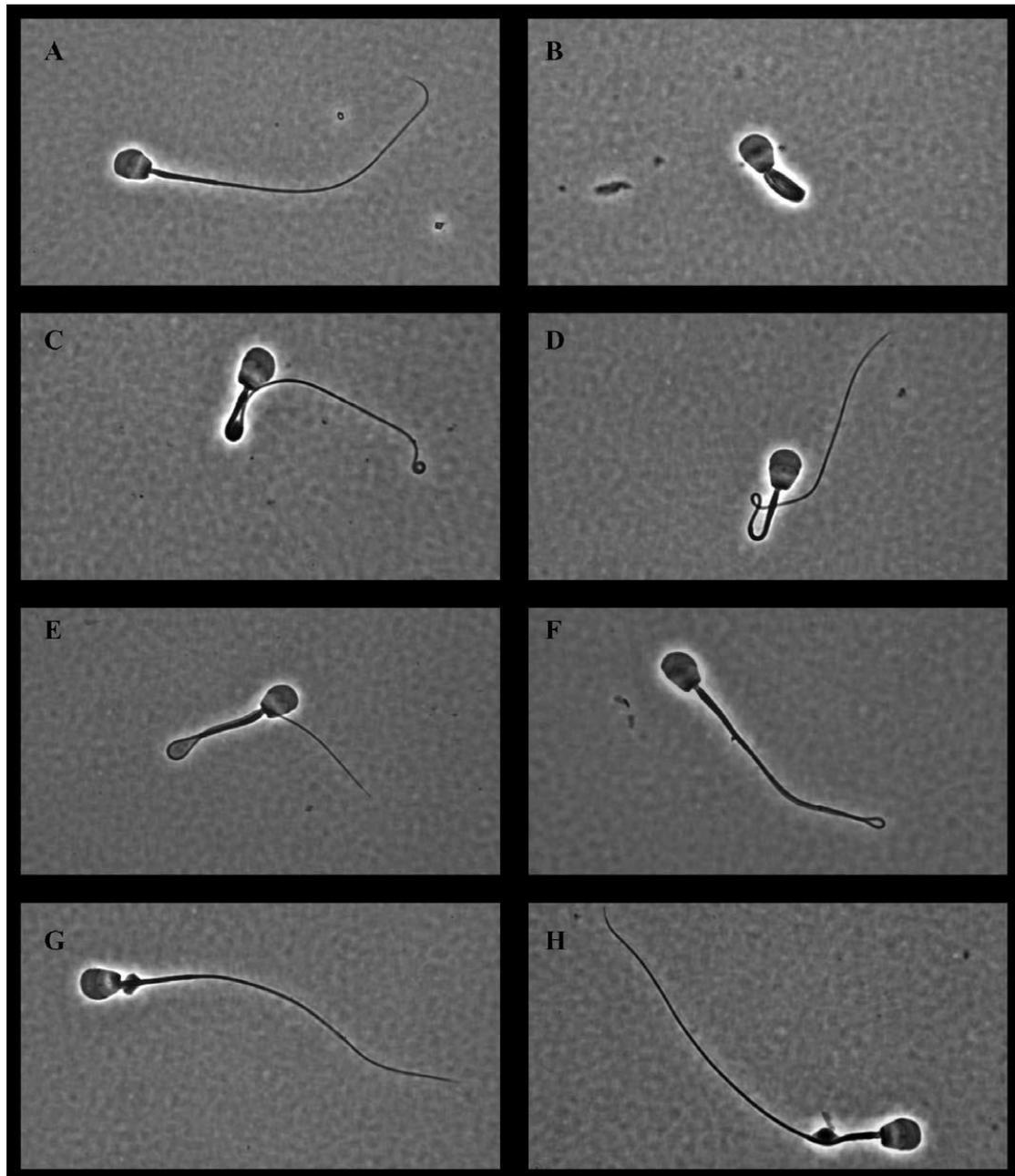
(A) bicéphale ; (B) macrocéphale ; (C) microcéphale ; (D) biflagellé ; (E) gouttelette cytoplasmique ; (F) gaine mitochondriale manquante ; (G) queue circulaire ; (H) queue circulaire avec gouttelette cytoplasmique ; (I) pièce intermédiaire manquante (probablement un artefact) ; (J) plié derrière la pièce intermédiaire avec gouttelette cytoplasmique ; (K) plié au niveau du cou ; (L) queue pliée (probablement un artefact)



Santymire *et al.* (2006, 2007) ont étudié la morphologie des spermatozoïdes de Furets à pieds noirs obtenus par électroéjaculation. Le pourcentage de spermatozoïdes normaux était de $15,3 \pm 1,9 \%$ à $15,9 \pm 3,1 \%$ et l'intégrité acrosomale était observée dans $67,3 \pm 3,5 \%$ à $72,9 \pm 3,7 \%$ (Santymire *et al.*, 2006 ; Santymire *et al.*, 2007). Les anomalies de morphologie les plus fréquentes étaient la pièce centrale courbée avec gouttelette ($23,1, \pm 2,6 \%$ à $31,0 \pm 3,5 \%$) et la présence de gouttelettes cytoplasmiques distales ($10,6 \pm 3,0 \%$ à $11,7 \pm 3,7 \%$) (Figure 18).

Figure 18 : Formes morphologiques des spermatozoïdes dans les éjaculats des Furets à pieds noirs observés au microscope à contraste de phase au grossissement x1000 (Santymire *et al.*, 2006)

(A) normal ; (B) flagelle enroulé ; (C) pièce intermédiaire courbée avec gouttelette ; (D) pièce intermédiaire courbée sans gouttelette ; (E) flagelle courbé avec gouttelette ; (F) flagelle courbé sans gouttelette ; (G) gouttelette cytoplasmique proximale ; et (H) gouttelette cytoplasmique distale



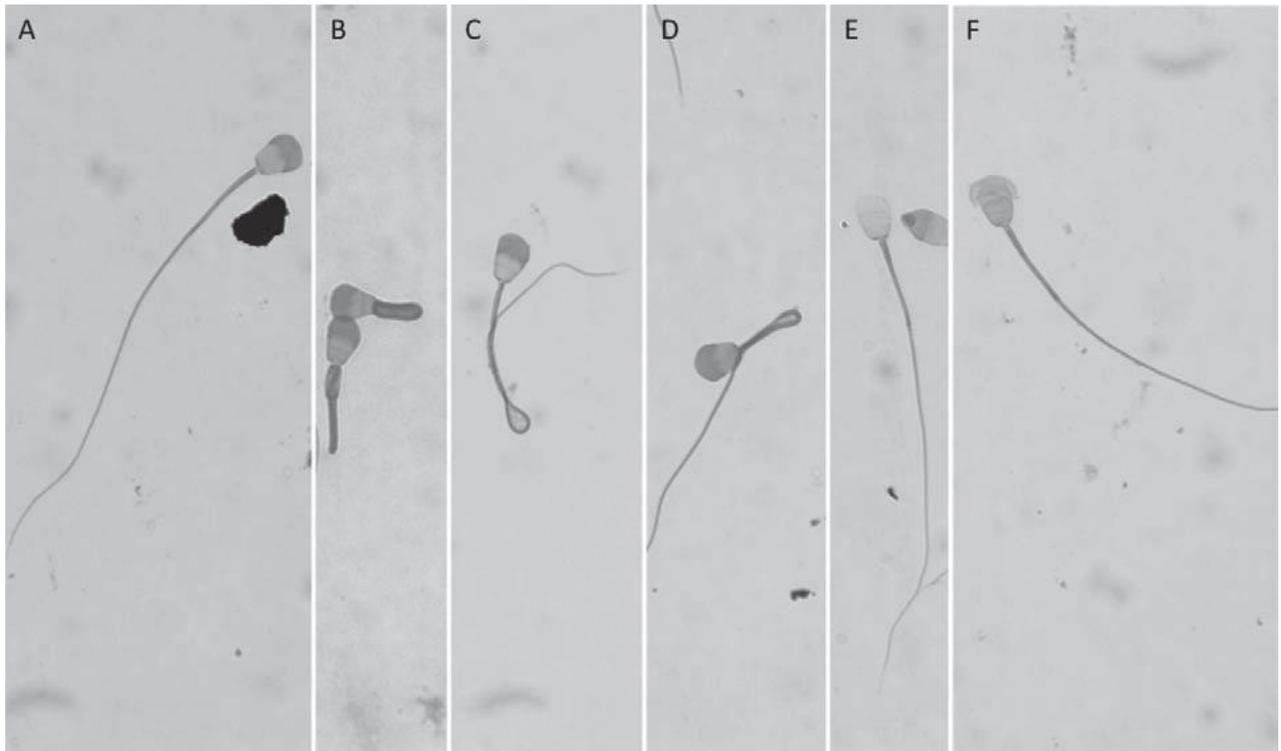
□ Cathétérisme urétral

Le pourcentage de spermatozoïdes normaux allait de 36 à 61 % chez le Furet à pieds noirs (Mackie *et al.*, 2020). Les formes les plus anormales étaient un acrosome abimé ou absent, une queue enroulée ou pliée ou une pièce intermédiaire pliée (Figure 19). Ces résultats,

supérieurs à ceux obtenus par électroéjaculation par Santymire *et al.* (2006, 2007), sont difficiles à interpréter du fait de la différence d'anesthésie, de méthode de récolte de la semence et d'animaux âgés de 2 à 5 ans pour Santymire *et al.* (2006, 2007) contre 10 mois à 4 ans pour Mackie *et al.* (2020).

Figure 19 : Évaluation morphologique des spermatozoïdes de Furets à pieds noirs observés au microscope après fixation par du Paraformaldéhyde à 1 % (Mackie *et al.*, 2020)

(A) normal, (B) queue enroulée, (C) queue pliée, (D) pièce intermédiaire pliée, (E) acrosome absent, (F) acrosome endommagé



- **Osmolalité**

Santymire *et al.* (2006) ont déterminé l'osmolalité des différents échantillons récoltés par électroéjaculation à l'aide d'un osmomètre à pression vapeur. Dix microlitres d'échantillon de sperme non dilué étaient placés dans l'osmomètre. Une prise de sang était effectuée simultanément et l'osmolalité du sérum était mesurée. L'osmolalité du sperme était significativement plus élevée que celle du sérum pour les sept mâles prélevés ($513,1 \pm 32,6$ mOsm vs. $321,9 \pm 4$ mOsm). Mais une variation assez importante des osmolalités des semences a été constatée, allant de 366 mOsm à 791 mOsm.

c. Conservation du sperme

Cette partie, étant plus technique, est développée en Annexe 1 sous forme de tableaux.

C. Insémination artificielle

Parmi les nombreux outils de reproduction assistée, l'insémination artificielle a été reconnue comme étant la plus utile et celle ayant permis la plupart des succès dans la conservation

des animaux sauvages *ex situ* (Howard *et al.*, 2016). Elle consiste à déposer manuellement au moment opportun les spermatozoïdes d'un mâle dans l'appareil reproducteur d'une femelle (Pukazhenthil et Wildt, 2004 ; Howard *et al.*, 2016). Ceci requiert de respecter une chronologie précise et une méthode appropriée du placement du sperme (Rijsselaere *et al.*, 2014). La semence fraîche peut être inséminée dans le vagin mais la semence congelée doit idéalement être inséminée directement dans l'utérus (Hori *et al.*, 2011). L'insémination artificielle (IA), comme la collecte de semence et la cryoconservation, a été développée en parallèle chez le Furet domestique (Howard *et al.*, 1991) et le Furet à pieds noirs (Howard et Wildt, 2009).

a. Induction de l'ovulation

Plusieurs études ont visé à induire l'ovulation chez des femelles rentrées en chaleurs naturellement.

Chez des hybrides Furets domestiques x Putois d'Europe, Chang (1965) a injecté 90 Unités Internationales (UI) d'hCG par voie intrapéritonéale induisant l'ovulation 24 à 36 heures plus tard. Il y avait en moyenne 14,5 follicules par animal, ce qui a abouti à un pourcentage de fécondation de 73 % si l'injection était effectuée au moment de l'IA, 40 % si l'injection était effectuée 36 heures après l'IA et qui décroissait à 72, 84, 96 heures après. Il était même de 0 % 108 heures après. Ceci semble indiquer que les spermatozoïdes ne demeurent fertiles que 126 heures au maximum.

Les Furets domestiques de Wildt *et al.* (1989) étaient en œstrus naturel mais l'ovulation était déclenchée par l'hCG, au moment de l'insémination.

Pour le Furet à pieds noirs, les femelles ont reçu de l'hCG 5 à 7 jours après un gonflement vulvaire maximal et l'observation de plus de 90 % de cellules vaginales superficielles kératinisées (Howard et Wildt, 2009).

b. Anesthésie

L'anesthésie pré ovulatoire chez le Furet domestique ne compromet pas l'ovulation ni le succès de l'IA (Wildt *et al.*, 1989). Des taux de gestation élevés (65-75 %) ont pu être obtenus lorsque l'anesthésie à base de tilétamine et zolazépam à la dose de 10 mg/kg et l'IA étaient effectuées soit 24 heures après l'injection de hCG (six heures avant l'ovulation prévue) soit au moment de l'injection de hCG (30 heures avant l'ovulation prévue). Dans une autre étude, douze à vingt heures après l'injection de l'hCG, les Furets à pieds noirs femelles étaient anesthésiées (Howard et Wildt, 2009).

c. Insémination artificielle

Du fait du très faible volume d'éjaculat propre aux mustélidés, le lieu de dépôt de la semence est essentiel pour permettre une gestation.

- *Intra-vaginale*

C'est la méthode la moins invasive, développée chez le Furet domestique (Wildt *et al.*, 1989 ; Kidder *et al.*, 1998). Les Furets domestiques femelles étaient anesthésiées, la région périnéale nettoyée avec une solution saline stérile puis les spécimens maintenus par les pattes arrière en position renversée. Cent microlitres de semence étaient ensuite aspirés

dans un tube de polyéthylène stérile puis introduits dans le vagin. La femelle était ensuite maintenue dans la même position pendant dix minutes (Kidder *et al.*, 1998). Mais cette méthode s'est avérée très peu efficace. Aucune gestation n'avait été obtenue sur dix femelles Furets domestiques après insémination artificielle intra-vaginale avec du sperme frais (Wildt *et al.*, 1989).

- *Intra-utérine par laparoscopie*

Cette technique a été développée chez le Furet domestique. Une incision cutanée d'un cm est effectuée deux cm environ crânialement à l'ombilic. Chaque corne utérine est identifiée puis perforée afin de déposer directement des spermatozoïdes décongelés grâce à un cathéter stérile de 18 (Wildt *et al.*, 1989), 22 (Howard *et al.*, 2016) ou 27 gauges (Chang, 1965). Une fois dans la lumière utérine, le mandrin du cathéter est retiré. Visualiser la corne et le passage du cathéter dans la lumière permet de s'assurer que l'extrémité du cathéter est bien positionnée dans la moitié proximale de la corne. Cinquante (Wildt *et al.*, 1989) à 100 µL (Chang, 1965) de sperme dilué sont ensuite injectés. Immédiatement après avoir déposé le deuxième volume de sperme dans l'autre corne, le matériel est retiré et le site d'incision suturé (Wildt *et al.*, 1989). Cette procédure nécessite 10 à 15 minutes une fois la femelle anesthésiée (Howard *et al.*, 2016).

- *Transcervicale*

C'est une technique bien mise au point chez les chiens et chats. Chez les Mustélidés, elle a seulement été développée chez le Furet domestique (Kidder *et al.*, 1998). Elle consiste à déposer la semence dans les cornes utérines en passant le col de l'utérus à l'aide d'un cathéter spécial.

Les femelles sont anesthésiées par une injection intramusculaire de xylazine à la dose de 2 mL/kg suivie par une injection intramusculaire de kétamine 5 minutes plus tard à la dose de 25 mg/kg. Les femelles sont disposées en décubitus dorsal, le tiers caudal étant surélevé. Le vagin est rincé avec une solution saline contenant 5 % d'antibiotique et d'antimycosique (Kidder *et al.*, 1998).

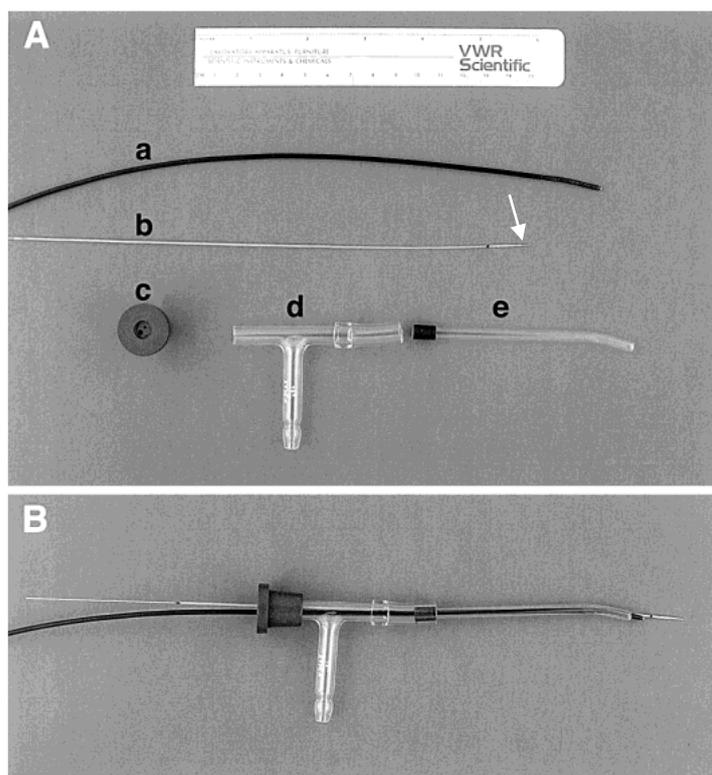
Un spéculum fabriqué à partir d'une gaine en plastique mesurant 25 mm de long pour 5 mm de diamètre (Figure 20) est lubrifié puis inséré dans le vagin et avancé doucement jusqu'à la partie antérieure du vagin (Kidder *et al.*, 1998). Un connecteur en verre en forme de T (Figure 20) est ensuite attaché au spéculum et permet d'insuffler de l'air avec 5 % de CO₂ à basse pression pour faire gonfler le vagin antérieur.

Un fibroscope flexible de 2,2 mm de diamètre (Figure 20) est ensuite inséré dans le spéculum afin de visualiser le vagin antérieur et le col de l'utérus. Un cathéter de 23 cm de long et de 0,58 mm de diamètre interne est ensuite inséré dans le spéculum à son tour avec son guide de 0,37 mm de diamètre. Ce dernier est marqué à 23 cm en partant de son extrémité distale afin que la distance entre cette marque sur le guide et l'extrémité proximale du cathéter donne la distance à laquelle le guide a été avancé.

Figure 20 : Matériel pour l'insémination artificielle transcervicale chez le Furet domestique (Kidder *et al.*, 1998)

A : matériel désassemblé ; a : fibroscope flexible de 2,2 mm de diamètre ; b : cathéter de 23 cm de long, de 0,58 mm de diamètre interne et de 0,96 mm de diamètre externe ; c : bouchon de vacutainer avec deux orifices pour l'insertion du fibroscope et du cathéter dans le spéculum ; d : connecteur en verre en forme de T de 8 mm de diamètre ; e : spéculum fait à partir d'une gaine en plastique mesurant 25 mm de long pour 5 mm de diamètre ; flèche blanche : anneau noir situé à 1,5 cm de l'extrémité distale du cathéter

B : matériel assemblé avec le fibroscope et le cathéter passant dans le spéculum



Après que le cathéter a été introduit dans le vagin antérieur, le guide est avancé de quelques millimètres au-delà du cathéter afin d'effleurer doucement la surface du col de l'utérus pour trouver l'orifice. Le guide passe facilement le col une fois l'orifice localisé. Il faut veiller à ne pas perforer la paroi utérine.

