



## Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/>  
Eprints ID : 12291

**To cite this version :**

Valentin, Sarah. *La reproduction assistée chez les rhinocéros*.  
Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale  
Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2014, 112 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository  
administrator: [staff-oatao@inp-toulouse.fr](mailto:staff-oatao@inp-toulouse.fr).

# LA REPRODUCTION ASSISTÉE CHEZ LES RHINOCÉROTIDÉS

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**Sarah VALENTIN**

Née, le 28 juillet 1990 à Toulouse (31)

---

**Directeur de thèse : Mme Sylvie CHASTANT-MAILLARD**

---

## JURY

PRESIDENT :  
**M. Olivier PARANT**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :  
**Mme Sylvie CHASTANT-MAILLARD**  
**Mme Laura FERNANDEZ**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt  
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE**

**Directeur** : M. Alain MILON

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

**PROFESSEURS 1° CLASSE**

- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*

**PROFESSEURS 2° CLASSE**

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

**PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE**

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

**MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE**

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*  
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*  
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*  
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*  
Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*  
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*  
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

**MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)**

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*  
Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*  
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*  
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*  
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*  
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*  
M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*  
Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*  
Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*  
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*  
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*  
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*  
Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*  
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*  
M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*  
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*  
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*  
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*  
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*  
Mlle **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*  
Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*  
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*  
Mme **TROEGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*  
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*  
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*  
Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

**N. MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS**

- M. **BOURRET Vincent**, *Microbiologie et infectiologie*  
M. **DAHAN Julien**, *Médecine Interne*  
Mme **FERNANDEZ Laura**, *Pathologie de la reproduction*

**ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS**

- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophtalmologie*

## REMERCIEMENTS

A notre président du jury de thèse,  
**À Monsieur le Professeur Olivier PARANT,**  
De la Faculté de Médecine de Toulouse,  
Qui nous fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,  
Qu'il trouve ici l'expression de mes hommages et de mes remerciements respectueux.

A notre jury de thèse,

**Madame la Professeur Sylvie CHASTANT-MAILLARD,**  
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,  
*Pathologie de la Reproduction,*  
Qui a accepté d'encadrer ce travail,  
Pour son intérêt porté à ma thèse, sa relecture attentive et son aide précieuse,  
Sincères remerciements.

**Madame Laura FERNANDEZ,**  
Maitre de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,  
*Pathologie de la Reproduction,*  
Pour avoir accepté de participer à ce jury,  
Sincères remerciements.

## ***A ma famille***

A mon papi **Gérard**, pour avoir été un grand-père d'exception.  
Merci de m'avoir si bien transmis ton amour des mots et de la nature.  
Mes souvenirs de toi resteront toujours aussi vivaces que l'amour que je te porte.

A **Margot**, *Marge*, ma petite sœur. Ma grande aussi parfois. Pour tout ce qui nous rapproche et tout ce qui nous distingue. Pour ces qualités qui sont tiennes et que j'admire tellement : ta générosité, ta droiture, ton humour. Pour supporter avec patience mes états d'âme et être toujours d'un conseil si précieux, pour être ma styliste en chef. Préserve ton optimisme à travers les difficultés et tes rêves jusqu'à leur accomplissement. Cap sur l'avenir !

A **mon père**, pour m'avoir transmis ces valeurs essentielles qui me guident. Pour tous les apprentissages que je te dois et qui font partie de la personne que je suis aujourd'hui. Pour ta présence à toutes les étapes importantes de ma vie et ton soutien, merci.

A ma **mamie Janine**, pour la grand-mère atypique et pétillante que tu es. Pour nous avoir toujours (trop) gâtés, nous avoir régalez de tes chasses au trésor, pour les sorties du collège, les virées de Noël mémorables du Club des Cinq (quelle patience !) et j'en passe. Pour être toujours aussi branchée. Parce « *qui c'est la plus forte, la plus forte c'est... Mamie !* »

Aux « séniors », **Jo** et **Mag**, et à leur tribu : **Tom**, **Rémi** et **Claire**. Aux vacances inoubliables du **Club des Cinq** à St Lo : la fougasse, les chasses au trésor et aux doryphores, les poulets aux olives, les courses poursuites à toutes heures. A nos spectacles de Noël au top. A cette journée magique à Sagres avec vous. Je vous souhaite tout le bonheur possible à l'aube de vos parcours.

A **papi Robert** et **mamie Simone**. Pour les bons souvenirs de vacances à la montagne et cette finale de coupe du monde que nous n'oublierons pas ! A Cathy, Françoise, et mes cousines : Marie, Chloé, Astrid et leurs petites familles.

A **Sandrine**, pour la délicatesse avec laquelle tu es entrée dans nos vies.

## ***A ma famille auzevilloise***

Au **Home Cinéma**, institution nous ayant permis de nous forger une culture cinématographique impressionnante entre kholles et DS. Des *Sous-doués passent le bac* de notre première soirée à notre nuit blanche devant *Danse avec les loups* (merci Flo), ces soirées sont parmi mes meilleurs souvenirs. Votre amitié a été une force de tous les instants.

A mes attardées préférées. Pour les dinosaures, nos « petits » gouters et autres fondues au chocolat, les Carnaval, les week-ends en rouge et blanc à Vic et à Condom, et pour tous ces moments du quotidien qui ont illuminé ces deux années de prépa. A nos retrouvailles, trop peu fréquentes à mon goût, mais toujours au top.

A **Marion**, ma colloc' de chambre, de pots de Nutella, de Red Hot, de poisson momifié. Pour avoir été une partenaire de belotte hors pair, nos fous rires ont heureusement été plus nombreux que nos victoires !

A Lucie, dite **Pluzy**, notre conductrice en chef. A ce week-end sur les pistes au son des Fatals Picards. Que tes années belges te donnent la frite et la réussite !

A Luce, notre **Kukuce** ou Savyande nationale. Pour ton oreille attentive et ta joie de vivre. Pour être notre boulette attirée et nous régaler de tes lapsus en série. Rien que d'y penser j'en ai des citrons partout !

A **Roland**, *grand fondateur*, pour avoir mis ta chambre et ton matériel hi-tech à notre disposition. Pour nos discussions jusqu'au bout de la nuit, les ti punchs, nos rocks parfois acrobatiques mais toujours au poil (en toutes circonstances 😊), les trains ratés, les randos aveyronnaises hors des sentiers battus. Je ne doute plus que Villefranche de Rouergue est la plus belle ville de France ! Merci d'être resté le même, d'être resté tout court.

A **Clément**, dit le Catalan, pour tes « Héééééé » qui résonnent encore dans les couloirs de l'internat, les fiestas à Ayguatebia, l'escapade mémorable en 4\*4.

A **Vincent**, pour avoir accepté de m'intégrer au cercle très privé de la fête à Puylaurens. Pour tes accueils toujours au top, ta générosité et ton humour, la pêche à la truite, les aprèm' à St Fé, pour m'avoir fait découvrir les champignons les plus improbables des forêts de la Montagne Noire et (surtout) les coordonnées GPS des coins à cèpes. Un jour je réussirai à te trainer sur un raid !

A **Mathieu**, notre fonctionnaire de l'ONF exilé. Parce que grâce à toi, je relativise mon bilan de défaites bellotesques, et que je sais reconnaître tous les résineux de la montagne Noire (ou presque).

A tous ceux qui, souvent malgré eux, ont alimenté nos parties de rigolades : Bloom, le fils de Virlogeux, le schyzo, Chouyou, le Top Model et j'en oublie ! Aux membres de **la banda** qui ont animé parfaitement nos soirées de chouille. Aux professeurs qui nous ont tous guidé dans le marathon du concours.

### ***A ma famille tournefeuillaise,***

Au **Jungle Touch**, colocation (ou « association ») éclectique de vétos en herbe. Merci d'avoir fait de ces années vétos un festival de rire et d'amitié. Ce que j'ai appris de plus précieux à l'ENVT, c'est sans aucun doute à vous que je le dois. Merci pour les parties de Risk et de Catane, nos aprèm de glande, nos tablées du soir, nos débats enflammés, nos pauses thé, , nos fiestas mémorables, nos courses puissance 7 et tout le reste. Pour avoir été des étudiants vétos atypiques. Du bonheur à tous pour toutes ces nouvelles pages qui s'ouvrent.

A **Dodie**, ma partenaire de raid. A tous ces kilomètres parcourus autour du stade, le long du Touch, dans les montagnes, à pied, à la rame, en VTT, sur l'eau, sous la pluie, le soleil, dans la douleur parfois, mais toujours dans le plaisir de l'effort partagé ensemble (surtout du pâté en fait...). A nos soirées toulousaines, espagnoles, portugaises, américaines, celles jusqu'au bout que la nuit, les tropicales « mais pas trop », celles de la loose aussi ! Pour m'avoir enseigné l'art subtil du Kuduro et pour illuminer les soirées de tes noix de cocos.

A **Fanny**, ma creusoise préférée (peu de risque que ça change). Pour avoir été la maman de la coloc', une commère hors pair et une pro du plaquage (sans mauvais jeu de mot). Tes états d'âme culinaires ont beaucoup manqué à la cuisine du Jungle (la fermeté de tes bavarois et les piles de la balance par contre, beaucoup moins).

A **Sam**, notre berger et jardinier en chef, pour ton sens aigu de l'observation et de la psychologie, ton écoute précieuse. Merci de nous avoir fait partager tes connaissances en phytothérapie (nous ne manquerons pas d'en vérifier l'efficacité en temps voulu), les bases de la gastronomie polonaises (du cornichon, du lard, des patates, et la vodka à 95 degrés) et les essentiels de l'éducation canine. Merci pour cet accueil exceptionnel dans ton havre de paix du Beaujolais.

A **Clément-chou**, pour avoir repris la gestion administrative du Jungle. Pour nos discussions culinaires techniques, pour être une fouine assumée, parce que *oooooooooh le but oh le but !!* et que *t'aimes briller la night*, pour ton humour pince-sans-rire et pour accueillir nos préchauffes de dinosaures. Parce que tu es l'« Interne », tout simplement.

A **Flora**, la plus latino des Tournefeuillaises, pour ta cuisson du riz inimitable et tes fondants au chocolat, les aprèm' à l'Arsenal, notre périple portugais. Pour les grains de raisin et les taxis à Valencia. Plein de bonheur pour ta nouvelle vie lyonnaise !



A **Delphine**, pour nous avoir mis dans le droit chemin écologique, pour les contradictions qui font tout ton charme et tes émotions à fleur de peau. Pour les « *attendez j'arrive* » « *attendez je reviens* » et autres « *je crois que j'ai oublié un truc...* ». Tu nous pardonne pour Signe ?

A **Enricoco**, pour avoir réussi à apprendre le français parmi nous (quel exploit), les pastas et les pizzas (ok, c'est cliché). Pour être un adversaire redoutable au Catane (mais j'ai eu ma victoire).

A **Guillaume**, pour m'avoir initiée au crawl avec succès (enfin, je crois), et pour avoir relancé le marché du lait de soja bio made in France. Pour ces discussions sans fin.

Aux habitants de passage qui le temps d'un week-end, d'une semaine ou de quelques mois ont posé leur valise au Jungle Touch :

A **Sarah**, deuxième du nom, notre « jeune » étudiante en médecine. Pour ce repas « presque parfait » concocté avec amour, et pour le dernier MacDo de ma vie.

A **Paula**, pour ton Erasmus *way of life*, ta consommation hebdomadaire de 3 litres d'huile d'olive et tes gâteaux triple-couche.

A **Romain**, le Perrault junior, pour ton énergie débordante et ta spontanéité.

A **Nicolas**, pour ton passage court mais remarqué au Jungle (la haie s'en souvient encore). A ta perpétuelle bonne humeur, ton humour, tes « j'aime Béziers ».

Mais aussi **Tiffany, Camille et Stéphanie**, pleins de bonnes choses pour la suite.

A **Florent**, l'inclassable. Certaines choses n'ont pas de mots pour les décrire, ou n'ont finalement pas besoin de l'être. Je te remercierai donc simplement de me connaître si bien et d'être là à chaque instant, dans le rire comme dans les moments difficiles. Merci de ta constance, elle n'a pas de prix. « *Wesh, gros, j'aime pas l'abricot...* »

### **Aux vétos**

A **Claire et Vincent**, pour ces joyeuses célébrations en votre compagnie. Pour avoir fait confiance à l'entreprise Jungle pour l'animation de vos fiançailles (sans rancune pour le mariage, de toute façon on était trop chers). Que du bonheur pour la suite !

A **Thibault et Caro**, pour être déchainés en soirée comme au premier jour. Plein de bonheur pour ce nouveau départ dans le Cantal, je compte sur vous pour m'envoyer du fromage au Gabon !

A **Félix** (merci le guide !) **et Delphine**, pour votre simplicité et les bons moments passés ensemble.

A la **Kaz'blonde** pour les soirées toujours plus court, toujours plus colorées : **Alizée, Diane, Pauline, Amélie** et **Edwina**. Au **Bled**, pour ce repas qu'on aura attendu pendant 5 ans. Pour les td, les soirées, les moments passés ensemble : **Emilie, Sophie, Stéphanie, Elsa, Juliette, Aurélie, Lilou** et les autres. A **Charlotte**, tu en vois le bout toi aussi ! A **Pauline R**, pour nos week-ends de garde pas tristes. A **Salim** pour les câlins et les retours de boom. A **H** pour les fins de soirée en cuisine. Au poulot Jungle **Fabraguette** et sa maîtrise du Kuduro (ou pas), **Sophie, Anne, Thomas, Marion** et **Pauline** pour ce super week-end. Aux anciens et futurs membres du **Véto Raid Club**, gardez l'esprit pâté !

***Aux Toulousains d'origine ou d'adoption, du bout de la France ou du monde***

A mes goinfres, **Caro** et **Marion**, sans vous les années lycées auraient été bien tristes. Vos destinations géographiques nous ont éloignées mais j'espère vous revoir bientôt. A **Céline, Constance** et **Charlotte**, pour ces semaines d'été à Argelès, le Martini et le trou dans le pain.

A **Ali**, pour ton art de recevoir et ton raffinement. Pour avoir réussi à me faire aimer le vin rouge. Merci pour ces soirées inoubliables (bien que souvent scandaleuses) et ce réveillon de Noël au poil. A la « bande à Ali » : **Diego**, en voie de naturalisation, **Vincent, Jean, David**, pour vos aventures de célibataires dont on ne se lasse pas. A **Juan** pour ces moments que nous avons partagé, merci de ta gentillesse et ta générosité.

A **Sylvain** et **Jean**, les raideurs de l'ENAC, pour tous les bons moments partagés. Plein de bonnes choses pour vos nouveaux départs dans le grand bain.

A **Christo**, mon premier patron, pour ta bonne humeur et ton humour. Grâce à toi tous ces samedi matin derrière l'étal ne me laissent que de bons souvenirs (même ceux qui gèlent, qui mouillent et qui ventent !).

Muito obrigada aos profesoress e os estudantes brasileiros da **Universidade Estadual de Londrina**, a **Stela** e toda sua familia, a **Talita** e seus paes, a **Roberta**. Obrigada pelo acolhimento excepcional no seu pais e pela paciencia com meu aprendizagem do portugues.

A **Baptiste Mulot, Alix, Anna** et toute l'équipe des soigneurs du **ZooParc de Beauval** pour ce mois de stage riche d'apprentissages passé parmi vous. A l'équipe de la **Clinique Saint-Jacques** pour le super accueil de cet été. A **Emilie** pour le meilleur Mojito d'Agen.

A **maman Perrault** pour le rougail saucisse et **papa Perrault** pour le vin tahitien.

Aux compagnons à poils de toutes ces aventures :

A **Goya**, chienne la mieux dressée de l'ENVT ; **Doug**, chien le plus obéissant de l'ENVT ; **Pok**, chienne la plus affectueuse de l'ENVT. Parmi les 3 propositions précédentes, rayer la mention inutile.

A **Shadow** et **Siri**, pour être des ambassadrices hors pair de l'intelligence féline.

## TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION

<b>1<sup>ère</sup> PARTIE : STATUT DEMOGRAPHIQUE DES RHINOCEROTIDES ET PLACE DE LA REPRODUCTION ASSISTEE .....</b>	<b>18</b>
<b>I- Caractéristiques générales des rhinocéros</b> .....	<b>18</b>
A. Classification actuelle .....	18
B. Morphologie .....	19
<b>II- Aspects démographiques, statut et menaces .....</b>	<b>19</b>
A. Historique et aspects démographiques des différentes espèces de rhinocéros .....	19
1. <i>Le rhinocéros blanc</i> .....	19
2. <i>Le rhinocéros noir</i> .....	21
3. <i>Le rhinocéros indien</i> .....	24
4. <i>Le rhinocéros de Sumatra</i> .....	24
5. <i>Le rhinocéros de Java</i> .....	25
B. Menaces.....	26
1. <i>L'abattage illégal</i> .....	26
2. <i>La fragmentation de l'habitat</i> .....	28
3. <i>L'instabilité politique</i> .....	29
<b>III- Actions de protection mises en place .....</b>	<b>29</b>
A. Organismes de protection internationale .....	29
1. <i>La CITES (Convention on International Trade of Endangered Species of Wild Fauna and Flora)</i> .....	29
2. <i>Les Groupes de Spécialistes du Rhinocéros</i> .....	29
3. <i>TRAFFIC (Trade Records Analysis of Fauna and Flora in Commerce)</i> .....	30
B. Législation nationale.....	30
C. Mesures de protection <i>in situ</i> .....	30
1. <i>La lutte anti-braconnage</i> .....	30
2. <i>Le suivi des populations</i> .....	31
3. <i>Le déplacement d'individus</i> .....	31

<b>IV- La reproduction en captivité et intérêts de la reproduction assistée .....</b>	<b>31</b>
A. Etat des lieux de la reproduction en captivité des rhinocérotidés .....	32
1. <i>Le rhinocéros blanc</i> .....	32
2. <i>Le rhinocéros noir</i> .....	32
3. <i>Le rhinocéros de Sumatra</i> .....	33
4. <i>Le rhinocéros indien</i> .....	33
B. Facteurs limitants de la reproduction en captivité .....	33
1. <i>Infertilité des femelles</i> .....	33
2. <i>Non-respect des structures sociales</i> .....	34
3. <i>La mortalité</i> .....	34
C. Intérêts de la reproduction assistée .....	35
1. <i>Lutte contre l'appauvrissement génétique</i> .....	35
2. <i>Préservation du potentiel reproducteur chez le rhinocéros blanc</i> .....	35
3. <i>Détection de l'œstrus</i> .....	35

**2ème PARTIE : ETUDE ET PARTICULARITES ANATOMIQUES ET ENDOCRINOLOGIQUES DE LA REPRODUCTION CHEZ LE RHINOCEROS .....36**

<b>I- Etude anatomique de l'appareil reproducteur femelle .....</b>	<b>36</b>
A. Vue générale et dimensions de l'appareil reproducteur .....	36
B. Structures anatomiques de l'appareil génital femelle .....	37
1. <i>Les ovaires</i> .....	37
2. <i>La trompe utérine</i> .....	37
3. <i>L'utérus</i> .....	38
4. <i>Le vagin</i> .....	39
5. <i>La vulve et le clitoris</i> .....	40
6. <i>Les mamelles</i> .....	40
<b>II- Etude anatomique de l'appareil génital mâle .....</b>	<b>41</b>
A. Les testicules.....	42
B. L'épididyme .....	42
C. Le canal déférent .....	43
D. Les glandes accessoires .....	43
E. Le pénis.....	43

<b>III- Endocrinologie.....</b>	<b>44</b>
A. Etude du cycle œstral chez la femelle .....	44
1. <i>Durée du cycle œstral.....</i>	44
2. <i>Le rhinocéros blanc, quel cycle ?.....</i>	45
3. <i>L'anœstrus.....</i>	46
B. Dynamiques ovariennes au cours du cycle œstral .....	47
<b>IV- Pathologie de la reproduction.....</b>	<b>48</b>
A. Pathologie chez la femelle.....	48
1. <i>L'hyperplasie glandulokystique.....</i>	48
2. <i>Les tumeurs.....</i>	49
3. <i>Les kystes.....</i>	49
4. <i>Le phénomène de vieillissement reproducteur précoce.....</i>	50
5. <i>Pathologie de la gestation .....</i>	50
6. <i>Les dystocies.....</i>	51
B. Pathologie chez le mâle .....	52
1. <i>Fibrose testiculaire .....</i>	52
2. <i>Séminome.....</i>	52
<b>V- Etude échographique de l'appareil reproducteur mâle et femelle .....</b>	<b>53</b>
A. Intérêts et méthode de l'échographie pour l'étude de l'appareil reproducteur .....	53
1. <i>Intérêts et applications de l'échographie.....</i>	53
2. <i>Contention.....</i>	54
3. <i>Matériel.....</i>	57
B. Etude échographique de l'appareil reproducteur femelle.....	57
1. <i>Position relative des structures du tractus génital.....</i>	57
2. <i>Aspect échographique physiologique de l'appareil reproducteur femelle .....</i>	58
3. <i>Aspect échographique des affections de l'appareil reproducteur femelle .....</i>	61
C. Etude échographique de l'appareil reproducteur mâle .....	64
1. <i>Les testicules .....</i>	64
2. <i>Les glandes accessoires.....</i>	64
3. <i>L'urètre.....</i>	65

<b>VI- Evénements de la reproduction chez les rhinocerotidés .....</b>	<b>67</b>
A. Sociologie du rhinocéros dans la nature .....	67
B. Maturité sexuelle chez les rhinocerotidés .....	68
1. <i>Maturité sexuelle dans la nature</i> .....	68
2. <i>Maturité sexuelle en captivité</i> .....	68
C. L'accouplement .....	69
D. La gestation.....	69
E. La mise-bas .....	70
F. L'élevage des jeunes.....	70
<b>3<sup>ème</sup> PARTIE : LA REPRODUCTION ASSISTEE CHEZ LES RHINOCEROTIDES.....</b>	<b>71</b>
<b>I- Récolte et traitement des gamètes mâles .....</b>	<b>71</b>
A. Méthodes de prélèvement.....	71
1. <i>L'électroéjaculation</i> .....	71
2. <i>Le massage pénien</i> .....	72
3. <i>Massage rectal</i> .....	72
4. <i>Sperme post-coïtal</i> .....	73
5. <i>Post-mortem</i> .....	73
6. <i>Vagin artificiel</i> .....	74
B. Evaluation de la qualité de la semence .....	74
1. <i>Analyse macroscopique</i> .....	74
2. <i>Analyse microscopique</i> .....	75
C. Traitement et conservation de la semence .....	80
1. <i>Traitement et conservation de la semence fraîche</i> .....	80
2. <i>Traitement et conservation de la semence congelée</i> .....	80
<b>II- Détection de l'œstrus et de l'ovulation .....</b>	<b>83</b>
A. Changements comportementaux.....	83
B. Modifications physiques.....	83
C. Température rectale.....	83

D.	Dosages hormonaux .....	83
1.	<i>Techniques de prélèvement</i> .....	84
2.	<i>Hormones dosées</i> .....	85
3.	<i>Profil et ordre de grandeur des concentrations hormonales au cours du cycle</i> ....	87
E.	Suivi échographique .....	90
F.	Bilan .....	90
<b>III-</b>	<b>La maîtrise des cycles</b> .....	<b>91</b>
1.	<i>L'induction de l'ovulation</i> .....	91
2.	<i>L'induction du cycle œstral</i> .....	92
<b>IV-</b>	<b>Technique d'insémination</b> .....	<b>94</b>
1.	<i>Contention</i> .....	94
2.	<i>Déroulement de l'insémination</i> .....	94
<b>V-</b>	<b>Perspectives</b> .....	<b>96</b>
A.	Le sexage de sperme .....	96
B.	Le « gamete rescue ».....	96
C.	La fécondation <i>in vitro</i> (FIV) .....	98
<b>VI-</b>	<b>Diagnostic de gestation</b> .....	<b>98</b>
A.	Diagnostic et suivi échographique de la gestation.....	98
1.	<i>Diagnostic de gestation</i> .....	98
2.	<i>Développement embryonnaire et suivi de la gestation</i> .....	98
3.	<i>Sexage du fœtus</i> .....	100
B.	Dosages hormonaux .....	100
1.	<i>Gonadotrophine chorionique équine (eCG)</i> .....	100
2.	<i>Les œstrogènes</i> .....	100
3.	<i>Les progestagènes</i> .....	101
<b>VII-</b>	<b>Détection de la mise-bas</b> .....	<b>102</b>
A.	Modifications physiques.....	102
B.	Comportement .....	102
C.	Changements hormonaux .....	102

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.</b> Distribution historique des deux sous-espèces de rhinocéros blanc .....	20
<b>Figure 2.</b> Probable distribution du rhinocéros noir en 1700.....	22
<b>Figure 3.</b> Distribution des 4 sous-espèces de rhinocéros noir en 1997 .....	23
<b>Figure 4.</b> Nombre annuel de rhinocéros braconnés en Afrique du Sud depuis 2000 .....	27
<b>Figure 5.</b> Vue abdominale de l'appareil reproducteur du rhinocéros femelle en coupe transversale .....	36
<b>Figure 6.</b> Section d'une corne utérine de rhinocéros blanc montrant les plis longitudinaux de l'endomètre .....	38
<b>Figure 7.</b> Dessin en vue dorsale de l'appareil reproducteur du rhinocéros femelle .....	39
<b>Figure 8.</b> Anatomie de l'appareil reproducteur mâle du rhinocéros. ....	41
<b>Figure 9.</b> Pénis d'un rhinocéros de Sumatra .....	44
<b>Figure 10.</b> Excrétion de prégnanes fécales chez une femelle rhinocéros blanc mettant en évidence les cycles courts « TYPE I » et les cycles longs « TYPE II » .....	45
<b>Figure 11.</b> Fibrose multifocale dans le testicule d'un rhinocéros mâle âgé .....	52
<b>Figure 12.</b> Image échographique et coupe <i>post-mortem</i> d'un séminome chez un rhinocéros blanc .....	53
<b>Figure 13.</b> Echographie transrectale d'une femelle rhinocéros non sédaturée dans une stalle en libre accès.....	55
<b>Figure 14.</b> Image échographique du tractus génital d'un rhinocéros de Sumatra femelle .....	57
<b>Figure 15.</b> Image échographique (coupe sagittale) du col de l'utérus et interprétation schématique .....	58
<b>Figure 16.</b> Image échographique d'un follicule pré-ovulatoire chez un rhinocéros noir .....	59
<b>Figure 17.</b> Image échographique d'un follicule pré-ovulatoire chez un rhinocéros de Sumatra .....	59
<b>Figure 18.</b> Image échographique d'un follicule pré-ovulatoire chez le rhinocéros indien .....	59
<b>Figure 19.</b> Image échographique d'un follicule hémorragique.....	60
<b>Figure 20.</b> Image échographique d'un corps jaune .....	61
<b>Figure 21.</b> Images échographiques de différents stades d'hyperplasie glandulokystique de l'endomètre chez un rhinocéros blanc.....	62
<b>Figure 22.</b> Aspect échographique de tumeurs de l'appareil reproducteur .....	63
<b>Figure 23.</b> Vue échographique étendue d'une tumeur de l'appareil reproducteur au niveau de la portion crâniale du col chez un rhinocéros indien .....	63
<b>Figure 24.</b> Image échographique d'une glande bulbo-urétrale en coupe sagittale et interprétation schématique .....	64
<b>Figure 25.</b> Image échographique de la prostate en coupe sagittale et interprétation schématique .....	65
<b>Figure 26.</b> Image échographique d'une vésicule séminale en coupe sagittale et interprétation schématique .....	65



<b>Figure 27.</b> Image échographique de l'urètre pelvien (U) en coupe sagittale durant une électroéjaculation.....	66
<b>Figure 28.</b> Sonde rectale conçue pour l'électro-éjaculation du rhinocéros .....	71
<b>Figure 29.</b> Spermatozoïde d'un rhinocéros de Sumatra vu au microscope à contraste de phase .....	77
<b>Figure 30.</b> Spermatozoïdes de rhinocéros indien colorés par la FITC-PNA révélant les acrosomes intacts et endommagés. ....	78
<b>Figure 31.</b> Test hypo-osmotique sur des spermatozoïdes de rhinocéros blanc.....	79
<b>Figure 32.</b> Profil d'excrétion fécale de la 20- $\alpha$ -dihydroprogestérone au cours de cycles œstraux successifs chez un rhinocéros blanc .....	87
<b>Figure 33.</b> Profil d'excrétion d'œstradiol urinaire durant des cycles œstraux successifs chez un rhinocéros blanc.....	88
<b>Figure 34.</b> Profil d'excrétion fécale d'œstrogènes totaux et de 17-oxo-androgènes au cours de cycles œstraux successifs chez un rhinocéros indien .....	89
<b>Figure 35.</b> Profil de la croissance du follicule dominant, de la concentration urinaire en œstrone et en métabolite de la progestérone chez un rhinocéros indien .....	91
<b>Figure 36.</b> Concentration fécale en 20-oxo-pregnane avant, pendant et après un traitement à l'acétate de chlormadinone (CMA) et à l'hCG chez un rhinocéros blanc. ....	93
<b>Figure 37.</b> Protocoles d'induction de l'ovulation chez le rhinocéros blanc.....	93
<b>Figure 38.</b> Vérification du positionnement du cathéter d'insémination par échographie.....	95
<b>Figure 39.</b> Image échographique du positionnement de l'aiguille d'aspiration à travers la paroi rectale jusque dans la lumière folliculaire .....	97
<b>Figure 40.</b> Embryon de rhinocéros noir au stade 4 cellules obtenu par FIV.....	98
<b>Figure 41.</b> Images échographiques du développement embryonnaire précoce chez le rhinocéros de Sumatra .....	99
<b>Figure 42.</b> Concentration fécale en pregnane au cours de la gestation d'une femelle rhinocéros blanc.....	101
<b>Figure 43.</b> Concentrations sériques en relaxine et prolactine au cours de la gestation et de la mise-bas d'une femelle rhinocéros de Sumatra .....	102

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1.</b> Place des rhinocerotidés dans l'arbre de la vie .....	18
<b>Tableau 2.</b> Dimensions des différentes espèces de rhinocéros.....	19
<b>Tableau 3.</b> Effectifs et statut des espèces de rhinocerotidés .....	26
<b>Tableau 4.</b> Effectifs en captivité et facteurs limitants de la reproduction chez les différentes espèces de rhinocerotidés .....	34
<b>Tableau 5.</b> Dimensions de l'appareil reproducteur femelle chez les rhinocerotidés.....	37
<b>Tableau 6.</b> Durée du cycle œstral chez les rhinocerotidés .....	44
<b>Tableau 7.</b> Paramètres de l'ovulation chez les rhinocerotidés.....	47
<b>Tableau 8.</b> Cas de morts embryonnaires et d'avortements rapportés par la littérature .....	51
<b>Tableau 9.</b> Intervalles entre les mises-bas et pics de naissances chez des populations de rhinocéros sauvages .....	70
<b>Tableau 10.</b> Volume et concentration spermatique de l'éjaculat du rhinocéros.....	75
<b>Tableau 11.</b> Dimensions du spermatozoïde du rhinocéros noir et du rhinocéros de Sumatra .....	76
<b>Tableau 12.</b> Mobilité et anomalies des spermatozoïdes de l'éjaculat du rhinocéros.....	78
<b>Tableau 13.</b> Comparaison de la composition de deux liquides de conservation de la semence utilisés chez le rhinocéros .....	81
<b>Tableau 14.</b> Principaux métabolites de la progestérone dosés chez le rhinocéros. ....	85
<b>Tableau 15.</b> Principaux œstrogènes dosés chez le rhinocéros.....	86
<b>Tableau 16.</b> Chronologie du développement embryonnaire précoce chez une femelle rhinocéros.....	99

## INTRODUCTION

Par ses dimensions hors normes et son apparence quasi-préhistorique, le rhinocéros a longtemps effrayé, sinon intrigué. Son nom provient de la contraction entre les mots grecs *rhinos*, le nez, et *keras*, la corne. Ce méga vertébré autrefois très largement répandu sur les continents africain et asiatique a vu ses effectifs décimés en raison de cet appendice très convoité.

Malgré leur statut d'espèces protégées et l'interdiction du commerce des animaux et de tous leurs produits, les représentants des rhinocerotidés sont menacés par l'intensité du braconnage, et plusieurs sous-espèces ont aujourd'hui totalement disparu.

Depuis plusieurs décennies, les programmes de conservation s'appuient sur des stratégies de protection *in situ* de grande envergure, telles que le déplacement de groupes d'individus dans des réserves protégées. Ces zones sont des endroits privilégiés pour l'étude de l'espèce en milieu sauvage.

En parallèle des actions sur le terrain, la volonté est forte de maintenir cette espèce dans les parcs zoologiques. Malgré l'image très nuancée de la captivité dans le grand public, elle a permis de nombreuses découvertes en matière de physiologie et d'endocrinologie de la reproduction.

Les différentes espèces de rhinocerotidés ne font pas face aux mêmes problématiques de conservation, que cela soit *in situ* ou en captivité. Cependant, elles ont en commun un succès reproductif insuffisant dans les parcs zoologiques au point que la stabilité génétique à long terme de ces populations est menacée.

Dans le but d'éviter tout nouveau prélèvement dans la nature ainsi que les transports d'animaux d'une institution à l'autre, les chercheurs travaillent depuis plusieurs années au développement de techniques de prélèvement de gamètes et de maîtrise de la reproduction. Les efforts conjoints de plusieurs équipes ont ainsi permis la première naissance par insémination artificielle en 2007.

Cette thèse propose dans un premier temps d'établir un état des lieux du statut démographique des rhinocerotidés *ex situ* et *in situ*, et l'intérêt du développement de techniques de reproduction assistée dans ce contexte. Dans un deuxième temps, une synthèse des connaissances en matière de physiologie et d'endocrinologie de la reproduction, ainsi que d'éléments sociologiques essentiels pour comprendre le comportement reproducteur des différentes espèces de rhinocerotidés sera présentée. Enfin, dans une troisième partie, nous décrivons les techniques actuellement utilisées en matière de maîtrise de la reproduction ainsi que les perspectives de recherche actuelles.

# 1<sup>ère</sup> PARTIE : STATUT DEMOGRAPHIQUE DES RHINOCEROTIDES ET PLACE DE LA REPRODUCTION ASSISTEE

---

## I- Caractéristiques générales des rhinocéros

### A. Classification actuelle

Les rhinocéros sont des mammifères **euthériens** : l'embryon se développe dans l'utérus de la mère jusqu'au terme, et est alimenté par le placenta tout au long de la gestation.

Ils appartiennent à l'ordre des **périssodactyles**, qui contient également la famille des tapiridés et des équidés (Tableau 1). Cet ordre regroupe les espèces possédant un nombre impair de doigts (trois chez le rhinocéros).

**Tableau 1. Place des rhinocéros dans l'arbre de la vie**

<b>Règne</b>	Animal
<b>Embranchement</b>	Chordés
<b>Sous-embranchement</b>	Vertébrés
<b>Classe</b>	Mammifères
<b>Sous-classe</b>	Thériens
<b>Infra-classe</b>	Euthériens
<b>Ordre</b>	Périssodactyles
<b>Famille</b>	Rhinocéros

Quatre genres et cinq espèces de rhinocéros répartis dans le sud de l'Asie et de l'Afrique sont actuellement décrits :

- genre *Diceros* : le **rhinocéros noir** (*Diceros bicornis*)
- genre *Ceratotherium* : le **rhinocéros blanc** (*Ceratotherium simum*), tous deux présents en Afrique
- genre *Rhinoceros* : le **rhinocéros de Java** (*Rhinoceros sondaicus*), le **rhinocéros indien** (*Rhinoceros unicornis*)
- genre *Dicerorhinus* : **rhinocéros de Sumatra** (*Dicerorhinus sumatrensis*), ces deux derniers genres vivant en Asie.

## B. Morphologie

Les rhinocéros ont conservé une apparence primitive, quasi préhistorique. Leurs membres sont courts et massifs, leurs pieds possèdent trois doigts et sont terminés par des onglons qui laissent dans le sol des empreintes caractéristiques en feuille de trèfle. Un coussinet plantaire élastique protège les métatarses et les doigts lors de leur contact avec le sol. Leur peau, très épaisse, joue le rôle d'une véritable armure. Elle présente de nombreux replis plus ou moins développés selon les espèces (Haltenorth et Diller 1985).

Ils possèdent des mensurations extrêmes : toutes les espèces peuvent peser une tonne, le poids des individus mâles pouvant atteindre 3 600 kg chez la plus grande des espèces, le rhinocéros blanc (Tableau 2). Ces dimensions hors normes en font un animal dont chaque manipulation doit être rigoureusement préparée afin d'assurer la sécurité des opérateurs. Dans le cadre des suivis de reproduction et du développement des techniques de reproduction assistée, les méthodes de contention jouent ainsi un rôle prépondérant.

