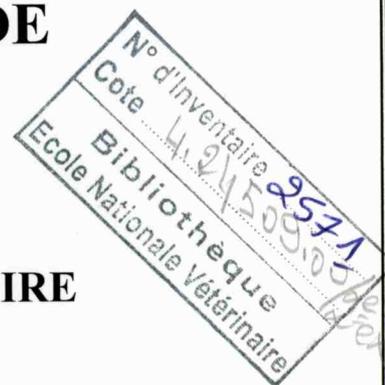


**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche Scientifique*

**ECOLE NATIONALE VETERINAIRE D'EL-HARRACH**

## **MEMOIRE DE FIN D'ETUDE**

*En vue de l'Obtention du Diplôme*  
*De*  
**DOCTEUR EN MEDECINE VETERINAIRE**



**THEME**

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DU TRANSFERT EMBRYONNAIRE**

**CHEZ LA VACHE LAITIERE**

Présenté par : *M<sup>elle</sup> KAIDI Nabila*

**Devant le jury composé de :**

Dr. KHELLAF D.	Chargé de cours ENV Alger	Président
Dr. HAFSI F.	Chargé de cours ENV Alger	Examineur
Dr. TENNAH S.	Chargé de cours ENV Alger	Examineur
Pr. KAIDI R.	Professeur, U. Blida	Promoteur
Dr. SOUAMES S.	Chargé de cours ENV Alger	Co-Promoteur

**ANNEE 2005-2006**

# **SOMMAIRE**

Dédicaces  
Remerciements  
Abréviations  
Résumés (français, anglais & arabe)  
Introduction Générale et Objectif

## **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **Chapitre I : Généralités**

- A. Définition
- B. Historique du transfert embryonnaire
- C. Intérêts et avantages du transfert embryonnaire

### **Chapitre II : Physiologie de la reproduction**

- A. Cycle sexuel de la vache
  - 1. Introduction
  - 2. Relation Hypothalamo-hypophysio-ovario-utérine
  - 3. Hormone de la reproduction
  - 4. Cycle oestral
    - a. Comportement
    - b. Modification des ovaires et de l'utérus
    - c. Ovulation
    - d. Fécondation
    - e. Développement embryonnaire précoce
- B. Folliculogénèse et Régulation hormonale
  - 1. Folliculogénèse
    - a. Follicules primordiaux
    - b. Croissance folliculaire
      - follicule primordial
      - follicule primaire
      - follicule secondaire
      - follicule tertiaire
      - follicule mur ou follicule de De Graaf
  - 2. Régulation hormonale
    - a. Recrutement
    - b. Sélection
    - c. Dominance
  - 3. Stéroïdogénèse folliculaire
  - 4. Atrophie folliculaire

## Chapitre III : Transfert Embryonnaire

### A. choix des animaux

1. Choix des receveuses
  - a. introduction
  - b. tri préalable des receveuses
  - c mise en condition des animaux
2. choix des donneuses

### B synchronisation des chaleurs

1. verification de la cyclicite de la vache
  - a deux examens a 11 jours d interval
  - b echographie des ovaires
  - c dosage de la progesterone
- 2 protocol des synchronisations des chaleurs
  - a PGF2
  - b association GnRH
  - c association oestrogene progesterone eCG

### C superovulation

- 1 Introduction
- 2 definition
- 3 methode de superovulation
  - a. P.M.S.G.
  - b. F.S.H.

### D. Transfert Embryonnaire proprement dit

1. Methode d'I.A. des donneuses super-ovulees
  - a. Moment d'insemination
  - b. Technique d'I.A.
2. Recolte des embryons
3. Mise en place des embryons

# ETUDE EXPERIMENTALE

## I. Introduction.

## II. Matériels et méthodes.

### A. Matériels.

- 1- Animaux.
- 2- Produits utilisés.
- 3- Matériels manuels.

### B. Méthodes

- 1- Préparation des animaux.
  - a. Donneuses.
  - b. Receveuses.
- 2- Protocole proprement dit.
  - a. Synchronisation des chaleurs.
  - b. Traitement de superovulation.
  - c. Insémination artificielle.
  - d. Récolte des embryons.

## III. Résultats

### A. Résultats de la préparation des animaux choisis.

1. Sélection des animaux.
2. Cyclicité des animaux.

### B. Résultats du programme de superovulation.

1. Signes de chaleurs.
2. Evaluation de la réponse ovarienne au traitement de superovulation.
- 3- Résultats de la collecte d'embryons.

### C/ Résultats de la classification d'embryons.

## IV. Discussion

## V. Conclusion

## VI. Recommandation

## *Dédicaces*

### *Je dédie ce modeste travail ;*

*A mes très chers parents qui par leurs doua, leurs encouragements et leur disponibilité m'ont poussé à persévérer et à donner le mieux de moi-même. Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde gratitude.*

*A mes très chers sœurs et frères qui par leurs amour, compréhension et leurs complicité surtout, j'ai réussi à être ce que je suis aujourd'hui.*

*A mon très cher Nasser, qui par son amour, son soutient et sa complicité, j'ai pu surmonter les moments difficiles, et apprécier les moments de joie.*

*A mes très chères belles sœurs au prêt de qui j'ai grandi , aussi par leur simplicité, leur amour et leur faits et gestes aimables j'ai constaté qu'elles sont des sœurs et non des belles sœurs.*

*A mon bout de chou Rachid-Racim ;*

*A mon adorable nièce « yousra » ;*

*A mes quatre diables de neveux « moumous, sami, akrame et habib », qui malgré leur turbulence « plus forte qu'eux » ont pu se calmer et m'apporter le silence désirable et rare de leur parts.*

*A ma troisième génération de neveux « wadie le commissaire de police, Sabrina, Riad mon complice, Chahine mon garde-corps, et anis l'égyptien ».*

*A mon aimable cousine aicha, que j'estime énormément.*

*A tous mes amis, qui m'ont toujours soutenue, de loin et de prés, présents aux moments de joie et de peine.*

# REMERCIEMENTS

## Spéciaux Remerciements

*A Messieurs le Professeur KAIDI Rachid, mon promoteur et Dr SOUAMES Samir mon co-promoteur pour m'avoir guidé durant l'élaboration de ce travail, pour leur persévérance et leur patience quotidienne.*

*A monsieur le docteur Mourad Saleheddine pour son aide généreuse et son soutien malgré la distance qui nous sépare.*

*A monsieur le docteur KHELEF Djamel qui a bien voulu présider le jury .*

*A mes dames les Dr: HAFSI S., et TENNAH de les avoir eu comme enseignantes et comme examinatrices, ceci est un double honneur.*

*Au Docteur MEGHNI PDG DU CNIAAG et à Mr BOUDJAKDJI chef de département de production du CNIAAG « Centre d'insémination artificielle et de l'amélioration génétique » pour leur aide dans cette expérience ainsi que la mise a notre disposition du materiel necessaire a l'experimentation.*

*Aux enseignants du département des sciences vétérinaires de l'université SAAD DAHLEB de Blida : Dr ADEL, Dr FERROUK, Dr GHERBI pour leur aide a la realisation de ce travail.*

*A tous ceux qui ont participé de près ou de loin dans la réalisation de ce projet.*

## Abréviations :

A : Androgènes.

CL, CJ : Corps jaune.

E2 : Oestradiol 17 $\beta$ .

ET, TE: Transfert embryonnaire.

FD : Follicule dominant.

FSH : Follicle stimulating hormone.

GAP: Gonadotropin releasing hormone Associated Peptide.

GnRH : gonadotrophin releasing hormone.

hCG : gonadotrophine chorionique humaine.

IA, AI : Insémination artificielle.

IGF: insulin-like growth factor.

IVF : Fécondation in vitro.

LH : Luteinizing hormone.