Le cathéter est ensuite avancé le long du guide dans le vagin jusqu'à ce qu'un anneau noir (indiqué par la flèche blanche sur la Figure 20) situé à 1,5 cm de l'extrémité distale du cathéter soit dans le col de l'utérus. Cela indique que l'ouverture ovale du cathéter se situe dans la lumière du corps utérin, permettant la bonne expulsion de la semence.

La cathétérisation cervicale a été réussie dans 90 % des essais. Le temps moyen était de 7 min.

C'est la technique transcervicale qui a également été utilisée par Santucci (2019) dans le cadre de sa thèse vétérinaire. Lors de leurs expérimentations sur le Vison d'Europe,

il a été observé qu'un cathéter de 0,7 mm de diamètre pouvait passer le col de l'utérus mais pas des cathéters de 1,1 et 1,4 mm de diamètre.

- *Résultats*

- IA intra-utérine par laparoscopie

Après insémination artificielle intra-utérine par laparoscopie avec du sperme frais, 70,8 % (17/24) des Furettes domestiques ont été gestantes et ont donné naissance à des petits vivants (Wildt *et al.*, 1989). La voie intra-utérine s'est révélée aussi efficace avec du sperme congelé donnant un taux de gestation de 70 % (7/10) (Howard *et al.*, 1991) et de 70,6 % (24 femelles sur 34) (Howard *et al.*, 2002). Cela correspond à une efficacité reproductive de plus de 70 % chez les Furets domestiques après une insémination artificielle intra-utérine par laparoscopie avec des spermatozoïdes frais ou congelés. Chez le Putois des steppes, avec du sperme congelé et une insémination intra-utérine, un taux de gestation de 80 % (8 femelles sur 10) et la naissance de 42 petits au total ont été observés (Howard *et al.*, 2002).

Pour le Furet à pieds noirs, c'est donc l'insémination intra-utérine par laparoscopie qui a été choisie, du fait des résultats chez les Furets domestiques et Putois des steppes. La procédure a conduit à un taux de gestation de 59,8 % (49 femelles sur 82) en réalisant une insémination avant ovulation avec du sperme frais ou congelé. Un total de 139 petits en a découlé dont 8 grâce au sperme provenant de mâles dont la semence était cryoconservée depuis 10 à 20 ans. Ceci souligne donc l'intérêt majeur de l'IA combinée avec la cryoconservation du sperme : pouvoir réinjecter dans une population, dont la diversité génétique est limitée, un matériel génétique datant de 10 ans (Howard et Wildt, 2009).

- Transcervicale

L'insémination transcervicale a abouti à un meilleur taux de gestation (79 %) chez des Furettes inséminées 24 heures après une administration de hCG en comparaison avec celui de femelles inséminées au moment de l'injection hormonale qui était de 17 % (Kidder *et al.*, 1998). Cependant, le nombre de fœtus obtenu était plus faible par rapport à l'étude de Wildt *et al.* (1989) avec une moyenne de 3,1 contre 5,2. Cela peut s'expliquer par une variabilité individuelle car les portées précédentes des femelles de la première étude (Kidder *et al.*, 1998) comptaient en moyenne 6,2 petits, soit un chiffre bien inférieur au nombre moyen de 8 à 10 petits.

De plus, le nombre de fœtus 20 jours après l'insémination était significativement supérieur à celui de femelles inséminées par laparotomie, dans la même étude (Kidder *et al.*, 1998). Cela conforte l'idée qu'il faille développer une méthode non invasive.

D. Collecte et transfert d'embryons

Cette partie est développée en Annexe 2 car elle n'est pas en lien direct avec notre étude.

Il y a donc eu de nombreuses études des biotechnologies de la reproduction chez le Furet domestique, le Vison d'Amérique et parallèlement chez le Furet à pieds noirs. Nous n'avons pas trouvé de publications sur le Vison d'Europe. Nous avons aussi vu combien les essais chez le Furet domestique ont été précieux pour les réussites des inséminations chez le Furet à pieds noirs. Il est donc nécessaire de conduire des études chez le Furet domestique avant

d'envisager quoi que ce soit sur le Vison d'Europe qui comptabilise moins de 250 individus sauvages en France. Mais pour cela, il faut d'abord s'assurer que le Furet domestique est un bon modèle expérimental.

4. Le Vison d'Europe et le Furet domestique : deux espèces très proches

Nous allons essayer de démontrer dans cette partie que le Furet domestique est un bon modèle expérimental pour le Vison d'Europe aussi bien pour étudier sa reproduction que pour développer un protocole d'insémination artificielle. C'est une approche similaire qui avait été conduite chez le Furet à pieds noirs, espèce réduite au pire moment à 18 reproducteurs mais sauvée de l'extinction grâce aux études menées en parallèle chez le Furet domestique et à l'insémination artificielle avec du sperme congelé parfois depuis 10 ou 20 ans.

A. Phylogénétique

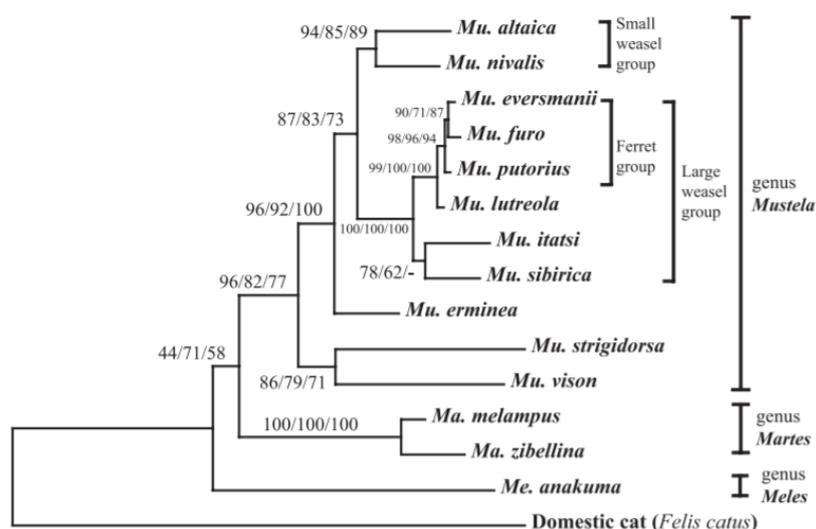
Le genre *Mustela* est le plus large de l'Ordre des Carnivores puisqu'il contient 17 espèces (Kurose *et al.*, 2008). Il est divisé en deux clades principaux : le groupe des petites belettes et celui des grandes belettes, auquel appartiennent les furets, les putois (comme le Putois d'Europe et le Putois des steppes) et le Vison d'Europe (Kurose *et al.*, 2008 ; Sato *et al.*, 2012). Cette classification est fondée sur des critères d'analyse de la structure antigénique des chaînes d'immunoglobulines et sur la phylogénie moléculaire déduite de l'analyse du séquençage de deux fragments d'ADN mitochondrial, celui du cytochrome *b* et de la D-loop (Figure 21) (Davison *et al.*, 1999 ; Davison *et al.*, 2000 ; Kurose *et al.*, 2008), sur un séquençage de gènes nucléaires (Sato *et al.*, 2012).

Figure 21 : Arbre phylogénétique s'appuyant sur les séquences du gène du cytochrome b et de l'ARN ribosomique mitochondrial 12S (Kurose *et al.*, 2008)

Mu.* Correspond à *Mustela* ; *Ma.* Correspond à *Martes* ; *Me.* Correspond à *Meles

« *Small weasel group* » = groupe des petites belettes ; « *ferret group* » = groupe des furets ; « *large weasel group* » = groupe des grandes belettes ; « *genus* » = genre ; « *domestic cat* » = chat domestique

On peut voir que le Vison d'Europe (*Mustela lutreola*) est très proche du groupe des furets (Ferret group) puisque les valeurs obtenues correspondant aux proximités génétiques se situent entre 99 et 100 % (voir la branche reliant le Vison d'Europe au groupe des furets : 99/100/100)



Ce schéma indique donc que le Vison d'Europe résulte soit d'une hybridation soit qu'il y a eu une spéciation lors de la dernière période glaciaire ou de l'Holocène, d'après des estimations de datation de fossiles (Davison *et al.*, 2000) tandis que ceux de *Mustela putorius* ou *Mustela eversmanii* remontent au Pléistocène (Davison *et al.*, 2000).

Cependant, la phylogénie du groupe des grandes belettes n'est pas clairement définie. Il n'y a pas de consensus sur l'espèce la plus proche du Vison d'Europe (Kurose *et al.*, 2008). Certains auteurs rapprochent ainsi *Mustela lutreola* du Putois des steppes (Davison *et al.*, 1999 ; Michaux *et al.*, 2004) ou du Putois d'Europe (Wildt *et al.*, 1989 ; Amstislavsky *et al.*, 2004 ; Kurose *et al.*, 2008 ; Amstislavsky *et al.*, 2008). Sur la base du caryotype, les Mustélidés possèdent entre 38 et 44 chromosomes (Kurose *et al.*, 2008). Or, nous pouvons voir dans le Tableau 1, que le Vison d'Europe en possède 38, le Furet domestique 40 tandis que le Vison d'Amérique n'en possède que 30 (Kurose *et al.*, 2008).

Tableau 1 : Nombre de chromosomes des Mustélidés et du Vison d'Amérique (traduit d'après Kurose *et al.*, 2008)

A gauche, on retrouve les noms latins de différentes espèces avec le nom commun en anglais dans la deuxième colonne, leur nom de code pour l'étude dans la troisième colonne et le nombre de chromosomes dans la dernière colonne

Espèce	Nom commun	Nombre de chromosomes
<i>Mustela nivalis</i>	Belette d'Europe	42
<i>Mustela altaica</i>	Belette de montagne	44
<i>Mustela erminea</i>	Hermine	44
<i>Mustela itatsi</i>	Belette du Japon	38
<i>Mustela sibirica</i>	Vison de Sibérie	38
<i>Mustela eversmanii</i>	Putois des steppes	38
<i>Mustela putorius</i>	Putois d'Europe	40
<i>Mustela furo</i>	Furet domestique	40
<i>Mustela lutreola</i>	Vison d'Europe	38
<i>Neovison vison</i>	Vison d'Amérique	30
<i>Martes melampus</i>	Martre du Japon	38
<i>Martes zibellina</i>	Zibeline	38
<i>Meles anakuma</i>	Blaireau japonais	44

Le Vison d'Europe, le Putois d'Europe, le Furet domestique et le Putois des steppes forment un syngaméon c'est-à-dire que ce sont des espèces génétiquement proches mais morphologiquement différentes et n'occupant pas la même niche écologique d'où le fait de les différencier en tant qu'espèces (Peltier et Lodé, 2003). Cependant, des recherches expérimentales ont montré que ces espèces étaient partiellement interfertiles (Ternovsky et Ternovskaya, 1994). En effet, seules les combinaisons Vison d'Europe femelle se reproduisant avec un Putois d'Europe ou Vison d'Europe femelle avec un Furet domestique mâle produisent des hybrides. Les femelles hybrides étaient fertiles et les mâles des trois premières générations au minimum étaient stériles. Des hybrides Vison d'Europe x Putois d'Europe observés dans la nature dans le nord-est de la Biélorussie semblaient se comporter comme un intermédiaire entre les deux espèces en termes d'activité journalière, de régime alimentaire et d'exploitation de l'habitat (Sidorovich, 2001). En milieu naturel, ces hybrides sont observés dans les régions où le Vison d'Europe se fait très rare, pas lorsqu'il est présent de manière plus commune (Tumanov et Abramov, 2002 ; Lodé *et al.*, 2005)

Ainsi, nous pouvons constater que le Vison d'Europe et le Furet domestique possèdent des similarités et différences regroupées dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique d'un point de vue phylogénétique (Source : synthèse personnelle d'après Wildt *et al.* (1989) ; Ternovsky et Ternovskaya (1994) ; Davison *et al.* (1999) ; Davison *et al.* (2000) ; Sidorovich (2001) ; Tumanov et Abramov (2002) ; Peltier et Lodé (2003) ; Michaux *et al.* (2004) ; Amstislavsky *et al.* (2004) ; Lodé *et al.* (2005) ; Kurose *et al.* (2008) ; Amstislavsky *et al.* (2008) ; Sato *et al.* (2012))

	Vison d'Europe	Furet domestique
Genre	<i>Mustela</i>	
Groupe	Grandes belettes	
Nombre de chromosomes	38	40
Hybridation	Possible avec le Furet domestique	Possible avec le Vison d'Europe

B. Anatomie de l'appareil reproducteur

Il est essentiel dans le cadre de la conservation d'espèces menacées de connaître parfaitement l'anatomie des espèces à protéger. L'appareil reproducteur du Furet est bien étudié.

a. Mâles

- *Furet*

Les testicules sont localisés sous l'anus. Ils descendent dans le scrotum à l'âge de 10 semaines. Ils peuvent cependant se situer dans le canal inguinal en dehors de la période d'activité sexuelle (Jekl et Hauptman, 2017).

L'os pénien peut facilement être palpé caudalement au prépuce. La base de cet os est intégrée dans un tendon qui passe sous le bassin et est attaché au bord caudal des deux os pubiens. La cavité de l'os est constituée par l'urètre ce qui maintient sa perméabilité pendant le coït. La portion distale de l'os pénien est en forme de J (Figure 22), incurvée dorsalement et soutient le gland du pénis.

Figure 22 : Image radiographique de profil de l'os pénien en J du Furet mâle (Jekl et Hauptman, 2017)

La flèche blanche indique l'os pénien



L'orifice urétral est une ouverture en forme de fente, sur la partie ventrale du gland située à 2 – 4 mm de l'extrémité distale (Figure 23). La prostate est la seule glande accessoire chez le Furet, entourant l'urètre à la base de la vessie (Jekl et Hauptman, 2017).

Figure 23 : Cathéter urinaire permettant de visualiser l'orifice urétral d'un Furet domestique mâle placé en décubitus dorsal (Jekl et Hauptman, 2017)



- *Vison d'Europe*

L'anatomie du Vison d'Europe mâle n'est pas beaucoup détaillée dans la littérature scientifique même s'il est supposé très proche du Furet domestique. Les expérimentations faites par Santucci (2019) confirment ces suppositions avec la présence d'une extrémité du pénis courbée en J (Figure 24).

Figure 24 : Sondage urétral d'un Vison d'Europe mâle permettant de mettre en évidence l'extrémité du pénis courbée en J (Santucci, 2019)



Cependant, les expérimentations ayant été réalisées hors de la saison sexuelle, les testicules n'ont pu être observés dans le scrotum.

- *Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique mâles du point de vue de l'anatomie de l'appareil reproducteur*

Ainsi, nous pouvons voir que le Vison d'Europe et le Furet domestique possèdent des similarités et différences regroupées dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique mâles du point de vue de l'anatomie de l'appareil reproducteur (Source : synthèse personnelle d'après Jekl et Hauptman (2017) ; Santucci, (2019))

	Vison d'Europe	Furet domestique
Testicules	Sous l'anus	
Descente des testicules dans le scrotum	Dans le canal inguinal en dehors de la période d'activité sexuelle	A l'âge de 10 semaines Peuvent être dans le canal inguinal en dehors de la période d'activité sexuelle
Os pénien	Portion distale en forme de J, incurvée dorsalement	
Orifice urétral	En forme de fente sur la partie ventrale du gland	

b. Femelles

- *Furet*

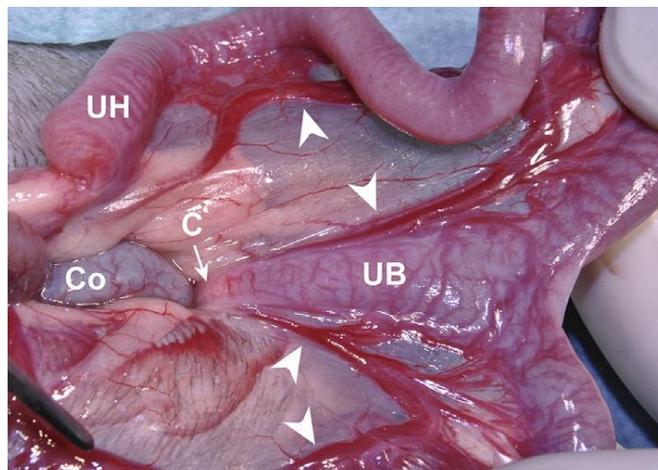
L'ouverture génitale, c'est-à-dire la vulve, de la Furette domestique se situe sous l'anus. Elle se présente comme une ouverture verticale en forme de fente. Les autres parties composant

la vulve sont un vestibule, un clitoris et des lèvres. Le vestibule correspond à la partie caudale du canal pelvien, l'orifice urétral se situant sur son plancher ventral. La partie crâniale du canal pelvien correspond au col de l'utérus qui fait 1,7 cm de long et 3,6 mm de diamètre chez la femelle mature (Fox et Marini, 2014). Les deux parties du canal pelvien forment le vagin (Jekl et Hauptman, 2017) qui mesure, chez la femelle sexuellement mature, de 1,5 à 1,8 cm de long sur 3,6 mm de diamètre (Fox et Marini, 2014).

L'utérus est bicornué puisqu'il est constitué de deux longues cornes utérines mesurant 4,2 à 4,3 cm de long sur 2,2 mm de diamètre (Fox et Marini, 2014). Le corps utérin est de petite taille (Jekl et Hauptman, 2017), soit 1,7 cm de long pour 1,1 à 2,5 mm de diamètre (Fox et Marini, 2014) (Figure 25).

Figure 25 : Visualisation de l'appareil génital du Furet domestique femelle (Jekl et Hauptman, 2017)

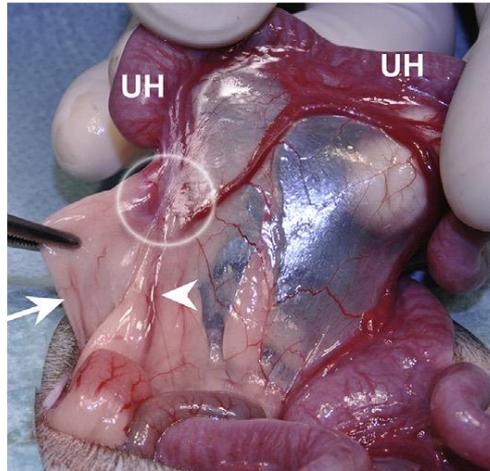
C : col de l'utérus ; Co : côlon ; UB : corps utérin ; UH : corne utérine ; têtes de flèches : veines et artères utérines



Les ovaires sont situés dans la partie dorsale de l'abdomen, caudalement aux deux reins. L'ovaire gauche est attaché à la paroi abdominale près du milieu de la 13^{ème} côte par le ligament suspenseur. L'ovaire droit est attaché de la même manière vers le milieu de la 14^{ème} côte. Les ovaires sont quasiment complètement enveloppés dans la bourse ovarique formée par le mésosalpinx et le mésovarium, enfermant l'infundibulum de la trompe utérine et de l'ovaire (Jekl et Hauptman, 2017) (Figure 26).

Figure 26 : Visualisation de l'appareil génital du Furet domestique femelle (Jekl et Hauptman, 2017)

UH : corne utérine ; cercle blanc : ovaire ; flèche blanche : ligament suspenseur ; tête de flèche : veine et artère ovariennes



La vascularisation de l'appareil génital de la femelle est assurée par les artères et veines ovariennes et utérines (Figures 25 et 26).

- *Vison d'Europe*

L'anatomie du Vison d'Europe femelle n'est pas non plus décrite dans la littérature scientifique. Des autopsies réalisées par Santucci (2019) ont mis en évidence un utérus bicornué avec des cornes mesurant 4 cm de longueur, un corps utérin de 1,5 cm de longueur, un col utérin d'environ 4 mm de diamètre et un vagin d'environ 2 cm de longueur sur 3 à 4 mm de diamètre (Figure 2).