**Tableau 2. Dimensions des différentes espèces de rhinocéros (Nowak 1999)**

	Rhinocéros blanc	Rhinocéros noir	Rhinocéros indien	Rhinocéros de Java	Rhinocéros de Sumatra
<b>Poids (kg)</b>	♂ 1 400 – 1 700 ♀ 2 000 – 3 600	800 – 1 400	♂ 2 200 ♀ 1 600	1 500 – 2 000	800 – 1 000
<b>Hauteur au garrot (m)</b>	1,50 – 1,85	1,40 – 1,80	♂ 1,70 – 1,86 ♀ 1,48 – 1,73	1,60 – 1,75	1,10 - 1,45
<b>Longueur du corps (m)</b>	3,35 – 4,20	3,35 – 4,20	♂ 3,68 – 3,80 ♀ 3,10 – 3,40	3,00 – 3,20	2,50

## II- Aspects démographiques, statut et menaces

### A. Historique et aspects démographiques des différentes espèces de rhinocéros

#### 1. Le rhinocéros blanc

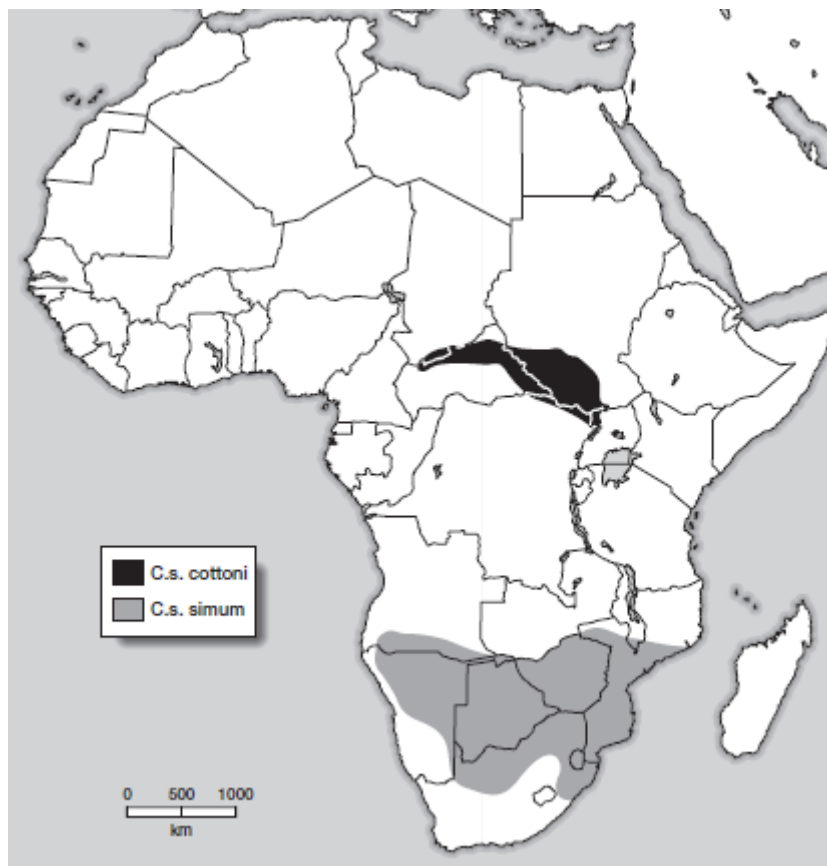
L'UICN (Union Internationale pour la Conservation de la Nature) reconnaît actuellement deux sous-espèces de rhinocéros blanc géographiquement bien distinctes (Groves et al. 2010) :

- le **rhinocéros blanc du Sud** (*Ceratotherium simum simum*)
- le **rhinocéros blanc du Nord** (*Ceratotherium simum cottoni*).

### a. Distribution

Aujourd'hui considéré éteint à l'état sauvage, le **rhinocéros blanc du Nord** (*C.s. cottoni*) occupait historiquement une large zone s'étendant sur plusieurs pays d'Afrique centrale, à l'ouest du Nil. La dernière population sauvage de *C. simum cottoni* était située dans le parc national Garamba en République Démocratique du Congo (Figure 1). Les dernières observations d'individus dans ce parc remontent à 2006, et il n'y a eu depuis aucun indice de leur présence malgré plusieurs campagnes de recherches intensives (Milliken et al. 2009).

L'habitat du **rhinocéros blanc du Sud** (*C.s. simum*) s'étendait entre les côtes Ouest et Est du sud de l'Afrique, délimité au sud par la rivière Orange et au nord par le Zambèze (Figure 1).



**Figure 1. Distribution historique des deux sous-espèces de rhinocéros blanc (Emslie et Brooks 1999 d'après Hillman-Smith et al. 1986 et Cumming et al. 1990)**

Les 2 000 kilomètres de vide entre les deux aires de répartition s'expliqueraient par les changements climatiques survenus lors de la dernière ère glaciaire (Zecchini 1998). Les différents cours d'eau auraient par la suite joué le rôle de frontière naturelle, le rhinocéros blanc étant un piètre nageur (Dinerstein 2011).

Aujourd'hui, l'Afrique du Sud abrite 90 % de la population de rhinocéros blancs. Le reste des individus est réparti entre le Kenya, le Zimbabwe et la Namibie (Milliken et al. 2009).

## **b. Effectifs et statut**

Le **rhinocéros blanc du Nord** n'est plus aujourd'hui représenté que par quatre derniers individus nés en captivité dans un parc zoologique de République tchèque, et qui ont été transférés dans un sanctuaire privé au Kenya pour tenter d'obtenir leur reproduction.

Le **rhinocéros blanc du Sud** a frôlé l'extinction à la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle, descendant sous le seuil de la vingtaine d'individus. L'efficacité des mesures de protection a permis de sauver l'espèce d'une disparition programmée : les effectifs étaient remontés à 8 400 à la fin du XX<sup>ème</sup> siècle, et le taux de croissance annuel net depuis 1995 est de **7,2 %**.

Avec plus de **20 000 individus** en liberté, le rhinocéros blanc est actuellement l'espèce de rhinocéros la plus représentée (Emslie et Brooks 1999). Cependant, en raison de la pression croissante du braconnage, le rhinocéros blanc est toujours considéré comme **quasi-menacé** par l'IUCN (IUCN, 2013).

## **2. Le rhinocéros noir**

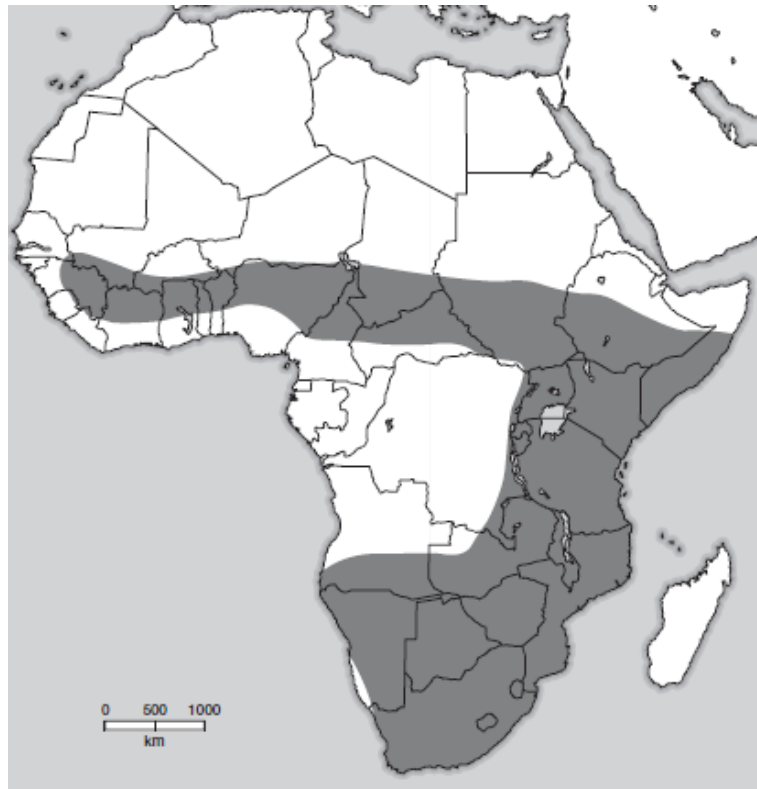
### **a. Distribution**

Deux versions de la taxonomie des sous-espèces du rhinocéros noir existent. En 1967, Groves et Grubb ont proposé une subdivision en 7 sous-espèces, auxquelles s'est rajouté une huitième en 2011 (Groves et Grubb, 2011).

L'*African Elephant et Rhino Specialist Group* de l'IUCN préconise une subdivision simplifiée en 4 sous-espèces (excluant les sous-espèces disparues) :

- **Le rhinocéros noir du Sud-Ouest** (*Diceros bicornis minor*)
- **Le rhinocéros noir du Sud** (*D. bicornis bicornis*)
- **Le rhinocéros noir de l'Est** (*D. bicornis michaeli*)
- **Le rhinocéros noir de l'Ouest** (*D. bicornis longipes*).

Jusqu'au début du XIX<sup>ème</sup> siècle, l'aire de répartition du rhinocéros noir formait une grande bande centrale en Afrique sub-saharienne, redescendant par l'Est jusqu'en Afrique australe (Figure 2).



**Figure 2. Probable distribution du rhinocéros noir (*Diceros bicornis*) en 1700 (Cumming et al. 1990)**

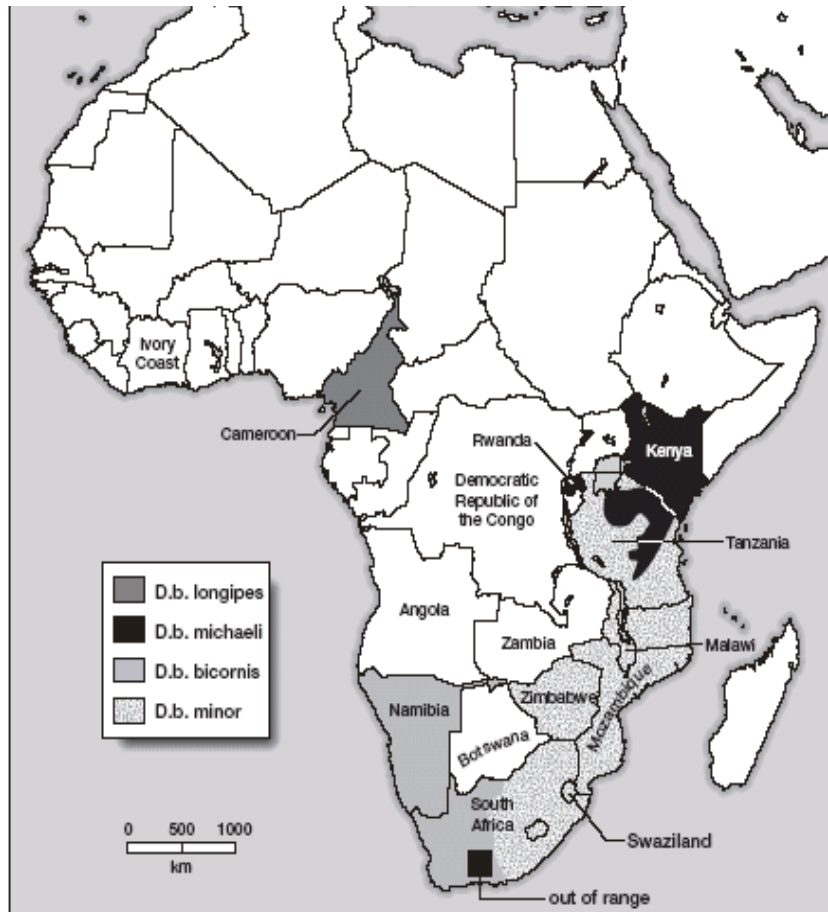
Le **rhinocéros noir de l'Ouest** (*D. bicornis longipes*) évoluait historiquement dans les zones de savane du Centre et de l'Ouest de l'Afrique. Cette sous-espèce a été déclarée **éteinte** en 2006 après des investigations infructueuses dans sa dernière zone de répartition au Nord Cameroun (Lagrot et al. 2008).

Le **rhinocéros noir de l'Est** (*D. bicornis michaeli*) était historiquement présent sur toute une bande entre le Sud du Soudan et la Tanzanie. La majorité de ses effectifs est actuellement concentrée dans des sanctuaires protégés au Kenya, avec quelques petits groupes dispersés au Rwanda et en Tanzanie.

Le **rhinocéros noir du Sud-Ouest** (*D. bicornis bicornis*) est une sous-espèce davantage adaptée aux milieux arides. Elle occupait les savanes désertiques du sud de l'Angola jusqu'au Sud-ouest de l'Afrique du Sud. Son dernier bastion est aujourd'hui la Namibie et la partie Ouest de l'Afrique du Sud.

Le **rhinocéros noir du Sud** (*D. bicornis minor*) est la sous-espèce la plus représentée de rhinocéros noir. On le retrouvait du Sud-ouest de la Tanzanie jusqu'au Nord-est de l'Afrique du Sud, ainsi qu'en Zambie, au Zimbabwe et au Mozambique. Sa population est actuellement essentiellement concentrée en Afrique du Sud et au Zimbabwe, bien que quelques groupes soient encore présents dans d'autres pays de son aire de répartition historique (Figure 3).





**Figure 3. Distribution des 4 sous-espèces de rhinocéros noir (*Diceros bicornis*) en 1997, d'après Emslie et Brooks, 1999.**

Ainsi, tout comme le rhinocéros blanc, quatre pays d'Afrique de l'Est et du Sud regroupent aujourd'hui l'essentiel de la population de rhinocéros noirs : la Namibie et l'Afrique du Sud abritent à eux seuls 80 % des effectifs, le reste des individus se répartissant entre le Kenya et le Zimbabwe (Milliken et al. 2009).

### **b. Effectifs et statut**

Le rhinocéros noir était autrefois l'espèce de rhinocéros la plus représentée, ses effectifs se comptant en centaines de milliers. La chasse et le braconnage intensifs ont réduit le nombre d'individus à 100 000 en 1960, faisant complètement disparaître le rhinocéros noir d'Afrique de l'Ouest. Au début des années 1990, il avait perdu près de 98 % de ses effectifs. En 1995, on ne dénombreait plus que 2 410 individus concentrés en Tanzanie, en Zambie et en Centrafrique (Milliken et al. 2009).

Tout comme le rhinocéros blanc, les mesures de protection ont permis de compenser les pertes liées au braconnage et d'infléchir la diminution des effectifs. Depuis 1995, le nombre de rhinocéros noirs est ainsi en augmentation constante, avec un taux de croissance annuel

de **4,8 %** (Milliken et al. 2009). Le dernier recensement dénombre **5 055** individus (Emslie, 2013).

Le rhinocéros noir est cependant toujours considéré comme en **danger critique d'extinction** par l'IUCN (IUCN, 2013).

### **3. Le rhinocéros indien**

#### **a. Distribution**

La répartition historique du rhinocéros indien à partir des contreforts de l'Himalaya sur les plaines inondables du continent asiatique. Aujourd'hui, les quelques populations isolées restantes sont divisées entre la région de l'Assam en Inde et le sud du Népal.

#### **b. Etat et tendance**

Le nombre de rhinocéros indiens est passé sous le seuil des 200 individus au début du XXème siècle. La mise en place des mesures de protection drastiques en Inde et au Népal ont permis une augmentation des effectifs tout au long des 100 dernières années.

Les populations de l'Assam, en Inde, représentent plus de 90 % des effectifs du pays avec près de 2 500 individus sur les **2730** vivant en Inde. Au Népal, **534 individus** sont répartis entre deux parcs nationaux (Emslie et al. 2013 20).

Le rhinocéros indien est considéré comme **espèce vulnérable** par l'IUCN.

### **4. Le rhinocéros de Sumatra**

#### **a. Distribution**

Autrefois présent dans toute l'Asie du Sud et du Sud-Est, le rhinocéros de Sumatra est aujourd'hui restreint à quelques groupes isolés : ***D.s. sumatrensis*** sur l'île de Sumatra et en Malaisie, et ***D.s. harrissoni*** qui est endémique de l'île de Bornéo.

#### **b. Etat et tendance**

Jusqu'au début des années 90, le rhinocéros de Sumatra a connu un déclin extrêmement rapide, perdant la moitié de ses effectifs chaque décennie.

Le statut du rhinocéros de Sumatra en Malaisie péninsulaire est inconnu. Les quelques 130 individus encore présents dans les années 80 ont connu un important déclin. Depuis 2011, aucune trace de leur existence n'a pu être mise en évidence, et l'hypothèse de leur extinction est aujourd'hui probable. Les derniers représentants de la sous-espèce ***D.s. harrissoni*** sont estimés entre **20 et 30 individus** à Sabah, sur l'île de Bornéo (Emslie et al. 2013).

En Indonésie, sur l'île de Sumatra, l'estimation est d'environ **100 rhinocéros** en 2013 répartis en trois populations : environ 30 rhinocéros dans les parcs nationaux de Bukit Barisan Selatan et de Gunung Leuser, et jusqu'à 35 rhinocéros dans le parc national de Way Kambas (Talukdar 2014).

Bien que la diminution du nombre de rhinocéros semble avoir été ralentie par les mesures de protection, les populations isolées sont à présent menacées par leur petite taille. Le rhinocéros de Sumatra est considéré comme **en danger critique d'extinction** sur la liste rouge de l'IUCN (IUCN, 2013).

## 5. Le rhinocéros de Java

Le rhinocéros de Java était autrefois présent dans tout le Sud-est de l'Asie, sur les îles de Java et de Sumatra.

La sous-espèce *Rhinoceros sondaicus inermis* autrefois présente dans l'Est de l'Inde, au Bangladesh et au Myanmar, s'est probablement éteinte dès le début du XXème siècle (Brook et al. 2014).

La réserve d'Ujung Kulon, à l'ouest de l'île de Java, regroupe la dernière population de la sous-espèce *Rhinoceros sondaicus sondaicus*. Cette sous-espèce était autrefois présente en Thaïlande, au Myanmar et en Indonésie sur les îles de Sumatra et de Java. Dans les années 1930, les effectifs ont atteint un seuil critique qui a motivé la création de la réserve (Brook et al. 2014). Le dernier recensement par capture-marquage-recapture a dénombré entre **29 et 47 individus**, dont seulement 4 à 5 femelles reproductrices (Hariyadi et al. 2011 ; Talukdar 2014).

La troisième sous-espèce, *R.s. annamiticus*, était autrefois largement répandue au Laos, au Cambodge, à l'Est de la Thaïlande et au Vietnam. Son dernier bastion, le parc national Cat Tien au Vietnam, abritait moins d'une quinzaine d'individus en 1989. Le dernier représentant présent en 2009 a été abattu par un braconnier en avril 2010 (Brook et al. 2012).

Le rhinocéros de Java est considéré comme **en danger critique d'extinction** par l'IUCN. Aucun individu n'étant actuellement maintenu en captivité, et les données sur cette espèce étant très frustes, l'étude de cette espèce ne sera pas développée par la suite.

Le Tableau 3 dresse le bilan des effectifs et des statuts des cinq espèces de rhinocérotes.

**Tableau 3. Effectifs et statut des espèces de rhinocéroïdés**

	<b>Effectifs</b>	<b>Tendance</b>	<b>Statut IUCN</b>
<b>Rhinocéros blanc</b>	20 405 (Emslie 2013)	Augmentation	Presque menacé
<b>Rhinocéros noir</b>	5 055 (Emslie 2013)	Augmentation	En danger critique d'extinction
<b>Rhinocéros indien</b>	3 664 (Emslie et al. 2013)	Augmentation	Vulnérable
<b>Rhinocéros de Sumatra</b>	100 - 130 (Emslie et al. 2013 ; Talukdar 2014)	Diminution	En danger critique d'extinction
<b>Rhinocéros de Java</b>	29 - 47 (Hariyadi et al. 2011)	Inconnue	En danger critique d'extinction

## **B. Menaces**

### **1. L'abattage illégal (Emslie et al. 2013)**

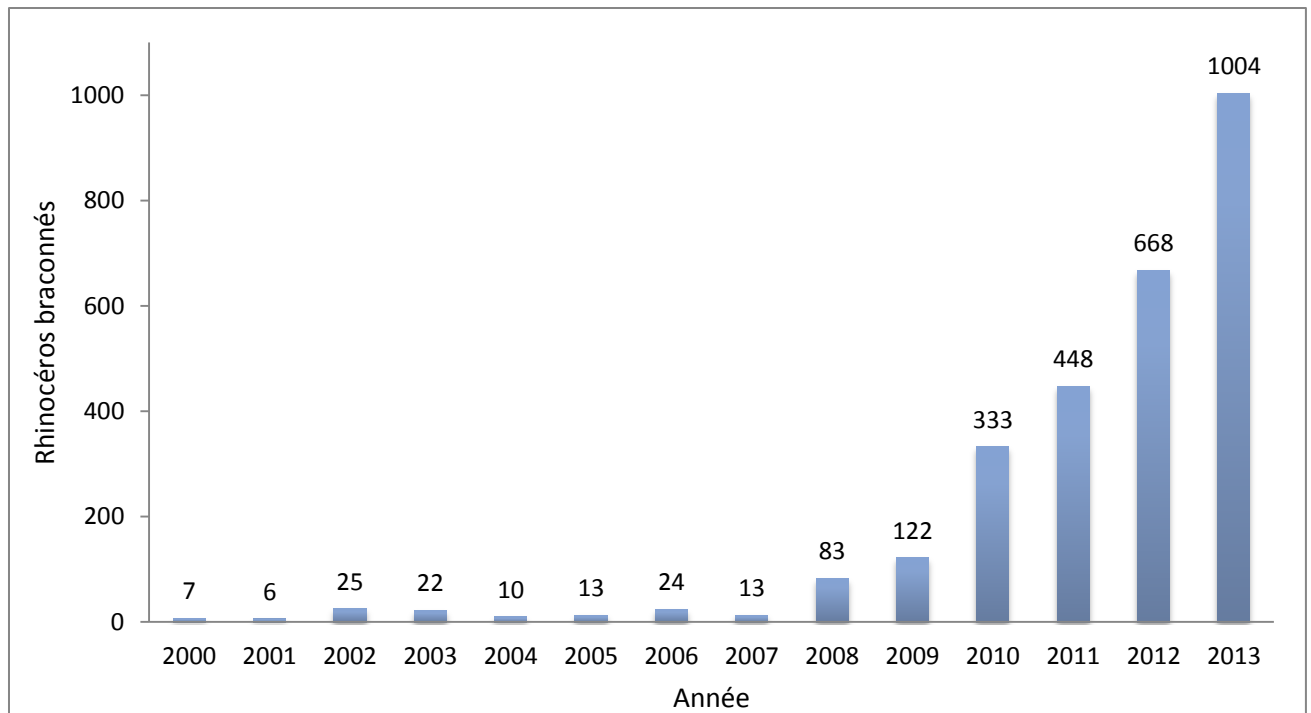
Le braconnage intensif du rhinocéros pour sa corne dès le début du XIXème siècle a été la cause du déclin catastrophique des espèces africaines et asiatiques, et de la disparition récente de certaines sous-espèces telle que le rhinocéros noir de l'Ouest (Lagrot et al. 2008).

#### **a. Etat des lieux en Afrique**

Les cas de braconnage sont rapportés dans tous les pays de l'aire de répartition du rhinocéros, mais l'**Afrique du Sud** à elle seule rassemble jusqu'à 90 % des mortalités annuelles, devant le Zimbabwe et le Kenya. L'inquiétante recrudescence du braconnage en Afrique du Sud ces dernières années illustre ainsi la situation générale du continent africain depuis 2006 (Figure 4).

Les taux de croissance annuels en Afrique du Sud, au Kenya et au Zimbabwe ont permis jusqu'à présent de compenser les pertes liées au braconnage. Cependant, si son intensité continue d'augmenter de plus de **60 % par an** à l'image de ces deux dernières années, les experts estiment que le taux de mortalité pourrait dépasser le taux de natalité à l'horizon 2015-2016.

Le rhinocéros blanc, en raison de son corps plus massif (qui en fait une cible plus facile) et de la longueur supérieure de sa corne, est davantage chassé que le rhinocéros noir. Les cornes de rhinocéros blanc représentent ainsi 85 % des cornes exportées d'Afrique.



**Figure 4. Nombre annuel de rhinocéros braconnés en Afrique du Sud depuis 2000 (Mketeni 2012 ; Department Environmental Affairs, Republic of South Africa 2014)**

#### **b. Etat des lieux en Asie**

Le niveau du braconnage en Asie est aujourd’hui faible en comparaison à celui de l’Afrique. Cette différence s’explique d’une part par les quantités plus importantes de rhinocéros, et donc de cornes, en Afrique, d’autre part par l’augmentation du prix de la corne de rhinocéros africain.

Aucune carcasse de **rhinocéros de Sumatra** n’a été retrouvée depuis 2010 par les unités de patrouille. Cependant, l’absence de preuves de sa présence en Malaisie péninsulaire suggère que l’espèce pourrait avoir été victime du braconnage ou de la fragmentation de l’habitat dans cette région.

Le dernier individu de la sous-espèce vietnamienne du **rhinocéros de Java**, *R.s. annamiticus*, a été abattu en 2009 par un braconnier. Depuis, aucun cas de braconnage n’a été rapporté.

En Inde, les pertes annuelles de **rhinocéros indiens** dues à l’abattage illégal depuis 2010 ne représentent que 0,6 % de la population. Au Népal, un seul rhinocéros n’a été braconné en 2013 grâce aux stratégies de conservation mises en place (Talukdar 2014).

### c. Le commerce illégal de la corne de rhinocéros

Le braconnage du rhinocéros alimente le marché noir de la corne à destination des pays asiatiques, où elle est destinée à un **usage médicinal** ou **ornemental**.

La croissance économique rapide des pays de l'Asie de l'Est et du Sud-Est a favorisé l'augmentation de la demande ces dernières années. Entre 2009 et 2012, **12,6 tonnes de cornes** de rhinocéros auraient ainsi transité illégalement d'Afrique en Asie (Emslie et al. 2013).

#### *L'usage ornemental*

La corne de rhinocéros a été longtemps utilisée dans la manufacture d'objets tels que des bols ou des tasses. Plus récemment, l'explosion de la demande dans les années 1960-1970 et la vague de braconnage qui en a découlé sont les conséquences de l'utilisation de la corne pour la fabrication du manche des poignards traditionnels au Yémen, le *jambiya*.

Ce marché n'est plus aujourd'hui une menace majeure pour le rhinocéros en raison du déclin économique du pays, de l'utilisation de nouveaux matériaux de substitution et du succès des campagnes de sensibilisation du public (Vigne et Martin, 2013).

#### *L'usage médicinal*

La corne de rhinocéros est utilisée depuis des millénaires dans la médecine traditionnelle chinoise. Contrairement aux croyances occidentales, l'utilisation de la corne de rhinocéros à des fins aphrodisiaques a quasiment cessé : ce sont ses propriétés médicales, et notamment antipyrétiques, qui sont recherchées. Malgré l'interdiction de son utilisation dans la pharmacopée traditionnelle par le gouvernement chinois en 1993, la demande reste très importante.

La récente flambée du braconnage en Afrique est la conséquence de la demande croissante au **Vietnam**, où la consommation de corne de rhinocéros est aujourd'hui considérée comme un signe de prestige social chez les nouvelles classes moyennes (TRAFFIC 2013 ; Emslie et al. 2013).

## 2. La fragmentation de l'habitat

Si la pression du braconnage est la cause primaire du déclin brutal des différentes espèces de rhinocéros, l'empiètement des activités humaines sur son habitat entretient la fragilité des populations à faibles effectifs.

La forêt tropicale primaire d'Indonésie et de Malaisie est notamment la cible d'un abattage légal et illégal pour ses espèces de bois rares, ainsi que pour l'extension de cultures destinées à la production d'huile de palme. La destruction de cette forêt a contribué à l'extinction du **rhinocéros de Java** de son habitat naturel, et représente aujourd'hui une menace majeure pour le **rhinocéros de Sumatra** (Dean et Foose 2005a).

La fragmentation de l'habitat a pour conséquence la formation de petites populations dans lesquelles la diversité génétique est trop faible pour assurer un succès reproducteur à long terme : les biologistes de la conservation estiment qu'un minimum de 15 individus est nécessaire pour constituer un noyau reproducteur efficace (Dean et Foose 2005a).

Les petits groupes isolés sont ainsi de plus beaucoup plus vulnérables face aux catastrophes naturelles ou aux maladies (Talukdar 2014).

### **3. L'instabilité politique**

L'instabilité politique dans plusieurs pays de l'aire de répartition du rhinocéros a souvent été un frein aux efforts de conservation, en rendant impossible la surveillance des populations et en favorisant la circulation d'armes à feu. A titre d'exemple, 70 % des rhinocéros blancs du Nord tués l'ont été durant les conflits armés en République Démocratique du Congo dans les années 1960 et 1970 (Dean et Foose 2005b).

## **III- Actions de protection mises en place**

### **A. Organismes de protection internationale**

De nombreux organismes assurent la coordination de la protection des rhinocéros à l'échelle internationale.

#### **1. La CITES (*Convention on International Trade of Endangered Species of Wild Fauna and Flora*)**

La **CITES** est une convention entre les gouvernements dont le but est de s'assurer que le commerce international des espèces animales et végétales sauvages ne met pas en péril leur survie.

Depuis 1977, toutes les espèces de rhinocéros appartiennent à l'**appendice I** de la CITES, qui regroupe les espèces menacées d'extinction. A ce titre, le commerce international des rhinocéros et de leurs produits est interdit (CITES 2013).

#### **2. Les Groupes de Spécialistes du Rhinocéros**

L'*African Rhino Specialist Group* (AfRSG) et l'*Asian Rhino Specialist Group* (AsRSG) appartiennent à la *Species Survival Commission* (SSC) de l'Union Internationale de la Conservation de la Nature (UICN). Ces deux groupes assurent un appui technique auprès des gouvernements, des propriétaires privés, des organisations non gouvernementales et de tous les acteurs impliqués dans la conservation du rhinocéros. Ils ont pour rôle d'assurer la coordination des mesures de protection sur le long terme.

### **3. TRAFFIC (*Trade Records Analysis of Fauna and Flora in Commerce*)**

**TRAFFIC** est l'outil de surveillance du commerce des produits de la faune sauvage de la WWF (*World Wide Fund for Nature*) et de l'UICN. Il s'agit de la source principale d'informations sur le commerce illégal de cornes de rhinocéros. Outre ses appuis techniques, cet organisme travaille également à la diminution de la consommation de corne dans la médecine traditionnelle, en encourageant notamment l'utilisation de matériaux de substitution.

#### **B. Législation nationale**

La plupart des pays de l'aire de répartition des espèces de rhinocéros africains prévoient dans leur législation des amendes et des peines de prison pour les auteurs d'actes de braconnage. Les peines maximales sont cependant rarement appliquées, et le montant des sanctions financières est encore très bas par rapport aux sommes d'argent brassées par le marché noir.

#### **C. Mesures de protection *in situ***

L'efficacité des mesures de protection *in situ* des rhinocéros est intimement dépendante de la volonté politique des états concernés et de la mise en place de moyens suffisants.

La plupart des populations de rhinocéros vivent aujourd'hui au sein de sanctuaires clôturés ou de zones de protection renforcée telles que les parcs nationaux. Les actions de protection s'appuient sur des mesures de lutte anti-braconnage, de suivi des populations et de déplacement d'individus (Emslie et al. 2013).

##### **1. La lutte anti-braconnage**

La lutte contre la pression croissante du braconnage en Afrique est l'une des clés de la protection *in situ*, bien qu'elle soit couteuse et dangereuse pour le personnel déployé.

Elle est particulièrement soutenue en Afrique du Sud grâce au déploiement croissant de *rangers* et de l'armée au sein des parcs nationaux. En 2010, la lutte contre le braconnage a connu une évolution majeure grâce à la création d'une unité nationale de réaction à la criminalité liée aux espèces sauvages, la *National Wildlife Crime Reaction Unit* (NWCRU). Elle permet une coordination entre communautés, propriétaires privés et autres parties prenantes et facilite le déroulement des enquêtes pour lutter efficacement contre la fraude (Emslie et al. 2013).



## **2. Le suivi des populations**

Les gouvernements et les organisations non gouvernementales financent la formation de personnel chargé d'assurer la surveillance et le suivi du rhinocéros dans son habitat.

La surveillance des populations de rhinocéros présente un double intérêt. Elle joue un rôle préventif contre le braconnage et permet de réagir le plus précocement possible en cas d'abattage illégal. Les programmes de gestion *in situ* des populations s'appuient sur les données démographiques obtenues grâce au suivi des populations pour optimiser les taux de croissance, grâce aux déplacements d'individus (Milliken et al. 2009).

## **3. Le déplacement d'individus**

Afin d'éviter la surpopulation dans les zones protégées de petite taille et d'assurer un taux de croissance satisfaisant de ces populations, les programmes de protection s'appuient depuis plusieurs décennies sur le transfert de rhinocéros. Les premiers protocoles remontent aux années 1960, et sont aujourd'hui utilisés en routine en Afrique. Les rhinocéros sont immobilisés chimiquement puis transportés par hélicoptère ou par véhicule adapté vers une nouvelle zone protégée.

En **Afrique**, plus particulièrement en Afrique du Sud, les transferts de rhinocéros ont joué un rôle clé dans le succès des programmes de conservation. Ils ont permis la création de nouvelles populations au sein du Parc National Kruger, ainsi que la réintroduction du rhinocéros dans certains pays dont il avait complètement disparu (Botswana, Malawi ou encore Zambie). En 2007, près de 90 % des rhinocéros blancs du sud vivants provenaient de populations anciennement transférées (Emslie et al. 2009).

En **Asie**, le transfert d'individus fait également partie intégrante des programmes de conservation. Les autorités de l'Assam, en Inde, ont mis en place l'*Indian Rhino Vision 2020* (IRV 2020), un programme dont l'objectif est d'atteindre 3 000 rhinocéros indiens dans cette région à l'horizon 2020. Ce programme s'appuie sur le transfert de d'individus provenant de parcs nationaux à forte croissance démographique vers de nouvelles zones protégées dont le rhinocéros indien a été exterminé (Emslie et al. 2009).

## **IV- La reproduction en captivité et intérêts de la reproduction assistée**

Dans la nature, le rhinocéros peut vivre jusqu'à 40 ans. En captivité, le record est de 49 ans au zoo de Columbus, Etats-Unis (Felts, 2007).

Malgré une durée de vie augmentée en captivité, les femelles rhinocéros captives cessent leur activité de reproduction bien plus précocement que dans la nature : à l'âge de 18 ans pour le rhinocéros indien (Hermes et al. 2014).

## A. Etat des lieux de la reproduction en captivité des rhinocéros

La pérennité des programmes de reproduction en captivité est évaluée par deux paramètres : le **taux de croissance**, devant se rapprocher au maximum des taux en milieu naturel, et la **viabilité génétique** des populations. La gestion de cette viabilité génétique est le rôle des plans de gestion des populations d'Europe (*European Endangered Species Programmes*) et d'Amérique du Nord (*Species Survival Plans*). Elle est calculée grâce à des outils informatiques appliqués aux données zoologiques (Foose et Wiese 2006) .

### 1. Le rhinocéros blanc

Le rhinocéros blanc est la dernière espèce à avoir été incluse dans des programmes de reproduction. Depuis, malgré des effectifs importants en captivité, les objectifs de la reproduction *ex situ* ne sont actuellement pas remplis.

Bien que les effectifs en captivité soient toujours génétiquement viables, le nombre de mises-bas est trop faible pour assurer une autosuffisance à long terme : en 2006, le taux de croissance projeté est de **- 3,5 %**, tandis qu'il est de 8 à 10 % dans les populations sauvages. (Swaisgood et al. 2006).

Ce constat s'explique par les très mauvais résultats de la génération de femelles nées en captivité (appelée **génération F1**), dont seulement **8 %** d'entre elles se reproduisent. Le vieillissement et la disparition de la génération de femelles nées en milieu naturel (génération F0) laisse présager une aggravation de ce phénomène (Hermes et al. 2006).

### 2. Le rhinocéros noir

Entre 1994 et 2004, le taux de croissance de la population de rhinocéros noir en captivité a atteint les **1 %**. Si les populations captives sont actuellement viables génétiquement, deux facteurs limitent la croissance démographique : le fort taux de mortalité et une reproduction sub-optimale (Foose et Wiese 2006).