LH-RH: Luteinizing Hormone Releasing Hormone.

NF : Non fécondé.

OVLT: Organe vasculaire de la lame terminale.

P4 : Progestérone.

PBS : Phosphate-buffered saline.

PMSG/eCG: Pregnant Mare Serum Gonadotrophin.

FSP: FSH Suppressing Protein.

BE : Bouton embryonnaire.

IM : Intra Musculaire.

IV : Intra Veineuse.

SC : Sous cutané.

IETS : International Embryo Transfer Society.

## Liste des tableaux :

- Tab 01 : Les premiers TE faits avec succès dans divers animaux
- Tab 02 : Principaux développements de la technique du TE chez les BV.
- Tab 03 : rappel des principales caractéristiques et fonctions des hormones impliquées lors d'ovulation chez la vache laitière.
- Tab 04 : Signes de chaleurs
- Tab 06-07-08 : Lots des donneuses et des receveuses.
- Tab 09 : protocole de synchronisation des donneuses.
- Tab 10 : Protocole détaillé du programme de superovulation
- Tab 11 : Taux de gestation des embryons classés dans 4 groupes basé sur la morphologie.
- Tab 12-13-14 : Résultats de la sélection des animaux.
- Tab 15-16-17 : Résultats de la cyclicité des animaux.
- Tab 18-19 : Résultats de la synchronisation des femelles.
- Tab 20-21 : Appréciation de la réponse ovarienne au traitement de superovulation.
- Tab 22-23 : Résultats de la récolte.
- Tab 24 : Résultat global de la classification des embryons récoltés.

## Liste des figures

Fig. 01 : Récapitulatif du contrôle hormonal du cycle ovarien

Fig. 02 : Modification de la concentration hormonale dans le plasma sanguin durant le cycle Oestral BV.

Fig. 03 : Variation des concentrations hormonales et structures ovariennes au cours du cycle oestral chez la vache.

Fig. 04 : Expression de l'oestrus durant la nuit.

Fig. 05 : Vache en chaleurs (se laisse chevaucher).

Fig. 06 : Fécondation.

Fig. 07 : premiers stades du développement embryonnaire.

Fig. 08 : développement de l'ovule fertilisé

Fig. 09 : différentes étapes de la folliculogénèse.

Fig. 10 : Emergence d'une vague folliculaire.

Fig. 11 : Evolution des vagues folliculaires.

Fig. 12 : Réponse ovarienne chez les races améliorées.

Fig. 13 : Réponse ovarienne chez les races locales.

## INTRODUCTION

La reproduction est une fonction de luxe, constituant un facteur limitant des performances du troupeau. Sa maîtrise fait toujours l'objet de nombreux travaux. Le développement de biotechnologies liées à la reproduction chez le bovin, à favoriser la mise au point des technologies d'induction, de synchronisation de l'oestrus, d'insémination artificielle, de transfert embryonnaire, de sexage, fécondation in vitro, clonage et transgenèse.

L'introduction des biotechnologies liées à la reproduction jouent un rôle très important dans le lancement des programmes d'amélioration génétique bovine. Ces types de programme devraient mobiliser plusieurs intervenants (pouvoirs publics, chercheurs, techniciens) dans le cadre du développement des productions en lait et viandes, où deux principales actions complémentaires pourraient être menées :

- l'amélioration du système de conduite de la reproduction
- l'amélioration des potentialités génétique de l'animal

Il est bien admis que les ressources génétiques animales constituent une ressource vitale pour la sécurité alimentaire et le développement économique. Toutefois l'érosion de la diversité génétique a été la plus forte avec l'introduction incontrôlée de race étrangères et les croisements anarchiques opérées avec les races locales. Des solutions pourraient être entreprises par les pouvoirs publics pour consolider les efforts entrepris en matière de développement et d'autosuffisance alimentaire.

Le développement de tout élevage reste tributaire des moyens mis en œuvre permettant un accroissement et optimisation des productions et représente un outil de rentabilisation des spéculations laitières, bouchères ou mixte. L'utilisation des prodigieuses découvertes modernes des biotechnologies est source de potentialités nouvelles qui doivent être appliquées rapidement et efficacement, notamment dans les domaines de la santé animale et des productions animales.

En raison de sa complexité et du coût très élevé, le transfert d'embryon ne saurait remplacer l'insémination artificielle comme technique de production de masse. Il offre cependant la possibilité d'accentuer le processus de sélection animale (Amara M.R. 2003, Bouderbail A. 2004).

La mise en place de programmes sur la transplantation embryonnaire en Algérie pourrait avoir un impact sur les programmes de sélection compte tenu des caractéristiques de cette méthode de reproduction. Le transfert embryonnaire pourra influencer d'une part, sur la pression de sélection, puisque pour le même nombre de produits nécessaires, on aura besoin de moins de géniteurs; et d'autre part sur l'intervalle de génération.

Le transfert d'embryons aurait permis d'entrevoir des moyens plus pratiques pour l'exportation ou l'importation d'espèces désirées, et son principal avantage réside du fait que c'est le moyen le plus sûr du point de vue sanitaire pour lutter contre l'introduction de nouvelles maladies dans un pays souhaitant l'introduction de meilleures lignées génétiques ou de nouvelles espèces animales.

Le transfert embryonnaire permet une accélération notable des opérations de choix des mères des taureaux d'insémination, car leur âge peut passer de 6 ans (situation classique sans transfert) à 2 ans.

Le transfert d'embryons peut être très efficace dans des troupeaux d'élevage fermés spécialisés, source de progrès génétique au niveau national où l'on associe la superovulation au transfert embryonnaire. (schémas génétiques MOET : Multiple Ovulation and Embryo Transfer). Son introduction dans le schémas de sélection classique permet d'apporter un progrès génétique supplémentaire de 20%.

Ces voies de recherche, lorsqu'elles aboutiront, n'auront sans doute pas de conséquences très importantes sur le nombre d'embryons; on peut par contre raisonnablement envisager une forte diminution de la fréquence des animaux qui produisent pas ou trop peu d'embryons.

Ainsi, chaque femelle à haut potentiel génétique, soumise à ce type de reproduction préférentiel est en mesure de produire plus de descendants et dans un laps de temps plus court que par les méthodes normales de reproduction.

L'application de ces biotechnologies animales (transfert embryonnaire, fécondation in-vitro, clonage etc..) pourraient représenter un enjeu économique majeur pour les progrès de la biologie et de la médecine car elles touchent l'homme dans son existence et dans son évolution. Les applications les plus prometteuses dépendent souvent à la fois de nouveaux développements de biotechnologies anciennes et des développements les plus récents qui s'appuient sur des

avancées scientifiques fondamentales qui repoussent continuellement les limites de la connaissance.

### **OBJECTIF**

L'objectif de ce travail est de faire des essais de productions d'embryons et transferts sur des donneuses. Ceci rentre dans un projet de production d'embryons par le CNIAAG, en vue de préparer et de sélectionner des taureaux qui seront testé et indexer pour leur utilisation dans ce centre. Autrement dit, pour l'aboutissement de taureaux issus du progénitest.

## **CHAPITRE I:        GENERALITES**

### **A DEFINITION**

La transplantation d'embryons est une méthode de reproduction qui consiste à faire naître par des vaches porteuses (appelées receveuses) des veaux issus d'une même mère génétique sélectionnée comme donneuse d'embryons, dans le but d'augmenter sa descendance. Chez les bovins, cette technologie est devenue familière à bon nombre d'éleveurs, qui l'utilisent désormais. Environ 30 000 transplantations d'embryons sont maintenant réalisées chaque année en France. Si l'on considère qu'il y a seulement une vingtaine d'années les veaux nés de transplantation embryonnaire se comptaient encore sur les doigts de la main, on peut mesurer le chemin parcouru au cours des deux dernières décennies grâce aux travaux de l'INRA (Chupin 1985 et 1988).