Figure 27 : Utérus bicornué d'une femelle Vison d'Europe (Santucci, 2019)



- *Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue de l'anatomie de l'appareil reproducteur*

Ainsi, nous pouvons voir que le Vison d'Europe et le Furet domestique possèdent des similarités et différences regroupées dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue de l'anatomie de l'appareil reproducteur (Source : synthèse personnelle d'après Fox et Marini (2014) ; Jekl et Hauptman (2017) ; Santucci (2019))

	Vison d'Europe	Furet domestique
Vulve	Sous l'anus Ouverture verticale en forme de fente	
Vagin	2 cm de longueur pour 3 à 4 mm de diamètre	1,5 à 1,8 cm de long pour 3,6 mm de diamètre
Col de l'utérus	4 mm de diamètre	1,7 cm de long pour 3,6 mm de diamètre
Corps de l'utérus	1,5 cm de longueur	1,7 cm de long pour 1,1 à 2,5 mm de diamètre
Utérus	Bicornué	
Cornes utérines	4 cm de longueur	4,2 à 4,3 cm de long pour 0,22 cm de diamètre
Ovaires	Dans l'abdomen dorsal, caudalement aux deux reins	

C. Physiologie de la reproduction

Il est essentiel pour faire de la conservation des espèces menacées de connaître parfaitement la physiologie de leur reproduction.

a. Mâles

- *Maturité sexuelle*

- Furet domestique

Si la durée du jour est de 12 à 14 heures, les Furets domestiques mâles deviennent sexuellement matures à six – huit mois. Les mâles nés en été, seront matures au printemps suivant soit à l'âge de 8 à 12 mois (Jekl et Hauptman, 2017).

- Vison d'Europe

Il était initialement établi que la plupart des Mustélidés avait leur maturité sexuelle à l'âge de 8 à 12 mois (Amstislavsky et Ternovskaya, 2000). Cependant, dans des conditions de captivité en Russie, seulement 30 % des mâles Visons d'Europe deviennent matures au cours de leur première année de vie, les autres participant à la reproduction lors de leur deuxième année ou ne parvenant pas à se reproduire du tout dans ces conditions (Amstislavsky, 2009).

- Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique mâles du point de vue de la maturité sexuelle

Ainsi, nous pouvons voir que le Vison d'Europe et le Furet domestique possèdent des similarités et différences regroupées dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique mâles du point de vue de la maturité sexuelle (Source : synthèse personnelle d'après Amstislavsky et Ternovskaya (2000) ; Amstislavsky *et al.* (2009) ; Jekl et Hauptman (2017))

	Vison d'Europe	Furet domestique
Maturité sexuelle	8 – 12 mois 30 % ne sont pas encore matures sexuellement et doivent donc attendre leur deuxième année de vie	6 – 8 mois 8 – 12 mois si nés l'été

- *Période d'activité sexuelle*

- Furet domestique

Les mâles ont une période d'activité sexuelle un peu plus précoce que les femelles, courant de décembre à juillet (Marini *et al.*, 2002 ; Jekl et Hauptman, 2017). Un mâle peut féconder plusieurs femelles (Mayer *et al.*, 2015).

- Vison d'Europe

Les Visons d'Europe mâles semblent également avoir une période d'activité sexuelle précoce par rapport aux femelles. La différenciation active des spermatides en spermatozoïdes matures a lieu de février à avril au nord-ouest de la Russie (Youngman, 1990). Certains mâles peuvent être polygames et féconder jusqu'à neuf femelles lors d'une période d'activité sexuelle (Amstislavsky, 2009).

Mazzola-Rossi (2006), a voulu caractériser cette période afin de l'affiner au maximum à l'aide de différents marqueurs comme le poids des testicules, leur largeur et l'évolution du caractère apparent de ces derniers. Les animaux observés étaient des animaux capturés, intentionnellement ou non, en France. Les testicules étaient d'un poids plus important, supérieur à 400 g, de début janvier à la mi-mai tandis que de mi-octobre à janvier ils pesaient moins de 200 g. Pour la largeur, une augmentation était notée à partir de janvier (supérieure à 8 mm) et elle se maintenait à des valeurs élevées jusqu'à mi-juin. Enfin, les testicules apparents étaient détectés de décembre à mai. L'ensemble de ces marqueurs semble donc indiquer une période d'activité sexuelle pour les Visons d'Europe sauvages en France de décembre à juin, en prenant les extrêmes de chaque marqueur (Tableau 6).

Tableau 6 : Période d'activité sexuelle de Visons d'Europe mâles sauvages en France (Mazzola-Rossi, 2006)

Les cases foncées correspondent au fait que la majorité des Visons d'Europe mâles capturés présentait la caractéristique indiquée dans la colonne de gauche à cette période. Les cases claires correspondent au fait qu'une partie des Visons d'Europe mâles capturés présentait la caractéristique indiquée dans la colonne de gauche à cette période. Les cases blanches correspondent au fait qu'aucun des Visons d'Europe mâles capturés ne présentait la caractéristique indiquée dans la colonne de gauche à cette période. Les cases avec les lettres « ND » correspondent au fait qu'il n'y a pas eu de mesure de la colonne de gauche sur des Visons d'Europe mâles capturés à cette période.

Testicules	Janv	Fév	Mars	Avril	Mai	Juin	Juil	Août	Sept	Oct	Nov	Déc
Augmentation du poids				ND	ND	ND	ND	ND	ND			ND
Augmentation largeur							ND					
Testicules apparents												
Période d'activité sexuelle des mâles (extrêmes)												

<i>Légende</i>	Majorité des individus	
	Partie des individus	
	Pas de données	ND

- Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique mâles du point de vue de la période d'activité sexuelle

Ainsi, nous pouvons voir que le Vison d'Europe et le Furet domestique possèdent des similarités et différences regroupées dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique mâles du point de vue de la période d'activité sexuelle (Source : synthèse personnelle d'après Youngman (1990) ; Marini *et al.* (2002) ; Mazzola-Rossi (2006) ; Amstislavsky *et al.* (2009) ; Mayer *et al.* (2015) ; Jekl et Hauptman (2017))

	Vison d'Europe	Furet domestique
Période d'activité sexuelle	De décembre à juin	De décembre à juillet

- *Fonction testiculaire*

Le rétrocontrôle négatif de la testostérone sur la sécrétion hypothalamique de la GnRH (Gonadotropin-Releasing Hormone) contrôle la puberté et la saisonnalité de la reproduction du mâle, cette sensibilité diminuant avec l'âge au moment où s'exerce le rétrocontrôle (Jekl et Hauptman, 2017). Une stimulation de la libération pulsatile de LH (Hormone Lutéinisante) reflétant l'activité pulsatile de la GnRH quand la durée du jour est égale ou supérieure à huit heures a été décrite (Jallageas *et al.*, 1994) mais aucun pic de LH au moment du coït (Mayer *et al.*, 2015). De plus, il semble exister une corrélation entre la taille des testicules et la concentration plasmatique en testostérone. D'août à décembre, hors de la saison de reproduction, les testicules sont de plus petite taille et la concentration plasmatique en testostérone est faible. Les pics de tailles de testicules et de concentration en testostérone sont observés d'avril à juin (Neal *et al.*, 1977). Pendant la période d'activité sexuelle, la

durée de la spermatogenèse, qui se décompose en huit étapes, est estimée de 52 à 58,5 jours (Nakai *et al.*, 2004).

b. Femelles

- *Maturité sexuelle*

La maturité sexuelle correspond au moment où les femelles peuvent être mises à la reproduction.

- Furet domestique

Si la durée de jour est au minimum de 12 à 14 heures, les femelles deviennent matures sexuellement à 4 - 5 mois (Jekl et Hauptman, 2017). Sous lumière artificielle avec 8 heures de jour et 16 heures de nuit, les femelles sont matures entre 10 et 12 mois d'âge (Mayer *et al.*, 2015). Il ne faut pas qu'il y ait une transition de jours courts à jours longs avant l'âge de 3 mois sinon les femelles risquent de rester en anœstrus (Mayer *et al.*, 2015).

- Vison d'Europe

Les femelles deviennent sexuellement matures à partir de 9 à 10 mois (Youngman, 1990).

- Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue de la maturité sexuelle

Ainsi, nous pouvons voir que le Vison d'Europe et le Furet domestique possèdent des similarités et différences regroupées dans le Tableau 8.

Tableau 8 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue de la maturité sexuelle (Source : synthèse personnelle d'après Youngman (1990) ; Mayer *et al.* (2015) ; Jekl et Hauptman (2017))

	Vison d'Europe	Furet domestique
Maturité sexuelle	9 – 10 mois	4 - 5 mois si la durée du jour est supérieur à 12 heures, 10 à 12 mois sinon

- *Cycle œstral*

- Furet domestique

Les femelles Furets domestiques sont des animaux à cycle polyœstrien saisonnier. La première phase du cycle est le proœstrus, début mars. Après deux à trois semaines de proœstrus, c'est la phase d'œstrus (Jekl et Hauptman, 2017). S'il y a ovulation, plusieurs œstrus surviennent au cours du cycle de reproduction, mais environ la moitié des femelles reste en œstrus permanent de fin mars à début août en l'absence d'accouplement (Lindeberg, 2008 ; Jekl et Hauptman, 2017).

- Vison d'Europe

Les femelles Visons d'Europe sont aussi des animaux à cycle polyœstrien saisonnier.

Le proœstrus commence à la fin du mois de mars ou dans la première moitié du mois d'avril (Youngman, 1990 ; Amstislavsky *et al.*, 2009). Cette phase ne dure pas plus de six jours en

général (Youngman, 1990). Vient ensuite la phase d'œstrus entre le 20 mars et le 1^{er} juin se terminant au plus tard le 30 juin (Youngman, 1990). Mazzola-Rossi (2006) a mis en évidence que des Visons d'Europe femelles dans le milieu naturel dans le sud-ouest de la France, présentaient un œstrus de février à avril. Un œstrus dure d'un à dix jours avec une moyenne de cinq jours (Youngman, 1990 ; Amstislavsky et Ternovskaya, 2000 ; Lindeberg, 2003 ; Amstislavsky *et al.*, 2004) mais les femelles peuvent en avoir plusieurs tant qu'elles ne se sont pas reproduites (Nagl *et al.*, 2015), le premier œstrus durant généralement plus longtemps (Youngman, 1990) et deux œstrus consécutifs étant séparés d'environ 1 mois (Amstislavsky *et al.*, 2009). S'il n'y a pas de gestation, la phase suivante est le metœstrus qui dure d'un à trente-deux jours, avec une moyenne de 10 jours (Youngman, 1990). Puis la dernière phase, celle du repos sexuel, correspond à l'anœstrus qui s'étend jusqu'au proœstrus suivant.

□ Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue du cycle œstral

Ainsi, nous pouvons voir que le Vison d'Europe et le Furet domestique possèdent des similarités et différences regroupées dans le Tableau 9.

Tableau 9 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue du cycle œstral (Source : synthèse personnelle d'après Youngman (1990) ; Amstislavsky et Ternovskaya (2000) ; Lindeberg (2003) ; Amstislavsky *et al.* (2004) ; Mazzola-Rossi (2006) ; Lindeberg (2008) ; Amstislavsky *et al.* (2009) ; Nagl *et al.* (2015) ; Jekl et Hauptman (2017))

	Vison d'Europe	Furet domestique
Cycle	Polyœstrien saisonnier	
Proœstrus	Fin mars ou première moitié avril Pas plus de 6 jours	Début mars 2 à 3 semaines
œstrus	Entre février à fin juin Dure de 1 à 10 jours (moyenne 5 jours)	50 % : œstrus permanent de fin mars à début août si pas d'accouplement
Metœstrus	1 à 32 jours (moyenne 10 jours)	/

• *Cycle ovarien*

□ Furet domestique

Les Furettes ont une ovulation réflexe. Un *stimulus* tactile réalisé par le coït est nécessaire afin de déclencher l'ovulation (Jekl et Hauptman, 2017), même si cette phase ne dure qu'une minute (Carroll *et al.*, 1985). En effet, le crochet en J de la partie distale de l'os pénien représente une structure dure de nature à stimuler la portion du vagin et du col de l'utérus de la femelle riche en terminaisons nerveuses, contribuant ainsi à déclencher l'ovulation (Lindeberg, 2003). Les odeurs et la morsure au niveau du cou pourraient jouer un rôle et seraient aussi nécessaires que l'intromission pour déclencher l'ovulation (Mayer *et al.*, 2015). Cependant, sans intromission, il n'y a pas de pic de LH et donc pas d'ovulation (Carroll *et al.*,

1985). Des vagues de développement folliculaire ont lieu pendant l'œstrus ce qui permet l'ovulation de 5 à 13 ovules 30 à 40 heures après le coït (Mayer *et al.*, 2015).

□ Vison d'Europe

L'ovulation est aussi induite par l'accouplement (Youngman, 1990) qui entraîne un pic de LH (Amstislavsky et Ternovskaya, 2000).

□ Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue du cycle ovarien

Ainsi, nous pouvons voir que le Vison d'Europe et le Furet domestique possèdent des similarités et différences regroupées dans le Tableau 10.

Tableau 10 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue du cycle ovarien (Source : synthèse personnelle d'après Carroll *et al.* (1985) ; Youngman (1990) ; Amstislavsky et Ternovskaya (2000) ; Lindeberg (2003) ; Mayer *et al.* (2015) ; Jekl et Hauptman (2017))

	Vison d'Europe	Furet domestique
Ovulation	Induite par l'accouplement	Induite par l'accouplement Nécessité d'avoir une intromission Odeurs et morsures au cou importantes

• *Activité ovarienne*

□ Furet domestique

La sécrétion d'Hormone Lutéinisante (LH) par l'hypophyse antérieure est inhibée par l'œstradiol. Cependant, à la puberté et lorsque les jours s'allongent, la LH augmente même si l'œstradiol est élevé (Mayer *et al.*, 2015). Un pic de LH accompagne le coït (Mayer *et al.*, 2015), ce qui déclenche l'ovulation (Amstislavsky et Ternovskaya, 2000).

□ Vison d'Europe

Un pic de LH est aussi observé au moment du coït, déclenchant l'ovulation (Amstislavsky et Ternovskaya, 2000).

□ Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue de l'activité ovarienne

Ainsi, nous pouvons voir que le Vison d'Europe et le Furet domestique possèdent des similarités et différences regroupées dans le Tableau 11.

Tableau 11 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue de l'activité ovarienne (Source : synthèse personnelle d'après Amstislavsky et Ternovskaya (2000) ; Mayer *et al.* (2015) ; Jekl et Hauptman (2017))

	Vison d'Europe	Furet domestique
LH	Pic au moment du coït Déclenche l'ovulation	

- *Fonction ovarienne*

Progestérone

- Furet domestique

Le corps jaune commence à sécréter de la progestérone immédiatement après l'ovulation avec un pic survenant entre 12 et 14 jours. Elle diminue progressivement entre le 24^{ème} jour et le jour de la mise-bas, entre le 39^{ème} et le 42^{ème} jour, où elle n'est pas encore à un niveau basal. La progestéronémie atteint son plancher plus de 7 jours après la mise-bas (Lindeberg, 2008).

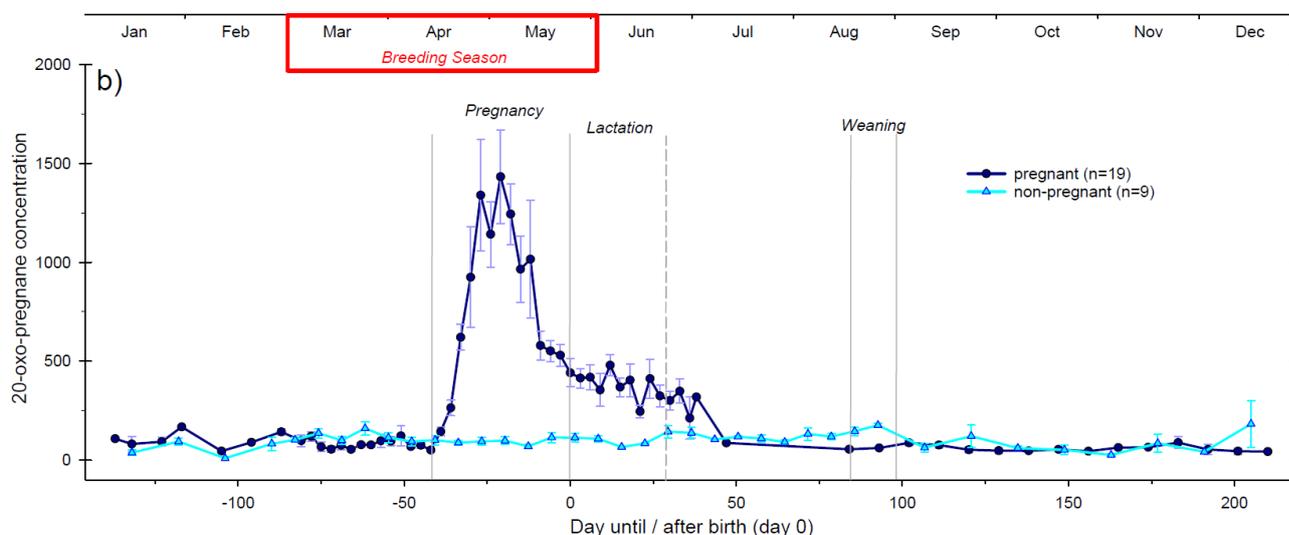
- Vison d'Europe

Chez le Vison d'Europe, l'évolution de la progestérone est similaire à celle du Furet avec une augmentation significative pendant la gestation et modérée durant la lactation (Amstislavsky, 2009 ; Nagl *et al.*, 2015). Nagl *et al.* (2015) ont illustré ce phénomène avec le dosage d'un métabolite fécal de la progestérone, le 20-oxo-prégnane (Figure 28).

Figure 28 : Evolution du 20-oxo-prégnane au cours de l'année chez des Visons d'Europe femelles (Nagl *et al.*, 2015)

La ligne bleue foncée représente des Visons d'Europe gestantes. La ligne bleue claire représente des Visons d'Europe non gestantes. Le rectangle rouge entoure les mois correspondant à la saison de reproduction.

« Jan » = Janvier ; « Feb » = Février ; « Mar » = Mars ; « Apr » = Avril ; « May » = Mai ;
 « breeding season » = saison de reproduction ; « Jun » = Juin ; « Jul » = Juillet ;
 « Aug » = Août ; « Sep » = Septembre ; « Oct » = Octobre ; « Nov » = Novembre ;
 « Dec » = Décembre ; « 20-oxo-pregnane concentration » = concentration en 20-oxo-prégnane ; « Pregnancy » = gestation, « Weaning » = sevrage ; « day until / after birth (day 0) » = jour avant / après la naissance (jour 0)



On voit donc que la concentration en 20-oxo-prégnane est basse au moment de la saison de reproduction (en moyenne à $93,23 \pm 4,4$ ng/g), qu'elle augmente de manière significative lors de la gestation (en moyenne à $727,6 \pm 47,1$ ng/g) à partir de la deuxième semaine et culmine lors de la quatrième semaine ($1326,6 \pm 130,3$ ng/g). Elle reste modérément haute durant la lactation (en moyenne à $372,1 \pm 18,5$ ng/g), chute après le sevrage (moyenne de $59,1 \pm 4,4$ ng/L) puis retourne à un niveau basal pour le reste de l'année, c'est à dire pendant l'anœstrus, le proœstrus et l'œstrus (moyenne de $100,3 \pm 6,2$ ng/g). L'évolution du taux plasmatique de progestérone suit celle des corps jaunes ovariens (Amstislavsky *et al.*, 2009).