Un sujet d'inquiétude depuis plusieurs années est le **sex ratio biaisé** en faveur de nouveaux mâles. Une étude épidémiologique a montré que les femelles rhinocéros noir nées en milieu sauvage et importées en captivité ont 4 à 5 fois plus de chance de mettre bas d'un mâle que d'une femelle (Dennis 2004).

La signification exacte de ce *sex ratio* est inconnue, mais la théorie de la répartition des sexes de Trivers et Willard est privilégiée par plusieurs auteurs (Zschokke et al. 1998 ; Dennis 2006). Cette théorie propose l'adaptation fonctionnelle du sexe du fœtus en fonction de l'état de santé de la mère, et donc de sa capacité à élever le jeune dans de bonnes conditions. Chez le mâle, qui doit se battre pour défendre son territoire, l'influence de l'état général sur le succès reproducteur est bien plus importante que chez la femelle. Ainsi, les

femelles en état corporel satisfaisant produiront des mâles, tandis que les femelles en mauvais état général produiront des femelles (Trivers et Willard 1973).

### 3. Le rhinocéros de Sumatra

A l'instar du rhinocéros blanc, le taux de reproduction du rhinocéros de Sumatra est très faible, cela associé à des effectifs en captivité réduits. Les effectifs *ex situ* étant également fortement menacés, cette espèce est celle qui suscite le plus d'inquiétude.

Entre 1984 et 2008, 44 **rhinocéros de Sumatra** ont été prélevés dans la nature, dont 40 étaient morts au début de l'année 2014. En 2001, la première naissance en captivité a eu lieu au zoo de Cincinnati, en Ohio, suivie par deux autres naissances issues du même couple. Aujourd'hui, **9** individus sont détenus en captivité (Ahmad et Zainuddin 2013) :

- 1 mâle adulte, 3 femelles fertiles, 1 mâle de 2 ans dans le sanctuaire du *Way Kambas National Park* à Sumatra
- 1 frère et une sœur nés en captivité au Zoo de Cincinnati, Etats-Unis
- 1 femelle fertile et un mâle âgé dans un sanctuaire de la *Tabin Wildlife Reserve* à Sabah, sur l'île de Bornéo.

### 4. Le rhinocéros indien

Malgré des taux de reproduction très inégaux d'une femelle à l'autre, le rhinocéros indien se reproduit bien en captivité : de 138 individus en 2002, la population est passée à **189 individus** en 2014 (Hermes et al. 2014).

Contrairement aux espèces africaines, la situation génétique n'est cependant pas satisfaisante, et ce en raison de la sur-représentation de certains reproducteurs : en 1998, près de 50 % du patrimoine génétique des rhinocéros indiens captifs était issu de 3 reproducteurs (Zschokke et al. 1998). En Europe, où ce phénomène est plus important, le brassage important d'individus entre les institutions tend à inverser cette tendance (Foose et Wiese 2006).

## B. Facteurs limitants de la reproduction en captivité

### 1. Infertilité des femelles

Le développement d'affections du tractus reproducteur est considéré comme l'un des principaux facteurs de la sub-fertilité chez le rhinocéros blanc. Il a été démontré chez cette espèce que les longues périodes d'inactivité sexuelle favorisaient le vieillissement précoce des structures reproductrices, c'est-à-dire le développement prématuré d'affections utérines et ovariennes provoquant une infertilité irréversible (voir 2<sup>ème</sup> partie – section IV).

## 2. Non-respect des structures sociales

Un des défis majeurs de la gestion de la reproduction en captivité est le respect des structures sociales telles qu'elles sont établies dans la nature (voir 1<sup>ère</sup> partie – section).

La difficulté repose sur la gestion des mâles, qui doivent la plupart du temps n'être accompagnés que de femelles afin d'éviter les agressions ou les inhibitions hiérarchiques de mâles dominés. Chez le rhinocéros noir, le nombre important de naissances de mâles en raison du *sex ratio* biaisé fait que les structures sociales ne sont pas optimisées en raison du manque de place (Foose et Wiese 2006).

De même, l'appariement d'un couple de rhinocéros hors période d'œstrus peut conduire à de graves agressions parfois mortelles. Chez le rhinocéros de Sumatra, particulièrement agressif, les manifestations de l'œstrus peuvent être très frustes. Cela complique la gestion des mises en contact et contribue au taux de reproduction quasi-nul de l'espèce en captivité (Agil et al. 2006).

## 3. La mortalité

Plusieurs cas de mortalité et d'avortement sont rapportés chez les différentes espèces de rhinocéros (voir 2<sup>ème</sup> partie – section IV).

Chez le rhinocéros indien, ce phénomène est particulièrement préoccupant : sur les 226 naissances en captivité recensées entre 1971 et 2010, **24 %** des jeunes étaient mort-nés ou sont morts au cours de leurs trois premiers mois de vie (Schafteenaar et al. 2011). Hormis les cas d'avortement rapportés chez toutes les espèces, les causes de ce fort taux de mortalité sont encore inconnues chez le rhinocéros indien. Le tableau 4 dresse le bilan des facteurs limitants de la reproduction chez les différentes espèces.

**Tableau 4. Effectifs en captivité et facteurs limitants de la reproduction chez les différentes espèces de rhinocérotidés**

	Rhinocéros blanc	Rhinocéros noir	Rhinocéros indien	Rhinocéros de Sumatra
<b>Effectifs en captivité</b>	750 (Emslie et al. 2013)	240 (Pilgrim et Biddle 2014)	189 (Hermes et al. 2014)	9 (Ahmad et Zainuddin 2013)
<b>Facteurs limitants de la reproduction en captivité</b>	Faible taux de reproduction  Vieillesse reproducteur prématuré	<i>Sex ratio</i> biaisé	<i>Sex ratio</i> biaisé  Mortalité	Taux de reproduction quasi-nul  Problème de détection de l'œstrus

## **C. Intérêts de la reproduction assistée**

Face au faible rendement de la reproduction naturelle, des techniques de reproduction assistée ont été appliquées chez le rhinocéros.

### **1. Lutte contre l'appauvrissement génétique**

La taille des populations captives de rhinocéros ne permet pas d'assurer le maintien d'une diversité génétique optimale, et ce même lorsque les taux de reproduction sont satisfaisants.

Les techniques de reproduction assistée ont pour but d'augmenter le nombre de naissances et donc de favoriser le brassage génétique. La maîtrise du prélèvement et de la conservation des gamètes permet notamment de s'affranchir du transfert des individus d'une institution à l'autre.

Chez le rhinocéros blanc, dont une grande partie des femelles captives est infertile, le développement de techniques avancées de prélèvement des gamètes et de fécondation *in vitro* serait à terme la seule manière de préserver leur patrimoine génétique (Hermes et al. 2009a).

### **2. Préservation du potentiel reproducteur chez le rhinocéros blanc**

La maîtrise de la reproduction assistée permet d'augmenter le nombre de gestations et donc de diminuer les expositions hormonales au cours d'œstrus successifs non fécondants. Le potentiel reproducteur des jeunes femelles serait donc ainsi préservé (Hermes et al. 2006).

### **3. Détection de l'œstrus**

Les manifestations comportementales de l'œstrus pouvant être très frustes, la maîtrise d'outils de suivi tels que l'échographie ou les dosages hormonaux est essentielle pour le succès des appariements (Agil et al. 2006).

Dans ce contexte de fragilité des populations *in situ* et *ex situ* des différentes espèces de rhinocerotidés, l'obtention de meilleurs résultats en termes de reproduction en captivité prend tout son sens. L'application de techniques de maîtrise de la reproduction repose sur une compréhension fine de la morphologie et de l'endocrinologie chez les différentes espèces.

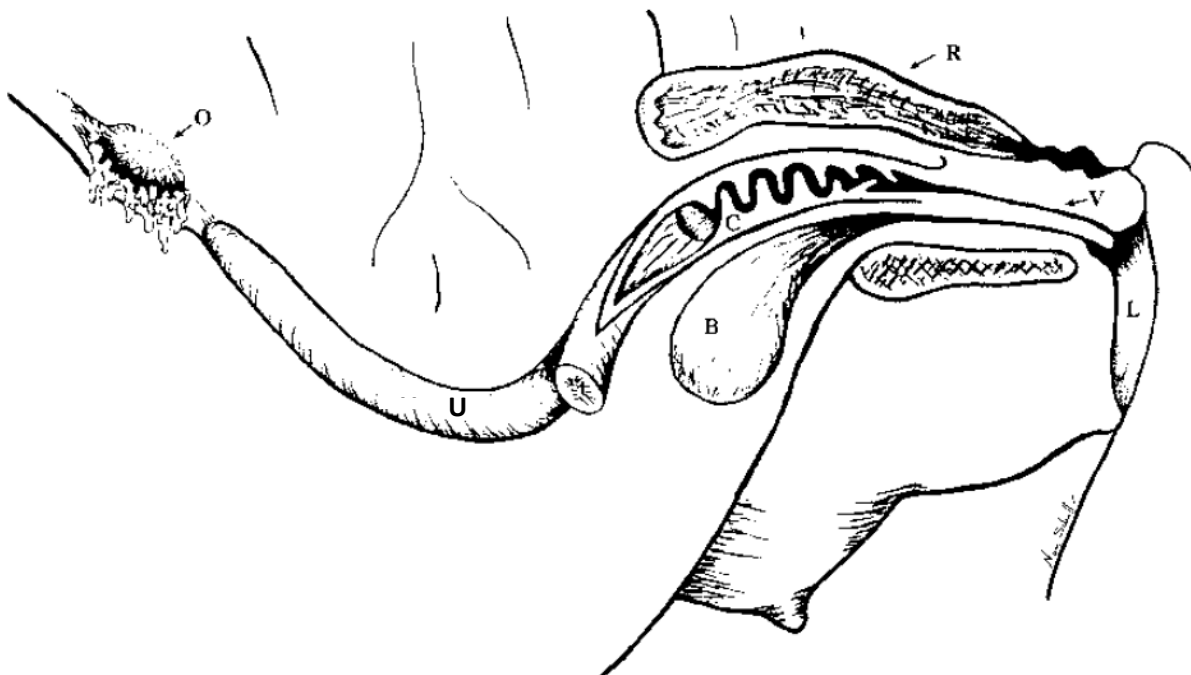
## 2ème PARTIE : ETUDE ET PARTICULARITES ANATOMIQUES ET ENDOCRINOLOGIQUES DE LA REPRODUCTION CHEZ LE RHINOCEROS

---

### I- Etude anatomique de l'appareil reproducteur femelle

#### A. Vue générale et dimensions de l'appareil reproducteur

L'appareil reproducteur de la femelle rhinocéros présente une organisation générale semblable à celle de la jument (Figure 5).



**Figure 5. Vue abdominale de l'appareil reproducteur du rhinocéros femelle en coupe transversale (Schaffer et al. 2001)**

O = ovaire ; U = utérus ; C = col de l'utérus ; V = vagin ; L = vulve ; B = vessie ; R = rectum

Une de ses caractéristiques notables est la longueur totale du tractus : d'environ 50 cm chez le rhinocéros de Sumatra, il peut atteindre plus de 100 cm chez le rhinocéros blanc (Tableau 5).

**Tableau 5. Dimensions de l'appareil reproducteur femelle chez les rhinocerotidés**

	Longueur (cm)				
	Vestibule	Vagin	Col	Corps de l'utérus	Cornes
<b>Rhinocéros blanc</b> (Godfrey et al. 1991 ; Schaffer et al. 2001)	14 - 20	19 - 30	12 - 23	3,5 – 7,5	40 - 61
<b>Rhinocéros noir</b> (Godfrey et al. 1991 ; Schaffer et al. 2001)	15	22	11,5 - 17	3,5 – 7,5	40 - 74
<b>Rhinocéros indien</b> (Hermes et Hildebrandt 2011)	27	20	30	10	33
<b>Rhinocéros de Sumatra</b> (Zainal Zahari et al. 2002)	-	-	6 – 7	4	30 – 34

## **B. Structures anatomiques de l'appareil génital femelle**

### **1. Les ovaires**

Les ovaires sont appendus dans la cavité abdominale par l'extrémité crâniale du ligament large, le mésovarium. Ce ligament, qui soutient également les oviductes et l'utérus, s'attache sur le plafond de la cavité abdominale, latéralement et caudalement aux reins chez le rhinocéros.

La localisation relative des ovaires dans la cavité abdominale peut varier fortement avec la parité et l'âge de la femelle : la longueur du mésovarium augmente avec le nombre de gestations (Schaffer et al. 2001).

Le mésovarium distal forme la paroi de la bourse ovarique dans laquelle repose l'ovaire. Les ovaires sont de forme globalement ovoïde, plus ou moins arrondis en fonction de la présence de follicules ou de corps jaunes dans le cortex. Contrairement à celui de la jument, l'ovaire la femelle rhinocéros ne possède pas de fosse d'ovulation (Schaffer et Beehler 1990; Schaffer et al. 2001 ; Zainal Zahari et al. 2002).

### **2. La trompe utérine**

L'infundibulum s'ouvre dans la bourse ovarique sur la face médiale de l'ovaire. Chez le rhinocéros, la fimbria est proéminente et fait saillie de la bourse ovarique.

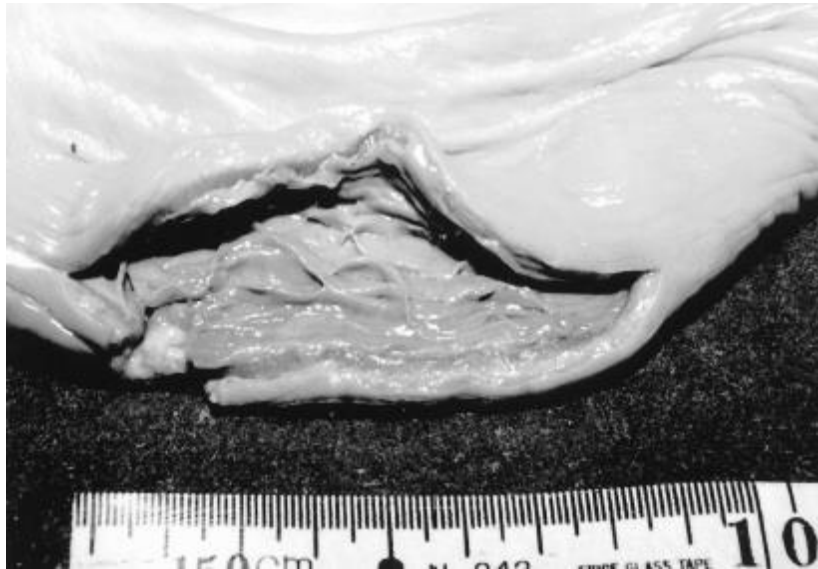
### 3. L'utérus

A l'instar de l'utérus de la chienne ou de la truie, l'utérus du rhinocéros est de type « **bipartitus** » : les cornes sont longues (de 50 à 60 cm en moyenne) et le corps est court (Schaffer et al. 2001).

#### a. Les cornes et le corps

Les cornes, soutenues par le ligament large, décrivent une courbe convexe dans l'abdomen du rhinocéros. Un ligament intercornual proéminent les relie dorsalement au niveau de leur bifurcation.

Au niveau de la cavité du corps et des cornes, l'endomètre présente de longs et fins plis longitudinaux qui se projettent dans la lumière de l'utérus (Figure 6), comme chez la jument. Sa structure histologique correspond à la description classique du revêtement utérin chez les mammifères domestiques.



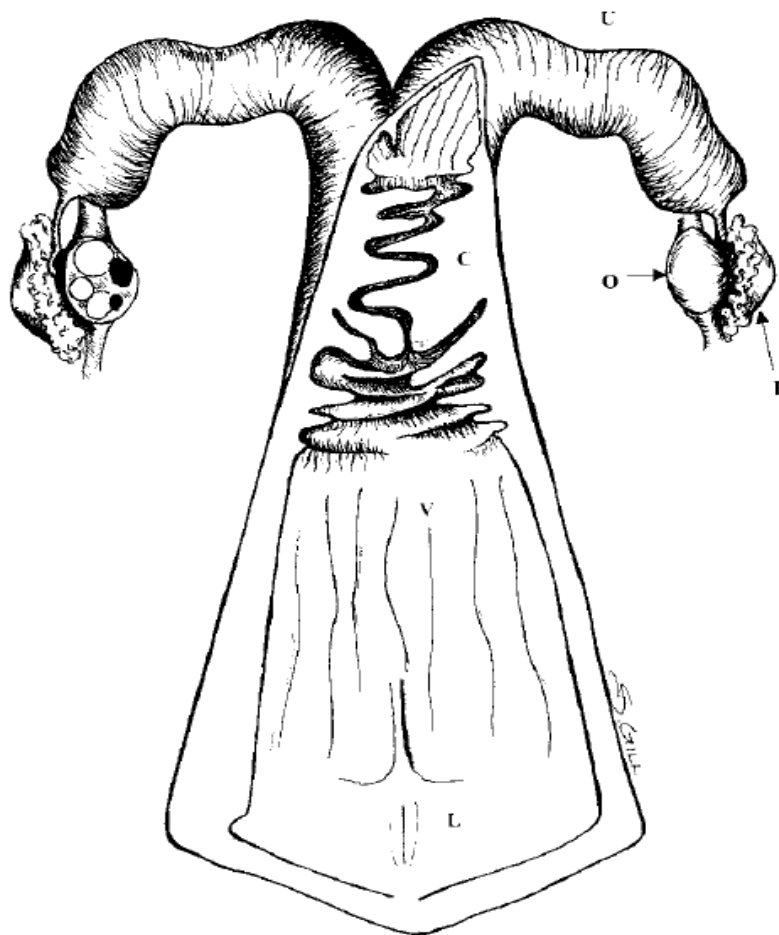
**Figure 6. Section d'une corne utérine de rhinocéros blanc montrant les plis longitudinaux de l'endomètre (Schaffer et al. 2001).**

#### b. Le col

Chez le rhinocéros, la muqueuse du col décrit un réseau particulièrement complexe de replis. Ces plis épais et profonds se projettent jusqu'à l'extrémité caudale du col où ils deviennent annulaires, obstruant la lumière du canal comme chez la vache (Figure 7).

L'épaisseur du col le rend facilement repérable par palpation transrectale. Il est en revanche très difficile à cathétériser en raison de sa longueur et de son aspect tortueux (Radcliffe et al. 2000).





**Figure 7. Dessin en vue dorsale de l'appareil reproducteur du rhinocéros femelle (Schaffer et al. 2011)**

O : ovaire ; F : fimbria ; U = utérus ; C : col de l'utérus ; V : vagin ; L : vulve

#### **4. Le vagin**

##### **a. Structure**

La muqueuse vaginale présente des plis transverses dans sa partie crâniale et longitudinaux dans sa partie caudale. Les plis vaginaux crâniens sont en continuité avec les plis cervicaux, et peuvent obstruer l'ostium externe du col de l'utérus, ce qui présente une difficulté supplémentaire lors de la cathétérisation.

Contrairement aux plis de la muqueuse utérine, les crêtes des plis vaginaux sont fines. Cela permet de distinguer la transition entre le vagin et l'utérus lors de la palpation transrectale, et d'ainsi localiser la position de l'ostium externe du col de l'utérus (Schaffer et al. 2001).

## **b. L'hymen**

Chez les femelles nullipares, l'entrée du vagin est bloquée par un pli muqueux transversal, l'**hymen**. Ce pli est soutenu par un septum médian vertical qui se prolonge crânialement sur une dizaine de centimètres dans le vagin caudal qu'il sépare en deux chambres. L'hymen est percé d'un ou deux orifices de 0,3 à 3 cm de diamètre. Après l'accouplement, il ne persiste plus que sous la forme de vestige (Schaffer et al. 2001).

La palpation transrectale permet d'évaluer l'intégrité de l'hymen : lorsque ce dernier est intact, la portion cervicale du vagin et le col ne sont pas accessibles (Hermes et al. 2006). Un hymen déchiré est le signe d'une ou plusieurs pénétrations antérieures par un mâle, mais ne permet pas de savoir si la saillie a été menée à terme.

L'hymen représente un obstacle en cas de geste diagnostique ou thérapeutique nécessitant l'accès à la lumière utérine chez une femelle jamais saillie. Il pourra alors être sectionné chirurgicalement (Schaffer et al. 2001).

## **5. La vulve et le clitoris**

La vulve et le clitoris constituent l'appareil génital externe, et sont visibles de manière physiologique chez la femelle rhinocéros.

La fente vulvaire est délimitée par deux lèvres verticales proéminentes qui se raccordent en deux commissures, la commissure dorsale et la commissure ventrale, plus épaisse. Au niveau de cette dernière se trouve une fosse dans laquelle se loge le clitoris (Hermes et Hildebrandt 2011).

L'aspect de la vulve peut être modifié au cours de l'œstrus ou avant la mise-bas (cf. 3<sup>ème</sup> partie - sections II et VI)

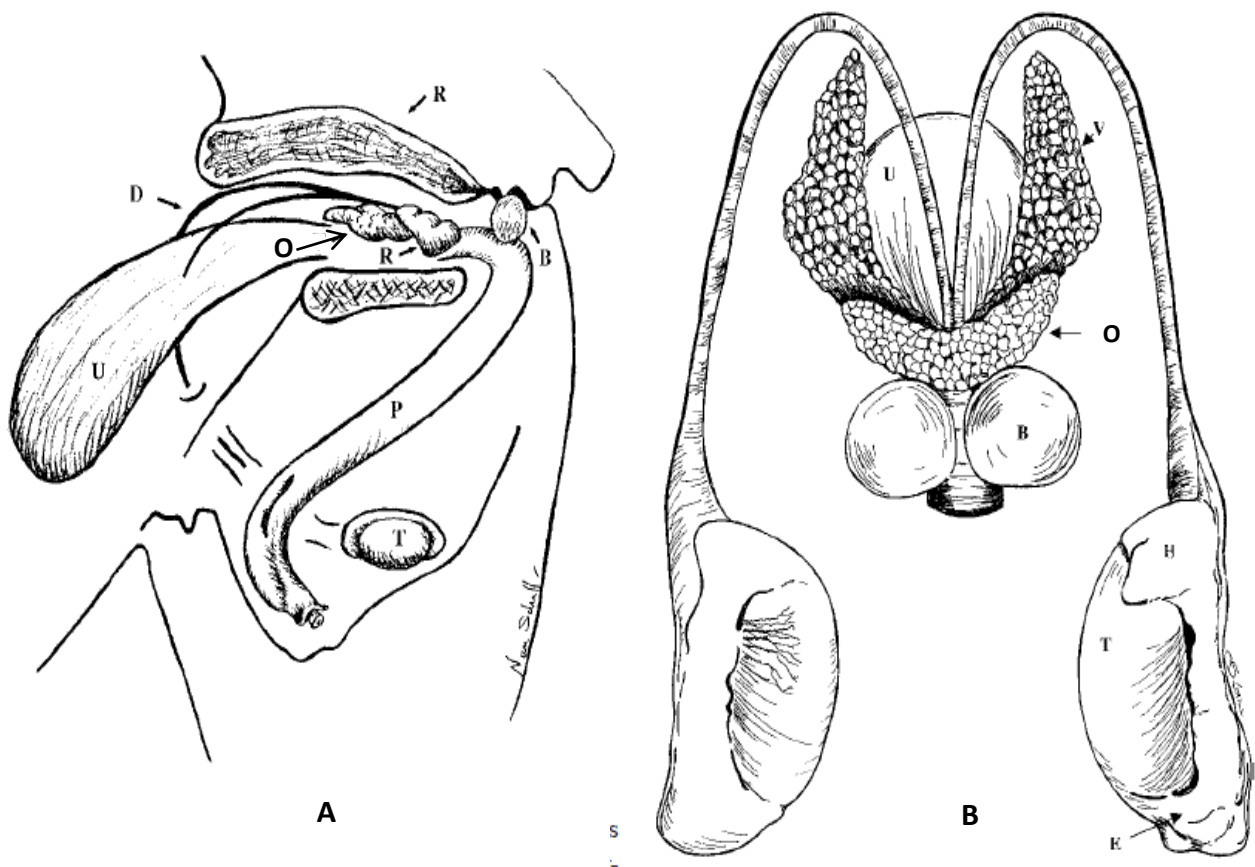
## **6. Les mamelles**

La femelle rhinocéros possède une seule paire de mamelles située en région **inguinale**.

## II- Etude anatomique de l'appareil génital mâle

Les structures de l'appareil génital mâle ont été pour la première fois décrites chez les deux espèces de rhinocéros africain (*D. bicornis* et *C. simum*) et le rhinocéros indien (*R. unicornis*) par palpation et échographies transrectales (Schaffer et Beehler 1990).

L'appareil reproducteur du rhinocéros mâle combine les caractéristiques de différentes espèces domestiques (Figure 8), mais se distingue par les structures érectiles de son fourreau.



**Figure 8. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle du rhinocéros. A, Vue abdominale de l'appareil reproducteur. B, Appareil reproducteur du rhinocéros indien (Schaffer et al. 2001).**

U = vessie ; R = rectum ; P = pénis ; T = testicule ; D = canal déférent ; V = vésicule séminale ;  
O = prostate ; B = glande bulbo-urétrale ; H = tête de l'épididyme ; E = épididyme

## A. Les testicules

Chez le mâle prépubère, les testicules sont orientés verticalement. Vers l'âge de six ans, ils ont acquis leur orientation définitive selon un **axe horizontal**, plus ou moins oblique (Zainal Zahari et al. 2002).

Chez le mâle adulte, ils sont situés dorsalement au pli préputial, plus ou moins adjacents à l'anneau inguinal. Leur pôle caudal peut parfois faire protrusion à l'arrière du fourreau, mais ils sont en général seulement localisables sur animal vigile par palpation ou échographie transcutanée (Schaffer et al. 2001).

Ils sont davantage visibles chez le rhinocéros de Sumatra, qui possède un scrotum plus pendant que les autres espèces (Zainal Zahari et al. 2002).

De forme ovale, la longueur des testicules varie de 10 à 20 cm. Aucune différence de taille significative n'a été montrée entre les différentes espèces (Schaffer et al. 2001).

## B. L'épididyme

L'épididyme du rhinocéros est constitué des trois parties anatomiques classiquement décrites chez les mammifères :

- La **tête** reçoit les conduits efférents de l'extrémité capitée du testicule.
- Le **corps** adhère dorsalement le long du testicule. Il est recouvert par une épaisse capsule de tissu conjonctif.
- La **queue** située au pôle caudal du testicule est très adhérente chez le rhinocéros indien mais beaucoup plus lâche chez les deux espèces de rhinocéros africain (Schaffer et al. 2001).

Le conduit épидидymaire, confluent des conduits efférents, est un long conduit tortueux qui progresse le long du corps de l'épididyme jusqu'au pôle inférieur où il devient le canal déférent. Chez les deux espèces de rhinocéros africain, les conduits efférents sont fins et très densément compactés. Chez le rhinocéros indien, la queue de l'épididyme est ferme et bulbeuse ; elle fait protrusion au pôle caudal du testicule. Son conduit épидидymaire est en moyenne 2,5 fois plus large chez le rhinocéros indien (Schaffer et al. 1993).

L'épididyme a une fonction de maturation et de stockage des spermatozoïdes. Lors de leur trajet à travers le corps de l'épididyme, les spermatozoïdes gagnent peu à peu leur mobilité. Ils acquièrent leur capacité à féconder l'ovule au niveau de la queue, qui est le principal lieu de stockage du sperme. C'est donc une zone privilégiée pour le prélèvement de semence *post-mortem*.

### C. Le canal déférent

Le canal déférent fait suite au canal épидидymaire et s'abouche dans la partie pelvienne de l'urètre. A l'instar de celui du verrat, le canal déférent du rhinocéros ne possède pas d'ampoule au niveau de cette jonction (Schaffer et Beehler 1990 ; Schaffer et al. 2001).

### D. Les glandes accessoires

L'ensemble des glandes accessoires se retrouve en position pelvienne. Il a été montré que leur diamètre est corrélé positivement à la qualité du sperme produit (Hermes et al. 2005).

La **prostate** est composée de deux lobes trapézoïdaux reliés par un isthme dorsalement à l'urètre, comme celle de l'étalon. Contrairement à d'autres espèces comme le verrat ou le taureau, elle ne possède pas de partie disséminée (Schaffer et al. 2001).

Les **glandes vésiculaires** sont multilobées comme chez le taureau, et de forme oblongue lorsqu'elles sont remplies par les sécrétions vésiculaires (Schaffer et al. 1998). Elles s'étendent crânialement et dorsalement à partir de la prostate le long de chaque côté de la vessie.

Les **glandes bulbo-urétrales** sont petites et rondes chez le rhinocéros africain et indien, elles sont plus longues et plus irrégulières chez le rhinocéros blanc (Schaffer et al. 2001).

### E. Le pénis

Le pénis du rhinocéros est de type **musculo-caverneux**. Au repos et lors des mictions, son extrémité est recourbée caudalement (Zainal Zahari et al. 2002). Lors de l'érection, il s'extériorise du fourreau et se projette crânialement selon un axe horizontal (Schaffer et al. 2001). Le pénis en érection atteint 60 à 70 cm chez le rhinocéros indien (Schaffer et al. 1990).

Le pénis du rhinocéros présente la particularité de posséder deux **projections latérales** extensibles situées entre la courbure caudale et l'extrémité pénienne (Schaffer et al. 2001). Au repos, ces projections prennent l'aspect de « rabats » flasques. Chez le rhinocéros indien et le rhinocéros de Sumatra, elles s'étendent horizontalement en position dorso-latérale (Figure 9). Chez les espèces africaines, elles sont davantage verticales et s'incurvent dorso-ventralement (Schaffer et al. 2001 ; Zainal Zahari et al. 2002). Lors de l'érection, elles deviennent fermes et font protrusion jusqu'à 25 cm. Bien que la fonction exacte de ces extensions soit encore inconnue, plusieurs auteurs suggèrent qu'elles participeraient au blocage du pénis dans le vagin de la femelle lors de la pénétration (Zainal Zahari et al. 2002).

A l'extrémité du pénis se trouve le **process glandis**, une structure télescopique d'une dizaine de centimètres qui s'introduit dans le col de l'utérus lors de l'accouplement (Bhattacharya et al. 1992 ; Zainal Zahari et al. 2002) .



**Figure 9. Pénis d'un rhinocéros de Sumatra (Zainal Zahari et al. 2002).**

II = projections latérales ; pg = *process glandis*

### III- Endocrinologie

#### A. Etude du cycle œstral chez la femelle

##### 1. Durée du cycle œstral

Les dosages hormonaux sur sang, urine et fèces et les suivis échographiques ont permis de déterminer la durée du cycle œstral chez quatre espèces de rhinocéros. Malgré leur proximité taxonomique, il est étonnant de constater que les écarts de durée de cycle d'une espèce à l'autre (Tableau 6).

**Tableau 6. Durée du cycle œstral chez les rhinocérotydés**

	Rhinocéros blanc	Rhinocéros noir	Rhinocéros indien	Rhinocéros de Sumatra
<b>Durée du cycle (en jours)</b>	30 – 35 ou 70 – 75	24 - 27	43 – 48	21 -25
<b>Phase folliculaire (en jours)</b>	Cycle court : 9 Cycle long : 27	9	15 [13-19]	6
<b>Phase lutéale (en jours)</b>	Cycle court : 11 Cycle long : 55	18	30 [28,5-32]	17
<b>Référence</b>	Radcliffe et al. 1997 ; Patton et al. 1999 ; Brown et al. 2001	Schwarzenberger et al. 1993 ; Brown et al. 2001 ; Garnier et al. 2002	Kasman et al. 1986 ; Schwarzenberger et al. 2000 ; Stoops et al. 2004	Heistermann et al. 1998 ; Roth et al. 2001

La plus petite espèce, le rhinocéros de Sumatra, est également celle qui a le cycle œstral le plus court.

Des variabilités inter-individuelles sont rapportées dans toutes les espèces. Le rhinocéros indien est l'espèce qui présente le plus large intervalle, avec des valeurs rapportées de 39 à 86 jours (Kasman et al. 1986 ; Gomez et al. 2004).

## 2. Le rhinocéros blanc, quel cycle ?

Le cycle œstral du rhinocéros blanc est celui qui suscite le plus d'interrogations. Les suivis hormonaux et échographiques ont mis en évidence deux types de cycles : les **cycles courts** (30 à 35 jours) et les **cycles longs** (70 à 75 jours). Les cycles longs sont caractérisés par une phase folliculaire de durée identique à celle du cycle court et une phase lutéale deux fois plus longue (Patton et al. 1999).

Les variations inter-individuelles ne permettent pas d'expliquer l'existence de ces deux cycles : une même femelle peut présenter des cycles courts et des cycles longs successivement (Figure 10).

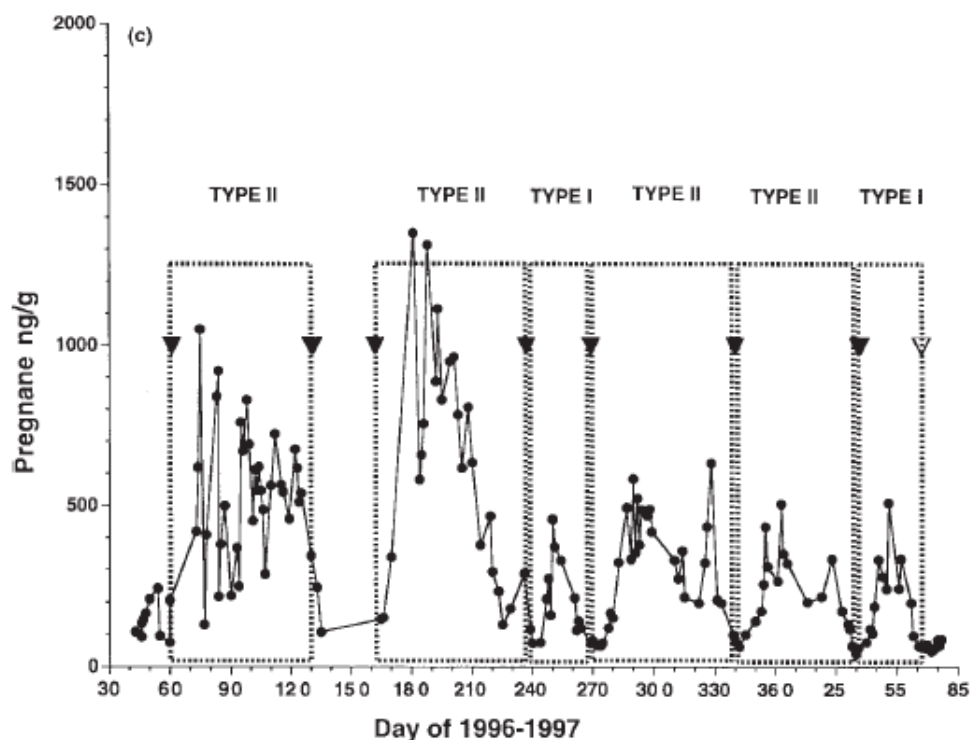


Figure 10. Excrétion de prégnanes fécales chez une femelle rhinocéros blanc mettant en évidence les cycles courts « TYPE I » et les cycles longs « TYPE II » (Patton et al. 1999)

La signification des cycles longs est discutée par les auteurs. Des fécondations ont été rapportées suite à chacun des deux cycles, mais aucun cycle long associé à une naissance n'est documenté. Les deux seules fécondations mises en évidence après un cycle de 70 jours ont été suivies d'une mort embryonnaire précoce (Radcliffe et al. 1997).

Le cycle court a été associé à des gestations menées à terme, et certains auteurs le considèrent donc comme le seul cycle fertile (Radcliffe et al. 1997 ; Patton et al. 1999). Ces auteurs suggèrent que la phase lutéale prolongée du cycle long est associée à des affections utérines telles que le pyomètre ou l'endométrite, ou à des pertes embryonnaires précoces (Radcliffe et al. 1997 ; Patton et al. 1999).

### 3. L'anœstrus

La prévalence de l'anœstrus chez les femelles **rhinocéros blancs** captives en fait un sujet de préoccupation majeur. Dans une étude sur 54 femelles rhinocéros blancs en captivité, **78 %** des femelles avaient une activité lutéale absente ou erratique (Hermes et al. 2006). Ce chiffre corrobore les résultats d'études précédentes sur des groupes de plus petite taille, dans lesquels près de **50 %** des femelles n'étaient pas cyclées (Patton et al. 1999 ; Brown et al. 2001).