Néanmoins en Algérie, cette biotechnologie n'est pas encore utilisée. C'est pourquoi dans notre étude nous nous sommes intéressés de près à cela.

### **B HISTORIQUE :**

La première transplantation embryonnaire remonte à 1891. Cette année-là le biologiste anglais « Heap » a obtenu des lapereaux angora après transplantation sur une lapine de race belge. (Soltner D., 1993)

Puis entre 1928 et 1930, il y a eu la découverte des hormones gonadotropes et plus spécialement de l'équine chorionique gonadotrophine (eCG) qui a ouvert la voie à la super-ovulation qui sera réalisée par Pincus chez la lapine .

\* Les études sur la transplantation ont été poursuivies sur différentes espèces par différents chercheurs, exemple la transplantation chez la chèvre par Warwick et al en 1932, et un an après sur une rate par Nicholas.

\* Warwick et al ont poursuivi leurs recherches sur des brebis en 1933 pour la première fois sur cette espèce ovine.

\* La première transplantation embryonnaire chez les bovins a été réalisée par Umbaugh en 1949, l'opération est techniquement réussie, mais la receveuse avortera.

\* la mise au point des techniques de synchronisation des chaleurs, en utilisant les progestagènes permettra à Willet et son équipe d'obtenir la premier veau issu de transplantation embryonnaire en 1951.

\*les recherches ultérieures permettront d'ajouter à la technique de mise en place des embryons, par voie chirurgicale, celle de la mise en place par voie cervicale, cette dernière sera réalisée pour la première fois par Mutter en 1964.

**Tableau 1) les premiers transferts embryonnaires faits avec succès dans divers animaux :**

<b>Année</b>	<b>Espèce</b>	<b>Chercheurs</b>
1891	Lapine	Heape
1932	Chèvre	Warwick et al.
1933	Rate	Nicholas
1933	Brebis	Warwick et al.
1942	Souris	Fekete & Little
1951	Truie	Kvansnickii
1951	Vache	Willet et al.
1964	Hamster	Blaha
1968	Furet	Chang
1974	Jument	Oguri & Tsutumi
1975	Vison	Adams
1976	Singe	Kraemer et al.
1978	Chatte	Schrifer et al.
1979	Chien	Kinney et al.

Chez les humains le transfert embryonnaire a été réussi pour la première fois en 1978 (Steptoe & Edward)

**Tableau 2) Principaux développements de la technique du transfert embryonnaire chez les bovins**

Année	Chercheurs	Premier succès chez les bovins
1951	Willet et al.	Méthode Chirurgicale
1964	Sugie	Méthode non-chirurgicale (par pontage)
1964	Mutter et al.	Méthode non-chirurgicale (par col de l'utérus)
1973	Wilmut & Rowson	Congélation d'embryons (DMSO)
1976	Hare, Mitchell	Sexage des embryons (Caryotype)
1979	Bilton & Moore	Congélation d'embryons (Glycerol)
1981	Willadsen et al.	Jumeaux identiques (par splitting)
1982	Renard et al.	Méthode «one step straw » (paillette à une étape)
1982	Brakett et al.	Fertilisation in vitro
1983	Lehn-Jensen et al.	Congélation d'embryon après bissection
1985	Hanada	Fertilisation in vitro à partir d'ovaires d'abattoirs
1987	Massip et al.	Vitrification
1987	Prather et al.	Transplantation nucléaire

### **C Intérêts et avantages du transfert embryonnaire :**

Selon Parez M. et Duplan J.M. 1987 :

- le premier avantage du transfert embryonnaire est la possibilité de la manipulation génétique : il devient possible de multiplier par 3 , ou par 5, ou par 10 , ou même d'avantage la descendance de femelle de très haute valeur génétique , inséminées par les meilleurs taureaux, sachant que la femelle porteuse dite receveuse , ou mère physique , ne transmet à son produit aucun élément héréditaire , le patrimoine génétique ayant été fourni par la donneuse , ou maître génétique . Cette manipulation de la descendance en un temps réduit offre la possibilité d'une meilleure et plus rapide indexation des femelles, voir une réduction de l'intervalle entre générations.
- C'est aussi une possibilité de production volontaire de jumeaux.
- Aussi la possibilité de reproduction avec introduction de gènes extérieurs, à l'élevage dans une population SPF (Spécifique. Pathogènes .Free).
- Aussi un moyen de commercialisation, ou et de transport du matériel génétique dans des conditions économiques et sanitaires plus facile, et moins onéreuses que pour les animaux vivants.

- Il permet aussi la conservation des races en péril dans des banques d'embryons.

Enfin, le transfert embryonnaire permet de conserver la descendance de femelles à haut potentiel génétique, mais que l'on ne peut conserver pour raison sanitaire (ex : brucellose)

## **CHAPITRE II : PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION**

### **A. Cycle sexuel de la vache :**

#### **1 Introduction**

Chez tous les mammifères, l'appareil génital femelle présente au cours et pendant toute la période d'activité génitale, des modifications morphologiques et physiologiques se produisant toujours dans le même ordre et revenant à intervalles périodiques, suivant un rythme bien défini pour chaque espèce.

Ces modifications, connues sous le nom de cycle sexuel ou cycle oestral, commencent au moment de la puberté, se poursuivent tout au long de la vie génitale et ne sont interrompues que par la gestation. Elles dépendent de l'activité fonctionnelle cyclique de l'ovaire régulée par ses propres sécrétions hormonales, elles-mêmes sous dépendance étroite des hormones gonadotropes hypothalamo-hypophysaires. (Deriveaux J. et Ectors F. 1986)

#### **2 Relation hypothalamo-hypophyso-ovario-utérine :**

La fonction gonadotrope est tout un complexe dont la régulation s'établit à plusieurs niveaux par un équilibre neuroendocrinien dans lequel les hormones hypophysaires interagissent les unes avec les autres sous le contrôle de l'hypothalamus.

La mise en évidence du rôle de l'hypothalamus dans le contrôle de la fonction hypophyso-gonadique date de bien avant l'isolement de l'hormone qui sert à ce contrôle. C'est en 1971 que fut purifiée l'hormone hypothalamique capable de libérer la sécrétion des hormones hypophysaires. C'est la GnRH ou Gonadotrope Releasing Hormon ou Gonadolibérine.

La GnRH est un décapeptide (10 acides aminés) qui a été isolé, synthétisé et dont on a préparé des analogues (structure chimique différente mais action comparable) et même des antagonistes (inhibiteurs).

Cette hormone est synthétisée et libérée par les neurones de l'hypothalamus. La GnRH se lie alors aux récepteurs spécifiques situés sur les cellules gonadotropes de l'antéhypophyse, ce qui provoque la synthèse et la libération des gonadotrophines, l'hormone follicule stimulante (FSH) et l'hormone lutéinisante (LH).

Les principaux facteurs internes qui régulent la sécrétion de GnRH sont les hormones stéroïdes ovariennes, la progestérone et l'oestradiol.

L'ovaire règle à la fois sa propre production gonadotrope et/ou hormonale et la production ou le fonctionnement du tractus génital à la fois en direct et via l'axe hypothalamo-hypophysaire

L'ensemble de ces mécanismes est conditionné par un équilibre neuro endocrinien dans lequel interviennent les hormones hypothalamo-hypophysaires, les stéroïdes ovariens et les prostaglandines.