Œstradiol

□ Furet domestique

L'œstradiol est responsable du développement de l'appareil génital de la femelle et du développement des caractères sexuels secondaires (Jekl et Hauptman, 2017). En effet, l'œstradiol contrôle le gonflement vulvaire, le développement utérin, les changements de la cytologie vaginale ainsi que la réceptivité sexuelle (Lindeberg, 2008 ; Jekl et Hauptman, 2017).

□ Vison d'Europe

Il n'y a pas d'informations spécifiques à ce sujet dans les différentes études.

□ Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue du cycle endocrinien

Ainsi, nous pouvons voir que le Vison d'Europe et le Furet domestique possèdent des similarités et différences regroupées dans le Tableau 12.

Tableau 12 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue du cycle endocrinien (Source : synthèse personnelle d'après Lindeberg (2008) ; Amstislavsky *et al.* (2009) ; Nagl *et al.* (2015) ; Jekl et Hauptman (2017))

	Vison d'Europe	Furet domestique
Progestérone	Augmente à partir de la deuxième semaine de gestation Pic lors de la 4 ^{ème} semaine de gestation Reste haute pendant la lactation Chute après le sevrage	Pic entre le 12 et 14 ^{ème} jour Diminue entre le 24 ^{ème} et la mise-bas Valeur basale plus de 7 jours après la mise-bas
Œstradiol	Pas de données	Inhibe la sécrétion de LH Contrôle le gonflement vulvaire, développement utérin, changement cytologie vaginale, réceptivité sexuelle

• *Cycle comportemental*

□ Furet domestique

Au moment de leurs chaleurs, les femelles mangent moins (Jekl et Hauptman, 2017).

□ Vison d'Europe

La femelle Vison d'Europe en chaleurs choisit le mâle avec qui elle se reproduit. Elle peut en refuser un sexuellement mature mais en accepter un immédiatement après (Amstislavsky et Ternovskaya, 2000).

□ Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue du cycle comportemental

Ainsi, nous pouvons voir que le Vison d'Europe et le Furet domestique possèdent des similarités et différences regroupées dans le Tableau 13.

Tableau 13 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue du cycle comportemental (Source : synthèse personnelle d'après Amstislavsky et Ternovskaya (2000) ; Jekl et Hauptman (2017))

	Vison d'Europe	Furet domestique
Chaleurs	La femelle choisit le mâle avec qui se reproduire	La femelle mange moins

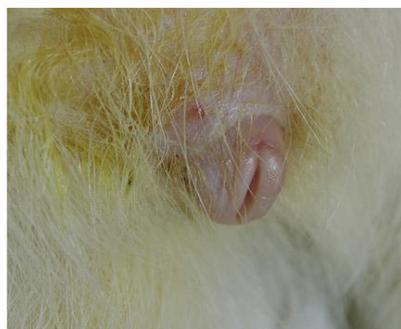
- *Cycle génital*

- Furet domestique

Les premiers changements facilement observables se situent au niveau de la vulve. Pendant l'anœstrus, la vulve est de petite taille (5 à 16 mm) (Jekl et Hauptman, 2017). Le début de la turgescence et de l'augmentation de la taille de la vulve (11 à 18 mm) correspond au proœstrus (Mayer *et al.*, 2015 ; Jekl et Hauptman, 2017).

Quand la Furette domestique est en chaleurs, la peau autour de la vulve, au lieu d'être plate et au même niveau que ce qui l'entoure, devient gonflée, œdémateuse et s'élève au-dessus du niveau de la peau périphérique (Figure 29) (Jekl et Hauptman, 2017). Elle atteint sa taille maximale, passant d'un diamètre de 5 à 16 mm à un diamètre de 17 à 33 mm (Mayer *et al.*, 2015). Elle conserve cette taille maximale jusqu'à l'accouplement ou l'ovulation (Lindeberg, 2008) et peut présenter des pertes vaginales séreuses ou muqueuses, humidifiant le pelage en région périnéale (Lindeberg, 2008 ; Jekl et Hauptman, 2017). Parallèlement, l'endomètre utérin devient moins épais (Lindeberg, 2008).

Figure 29 : Vulve œdémateuse et gonflée d'une Furette domestique en chaleurs avec coloration du pelage par de l'urine



Trois à quatre jours après l'accouplement, le gonflement et la turgescence de la vulve diminuent jusqu'à regagner une taille normale deux à trois semaines après l'ovulation. Si le volume de la vulve ne diminue pas, l'ovulation n'a probablement pas encore eu lieu (Jekl et Hauptman, 2017). Lors de la gestation, un mucus jaunâtre contenant des leucocytes est fréquemment observé dans la vulve (Jekl et Hauptman, 2017).

Des modifications de la cytologie vaginale peuvent aussi être observées. Pendant le proœstrus, les cellules superficielles représentent jusqu'à 87 % des cellules et le nombre de granulocytes neutrophiles et bactéries augmente aussi. Pendant les premiers trois à cinq jours de l'œstrus, les cellules superficielles sont mixtes (basophiles, acidophiles et polychromatophiles) avec des noyaux dégénérés. Après quatre à six jours, les cellules sont majoritairement kératinisées et anucléées (Jekl et Hauptman, 2017). De nombreuses

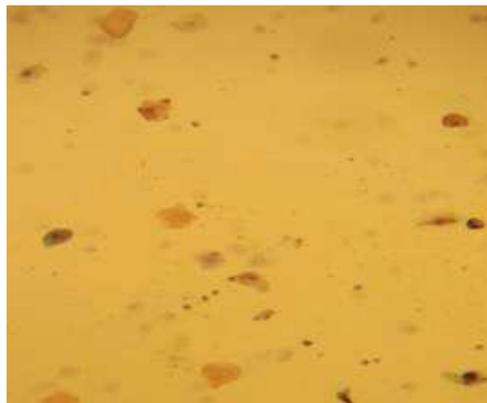
bactéries et quelques érythrocytes ont été observés chez des femelles ayant un œstrus prolongé (Williams *et al.*, 1992). Cependant, toutes ces modifications sont rarement utilisées pour déterminer le début de l'œstrus et programmer la reproduction (Mayer *et al.*, 2015). La plupart des cellules épithéliales vaginales lors de l'anœstrus sont des cellules intermédiaires et superficielles (jusqu'à 30 % des cellules).

□ Vison d'Europe

Comme chez le Furet domestique, la vulve de la femelle en chaleurs va augmenter de taille et changer de couleur, devenant rouge-violacée (Lindeberg, 2003 ; Amstislavsky *et al.*, 2004).

Des modifications de la cytologie vaginale peuvent aussi être observées. En proœstrus, beaucoup de cellules sont visibles avec majoritairement des cellules intermédiaires, quelques cellules superficielles et kératinisées ainsi que des neutrophiles (Figure 30).

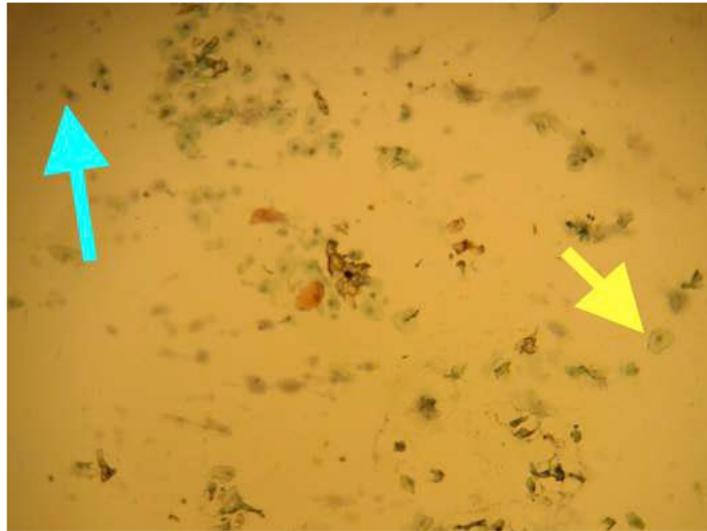
Figure 30 : Frottis vaginal d'une Vison d'Europe femelle en fin de proœstrus observé au microscope au grossissement x100 après coloration de Harris Shorr (Santucci, 2019)



Lors de l'œstrus, il y a toujours beaucoup de cellules dont 70 à 90 % de cellules kératinisées (Amstislavsky *et al.*, 2009) qui peuvent être en amas. Des neutrophiles, érythrocytes, bactéries et débris cellulaires peuvent aussi être observés lors d'œstrus. Au moment du diœstrus, la cellularité est faible avec des cellules superficielles et intermédiaires évoluant vers des cellules parabasales, avec toujours la possibilité de trouver des neutrophiles (Figure 31).

Figure 31 : Frottis vaginal d'une Vison d'Europe femelle en début de diœstrus observé au microscope au grossissement x100 après coloration de Harris Shorr (Santucci, 2019)

Flèche bleue : cellule intermédiaire ; Flèche jaune : cellule parabasale



- Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue du cycle génital

Ainsi, nous pouvons voir que le Vison d'Europe et le Furet domestique possèdent des similarités et différences regroupées dans le Tableau 14.

Tableau 14 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue du cycle génital (Source : synthèse personnelle d'après Lindeberg (2003) ; Amstislavsky *et al.* (2004) ; Lindeberg (2008) ; Amstislavsky *et al.* (2009) ; Mayer *et al.* (2015) ; Jekl et Hauptman (2017))

	Vison d'Europe	Furet domestique
Proœstrus	Cytologie vaginale : beaucoup de cellules, majoritairement des intermédiaires, quelques superficielles et kératinisées, des neutrophiles	Vulve devenant turgescente et augmentant de taille (11 – 18 mm) Cytologie vaginale : cellules superficielles jusqu'à 87 %, neutrophiles, bactéries
Œstrus	Vulve augmente de taille et devient rouge-violacée Cytologie vaginale : beaucoup de cellules, 70 à 90 % de kératinisées, neutrophiles, érythrocytes, bactéries	Peau autour vulve devient gonflée, œdémateuse Vulve atteint sa taille maximale (17 – 33 mm) Pertes vaginales séreuses ou muqueuses, pelage humidifié en région périnéale Endométrium utérin devient plus fin Cytologie vaginale : dans les 5 premiers jours, cellules superficielles mixtes ; après, cellules majoritairement kératinisées et anucléées
Ovulation	/	2 – 3 semaines après, la vulve reprend sa taille normale
Gestation	/	Mucus jaunâtre vaginal contenant leucocytes
Diœstrus	Cellularité faible, cellules superficielles et intermédiaires, neutrophiles	/
Anœstrus	/	Vulve de petite taille (5 – 16 mm) Cytologie vaginale : cellules intermédiaires et superficielles

c. Accouplement – Gestation

□ Furet domestique

Mâles et femelles s'accouplent plusieurs fois et pendant de longues périodes puisque cela peut durer de 15 minutes à trois heures. Il faut donc les laisser ensemble pendant deux jours consécutifs (Jekl et Hauptman, 2017). Le meilleur moment pour la reproduction correspond est durant deux jours consécutifs pendant la deuxième semaine de l'œstrus (Jekl et Hauptman, 2017).

La gestation dure de 39 à 42 jours. Il y a d'abord une longue phase préimplantatoire pendant 10 à 12 jours puis une phase placentaire pendant 30 jours (Buchanan, 1966 ; Enders et Schlafke, 1972). Il faut à la fois un corps jaune et une hypophyse antérieure fonctionnels pour l'implantation et le maintien de la gestation (Mayer *et al.*, 2015).

La gestation peut être confirmée par échographie à partir du 12^{ème} jour, par palpation à partir du 14^{ème} jour et les squelettes sont visibles radiographiquement à partir du 30^{ème} jour. Le poids du nouveau-né est en moyenne de 10 g à la naissance avec une taille de portée de 4 à 14 petits, ce nombre diminuant avec l'âge de la mère (Jekl et Hauptman, 2017).

La femelle peut de nouveau être en œstrus dans les deux semaines suivant le sevrage si les conditions de photopériode sont bonnes. Si les petits sont enlevés à la naissance, la femelle est de nouveau en œstrus 8 semaines après l'accouplement. Si la portée est réduite, c'est-à-dire comptant entre 1 et 5 petits, la femelle peut être en œstrus pendant l'allaitement (Lindeberg, 2008).

□ Vison d'Europe

Les coïts durent de 40 minutes à trois heures (Youngman, 1990). Les accouplements les plus efficaces sont ceux effectués dans les 10 derniers jours d'avril (Youngman, 1990). Le « gloussement » du mâle lors de la tentative d'accouplement serait nécessaire pour qu'il y ait réellement un coït (Kneidinger *et al.*, 2018).

La gestation est de 40 à 43 jours. Il y a deux à sept petits à la naissance (Youngman, 1990 ; Mazzola-Rossi, 2006). Les mises-bas ont lieu d'avril à août (Mazzola-Rossi, 2006). Une seconde portée est possible si les nouveau-nés sont retirés rapidement après la naissance et donnés à une mère adoptive (Mazzola-Rossi, 2006).

□ Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue de l'accouplement et la gestation

Ainsi, nous pouvons voir que le Vison d'Europe et le Furet domestique possèdent des similarités et différences regroupées dans le Tableau 15.

Tableau 15 : Similarités et différences entre le Vison d'Europe et le Furet domestique femelles du point de vue de l'accouplement et la gestation (Source : synthèse personnelle d'après Buchanan (1966) ; Enders et Schlafke (1972) ; Youngman (1990) ; Mazzola-Rossi (2006) ; Lindeberg (2008) ; Mayer *et al.* (2015) ; Jekl et Hauptman (2017) ; Kneidinger *et al.* (2018))

	Vison d'Europe	Furet domestique
Accouplement	Durée : de 40 minutes à 3 heures Plus efficace dans les 10 premiers jours d'avril Gloussement du mâle nécessaire pour l'accouplement	De 15 minutes à 3 heures Meilleur moment : 2 jours consécutifs pendant la deuxième semaine d'œstrus
Gestation	40 à 43 jours	39 à 42 jours Longue période de préimplantation
Mise-bas	Avril à août 2 à 7 petits	

Le Vison d'Europe est donc une espèce en danger critique d'extinction qui fait l'objet de programmes de conservation depuis quelques années. Cependant, ils ne semblent pas suffisants pour empêcher le déclin de cette espèce. Les biotechnologies de la reproduction se développent et ont déjà permis de sauver de l'extinction le Furet à pieds noirs. De nouvelles méthodes moins invasives comme la collecte de sperme par cathétérisme urétral et l'insémination artificielle par endoscopie voient le jour et peuvent être la solution pour le Vison d'Europe. Mais pour cela, il faut d'abord s'assurer de la faisabilité des protocoles et donc un modèle expérimental est nécessaire, le Furet domestique, très proche à plusieurs niveaux du Vison d'Europe.

Deuxième partie : étude expérimentale

1. Introduction

Il reste actuellement moins de 250 Visons d'Europe à l'état sauvage en France, un des derniers pays où une population est présente à l'état naturel. Les effectifs ne cessent de décroître du fait des nombreuses menaces existantes et ce en dépit des différents Plans Nationaux d'Actions (PNA) mis en œuvre depuis 1999. Il devient donc urgent de développer d'autres moyens et stratégies pour sauver le Vison d'Europe de l'extinction.

Le but de ce travail s'inscrit dans les objectifs du 3^{ème} PNA en cours de rédaction qui vise à renforcer les populations sauvages à l'aide d'un centre d'élevage, Zoodysée, partenaire de notre projet. Les objectifs principaux sont donc de maximiser le nombre de naissances tout en conservant un maximum de diversité génétique. Cependant, nous avons vu que les mâles en captivité pouvaient manifester un comportement anormal. Il serait donc intéressant de développer une technique éthique non invasive d'insémination artificielle par endoscopie vaginale d'abord chez le Furet domestique, notre espèce modèle, proche génétiquement et anatomiquement du Vison d'Europe, puis chez ce dernier à Zoodysée et de mettre au point une cryobanque de sperme afin de préserver la biodiversité génétique.

Le projet se découpe alors en trois phases avec une première phase de développement de l'insémination artificielle et de la congélation du sperme chez les Furets domestiques, une seconde phase d'insémination artificielle chez les Visons d'Europe à Zoodysée et une dernière phase de développement d'une cryobanque et d'inséminations artificielles à nouveau sur les Visons d'Europe à Zoodysée. Le but de cette thèse est de réaliser la première phase, très importante afin de ne pas effectuer d'études préliminaires directement sur des animaux d'une espèce menacée et sensible au stress.

2. Matériels et méthodes

A. Matériel

a. Les animaux

Les Furets domestiques choisis pour participer à l'étude étaient au nombre de cinq dont deux mâles et trois femelles, achetés en élevage. Leur hébergement était situé au Pôle de Recherche BioMédical à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort, respectant toutes les normes pour la prise en charge d'animaux de cette espèce en termes de surface, d'alimentation, de satisfaction des besoins quotidiens et d'enrichissements.

b. Cathétérisme urétral

Du fait du développement de techniques non invasives, très répandues chez les félins et utilisées récemment chez le Furet à pieds noirs (Mackie *et al.*, 2020), c'est la technique de cathétérisme urétral qui a été choisie pour prélever le sperme des Furets domestiques mâles.

Il nous fallait donc comme matériel de quoi anesthésier les animaux avec de la dexmédétomidine et de la kétamine, un cathéter veineux de 24 gauges pour dilater l'urètre, des sondes urinaires pour chat comme celle de la Figure 32 pour recueillir la semence dans des tubes Eppendorf.

**Figure 32 : Cathéter urinaire 3,0 Fr de 11 cm de long à bout ouvert en silicone
(Source : Smiths Medical)**



c. Banque génomique de sperme

Pour stocker et mettre au point la cryobanque de sperme chez le Furet domestique, des paillettes de 250 μ L ainsi qu'un conteneur d'azote liquide sont nécessaires.

d. Insémination artificielle

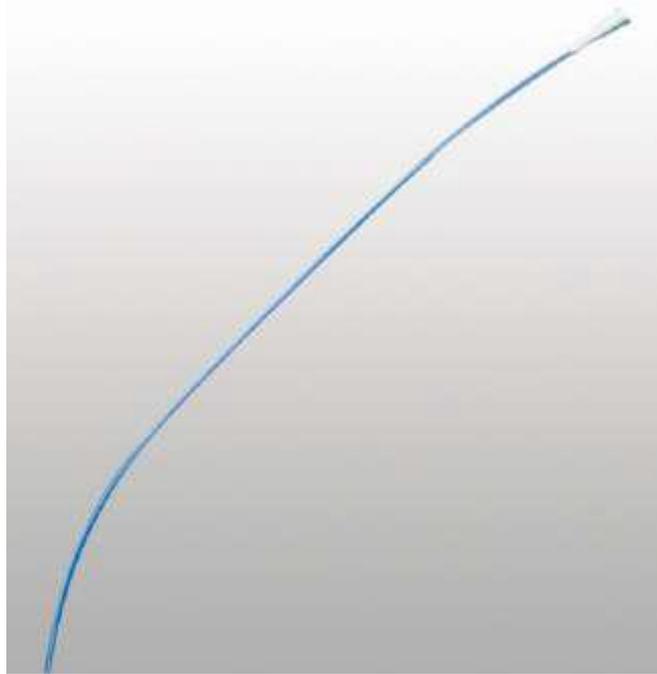
- *Détection des chaleurs*

La première étape de l'insémination artificielle est la détection des chaleurs. Pour cela, il faut des écouvillons, des lames et lamelles, la coloration de Harris Shorr, un microscope et de l'hCG.

- *Endoscopie*

Afin de réaliser les inséminations artificielles sur les Furettes, il faut des spéculums, un endoscope, un système vidéo portable, une sonde d'insémination représentée par une sonde vésicale de chat PORTEX en nylon flexible mesurant 30 cm de longueur et 1 cm de diamètre (Figure 33) complétée par un mandrin métallique d'endoscope de diamètre 0,8 mm.