Hermes et al. 2004, décrivent deux types de dynamique ovarienne associées à l'anœstrus dépendant de l'âge de l'animal :

- Chez les jeunes femelles pré-pubères, l'activité folliculaire se met en place plusieurs années avant l'activité lutéale. Des vagues de follicules se développent, à l'issue desquelles le follicule dominant n'ovule pas et devient atresique ou hémorragique (Hermes et al. 2004). A l'âge de la puberté, alors qu'elles sont censées commencer à ovuler, certaines femelles restent complètement acycliques (Hermes et al. 2006).
- Chez les femelles plus âgées, l'arrêt de l'activité ovarienne est la conséquence d'un vieillissement prématuré du système reproducteur suite à l'exposition prolongée aux hormones sexuelles sécrétées lors des cycles œstraux successifs (ce phénomène est développé section IV).

Des périodes d'acyclicité ont également été rapportées chez les autres espèces de rhinocerotidés, mais sont en général transitoires et leur impact sur la fertilité est moindre (Brown et al. 2001).



## B. Dynamiques ovariennes au cours du cycle œstral

De même que la durée des cycles œstraux, la taille du follicule pré-ovulatoire et les modalités d'ovulation sont très variables entre les espèces de rhinocérotes (Tableau 7).

### a. La phase folliculaire

Chez le rhinocéros indien et les deux espèces africaines, cette phase consiste en une vague de croissance folliculaire produisant un follicule dominant, ou follicule pré-ovulatoire. Comme chez les espèces de mammifères à **ovulation spontanée**, l'ovulation est provoquée par un pic de LH en fin de phase folliculaire (Roth et al. 2001 ; Stoops et al. 2004).

Chez le **rhinocéros blanc** et le **rhinocéros noir**, le follicule pré-ovulatoire atteint sa taille maximale 48 à 72 heures avant l'ovulation. Comme chez le cheval, les heures précédant l'ovulation sont associées à un changement de forme du follicule : initialement sphérique, il prend la forme d'une poire peu avant l'ovulation (Radcliffe et al. 1997, 2000b).

Chez le **rhinocéros indien**, le follicule pré-ovulatoire atteint la taille exceptionnelle de 10 à 12 cm. Il s'agit de la plus grande taille de follicule connue à ce jour dans le règne animal. Contrairement aux trois autres espèces, ce diamètre maximal peut être atteint plus d'une semaine avant l'œstrus, aucune modification morphologique n'est décrite (Stoops et al. 2004). La prévision du moment de l'ovulation par échographie est donc très peu précise chez cette espèce.

Le **rhinocéros de Sumatra** fait figure d'exception parmi les rhinocérotes, et plus largement parmi les périssodactyles. La femelle a la particularité de pouvoir développer plusieurs follicules dominants sur les deux ovaires, et des doubles ovulations ont été décrites. De plus, il s'agit d'une espèce à **ovulation provoquée** : c'est la stimulation mécanique de la monte qui déclenche l'ovulation. Des suivis hormonaux et échographiques ont montré que des ovulations étaient possibles même en cas de pénétrations incomplètes (Roth et al. 2001, 2004).

Tableau 7. Paramètres de l'ovulation chez les rhinocérotes

	Rhinocéros blanc	Rhinocéros noir	Rhinocéros indien	Rhinocéros de Sumatra
<b>Diamètre du follicule pré-ovulatoire (en mm)</b>	30	49,5	100 – 120	20 – 25
<b>Délai avant l'ovulation</b>	48 h	48 à 72 h	2 à 9 jours	22 h (n=1) 46-50 h (n=6)
<b>Références</b>	Radcliffe et al. 1997	Radcliffe et al. 2000b	Stoops et al. 2004	Roth et al. 2001 ; Roth et al. 2004

## **b. La phase lutéale**

La formation de follicules hémorragiques non ovulatoires est décrite dans les quatre espèces. Le suivi hormonal ne permet pas de les différencier des corps jaunes car ils sécrètent également de la progestérone, leur diagnostic repose donc essentiellement sur l'échographie (Roth 2006). Ce diagnostic est développé section V.

Chez le **rhinocéros de Sumatra**, qui est une espèce à ovulation provoquée, les follicules hémorragiques sont physiologiques chez les individus qui ne se reproduisent pas : en l'absence d'accouplement, le follicule pré-ovulatoire continue sa croissance jusqu'à 90 mm de diamètre, puis se lutéinise et devient inapte à l'ovulation (Brown et al. 2001).

Chez les **rhinocéros blanc, noir et indien**, ces structures sont considérées comme **pathologiques**. Leur prévalence réelle chez les populations captives est inconnue mais leur détection dans des études longitudinales chez le rhinocéros blanc indique qu'ils sont fréquents chez les jeunes femelles non cyclées (Hermes et al. 2006).

## **IV- Pathologie de la reproduction**

### **A. Pathologie chez la femelle**

De nombreux cas d'affections de l'appareil reproducteur chez les femelles rhinocéros en captivité sont rapportés. Le développement de l'échographie a facilité leur détection dont les signes cliniques sont frustes, et a permis de mettre en évidence leur forte prévalence. Une étude transversale sur 54 femelles rhinocéros blancs captives a ainsi montré que près de 60 % d'entre elles présentaient des lésions de l'appareil reproducteur (Hermes et al. 2006).

Parmi elles, les pathologies non infectieuses sont prépondérantes et incluent les tumeurs, les kystes ovariens et endométriaux, l'hyperplasie glandulokystique et les hydromucomètres.

#### **1. L'hyperplasie glandulokystique**

L'hyperplasie glandulokystique est l'affection la plus fréquente chez les femelles **rhinocéros blanc**. Son incidence est significativement plus élevée chez les femelles nullipares, dont elle est l'affection la plus fréquente. Chez ces dernières, sa prévalence et sa gravité augmentent avec l'âge (Hermes et al. 2006).

Plusieurs stades histologiques sont décrits, du kyste endométrial simple aux kystes multifocaux dégénérant vers une fibrose complète de l'endomètre. Plusieurs cas d'hydromètres sont décrits lors d'hyperplasie glandulokystique très avancée, avec une accumulation de liquide aseptique dans l'utérus pouvant atteindre les 60 litres.

Les auteurs suggèrent qu'à l'instar de la femme, les lésions d'hyperplasie glandulokystique prédisposeraient au développement de tumeurs utérines telles que des adénomes chez le rhinocéros (Hermes et al. 2005).

## 2. Les tumeurs

Les tumeurs du tractus génital sont rapportées chez le rhinocéros blanc, le rhinocéros de Sumatra et le rhinocéros indien (Montali et al. 1982 ; Schaffer et al. 1994 ; Hermes et al. 2006). Leur prévalence chez le rhinocéros blanc est faible, et aucun cas n'est rapporté à ce jour chez le rhinocéros noir (Hermes et al. 2006). Au contraire, ce sont les affections utérines les plus fréquentes chez le rhinocéros indien (Montali et al. 1982 ; Hermes et al. 2014).

Les **léiomyomes** sont les tumeurs les plus représentées. Ce sont des tumeurs bénignes des cellules musculaires lisses dont la localisation préférentielle varie selon l'espèce concernée :

- au niveau de l'**utérus** chez le **rhinocéros blanc** (Hermes et al. 2006)
- au niveau **du vagin et du col de l'utérus** chez le **rhinocéros indien** (Hermes et al. 2014).

Les léiomyomes peuvent être associés à des écoulements vaginaux hémorragiques qui peuvent devenir chroniques chez les femelles âgées (Montali et al. 1982).

Bien que bénins, leurs effets délétères sur la fertilité sont majeurs (Hermes et al. 2014) :

- Au niveau du vagin et du col, ils constituent une barrière physique susceptible de gêner ou de rendre douloureuse la pénétration, ainsi que d'empêcher la progression des spermatozoïdes à travers le col.
- Au niveau de l'utérus, ils peuvent interférer dans la migration et l'implantation embryonnaire, provoquant des avortements précoces ou des dystocies.

Outre les léiomyomes, des cas plus anecdotiques d'adénomes endométriaux et d'adénocarcinomes utérins sont également rapportés chez le rhinocéros blanc (Hermes et al. 2006 ; Wilson et al. 2010).

## 3. Les kystes

Les kystes peuvent se retrouver au niveau de l'endomètre ou en position para-ovarienne. Si leur taille devient trop importante, ils sont alors susceptibles de gêner mécaniquement le fonctionnement de l'ovaire (Hermes et Hildebrandt 2011).

#### 4. Le phénomène de vieillissement reproducteur précoce

Le rôle de l'âge et de la parité sur le développement de la pathologie de l'appareil reproducteur chez la femelle rhinocéros est aujourd'hui clairement reconnu (Hermes et al. 2004).

L'incidence de ces affections à un stade relativement précoce dans la vie reproductrice des femelles captives s'explique par un vieillissement accéléré provoqué par les longues périodes d'inactivité sexuelle. Dans la nature, les femelles se reproduisent de la puberté jusqu'à environ 40 ans. La gestation et la lactation sont les deux statuts physiologiques et endocriniens prépondérants ; l'œstrus est donc un événement rare. Le nombre de cycles œstraux au cours de la vie reproductrice d'une femelle sauvage peut atteindre seulement une petite trentaine. Chez les femelles en captivité qui présentent de longues périodes d'anœstrus et ne se reproduisent pas, le nombre de cycles œstraux à 16 ans est déjà de 90, et peut atteindre 310 à la fin de la vie reproductrice (Hermes et al. 2004).

L'exposition prolongée aux hormones sexuelles sécrétées lors des cycles œstraux successifs provoque prématurément le développement de pathologies génitales et une utilisation accélérée du stock folliculaire. L'épuisement des ressources folliculaires entraîne un arrêt progressif et irréversible de l'activité ovarienne (Hermes et al. 2004).

#### 5. Pathologie de la gestation

Des cas de morts embryonnaires précoces et d'avortements en captivité sont décrits chez le rhinocéros blanc, le rhinocéros noir et le rhinocéros de Sumatra (Tableau 8). Tous les cas n'étant pas détaillés dans la littérature, la prévalence réelle des avortements est inconnue.

Les mortalités embryonnaires précoces peuvent être associées à des affections utérines comme une endométrite ou un pyomètre (Radcliffe et al. 1997 ; Patton et al. 1999). Un cas d'**endomérite** associée à deux morts embryonnaires précoces successives a été décrit chez une femelle rhinocéros blanc de 33 ans. Cette affection a été suspectée grâce aux images échographiques caractéristiques d'une collection liquidienne intra utérine en fin de diœstrus et autour de la vésicule embryonnaire au cours d'une des gestations (Radcliffe et al. 1997). Chez la jument, les collections liquidiennes intra-utérines prédisposent également à la perte embryonnaire. Leur prévalence, ainsi que celle des avortements précoces, augmente chez les femelles âgées (Carnevale et Ginther 1992).

Une **insuffisance lutéale** en début de gestation a été suspectée. Cette hypothèse est appuyée par le fait que deux femelles ayant un historique d'avortements embryonnaires précoces ont mené leur grossesse à terme en étant supplémentées en progestagènes synthétiques (rhinocéros noir (Berkeley et al. 1997)) (rhinocéros de Sumatra (Roth et al. 2004)). Cependant, à ce jour, aucune étude n'a cependant clairement objectivé le rôle d'une insuffisance lutéale dans l'avortement précoce chez le rhinocéros, ni établi l'effet d'une supplémentation.

Les affections infectieuses sont rarement décrites. Un cas d'avortement lié à *Neospora caninum* a été décrit en 2010 chez une femelle rhinocéros blanc (Sangster et al. 2010). Il s'agit du premier cas de néosporose chez un représentant des rhinocerotidés.

Lorsqu'aucune affection utérine n'a pas pu être clairement identifiée, la cause des avortements reste inconnue. Des facteurs strictement liés à la captivité sont peu probables puisque des avortements précoces ont également été décrits chez des rhinocéros noirs sauvages (Garnier et al. 2002).

## 6. Les dystocies

Les cas de dystocies et de mortinatalité sont rapportés chez toutes les espèces, mais leur incidence est particulièrement élevée chez le **rhinocéros indien**.

Les cas de malformation crânienne et de défauts du tube neural semblent être particulièrement fréquents chez cette espèce, et pourraient être associés avec la fréquence des mortinatalités. Aucune cause spécifique n'a pour l'instant été mise en évidence, les auteurs privilégient l'hypothèse de défauts nutritionnels ou d'anomalies génétiques (Schafteenaar et al. 2011).

**Tableau 8. Cas de morts embryonnaires et d'avortements rapportés par la littérature**

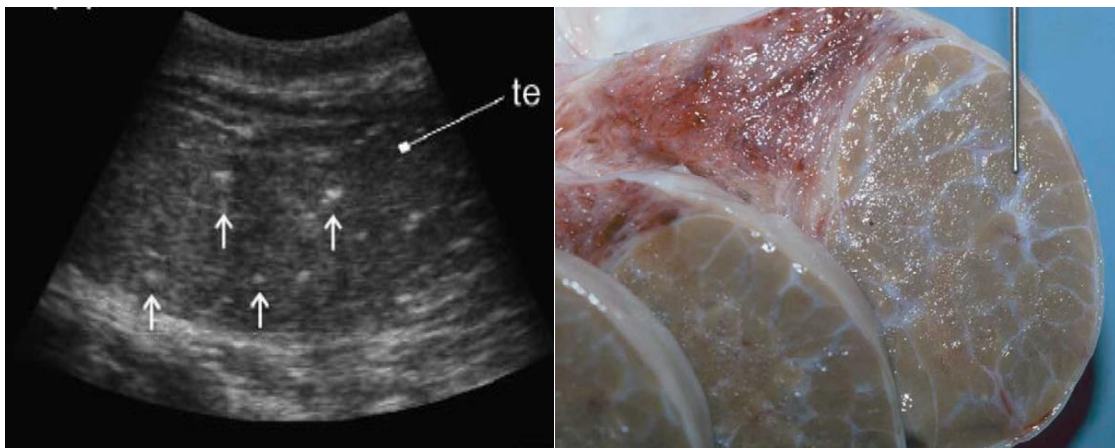
		Mort embryonnaire ou avortement	Pathologie associée
<b>Rhinocéros blanc</b>	Femelle multipare de 33 ans (Radcliffe et al. 1997)	26-28 jours	Endométrite
	Femelle multipare prélevée en milieu naturel, âge estimé entre 10 et 12 ans (Sangster et al. 2010)	7 mois	Néosporose
<b>Rhinocéros noir</b>	Une femelle multipare (Berkeley et al. 1997)	3 mois, 9 mois et 10 mois	-
	Femelle multipare de 24 ans (Schwarzenberger et al. 1996)	14 mois	-
	Deux femelles sauvages (Garnier et al. 2002)	2,5-3,5 mois	-
<b>Rhinocéros de Sumatra</b>	Femelle prélevée en milieu naturel, statut physiologique inconnu (Roth et al. 2001)	<42, <90 et < 39 jours	-

## B. Pathologie chez le mâle

La prévalence des affections de l'appareil reproducteur chez le mâle est moindre que chez la femelle, et ont très peu d'impact sur la fertilité.

### 1. Fibrose testiculaire

La fibrose testiculaire est une trouvaille échographique très fréquente chez les mâles de plus de quinze ans. Elle apparaît sous la forme de multiples foyers hyperéchogènes disséminés dans le parenchyme testiculaire. Cette fibrose est associée au vieillissement des testicules, son intensité est proportionnelle à l'âge de l'animal. Des prélèvements de sperme chez des rhinocéros de plus de trente ans ont montré que la qualité du sperme n'était pas affectée par ce processus (Hermes et al. 2005).



**Figure 11. Fibrose multifocale dans le testicule d'un rhinocéros mâle âgé : image échographique (à gauche) et coupe post-mortem (à droite, échelle : 2 cm) (Hermes et al. 2005 ; Hermes et Hildebrandt 2011)**

### 2. Séminome

Deux cas de tumeur testiculaire ont été rapportés chez un rhinocéros blanc et un rhinocéros noir (Portas et al. 2005, 2010)). Un diagnostic de séminome a été établi dans les deux cas sur la base de biopsies réalisées *post-mortem* et échoguidée respectivement.

Le séminome est la néoplasie testiculaire la plus fréquente chez le cheval, chez qui elle touche en général les testicules cryptorchides (Edwards 2008). Les deux cas rapportés chez le rhinocéros ont été mis en évidence sur des testicules en place, et une **origine traumatique** est suspectée dans les deux cas. Cette tumeur n'est pas hormono-sécrétante, mais une **diminution de la fertilité** peut néanmoins être engendrée par le remplacement du tissu testiculaire normal par les cellules néoplasiques (Portas et al. 2010).

Chez le cheval, les séminomes sont des tumeurs malignes associées à un potentiel métastatique élevé. La forte vitesse de croissance des masses tumorales chez le rhinocéros suggèrent un caractère similaire. L'**hémi-castration** est ainsi un traitement de choix qui permet d'éviter la dissémination de métastases tout en préservant le potentiel reproducteur de l'animal (Portas et al. 2010).

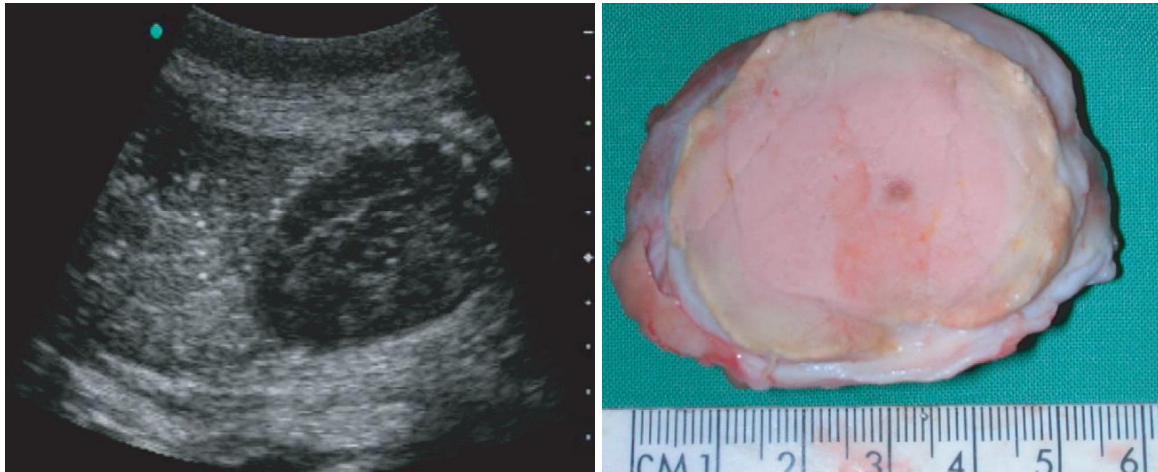


Figure 12. Image échographique (à gauche) et coupe *post-mortem* (à droite) d'un séminome chez un rhinocéros blanc (Hermes et Hildebrandt 2011)

## V- Etude échographique de l'appareil reproducteur mâle et femelle

### A. Intérêts et méthode de l'échographie pour l'étude de l'appareil reproducteur

#### 1. Intérêts et applications de l'échographie

##### a. Chez la femelle

Chez les bovins et les équidés, la palpation transrectale est un examen indispensable dans le suivi du statut reproductif de l'animal. Ce geste permet à la fois de déterminer le stade du cycle ou de la gestation ainsi que de diagnostiquer un certain nombre d'affections génitales.

La longueur et la position abdominale du tractus génital chez la femelle rhinocéros, ainsi que l'épaisseur de la paroi rectale compliquent l'examen transrectal. La laxité du ligament large permet en partie de tracter l'appareil génital dans la filière pelvienne ou de le plaquer contre la paroi abdominale, mais la partie la plus crâniale de l'utérus et les ovaires sont en général inaccessibles chez les espèces africaines (Schaffer et al. 2001).

Dans ce contexte, l'échographie est aujourd'hui considérée comme le *gold standard* pour l'étude de la reproduction chez les rhinocérotidés, comme chez d'autres mégaherbivores tels que l'éléphant (Hildebrandt et al. 2006).

Elle présente de nombreux avantages comparée aux autres techniques d'imagerie :

- Les informations sont obtenues en temps réel
- Elle permet de visualiser des mouvements et des flux (battements cardiaques, mouvements du fœtus,...)
- Les données sont facilement stockables sur support informatique
- L'utilisation d'équipements portatifs est compatible avec les conditions d'étude *in situ* ou en parc zoologique

Le développement de son utilisation a permis de caractériser les cycles ovulatoires physiologiques, mais aussi de mettre en évidence des affections utérines et des cycles anovulatoires non reflétés par les dosages hormonaux.

L'échographie est essentiellement réalisée par **voie transrectale**. La **voie transcutanée** est d'utilisation marginale chez le rhinocéros en raison de l'épaisseur du tégument cutané (Hildebrandt et al. 2006). Cette voie est essentiellement destinée au suivi du développement mammaire et des derniers mois de la gestation.

### **b. Chez le mâle**

La palpation permet difficilement d'évaluer le statut physiologique ou pathologique des testicules. L'épaisseur de la peau et de la capsule, ainsi que la position variable des testicules limitent en effet fortement la sensibilité de cet examen.

De même, bien que l'ensemble des glandes accessoires soit accessible par voie transrectale, la palpation ne donne que des informations limitées.

Ainsi, de même que chez la femelle, l'échographie est l'examen complémentaire de choix pour déterminer le statut reproducteur du rhinocéros mâle et de détecter d'éventuelles anomalies.

## **2. Contention**

La manipulation des rhinocéros en captivité n'est pas anodine. Les conditions de contention doivent être optimales à la fois pour assurer la sécurité des opérateurs et diminuer au maximum le stress de l'animal. En fonction de l'anxiété de l'animal, de son niveau d'entraînement et de la présence ou non de box de contention, plusieurs méthodes de contention peuvent être utilisées.



Pour les besoins d'une étude transversale sur le statut reproducteur du rhinocéros blanc, 52 femelles d'institutions différentes ont été échographiées avec les méthodes suivantes (Hildebrandt et al. 2006) :

- Anesthésie générale : 58 % (n=30)
- Sédation : 23 % (n=12)
- Dans une structure de contention avec sédation : 6 % (n=3)
- Dans une structure de contention sans sédation (animal entraîné) : 13 % (n=7).

#### **a. Contention physique**

Pour l'échographie ou tout autre examen nécessitant d'approcher l'animal, la contention dans une structure physique adaptée est indispensable (Schaffer et al. 1994).

Plusieurs structures sont décrites, dans lesquelles les mouvements du rhinocéros sont plus ou moins restreints. Dans le but de limiter le stress lié à une contention dans des stalles totalement cloisonnées, de nouveaux systèmes ont été développés.

Pour les animaux entraînés, les auteurs décrivent ainsi l'utilisation de stalles en libre accès dans lesquelles l'animal est libre d'entrer et de sortir (Figure 13). Un renforcement positif avec une source d'aliments suffit à immobiliser le rhinocéros le temps de l'échographie (Radcliffe et al. 1997).



**Figure 13. Echographie transrectale d'une femelle rhinocéros non sédaturée dans une stalle en libre accès (Radcliffe et al. 2007)**

## **b. Contention chimique**

Plusieurs protocoles de sédation et d'anesthésie sont décrits.

Pour l'**anesthésie générale**, le protocole associant les quatre molécules suivantes peut être utilisé (Hermes et al. 2006) :

- Etorphine : 3 mg/animal
- Acépromazine : 12,5 mg/animal
- Détomidine : 12 mg/animal
- Butorphanol : 12 mg/animal

Les doses anesthésiques sont injectées par voie **intramusculaire** à l'aide d'un fusil hypodermique. L'animal est placé en décubitus latéral, des protections sont placées à hauteur de l'épaule et de l'ilium pour éviter les traumatismes compressifs. Une supplémentation en oxygène à l'aide d'un *flow-to-nose* à 15 L/min est recommandée.

A la fin de la manipulation, l'utilisation de molécules antagonistes (naltrexone, atipamézole) permet de réveiller rapidement l'animal et d'éviter un décubitus latéral prolongé (Hermes et al. 2006).

## **c. Principe du « medical training »**

Le principe de contention psychologique des animaux en captivité a commencé à se développer dans les années 50, mais ce n'est que depuis les années 90 que son rôle dans la réalisation des procédures vétérinaires ou dans le cadre de programme de recherche est souligné par de nombreuses publications.

Le renforcement positif permet à l'animal de se désensibiliser à de nombreux gestes nécessitant son entrée dans une cage à contention tels qu'une injection, une prise de sang ou une échographie (Whittaker et Laule 1998).

Ses bénéfices pour la contention du rhinocéros sont multiples : le stress généré par les manipulations est considérablement réduit, les manipulations sont donc répétibles et les données plus fiables et l'utilisation d'une contention chimique n'est en général pas nécessaire (Radcliffe et al. 1997).

### 3. Matériel

#### a. Chez la femelle

Chez la femelle, les échographies transrectales sont en général effectuées avec une **sonde convexe de 5 MHz**.

Chez le rhinocéros blanc, la fixation de la sonde sur un prolongateur en PVC est en général indispensable pour visualiser les ovaires (Radcliffe et al. 1997).

L'utilisation d'un extenseur est également décrite pour la visualisation de l'ovaire gauche chez le rhinocéros indien, mais n'est pas systématique (Roth et al. 2001; Zainal Zahari et al. 2002). Chez le rhinocéros noir et le rhinocéros de Sumatra, l'utilisation d'un prolongateur n'est en général pas nécessaire (Radcliffe et al. 2000b ; Zainal Zahari et al. 2002).

#### b. Chez le mâle

Les échographies transrectales et transcutanées sont effectuées avec une **sonde convexe de 2 à 5 MHz**. Contrairement à la femelle, elles ne requièrent pas de prolongateur.

## B. Etude échographique de l'appareil reproducteur femelle

### 1. Position relative des structures du tractus génital

La première structure visualisable est le col de l'utérus (*cervix*), situé à hauteur de la filière pelvienne, crânialement à la vessie (Schaffer et al. 1994 ; Hermes et al. 2014).

En progressant crânialement le long de l'utérus, il est ensuite possible de suivre les cornes pour visualiser les ovaires (Figure 14).

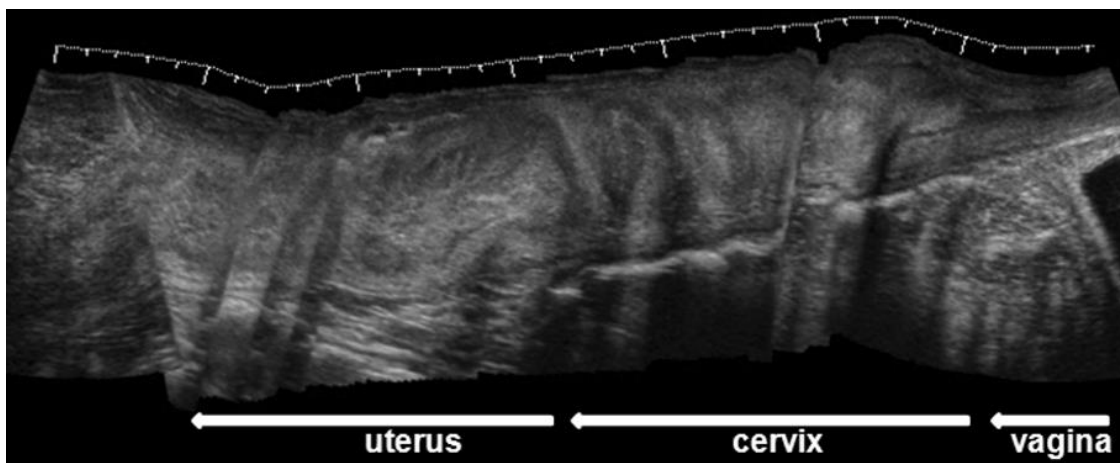


Figure 14. Image échographique du tractus génital d'un rhinocéros de Sumatra femelle (Hermes et al. 2014)

## 2. Aspect échographique physiologique de l'appareil reproducteur femelle

### a. Le col de l'utérus

Les nombreuses invaginations de la muqueuse du col utérin sont visualisables à l'échographie sous la forme d'une alternance étroite de lignes hyper et hypoéchogènes (Figure 15).

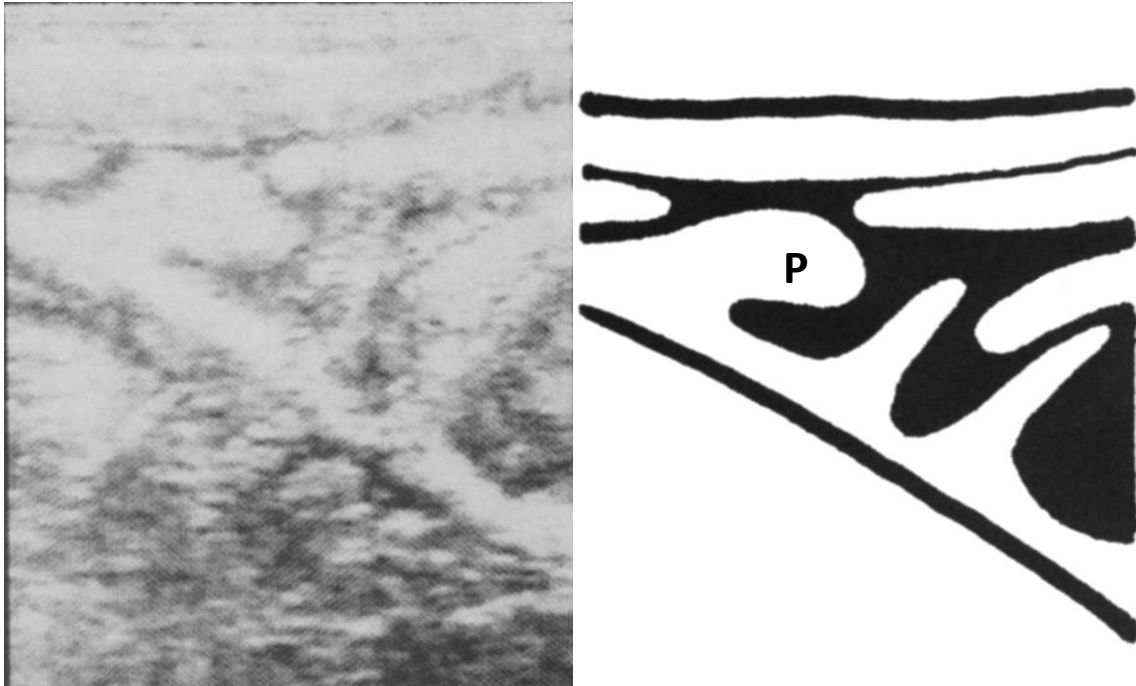
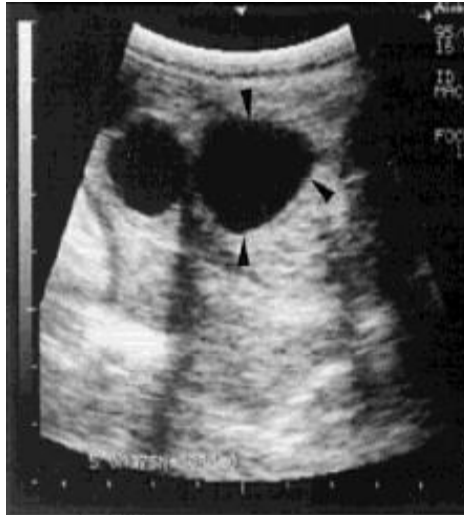


Figure 15. Image échographique (coupe sagittale) du col de l'utérus et interprétation schématique. P : plis du col (Schaffer et al. 1994)

## b. L'ovaire

### *Les structures folliculaires*

Les follicules sont caractérisés à l'échographie par leur forme ronde et leur anéchogénicité. Chez le rhinocéros blanc et le rhinocéros noir, le follicule pré-ovulatoire prend la forme d'une poire 48 à 72 heures avant l'ovulation (Figure 16).

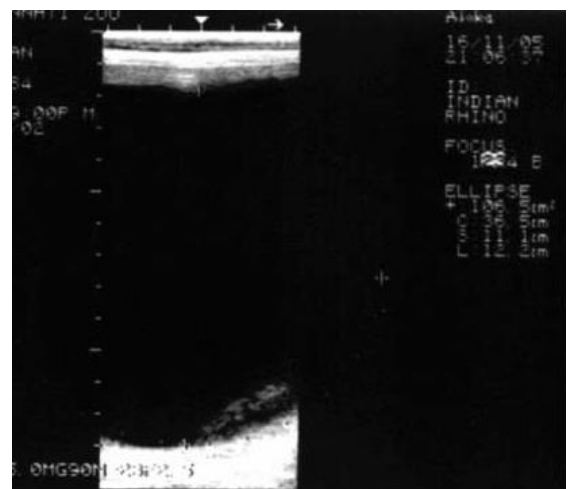


**Figure 16. Image échographique d'un follicule pré-ovulatoire chez un rhinocéros noir (flèches), axe gradué en cm (Radcliffe et al. 1997)**

Chez le rhinocéros de Sumatra et le rhinocéros indien, le follicule conserve sa structure circulaire tout au long de la maturation. Chez ce dernier, les tailles extrêmes atteintes par le follicule font qu'il n'est pas visible dans son intégralité dans la fenêtre échographique (Figure 18).



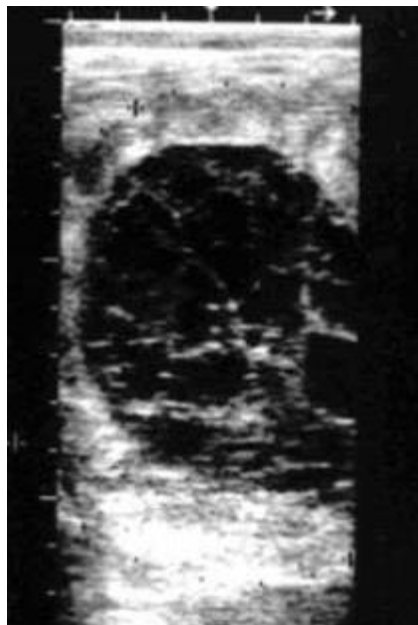
**Figure 17. Image échographique d'un follicule pré-ovulatoire chez un rhinocéros de Sumatra, axes gradués en cm (Roth and al. 2001)**



**Figure 18. Image échographique d'un follicule pré-ovulatoire chez le rhinocéros indien, axes gradués en cm (Stoops et al. 2004)**

Plusieurs auteurs rapportent la présence de **follicules hémorragiques** anovulatoires chez les quatre espèces. Leur aspect échographique est celui d'un follicule d'aspect gélatineux dont la lumière contient des bandes fibreuses (Figure 19). Ils sont plus gros que les follicules pré-ovulatoires : 72 mm de diamètre chez le rhinocéros noir, 60 mm chez le rhinocéros blanc, jusqu'à 149 mm chez le rhinocéros indien, et de 30 mm chez le rhinocéros de Sumatra. Chez ce dernier, ils correspondent à l'évolution physiologique du follicule pré-ovulatoire en l'absence de coït et donc d'ovulation (Radcliffe et al. 1997, 2000b ; Roth et al. 2001 ; Stoops et al. 2004).

Chez les trois autres espèces, ces structures sont considérées comme pathologiques. Plusieurs auteurs les associent aux follicules anovulatoires caractéristiques de la transition entre les périodes d'inactivité et d'activité saisonnière chez le cheval. Une étude chez le rhinocéros noir suggère ainsi une infertilité saisonnière durant les mois d'hiver, et l'influence de la photopériode a été suspectée chez le rhinocéros indien (Radcliffe et al. 2000a ; Stoops et al. 2004).



**Figure 19. Image échographique d'un follicule hémorragique, axes gradués en cm (Stoops et al. 2004)**

### ***Les structures lutéales***

Chez les espèces à ovulation spontanée, l'ovulation est détectable échographiquement par la disparition du follicule pré-ovulatoire et l'apparition conjointe du corps jaune (Radcliffe et al. 2000b).

Les corps jaunes sont ovoïdes, denses, et possèdent un centre hyperéchogène (Figure 20).