La physiologie du cycle sexuel est complexe et fait intervenir le niveau central (hypothalamus et hypophyse) et l'appareil génital (ovaires et utérus). L'ovaire règle à la fois sa propre production gonadotrope et/ou hormonale et la production ou le fonctionnement du tractus génital à la fois en direct et via l'axe hypothalamo-hypophysaire (fig 1 et 2)

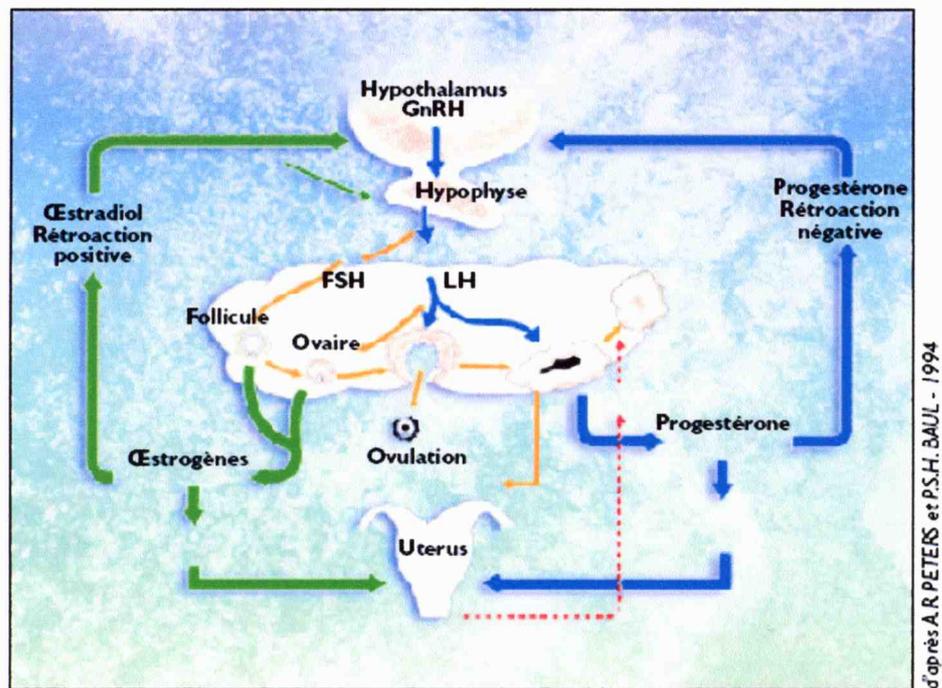


Fig. 1 Recapitulatif du control hormonal du cycle ovarien Peters A.R. & Ball P.S.H., 1994

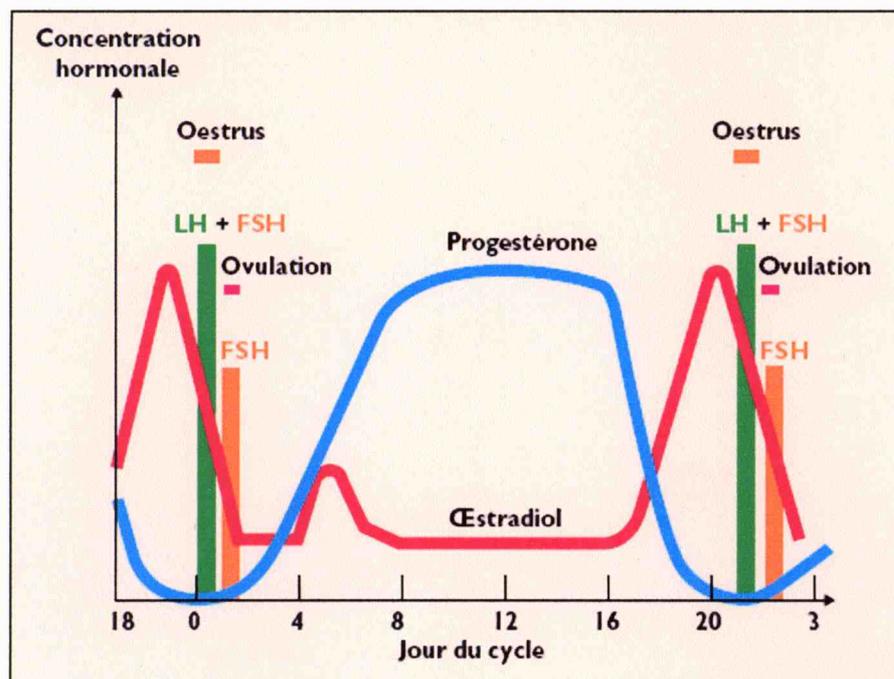


Fig. 2 Modifications de la concentration hormonale dans le plasma sanguin durant le cycle oestral bovin Peters A.R. & Ball P.S.H., 1994

La progestérone agit sur les neurones de la GnRH pour diminuer la sécrétion de GnRH en abaissant la fréquence des décharges de GnRH, tandis que les effets de l'oestradiol sur la femelle dépendent de la dose administrée et de la présence ou de l'absence de concentrations de progestérone durant la phase lutéinique. Lors de la phase lutéinique où les concentrations de progestérone sont élevées, l'oestradiol agit en synergie avec la progestérone pour diminuer la sécrétion de GnRH par l'hypothalamus, c'est-à-dire qu'il y a une rétroaction négative sur la GnRH. Lors de la phase folliculaire, en l'absence de progestérone et en présence de fortes concentrations de GnRH, l'oestradiol sécrété par le follicule pré-ovulatoire a une rétroaction positive sur la GnRH, ce qui provoque la prolongation d'une sécrétion élevée responsable des pics pré-ovulatoires de LH et de FSH.

L'action de la GnRH sur l'antéhypophyse peut également être influencée par des hormones spécifiques produites par le follicule. La plus intéressante de toutes est l'inhibine. Cette hormone supprime sélectivement la libération de FSH par l'antéhypophyse sans affecter la sécrétion de LH. L'activine quant à elle, stimule aussi la synthèse de FSH alors, l'équilibre entre ces deux facteurs peut déterminer le niveau de sécrétion de FSH. Les structures de sécrétion des deux hormones sont extrêmement différentes; cependant ces deux hormones sont produites dans la même cellule sous le contrôle d'une seule hormone libératrice.

L'hypophyse est composée de 3 lobes, appelés antérieur, intermédiaire et postérieur. L'ensemble des lobes antérieur et intermédiaire constitue l'adénohypophyse.

Selon Thibault et al. (2001), la libération différentielle de LH et de FSH par la même cellule gonadotrope requiert des mécanismes de contrôle intracellulaires différents à l'intérieur de la cellule. Les gonadotrophines synthétisées sont stockées dans des granules sécrétoires à l'intérieur du cytoplasme, et sont sécrétées par action différentielle, par exocytose. Il apparaît que le stockage de LH se prolonge durant le cycle œstral, mais le stockage de FSH est bas et de courte durée. Par contre, jusqu'à 70% de la LH totale est libérée durant la montée préovulatoire. Il est à présent évident que la LH est étroitement régulée par la GnRH, mais que la FSH n'est pas seulement affectée par la GnRH, mais aussi par un contrôle local via les interactions de l'inhibine et de l'activine.

La LH a une action prépondérante dans l'ovulation par activation des stimuli enzymatiques qui attaquent la paroi du follicule (AMP cyclique et prostaglandines intra-folliculaire).

L'action de FSH au niveau de l'ovulation est moins bien précisée.

La LH joue un rôle primordial dans la formation et le maintien du corps jaune.

C'est l'hormone lutéotrope, qu'un récepteur de la membrane des cellules du corps jaune est capable de fixer. Son action passe également par l'AMP cyclique comme message.

La LH est sécrétée de façon pulsatile. La fréquence des décharges de LH est régulée par la sécrétion de progestérone durant la phase lutéinique, le déficit énergétique de la vache en post-partum, et par le stimulus de l'allaitement du veau.

Chez la vache en post-partum, les trois facteurs qui diminuent la fréquence des décharges de LH et empêchent par conséquent l'ovulation sont les suivants :

- Mauvais état corporel de l'animal et nutrition (perte supérieure à 10% du poids corporel après le vêlage).
- Allaitement de 4 – 6 semaines après le vêlage,
- Progestérone durant la phase lutéinique du cycle.