Figure 33 : Sonde vésicale de chat PORTEX en nylon flexible mesurant 30 cm de longueur et 1 cm de diamètre (Source : Coveto)



B. Appel au don

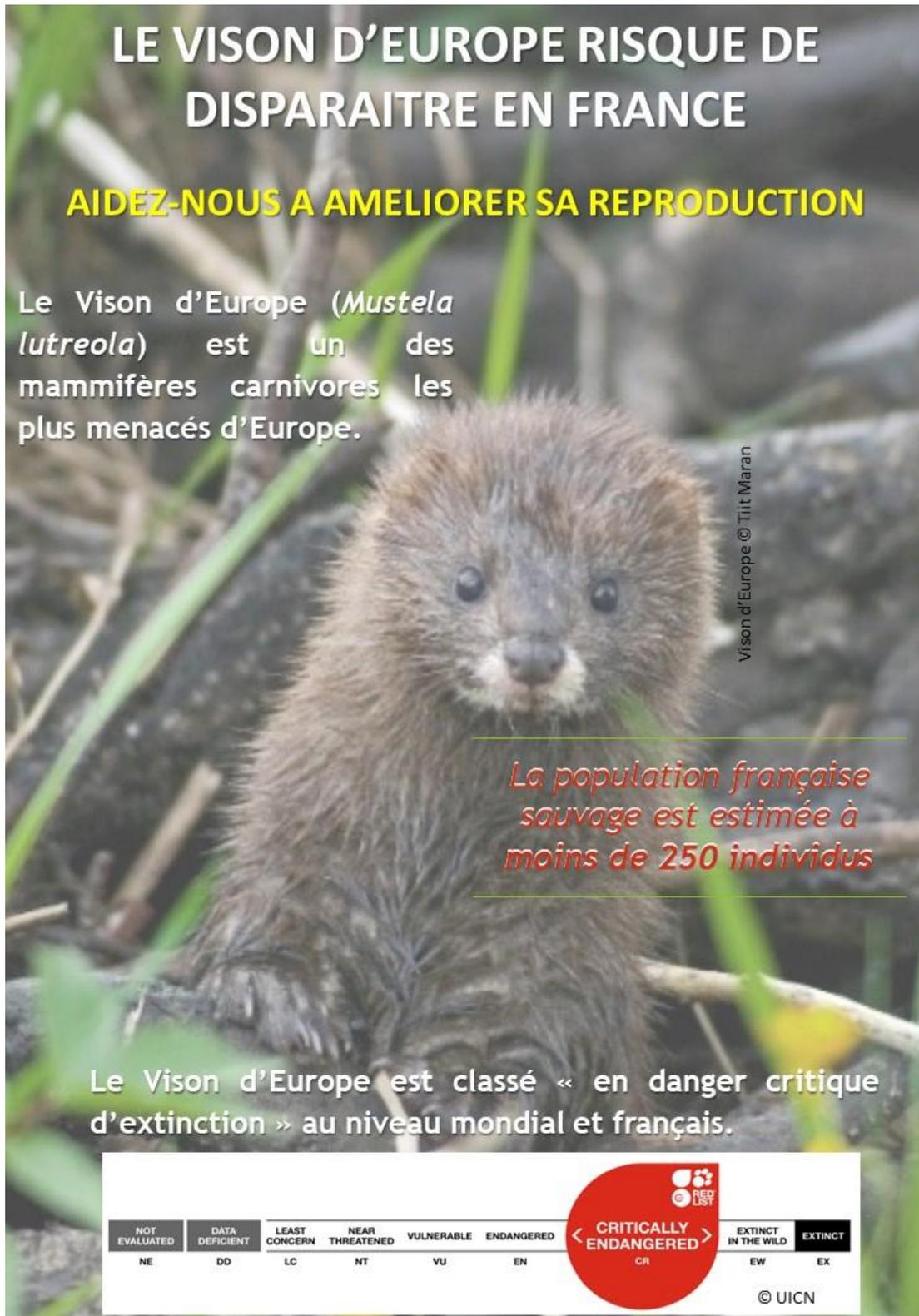
Afin de financer tout le matériel, il est nécessaire d'obtenir des fonds. Il a donc été décidé de réaliser des plaquettes explicatives du projet en chiffrant les coûts afin d'attirer des potentiels donateurs.

3. Résultats

A. Plaquette

Plusieurs versions ont été nécessaires afin d'en établir une concise et claire (Figures 34 à 38). Nous avons voulu qu'elle soit imprimée sur 4 pages en format A5 de façon à ce que cela forme un petit carnet qui ne soit pas trop long à lire pour le potentiel donateur et qui contient une cinquième page en format A4 avec le budget en plus détaillé pour ceux qui sont intéressés. Ce dernier n'est d'ailleurs pas encore totalement finalisé.

Figure 34 : Première page de la plaquette pour le Vison d'Europe



LE VISON D'EUROPE RISQUE DE DISPARAITRE EN FRANCE

AIDEZ-NOUS A AMELIORER SA REPRODUCTION

Le Vison d'Europe (*Mustela lutreola*) est un des mammifères carnivores les plus menacés d'Europe.

La population française sauvage est estimée à moins de 250 individus

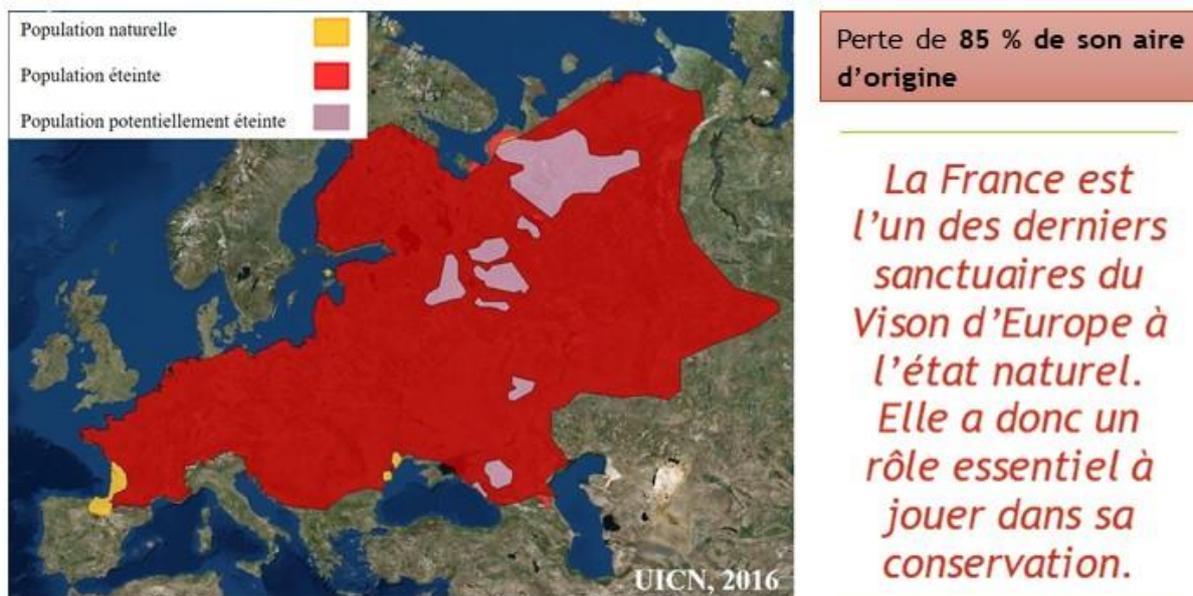
Le Vison d'Europe est classé « en danger critique d'extinction » au niveau mondial et français.

Vison d'Europe © Tilt Maran

NOT EVALUATED	DATA DEFICIENT	LEAST CONCERN	NEAR THREATENED	VULNERABLE	ENDANGERED	CRITICALLY ENDANGERED	EXTINCT IN THE WILD	EXTINCT
NE	DD	LC	NT	VU	EN	CR	EW	EX

© UICN

Figure 35 : Deuxième page de la plaquette pour le Vison d'Europe



Menaces pesant sur le Vison d'Europe dans le milieu naturel

Destruction, dégradation et fragmentation de son habitat : plus de 50% des zones humides ont disparu au XXe siècle.

Compétition avec le Vison d'Amérique (échappé des élevages) pour l'habitat et les ressources et transmission de **maladies** (Aléoutienne, Carré).

Mortalités accidentelles : **collisions routières**, erreur d'identification au **piégeage** (confusion avec le Vison d'Amérique ou le Putois d'Europe).

Injustement méconnu

Petit carnivore
Pelage brun foncé
Tache blanche sur les lèvres supérieure et inférieure
Poids ≤ 1 kg
Taille : < 50 cm
Espérance de vie : 5 ans
1 portée par an (3 – 4 petits)
Semi-aquatique : zones humides, bordures des cours d'eau
Crépusculaire à nocturne
Solitaire
Opportuniste : amphibiens, petits mammifères, poissons, crustacés (écrevisses), oiseaux



Vison d'Europe © Tiit Maran

Figure 36 : Troisième page de la plaquette pour le Vison d'Europe

Programmes de conservation actuels

Le Plan National d'Action (PNA)

Ce PNA, agit au niveau de l'ensemble des facteurs de régression pour que les noyaux de population résiduels puissent se maintenir et se développer à nouveau. Il est coordonné par la DREAL Nouvelle Aquitaine et l'OFB (animateur scientifique) tous deux partenaires de ce projet. Il repose sur les principales actions suivantes :

- **campagnes de prospection** pour actualiser la carte de répartition du Vison d'Europe
- **opérations de lutte** contre le Vison d'Amérique
- **amélioration de l'habitat** en restaurant des corridors écologiques
- **formations et sensibilisation** des professionnels et du grand public
- **partenariats nationaux et internationaux** pour une meilleure coordination et un échange d'expériences
- **projet de renforcement des populations grâce à la création d'un centre d'élevage (Zoodyssée, partenaire de notre projet)**


DIRECTION RÉGIONALE
DE L'ENVIRONNEMENT,
DE L'AMÉNAGEMENT
ET DU LOGEMENT
NOUVELLE-AQUITAINE


OFFICE FRANÇAIS
DE LA BIODIVERSITÉ



© Zoodyssée

En France

Depuis 4 ans, 2 élevages tentent de faire se reproduire cette espèce en captivité via monte naturelle.

Une naissance de 4 petits a eu lieu en juillet 2019 et 14 en mai 2020.

Le programme européen de conservation du Vison d'Europe ex-situ

Toutes les populations sauvages connues de Vison d'Europe sont proches de l'extinction. Une gestion conservatoire a donc été mise en place pour tenter d'enrayer la disparition définitive de l'espèce dans son milieu naturel.

Ainsi, un programme européen pour les espèces menacées (EEP) a vu le jour en 1991 afin de coordonner et standardiser les actions mises en place par les différents pays souhaitant s'impliquer dans la conservation ex-situ du Vison d'Europe (Estonie, Espagne, France, etc.).

Figure 37 : Quatrième page de la plaquette pour le Vison d'Europe

Notre budget en détaillé

Budget Phase 1		Budget Phase 2	
Achat de 2 mâles et 3 femelles	1 000 €	Déplacements, hébergements, frais de matériel	5 000 €
Hébergement des furets au Pôle de Recherche BioMédical à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort incluant nourriture, entretien et frais de personnel	12 000 €	Endoscope	?
Achat de matériel d'endoscopie	5 000 €	Anesthésiques, écouvillons, lames, colorants	?
Anesthésiques, écouvillons, lames, colorants	?		

Budget Phase 3	
Matériel	?

Il n'est évidemment pas nécessaire de financer l'intégralité des fonds en une fois. Chaque participation est déjà une grande aide.

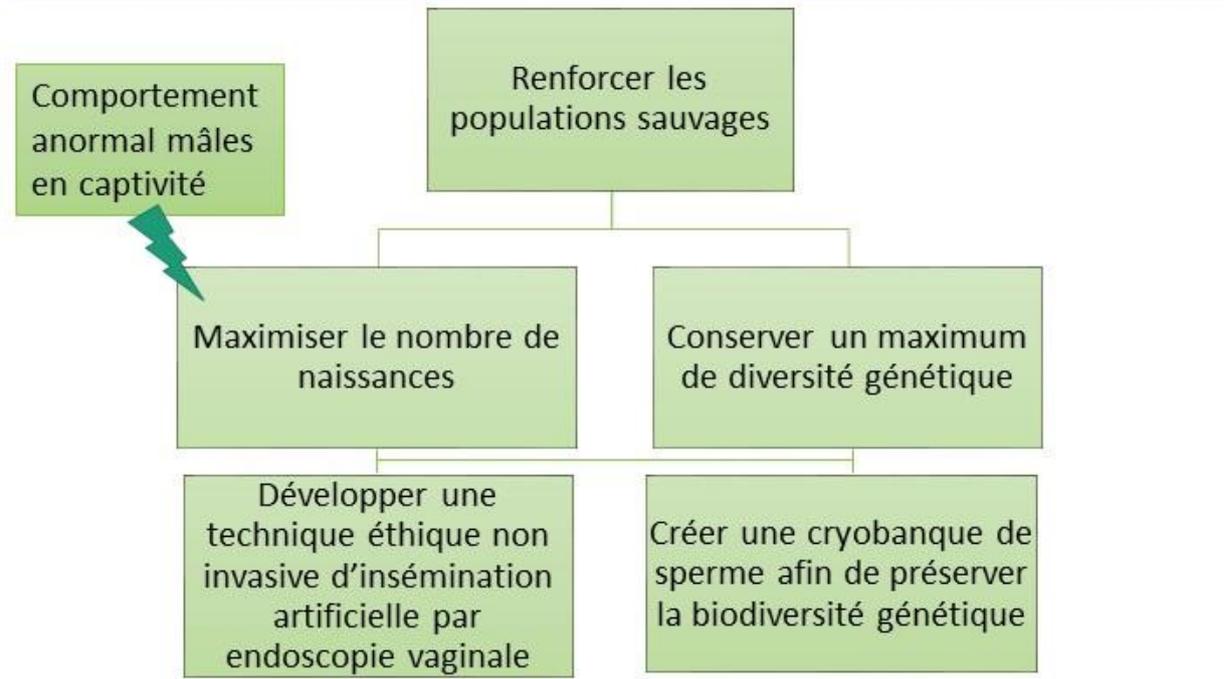
MERCI



©J. Steinmetz

Figure 38 : Cinquième page de la plaquette pour le Vison d'Europe

Notre projet d'étude de la reproduction du Vison d'Europe



2020 : Phase 1
Développement de l'insémination artificielle et de la conservation du sperme chez le furet domestique
 Modèle : furet domestique
 • **Génétiquement plus proche du Vison d'Europe** que le Vison d'Amérique
 • Evite de conduire les études préliminaires sur des animaux d'une espèce menacée et sensible au stress

2021 : Phase 2
Insémination de Visons d'Europe au parc Zoodyssée
 Recrutement d'un étudiant en thèse de 3e cycle.

? : Phase 3
Zoodyssée
 ...

<u>Budget</u>	
Phase 1 :	20 000 €
Phase 2 :	5 000 €
Phase 3 :	?

Budget total 2... 000 €



Vison d'Europe juvénile © Zoodyssée

Besoin d'infos sur le Vison d'Europe ?
 Flashcodez !



Contacts
 Alain Fontbonne : alain.fontbonne@vet-alfort.fr
 Christelle Bellanger : christelle.bellanger@ofb.gouv.fr
 Laurie Berthomieu : laurie.berthomieu@deux-sevres.fr
 Morgane Vauthier : morgane.vauthier@vet-alfort.fr



B. Réunions

De nombreuses réunions se sont déroulées par téléphone avec les partenaires du projet Christelle Bellanger, Cheffe de projet appui scientifique et développement à l'Office Français de la Biodiversité et à la Direction Régionale Nouvelle Aquitaine et Laurie Berthomieu, Docteur vétérinaire à Zoodyssée. Elles étaient nécessaires afin de savoir dans quelle direction nous devons aller ; elles ont validé la plaquette aux différentes étapes et donné leur avis sur le matériel nécessaire, les conditions sur place. Des échanges par courriel ont aussi eu lieu régulièrement entre les réunions téléphoniques.

C. Le SARS-CoV-2

Malheureusement, l'année 2020 a été marquée par une terrible pandémie causée par un Coronavirus qui a forcé de nombreux pays, dont la France, à décider d'un confinement à partir du 17 mars 2020 à 12 heures. Tout s'est donc arrêté pendant 2 mois. Or, nous aurions aimé réaliser les premiers essais sur les furets en avril. Cela n'a donc pas pu être possible. Les résultats de cette étude s'arrêtent donc brutalement.

4. Discussion

Nous allons nous demander si notre étude est pertinente notamment au sujet du choix de l'espèce modèle, le Furet domestique.

A. Pertinence du choix du Furet domestique comme espèce modèle

Le Furet domestique est une espèce modèle pour les Mustélinés depuis plusieurs années. Il a notamment permis de sauver de l'extinction le Furet à pieds noirs. Mais est-il assez proche du Vison d'Europe pour faire un bon modèle expérimental pour cette étude ?

a. D'un point de vue phylogénétique

Le Vison d'Europe partage entre 99 et 100 % de proximité génétique avec le Furet domestique au niveau notamment des séquences du gène du cytochrome b et de l'ARN ribosomique mitochondrial 12S (Kurose *et al.*, 2008). Ce qui en fait des espèces très proches qui peuvent même se reproduire entre elles, générant des hybrides femelles fertiles, les mâles étant stériles (Ternovsky et Ternovskaya, 1994). Les autres espèces aussi proches du Vison d'Europe sont le Putois d'Europe et le Putois des steppes (Peltier et Lodé, 2003) qui ne sont donc pas des espèces domestiques et qui ne peuvent donc pas être retenues comme modèles expérimentaux. Le seul choix d'un point de vue phylogénétique est donc le Furet domestique.

b. D'un point de vue anatomique

- *Mâles*

Les mâles de Visons d'Europe et de Furets domestiques sont très proches anatomiquement. Ils possèdent même des particularités communes comme la portion distale de l'os pénien qui est en forme de J et incurvée dorsalement (JeKI et Hauptman, 2017 ; Santucci, 2019).

Ainsi, pour être le plus pertinent possible, il faut prendre comme modèles expérimentaux du Vison d'Europe des Furets domestiques mâles d'un gabarit équivalent

(entre 600 et 1 200 g). Par analogie, la taille de l'ouverture de l'urètre devrait être sensiblement identique entre les deux espèces. Ainsi, le même matériel pourra être utilisé pour les deux espèces et cela offrira un gain de temps lorsque les manipulations s'effectueront sur le Vison d'Europe, une fois celles-ci bien maîtrisées chez le Furet domestique.

- *Femelles*

Les femelles de Visons d'Europe et de Furets domestiques sont également très proches anatomiquement notamment au niveau de l'utérus qui est bicornué chez les deux espèces (Fox et Marini, 2014 ; Santucci, 2019) et qui possède un col utérin d'un diamètre sensiblement identique (4 mm pour le Vison d'Europe contre 3,6 mm pour le Furet domestique) (Fox et Marini, 2014 ; Santucci, 2019) ainsi qu'au niveau du vagin de taille similaire entre les deux espèces (2 cm de long sur 3 à 4 mm de diamètre pour le Vison d'Europe et 1,5 à 1,8 cm de long pour 3,6 mm de diamètre pour le Furet domestique) (Fox et Marini, 2014 ; Santucci, 2019). Ce qui est intéressant, c'est que l'appareil génital du Furet domestique femelle est finalement légèrement plus étroit et court que celui du Vison d'Europe femelle. Cela signifie donc qu'une fois la procédure d'insémination artificielle transcervicale par endoscopie maîtrisée chez le Furet domestique avec le matériel adéquat, ce même matériel sera utilisable pour le Vison d'Europe et qui plus est directement à la bonne taille. Il n'y aura donc pas besoin d'utiliser plusieurs tailles de sondes pour essayer de trouver celle qui convient le mieux aux femelles Visons d'Europe une fois anesthésiées, d'où un gain de temps et la possibilité de réduire l'anesthésie et la manipulation de ces animaux menacés et très stressables.