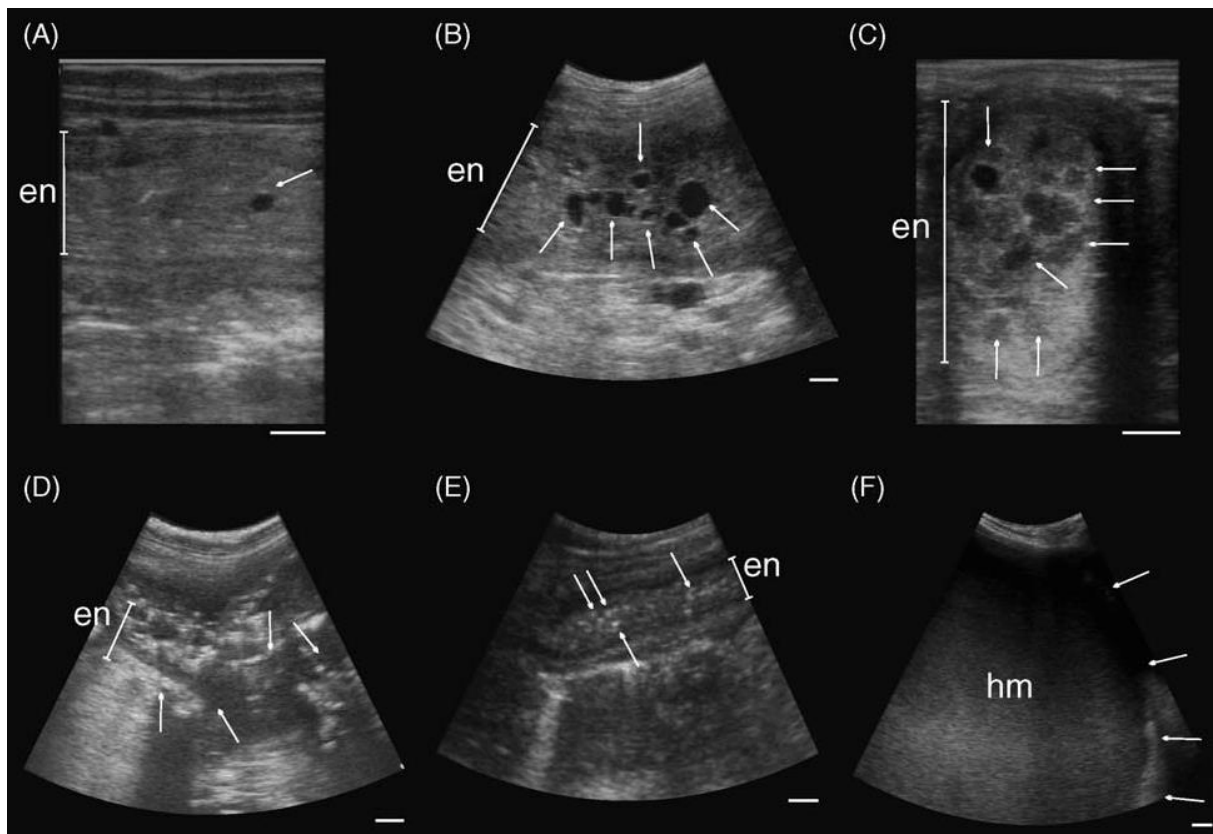
**Figure 20. Image échographique d'un corps jaune (Radcliffe et al. 1997)**

### **3. Aspect échographique des affections de l'appareil reproducteur femelle**

#### **a. L'hyperplasie glandulokystique**

Comme cela a été développé précédemment, plusieurs grades échographiques et histologiques de l'hyperplasie glandulokystique sont décrits (Figure 21).

Les **kystes** sont hypoéchogènes, circulaires, et peuvent être **isolés ou coalescents**. Dans les stades plus avancés hyperplasie, la cavité des kystes coalescents se charge en matériel fibrotique et devient hyperéchogène. L'**hydromètre** est visible grâce à la distension de l'utérus par une grande quantité de liquide hypoéchogène.



**Figure 21. Images échographiques de différents stades d'hyperplasie glandulokystique de l'endomètre (en) chez un rhinocéros blanc, échelle = 1 cm. (A) Kyste isolé chez une femelle cyclée ; (B) Multiples kystes chez une femelle cyclée ; (C) Multiples kystes confluents chez une femelle non cyclée ; (D) Multiples kystes confluents avec zones de fibrose chez une femelle non cyclée ; (E) Fibrose endométriale chez une femelle âgée non cyclée ; (F) Hydromètre (Hermes et al. 2006)**



## b. Les tumeurs de l'appareil reproducteur

Les tumeurs de l'appareil reproducteur sont détectables à l'échographie sous la forme d'une masse bien distincte ou en continuité avec les structures physiologiques. On les recherchera préférentiellement dans chez le rhinocéros blanc, et au niveau du col et du vagin chez le rhinocéros indien (Figure 23).

Les tumeurs de petite et moyenne taille apparaissent comme des structures sphériques et sombres. Les tumeurs plus grandes peuvent présenter des zones nécrotiques hyperéchogènes en leur centre (Figure 22).

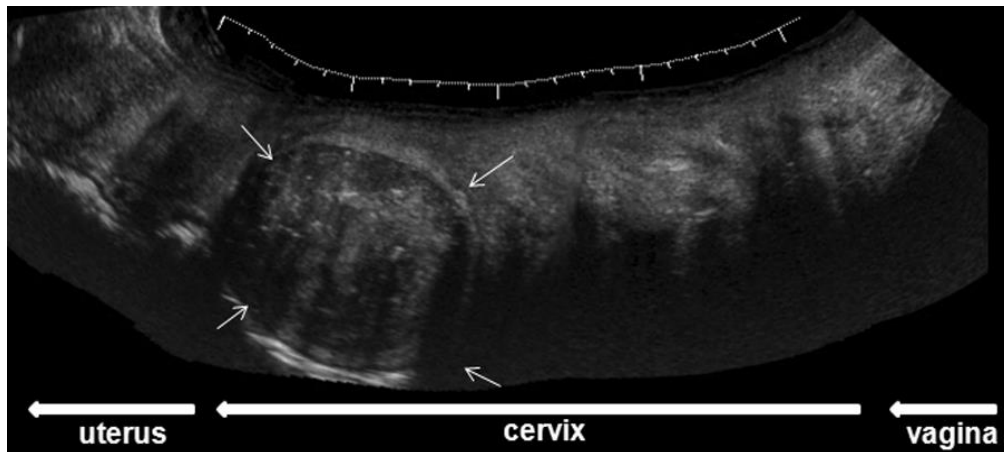


Figure 23. Vue échographique étendue d'une tumeur de l'appareil reproducteur au niveau de la portion crâniale du col (*cervix*) chez un rhinocéros indien (Hermes et al. 2014)

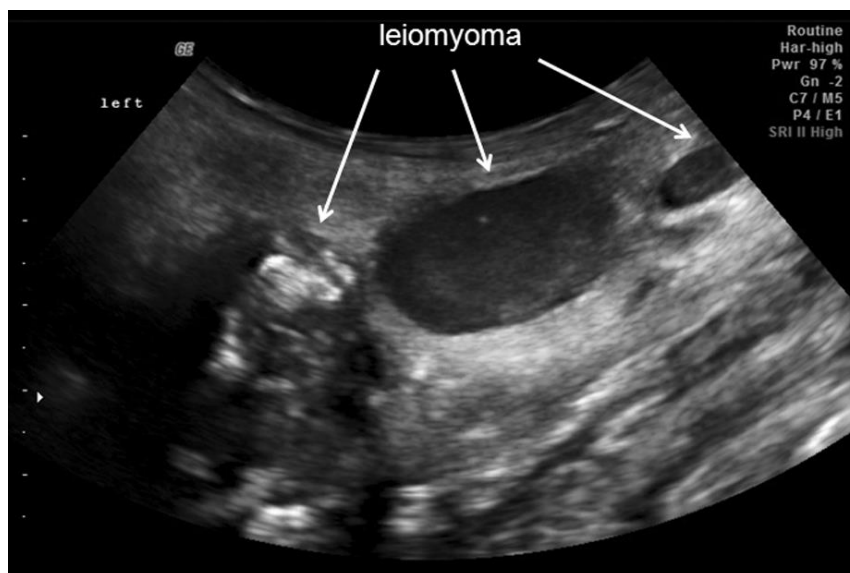


Figure 22. Aspect échographique de tumeurs de l'appareil reproducteur (Hermes et al. 2014)

## C. Etude échographique de l'appareil reproducteur mâle

### 1. Les testicules

Le parenchyme testiculaire est homogène, l'épididyme se distingue du testicule par son hypoéchogénicité (Schaffer et al. 1994 ; Zainal Zahari et al. 2002).

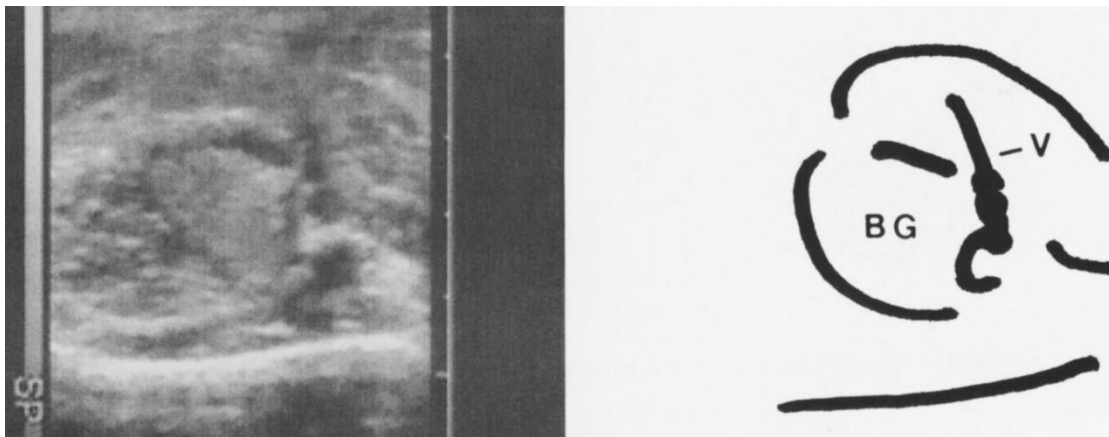
### 2. Les glandes accessoires

Les glandes accessoires sont visibles par échographie transrectale à travers la paroi ventrale du rectum. Elles sont localisées à proximité de la jonction de l'urètre avec la vessie, dans la filière pelvienne (Schaffer et Beehler 1990 ; Schaffer et al. 1994).

Les **glandes bulbo-urétrales** sont situées immédiatement crânialement à l'anus. De forme irrégulière, elles sont hyperéchogènes et parcourues par de gros vaisseaux sanguins (Figure 24).

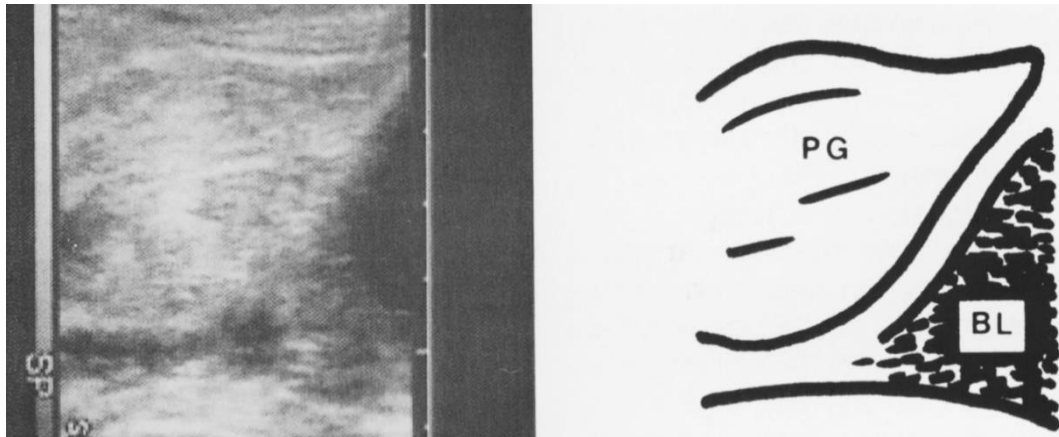
Les deux lobes trapézoïdaux prostatiques sont à cheval sur le col de la vessie, reliés dorsalement par un isthme (Figure 25). En coupe longitudinale, le **parenchyme prostatique** est hyperéchogène et est traversé par des lignes hypoéchogènes correspondant à l'accumulation de sécrétions prostatiques (Schaffer et Beehler 1990).

Les **vésicules séminales**, longues et oblongues, s'étendent latéralement au col de la vessie, crânialement à la prostate (Figure 26). L'aspect échographique est celui de lobules hypoéchogènes séparés par des septums hyperéchogènes (Schaffer et al. 1990 ; Zainal Zahari et al. 2002).



**Figure 24. . Image échographique d'une glande bulbo-urétrale en coupe sagittale et interprétation schématique (Schaffer et al. 2004)**

BG : glande bulbo-urétrale ; V : vaisseau sanguin



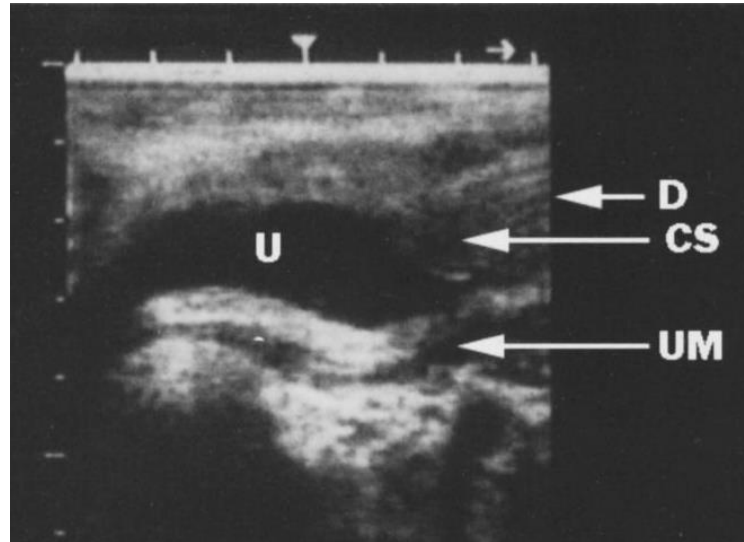
**Figure 25. Image échographique de la prostate en coupe sagittale et interprétation schématique (Schaffer et al. 2004) PG : prostate ; BL : vessie**



**Figure 26. Image échographique d'une vésicule séminale en coupe sagittale et interprétation schématique (Schaffer et al. 2004) VG : vésicule séminale ; BL : vessie**

### 3. L'urètre

L'échographie transrectale de l'urètre associée aux techniques artificielles de stimulation a permis d'observer les mécanismes de l'éjaculation chez le rhinocéros. Les étapes sont identiques à celles communément observées chez la plupart des mammifères : l'émission séminale suivie de l'éjaculation *sensu stricto*. L'émission séminale correspond au déversement du fluide spermatique du canal déférent dans l'urètre pelvien où il est mélangé aux sécrétions des glandes accessoires. Chez d'autres espèces, l'émission séminale est associée à des modifications de volume et d'échogénicité des glandes accessoires. Cela n'a pas été mis en évidence chez le rhinocéros, mais le manque de précision des images échographiques étudiées et les stimulations artificielles utilisées pour déclencher l'éjaculation sont des biais importants (Schaffer et al. 1998).



**Figure 27. Image échographique de l'urètre pelvien (U) en coupe sagittale durant une électroéjaculation. CS : colliculus seminalis ; UM : muscle urétral (Schaffer et al. 1998)**

Des échographies *post-mortem* des voies uro-génitales d'un rhinocéros blanc et d'un rhinocéros indien ont montré la présence d'une zone de dilatation de 5 à 8 cm de long de l'urètre pelvien lors du remplissage de ce dernier par un liquide. Elle est délimitée crânialement par le col de la vessie et l'urètre prostatique et caudalement par la constriction de l'urètre par les glandes bulbo-urétrales.

Cette poche est présente chez les d'autres espèces de mammifères ; elle est appelée « chambre de pression » chez l'homme et le chien. Chez le rhinocéros, son remplissage permettrait d'augmenter la force de l'éjaculation et assurerait la projection du sperme sur toute la longueur du pénis ainsi qu'à travers le cervix tortueux de la femelle.

Sa durée de remplissage, de l'ordre de quelques minutes, est supérieure à celle d'autres espèces ; les techniques de stimulations utilisées peuvent ralentir le processus comme c'est le cas chez l'étalon (Schaffer et al. 1998).

## VI- Événements de la reproduction chez les rhinocérotidés

L'étude de la physiologie et du comportement naturel chez les populations sauvages implique le suivi sur plusieurs années de groupes d'individus relativement stables. Les rhinocéros africains et le rhinocéros indien ont pu être correctement étudiés grâce aux populations importantes des réserves ou des parcs nationaux. Les données sur le rhinocéros de Sumatra sont en revanche beaucoup plus limitées en raison du faible nombre d'individus et de la rareté de ses observations.

### A. Sociologie du rhinocéros dans la nature

Les rhinocéros sont généralement solitaires. Le regroupement de plusieurs individus concerne essentiellement le couple formé par une femelle et son petit et les couples de sub-adultes, c'est-à-dire les rhinocéros n'ayant pas encore atteint leur maturité sexuelle.

Les rapports sociaux entre **rhinocéros blancs** dans la nature sont structurés par une mosaïque de territoires de 1 à 2 km<sup>2</sup> occupés par un **mâle dominant**. Ce mâle, également appelé « mâle-alpha », peut être accompagné d'autres mâles adultes qui lui sont subordonnés. Les femelles se déplacent d'un territoire à l'autre, accompagnée de leur petit et de jeunes sub-adultes. Elles traversent en moyenne 7 à 8 territoires différents par an. Ces territoires régissent les accouplements : un couple se forme lorsqu'un mâle dominant détecte une femelle en pro-œstrus dans son territoire, et les mâles subordonnés ne se reproduisent pas tant qu'ils ne défendent pas leur propre territoire (Owen-Smith 1988).

Chez le **rhinocéros noir**, les territoires des mâles se chevauchent jusqu'à l'âge de la puberté puis les mâles de même âge se séparent. Les femelles possèdent des territoires individuels mais la plupart évoluent dans des groupes de plusieurs individus (Lent et Fike 2003).

Chez le **rhinocéros indien**, les regroupements d'individus sont en général constitués de plusieurs mâles sub-adultes. Il n'existe pas de véritable territorialité comme chez le rhinocéros blanc (Laurie 1982).

Le rhinocéros de Sumatra est particulièrement solitaire. Le mâle occupe un territoire de plusieurs dizaines de kilomètres carrés. Il est souvent très agressif avec les femelles en dehors des périodes d'œstrus, et des affrontements parfois mortels peuvent avoir lieu (Dinerstein 2011).

## **B. Maturité sexuelle chez les rhinocéros**

### **1. Maturité sexuelle dans la nature**

#### **a. Maturité sexuelle chez la femelle**

Chez les rhinocéros sauvages, l'atteinte de la maturité sexuelle chez les femelles est définie par l'apparition des premiers comportements d'œstrus. Elle peut également être déterminée de manière indirecte lors de la première mise-bas.

Chez le rhinocéros noir, le rhinocéros blanc et le rhinocéros indien, le premier accouplement a lieu général entre **7 et 8 ans**, mais des accouplements précoces dès l'âge de 5 ans sont également rapportés (Goddard 1967 ; Laurie 1982 ; Hitchins et Anderson 1983 ; Smith 2006).

#### **b. Maturité sexuelle chez le mâle**

En se basant sur la présence de spermatozoïdes fonctionnels dans les testicules, l'âge de la maturité sexuelle chez un groupe de rhinocéros africains a été estimée à **8 ans** (Hitchins et Anderson 1983).

Cependant, chez le mâle, la manifestation du comportement reproducteur est liée à la capacité à défendre un territoire. Dans la réserve d'Umfolozi (Afrique du Sud), les mâles rhinocéros blancs montrent un intérêt sexuel dès l'âge de 8 ans mais ne commencent à se battre pour leur territoire qu'à la fin de leur croissance, entre **10 et 12 ans** (Owen-Smith 1988). Le rhinocéros noir devient territorial plus précocement, dès l'âge de **9 ans** (Hitchins et Anderson 1983).

### **2. Maturité sexuelle en captivité**

Les données des institutions zoologiques indiquent des maturités sexuelles beaucoup plus précoces que dans la nature, notamment chez les individus nés en captivité. Ceci peut s'expliquer par l'atteinte de la taille adulte accélérée chez ces individus en raison de l'optimisation de leur alimentation. De plus, l'absence de mâle dominant auprès de jeunes mâles qui vivent seuls dans leur enclos supprime l'inhibition hiérarchique.

#### **a. Maturité sexuelle chez le mâle**

En captivité, des accouplements de mâles rhinocéros blancs ont été observés dès l'âge de **4 ans** (Rieches 1998).

Chez un jeune rhinocéros de Sumatra, la concentration fécale en testostérone a atteint des valeurs équivalentes à celles d'un mâle adulte entre **6 et 6,5 ans**.

## **b. Maturité sexuelle chez la femelle**

De même que chez le mâle, la maturité sexuelle est atteinte beaucoup plus précocement en captivité. Une mise-bas à l'âge de 4,3 ans est rapportée chez une femelle rhinocéros blanc (Rieches 1998).

Chez une femelle rhinocéros de Sumatra, la présence de follicules pré-ovulatoires et une quantité significative de progestagènes fécaux ont été mis en évidence entre 5 et 5,5 ans.

## **C. L'accouplement**

Chez toutes les espèces de rhinocéros, l'accouplement est précédé par une période de séduction conduisant à l'appariement d'un mâle et d'une femelle, qui correspond au **pro-œstrus** de la femelle.

Cette phase dure quelques jours chez le rhinocéros indien, 7 à 8 jours chez le rhinocéros noir et 1 à 2 semaines chez le rhinocéros blanc (Laurie 1982 ; Owen-Smith 1998 ; Zainal Zahari et al. 2005).

Le pro-œstrus est caractérisé par des tentatives d'approche et des vocalises de la part du mâle. La femelle est dans un premier temps réfractaire aux avances du mâle, et des affrontements parfois violents peuvent avoir lieu. Chez le rhinocéros blanc, le mâle s'impose régulièrement pour retenir la femelle si cette dernière s'approche d'une des limites du territoire (Owen-Smith 1998).

A l'approche de l'œstrus, le mâle multiplie les tentatives d'approche et les vocalises. Cette intensification intervient environ **24 heures avant l'accouplement**. La femelle répond aux avances du mâle par des jets d'urine et en autorisant les contacts physiques. Le mâle peut alors appuyer sa tête sur la croupe de la femelle dans une posture caractéristique.

L'accouplement chez le rhinocéros blanc et le rhinocéros noir dure entre **15 et 40 minutes** (Hitchins et Anderson 1983 ; Owen-Smith 1998). Il peut durer jusqu'à **plus d'une heure** chez le rhinocéros indien (Laurie 1982).

Le mâle reste avec la femelle entre 1 et 5 jours après l'accouplement.

## **D. La gestation**

La gestation du rhinocéros dure de **15 à 16 mois**. C'est la deuxième durée de gestation la plus longue parmi les mammifères terrestres après l'éléphant, chez qui elle dure 20 à 22 mois (Goddard 1967 ; Laurie 1982 ; Owen-Smith 1988 ; Goot et al. 2013).

## E. La mise-bas

En captivité comme dans la nature, les mise-bas ont lieu tout au long de l'année chez le rhinocéros (Owen-Smith 1988 ; Rieches 1998), mais des pics de naissance ont été constatés chez les espèces africaines (Tableau 9).

L'inactivité reproductrice après la mise-bas dure **8 mois** (Garnier et al. 2002).

**Tableau 9. Intervalles entre les mises-bas et pics de naissances chez des populations de rhinocéros sauvages**

<b>Espèce</b>	<b>Localisation</b>	<b>Intervalle entre les mises-bas</b>	<b>Pics de naissance</b>
<b>Rhinocéros blanc (Smith 2006)</b>	Parc National du Garamba (Kenya)	30 mois [21-57], n=35	Mars et juillet
<b>Rhinocéros noir (Hitchins et Anderson 1983)</b>	Réserve d'Hluhluwe (Afrique du Sud)	44 mois [20-89], n = 32	Octobre-novembre et avril-juin
	Réserve d'Umfolozi (Afrique du Sud)	30 mois [22-55], n=22	
<b>Rhinocéros indien (Laurie 1982)</b>	Vallée du Chitawan (Népal)	34 mois [ ?-50], n = 50	Non

## F. L'élevage des jeunes

Le nouveau-né reste allongé et dissimulé jusqu'à une semaine avant de pouvoir suivre sa mère. Il est allaité plusieurs fois par jour, pendant un an voire plus. Le jeune reste en avec sa mère jusqu'à la mise-bas suivante, puis rejoint un groupe de jeunes sub-adultes jusqu'à la puberté (Owen-Smith 1988) .

L'étude du rhinocéros en captivité a permis ces vingt dernières années d'enrichir significativement les connaissances en matière d'anatomie, de physiologie et d'endocrinologie de la reproduction chez les différentes espèces. Sur la base de ces connaissances, les chercheurs et les équipes vétérinaires de parcs zoologiques ont commencé à développer des techniques de maîtrise de la reproduction et obtenu leurs premiers succès en matière d'insémination artificielle.



## I- Récolte et traitement des gamètes mâles

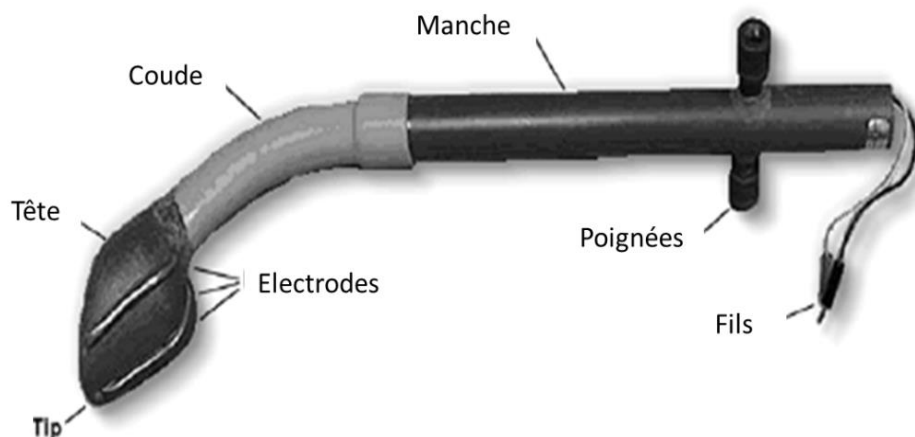
### A. Méthodes de prélèvement

#### 1. L'électroéjaculation

L'électroéjaculation est une méthode qui consiste à stimuler les glandes annexes de l'animal par des ondes électriques d'intensité variable jusqu'au déclenchement de l'éjaculation.

Le succès de cette procédure repose sur l'utilisation d'une sonde adaptée à la morphologie de l'animal. Les sondes classiques décrites pour l'électroéjaculation chez les animaux domestiques ne sont pas utilisables chez le rhinocéros. Le rectum étant large et gonflé par des gaz, la sonde est instable et le contact entre les électrodes et la muqueuse rectale régulièrement interrompu (Schaffer et al. 1990).

Des sondes adaptées à la morphologie du rhinocéros ont ainsi été spécialement développées. L'utilisation d'une sonde gonflable s'est révélée inefficace (Schaffer et al. 1990). Par la suite, des modèles de sonde ont été développés et utilisés avec succès (Roth et al. 2005 ; Hermes et al. 2005, 2009b). Roth et al. 2005 décrivent la conception d'une sonde courbée à 45 degrés dont les poignées permettent de maintenir la sonde en place en appliquant les électrodes contre la paroi ventrale du rectum (Figure 28).



**Figure 28. Sonde rectale conçue pour l'électro-éjaculation du rhinocéros (Roth et al. 2005)**

Après nettoyage du rectum, la position des glandes accessoires est repérée par échographie transrectale. La sonde est appliquée au niveau de l'urètre pelvien et de la prostate. Le placement échoguidé permet d'éviter une stimulation accidentelle de la vessie ou du col de la vessie susceptible d'entraîner une contamination du prélèvement par de l'urine (Roth et al. 2005 ; Hermes et al. 2005).

La sonde est introduite en positionnant les électrodes ventralement. Plusieurs séries de stimuli d'intensité croissante sont délivrées. Hermes et al. 2005, 2009b décrivent un protocole de 3 à 4 séries de 3 à 4 stimuli chacune, avec une intensité variant de 3 à 20 volts.

Les séries sont séparées par une phase de repos de 5 minutes durant laquelle est réalisé un massage rectal. Tout au long de la procédure, le pénis est également stimulé manuellement (Roth et al. 2005 ; Stoops et al. 2010).

Au cours de la stimulation, le gland du pénis est maintenu dans un récipient d'eau tiède pour récupérer l'éjaculat. Le récipient est régulièrement changé entre chaque fraction de l'éjaculat afin de ne pas contaminer une fraction de haute qualité avec une fraction de mauvaise qualité (Roth et al. 2005 ; Stoops et al. 2010).

La procédure dure entre **20 et 45 minutes** (Roth et al. 2005).

## **2. Le massage pénien**

Le massage pénien a l'avantage de pouvoir être réalisé sur **animal vigile**, mais son succès est extrêmement dépendant du tempérament de l'animal et requiert un conditionnement intensif (Schaffer et Beehler 1988 ; Schaffer et al. 1990).

L'opérateur est agenouillé derrière le rhinocéros. Le pénis est extériorisé du fourreau par des massages de la face médiale des membres postérieurs. Le pénis est lavé à l'eau tiède puis lubrifié avec un gel siliconé de sa partie distale jusqu'au départ des plis latéraux, l'extrémité pénienne étant épargnée. Des mouvements de va-et-vient d'intensité croissante sur cette portion sont réalisés jusqu'à l'érection totale puis l'éjaculation ; un deuxième opérateur est alors nécessaire pour aider à maintenir le pénis.

L'induction de l'érection puis de l'éjaculation nécessite de **10 à 20 minutes**. L'opération peut être répétée à plusieurs reprises (Young 1967 ; Schaffer et al. 1990).

## **3. Massage rectal**

Le massage rectal consiste en la stimulation des glandes accessoires par voie transrectale. Il est utilisé en complément de l'électroéjaculation ou du massage pénien pour augmenter l'efficacité de la stimulation (Schaffer et al. 1990 ; Roth et al. 2005 ; Stoops et al. 2010).

L'opérateur introduit son bras dans le rectum de l'animal à l'aide d'un gant lubrifié. La prostate et les glandes bulbo-urétrales sont massées en rythme avec le poings à travers la paroi ventrale du rectum (Schaffer et al. 1990).

#### 4. Sperme post-coïtal

La récolte de sperme post-coïtal a été décrite en 2000 chez une femelle rhinocéros de Sumatra. La récolte se fait au moyen d'un récipient placé sous la vulve de la femelle lorsque celle-ci s'allonge après le coït. Sur sept accouplements, cinq prélèvements ont ainsi pu être obtenus (O'Brien et Roth 2000).

Cette technique présente l'avantage de fournir une fraction de l'éjaculat naturel, contrairement à certains prélèvements de faibles volumes obtenus par massage pénien ou électroéjaculation. Les éjaculats étaient de qualité moyenne, avec une motilité supérieure à 60 %, mais présentaient beaucoup d'anomalies morphologiques et une forte contamination par des leucocytes.

La qualité de l'éjaculat apparait inversement proportionnelle au délai entre l'accouplement et le prélèvement ; la **précocité** du prélèvement est donc un élément important de la procédure.

Un des inconvénients majeurs de cette technique est qu'elle nécessite un accouplement, et donc une femelle cyclée exprimant l'œstrus. Elle présente ainsi peu d'intérêt chez le rhinocéros blanc chez qui les femelles captives sont souvent acycliques.

#### 5. Post-mortem

La récolte du sperme épидидymaire a été décrite chez plusieurs espèces sauvages pour la collecte de gamètes. Parmi les rhinocerotidés, elle a été réalisée chez les deux espèces africaines et sur le rhinocéros indien.

Une incision scrotale est réalisée pour extraire les testicules, qui sont ensuite conservées à 4°C jusqu'au prélèvement.

Le diamètre du conduit déférent chez le rhinocéros indien est suffisamment large pour y prélever le sperme par pression après avoir perforé la queue de l'épididyme à l'aide d'une aiguille. Des volumes de 19 et 25 mL ont pu être prélevés (Schaffer et al. 1993).

Chez les deux espèces de rhinocéros africains, le conduit de l'épididyme est bien plus condensé qu'il est nécessaire de hacher la tête puis de rincer le prélèvement pour récolter la semence. Les volumes récoltés sont beaucoup plus faibles, de l'ordre de 1 à 2 mL.

Dans le prélèvement récolté dans l'épididyme d'un rhinocéros blanc, les spermatozoïdes étaient à 90 % mobiles, 100 % avaient un acrosome intact (Williams et al. 1995).

## 6. Vagin artificiel

L'utilisation d'un vagin artificiel pour la récolte du sperme est utilisée avec succès dans différentes espèces de carnivores et de ruminants. Elle n'est pas utilisée chez le rhinocéros car les taux de réussite sont très faibles.

L'utilisation des vagins artificiels utilisés pour les étalons ou les bovins est exclue en raison des particularités morphologiques du pénis du rhinocéros : la courbure caudale du pénis qui persiste jusqu'à l'érection totale et l'extension latérale des plis longitudinaux péniens lors de l'érection (Schaffer et al. 1990).

### B. Evaluation de la qualité de la semence

Les intervalles des caractéristiques spermatiques de la semence prélevée chez le rhinocéros sont très larges : la variabilité inter-individuelle

#### 1. Analyse macroscopique

L'évaluation de la qualité du prélèvement de sperme consiste dans un premier temps à l'analyse du volume, du pH et de l'osmolarité :

Le **volume** total peut être déterminé directement sur le récipient de prélèvement si ce dernier est gradué. Les volumes rapportés chez le rhinocéros varient très fortement en fonction de la méthode de prélèvement, de la sonde utilisée et du protocole de stimulation utilisé. Les volumes les plus importants sont ceux obtenus par électro-éjaculation et par récolte post-coït de **25 à 338 mL** (Tableau 10).

Le **pH** est déterminé grâce à un indicateur coloré ou un pH-mètre. Il varie de **8,5 à 9** (Roth et al. 2005 ; Stoops et al. 2010 201).

L'**osmolarité** est mesurée à partir d'un aliquot de 100  $\mu$ L. Elle est de l'ordre de **290 à 300 mmol/kg** (Roth et al. 2005 ; Stoops et al. 2010).

Une diminution ou une augmentation de l'osmolarité hors de cet intervalle provoque respectivement une sortie ou une entrée d'eau dans le spermatozoïde selon le gradient de pression. Les modifications morphologiques engendrées entraînent une diminution voire une perte totale de la fonctionnalité du spermatozoïde (Davies Morel 1999).

**Tableau 10. Volume et concentration spermatique de l'éjaculat du rhinocéros**  
(E : électro-éjaculation ; MP : massage pénien)

	Méthode	Nombre d'animaux (nombre de prélèvements)	Volume (mL)	Concentration en spermatozoïdes (*10 <sup>6</sup> /mL)	Référence
<b>Rhinocéros blanc</b>	E	22 (n=36)	<b>78</b>	<b>58</b>	Hermes et al. 2005 ; Hermes et al. 2009b
	MP	1 (n=1)	<b>0,7</b>	<b>10</b>	Schaffer et al. 1998
<b>Rhinocéros noir</b>	E	2 (n=4)	<b>24,6</b> [15-44,6]	<b>100,5</b> [1-200]	Platz 1979 ; Schaffer et al. 1998
	MP	1 (n=1)	<b>62,2</b>	<b>15</b>	Schaffer et al. 1998
<b>Rhinocéros indien</b>	E	6 (n=10)	<b>159</b> [13-338]	<b>1078</b> [154-3496]	Stoops et al. 2010
	MP	1 (n=18)	<b>15</b> [0,2-50]	-	Schaffer et al. 1990
<b>Rhinocéros de Sumatra</b>	Post-coïtal	1 (n=5)	<b>104</b>	<b>24,6</b>	O'Brien et Roth 2000

## 2. Analyse microscopique

Au long de l'analyse microscopique, il est important que le prélèvement soit maintenu à la température physiologique du sperme, soit entre **37 et 38°C** (Davies Morel 1999).

La concentration en spermatozoïdes, la proportion de spermatozoïdes mobiles et morphologiquement normaux sont trois indicateurs majeurs de la qualité d'un éjaculat. Ces trois paramètres sont utilisés pour choisir les échantillons destinés à la cryopréservation chez le rhinocéros (Stoops et al. 2010).

### - La concentration en spermatozoïdes

La concentration en spermatozoïdes de l'éjaculat est calculée par un hémocytomètre (Hermes et al. 2009b ; Stoops et al. 2010).

### - La mobilité

La proportion de spermatozoïdes mobiles, et notamment ceux présentant une mobilité progressive, est un bon indicateur du nombre de spermatozoïdes viables.

Le pourcentage de mobilité totale est évalué au microscope optique équipé d'une plaque chauffante, au grossissement × 400, après dilution au 1/20ème (O'Brien et Roth 2000 ; Hermes et al. 2009b). Elle varie de 48 à 60 % sur des éjaculats obtenus par électro-éjaculation ou en post-coïtal (Tableau 12).

La **mobilité progressive** est déterminée grâce à une échelle subjective de 0 à 5 (0 : pas de mouvements ; 5 : progression rapide, linéaire et constante vers l'avant). Elle est en moyenne de **2,7** sur des éjaculats obtenus par électro-éjaculation (O'Brien et Roth 2000 ; Stoops et al. 2010).