La FSH a été longtemps considérée essentiellement comme l'hormone du développement du follicule. Mais il est bien montré maintenant que, chez la femelle, FSH agit tant sur la maturation folliculaire que sur la sécrétion oestrogénique conjointement avec LH. C'est la FSH

qui intervient sur la formation de l'antrum (ainsi que la PMSG) qui accroît la multiplication cellulaire

La sécrétion de FSH se produit par pics, mais d'une façon moins marquée, et est régulée par la sécrétion d'œstradiol et d'inhibine par les follicules. L'importance relative de l'œstradiol et de l'inhibine dans la régulation de la FSH n'est pas encore évidente mais on a actuellement tendance à penser que l'œstradiol est un régulateur dynamique de la FSH, tandis que l'inhibine pourrait jouer un rôle plus chronique. Le rôle de la FSH est de stimuler la croissance folliculaire pour atteindre le stade de follicule dominant. Alors, on déduit que la GnRH joue manifestement un rôle pivot dans l'initiation, la régulation et la suppression de la fonction reproductrice.

Pendant la phase folliculaire, les oestrogènes (œstradiol et œstrone) élaborés par la glande thécale et les cellules interstitielles avec comme précurseurs des androgènes, sont sécrétés à un niveau basal qui s'élèvera à un pic atteignant 10 fois le taux basal à partir du troisième jour avant l'ovulation. Cette élévation induit la phase de préparation à l'accouplement.

Les oestrogènes agissent sur les cellules et les glandes de l'endomètre modifient la contractibilité du myomètre, modifient la composition du liquide tubaire et stimulent les contractions de l'oviducte. Ils agissent sur les sécrétions cervicales.

Pendant la phase lutéale le corps jaune sécrète la progestérone l'évolution du taux dans le sang périphérique, peut être suivie par dosage radio-immunologique traduisant une élévation progressive à partir du 5<sup>ème</sup> jour avec progression jusqu'au 17<sup>ème</sup> jour puis un effondrement pour rejoindre le niveau basal le jour de l'oestus. Cet effondrement traduit la lutéolyse

La progestérone tient sous sa dépendance les fonctions de l'utérus : changement de taille des glandes tubulaires, sécrétion de glycogène par les cellules épithéliales,

Modification de la turgescence utérine, régulation des activités enzymatiques myométriales.

Depuis les années 1970 on sait qu'un quatrième étage « hormone sécrétoire » joue un rôle dans la cyclicité oestrale. C est l'élément qui provoque la lutéolyse. Cette lutéolyse se produit sans modifications notables de la sécrétion des facteurs hypophysaires gonadotropes qui au contraire ne se libèreront en pics que lorsque la lutéolyse sera bien amorcée.

L'agent responsable de la disparition du corps jaune est d'origine utérine : c'est la prostaglandine PgF<sub>2</sub>α, les oestrogènes sont également impliqués dans le processus, leur niveau élevé favoriserait la libération de PGF<sub>2</sub>α, et l'évolution de leur récepteur spécifique au niveau de la cellule lutéale suit l'évolution du corps jaune (Thibault et al. 2001).

### **3) Hormones de la reproduction :**

Le déroulement harmonieux de la sexualité de la femelle repose sur l'intégrité anatomique et histologique des structures ovariennes, hypothalamique, hypophysaire, et utérines impliquées, ainsi que sur le subtil dosage des différentes hormones, facteurs protéiques, et biochimiques intervenants dans les régulations (Brassard P. et al. 1997). Le tableau 3 resume les principales caractéristiques et fonction des hormones impliquées lors du cycle oestral chez la vache laitière d'après Brassard. P et coll (Brassard P. et al. 1997).

La fig. 3 represente quant a elle, les variations des concentrations hormonales et structures ovariennes au cours du cycle oestral chez vache d'après O'Connor.M. (1993).

**Tableau 3 : Rappel des principales caractéristiques et fonction des hormones impliquées lors de l'ovulation chez la vache laitière d'après Brassard. P et al. (1997).**

Hormone	Description
FSH.	<p>Sécrétée par l'hypophyse</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Il y a un pic avant l'ovulation</li> <li>-Essentielle à la survie et à la croissance du follicule</li> <li>-Permet la conversion des androgènes en oestrogènes</li> </ul>
GnRH.	<p>Sécrétée de façon pulsatile par l'hypothalamus</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Induit la sécrétion de l'FSH par l'hypophyse</li> </ul>
LH	<p>Sécrétée de façon pulsatile par l'hypophyse</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Il y a un pic LH avant l'ovulation</li> <li>- Luténise les cellules du follicule</li> <li>- Stimule le follicule à produire la Prénénolone, progestérone, Androgènes.</li> </ul>
Oestrogènes	<p>Sécrétée par le follicule dominant</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Stimule la lutéolyse en augmentent le nombre de récepteur d'ocytocine</li> <li>- Stimule la sécrétion de la : GnRH par l'hypothalamus</li> <li>- Stimule la sécrétion de la L.H. par l'hypophyse</li> <li>- Augmente la sensibilité du follicule à la FSH</li> <li>- augmente réponse à LH</li> </ul>
Ocytocine	<p>Sécrétée par le corps jaune</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Induit la sécrétion de prostaglandine par les cellules de l'endomètre.</li> <li>- Déclanche la lutéolyse.</li> </ul>
Progestérone	<p>Sécrétée par le corps jaune</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- inhibe la libération de L.H. par l'hypophyse.</li> </ul>
Prostaglandine	<p>Sécrétée par les cellules de l'utérus - lyse le corps jaune</p>