Le Furet domestique semble donc être un choix parfaitement pertinent d'un point de vue anatomique aussi bien pour le mâle que pour la femelle.

c. D'un point de vue physiologique

Le Vison d'Europe et le Furet domestique partagent aussi des similarités dans la physiologie de leur reproduction.

Tout d'abord, les périodes d'activité sexuelles sont quasiment identiques aussi bien entre mâles qu'entre femelles. En effet, les mâles sont actifs de décembre à juin pour le Vison d'Europe et de décembre à juillet pour le Furet domestique (Marini *et al.*, 2002 ; Mazzola-Rossi, 2006 ; Jekl et Hauptman, 2017) et les femelles sont en œstrus de février à juin pour le Vison d'Europe et de fin mars à début août pour le Furet domestique (Youngman, 1990 ; Mazzola-Rossi, 2006 ; Lindeberg, 2008 ; Jekl et Hauptman, 2017). Ce sont deux espèces qui partagent aussi la particularité d'avoir une ovulation déclenchée par le coït (Youngman, 1990 ; Jekl et Hauptman, 2017), qui ont les mêmes caractéristiques de cytologie vaginale au moment de l'œstrus (Amstislavsky *et al.*, 2009 ; Jekl et Hauptman, 2017) et une durée de gestation très proche (39 à 42 jours pour le Furet domestique, 40 à 43 jours pour les Visons d'Europe) (Buchanan, 1966 ; Enders et Schlafke, 1972 ; Youngman, 1990 ; Mazzola-Rossi, 2006). Ce sont donc deux espèces qui semblent fonctionner de manière identique pour la reproduction.

Ce qui est intéressant, c'est que pour les deux espèces, le mâle est actif plus tôt que la femelle dans l'année. Cela permet donc d'avoir un peu de temps d'avance pour faire les prélèvements chez le mâle, bien développer le protocole de cathétérisme urétral, sans avoir

à inséminer directement les femelles. Cela permet aussi d'avoir un maximum de prélèvements avant les chaleurs des femelles et donc de disposer d'un panel important d'éjaculats, maximisant les chances de réussite des inséminations en choisissant les plus mobiles, les plus concentrés.

d. D'un point de vue de la méthode de récolte de la semence

Concernant le cathétérisme urétral, il y a encore trop peu d'études chez les Mustélidés pour dire si c'est la méthode la plus pertinente. Cependant, celle de Mackie *et al.* (2020) chez le Furet à pieds noirs a donné des résultats très prometteurs et les réussites chez les Félin laissent augurer que c'est une technique qu'il faut développer du fait de son caractère rapide et très peu invasif. D'où l'intérêt de la développer d'abord chez le Furet domestique afin de tester sa répétabilité, sa fiabilité, d'en maîtriser le protocole et le matériel nécessaire avant de l'effectuer chez le Vison d'Europe.

e. D'un point de vue de la méthode d'insémination artificielle

Pour l'insémination artificielle transcervicale, il n'y a à ce jour qu'une seule étude, bien moins récente que celle portant sur le cathétérisme urétral puisqu'elle date de 1998 (Kidder *et al.*, 1998). Cependant, comme le cathétérisme urétral, c'est une technique bien développée chez les chiens et chats et qui a donné de bons résultats chez le Furet domestique avec un taux de réussite de cathétérisation de 90 %, un temps moyen de 7 minutes et un taux de gestation de 79 %. Il serait donc très intéressant de continuer cette étude chez le Furet domestique, en développant une technique bien moins invasive d'insémination artificielle pour le Vison d'Europe.

f. D'un point de vue anesthésique

L'avantage majeur d'utiliser une espèce modèle pour essayer de sauver de l'extinction une autre espèce est le fait de ne pas devoir anesthésier les animaux menacés tant que l'on n'a pas un protocole anesthésique établi et fiable, ce qui permet de ne pas devoir trop les manipuler alors qu'ils sont sujets au stress. C'est là même le but premier d'avoir un modèle expérimental.

Cette étude est pertinente aussi dans le choix de ses interventions puisque ce sont des procédures bien moins invasives que l'électroéjaculation et l'insémination intra-utérine par laparotomie, qui impliquent donc de plus courtes anesthésies et se veulent moins traumatisantes pour les animaux.

Du fait de ces similarités et avantages, il y a de nombreux intérêts à d'abord mettre au point le protocole du cathétérisme urétral et d'insémination artificielle par endoscopie chez le Furet domestique avant de le réaliser chez le Vison d'Europe. Cependant, cette étude comporte aussi des limites.

B. Limites du choix du Furet domestique comme espèce modèle

Le Furet domestique et le Vison d'Europe ne sont quand même pas exactement la même espèce et cela peut conférer des limites à notre étude.

a. Une proximité qui peut évoluer

Le Vison d'Europe est une espèce qui présente encore aujourd'hui beaucoup d'inconnues. Le monde vivant n'est pas un monde immobile et des espèces proches un jour peuvent se révéler très éloignées le lendemain. Cela fut le cas pour le Vison d'Amérique qui appartenait autrefois au genre *Mustela*, avec le Vison d'Europe et le Furet domestique.

Cependant, la recherche a évolué depuis et aujourd'hui, la proximité entre le Furet domestique et le Vison d'Europe est établie sur des critères d'analyse de la structure antigénique des chaînes d'immunoglobulines et sur la phylogénie moléculaire déduite de l'analyse du séquençage de deux fragments d'ADN mitochondrial, celui du cytochrome *b* et de la D-loop (Davison *et al.*, 1999 ; Davison *et al.*, 2000 ; Kurose *et al.*, 2008), sur un séquençage de gènes nucléaires (Sato *et al.*, 2012). Cela suggère que leur proximité génétique est bien démontrée.

b. Une physiologie de la reproduction incomplète

Il nous manque encore des données notamment au sujet de la physiologie de la reproduction du Vison d'Europe qui n'est pas entièrement connue à ce jour, semble même varier en fonction de la géographie, de la captivité ou non (Youngman, 1990 ; Amstislavsky et Ternovskaya, 2000 ; Lindeberg *et al.*, 2003 ; Mazzola-Rossi, 2006 ; Amstislavsky *et al.*, 2009). Le Vison d'Europe et le Furet domestique diffèrent selon certaines caractéristiques comme le fait que la furette domestique reste en œstrus permanent entre fin mars et début août si elle ne se reproduit pas (Lindeberg, 2008 ; Jekl et Hauptman, 2017) alors que le Vison d'Europe présente un œstrus à partir de février en France, qui dure de 1 à 10 jours et elle peut en présenter d'autres à intervalles d'un mois environ si cette femelle ne se reproduit pas (Mazzola-Rossi, 2006 ; Amstislavsky *et al.*, 2009), ceci jusqu'à avril ou juin en fonction de sa localité (Youngman, 1990 ; Mazzola-Rossi, 2006).

Cependant, le Vison d'Europe et le Furet domestique sont quand même des espèces qui partagent un grand nombre de similarités et qui, pour l'instant, sont des espèces très proches. Cette différence notamment concernant l'œstrus n'est pas un problème dans notre étude qui concerne d'abord le Furet domestique et représente même un avantage puisqu'une fois les premiers signes de chaleurs observés, la femelle reste en chaleurs et nous n'avons pas besoin de contrôler si au moment de l'insémination elle est toujours en chaleurs ou pas. Cependant, ce sera un problème lors de l'application de cette étude au Vison d'Europe. Il faudra bien vérifier préalablement à l'insémination que la femelle est bien toujours en chaleurs, ce qui peut changer assez vite d'après l'étude réalisée par Santucci (2019).

c. Des risques anesthésiques

Le dernier point de notre étude est la question de l'anesthésie. Les deux procédures, pour récolter la semence et pour inséminer, requièrent une anesthésie générale pour les animaux. Or, cela n'est jamais sans risque et du fait du peu de données sur le Vison d'Europe, il n'y a pas de doses définies pour cette espèce. Cela peut donc facilement conduire à des surdosages.

Cependant, il n'y a jamais eu de cas rapporté de décès d'un animal suite à une anesthésie dans les études sur les récoltes de semence et insémination, les doses étant

sensiblement identiques alors que les espèces variaient du Furet domestique au Furet à pieds noirs (Atherton *et al.*, 1989 ; Wildt *et al.*, 1989 ; Howard *et al.*, 1991 ; Wolf *et al.*, 2000a ; Wolf *et al.*, 2000b ; Santymire *et al.*, 2006 ; Santymire *et al.*, 2007 ; van der Horst *et al.*, 2009). De plus, il n'y a eu aucun problème lors de l'anesthésie de Visons d'Europe dans l'étude de Santucci (2019) qui a utilisé le même protocole anesthésique chez les Furets domestiques et les Visons d'Europe.

Le Furet domestique semble donc être un modèle pertinent pour le Vison d'Europe.

Conclusion

Le but de cette thèse était de développer la récolte de sperme par cathétérisme urétral, l'insémination artificielle par endoscopie transcervicale et la congélation du sperme chez le Furet domestique, *Mustela putorius furo*, espèce supposée modèle du Vison d'Europe, *Mustela lutreola*.

Notre partie bibliographique a tout d'abord confirmé que le Furet domestique constituait un modèle pertinent pour le Vison d'Europe d'un point de vue phylogénétique, anatomique et physiologique.

Les démarches ont donc ensuite été entreprises afin de réaliser notre étude. Une plaquette de quatre pages au format A5 et d'une page au format A4 a donc été réalisée afin d'expliquer notre projet aux potentiels donateurs.

Cependant, le projet a dû s'arrêter brusquement du fait de la pandémie. La plaquette n'est donc pas encore totalement finalisée et aucun appel au don n'a encore été effectué.

Néanmoins, le développement de méthodes moins invasives à la fois pour récolter le sperme et inséminer les femelles est intéressant à différents niveaux et doit être privilégié de nos jours. Cette étude n'est qu'une amorce et ce projet verra le jour, permettant, à l'instar du Furet à pieds noirs, de sauver le Vison d'Europe de l'extinction.

D'autre part, peu de données sont finalement disponibles concernant le Vison d'Europe, ce qui a pu être une des causes de son déclin. Il apparaît donc nécessaire d'étudier cette espèce et d'en connaître le maximum afin de l'aider au mieux.

Liste des références bibliographiques

- ADAMS C.E. (1982) Egg Transfer in Carnivores and Rodents, Between Species, and to Ectopic Sites. *In Mammalian Egg Transfer*. Boca Raton, CRC Press, pp 49-61
- AMSTISLAVSKY S., LINDEBERG H., JÄRVINEN M., *et al.* (2000) Ex-situ preservation of Mustelidae: primer of application of genetic resource bank concept with the use of polecats as the model species. *Scientifur* 24, 45-58
- AMSTISLAVSKY S., AALTO J., JÄRVINEN M., *et al.* (2004) Transfer of European mink (*Mustela lutreola*) embryos into hybrid recipients. *Theriogenology* 62(3-4), 458-467
- AMSTISLAVSKY S., KIZILOVA E., TERNOVSKAYA Y., *et al.* (2006) Embryo development and embryo transfer in the European mink (*Mustela lutreola*), an endangered mustelid species. *Reprod. Fertil. Dev.* 18, 459-67
- AMSTISLAVSKY S., LINDEBERG H., AALTO J., KENNEDY M. (2008) Conservation of the European Mink (*Mustela lutreola*): Focus on Reproduction and Reproductive Technologies. *Reprod. Domest. Anim.* 43(4), 502-513
- AMSTISLAVSKY S. (2009) Reproductive Biology and Embryo Technology in *Mustelidae*. Thèse Méd. Vét. University of Kuopio
- AMSTISLAVSKY S., LINDEBERG H., TERNOVSKAYA Y., *et al.* (2009) Reproduction in the European Mink, *Mustela lutreola*: Oestrous Cyclicity and Early Pregnancy. *Reprod. Domest. Anim.* 44(3), 489-498
- AMSTISLAVSKY S., TERNOVSKAYA Y. (2000) Reproduction in mustelids. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61, 571-581
- ATHERTON R.W., STRALEY M., CURRY P., *et al.* (1989) Electroejaculation and Cryopreservation of Domestic Ferret Sperm. *In Conservation Biology and the Black-footed Ferret*, Ulysses S. Seal, E. Tom Thorne, Michael A. Bogan, Stanley H. Anderson. ed. New Haven and London, Yale University Press, pp 177-189
- AULERICH R.J., RINGER R.K., SLOAN C.S. (1972) Electro-Ejaculation of Mink (*Mustela vison*). *J. Anim. Sci.* 34(2), 230-233
- AXELROD J., REISINE T. (1984) Stress hormones: their interaction and regulation. *Science* 224(4648), 452-459
- BAILLIE J., HILTON-TAYLOR C., STUART S.N. (Éd.) (2004) 2004 IUCN Red List of threatened species : a global species assessment, IUCN. ed. Gland, Switzerland and Cambridge, UK
- BARJA I., SILVÁN G., ROSELLINI S., *et al.* (2007) Stress physiological responses to tourist pressure in a wild population of European pine marten. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 104(3-5), 136-142
- BIGGINS D.E., VARGAS A., GODBEY J.L., ANDERSON S.H. (1999) Influence of prerelease experience on reintroduced black-footed ferrets (*Mustela nigripes*). *Biol. Conserv.* 89(2), 121-129
- BROWN C., POLLOCK C. (2011) Urethral catheterization of the male ferret for treatment of urinary tract obstruction. *Lab Anim.* 40(1), 19-20
- BUCHANAN G.D. (1966) Reproduction in the ferret (*Mustela furo*) I. Uterine histology and histochemistry during pregnancy and pseudopregnancy. *Am. J. Anat.* 118(1), 195-215
- BURANAAMNUAY K. (2017) Protocols for sperm cryopreservation in the domestic cat: A review. *Anim. Reprod. Sci.* 183, 56-65
- CARBONELL R. (2015) Managing Spanish European mink populations: Moving from a precautionary approach towards knowledge-based management. *J. Nat. Conserv.* 25, 58-61
- CARROLL R.S., ERSKINE M.S., DOHERTY P.C., LUNDELL L.A., BAUM M.J. (1985) Coital stimuli controlling luteinizing hormone secretion and ovulation in the female ferret. *Biol. Reprod.* 32(4), 925-933

- CHANG M.C. (1965) Fertilizing life of ferret sperm in the female tract. *J. Exp. Zool.* 158, 87-99
- CHANG M.C. (1968) Reciprocal insemination and egg transfer between ferrets and mink. *J. Exp. Zool.* 168(1), 49-59
- CHANG M.C. (1969) Development of transferred ferret eggs in relation to the age of corpora lutea. *J. Exp. Zool.* 171(4), 459-464
- CLAVERO M. (2014) Shifting Baselines and the Conservation of Non-Native Species. *Conserv. Biol.* 28(5), 1434-1436
- COMIZZOLI P., SONGSASEN N., HAGEDORN M., WILDT D.E. (2012) Comparative cryobiological traits and requirements for gametes and gonadal tissues collected from wildlife species. *Theriogenology* 78(8), 1666-1681
- CONSEIL DE L'UNION EUROPÉENNE (1992) Directive 92/43/CEE. Directive.
- CONVENTION RELATIVE À LA CONSERVATION DE LA VIE SAUVAGE ET DU MILIEU NATUREL DE L'EUROPE (1979) Annexe II - Espèces de faune strictement protégées. Traité européen, *Série des traités européens*. Berne, Conseil de l'Europe
- CONVENTION SUR LE COMMERCE INTERNATIONAL DES ESPÈCES DE FAUNE ET DE FLORE SAUVAGES MENACÉES D'EXTINCTION (1973) Annexes I, II et III. Accord intergouvernemental. Washington
- CURRY P.T., ZIEMER T., VAN DER HORST G., *et al.* (1989) A comparison of sperm morphology and silver nitrate staining characteristics in the domestic ferret and the black-footed ferret. *Gamete Res.* 22(1), 27-36
- DAVISON A., BIRKS J.D.S., GRIFFITHS H.I., *et al.* (1999) Hybridization and the phylogenetic relationship between polecats and domestic ferrets in Britain. *Biol. Conserv.* 87(2), 155-161
- DAVISON A., GRIFFITHS H.I., BROOKES R.C., *et al.* (2000) Mitochondrial DNA and palaeontological evidence for the origins of endangered European mink, *Mustela lutreola*. *Anim. Conserv.* 3(4), 345-355
- DÍEZ-LEÓN M., MIRANDA R., ARIÑO A.H., GALICIA D. (2015) Setting priorities for existing conservation needs of crayfish and mink. *Conserv. Biol.* 29(2), 599-601
- DIRECTION RÉGIONALE DE L'ENVIRONNEMENT, DE L'AMÉNAGEMENT ET DU LOGEMENT DE NOUVELLE-AQUITAINE (2020) Le Vison d'Europe Last Modified: 2020-04-29. [<http://www.nouvelle-aquitaine.developpement-durable.gouv.fr/le-vison-d-europe-a10771.html>] (consulté le 25/08/2020).
- ENDERS A.C., SCHLAFKE S. (1972) Implantation in the ferret: Epithelial penetration. *Am. J. Anat.* 133(3), 291-315
- FOURNIER-CHAMBRILLON C., AASTED B., PERROT A., *et al.* (2004) Antibodies to aleutian mink disease parvovirus in free-ranging european mink (*mustela lutreola*) and other small carnivores from southwestern france. *J. Wildl. Dis.* 40(3), 394-402
- FOX J.G., MARINI R.P. (2014) *Biology and Diseases of the Ferret*, 3rd ed. Ames, Chichester and Oxford, John Wiley & Sons
- FRANKHAM R. (2003) Genetics and conservation biology. *C. R. Biol.* 326, 22-29
- HAMMERSHØJ M., PERTOLDI C., ASFERG T., BACH MØLLER T., BASTIAN KRISTENSEN N. (2005) Danish free-ranging mink populations consist mainly of farm animals: Evidence from microsatellite and stable isotope analyses. *J. Nat. Conserv.* 13(4), 267-274
- HARPER J.M., AUSTAD S.N. (2000) Fecal Glucocorticoids: A Noninvasive Method of Measuring Adrenal Activity in Wild and Captive Rodents. *Physiol. Biochem. Zool.* 73(1), 12-22
- HEPTNER V.G., NAUMOV N.P., YURGENSON P.B., *et al.* (1967) *Mammals of the USSR*, Science Pub Inc. ed. Moscow
- HOLT W.V., BENNETT P.M., VOLOBOUEV V., WATWON P.F. (1996) Genetic resource banks in wildlife conservation. *J. Zool.* 238(3), 531-544
- HOLT W.V. (2000) Fundamental aspects of sperm cryobiology: The importance of species and individual differences. *Theriogenology* 53(1), 47-58