Pour prendre en compte à la fois la mobilité totale et la mobilité progressive, on calcule l'**index de mobilité des spermatozoïdes (SMI)** (O'Brien et Roth 2000) :

$$\text{SMI} = ((\text{mobilité totale en \%} + (\text{mobilité progressive} \times 20)) / 2)$$

#### - Les anomalies morphologiques

La **morphologie** des spermatozoïdes est évaluée sur un aliquot de 5 µL fixé dans une solution de glutaraldéhyde à 0,3 %. L'échantillon est coloré au rouge Congo, à l'acide tannique puis au bleu de crésyl brillant (Hermes et al. 2005).

L'observation s'effectue grâce à un microscope à contraste de phase au grossissement × 1 000 et concerne 100 spermatozoïdes par échantillon (O'Brien et Roth 2000 ; Stoops et al. 2010).

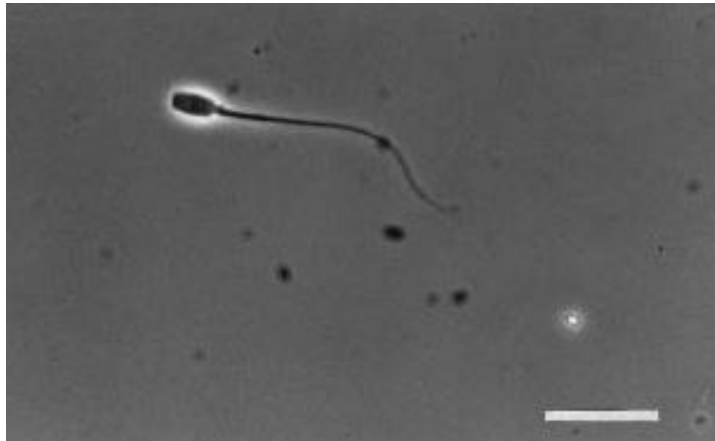
O'Brien et Roth, 2000, ont mis en évidence une différence significative entre la longueur totale des spermatozoïdes chez le rhinocéros et le rhinocéros de Sumatra (Tableau 11).

**Tableau 11. Dimensions du spermatozoïde du rhinocéros noir et du rhinocéros de Sumatra (O'Brien et Roth 2000).**

Les valeurs significativement différente d'une espèce à l'autre sont suivie d'une \*.

	Tête		Pièce intermédiaire (longueur en µm)	Queue (longueur en µm)	Longueur totale (µm)
	Longueur (µm)	Largeur (µm)			
<b>Rhinocéros noir</b>	6,2*	3	8*	40,9*	55*
<b>Rhinocéros de Sumatra</b>	5,2*	3	6,8*	30*	42*

La tête est de forme oblongue (Figure 29). En coupe sagittale, son aire est de l'ordre de **13 µm<sup>2</sup>** chez les deux espèces africaines et le rhinocéros indien (Behr et al. 2009a).



**Figure 29. Spermatozoïde d'un rhinocéros de Sumatra vu au microscope à contraste de phase (O'Brien et Roth, 2000). Echelle = 15  $\mu$ m**

Les spermatozoïdes anormaux sont comptés et classés en différentes catégories. Sur la semence fraîche de rhinocéros de Sumatra recueillie en post-coït, les anomalies étaient les suivantes (O'Brien et Roth 2000) :

- anomalie de la tête (micro ou macrocéphalie) : 67 % des spermatozoïdes
- gouttelette cytoplasmique : 28,5 %
- altération de la pièce intermédiaire (courbée ou anormale) : 16,9%
- altération du flagelle (courbé ou enroulé) : 4,8 %
- spermatozoïde bicéphale ou biflagellé : 2,4 %
- spermatide (spermatozoïde immature) : 0,8 %.

Le pourcentage de spermatozoïdes morphologiquement normaux dans les éjaculats varie selon les études et les méthodes de prélèvement de **19 à 83 %** (Tableau 12).

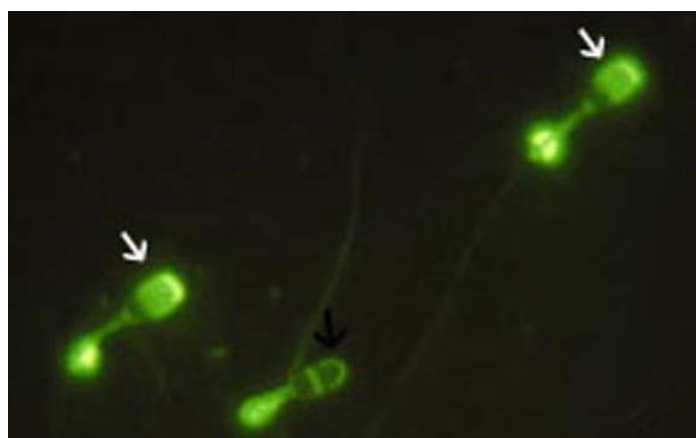
**Tableau 12. Mobilité et anomalies des spermatozoïdes de l'éjaculat du rhinocéros**  
(E : électro-éjaculation ; MP : massage pénien)

	Méthode	Nombre d'animaux (nombre de prélèvements)	Mobilité totale (%)	Spermatozoïdes morphologiquement normaux (%)	Référence
<b>Rhinocéros blanc</b>	E	21 (n=34)	<b>71</b>	<b>69</b>	Hermes et al. 2005
<b>Rhinocéros noir</b>	E	2 (n=2)	-	<b>29</b> [21 ; 37]	Roth et al. 2005 dans Roth 2006
	E	1 (n=2)	<b>50</b> [40 ; 60]	-	Platz 1979
<b>Rhinocéros indien</b>	E	6 (n=10)	<b>48</b> [0-83]	<b>39</b> [19-83]	Stoops et al. 2010
	MP	1 (n=18)	<b>27,2</b> [0-80]	-	Schaffer et al. 1990
<b>Rhinocéros de Sumatra</b>	Post-coïtal	1 (n=5)	<b>60</b>	<b>40</b>	O'Brien et Roth 2000

- **L'intégrité de l'acrosome**

L'analyse de l'intégrité de l'acrosome se fait après coloration d'un étalement par de l'agglutinine de cacahuète conjuguée à de l'isothiocyanate de fluorescéine (**FITC-PNA**). La lame est ensuite analysée avec un microscope à fluorescence au grossissement  $\times 1000$  (Figure 30). Les acrosomes intacts se colorent en vert brillant sur tout leur pôle apical (O'Brien et Roth 2000).

Sur 10 éjaculats de rhinocéros indien obtenus par électro-éjaculation, Stoops et al. 2010 ont observé **85,5 %** d'acrosomes intacts. Sur 5 éjaculats post-coïtaux de rhinocéros de Sumatra, la proportion d'acrosomes intacts était de **79,8 %** (O'Brien et Roth 2000).



**Figure 30. Spermatozoïdes de rhinocéros indien colorés par la FITC-PNA révélant les acrosomes intacts (flèche blanche) et endommagés (flèche noire) (Stoops et al. 2010).**



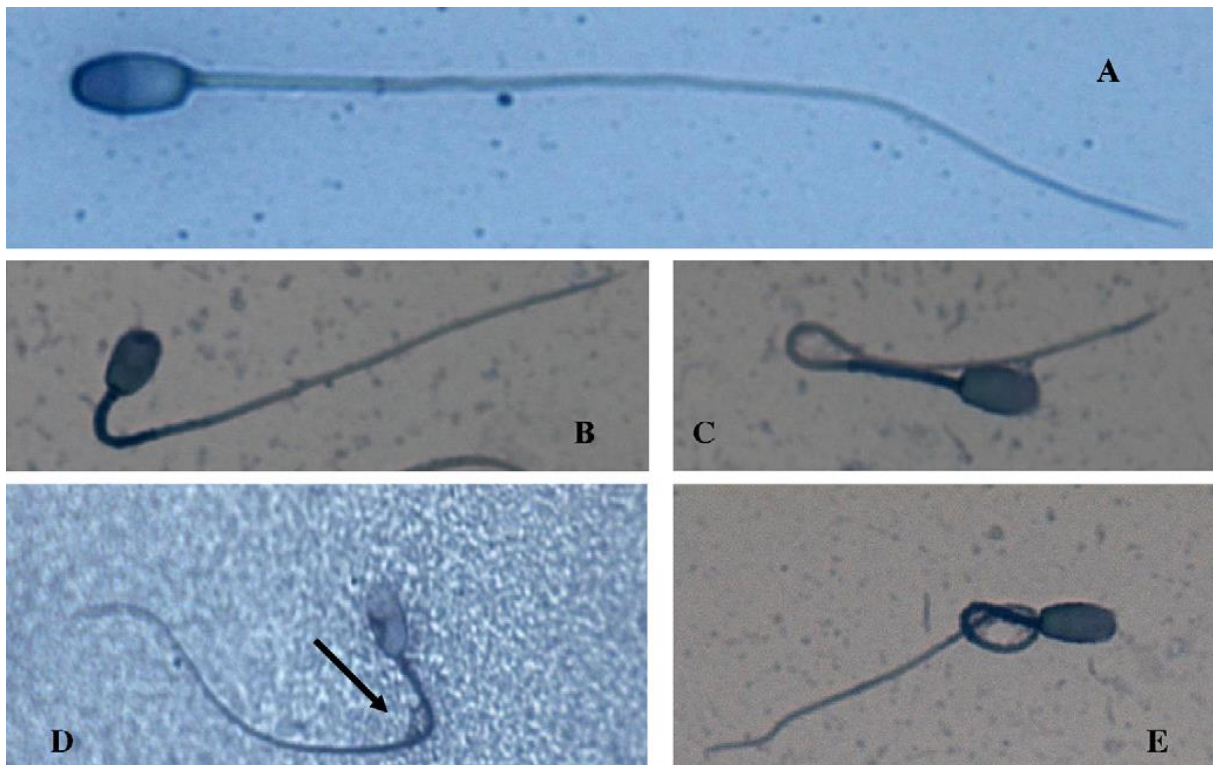
### - La viabilité

La viabilité est déterminée en évaluant l'**intégrité** de la membrane plasmique du spermatozoïde.

Un **colorant chromosomique fluorescent** tel que le Hoechst 33258 (bisbenzimidazole) peut être utilisé avec un rapport de volume 1 : 1 (O'Brien et Roth 2000 ; Stoops et al. 2010). Les spermatozoïdes dont la membrane est intègre ne permettent pas au colorant de pénétrer et de se fixer aux chromosomes, et sont considérés comme viables.

Par cette méthode, la viabilité obtenue sur du sperme post-coïtal ou obtenu par électro-éjaculation est respectivement **72 %** et **89,5 %** (O'Brien et Roth 2000 ; Stoops et al. 2010).

Il est également possible d'évaluer la **fonctionnalité** de la membrane plasmique, grâce au **test hypo-osmotique (HOS)**. Ce test consiste à placer les spermatozoïdes dans un milieu hypo-osmotique (100 mOsm) puis d'évaluer sur une lame les modifications morphologiques engendrées sur 100 spermatozoïdes (Reid et al. 2009). Chez les spermatozoïdes normaux, le gradient osmolaire va provoquer une entrée de fluide à travers la membrane et un remplissage de la queue (Figure 31). Les spermatozoïdes qui restent intacts sont considérés comme non viables.



**Figure 31. Test hypo-osmotique sur des spermatozoïdes de rhinocéros blanc. (A) spermatozoïde intact : non viable ; (B-E) : différentes formes de remplissage de la queue : spermatozoïdes viables (Reid et al. 2009)**

## C. Traitement et conservation de la semence

### 1. Traitement et conservation de la semence fraîche

Après récolte, le sperme est dilué (1 : 1) dans un **dilueur** BC (Berliner Cryomedium) dont la composition est détaillée plus loin, et peut être conservé à température ambiante (Tableau 13). L'insémination est réalisée dans l'heure qui suit ; le prélèvement est réchauffé jusqu'à 37,8°C avant d'être utilisé.

Les deux premiers succès d'insémination artificielle à partir de sperme frais ont été obtenus chez deux femelles rhinocéros blanc en 2007 au zoo de Budapest (Hildebrandt et al. 2007).

### 2. Traitement et conservation de la semence congelée

#### a. Enjeux de la cryoconservation

L'utilisation de semence congelée est d'une importance capitale dans les programmes de reproduction assistée, car elle permet de s'affranchir de problèmes logistiques liés à l'utilisation de semence fraîche et au transport sur de longues distances. Chez le rhinocéros, sa maîtrise permettrait également d'utiliser les reproducteurs issus de populations sauvages sans nécessité d'une importation, ou encore de récupérer le matériel génétique d'animaux morts (Reid et al. 2009).

Le processus de cryoconservation influence la qualité des échantillons : les chocs osmotiques, le liquide de cryoconservation et la formation de cristaux de glace dans le cytoplasme des spermatozoïdes provoquent une mortalité cellulaire importante. Cette mortalité est fonction du liquide de conservation et de la méthode utilisée. Les auteurs utilisent des cryoprotecteurs et des techniques différentes. De plus, exceptés Hermes et al. 2005, qui ont étudié la semence de 21 rhinocéros, les autres études ne se basent sur l'étude que d'un à deux échantillons. Les résultats sont donc difficiles à interpréter et à comparer.

#### b. Liquide de conservation

La semence est diluée avec une solution appelée dilueur. Elle contient (**Erreur ! Source du envoi introuvable.**) :

- le « buffer », ou tampon, qui assure le contrôle le pH
- des substances nutritives qui fournissent de l'énergie aux spermatozoïdes
- des lipides qui protègent la membrane plasmatique
- des antibiotiques qui préviennent les multiplications bactériennes
- un cryoprotecteur dont le rôle est de prévenir la formation de cristaux de glace et de réduire le choc osmotique lors de la congélation (Stoops et al. 2010).

Les chercheurs travaillant sur la conservation du sperme de rhinocéros blanc utilisent le Berline Cryomedium, à base de jaune d'œuf et d'un cryoprotecteur, le DMSO (Reid et al. 2009 ; Hermes et al. 2009b). Chez le rhinocéros indien et le rhinocéros de Sumatra, une bonne conservation est obtenue avec un dilueur standard équin associé à un cryoprotecteur, DMSO ou glycérol (Stoops et al. 2010).

**Tableau 13. Comparaison de la composition de deux liquides de conservation de la semence utilisés chez le rhinocéros**

	<b>Solutions BC (Berliner Cryomedium)</b> (Hermes et al. 2005)	<b>Solution EQ (standard equine)</b> (O'Brien et Roth 2000)
<b>Diluant Tris</b>	2,41 %	-
<b>Diluant TES (acide N-TRIS (hydroxyméthyl) méthyl-2-aminoéthane sulfonique)</b>	0,58 %	-
<b>STLS (sodium de triéthanolamine laurylsulfate)</b> Détergent	-	0,25 %
<b>EDTA disodique</b>	-	0,25 %
<b>Lactose</b>	5 %	5,5 %
<b>Fructose</b>	0,1 %	
<b>Glucose</b>		0,25 %
<b>Jaune d'œuf</b> Buffer Substance nutritive Protection des membranes	15,6 %	20 %
<b>DMSO</b> Cryoprotecteur	6,25 %	-
<b>α-tocophérol (vitamine E)</b>	20 UI/mL	-
<b>Antimicrobiens</b>	-	Pénicilline G : 25 UI.mL <sup>-1</sup> Streptomycine : 25 UI.mL <sup>-1</sup>

### c. Méthodes de cryoconservation

Avant l'étape de cryoconservation de la semence proprement dite, les échantillons sont dans un premier temps placés dans un bain d'eau à 4°C. Cette étape de refroidissement passif dure environ 2 heures (Reid et al. 2009).

#### - Les méthodes classiques

Les méthodes de cryoconservation classiquement décrites chez le rhinocéros sont compatibles avec leur utilisation sur le terrain.

Le sperme est en général congelé dans des paillettes de 0,5 mL. Après l'étape de refroidissement, les paillettes sont plongées dans les vapeurs d'azote liquide à **- 80°C** ou en étant placés dans un bloc de neige carbonique. La semence est ensuite stockée dans l'azote liquide à **- 196°C** (O'Brien et Roth 2000 ; Hermes et al. 2005 ; Stoops et al. 2010).

L'inconvénient de ces techniques est qu'elles reposent sur un transfert de chaleur **multidirectionnel** dont le gradient thermique dépend de facteurs qui ne sont pas directement contrôlables. La formation de la glace progresse donc à une vitesse et avec une morphologie non contrôlées, ce qui provoque des dégâts structuraux et fonctionnels sur la semence.

La congélation dans les vapeurs d'azote liquide reste néanmoins la technique privilégiée chez le rhinocéros comme chez de nombreuses autres espèces menacées, car elle requiert peu de matériel et est peu coûteuse.

#### - **La congélation unidirectionnelle**

Plus sophistiquée, la congélation unidirectionnelle a été développée et utilisée avec succès chez les espèces domestiques, et tend à être appliquée à la conservation des gamètes d'espèces menacées.

La semence n'est pas mise en paillette mais en cryotube de 2 à 10 mL de volume. Durant le processus de congélation, le cryotube subit un gradient linéaire de température à une vitesse constante, ce qui permet de s'affranchir des aléas des méthodes traditionnelles. La vitesse de refroidissement et la propagation de la glace dans l'échantillon sont très précisément contrôlées (Reid et al. 2009).

Dans le protocole décrit par Reid et al. (2009), les échantillons passent de 4°C à **- 50°C** avec une vitesse de refroidissement de **- 33°C par minute**.

Une étude ayant comparé la congélation dans les vapeurs d'azote liquide et la congélation unidirectionnelle chez le rhinocéros a montré que cette dernière permettait d'augmenter significativement l'index de motilité spermatique, la motilité progressive et la viabilité de l'échantillon (Reid et al. 2009).

Cette technique a notamment été utilisée lors de la première insémination artificielle à partir de semence congelée chez le rhinocéros ayant donné lieu à une gestation (Hermes et al. 2009b).

#### **d. Décongélation des échantillons**

Les tubes sont d'abord réchauffés passivement à température ambiante pendant 60 secondes avant d'être réchauffés dans un bain d'eau chaude à 37,8°C pendant 30 secondes (Reid et al. 2009).

## **II- Détection de l'œstrus et de l'ovulation**

### **A. Changements comportementaux**

L'œstrus comportemental chez le rhinocéros dure en général moins de 24 heures, et il précède l'ovulation de 48 heures. Chez la femelle, on peut observer (Radcliffe et al. 1997 ; Stoops et al. 2004) :

- Une augmentation du niveau d'activité
- Une diminution marquée de l'appétit
- L'émission de jets d'urine horizontaux
- Le repli de la queue sur le côté
- L'émission de vocalises caractéristiques (sifflements, rugissements).

Si le mâle est en contact avec la femelle, ce dernier peut également manifester un changement de comportement deux à trois jours avant l'œstrus comportemental de la femelle. Une baisse de l'appétit et une augmentation des vocalises peuvent être observées (Stoops et al. 2004).

Lors de la mise en contact, la femelle tolère le rapprochement du mâle, qui peut ensuite poser sa tête sur la croupe de la femelle.

### **B. Modifications physiques**

Chez le rhinocéros blanc, la muqueuse vaginale devient rouge 2 à 3 jours avant et après l'œstrus (Radcliffe et al. 1997).

### **C. Température rectale**

Le suivi de la température rectale sur une femelle rhinocéros indien au cours de deux cycles œstraux a montré une élévation significative d'1°C de la température rectale le jour de l'œstrus comportemental.

Cette augmentation a été observée avant des cycles ovulatoires et anovulatoires, et serait liée à l'intensification de l'activité lors de l'œstrus. Elle ne reflète donc pas la survenue de l'ovulation (Stoops et al. 2004).

### **D. Dosages hormonaux**

Les dosages hormonaux sont des examens de choix pour l'évaluation de la fonction de reproduction des espèces non-domestiques. Les études longitudinales permettent de suivre le cycle œstral de l'animal, déterminer le moment de l'ovulation et suivre la gestation.

## 1. Techniques de prélèvement

### a. Sérum

Le prélèvement de sang sur le rhinocéros s'effectue sur une des veines auriculaires ou sur la veine radiale médiale d'un des membres antérieurs, sur animal sédaté ou vigile dans une structure de contention (Berkeley et al. 1997).

Le sérum peut être congelé et conservé à  $-20^{\circ}\text{C}$  jusqu'à l'analyse.

### b. Urine

L'urine est récoltée lors d'une **miction spontanée** de l'animal ou recueillie directement **sur le sol** de l'enclos à l'aide d'une seringue (Ramsay et al. 1987, Hindle et al. 1992).

Pour compenser les fluctuations de volume et de concentration des urines dues à la prise de boisson, le dosage de la créatinine urinaire est associé au dosage hormonal. Les concentrations hormonales sont exprimées en nanogrammes par milligramme de créatinine (**ng.mg<sup>-1</sup> Cr**) (Hindle et al. 1992 ; Stoops et al. 2004).

Les échantillons sont conservés à  $-20^{\circ}\text{C}$  (Stoops et al. 2004). Chez le rhinocéros indien, le processus de congélation provoque une diminution significative de la concentration de LH urinaire. Le dosage de cette hormone ne sera donc effectué que sur des prélèvements réfrigérés (Brown et al. 2001).

### c. Fèces

Les échantillons de fèces sont prélevés sur les bouses fraîches **au sol** ou directement **dans le rectum** de l'animal à l'occasion d'un suivi échographique transrectal.

Ce mode de prélèvement est le moins invasif et le plus facile à réaliser. C'est la méthode de choix pour le suivi d'individus sauvages (Garnier et al. 2002 ; Goot et al. 2013).

Si besoin, les matières fécales peuvent être conservées à  $-20^{\circ}\text{C}$ . Préalablement à l'analyse, les échantillons de fèces sont lyophilisés en une fine poudre puis tamisés pour en retirer le matériel fibreux (Goot et al. 2013).

### d. Salive

La salivation est induite par la présentation d'aliments appétents. La salive est prélevée directement dans la bouche à l'aide d'une seringue (Czekala et Callison 1996). L'animal peut également être entraîné à ce type de prélèvement (Gomez et al. 2004).

## 2. Hormones dosées

### a. Progestagènes

La concentration en progestagènes dans l'urine ou les fèces reflète la sécrétion de progestérone par le corps jaune durant la phase lutéale. La progestérone est excrétée sous forme de nombreux métabolites libres ou conjugués (Heistermann et al. 1998).

Selon les études, des tests plus ou moins spécifiques ont été validés chez le rhinocéros. Les réactivités croisées des anticorps utilisés permettent en général de doser plusieurs métabolites ou des groupes de métabolites différents (Tableau 14).

Chez le rhinocéros de Sumatra, 99 % des métabolites de la progestérone étant excrétés dans les fèces, le dosage à partir de l'urine est inutile (Heistermann et al. 1998 ; Agil et al. 2008).

**Tableau 14. Principaux métabolites de la progestérone dosés chez le rhinocéros.**

	Fèces	Urine
Rhinocéros blanc	<b>Allopregnanolone</b> <i>Radcliffe et al. 1997 ;  Patton et al. 1999 ;  Brown et al. 2001</i> <hr/> <b>20-oxo-pregnane  (20-oxo-P)</b> Schwarzenberger et al. 1998	<b>20-<math>\alpha</math>-dihydroprogestérone  (20-<math>\alpha</math>-DHP)</b> <i>Hindle et al. 1992</i>
Rhinocéros noir	<b>Glucuronide de pregnanediol  (PdG), 20-oxo-P</b> <i>Schwarzenberger et al. 1993 ;  Schwarzenberger et al. 1996</i> <hr/> <b>Allopregnanolone</b> <i>Brown et al. 2001</i>	<b>20-<math>\alpha</math>-DHP</b> <i>Hindle et al. 1992</i>
Rhinocéros indien	<b>PdG, 20-oxo-P</b> <i>Schwarzenberger et al. 2000</i>	<b>PdG</b> <i>Kasman et al. 1986 ; Stoops et al.  2004</i>
Rhinocéros de Sumatra	> 99 % métabolites <b>(PdG, 20-oxo-P)</b> Heistermann et al. 1998	-

## b. Œstrogènes

Les œstrogènes sont libérés par les follicules en croissance. Deux formes sont dosées chez le rhinocéros : l'œstradiol-17-β (E2) et l'œstrone (E1) (Tableau 15).

Chez le **rhinocéros indien**, les concentrations urinaires et fécales en œstrogènes reflètent de manière précise les phases du cycle œstral (Kasman et al. 1986 ; Schwarzenberger et al. 2000 ; Stoops et al. 2004).

L'intérêt de leur dosage chez les trois autres espèces étudiées est davantage discuté. Des études ont mis en évidence une cyclicité d'excrétion urinaire de l'œstrone et l'œstradiol chez le rhinocéros noir et le rhinocéros blanc respectivement (Hindle et al. 1992), et une excrétion fécale corrélée avec les concentrations sanguines chez le rhinocéros noir (Berkeley et al. 1997). Cependant, d'autres études ont mis en évidence des concentrations trop faibles et des profils d'excrétion non cyclique ne permettant pas de valider ces dosages (Ramsay et al. 1987 ; Brown et al. 2001).

**Tableau 15. Principaux œstrogènes dosés chez le rhinocéros.**

	Fèces	Urine
<b>Rhinocéros blanc</b>	-	<b>Œstradiol</b> <i>Hindle et al. 1992</i>
<b>Rhinocéros noir</b>	<b>Œstrogènes totaux</b> (Berkeley et al. 1997)	<b>Œstrogènes totaux</b> (Ramsay et al. 1987)
		<b>Œstrone</b> <i>Hindle et al. 1992</i>
<b>Rhinocéros indien</b>	<b>Œstrogènes totaux</b> <i>Schwarzenberger et al. 2000</i>	<b>Œstrone</b> <i>Kasman et al. 1986 ; Stoops et al. 2004</i>
<b>Rhinocéros de Sumatra</b>	-	<b>Œstradiol</b> (Heistermann et al. 1998)

## c. Androgènes

Les androgènes sont des intermédiaires de la biosynthèse des œstrogènes.

Ils sont dosés chez le **rhinocéros indien**, chez qui leur excrétion fécale est positivement corrélée à l'augmentation de la sécrétion d'œstrogènes fécale et salivaire chez le rhinocéros indien (Schwarzenberger et al. 2000 ; Gomez et al. 2004).

L'**androstènedione** a été identifié comme l'androgène majeur excrété chez cette espèce.



#### d. LH

Le dosage par méthode ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) de la **LH urinaire** a été validé chez le **rhinocéros indien** (Stoops et al. 2004).

Chez le **rhinocéros de Sumatra**, la LH a été dosée sur **sérum** par dosage radio-immunologique avec un anticorps anti-LH bovine (Roth et al. 2001).

Au cours du cycle, l'excrétion de LH dans l'urine fluctue de manière pulsatile autour d'une ligne de base jusqu'au pic qui précède l'ovulation. L'excrétion urinaire, à l'instar du pic de sécrétion sanguin, est très brève. La fréquence des mictions en période d'œstrus étant considérablement augmentée, la détection de l'ovulation par le dosage de la LH nécessite un nombre de prélèvements très élevé ; cette méthode est donc peu utilisée en pratique (Stoops et al. 2004).

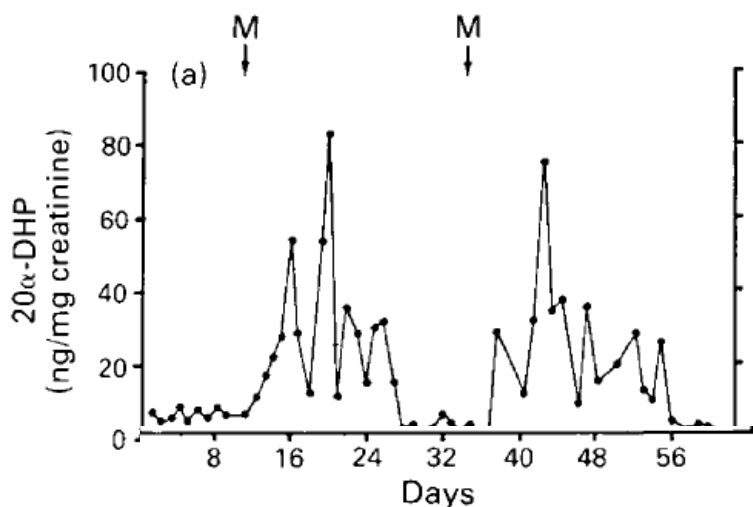
Le dosage de la LH peut se révéler néanmoins très pertinent pour évaluer l'efficacité de traitements d'induction de l'ovulation (Stoops et al. 2004).

### 3. Profil et ordre de grandeur des concentrations hormonales au cours du cycle

#### a. Progestagènes

Chez les **espèces africaines**, la quantité de progestagènes est de l'ordre (Hindle et al. 1992 ; Radcliffe et al. 1997 ; Schwarzenberger et al. 1998) :

- de **0 à 10 ng.mg Cr<sup>-1</sup>** dans l'**urine** en phase folliculaire, de **10 à 80 ng.mg Cr<sup>-1</sup>** en phase lutéale
- de **0 à la centaine de ng.g<sup>-1</sup>** de fèces dans **les fèces** en phase folliculaire à **800 ng.g<sup>-1</sup>** en phase lutéale (Figure 32).



**Figure 32. Profil d'excrétion fécale de la 20- $\alpha$ -dihydroprogestérone au cours de cycles œstraux successifs chez un rhinocéros blanc** (Hindle et al. 1992).

Les flèches indiquent le jour de l'accouplement.

Chez le **rhinocéros de Sumatra**, l'essentiel des métabolites de la progestérone est éliminé par voie fécale (Heistermann et al. 1998 ; Agil et al. 2008). Leur concentration chez deux femelles cyclées varie :

- entre **0 et 10  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$**  de fèces en phase folliculaire
- entre **15 à 25  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$**  de fèces en phase lutéale.

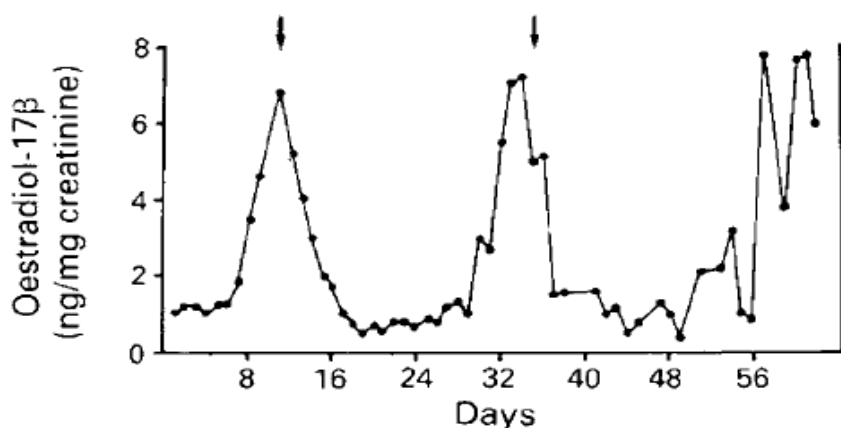
## b. Œstrogènes

Les œstrogènes sont produits par les follicules ; leur concentration augmente donc au cours de la phase folliculaire en parallèle de la croissance du follicule dominant, et atteint son maximum lors de l'ovulation (Figure 33).

Chez le **rhinocéros indien** (Figure 35), la concentration urinaire en œstrone en phase folliculaire est de l'ordre de **plusieurs centaines de  $\text{ng}\cdot\text{mg Cr}^{-1}$**  à plus de **2 000  $\text{ng}\cdot\text{mg Cr}^{-1}$**  au pic de concentration (Stoops et al. 2004).

Chez les **espèces africaines**, les études qui ont mis en évidence un pattern d'excrétion cyclique des œstrogènes ont obtenu une concentration urinaire est de l'ordre de **0 à une dizaine  $\text{ng}\cdot\text{mg Cr}^{-1}$**  dans l'urine et de **la dizaine à la centaine de  $\text{ng}\cdot\text{mg}$**  dans les fèces (Hindle et al. 1992 ; Berkeley et al. 1997).

Chez le **rhinocéros de Sumatra**, les œstrogènes sont essentiellement excrétés dans l'urine sous forme d'œstradiol dont la concentration est de l'ordre de **15 à 30  $\text{ng}\cdot\text{mg Cr}^{-1}$**  en phase lutéale, et de **75 à 150  $\text{ng}\cdot\text{mg Cr}^{-1}$**  en phase folliculaire (Heistermann et al. 1998).



**Figure 33. Profil d'excrétion d'œstradiol urinaire durant des cycles œstraux successifs chez un rhinocéros blanc (Hindle et al. 1992).**

Les flèches indiquent le jour de l'accouplement.

### c. Androgènes

A l'instar des œstrogènes, les androgènes sont de bons indicateurs de la phase folliculaire chez le rhinocéros indien (Figure 34).

Leur concentration atteint des valeurs supérieures à celles des œstrogènes fécaux, de l'ordre de **0 à 600 ng.g<sup>-1</sup> de fèces**.

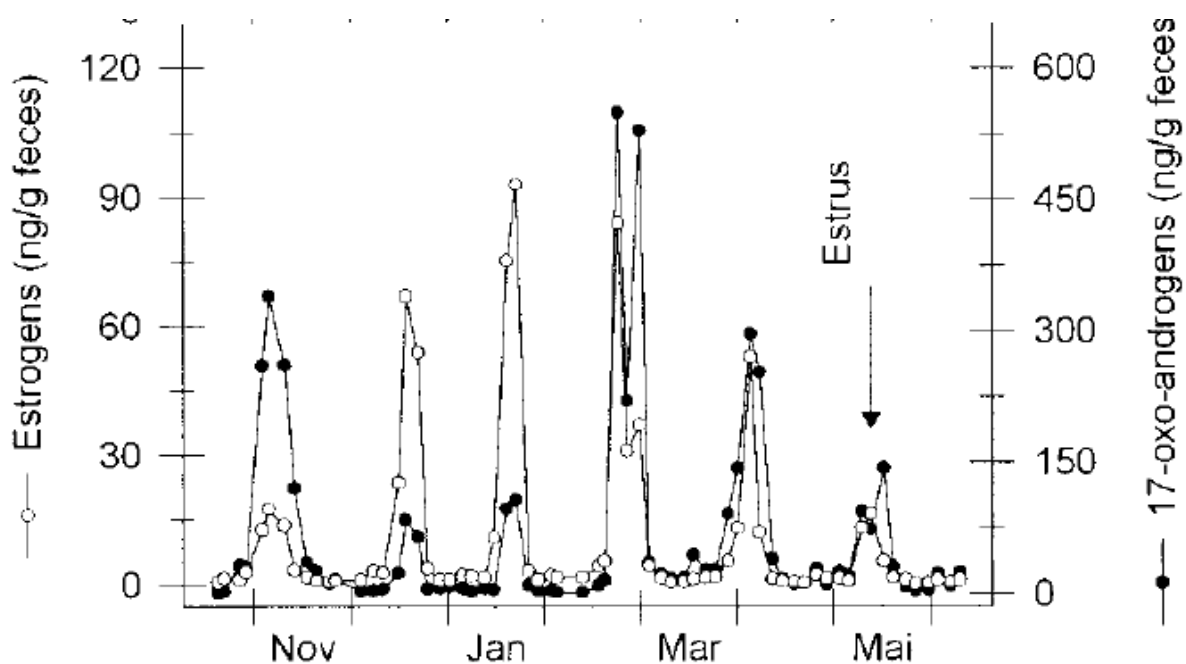


Figure 34. Profil d'excrétion fécale d'œstrogènes totaux ○ et de 17-oxo-androgènes ● au cours de cycles œstraux successifs chez un rhinocéros indien (Schwarzenberger et al. 2000)

### d. LH

La concentration de base de LH dans l'urine chez une femelle **rhinocéros indien** est de **quelques dizaines de pg.mg Cr<sup>-1</sup>**. Les pics d'excrétion obtenus après stimulation à la GnRH sont de l'ordre de **500 à 700 pg.mg Cr<sup>-1</sup>**, et durent **moins de 24 heures** (Stoops et al. 2004).

Chez le **rhinocéros de Sumatra**, les données du suivi de deux femelles sur un an sont disponibles. La concentration **sérique** en LH atteint son pic **une à 2 heures après l'accouplement** et revient à sa ligne de base en **moins de 22 heures**. La concentration basale, l'ordre du **ng.mL<sup>-1</sup>**, est multipliée par 30 au moment du pic.