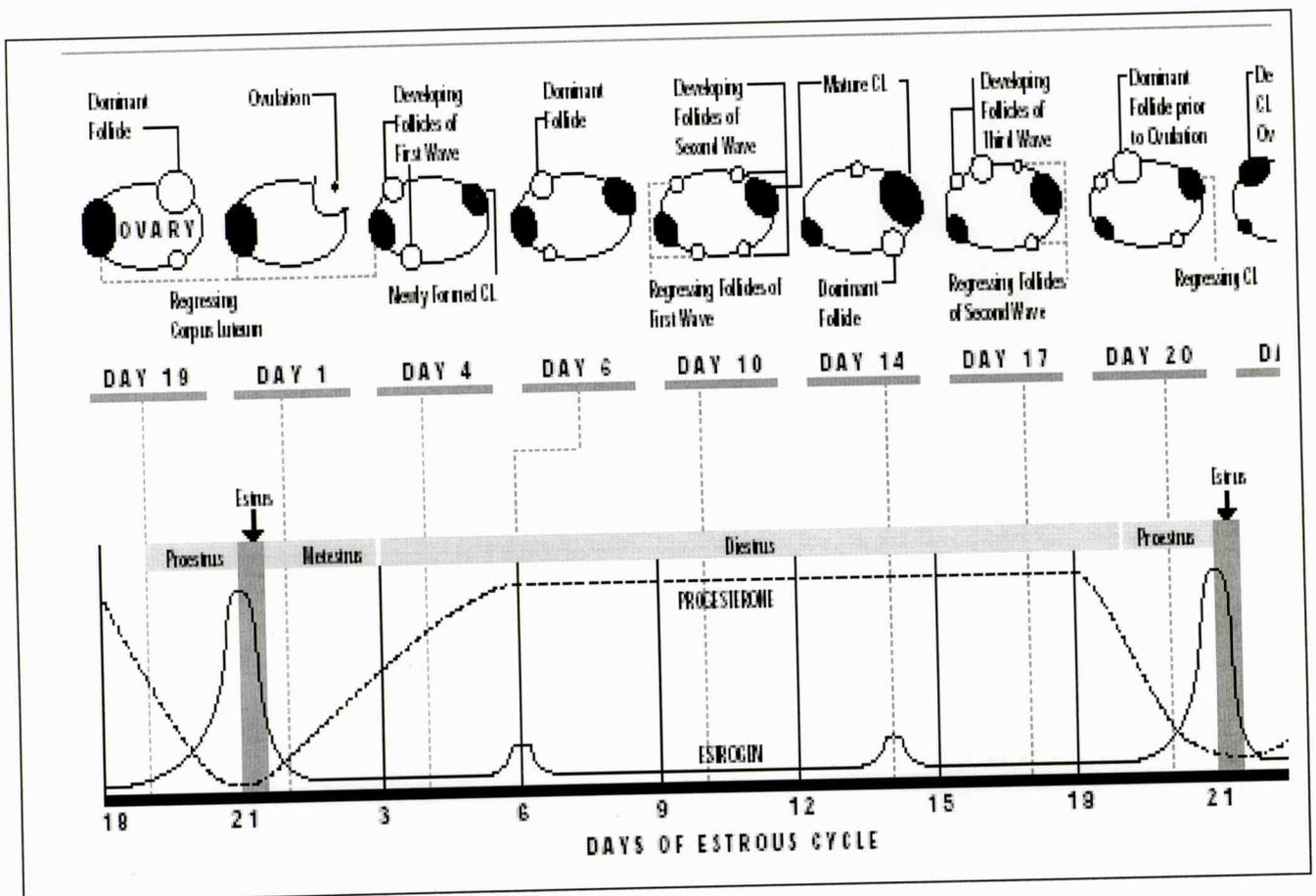


Fig. 3 : Variation des concentrations hormonales et structures ovariennes au cours du cycle oestral chez la vache d'après O'Connor.M (1993).

#### 4 Cycle Oestral :

Alors que la spermatogenèse du male est permanente, le fonctionnement sexuel de la vache est cyclique (Soltner. D, 1993) c'est une espèce polyoestrienne à ovulation spontanée avec une durée moyenne du cycle de 21/22 jours chez la vache multipare et de 20 jours chez la génisse. L'activité sexuelle débute à la puberté, quand l'animal atteint 40 à 45 % de son poids adulte, puis elle est marquée par cette activité cyclique, caractérisé uniquement par un comportement particulier celui d'oestrus ou de chaleurs d'une durée assez courte ; de 14 à 15 heures (24 heures tout au plus) et l'ovulation survient après la fin des chaleurs ( 10 à 15 heures ) .

Les mauvaises conditions d'entretien, d'environnement et de nutrition peuvent interférer sur le déroulement du cycle et entraînent soit son irrégularité, soit sa suppression.

L'oestrus est la manifestation visible dans le cycle sexuel. C'est la période durant laquelle la femelle montre son comportement sexuel, traduction comportementale des modifications

internes organiques qui la rendent apte à accepter la saillie ou l'IA et une éventuelle fécondation. (Parez. M., Duplan. J.M.1987)

L'ovulation se situe en générale 30 heures (29 à 31 heures) après décharge ovulante de l'hormone hypophysaire LH soit 10 à 12 heures après la fin de l'oestrus, plus fréquemment sur l'ovaire droit que sur le gauche. L'ovaire demeure fécondable 8 à 12 heures après l'ovulation, le spermatozoïde restant fécondant 24 à 48 heures dans les voies génitales.

La période métoestrale correspond à l'installation du corps-jaune ; et va du jour 1 au jour 6 du cycle ; elle est suivie du di-oestrus dont la durée réglée par l'activité lutéale est de 10 à 11 jours (6ième au 17ième jour).

Le pro-oestrus est synchrone du déclin d'activité du corps jaune ; il débute vers le 17ième jour, il est nettement précisé au 19ième avec l'ascension du taux plasmatique oestrogenes.

L'oestrus est la manifestation visible dans le cycle sexuel. C'est la période durant laquelle la femelle montre son comportement sexuel, traduction comportementale des modifications internes organiques qui la rendent apte à accepter la saillie ou l'IA et une éventuelle fécondation.

Cette période est marquée par plusieurs signes :

- génitaux : gonflement vulvaire.
- Généraux : baisse de la production laitière, appels du male, acceptation du chevauchement, appétit capricieux.

Mais en fait, un seul critère est considéré comme marquant véritablement l'oestrus, c'est l'acceptation du chevauchement. Les autres signes sont accessoires et peu précis ; ils n'ont qu'une valeur indicative.

L'expression de l'oestrus a été noté surtout durant la nuit (Wattiaux M. 1995). Voir fig 4

Après la fin des chaleurs la vache ne se laisse plus chevaucher. On peut encore à ce stade observer un écoulement vaginal parfois sanguinolent.

Durant la gestation, l'oestrus est supprimé. Il réapparaît en conditions normales entre le 20<sup>ème</sup>-40<sup>ème</sup> jour post-parturition. Pourtant, la fécondabilité de la femelle varie dans cette phase post-partum puisqu'il a été montré que l'optimum se situait au moment du 2 ou 3<sup>ème</sup> oestrus après mise bas, entre 2 et 3 mois après vêlage.

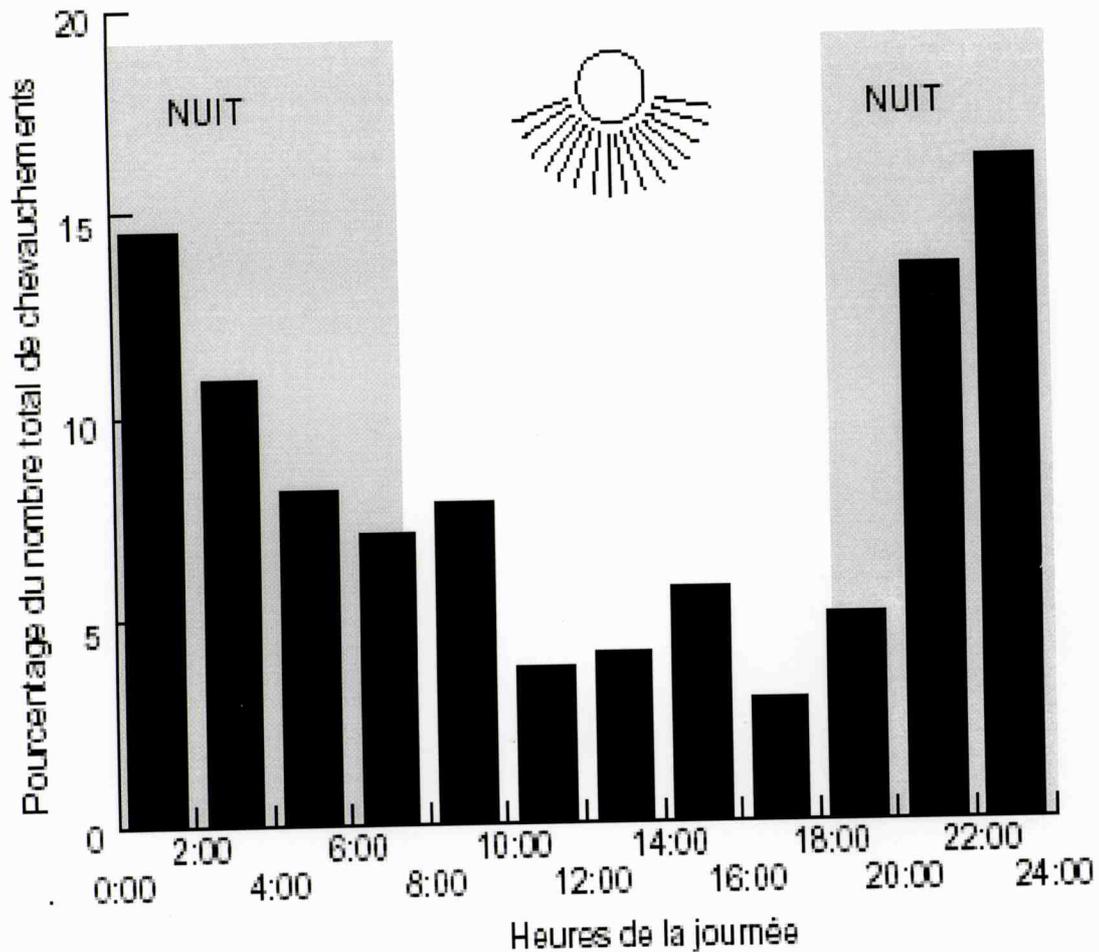


Fig4 : Expression de l'oestrus durant la nuit (Wattiaux M. 1995).