- HOLT W.V., MOORE H.D.M. (1988) Semen banking—is it now feasible for captive endangered species? *Oryx* 22(3), 172-178
- HORI T., MATSUDA Y., KOBAYASHI M., KAWAKAMI E., TSUTSUI T. (2011) Comparison of Fertility on Intrauterine Insemination between Cryopreserved Ejaculated and Cauda Epididymal Sperm in Dogs. *J. Vet. Med. Sci.* 73(12), 1685-1688
- HOWARD J.G., BUSH M., MORTON C., *et al.* (1991) Comparative semen cryopreservation in ferrets (*Mustela putorius furo*) and pregnancies after laparoscopic intrauterine insemination with frozen-thawed spermatozoa. *Reproduction* 92(1), 109-118
- HOWARD J., MARINARI P.E., WILDT D.E. (2002) Black-footed ferret: model for assisted reproductive technologies contributing to *in situ* conservation. In *Reproductive Science and Integrated Conservation, Conservation Biology*. Cambridge University Press, pp 249-266
- HOWARD J.G., LYNCH C., SANTYMIRE R.M., MARINARI P.E., WILDT D.E. (2016) Recovery of gene diversity using long-term cryopreserved spermatozoa and artificial insemination in the endangered black-footed ferret: Black-footed ferret gene restoration. *Anim. Conserv.* 19(2), 102-111
- HOWARD J.G., WILDT D.E. (2009) Approaches and efficacy of artificial insemination in felids and mustelids. *Theriogenology* 71(1), 130-148
- HUANG Y., LI D., ZHOU Y., *et al.* (2012) Factors Affecting the Outcome of Artificial Insemination Using Cryopreserved Spermatozoa in the Giant Panda (*Ailuropoda melanoleuca*): Giant Panda and Artificial Insemination. *Zoo Biol.* 31(5), 561-573
- INTERGOVERNMENTAL SCIENCE-POLICY PLATFORM ON BIODIVERSITY AND ECOSYSTEM SERVICES (2019) Summary for policymakers of the global assessment report on biodiversity and ecosystem services. Rapport d'évaluation mondial sur la biodiversité et les services écosystémiques. Paris, IPBES
- International Union for Conservation of Nature (2015) *Mustela lutreola*: Maran, T., Skumatov, D., Gomez, A., Pödra, M., Abramov, A.V. & Dinets, V.: The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T14018A45199861. International Union for Conservation of Nature
- JALLAGEAS M., BOISSIN J., MAS N. (1994) Differential photoperiodic control of seasonal variations in pulsatile luteinizing hormone release in long-day (ferret) and short-day (mink) mammals. *J. Biol. Rhythms* 9(3-4), 217-231
- JEKL V., HAUPTMAN K. (2017) Reproductive Medicine in Ferrets. *Vet. Clin. N. Am. Exot. Anim. Pract.* 20(2), 629-663
- JELINKOVA K., VITASEK R., NOVOTNY R., BARTOSKOVA A. (2018) A comparison of quality parameters of fresh feline ejaculates collected by three different collection techniques. *Reprod. Domest. Anim.* 53(5), 1068-1074
- JEWGENOW K., BRAUN B., DEHNHARD M., ZAHMEL J., GOERITZ F. (2017) Research on reproduction is essential for captive breeding of endangered carnivore species. *Reprod. Domest. Anim.* 52, 18-23
- JEWGENOW K., SONGSASEN N. (2014) Reproduction and Advances in Reproductive Studies in Carnivores. In *Reproductive Sciences in Animal Conservation, Advances in Experimental Medicine and Biology*. New York, Springer, pp 205-239
- JOHNSON A.K. (2018) Assisted Reproduction in the Male Cat. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 48(4), 511-521
- KHARLAMOVA A.V., TRAPEZOV O.V. (1999) Pleiotropic effect of the Black crystal mutation on reproductive indicators in the American mink (*Mustela vison*). *Genetika* 35(6), 765-770
- KIDDER J.D., FOOTE R.H., RICHMOND M.E. (1998) Transcervical artificial insemination in the domestic ferret (*Mustela putorius furo*). *Zoo Biol.* 17(5), 393-404
- KIDDER J., ROBERTS P., SIMKIN M., FOOTE R., RICHMOND M. (1999) Nonsurgical collection and nonsurgical transfer of preimplantation embryos in the domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) and domestic ferret (*Mustela putorius furo*). *J. Reprod. Fertil.* 116(2), 235-242

- KIIK K., MARAN T., NAGL A., ASHFORD K., TAMMARU T. (2013) The causes of the low breeding success of European mink (*Mustela lutreola*) in captivity: Abnormal Mating Behaviour in European Mink. *Zoo Biol.* 32(4), 387-393
- KNEIDINGER N., NAGL A., KIIK K., SCHWARZENBERGER F., MARAN T. (2018) The individual courtship behaviour of male European mink (*Mustela lutreola*) is a good indicator for their breeding success. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 205, 98-106
- KORHONEN H. (2003) Evaluation of frozen-thawed semen in the farmed European polecat (*Mustela putorius*). Mini Project Report. Kuopio, Finland, University of Kuopio
- KRAEMER D.C. (1983) Intra- and interspecific embryo transfer. *J. Exp. Zool.* 228(2), 363-371
- KRUSTUFEK B., GRIFFITHS H.I., GRUBESIC M. (1994) Some new information on the distribution of the American and European mink, (*Mustela* spp.) in former Yugoslavia. *Small Carniv. Conserv.* , 2-3
- KUROSE N., ABRAMOV A.V., MASUDA R. (2008) Molecular phylogeny and taxonomy of the genus *Mustela* (Mustelidae, Carnivora), inferred from mitochondrial DNA sequences: New perspectives on phylogenetic status of the back-striped weasel and American mink. *Mammal Study* 33(1), 25-33
- LI Z., JIANG Q., ZHANG Y., LIU X., ENGELHARDT J.F. (2001) Successful production of offspring after superovulation and in vitro culture of embryos from domestic ferrets (*Mustela putorius furo*). *Reproduction* 122, 611-618
- LI Z., SUN X., CHEN J., LENO G.H., ENGELHARDT J.F. (2006) Factors affecting the efficiency of embryo transfer in the domestic ferret (*Mustela putorius furo*). *Theriogenology* 66(2), 183-190
- LIFE VISON (2017) Objectif du Life Vison: la conservation du Vison d'Europe. [<https://lifevison.fr/le-programme-life-vison/les-objectifs/>] (consulté le 23/05/2020).
- LIGUE POUR LA PROTECTION DES OISEAUX, GROUPE DE RECHERCHE ET D'ETUDE ET DE GESTION DE L'ENVIRONNEMENT, CONSEIL DÉPARTEMENTAL DE CHARENTE-MARITIME (2017) Conservation du Vison d'Europe et des espèces et habitats d'intérêt communautaire associés du bassin de la Charente. [<https://lifevison.fr/wp-content/uploads/2019/03/Plaquette-LifeVison.pdf>] (consulté le 25/08/2020).
- LINDEBERG H., AMSTISLAVSKY S., JÄRVINEN M., AALTO J., VALTONEN M. (2002) Surgical transfer of in vivo produced farmed European polecat (*Mustela putorius*) embryos. *Theriogenology* 57(9), 2167-2177
- LINDEBERG H. (2003) Embryo Technology in the Farmed European Polecat (*Mustela putorius*). Thèse Méd. Vét. University of Kuopio
- LINDEBERG H., AALTO J., AMSTISLAVSKY S., *et al.* (2003) Surgical recovery and successful surgical transfer of conventionally frozen-thawed embryos in the farmed European polecat (*Mustela putorius*). *Theriogenology* 60, 1515-1525
- LINDEBERG H. (2008) Reproduction of the Female Ferret (*Mustela putorius furo*). *Reprod. Domest. Anim.* 43(s2), 150-156
- LODÉ T., CORMIER J.-P., JACQUES D.L. (2001) Decline in Endangered Species as an Indication of Anthropic Pressures: The Case of European Mink *Mustela lutreola* Western Population. *Environ. Manage.* 28(6), 727-735
- LODÉ T. (2002) An endangered species as indicator of freshwater quality: Fractal diagnosis of fragmentation within a European mink, *Mustela lutreola*, population. *Arch. Hydrobiol.* 155, 163-176
- LODÉ T., GUIRAL G., PELTIER D. (2005) European Mink–Polecat Hybridization Events: Hazards From Natural Process? *J. Hered.* 96(2), 89-96
- LORTON S.P. (2014) Evaluation of semen in the andrology laboratory. *In Animal Andrology: Theories and Applications.* Wallingford, CABI, pp 100-135
- MACDONALD D.W., HARRINGTON L.A. (2003) The American mink: The triumph and tragedy of adaptation out of context. *N. Z. J. Zool.* 30(4), 421-441

- MACKIE P., CHAN B., FRANKE M., MASTROMONACO G.F. (2020) Urethral catheterization as an alternative method for collecting sperm in the black-footed ferret (*Mustela nigripes*). *Conserv. Physiol.* 8(1)
- MAÑAS S., CEÑA J.C., RUIZ-OLMO J., *et al.* (2001) Aleutian Mink Disease Parvovirus in Wild Riparian Carnivores in Spain. *J. Wildl. Dis.* 37(1), 138-144
- MARAN T., KRUIK H., MACDONALD D.W., POLMA M. (1998) Diet of two species of mink in Estonia: displacement of *Mustela lutreola* by *M. vison*. *J. Zool.* 245(2), 218-222
- MARAN T. (2006) Conservation of the European mink in Estonia: an update 2001-2003. *In International Conference on the Conservation of European Mink (Mustela lutreola), 2003*, Logroño, pp 131-142
- MARAN T. (2007) Conservation Biology of the European Mink, *Mustela Lutreola* (Linnaeus 1761): Decline and Causes of Extinction. Dissertation on Natural Sciences. Tallinn University
- MARAN T., SKUMATOV D., GÓMEZ A., *et al.* (2016) *Mustela lutreola*. *In The IUCN Red List of Threatened Species 2016*. [<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T14018A45199861.en>]
- MARAN T., HENTTONEN H. (1995) Why is the European mink (*Mustela lutreola*) disappearing? — A review of the process and hypotheses. *Ann. Zool. Fenn.* 32(1), 47-54
- MARINI R.P., OTTO G., ERDMAN S., PALLEY L., FOX J.G. (2002) Chapter 13 - Biology and Diseases of Ferrets. *In Laboratory Animal Medicine, American College of Laboratory Animal Medicine*, 2nd ed. Burlington, Academic Press, pp 483-517
- MAYER J., MARINI R.P., FOX J.G. (2015) Chapter 14 - Biology and Diseases of Ferrets. *In Laboratory Animal Medicine*, 3rd ed. London, Academic Press, pp 577-622
- MAZZOLA-ROSSI E. (2006) Etude comparative des paramètres reproducteurs du Vison d'Europe (*Mustela lutreola*), du Vison d'Amérique (*Mustela vison*) et du Putois (*Mustela putorius*) dans le Sud-Ouest de la France. Thèse Méd. Vét. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
- MICHAUX J.R., LIBOIS R., DAVISON A., CHEVRET P., ROSOUX R. (2004) Is the western population of the European mink, (*Mustela lutreola*), a distinct Management Unit for conservation? *Biol. Conserv.* 115(3), 357-367
- MICHAUX J.R., HARDY O.J., JUSTY F., *et al.* (2005) Conservation genetics and population history of the threatened European mink *Mustela lutreola*, with an emphasis on the west European population. *Mol. Ecol.* 14(8), 2373-2388
- MILLSPAUGH J.J., WASHBURN B.E. (2004) Use of fecal glucocorticoid metabolite measures in conservation biology research: considerations for application and interpretation. *Gen. Comp. Endocrinol.* 138(3), 189-199
- MINISTRE DE L'AMÉNAGEMENT DU TERRITOIRE ET DE L'ENVIRONNEMENT, MINISTRE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE (1999) Arrêté du 9 juillet 1999 fixant la liste des espèces de vertébrés protégées menacées d'extinction en France et dont l'aire de répartition excède le territoire d'un département, *Code Rural*
- MINISTRE DE L'ÉCOLOGIE, DÉVELOPPEMENT ET AMÉNAGEMENT DURABLES, MINISTRE DE L'AMÉNAGEMENT DU TERRITOIRE ET DE L'ENVIRONNEMENT (2007) Arrêté du 23 avril 2007 fixant la liste des mammifères terrestres protégés sur l'ensemble du territoire et les modalités de leur protection, *Code Environ.*
- NAGL A., KNEIDINGER N., KLIK K., *et al.* (2015) Noninvasive monitoring of female reproductive hormone metabolites in the endangered European mink (*Mustela lutreola*). *Theriogenology* 84(9), 1472-1481
- NAKAI M., CLEEFF J.K.V., BAHR J.M. (2004) Stages and duration of spermatogenesis in the domestic ferret (*Mustela putorius furo*). *Tissue Cell* 36(6), 439-446
- NEAL J., MURPHY B.D., MOGER W.H., OLIPHANT L.W. (1977) Reproduction in the male ferret: gonadal activity during the annual cycle; recrudescence and maturation. *Biol. Reprod.* 17(3), 380-385
- NEMVALTS T.K., NUMMERT G., MARAN T. (2018) Conservation activities for European mink in 2018: summary per country. *Lutreola*, 7

- NOVIKOV G.A. (1939) The European mink. Review. Izdatelstvo Leningradskogo Gosudarstvennyj Universiteta
- OFFICE NATIONAL DE LA CHASSE ET DE LA FAUNE SAUVAGE (2019) Le Vison d'Europe. [<http://www.oncfs.gouv.fr/Connaitre-les-especes-ru73/Le-vison-dEurope-ar2130>] (consulté le 25/08/2020).
- PALAZÓN S., CEÑA J.C., RUIZ-OLMO J., *et al.* (2003) Trends in distribution of the European mink (*Mustela lutreola* L, 1761) in Spain: 1950-1999. *Mammalia* 67(4), 473-484
- PALAZÓN S., RUIZ-OLMO J., GOSÁLBEZ J. (2004) Diet of European mink (*Mustela lutreola*) in Northern Spain. *Mammalia* 68(2-3), 159-165
- PALAZÓN S., RUIZ J., GOSÁLBEZ J. (2008) Autumn–winter diet of three carnivores, European mink (*Mustela lutreola*), Eurasian otter (*Lutra lutra*) and small–spotted genet (*Genetta genetta*), in northern Spain. *Anim. Biodivers. Conserv.* , 7
- PALAZÓN S., MELERO Y. (2014) Status, threats and management actions on the European mink *Mustela lutreola* (Linnaeus, 1761) in Spain: a review of the studies performed since 1992. *Munibe Monogr. Nat. Ser.* , 109-118
- PELTIER D., LODÉ T. (2003) Molecular survey of genetic diversity in the endangered European mink *Mustela lutreola*. *C. R. Biol.* 326, 49-53
- PILTTI K., LINDEBERG H., AALTO J., KORHONEN H. (2004) Live cubs born after transfer of OPS vitrified-warmed embryos in the farmed European polecat (*Mustela putorius*). *Theriogenology* 61(5), 811-820
- PÖDRA M., GÓMEZ A., PALAZÓN S. (2013) Do American mink kill European mink? Cautionary message for future recovery efforts. *Eur. J. Wildl. Res.* 59(3), 431-440
- POESSEL S.A., BIGGINS D.E., SANTYMIRE R.M., *et al.* (2011) Environmental enrichment affects adrenocortical stress responses in the endangered black-footed ferret. *Gen. Comp. Endocrinol.* 172(3), 526-533
- PUKAZHENTHI B., SANTYMIRE R., CROSIER A., HOWARD J., WILDT D.E. (2007) Challenges in cryopreserving endangered mammal spermatozoa: morphology and the value of acrosomal integrity as markers of cryo-survival. *Soc. Reprod. Fertil. Suppl.* 65, 433-446
- PUKAZHENTHI B.S., WILDT D.E. (2004) Which reproductive technologies are most relevant to studying, managing and conserving wildlife? *Reprod. Fertil. Dev.* 16(2), 33
- RIJSSELAERE T., ENGLAND G.C.W., FREEMAN S.L., MAES D., SOOM A.V. (2014) Current Knowledge on the Transport and Fate of Spermatozoa in the Reproductive Tract of the Bitch. *Reprod. Domest. Anim.* 49(s2), 2-7
- ROYERE D. (1996) Cryopreservation of spermatozoa: a 1996 review. *Hum. Reprod. Update* 2(6), 553-559
- SANTUCCI S. (2019) Développement de l'insémination artificielle chez le Vison d'Europe (*Mustela lutreola*) : Etude expérimentale. Thèse Méd. Vét. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
- SANTYMIRE R.M., MARINARI P.E., KREEGER J.S., WILDT D.E., HOWARD J. (2006) Sperm viability in the black-footed ferret (*Mustela nigripes*) is influenced by seminal and medium osmolality. *Cryobiology* 53(1), 37-50
- SANTYMIRE R., MARINARI P., KREEGER J., WILDT D., HOWARD J. (2007) Slow cooling prevents cold-induced damage to sperm motility and acrosomal integrity in the black-footed ferret (*Mustela nigripes*). *Reprod. Fertil. Dev.* 19, 652-63
- SATO J.J., WOLSAN M., PREVOSTI F.J., *et al.* (2012) Evolutionary and biogeographic history of weasel-like carnivorans (Musteloidea). *Mol. Phylogenet. Evol.* 63(3), 745-757
- SHACKELFORD R.M. (1952) Superfetation in the Ranch Mink. *Am. Nat.* 86(830), 311-319
- SHEPHERDSON D.J., MELLEEN J.D., HUTCHINS M. (Éd.) (1998) Second nature: environmental enrichment for captive animals, *Introd. Tracing Path Environ. Enrich. Zoos, Zoo and aquarium biology and conservation series. In Conference on Environmental Enrichment*, Washington, Smithsonian Institution Press, pp 1-14

- SHUMP A.U., AULERICH R.J., RINGER R.K. (1976) Semen volume and sperm concentration in the ferret (*Mustela putorius*). *Lab. Anim. Sci.* 26(6 Pt 1), 913-916
- SHUMP A.U., SHUMP K.A., AULERICH R.J., RINGER R.K. (1977) Effect of electro-ejaculation frequency on semen characteristics in the ferret (*Mustela putorius*) (a). *Theriogenology* 7(2), 83-87
- SIDOROVICH V. (2000) The on-going decline of riparian mustelids (European mink *Mustela lutreola*, polecat *Mustela putorius*, and stoat *Mustela erminea*) in eastern Europe: A review of the results to date and an hypothesis. *Mustel. Mod. World, Management and Conservation Aspects of Small Carnivore: Human Interactions*, 295-319
- SIDOROVICH V.E. (2001) Findings on the ecology of hybrids between the European Mink *Mustela lutreola* and Polecat *M. putorius* at the Lovat upper reaches, NE Belarus. *Small Carniv. Conserv.* , 1-5
- SIDOROVICH V. (2006) The European Mink (*Mustela lutreola*) in Belarus: Past and Present, the Population Decline, Urgent Questions, Conservation Initiatives and Problems. *In International Conference on Conservation of European Mink, 2003*, Logroño, pp 231-252
- SKUMATOV D. (2005) European mink in Russia (current status, perspectives for preservation in conditions of continued industrial hunting). Dissertation. Kirov, Inst. Hunting Farming
- SUN X., LI Z., YI Y., *et al.* (2008) Efficient term development of vitrified ferret embryos using a novel pipette chamber technique. *Biol. Reprod.* 79(5), 832-840
- SWAISGOOD R.R., WHITE A.M., ZHOU X., *et al.* (2001) A quantitative assessment of the efficacy of an environmental enrichment programme for giant pandas. *Anim. Behav.* 61(2), 447-457
- SWANSON W.F., BATEMAN H.L., VANSANDT L.M. (2017) Urethral catheterization and sperm vitrification for simplified semen banking in felids. *Reprod. Domest. Anim.* 52(S2), 255-260
- TEIXEIRA C.P., DE AZEVEDO C.S., MENDEL M., CIPRESTE C.F., YOUNG R.J. (2007) Revisiting translocation and reintroduction programmes: the importance of considering stress. *Anim. Behav.* 73(1), 1-13
- TERNOVSKY D., TERNOVSKAYA Y. (1994) Ecology of Mustelids. *Sci. Sib. Press* , 222
- THOM M. D., JOHNSON D.D.P., MACDONALD D.W. (2004) The evolution and maintenance of delayed implantation in the mustelidae (Mammalia : Carnivora). *Infect. Genet. Evol.* 58(1), 175-183
- THOM Michael D., MACDONALD D.W., MASON G.J., PEDERSEN V., JOHNSON P.J. (2004) Female American mink, *Mustela vison*, mate multiply in a free-choice environment. *Anim. Behav.* 67(5), 975-984
- TOLEDANO-DÍAZ A., CASTAÑO C., VELÁZQUEZ R., *et al.* (2020) Cryopreservation of ferret (*Mustela putorius furo*) sperm collected by rectal massage and electroejaculation: Comparison of a decelerating and an accelerating freezing rate protocol. *Vet. Med. Sci.* n°00, 1-8
- TUMANOV I.L., ABRAMOV A. (2002) A study of the hybrids between the European mink *Mustela lutreola* and the polecat *M. putorius*. *Small Carniv. Conserv.* 27, 29-31
- VAN DER HORST G., KITCHIN R.M., VAN DER HORST M., ATHERTON R.W. (2009) The effect of the breeding season, cryopreservation and physiological extender on selected sperm and semen parameters of four ferret species: implications for captive breeding in the endangered black-footed ferret. *Reprod. Fertil. Dev.* 21(2), 351-363
- VARGAS A., ANDERSON S.H. (1999) Effects of Experience and Cage Enrichment on Predatory Skills of Black-Footed Ferrets (*Mustela nigripes*). *J. Mammal.* 80(1), 263-269
- VEPRINTSEV B.N., ROTT N.N. (1979) Conserving genetic resources of animal species. *Nature* 280(5724), 633-634
- WASSER S.K., HUNT K.E., BROWN J.L., *et al.* (2000) A Generalized Fecal Glucocorticoid Assay for Use in a Diverse Array of Nondomestic Mammalian and Avian Species. *Gen. Comp. Endocrinol.* 120(3), 260-275