## E. Suivi échographique

La détection de l'ovulation par suivi échographique repose sur la mesure du follicule pré-ovulatoire jusqu'à sa taille maximale. La taille des follicules pré-ovulatoires et le délai avant l'ovulation sont résumés dans le tableau 7 (2<sup>ème</sup> partie – section III).

Le suivi de la taille du follicule dominant est couplé à la mesure de la taille de l'endomètre : ce dernier atteint une épaisseur maximale au moment de l'œstrus. Chez une femelle rhinocéros blanc cyclée, l'endomètre passe de 2 cm d'épaisseur en phase folliculaire à 3,6 cm au moment de l'œstrus (Hildebrandt et al. 2007).

Chez le **rhinocéros de Sumatra**, l'œstrus comportemental est difficile à détecter chez le rhinocéros, et les appariements erratiques hors période d'œstrus sont susceptibles de causer de graves agressions entre le mâle et la femelle (1<sup>ère</sup> partie – section IV). Les auteurs travaillant sur cette espèce estiment que le suivi échographique du diamètre du follicule dominant est le paramètre le plus fiable pour détecter l'œstrus. Le mâle et la femelle doivent être mis en contact lorsque le follicule dominant mesure entre **19 et 24 mm**. En deçà de ce diamètre, le follicule n'est pas encore assez mûr. Au-delà, il s'agit d'un follicule n'ayant pas ovulé en raison de l'absence d'accouplement, et qui est en cours de lutéinisation (Agil et al. 2006).

## F. Bilan

Les variabilités inter-individuelles et inter-espèces de manifestation de l'œstrus au niveau comportemental et hormonal rendent la détection de l'ovulation par les méthodes non invasives parfois délicate. L'échographie est un outil très précis, mais dont l'utilisation répétée chez certains individus non entraînés est impossible. A ce titre, les différentes méthodes doivent être associées afin d'assurer un suivi le plus précis possible.

Par exemple, pour prévoir le moment de l'ovulation chez le rhinocéros indien, Stoops et al. (2007) se basent sur l'association des paramètres suivants (Figure 35) :

- Les modifications comportementales de l'œstrus
- Un follicule dominant de plus de 10 cm de diamètre
- Une concentration en œstrone urinaire supérieure à la ligne de base depuis plus de 12 jours
- Le pic pré-ovulatoire de progestérone urinaire

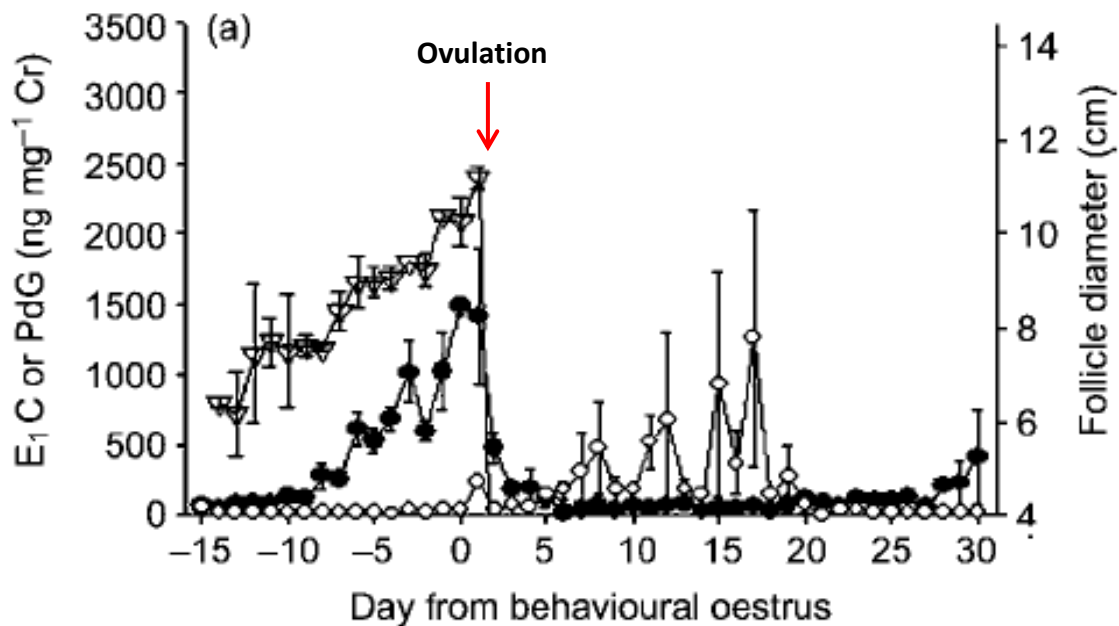


Figure 35. Profil de la croissance du follicule dominant ( $\nabla$ ), de la concentration urinaire en œstrone ou  $E_1C$  ( $\bullet$ ) et en métabolite de la progestérone ou PdG ( $\circ$ ) chez un rhinocéros indien (Stoops et al. 2004)

### III- La maîtrise des cycles

La maîtrise du cycle sexuel repose sur une intervention hormonale agissant sur l'axe hypothalamo-hypophysaire.

Deux types de protocole ont été mis au point chez le rhinocéros : par l'induction de l'ovulation et par l'induction de l'activité ovarienne.

#### 1. L'induction de l'ovulation

Le succès des protocoles d'induction repose sur une synchronisation entre l'administration d'analogue de GnRH ou d'hCG (human Chorionic Gonadotropin) et la présence d'un follicule pré-ovulatoire : la sécrétion de LH ne permet pas de provoquer d'ovulation si le follicule dominant n'est pas encore complètement mature (Stoops et al. 2004).

Un suivi échographique régulier du cycle ovarien permet de contrôler la présence d'un follicule pré-ovulatoire (Hildebrandt et al. 2007).

L'induction de l'ovulation chez le rhinocéros a été tentée avec l'**acétate de desloréline**, un analogue de la GnRH également utilisée pour le contrôle des cycles des mammifères domestiques.

Deux formes galéniques ont été testées chez le rhinocéros :

- L'**implant**, qui est inséré dans le tissu sous-cutané, caudo-ventralement à l'oreille. Son insertion est réalisée au cours de la même anesthésie que pour l'insémination artificielle (Hildebrandt et al. 2007).
- La **suspension huileuse**, injectée par voie intramusculaire.

Les deux formulations agissent en mimant une sécrétion pulsatile de GnRH sur 48 heures. L'hypophyse répond à cette stimulation par un pic de LH responsable du déclenchement de l'ovulation.

D'après une étude menée sur 17 femelles rhinocéros blanc, cyclées ou non, l'implant permet d'obtenir un taux d'ovulation de 93,3 %. Ce taux n'est que de 62,5 % avec la suspension huileuse (Hermes et al. 2012).

L'implant est à ce jour la formulation privilégiée dans les protocoles d'insémination artificielle (Hildebrandt et al. 2007 ; Hermes et al. 2009b).

L'inconvénient de cette formulation chez le rhinocéros est le risque de retard de retour en chaleur lors d'échec de l'insémination. Chez la jument, ce risque est évité par le retrait de l'implant. Cependant, chez le rhinocéros, l'épaisseur du derme est telle que le retrait nécessiterait une nouvelle anesthésie (Hildebrandt et al. 2007).

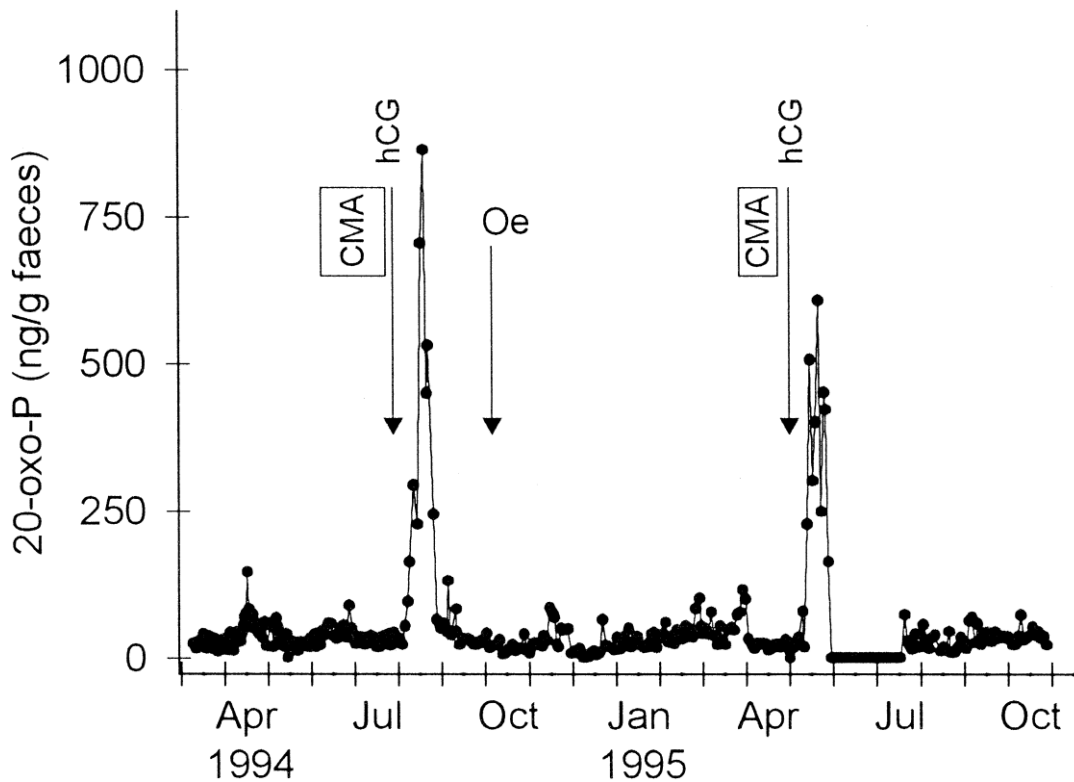
## 2. L'induction du cycle œstral

L'induction du cycle œstral chez le rhinocéros est basée sur les protocoles utilisés chez les animaux de production.

Elle repose sur l'utilisation d'un progestatif de synthèse dont l'effet anti-gonadotrope supprime temporairement la folliculogénèse. L'arrêt du traitement provoque une reprise de la folliculogénèse, suite à laquelle l'ovulation pourra être déclenchée (Hermes et al. 2012).

Plusieurs protocoles à base d'**altrénogest**, progestatif de synthèse utilisé chez la jument, ont été testés sans succès chez le rhinocéros. Les auteurs expliquent ces résultats par un manque d'affinité de l'altrénogest vis-à-vis de ses récepteurs.

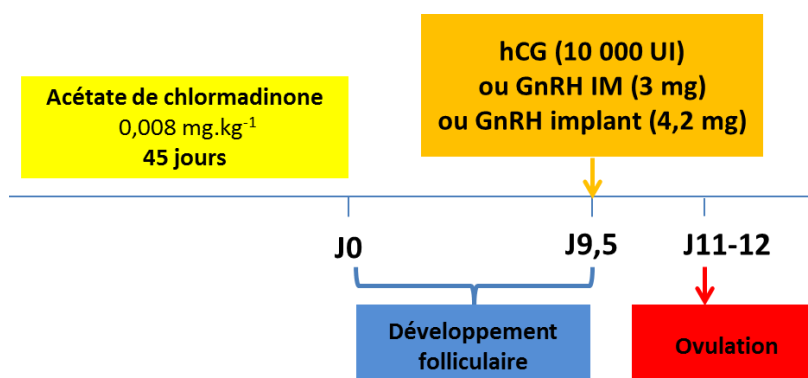
Le premier protocole à avoir permis d'induire une ovulation chez le rhinocéros repose sur un autre progestagène de synthèse, l'**acétate de chlormadinone (CMA)**, couplé au déclenchement de l'ovulation par l'**hCG**. Au cours du protocole, des doses de 35 mg de CMA (soit 0,014 mg/kg) ont été administrées toutes les 36 heures durant 45 jours. L'injection d'hCG est réalisée 5 jours avant la dernière injection de CMA (Figure 36). Cette molécule mime le pic de sécrétion de LH et déclenche l'ovulation, en moyenne **36 heures** plus tard chez la jument (Schwarzenberger et al. 1998).



**Figure 36. Concentration fécale en 20-oxo-pregnane avant, pendant et après un traitement à l'acétate de chlormadinone (CMA) et à l'hCG chez un rhinocéros blanc (Schwarzenberger et al. 1998). Oe : oestrus comportemental.**

Cependant, en étudiant l'efficacité du traitement sur 10 femelles, les auteurs ont constaté que si 80 % des femelles développaient un follicule pré-ovulatoire, le taux d'ovulation n'atteignait que 30 % des femelles traitées (Hermes et al. 2006).

Ces mêmes auteurs ont récemment obtenus de bien meilleurs résultats en remplaçant l'hCG par l'acétate de desloréline (analogue de la GnRH) (Figure 37).



**Figure 37. Protocoles d'induction de l'ovulation chez le rhinocéros blanc (Hermes et al. 2012)**

Les taux d'ovulation obtenus avec l'injection d'hCG ou d'analogue de la GnRH étaient respectivement de 66,7 % et 62,5 %, tandis qu'il atteignait 93,3 %, dont 100 % des femelles cyclées, avec l'implant de GnRH (Hermes et al. 2012).

Malgré ces récents succès, aucun des protocoles n'a pour l'instant permis de relancer un cycle œstral régulier chez les femelles non cyclées. Les auteurs proposent deux explications (Hermes et al. 2007) :

- L'inclusion dans les études de femelles en état de sénescence reproductive prématurée
- La sous-estimation de l'influence du comportement et de la hiérarchie sur l'activité reproductrice des femelles.

## **IV- Technique d'insémination**

### **1. Contention**

Selon le degré de préparation de l'animal, l'insémination peut être pratiquée après une sédation ou peut nécessiter une anesthésie générale. L'animal est alors placé en décubitus latéral et supplémenté en oxygène tout au long de la procédure (Hildebrandt et al. 2007).

L'application de lidocaïne sur les lèvres vaginales permet d'éviter les réactions réflexes lors de la manipulation du clitoris (Hildebrandt et al. 2007 ; Hermes et al. 2009b).

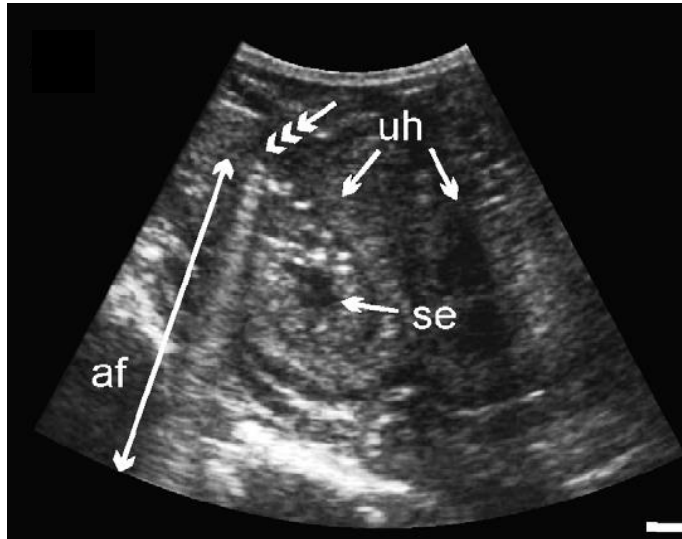
### **2. Déroulement de l'insémination**

La présence de la membrane hyménale et la longueur du col de l'utérus sont les deux obstacles majeurs de l'insémination artificielle chez le rhinocéros : les cathéters utilisés chez la vache et la jument ne sont pas utilisables.

Un cathéter adapté de 115 cm a donc été fabriqué pour s'adapter au mieux à la morphologie de la femelle rhinocéros (Hildebrandt et al. 2007 ; Hermes et al. 2009b).

La manipulation est réalisée de manière stérile tout au long du protocole. La sonde est dans un premier temps guidée à travers le vagin, l'ouverture vaginale de l'hymen ayant été repérée par palpation digitale. Le col de l'utérus est ensuite repéré par palpation transrectale et maintenu fixe pendant le passage du cathéter. L'extrémité de ce dernier est positionnée dans la corne utérine du côté de laquelle a été visualisé le follicule pré-ovulatoire. Le bon positionnement de la sonde est contrôlé par échographie transrectale (Figure 38).





**Figure 38. Vérification du positionnement du cathéter d'insémination par échographie, Hildebrandt et al. 2007.**

Les deux cornes utérines (uh) sont visibles. L'extrémité métallique du cathéter est visualisée en coupe transversale, matérialisée par un cercle hyper-échogène (flèche) associé à un cône d'ombre (af). La semence est visible comme un liquide hypo-échogène dans la lumière utérine.

## V- Perspectives

### A. Le sexage de sperme

Le but de l'utilisation de gamètes sexées lors de protocole d'insémination artificielle est de contrôler le *sex ratio* des naissances. En captivité, la sélection de spermatozoïdes porteurs du chromosome X permettrait d'augmenter le nombre de naissances de femelles pour constituer des groupes de reproductrices, et de limiter le nombre de mâles dominants (Hermes et al. 2007).

La séparation des spermatozoïdes, réalisée par un **cytomètre de flux**, repose sur la différence de contenu en ADN entre le chromosome X et le chromosome Y. Cette différence varie entre 2,3 et 7,5 % selon l'espèce de mammifère étudiée (Garner 2006).

La précision de la mesure repose sur deux éléments :

- Le pourcentage de différence entre l'ADN du chromosome X et du chromosome Y
- La morphologie de la tête du spermatozoïde, qui conditionne son bon alignement dans le cytomètre de flux.

Le **SSI** (« **Sperm Sortability Index** ») combine ces deux paramètres :

$$\text{SSI} = \text{aire de la tête spermatique de profil } (\mu\text{m}^2) \times \text{différence de l'ADN X-Y } (\%)$$

Chez le rhinocéros, deux études préliminaires se sont à ce jour intéressées à la faisabilité du sexage de spermatozoïdes. La différence entre les chromosomes X et Y atteint **3,7 à 3,9 %** selon l'espèce. Malgré un SSI théorique relativement faible par rapport aux espèces domestiques, un échantillon final de spermatozoïdes porteurs du chromosome X d'une pureté de 94 % a pu être obtenu (Behr et al. 2009a).

Le facteur limitant reste aujourd'hui la vitesse de tri, de l'ordre de **700 cellules/secondes**, bien inférieure à celle obtenue chez les espèces domestiques (3 500 à 4 500 cellules/seconde chez l'étalon par exemple) (Behr et al. 2009b).

Les recherches visant à optimiser le sexage des spermatozoïdes concernent actuellement l'addition d'enzymes telles que l' $\alpha$ -amylase ou la collagénase aux éjaculats pour en réduire la viscosité, et le développement d'une méthode de coloration préservant le maximum de spermatozoïdes (Behr et al. 2009b).

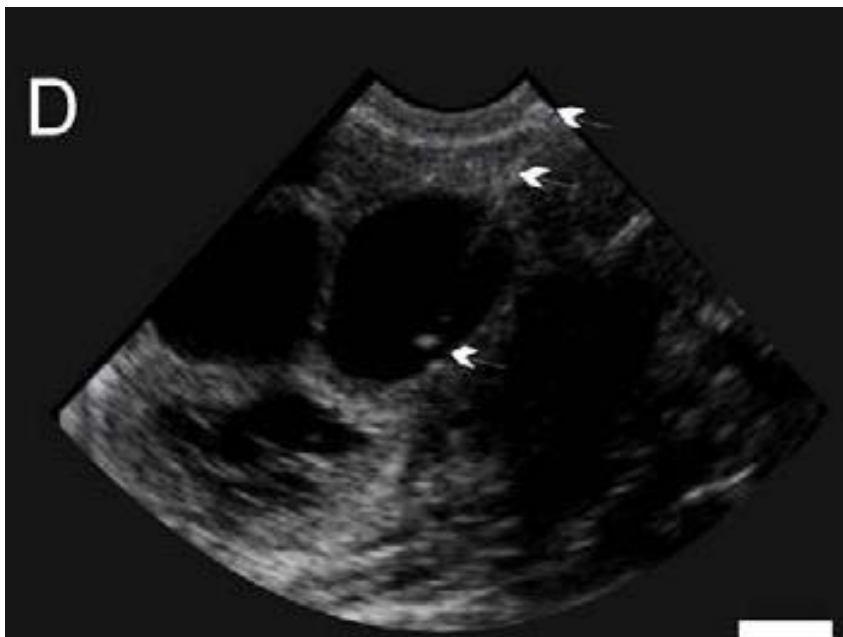
### B. Le « gamete rescue »

Si la récolte et la préservation des gamètes chez le mâle rhinocéros sont de mieux en mieux maîtrisées, la récolte d'ovocytes chez la femelle est encore un défi pour les spécialistes. Avec le clonage somatique, elle représente cependant le seul espoir de préserver le potentiel génétique des femelles infertiles.

Chez les espèces domestiques, deux techniques de prélèvement d'ovules sont actuellement utilisées : par laparoscopie comme chez la brebis ou la truie, et par aspiration transvaginale chez la jument. L'épaisseur du tégument du rhinocéros complique l'approche par laparoscopie, les risques de déhiscence de plaie et de péritonite associée étant élevés. La voie transvaginale a été tentée sans succès en 2006 chez une femelle rhinocéros noir, les ovaires étant trop difficilement accessibles (Portas et al. 2006).

C'est en 2009 que la récolte d'ovocytes a été réalisée pour la première fois avec succès sur des femelles rhinocéros noir et rhinocéros blanc infertiles, par **voie transrectale échoguidée**. La production de follicules a dans un premier temps été stimulée grâce à l'administration d'acétate de desloréline. Les ovocytes ont ensuite été collectés sous anesthésie gazeuse par ponction des follicules à l'aide d'une longue aiguille souple insérée à travers la paroi rectale, et dont le positionnement est contrôlé par échographie (Figure 39).

Le taux d'ovocytes prélevés par cette méthode, de **2 à 9 par femelle** est satisfaisant. Aucune complication post-opératoire n'a été observée après des prélèvements répétés.



**Figure 39. Image échographique du positionnement de l'aiguille d'aspiration à travers la paroi rectale (flèches, haut) jusque dans la lumière folliculaire (flèche, bas) (Hermes et al. 2009)**

### C. La fécondation *in vitro* (FIV)

Les techniques de FIV, si elles sont bien maîtrisées chez l'homme et les bovins, en sont encore à leurs balbutiements chez les espèces sauvages. Aucun protocole n'a pour l'instant été mené à terme chez le rhinocéros.

Des ovocytes immatures de rhinocéros noir prélevés par voie transrectale ont subi avec succès une maturation *in vitro* jusqu'au stade de métaphase II de méiose (Hermes et al. 2009a). L'incubation avec de la semence décongelée a permis d'obtenir un embryon au stade 4 cellules (Figure 40).



**Figure 40. Embryon de rhinocéros noir au stade 4 cellules obtenu par FIV (Hermes et al. 2009a)**

## VI- Diagnostic de gestation

Les deux outils utilisés pour le diagnostic de gestation chez le rhinocéros sont l'échographie et le dosage de la progestérone.

### A. Diagnostic et suivi échographique de la gestation

#### 1. Diagnostic de gestation

Comme chez de nombreuses autres espèces de mammifères domestiques, l'échographie est l'outil diagnostique le plus précoce chez le rhinocéros ; elle permet de confirmer la gestation entre 2 et 4 semaines après la fécondation (Radcliffe et al. 1997 ; Roth et al. 2001, 2004).

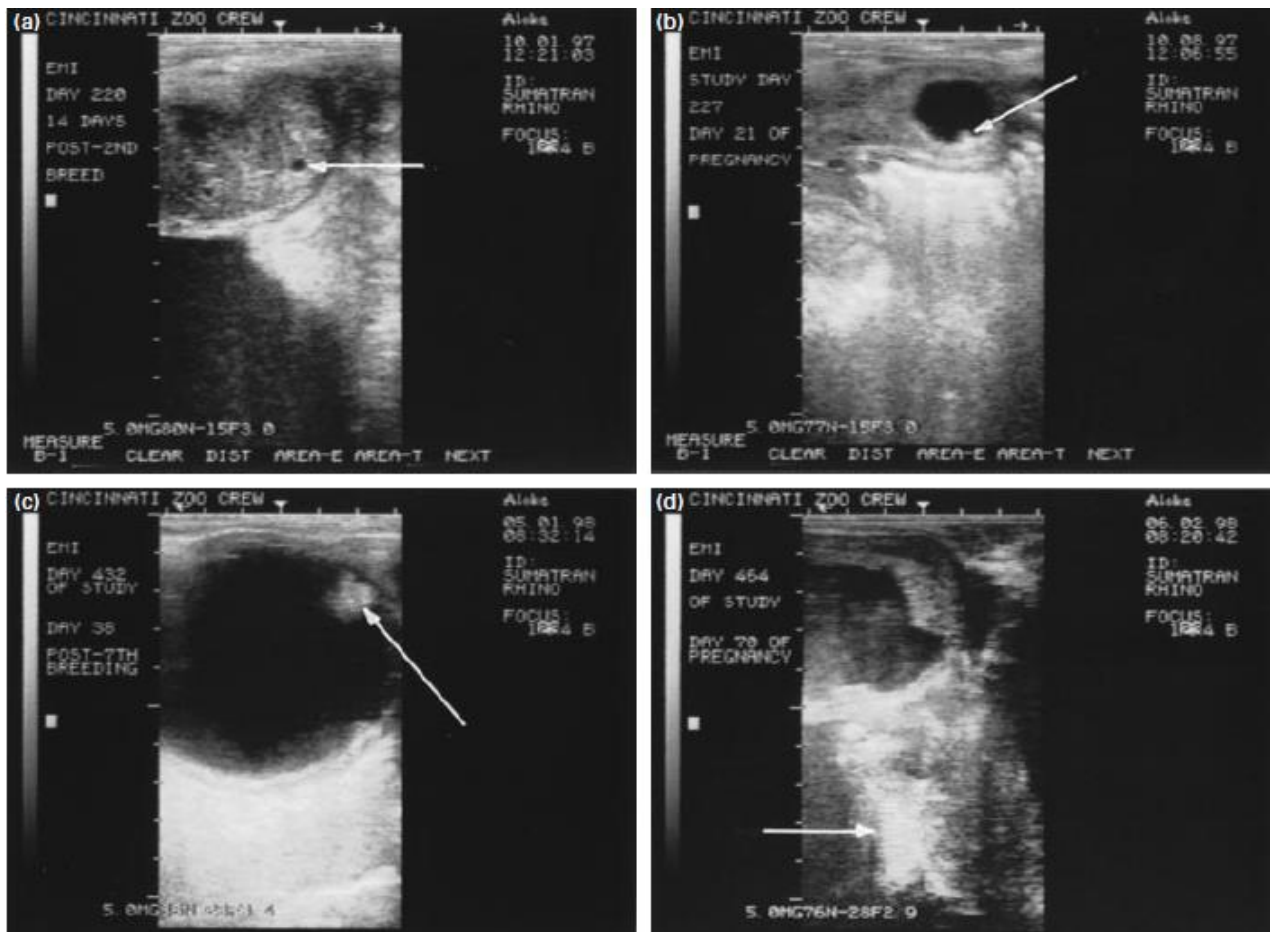
#### 2. Développement embryonnaire et suivi de la gestation

Le suivi régulier de gestations chez les espèces africaines et le rhinocéros de Sumatra a montré que le développement embryonnaire précoce chez le rhinocéros est semblable à celui du cheval (Radcliffe et al. 1997, 2000b ; Roth et al. 2001, 2004).

Les étapes et les images échographiques du développement embryonnaire chez une femelle rhinocéros de Sumatra sont illustrées dans le Tableau 16 et la Figure 41.

**Tableau 16. Chronologie du développement embryonnaire précoce chez une femelle rhinocéros de Sumatra (Roth et al. 2004)**

<b>Vésicule embryonnaire</b>	<b>J 14</b> : 3 à 5 mm <b>J 16</b> : 10 mm, proche du corps de l'utérus
<b>Développement de l'embryon</b>	<b>J 14 à 21</b> : croissance rapide, position ventrale dans la vésicule <b>J 21 à 27</b> : ralentissement de la croissance, fin de la migration, formation de l'embryon, passage en position dorsale dans la vésicule <b>J 28 à 63</b> : reprise de la croissance, passage en position centrale dans la vésicule
<b>Battements cardiaques</b>	<b>J 26</b>
<b>Sexage</b>	<b>J 73</b>



**Figure 41. Images échographiques du développement embryonnaire précoce chez le rhinocéros de Sumatra (Roth et al. 2001).** (a) Jour 14 : vésicule embryonnaire à la jonction entre la corne utérine droite et le corps de l'utérus ; (b) Jour 21 : embryon visible (flèche) à la surface ventrale de la vésicule ; (c) Jour 38 : embryon (flèche) situé dorsalement dans la vésicule ; (d) Jour 70 : fœtus (flèche) suspendu verticalement par le cordon ombilical

Chez le **rhinocéros de Sumatra**, le fœtus bascule dans la filière pelvienne vers **80 jours** de gestation et devient trop crânial pour être accessible par échographie transrectale. Des images peuvent être obtenues par échographie transcutanée en région mammaire jusqu'en milieu de gestation et durant les deux derniers mois (Roth et al. 2004).

Chez le **rhinocéros noir**, le fœtus reste accessible **tout au long de la gestation** par voie transrectale, bien que les auteurs rapportent des difficultés entre le 6<sup>ème</sup> et le 9<sup>ème</sup> mois. Les observations peuvent alors être facilitée par la surélévation des membres antérieurs de la femelle sur une marche (Radcliffe et al. 2000b).

Chez les plus grandes espèces, rhinocéros blanc et rhinocéros indien, l'usage de l'échographie transrectale est limité au premier trimestre de gestation (Hermes et Hildebrandt 2011).

### **3. Sexage du fœtus**

La technique de sexage du fœtus est la même que chez le cheval et permet une évaluation précoce. Elle consiste à évaluer la position relative du tubercule génital par rapport à l'ombilic et à la queue : chez le mâle, il est plus proche du premier.

Les images échographiques permettent le sexage du fœtus dès 2,5 mois de gestation chez le rhinocéros (Radcliffe et al. 2000b ; Roth et al. 2004).

Les glandes mammaires et la vulve du fœtus femelle sont visibles à 3 mois de gestation (Roth et al. 2004).

## **B. Dosages hormonaux**

Contrairement au suivi échographique, le suivi hormonal de la gestation chez le rhinocéros n'est pas extrapolable à partir de celui du cheval.

### **1. Gonadotrophine chorionique équine (eCG)**

Chez la jument, les cellules des cupules endométriales libèrent une glycoprotéine à activité LH, la gonadotrophine chorionique équine. Le dosage de la concentration sérique en eCG permet un diagnostic de gestation entre 40 et 120 jours de gestation.

Des tests ADN et ELISA ont montré que cette hormone n'était pas sécrétée chez la femelle rhinocéros (Roth et al. 2001).

### **2. Les œstrogènes**

Chez la jument, le dosage des œstrogènes, et notamment le sulfate d'œstrone, est utilisé pour le suivi de la gestation et de la santé fœtale.

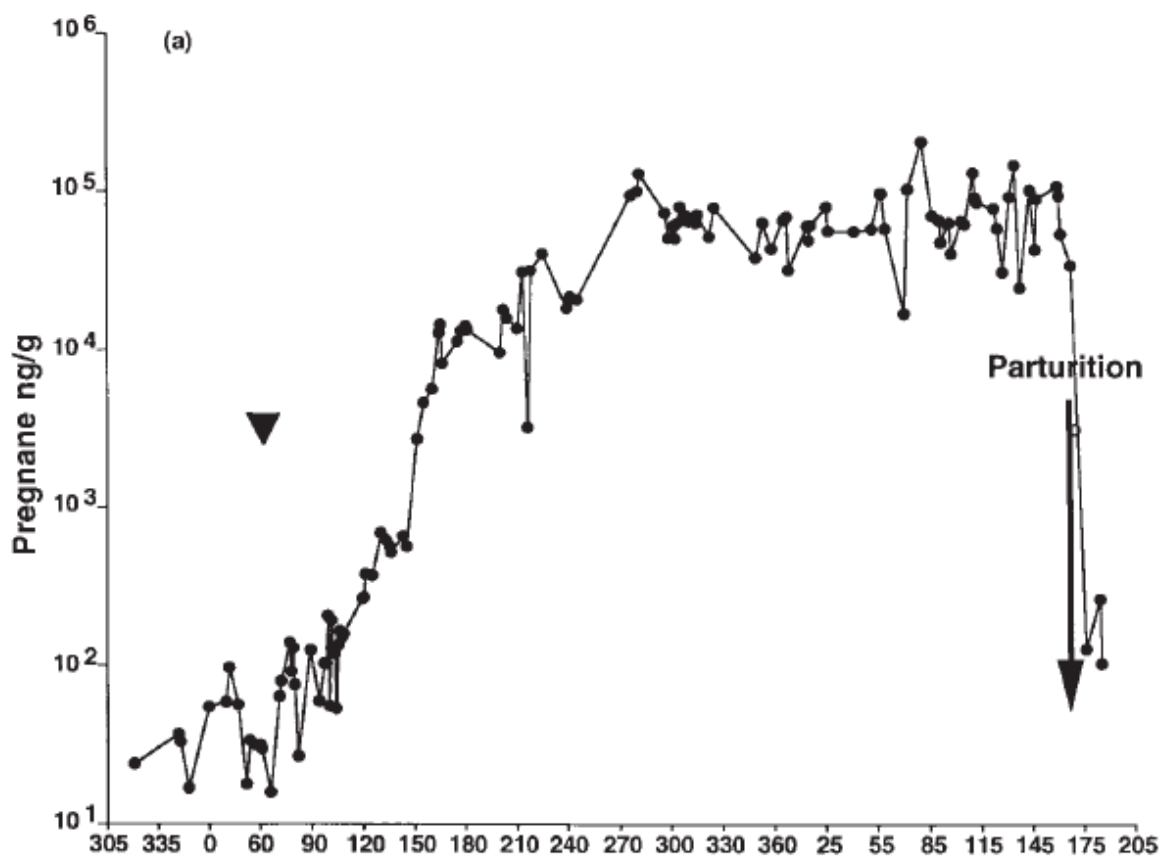
Les dosages d'œstrogènes urinaires et fécaux chez la femelle rhinocéros noir et rhinocéros indien ont montré des concentrations très faibles à indétectables tout au long de la gestation (Ramsay et al. 1987 ; Berkeley et al. 1997). La concentration en œstrone et en œstradiol sériques chez la femelle rhinocéros de Sumatra gestante corroborent ces résultats (Kasman et al. 1986 ; Roth et al. 2004).

Le dosage de cette hormone et de ses métabolites ne semble donc pas pertinent pour le diagnostic et le suivi de la gestation chez le rhinocéros.

### 3. Les progestagènes

De nombreuses publications ont validé le dosage de la progestérone pour le diagnostic de gestation chez le rhinocéros. La Figure 42 montre le profil en progestagène fécal chez une femelle rhinocéros blanc gestante. Le diagnostic se fait entre 3 et 5 mois, lorsque la concentration systémique devient supérieure aux concentrations en phase lutéale (Berkeley et al. 1997 ; Schwarzenberger et al. 2000).

Chez le rhinocéros noir, une étude a montré une élévation significative de la 20- $\alpha$ -dihydroprogestérone (**20- $\alpha$ -DHP**) dès **13 mois avant la mise-bas** (Czekala et Callison 1996).



**Figure 42. Concentration fécale en pregnane au cours de la gestation d'une femelle rhinocéros blanc (échelle log<sub>10</sub>) (Patton et al.1999).**  
Le triangle noir indique le jour de l'accouplement.

## VII- Détection de la mise-bas

### A. Modifications physiques

Chez le rhinocéros de Sumatra, le développement mammaire est très tardif au cours de la gestation. L'augmentation de volume est détectable par palpation deux semaines avant la mise-bas. Les trayons deviennent visibles entre les membres postérieurs une semaine plus tard. Au cours de cette même période la vulve se relâche et devient œdématiée (Roth et al. 2004).

### B. Comportement

Chez le rhinocéros de Sumatra, des modifications comportementales sont constatées 24h avant la mise bas, avec notamment une augmentation nette de la fréquence des mictions, des vocalisations et des déplacements (Roth et al. 2004).

### C. Changements hormonaux

Chez le rhinocéros noir, l'œstradiol salivaire augmente significativement dans le dernier mois de gestation. Ce dosage pourrait être un indicateur de mise-bas imminente chez cette espèce (Czekala et Callison 1996).

Chez le rhinocéros de Sumatra, une élévation significative de la concentration sanguine en relaxine et en prolactine a été mise en évidence deux semaines avant la mise-bas (Figure 43).