#### a Comportement :

La vache en chaleur est inquiète, agitée ; l'appétit, la rumination et la sécrétion lactée sont diminués. Elle beugle fréquemment, se déplace, suit les autres animaux du troupeau et cherche à les chevaucher.

De la vulve s'écoule un liquide muqueux, filant, clair, transparent dont on retrouve des traces au niveau de la que et des flancs ; l'élasticité et la transparence sont deux caractères importants car ils sont le reflet de l'intégrité organique du tractus. La vulve est congestionnée et tuméfiée.

**Tab. 4 : Signe des chaleurs** (Centre Insémination Artificielle Du Québec Saint-Hyacinthe)  
d'après Lacerte G. (2003)

Période de cycle	Pro-oestrus	Oestrus : vraie chaleur ou rut	Post-oestrus : après chaleur														
Durée période	← 5-15h → Moyenne : 10 heures	← 6-24h → Moyenne : 18 heures	← 72-96h → → ovulation : 12h → sang 12-36h moyenne 72 h														
Signes externes	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Agitation de l'animal</li> <li>-Crainte des autres vaches</li> <li>-Tentative de monte chez les autres vaches</li> <li>-Vulve congestionnée humide légèrement rosée.</li> <li>-Mucus</li> <li>-Beuglements</li> <li>-Moins d'appétit</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Vulve très congestionnée.</li> <li>-Vulve rougeâtre.</li> <li>-Mucus très filant et clair.</li> <li>-Vache nerveuse aux agents.</li> <li>-Beuglement fréquent peut retenir lait</li> <li>-La vache se laisse monter sans se dérober seul signe fiable de rut.</li> <li>-La montée dure 10-12 seconde et ceci tout le long de l'oestrus.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-La vache ne se laisse plus monter.</li> <li>-Ne fait que sentir les autres</li> <li>-Peut parfois monter les autres</li> <li>-Plus souvent redevient calme</li> <li>-Mucus visqueux d'apparence Laiteuse.</li> <li>-Vulve décongestionnée.</li> <li>-Ovulation non visible mais se fait : 10-12h après le début de cette période. Ovule fiable fertile <math>\bar{x} = 6h</math></li> <li>- saignement survient de 24-48h après le début du Post-oestrus et est observé chez environ 50% des vaches 90% des taures.</li> </ul>														
Heures après début de l'oestrus	↓																
Taux conception	<table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>Négligeable</td> <td>Pauvre</td> <td>Moyen</td> <td>Bon</td> <td style="background-color: #e0e0e0;">Très bon</td> <td>Bon</td> <td>Moyen</td> <td>Pauvre</td> <td>Négligeable</td> </tr> </table>								Négligeable	Pauvre	Moyen	Bon	Très bon	Bon	Moyen	Pauvre	Négligeable
Négligeable	Pauvre	Moyen	Bon	Très bon	Bon	Moyen	Pauvre	Négligeable									

Chez certaines femelles et plus souvent chez la génisse que chez la vache, un écoulement légèrement sanguinolent survient vers le 2<sup>e</sup>-3<sup>e</sup>ème jour qui suit l'oestrus (Parez. M., Duplan. J.M.1987).

## Vache en chaleur

La vache qui ne s'échappe pas lors de la monte est en chaleur



© The Babcock Institute

**Fig.5 vache en chaleur (se laisser chevaucher : signe principal des chaleurs)**

### **b Modifications des ovaires et de l'utérus :**

L'exploration ovarienne par voie transrectale permet d'apprécier de façon très approchée sur le plan clinique. La forme et les dimensions varient selon l'époque du cycle ou on les examine ; petits, légèrement granuleux, à l'état de repos ils sont porteurs ou du moins l'un d'eux, au moment du pro-oestrus, de follicules en voie d'évolution. Celui qui doit arriver à maturité, et au niveau duquel doit survenir l'ovulation, est de 1,5 cm environ, qui se présente sous forme de surélévation molle et dépressible à la surface de l'ovaire.

Sa rupture survient environ 14 à 15 heures après la fin des chaleurs et la fosse d'ovulation est aussitôt comblée par un hématome qui, envahi par les cellules de la granuleuse va donner naissance au corps jaune. Ce dernier est perceptible 48 heures après l'ovulation par le sillon qui le sépare de l'ovaire et atteint son complet développement vers le 6-7<sup>ème</sup> jour ; dont son poids peut atteindre 4 à 7,5g. Le corps jaune est généralement de forme globuleuse et peut occuper la plus grande partie de l'ovaire. Il se réduit progressivement, devient irrégulier et sa coloration se modifie passant du jaune au brun pour finalement devenir blanchâtre.

Au moment de l'oestrus, l'utérus poursuit sa congestion qui a débuté à la phase précédente, surtout au niveau des cotylédons. Le col s'ouvre d'environ 2cm et le mucus cervical liquéfié est excrété sous forme de longs filaments.

L'action de la progestérogène accentue les modifications de l'utérus dues à l'oestradiol : la muqueuse de l'endomètre se développe au maximum. Dans le col qui se ferme, le liquide s'épaissit et ne coule plus. (Soltner .D., 1993).

### **c. Ovulation :**

La totalité du processus ovulatoire, la congestion du follicule, la formation d'une protrusion à surface de l'ovaire, sa rupture progressif et l'expulsion du contenu qui en résulte ressemblent curieusement à la formation et à la rupture d'un furoncle et y ressemble d'autant plus que certains mécanismes similaires sont impliqués d'après Walton 1928.

La physiologie de la folliculogénèse et les facteurs impliqués décrits dans la première partie de cet article, constituent le prologue au mécanisme de l'ovulation et de la mise en place du corps jaune dans la cavité folliculaire.

Durant sa phase d'évolution terminale, le (ou les) follicule acquiert la possibilité de répondre à un pic de gonadotropines (LH principalement). Par ailleurs, un profond remaniement de sa structure permet l'expulsion d'un ovocyte mature, puis la formation d'un corps jaune.

### **Les mécanismes de l'ovulation :**

Les œstrogènes synthétisés par le follicule terminal exercent une influence positive sur l'hypophyse qui produit une décharge de gonadotropines FSH et LH (jusqu'à 100 fois le taux de LH circulante) (Callsen H. et al 1987).

Les premiers effets de l'augmentation de FSH et de LH sont une augmentation de la vascularisation de l'ovaire (Callsen H. et al 1983)

Les cellules de la granulosa se détachent de la lame basale et arrêtent de se diviser tandis que le nombre de jonctions serrées les reliant diminue. Le cumulus et la granulosa secrètent des enzymes protéolytiques qui induisent la dissociation des fibres de collagène présente dans la thèque.