- WEBSTER MARKETON J.I., GLASER R. (2008) Stress hormones and immune function. *Cell. Immunol.* 252(1-2), 16-26
- WILDT D.E., BUSH M., HOWARD J.G., *et al.* (1983) Unique seminal quality in the South African cheetah and a comparative evaluation in the domestic cat. *Biol. Reprod.* 29(4), 1019-1025
- WILDT D., BUSH M., MORTON C., MORTON F., HOWARD J. (1989) Semen characteristics and testosterone profiles in ferrets kept in a long-day photoperiod, and the influence of hCG timing and sperm dilution medium on pregnancy rate after laparoscopic insemination. *J. Reprod. Fertil.* 86(1), 349-358
- WILDT D.E., RALL W.F., CRITSER J.K., MONFORT S.L., SEAL U.S. (1997) Genome Resource Banks. *BioScience* 47(10), 689-698
- WILDT D.E., ELLIS S., HOWARD J.G. (2001) Linkage of reproductive sciences: from « quick fix » to « integrated » conservation. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 57, 295-307
- WILDT D.E., COMIZZOLI P., PUKAZHENTHI B., SONGSASEN N. (2010) Lessons from biodiversity-the value of nontraditional species to advance reproductive science, conservation, and human health. *Mol. Reprod. Dev.* 77(5), 397-409
- WILLIAMS E.S., THORNE E.T., KWIATKOWSKI D.R., LUTZ K., ANDERSON S.L. (1992) Comparative Vaginal Cytology of the Estrous Cycle of Black-Footed Ferrets (*Mustela Nigripes*), Siberian Polecats (*M. Eversmanni*), and Domestic Ferrets (*M. Putorius Furo*). *J. Vet. Diagn. Invest.* 4(1), 38-44
- WOLF K.N., WILDT D.E., VARGAS A., *et al.* (2000a) Reproductive inefficiency in male black-footed ferrets (*Mustela nigripes*). *Zoo Biol.* 19(6), 517-528
- WOLF K.N., WILDT D.E., VARGAS A., *et al.* (2000b) Age-dependent changes in sperm production, semen quality, and testicular volume in the black-footed ferret (*Mustela nigripes*). *Biol. Reprod.* 63(1), 179-187
- YOUNG K.M., WALKER S.L., LANTHIER C., *et al.* (2004) Noninvasive monitoring of adrenocortical activity in carnivores by fecal glucocorticoid analyses. *Gen. Comp. Endocrinol.* 137(2), 148-165
- YOUNGMAN P.M. (1982) Distribution and the systematics of the European mink *Mustela lutreola* Linnaeus 1761. *Acta Zool. Fenn.* 166, 1-48
- YOUNGMAN P.M. (1990) *Mustela lutreola*. *Am. Soc. Mammal. Mammalian Species* (362), 1-3
- ZAMBELLI D., PRATI F., CUNTO M., IACONO E., MERLO B. (2008) Quality and in vitro fertilizing ability of cryopreserved cat spermatozoa obtained by urethral catheterization after medetomidine administration. *Theriogenology* 69(4), 485-490

Annexe 1: Conservation du sperme

La partie la plus délicate de la conception d'une banque de sperme est la conservation du sperme. Il faut qu'elle soit réussie afin de pouvoir obtenir des gestations ensuite. Elle dépend de nombreux facteurs. Des études de cryoconservation du sperme ont été conduites chez le Putois d'Europe, des steppes et le Furet domestique comme espèces modèles (Curry *et al.*, 1989 ; Howard *et al.*, 1991).

- *Dilueurs*

Dilueur	Composition	Commentaire	Référence
Dilueur de l'Université de Cornell		Le dilueur à base de citrate de jaune d'œuf non glycérolisé et le dilueur de l'Université de Cornell préservent mieux la mobilité subjective que le troisième dilueur.	(Aulerich <i>et al.</i> , 1972)
Dilueur à base de citrate de jaune d'œuf non glycérolisé			
Solution tampon saline phosphatée			
Milieu TES ou TEST ou TYB	211 mM d'acide sulfonique N-Tris méthyl 2 aminoéthane 96 mM d' aminoéthane Tris 25 mM de fructose 0,05 g/L de sulfate de streptomycine 0,05 g/L de pénicilline 20 % de jaune d'œuf	Semble être celui de référence La quantité varie cependant selon les études entre 100 µL et 200 µL	(Curry <i>et al.</i> , 1989 ; Wolf <i>et al.</i> , 2000b ; Wolf <i>et al.</i> , 2000a ; Santymire <i>et al.</i> , 2006 ; Santymire <i>et al.</i> , 2007 ; van der Horst <i>et al.</i> , 2009 ; Mackie <i>et al.</i> , 2020)

- *Cryoprotecteurs (CPA)*

Au cours du processus de congélation-décongélation, les spermatozoïdes doivent s'adapter aux changements de l'équilibre osmotiques et de la température (température testiculaire à 35 °C contre -100 à -196 °C pour l'azote liquide). Cela engendre donc un stress pour les spermatozoïdes. Des dommages peuvent aussi avoir lieu notamment à cause de formation intracellulaire de cristaux de glace entraînant la rupture de la membrane et une diminution de la qualité des spermatozoïdes après la décongélation (Holt, 2000). Ainsi pour les protéger il existe différents cryoprotecteurs, pénétrants ou non. Ils agissent en diminuant le point de congélation, en réorganisant les lipides et protéines membranaires ce qui augmente la fluidité membranaire et diminue la formation de cristaux de glace (Royere, 1996).

CPA	Commentaire	Référence
Glycérol à 4 % (CPA pénétrant)	Le plus fréquemment utilisé Permet une diminution de la mobilité totale et subjective moins importante que le sucrose	(Howard <i>et al.</i> , 1991 ; Wolf <i>et al.</i> , 2000a ; Wolf <i>et al.</i> , 2000b ; Korhonen, 2003 ; Santymire <i>et al.</i> , 2006 ; Santymire <i>et al.</i> , 2007)
Sucrose (CPA non pénétrant)		(Santymire <i>et al.</i> , 2006)

- *Additifs*

Dans une étude, 10 mM d'ATP sont ajoutés aux échantillons après dilution et avant refroidissement (Atherton *et al.*, 1989).

- *Méthode de dilution*

De nombreuses méthodes ont été évaluées pour déterminer le meilleur résultat pour la cryopréservation. Deux méthodes sont les plus couramment utilisées.

Dilution	Commentaire	Référence
Une étape	Ajouter le dilueur contenant le glycérol directement dans l'échantillon centrifugé ou non et avant le refroidissement, afin d'obtenir la concentration finale en spermatozoïdes souhaitée	(Buranaamnuay, 2017 ; Johnson, 2018)
Deux étapes	Refroidir l'échantillon dans un dilueur ne contenant pas de glycérol puis à ajouter lentement et progressivement le dilueur cryoprotecteur juste avant la congélation	(Curry <i>et al.</i> , 1989 ; Santymire <i>et al.</i> , 2006 ; Santymire <i>et al.</i> , 2007 ; van der Horst <i>et al.</i> , 2009)

- *Refroidissement*

Refroidissement	Durée	Référence
Température ambiante	15 minutes	(Curry <i>et al.</i> , 1989)
4 °C	1 heure	(van der Horst <i>et al.</i> , 2009)
Incubateur à faible température	Refroidit jusqu'à 4 °C	(Atherton <i>et al.</i> , 1989)

- *Vitesse de refroidissement et de congélation*

Vitesse	Commentaire	Référence
9 °C/min	Initialement	(Curry <i>et al.</i> , 1989)
14 °C/min	Diminue le nombre d'acrosomes intacts, affecte la qualité du sperme	(Pukazhenthil <i>et al.</i> , 2007)
4 °C/min		
0,5 °C/min	Effets affectant qualité du sperme diminués	
0,12 °C/min	Spermatozoïdes de Furets à pieds noirs très sensibles au froid	(Santymire <i>et al.</i> , 2007)

- *Congélation*

- Réipients

Réipient	Commentaire	Référence
Granulés	Meilleure viabilité post-décongélation des spermatozoïdes	(Howard <i>et al.</i> , 1991)
Paillettes 250 µL	Les plus utilisées	(Curry <i>et al.</i> , 1989 ; Atherton <i>et al.</i> , 1989 ; van der Horst <i>et al.</i> , 2009)

- Méthodes

Méthode congélation	Commentaire	Référence
Glace sèche		(Buranaamnuay, 2017)
Vapeurs de nitrogène liquide	La plus utilisée	(Atherton <i>et al.</i> , 1989 ; Curry <i>et al.</i> , 1989 ; van der Horst <i>et al.</i> , 2009)
Congélateur programmable		(Buranaamnuay, 2017)

- *Décongélation*

Méthode décongélation	Commentaire	Référence
Température ambiante		(Atherton <i>et al.</i> , 1989)
Incubateur à 37 °C	10 minutes	
Bain-marie à 60 °C	5 secondes	(Curry <i>et al.</i> , 1989 ; van der Horst <i>et al.</i> , 2009)

Annexe 2 : Collecte et transfert d'embryons

a. Collecte d'embryons

Depuis l'étude de (Chang, 1968), la façon la plus simple pour collecter les embryons est post-mortem en incisant le tractus génital. Ceci a ensuite été étudié chez les Furets et d'autres mustélidés (Adams, 1982 ; Kraemer, 1983)

Une méthode chirurgicale pour flusher les embryons qui préserve la fonction reproductrice des donneurs femelles a d'abord été appliquée aux Putois d'Europe (Lindeberg, 2003). Ceci a permis de récolter de 7,8 à 9,5 embryons par femelle ((Piltti *et al.*, 2004) puis chez le Vison d'Europe (Amstislavsky *et al.*, 2004)

Une méthode transcervicale a aussi été rapporté (Kidder *et al.*, 1999). Le matériel était constitué d'un cathéter et d'un endoscope avec une source de lumière halogène connectée à une caméra pour visualiser le *cervix*. Les résultats étaient encourageants avec 8,76 embryons par femelle.

b. Transfert d'embryons

Ceci a été étudié chez les Furets et les Visons (Chang, 1968 ; Chang, 1969 ; Kidder *et al.*, 1999 ; Amstislavsky *et al.*, 2000 ; Li *et al.*, 2001 ; Lindeberg *et al.*, 2002 ; Lindeberg *et al.*, 2002 ; Lindeberg, 2003 ; Amstislavsky *et al.*, 2004 ; Li *et al.*, 2006 ; Amstislavsky *et al.*, 2006 ; Amstislavsky, 2009).

Dans toutes ces études, des femelles pseudogestantes étaient utilisées. L'ovulation était induite avec des mâles stériles chirurgicalement (Lindeberg *et al.*, 2002 ; Lindeberg, 2003 ; Li *et al.*, 2006) ou génétiquement (Amstislavsky *et al.*, 2000) même si l'hCG peut aussi être utilisée (Kidder *et al.*, 1999). Les embryons étaient alors transférés avec succès chirurgicalement (Amstislavsky *et al.*, 2000 ; Lindeberg *et al.*, 2002 ; Lindeberg, 2003 ; Piltti *et al.*, 2004 ; Li *et al.*, 2006) ou non (Kidder *et al.*, 1999) dans l'utérus des femelles.

Les taux de gestation étaient généralement de 40 à 50% (Amstislavsky *et al.*, 2000 ; Lindeberg *et al.*, 2002 ; Lindeberg, 2003 ; Lindeberg *et al.*, 2003) même si des extrêmes comme 90 % (Li *et al.*, 2006) et 26% (Kidder *et al.*, 1999) ont aussi été notés. Cependant pour (Kidder *et al.*, 1999) c'était la méthode non chirurgicale qui avait été utilisée avec un cathéter. Il faut donc bien peser entre le taux de gestation et le potentiel danger pour la femelle receveuse.

Le transfert seulement dans une corne utérine plutôt que dans les deux s'est révélé aussi efficace chez les furets (Li *et al.*, 2006). Cependant, le fait d'avoir 2 donneurs différents pour une seule femelle semble augmenter la réussite de la procédure (Lindeberg, 2003). Il y a même eu des taux de réussite de 50 % pour des embryons de Vison d'Europe transférés dans des femelles hybrides entre Putois d'Europe et Vison d'Europe (Amstislavsky *et al.*, 2004 ; Amstislavsky *et al.*, 2006 ; Amstislavsky, 2009).

c. Cryoconservation des embryons

En modifiant un protocole conventionnel de congélation des embryons de bovins et en utilisant l'éthylène glycol comme cryoprotecteur, il a été possible de cryoconserver avec succès des embryons de Putois d'Europe d'élevage. Les embryons cryopréservés se sont développés *in vitro* après la décongélation (Amstislavsky *et al.*, 2000) et des bébés vivants sont nés après le transfert d'embryons congelés-décongelés de manière conventionnelle vers des receveurs pseudo-enceintes (Lindeberg, 2003). La vitrification des embryons de Putois à l'aide de la technologie de la paille tirée à l'air libre et leur réchauffement et transfert ultérieurs ont également donné lieu à la naissance d'enfants (Piltti *et al.*, 2004). Plus récemment, (Sun *et al.*, 2008) ont fait état de taux de natalité relativement élevés après le transfert d'embryons de furet vitrifiés et chauffés. Des *morulae* compactes et des blastocystes précoces après vitrification-réchauffement, culture *in vitro* et transfert ultérieur ont entraîné un taux de natalité de 71,3 % si la culture a duré deux heures et de 77,4 % si elle a eu lieu 16 heures avant le transfert (Sun *et al.*, 2008).

LE DÉVELOPPEMENT DE L'INSÉMINATION ARTIFICIELLE CHEZ LE VISON D'EUROPE (*MUSTELA LUTREOLA*) : INTÉRÊT DE L'UTILISATION DU FURET DOMESTIQUE (*MUSTELA PUTORIUS FURO*) COMME MODÈLE EXPÉRIMENTAL

AUTEUR : Morgane VAUTHIER

RÉSUMÉ :

Le Vison d'Europe (*Mustela lutreola*) est l'un des carnivores les plus menacés d'Europe actuellement avec une réduction de 85 % de son aire de répartition et une diminution de 90 % de ses effectifs mondiaux depuis le XIX^{ème} siècle. Il est classé « en danger critique d'extinction » sur la liste rouge de l'IUCN.

Cependant, c'est une espèce qui a fait, qui fait et qui va faire l'objet de nombreux programmes de conservation dans différents pays, dont la France qui est en train d'élaborer un troisième Plan National d'Actions impliquant Zoodyssée, un des 2 élevages conservatoires du Vison d'Europe en France et partenaire de notre projet, afin de renforcer la population sauvage nationale qui compte aujourd'hui moins de 250 individus.

Un outil intéressant pour renforcer les populations et sauver les espèces de l'extinction correspond aux biotechnologies de la reproduction. Des méthodes moins invasives se développent afin de récolter la semence comme la cathétérisation urétrale ainsi que pour inséminer les femelles comme l'insémination artificielle transcervicale par endoscopie.

Pour développer ces méthodes et les mettre en œuvre chez les espèces en voie d'extinction, il est nécessaire de disposer d'espèces modèles, comme le Furet domestique. Ce dernier se révèle être très proche d'un point de vue phylogénétique, anatomique et physiologique du Vison d'Europe.

Notre étude avait donc pour but de développer, chez le Furet domestique, la récolte de sperme par cathétérisme urétral et l'insémination artificielle transcervicale par endoscopie. Une plaquette a été réalisée afin de présenter notre projet à des potentiels donateurs. Nous n'avons pu cependant réaliser cette étude du fait de la déclaration d'une pandémie due au *Coronavirus* de la COVID-19.

MOTS CLÉS :

INSEMINATION ARTIFICIELLE TRANSCERVICALE / CATHETERISME URETRAL / ENDOSCOPIE / MODELE EXPERIMENTAL / VISON D'EUROPE / FURET DOMESTIQUE

JURY :

Président : Pr Claude SOUSSY

1^{er} Assesseur : Pr Alain FONTBONNE

2nd Assesseur : Dr Pascal ARNÉ

THE DEVELOPMENT OF ARTIFICIAL INSEMINATION IN THE EUROPEAN MINK (*MUSTELA LUTREOLA*): INTEREST OF THE USE OF THE DOMESTIC FERRET (*MUSTELA PUTORIUS FURO*) AS AN EXPERIMENTAL MODEL

AUTHOR: Morgane VAUTHIER

SUMMARY:

The European Mink (*Mustela lutreola*) is one of the most threatened carnivores in Europe today with an 85 % reduction in its range and a 90 % decrease in its global numbers since the 19th century. It is classified as “Critically Endangered” on the IUCN Red List.

However, it is a species that has been, is and will be the subject of many conservation programs in different countries, including France, which is currently developing a third National Action Plan involving Zoodyssée, one of the 2 conservatory breeding centers of the European Mink in France and a partner in our project, in order to strengthen the national wild population, which now numbers less than 250 individuals.

An interesting tool to reinforce populations and save species from extinction is reproductive biotechnology. Less invasive methods are being developed to collect semen such as urethral catheterization and to inseminate females such as transcervical artificial insemination by endoscopy.

In order to develop these methods and implement them in endangered species, it is necessary to have model species, such as the Domestic Ferret. The latter is very close to the European Mink from a phylogenetic, anatomical and physiological point of view.

The aim of our study was therefore to develop, in the Domestic Ferret, semen collection by urethral catheterization and transcervical artificial insemination by endoscopy. A leaflet was produced in order to present our project to potential donors. However, we were unable to carry out this study due to the declaration of a pandemic due to the COVID-19 Coronavirus.

KEYWORDS:

EUROPEAN MINK; DOMESTIC FERRET; TRANSCERVICAL ARTIFICIAL INSEMINATION; URETHRAL CATHETERISM

JURY:

Chairperson: Pr Claude SOUSSY

1st Assessor: Pr Alain FONTBONNE

2nd Assessor: Dr Pascal ARNÉ