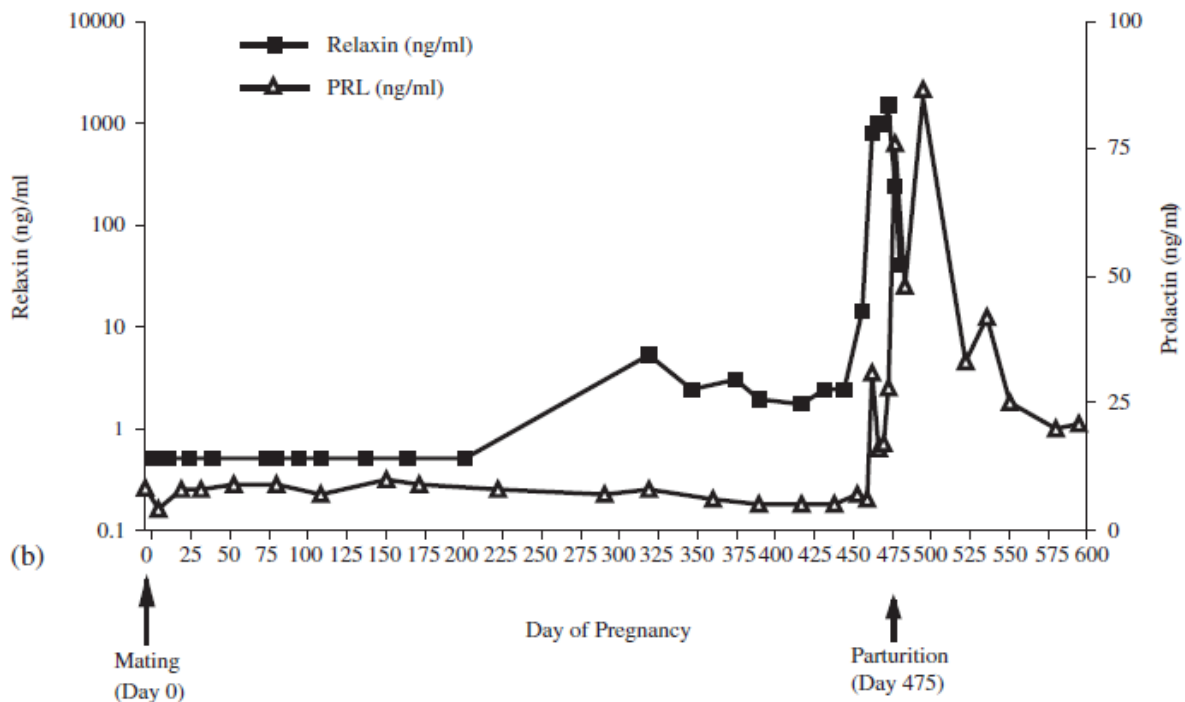


Figure 43. Concentrations sériques en relaxine et prolactine au cours de la gestation et de la mise-bas d'une femelle rhinocéros de Sumatra (Roth et al. 2004)



## CONCLUSION

A l'instar de nombreuses autres espèces animales, les rhinocéros ont vu leurs effectifs ravagés par le braconnage et la destruction de leur habitat. Malgré les récents succès en matière de conservation, notamment en Afrique, la recrudescence du braconnage et la fragilité de certaines sous-populations continuent de faire peser une menace sur l'ensemble des espèces.

Le fonctionnement physiologique et endocrinologique de la reproduction chez les rhinocéros est aujourd'hui de mieux en mieux compris. Bien que membres de la même famille, les quatre espèces de rhinocéros étudiées en captivité présentent des différences de fonctionnement importantes, tant au niveau de la durée de leurs cycles que du mécanisme de leur ovulation. Le cycle œstral du rhinocéros blanc est quant à lui encore l'objet de nombreux questionnements.

Les programmes de reproduction en captivité connaissent de très mauvais résultats, conséquence de la forte prévalence de l'anœstrus au sein des femelles en âge de se reproduire et de dysfonctionnements comportementaux liés à la modification des structures sociales classiquement observées en milieu naturel. Cette inactivité reproductrice prolongée est responsable du vieillissement prématuré du système reproducteur des femelles qui, à terme, deviennent définitivement infertiles.

Dans ce contexte, l'utilisation de la reproduction assistée peut offrir une alternative majeure et permettre d'augmenter significativement le nombre de naissances en captivité. L'anatomie du tractus de la femelle présente plusieurs obstacles exigeant d'adapter les techniques utilisées chez les animaux de production. Les récents succès en termes d'induction du cycle œstral ou de cryoconservation doivent être poursuivis par l'amélioration continue des protocoles. Les banques de gamètes, telles qu'il en existe aux États-Unis, sont présentées comme un outil majeur dans la conservation des espèces menacées. Les actions menées sur le terrain restent cependant primordiales : la préservation de la diversité génétique d'une espèce n'a de sens que si sa finalité est la réintroduction en milieu naturel.

**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

**En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire**

Je soussignée, **Sylvie CHASTANT**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **VALENTIN Sarah** intitulée « **La reproduction assistée chez les rhinocéros**. » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.



Fait à Toulouse, le 18 novembre 2014  
Professeure Sylvie CHASTANT  
Enseignant chercheur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :  
Le Directeur de l'Ecole  
Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Professeur Alain MILON



Vu :  
Le Président du jury :  
Professeur Olivier PARANT



Vu et autorisation de l'impression :  
Le Président de l'Université  
Paul Sabatier  
Professeur Bertrand MONTHUBERT  
Par délégation, la Vice-Présidente du CEVU  
Madame Régine ANDRÉ OBRECHT

**Melle VALENTIN Sarah**  
a été admis(e) sur concours en : 2009  
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 26/09/2013  
a validé son année d'approfondissement le : 23/10/2014  
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

## BIBLIOGRAPHIE

- AGIL, M., CANDRA, D., PURWANTARA, B. et SUPRIATNA, I. (2006) Monitoring follicle size with ultrasound as an important tool to determine a proper time for mating in the Sumatran rhinoceros) in the Sumatran Rhino Sanctuary, Way Kambas National Park, Lampung. *Proceedings of Asian Zoo and Wildlife Medicine 2006*, 26-29 October 2006, Bangkok, Thailand. p 30.
- AGIL, M. (2007) Reproductive biology of the Sumatran rhinoceros, *Dicerorhinus sumatrensis* (Fischer, 1814). Dissertation presented to the Bogor Agricultural University -: pp. 1-100
- AGIL, M., CANDRA, D., HEISTERMANN, M. et HODGES, J.K. (2008) Non-invasive monitoring reproductive status in the sumatran rhinoceros : EIA pregnanolone (5-P-30H) for faecal hormone analysis in the female sumatran rhino. *Proceedings of Asian Zoo and Wildlife Medicine 2008*, 19-22 August 2008, Bogor, Indonesia. pp 79–80.
- AHMAD, A.H. et ZAINUDDIN, J.P.Z.Z. (2013) Preventing the extinction of the Sumatran rhinoceros. *Journal of Indonesian Natural History* **1**, 11–22.
- BEHR, B., RATH, D., HILDEBRANDT, T., GOERITZ, F., BLOTTNER, S., PORTAS, T., BRYANT, B., SIEG, B., KNIERIEM, A., GRAAF, S. de, MAXWELL, W. et HERMES, R. (2009a) Germany/Australia index of sperm sex sortability in elephants and rhinoceros. *Reproduction in Domestic Animals* **44**, 273–277.
- BEHR, B., RATH, D., MUELLER, P., HILDEBRANDT, T.B., GOERITZ, F., BRAUN, B.C., LEAHY, T., DE GRAAF, S.P., MAXWELL, W.M.C. et HERMES, R. (2009b) Feasibility of sex-sorting sperm from the white and the black rhinoceros (*Ceratotherium simum*, *Diceros bicornis*). *Theriogenology* **72**, 353–364.
- BERKELEY, E.V., KIRKPATRICK, J.F., SCHAFFER, N.E., BRYANT, W.M. et THRELFALL, W.R. (1997) Serum and fecal seroid analysis of ovulation, pregnancy, and parturition in the black rhinoceros (*Diceros bicornis*). *Zoo Biology* **16**, 121–132.
- BHATTACHARYA, M., CHAKRABORTY, A., BAISHYA, G. et DEY, S. (1992) Glans penis of the Indian one-horned rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*). *Indian Journal of Animal Science* **62**, 950–951.
- BROOK, S.M., VAN COEVERDEN DE GROOT, P., SCOTT, C., BOAG, P., LONG, B., LEY, R.E., REISCHER, G.H., WILLIAMS, A.C., MAHOOD, S.P., HIEN, T.M., POLET, G., COX, N. et HAI, B.T. (2012) Integrated and novel survey methods for rhinoceros populations confirm the extinction of *Rhinoceros sondaicus annamiticus* from Vietnam. *Biological Conservation* **155**, 59–67.
- BROOK, S.M., DUDLEY, N., MAHOOD, S.P., POLET, G., WILLIAMS, A.C., DUCKWORTH, J.W., VAN NGOC, T. et LONG, B. (2014) Lessons learned from the loss of a flagship : the extinction of the Javan rhinoceros *Rhinoceros sondaicus annamiticus* from Vietnam. *Biological Conservation* **174**, 21–29.
- BROWN, J.L., BELLEM, A.C., FOURAKER, M., WILDT, D.E. et ROTH, T.L. (2001) Comparative analysis of gonadal and adrenal activity in the black and white Rhinoceros in North America by noninvasive endocrine monitoring.pdf. *Zoo Biology* **20**, 463–486.
- CARNEVALE, E.M. et GINTHER, O.J. (1992) Relationships of age to uterine function and reproductive efficiency in mares. *Theriogenology* **37**, 1101–1115.
- CITES (2013) *Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora*, Disponible sur : [www.cites.org](http://www.cites.org) (consulté le 09/04/2014).

- CZEKALA, N.M. et CALLISON, L. (1996) Pregnancy diagnosis in the black rhinoceros by salivary hormone analysis. *Zoo Biology* **15**, 37–44.
- DAVIES MOREL, M.C.G. (1999) Equine artificial insemination. Oxon, UK : CABI. 406p. ISBN 978-0851993157.
- DEAN, C. et FOOSE, T. (2005a) The threat to rhinos' survival : Habitat loss. In Save the rhinos : EAZA Rhino Campaign 2005/6 Info Pack. London : Save the Rhinos. pp 96–98.
- DEAN, C. et FOOSE, T. (2005b) The threat to rhino's survival : Political conflict. In Save the rhinos : EAZA Rhino Campaign 2005/6 Info Pack. London : Save the Rhinos. pp 99–103.
- DENNIS, P. (2004) Epidemiology of black rhinoceros in the United States. Doctor of Philosophy Thesis, Ohio State University, 138p.
- DEPARTMENT ENVIRONMENTAL AFFAIRS, REPUBLIC OF SOUTH AFRICA (2014) Update on rhino poaching statistics (17 January 2014 update) [en ligne]. Disponible sur : [https://www.environment.gov.za/mediarelease/rhinopoaching\\_statistics\\_17jan2014](https://www.environment.gov.za/mediarelease/rhinopoaching_statistics_17jan2014) (consulté le 24/09/14).
- DINERSTEIN, E. (2011) Family Rhinocerotidae (Rhinoceroses). In Handbook of the mammals of the world, vol. 2: Hoofed mammals. New York : Lynx Editions. pp 144–181.
- EDWARDS, J.F. (2008) Pathologic conditions of the stallion reproductive tract. *Animal Reproduction Science* **107**, 197–207.
- EMSLIE, R.H. et BROOKS, M. (1999) African Rhinos. Status survey and conservation action plan. IUCN/SSC African Rhino Specialist Group. Newbury, UK : Gland and Cambridge, IUCN/ SSC African Rhino Specialist Group. 92 p.
- EMSLIE, R.H., AMIN, R. et KOCK, R. (2009) Guidelines for the in situ re-introduction and translocation of african and asian rhinoceros. Gland, Switzerland : IUCN. 115 p. ISBN : 978-2-8317-1135-5.
- EMSLIE, R.H. (2013) African Rhinoceroses – Latest trends in rhino numbers and poaching. *African indaba* **11**, 11–12.
- EMSLIE, R.H., MILLIKEN, T. et TALUKDAR, B. (2013) African and Asian Rhinoceroses – Status, Conservation and Trade CoP 16 Doc 54.2 (Rev. 1) Annex CITES 2. *Report to CITES*, 16th meeting (Bangkok, Thailand, March 2013), 1–33.
- FOOSE, T.J. et WIESE, R.J. (2006) Population management of rhinoceros in captivity. *International Zoo Yearbook* **40**, 174–196.
- GARNER, D.L. (2006) Flow cytometric sexing of mammalian sperm. *Theriogenology* **65**, 943–957.
- GARNIER, J.N., HOLT, W.V. et WATSON, P.F. (2002) Non-invasive assessment of oestrous cycles and evaluation of reproductive seasonality in the female wild black rhinoceros (*Diceros bicornis minor*). *Reproduction* **123**, 877–889.
- GODDARD, J. (1967) Home range, behaviour and recruitment rates of two black rhinoceros populations. *East African Wildlife Journal* **5**, 133–150.
- GODFREY, R.W., POPE, C.E., DRESSER, B.L. et OLSEN, J.H. (1991) Gross anatomy of the reproductive tract of female Black (*Diceros bicornis michaeli*) and White Rhinoceros (*Ceratotherium simum simum*). *Zoo Biology* **10**, 165–175.
- GOMEZ, A., JEWELL, E., WALKER, S.L. et BROWN, J.L. (2004) Use of salivary steroid analyses to assess ovarian cycles in an Indian rhinoceros at the National Zoological Park. *Zoo Biology* **23**, 501–512.

- GOOT, A., DALERUM, F., GANSWINDT, A., MARTIN, G.B., MILLAR, R.P. et PARIS, M.C. (2013) Faecal progestagen profiles in wild southern white rhinoceros (*Ceratotherium simum simum*). *African Zoology* **48**, 143–151.
- GROVES, C.P. et GRUBB, P. (2011) Ungulate taxonomy. John Hopkins University Press.
- GROVES, C.P., FERNANDO, P. et ROBOVSKÝ, J. (2010) The Sixth Rhino: A Taxonomic Re-Assessment of the Critically Endangered Northern White Rhinoceros. *PLoS ONE* **5**, e9703.
- HALTENORTH, T. et DILLER, H. (1985) Mammifères d’Afrique et de Madagascar. Delachaux & Niestle.
- HARIYADI, A.R.S., PRIAMBUDI, A., SETIAWAN, R., DARYAN, D., YAYUS, A. et PURNAMA, H. (2011) Estimating the population structure of Javan rhinos (*Rhinoceros sondaicus*) in Ujung Kulon National Park using the mark-recapture method based on video and camera trap identification. *Pachyderm*, 90–99.
- HEISTERMANN, M., AGIL, M., BÜTHE, A. et HODGES, J.K. (1998) Metabolism and excretion of oestradiol-17 $\beta$  and progesterone in the Sumatran rhinoceros (*Dicerorhinus sumatrensis*). *Animal Reproduction Science* **53**, 157–172.
- HERMES, R., HILDEBRANDT, T.B. et GÖRITZ, F. (2004) Reproductive problems directly attributable to long-term captivity-asymmetric reproductive aging. *Animal Reproduction Science* **82-83**, 49–60.
- HERMES, R., HILDEBRANDT, T.B., BLOTTNER, S., WALZER, C., SILINSKI, S., PATTON, M.L., WIBBELT, G., SCHWARZENBERGER, F. et GÖRITZ, F. (2005) Reproductive soundness of captive southern and northern white rhinoceroses (*Ceratotherium simum simum*, C.s. cottoni): evaluation of male genital tract morphology and semen quality before and after cryopreservation. *Theriogenology* **63**, 219–238.
- HERMES, R., HILDEBRANDT, T.B., WALZER, C., GÖRITZ, F., PATTON, M.L., SILINSKI, S., ANDERSON, M.J., REID, C.E., WIBBELT, G., TOMASOVA, K. et SCHWARZENBERGER, F. (2006) The effect of long non-reproductive periods on the genital health in captive female white rhinoceroses (*Ceratotherium simum simum*, C.s. cottoni). *Theriogenology* **65**, 1492–1515.
- HERMES, R., GÖRITZ, F., STREICH, W.J. et HILDEBRANDT, T.B. (2007) Assisted reproduction in female rhinoceros and elephants - Current status and future perspective. *Reproduction in Domestic Animals*, 33–44.
- HERMES, R., GÖRITZ, F., PORTAS, T.J., BRYANT, B.R., KELLY, J.M., MACLELLAN, L.J., KEELEY, T., SCHWARZENBERGER, F., WALZER, C., SCHNORRENBURG, A., SPINDLER, R.E., SARAGUSTY, J., KAANDORP, S. et HILDEBRANDT, T.B. (2009a) Ovarian superstimulation, transrectal ultrasound-guided oocyte recovery, and IVF in rhinoceros. *Theriogenology* **72**, 959–968.
- HERMES, R., GÖRITZ, F., SARAGUSTY, J., SÓS, E., MOLNAR, V., REID, C.E., SCHWARZENBERGER, F. et HILDEBRANDT, T.B. (2009b) First successful artificial insemination with frozen-thawed semen in rhinoceros. *Theriogenology* **71**, 393–399.
- HERMES, R. et HILDEBRANDT, T.B. (2011) Rhinoceros theriogenology. In *Fowler’s zoo and wild animal medicine : Current therapy*. St Louis, Missouri, United States : Saunders. pp 546–561.
- HERMES, R., HILDEBRANDT, T.B., WALZER, C., GÖRITZ, F., GRAY, C., NIEMULLER, C. et SCHWARZENBERGER, F. (2012) Oestrus induction in white rhinoceros (*Ceratotherium simum*). *Theriogenology* **78**, 1217–1223.

- HERMES, R., GÖRITZ, F., SARAGUSTY, J., STOOPS, M.A. et HILDEBRANDT, T.B. (2014) Reproductive tract tumours: the scourge of woman reproduction ails indian rhinoceroses. *PLoS ONE* **9**, e92595.
- HILDEBRANDT, T.B., GÖRITZ, F. et HERMES, R. (2006) Ultrasonography : an important tool in captive breeding management in elephants and rhinoceroses. *European Journal of Wildlife Research* **52**, 23–27.
- HILDEBRANDT, T.B., HERMES, R., WALZER, C., SÓS, E., MOLNAR, V., MEZÖSI, L., SCHNORRENBERG, A., SILINSKI, S., STREICH, J., SCHWARZENBERGER, F. et GÖRITZ, F. (2007) Artificial insemination in the anoestrous and the postpartum white rhinoceros using GnRH analogue to induce ovulation. *Theriogenology* **67**, 1473–1484.
- HINDLE, J.E., MOSTL, E. et HODGES, J.K. (1992) Measurement of urinary oestrogens and 20 $\alpha$ -dihydroprogesterone during ovarian cycles of black (*Diceros bicornis*) and white (*Ceratotherium simum*) rhinoceroses. *Journal of Reproduction and Fertility* **94**, 237–249.
- HITCHINS, P.M. et ANDERSON, J.L. (1983) Reproduction, population characteristics and management of the black rhinoceros *Diceros bicornis minor* in the Hluhluwe/Comdor/Umfolozzi Game Reserve Complex. *South African Journal of Wildlife Research* **13**, 78–85.
- KASMAN, L.H., RAMSAY, E.C. et LASLEY, B.L. (1986) Urinary steroid evaluations to monitor ovarian function in exotic ungulates: III. Estrone sulfate and pregnanediol-3-Glucoronide excretion in the Indian Rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*). *Zoo Biology* **5**, 355 – 361.
- LAGROT, I., LAGROT, J.-F. et BOUR, P. (2008) Probable extinction of the western black rhino, *Diceros bicornis longipes*: 2006 survey in northern Cameroon. *Pachyderm* **43**, 19–28.
- LAURIE, A. (1982) Behavioural ecology of the greater one-horned rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*). *Journal of Zoology* **196**, 307–341.
- LENT, P.C. et FIKE, B. (2003) Home ranges, movements and spatial relationships in an expanding population of black rhinoceros in the Great Fish River Reserve, South Africa. *South African Journal of Wildlife Research* **33**, 109–118.
- MILLIKEN, T., EMSLIE, R.H. et TALUKDAR, B. (2009) African and Asian rhinoceroses: A report from the IUCN Species Survival Commission (IUCN/SSC) African and Asian Rhino Specialist Groups and TRAFFIC to the CITES Secretariat pursuant to Resolution Conf. 9.14 (Rev. CoP14) and Decision 14.89. *Report to CITES 15th meeting* (Doha, March 2010), CoP 15 Doc.45.1A annex, 1–18.
- MKETENI, F. (2012) Rhino poaching - Government interventions presentation, public hearing on 26 January 2012 [en ligne]. *Disponible sur : [http://db3sqepoi5n3s.cloudfront.net/files/docs/120126dea\\_0.ppt](http://db3sqepoi5n3s.cloudfront.net/files/docs/120126dea_0.ppt) (consulté le 24/09/2014)*.
- MONTALI, R.J., MANN, P.C., JONES, D.M., GRINER, L.A., KUEN, G.R., NARUSHIMA, E. et BUSH, M. (1982) Leiomyomas in the genital tract of large zoo animals. *Verhandlungsbericht des Internationalen Symposiums über die Erkrankungen der Zootiere* **24**, 117–122.
- NOWAK, R.M. (1999) *Perrisodactyla*; Family Rhinocerotidae. In Walker's Mammals of the World. 6th edition. Baltimore, US and London, UK : The Johns Hopkins University Press. pp 1028–1040.

- O'BRIEN, J.K. et ROTH, T.L. (2000) Post-coital sperm recovery and cryopreservation in the Sumatran rhinoceros (*Dicerorhinus sumatrensis*) and application to gamete rescue in the African black rhinoceros (*Diceros bicornis*). *Journal of Reproduction and Fertility* **118**, 263–271.
- OWEN-SMITH, R.N. (1988) Megaherbivores - The influence of very large body size on ecology. New York, US : Cambridge University Press. 369 p. ISBN 978-0-521-23385-9.
- OWEN-SMITH, R.N. (1998) Reproductive behaviour of white rhinoceros in the wild in Umfolozi Game Reserve, South Africa. Zoological Society. pp 28–35.
- PATTON, M.L., RIECHES, R.G. et LANCE, V.A. (1999) Reproductive cycle length and pregnancy in the southern white rhinoceros (*Ceratotherium simum simum*) as determined by fecal pregnane analysis and observations of mating behavior. *Zoo Biology* **18**, 111–127.
- PILGRIM, M. et BIDDLE, R. (2014) EAZA Best Practice Guidelines Black rhinoceros (*Diceros bicornis*).
- PLATZ, C. (1979) Collection and analysis of semen from a black rhinoceros. *Journal of American Veterinary Medical Association* **175**, 1002 – 1004.
- PORTAS, T.J., HERMES, R., BRYANT, B.R., GÖRITZ, F., LADDS, P. et HILDEBRANDT, T.B. (2005) Seminoma in a southern white rhinoceros (*Ceratotherium simum simum*). *The Veterinary Record* **157**, 556–558.
- PORTAS, T.J., HERMES, R., BRYANT, B.R., GÖRITZ, F., THORNE, A.R. et HILDEBRANDT, T.B. (2006) Anesthesia and use of a sling system to facilitate transvaginal laparoscopy in a black rhinoceros (*Diceros bicornis minor*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **37**, 202–205.
- PORTAS, T., HILDEBRANDT, T., BRYANT, B., GÖRITZ, F. et HERMES, R. (2010) Seminoma in a southern black rhinoceros (*Diceros bicornis minor*) : diagnosis, surgical management and effect on fertility. *Australian Veterinary Journal* **88**, 57–60.
- RADCLIFFE, R.W., CZEKALA, N.M. et OSOFSKY, S.A. (1997) Combined serial ultrasonography and fecal progesterin analysis for reproductive evaluation of the female white rhinoceros (*Ceratotherium simum simum*): Preliminary results. *Zoo Biology* **16**, 445–456.
- RADCLIFFE, R.M., HENDRICKSON, D.A., RICHARDSON, G.L., JEFFERY, R.Z. et RADCLIFFE, R.W. (2000a) Standing laparoscopic-guided uterine biopsy in a southern white rhinoceros (*Ceratotherium simum simum*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **31**, 201–207.
- RADCLIFFE, R.W., EYRES, A.I., PATTON, M.L., CZEKALA, N.M. et EMSLIE, R.H. (2000b) Ultrasonographic characterization of ovarian events and fetal gestational parameters in two southern black rhinoceroses (*Diceros bicornis minor*) and correlation to fecal progesterone. *Theriogenology* **55**, 1033–1049.
- RAMSAY, E.C., KASMAN, L.H. et LASLEY, B.L. (1987) Urinary steroid evaluations to monitor ovarian function in exotic ungulates: V. Estrogen and pregnanediol-3-glucuronide excretion in the black rhinoceros (*Diceros bicornis*). *Zoo Biology* **6**, 275–282.
- REID, C.E., HERMES, R., BLOTTNER, S., GOERITZ, F., WIBBELT, G., WALZER, C., BRYANT, B.R., PORTAS, T.J., STREICH, W.J. et HILDEBRANDT, T.B. (2009) Split-sample comparison of directional and liquid nitrogen vapour freezing method on post-thaw semen quality in white rhinoceroses (*Ceratotherium simum simum* and *Ceratotherium simum cottoni*). *Theriogenology* **71**, 275–291.

- RIECHES, R.G. (1998) Concerns with breeding F1 white rhinoceros in zoological institutions. *Proceedings of a workshop on problems associated with the low rate of reproduction among captive-born female southern white rhinoceros (Ceratotherium simum simum)*, San Diego, US : Zoological Society. 4–5.
- ROTH, T.L., O'BRIEN, J.K., MCRAE, M.A., BELLEM, A.C., ROMO, S.J., KROLL, J.L. et BROWN, J.L. (2001) Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian cycle and early pregnancy in the Sumatran rhinoceros, *Dicerorhinus sumatrensis*. *Reproduction* **121**, 139–149.
- ROTH, T.L., BATEMAN, H.L., KROLL, J.L., STEINETZ, B.G. et REINHART, P.R. (2004) Endocrine and ultrasonographic characterization of a successful pregnancy in a Sumatran rhinoceros (*Dicerorhinus sumatrensis*) supplemented with a synthetic progestin. *Zoo Biology* **23**, 219–238.
- ROTH, T.L., STOOPS, M.A., ATKINSON, M.W., BLUMER, E.S., CAMPBELL, M.K., CAMERON, K.N., CITINO, S.B. et MAAS, A.K. (2005) Semen collection in rhinoceroses (*Rhinoceros unicornis*, *Diceros bicornis*, *Ceratotherium simum*) by electroejaculation with a uniquely designed probe. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **36**, 617–627.
- ROTH, T.L. (2006) A review of the reproductive physiology of rhinoceros species in captivity. *International Zoo Yearbook* **40**, 130–143.
- SANGSTER, C., BRYANT, B., CAMPBELL-WARD, M., KING, J.S. et ŠLAPETA, J. (2010) Neosporosis in an aborted southern white rhinoceros (*Ceratotherium simum simum*) fetus. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **41**, 725–728.
- SCHAFFER, N.E. et BEEHLER, B. (1988) Overview of procedures and results of semen collection from ambulatory rhinoceroses. In American Association of Zoological Parks and Aquariums Annual Conference Proceedings 1988. pp 273–279.
- SCHAFFER, N.E. et BEEHLER, B.A. (1990) Preliminary studies on the anatomy and ultrasonic images of the reproductive structure of three species of rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*, *Diceros bicornis*, *Ceratotherium simum*). *Proceedings of the American Association of Zoo Veterinarians 1990*, 215–220.
- SCHAFFER, N.E., BEEHLER, B., JEYENDRAN, R.S. et BALKE, B. (1990) Methods of semen collection in an ambulatory greater one-horned rhinoceros (*rhinoceros unicornis*). *Zoo Biology* **9**, 211–221.
- SCHAFFER, N.E., JEYENDRAN, R.S. et BEEHLER, B. (1993) Reproductive procedure and restraint for rhinoceroses. In *Rhinoceros biology and conservation : Proceedings on an international conference 1993*. San Diego, USA : Zoological Society. pp 153–159.
- SCHAFFER, N.E., ZAINAL ZAHARI, Z., SURI, M.S., JAINUDEEN, M.R. et JEYENDRAN, R.S. (1994) Ultrasonography of the reproductive anatomy in the sumatran rhinoceros (*Dicerorhinus sumatrensis*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **35**, 337–348.
- SCHAFFER, N., BRYANT, W., AGNEW, D., MEEHAN, T. et BEEHLER, B. (1998) Ultrasonographic monitoring of artificially stimulated ejaculation in three rhinoceros species (*Ceratotherium simum*, *Diceros bicornis*, *Rhinoceros unicornus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **4**, 386–393.
- SCHAFFER, N.E., FOLEY, G.L., GILL, S. et EARL POPE, C. (2001) Clinical implications of rhinoceros reproductive tract anatomy and histology. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **32**, 31–46.
- SCHAFTENAAR, W., FERNANDES, T., FRITSCH, G., FREY, R., SZENTIKS, C., WEGNER, R.-D., HILDEBRANDT, T. et HERMES, R. (2011) Dystocia and fetotomy associated with cerebral aplasia in a Greater One-horned Rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*). *Reproduction in Domestic Animals* **46**, 97–101.



- SCHWARZENBERGER, FRANCKE, R. et GÖLTENBOTH, R. (1993) Concentration of faecal immunoreactive progesterone metabolites during the oestrous cycle and pregnancy in the black rhinoceros (*Diceros bicornis michaeli*). *Journal of Reproduction and Fertility* **98**, 285 – 291.
- SCHWARZENBERGER, F., TOMASOVA, K., HOLECKOVA, D., MATERN, B. et MOSTL, E. (1996) Measurement of fecal steroids in the black rhinoceros (*Diceros bicornis*) using group-specific enzyme immunoassays for 20-oxo-pregnanes. *Zoo Biology*, 159–171.
- SCHWARZENBERGER, F., WALZER, C., TOMASOVA, K., VAHALA, J., MEISTER, J., GOODROWE, K.L., ZIMA, J., STRAUSS, G. et LYNCH, M. (1998) Faecal progesterone metabolite analysis for non-invasive monitoring of reproductive function in the white rhinoceros (*Ceratotherium simum*). *Animal Reproduction Science* **53**, 173–190.
- SCHWARZENBERGER, F., RIETSCHEL, W., VAHALA, J., HOLECKOVA, D., THOMAS, P., MALTZAN, J., BAUMGARTNER, K. et SCHAFTENAAR, W. (2000) Fecal progesterone, estrogen, and androgen metabolites for noninvasive monitoring of reproductive function in the female indian rhinoceros, *Rhinoceros unicornis*. *General and Comparative Endocrinology* **119**, 300–307.
- SMITH, K.H. (2006) Past population dynamics and individual information on possible surviving northern white rhinos in Garamba National Park and surrounding reserves. *Pachyderm* **40**, 107–115.
- STOOPS, M.A., PAIRAN, R.D. et ROTH, T.L. (2004) Follicular, endocrine and behavioural dynamics of the Indian rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*) oestrous cycle. *Reproduction* **128**, 843–856.
- STOOPS, M.A., ATKINSON, M.W., BLUMER, E.S., CAMPBELL, M.K. et ROTH, T.L. (2010) Semen cryopreservation in the Indian rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*). *Theriogenology* **73**, 1104–1115.
- SWAISGOOD, R.R., DICKMAN, D.M. et WHITE, A.M. (2006) A captive population in crisis : Testing hypotheses for reproductive failure in captive-born southern white rhinoceros females. *Biological Conservation* **129**, 468–476.
- TALUKDAR, B.K. (2014) Asian Rhino Specialist Group report/Rapport du Groupe des Spécialistes des Rhinocéros d'Asie. *Pachyderm* **54**, 28–35.
- TRIVERS, R.L. et WILLARD, D.E. (1973) Natural selection of parental ability to vary the sex ratio of offspring. *Science* **179**, 90–92.
- VIGNE, L. et MARTIN, E.B. (2013) Increasing rhino awareness in Yemen and a decline in the rhino trade. *Pachyderm* **53**, 51–58.
- WHITTAKER, M.A. et LAULE, G. (1998) The use of positive reinforcement techniques in the medical management of captive animals. pp 383–387.
- WILLIAMS, K.R., DYCHE, W.K., BRINDERS, J., MOLTENO, F., VAN DER LANKEN, M., ARMSTRONG, D.L. et SIMMONS, L.G. (1995) Longevity in vitro and glycerol toxicity of epididymal sperm recovered from a white rhinoceros (*Ceratotherium simum*). *Theriogenology* **43**, 353.
- WILSON, M., HERMES, R., BAINBRIDGE, J. et BASSETT, H. (2010) A case of metastatic uterine adenocarcinoma in a southern white rhinoceros (*Ceratotherium simum simum*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **41**, 111–114.
- YOUNG, E. (1967) Semen extraction by manipulative technique in the black rhinoceros *Diceros bicornis*. *International Zoo Yearbook* **7**, 166 – 167.

- ZAINAL ZAHARI, Z., ROSNINA, Y., WAHID, H. et JAINUDEEN, M.R. (2002) Gross anatomy and ultrasonographic images of the reproductive system of the sumatran rhinoceros (*Dicerorhinus sumatrensis*). *Anatomia, Histologia, Embryologia* **31**, 350–354.
- ZAINAL ZAHARI, Z., ROSNINA, Y., WAHID, H., YAP, K.C. et JAINUDEEN, M.R. (2005) Reproductive behaviour of captive Sumatran rhinoceros (*Dicerorhinus sumatrensis*). *Animal Reproduction Science* **85**, 327–335.
- ZECCHINI, A. (1998) *Le Rhinocéros : Au Nom de la Corne*. Paris : L'Harmattan. 272 p. ISBN 978-2738466778.
- ZSCHOKKE, S., STUDER, P. et BAUR, B. (1998) Past and future breeding of the Indian rhinoceros in captivity. *International Zoo News* **45**, 261–276.

NOM : VALENTIN

PRENOM : Sarah

TITRE: LA REPRODUCTION ASSISTEE CHEZ LES RHINOCEROTIDES

RESUME : Les espèces représentant la famille des rhinocerotidés sont toutes sévèrement menacées par le braconnage et la destruction de leur habitat. Les quatre espèces présentes en captivité, le rhinocéros blanc (*Ceratotherium simum*), le rhinocéros noir (*Diceros bicornis*), le rhinocéros indien (*Rhinoceros unicornis*) et le rhinocéros de Sumatra (*Dicerorhinus sumatrensis*) ont des taux de reproduction inférieurs à celui des individus sauvages. Certaines caractéristiques de la reproduction sont sensiblement différentes d'une espèce à l'autre (ovulation provoquée ou spontanée, durée du cycle, principales affections). La durée de la gestation, qui est la deuxième plus longue parmi les mammifères terrestres, est de 15 à 16 mois. Les techniques de reproduction assistée utilisées chez les rhinocerotidés sont celles communément utilisées chez les animaux de rente. Des cathéters d'insémination ont été spécialement conçus en raison des spécificités anatomiques du tractus génital de la femelle. Les perspectives envisagées en matière de reproduction assistée ont toutes pour but la préservation du potentiel génétique à long terme des espèces de rhinocéros.

MOTS-CLES : Rhinocerotidés, rhinocéros blanc (*Ceratotherium simum*), rhinocéros noir (*Diceros bicornis*), rhinocéros indien (*Rhinoceros unicornis*), rhinocéros de Sumatra (*Dicerorhinus sumatrensis*), espèces menacées, reproduction, échographie, insémination artificielle.

---

ENGLISH TITLE: ASSISTED REPRODUCTION OF THE RHINOCEROTIDAE

ABSTRACT : The species of the family *Rhinocerotidae* are seriously threatened by illegal hunting and habitat loss. The four species kept in captivity, white rhinoceros (*Ceratotherium simum*), black rhinoceros (*Diceros bicornis*), Indian rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*) and Sumatran rhinoceros (*Dicerorhinus sumatrensis*) have very low reproductive rates compared to wild rhinoceroses. Some reproductive features are really different within species (spontaneous or induced ovulation, length of the oestrus cycle, principal affections). The gestation period, the second longest gestation among land mammals, is between 15 and 16 months. The assisted reproduction techniques used for *Rhinocerotidae* are those commonly used for production animals. Catheters were especially designed to suit the reproductive female tract which has anatomic specific features. The main goal of the further perspectives on assisted reproduction is the long-term genetic preservation of the species.

KEYWORDS : Rhinocerotidae, white rhinoceros (*Ceratotherium simum*), black rhinoceros (*Diceros bicornis*), Indian rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*), Sumatran rhinoceros (*Dicerorhinus sumatrensis*), threataened species, reproduction, ultrasonography, artificial insemination.