La compression de l'épithélium ovarien au niveau de l'apex induit une stase sanguine avec ischémie et nécrose de ces cellules qui libèrent leurs propres hydrolases. Ces hydrolases et la plasmine produite par les cellules de la granulosa, de la thèque interne et des nombreux fibroblastes situés en périphérie achèvent de détruire les couches cellulaires sous-jacentes. La rupture de la paroi folliculaire externe induit une chute brutale de la pression hydrostatique intra-folliculaire qui provoque une contraction des fibres musculaires lisses de la thèque externe. La combinaison de ces deux phénomènes expulse l'ovocyte entouré de sa corona radiata qui est recueilli par le pavillon de l'oviducte. (Thibault. C., et al. 2001)

### **Régulation de la sécrétion de la FSH LH :**

Principalement connue pour son action déterminante dans le phénomène de l'ovulation (pic de LH ou pic préovulatoire), la LH est de plus en plus considérée comme indispensable (taux basal) pendant la phase de croissance folliculaire du cycle ovarien afin d'assurer la viabilité de l'ovocyte ((Thibault. C., et al. 2001). En effet, tant durant la phase lutéale terminale que pendant la phase de croissance folliculaire, LH, à des taux modérés, et FSH, à des taux plus élevés, permettent la croissance folliculaire et la maturation ovocytaire.

### **La progestérone :**

Lors de l'évolution terminale du follicule, présente en bruit de fond, la progestérone favorise durant quelques heures le phénomène de l'ovulation .en effet, le taux basal de progestérone associé aux œstrogènes présents en phase pro-oestrale entraîne le pic de gonadotropines nécessaire à déclencher la cascade d'événement menant à l'ovulation.

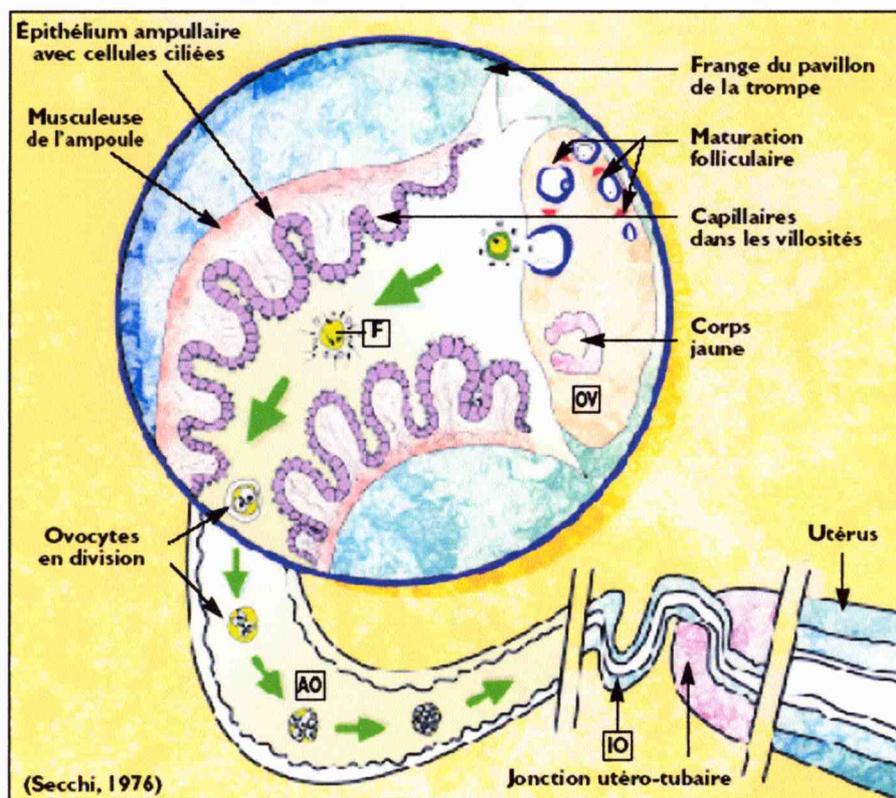
La maturation de l'ovocyte : l'ovocyte doit achever sa maturation finale pour acquérir sa compétence au développement en 36 heures (délai entre le pic de LH et l'ovulation) .

La mise en place d'un corps-jaune fonctionnel dans les jours qui suivent l'ovulation implique d'importants remaniements morphologiques des structures folliculaires.

Le corps jaune est constitué de deux types de cellules stéroïdiennes (Thibault. C., et al. 2001) : les grandes cellules sont issues de la granulosa et les petites cellules proviennent de la thèque interne.

#### d. Fécondation :

La fécondation et la fusion d'un gamète mâle et d'un gamète femelle donnant naissance à l'œuf , à  $2n$  chromosomes, réunion des matériels génétiques paternel et maternel .elle a normalement lieu dans l'ampoule de l'oviducte que l'ovocyte atteint quelques heures après l'ovulation .sa réalisation nécessite la mise en place des gamètes mâles dans l'appareil génitale femelle par saillie ou insémination artificielle puis , la rencontre de gamètes de bonne qualité , ovocytes apte à être fécondé spermatozoïdes dont le pouvoir fécondant est intact , ce qui suppose un déplacement des spermatozoïdes du lieu de départ au lieu de fécondation réalisé dans des délais compatible avec le maintien de leur pouvoir fécondant Fig. 6.



**Fig. 6 Fécondation** (l'ovocyte expulsé de l'ovaire « Ov » arrive par le pavillon dans la portion ampullaire de l'oviducte « AO ». Il est entouré par les spermatozoïdes et la fécondation a lieu « F ». L'œuf ne va pas tarder à se diviser et à migrer vers l'isthme de l'oviducte « IO » Secchi ,1976 in Deletang F., 1998 )

La progression des spermatozoïdes vers l'ampoule dure au moins 8 heures. Leur déplacement résulte de leur motilité ou de la motricité de l'appareil génitale femelle.

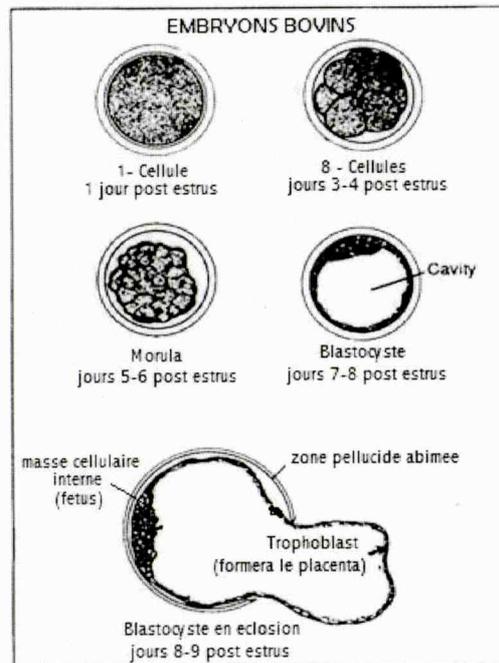
La capacité est un ensemble de modification subie par les spermatozoïdes dans les voies génitales femelles afin de permettre leur pénétration dans l'ovocyte .les principales modifications s'observent au niveau des membranes cytoplasmiques et acrosomatiques ; elles permettent la libération des enzymes acrosomiques assurant la destruction des enveloppes de l'ovule .

En raison de la durée de << survie >> des ovules nettement inférieur à celle des spermatozoïdes, il faut que soient totalement superposées la période de maintien de fertilité des ovules et la période d'aptitude à la fécondation des spermatozoïdes.

### **e) Développement embryonnaire précoce**

La fécondation a lieu dans l'ampoule de la trompe, que l'ovule atteint dans les 6 heures après l'ovulation, l'insémination artificielle doit se faire au bon moment, pour que les spermatozoïdes aient le temps d'atteindre cette zone. La pénétration du spermatozoïde dans l'ovule se fait grâce à un mécanisme enzymatique (hyaluronidase). Puis l'ovule reprend sa division cellulaire pour former le pronucléus femelle et le second globule polaire. L'œuf descend vers l'utérus et y arrive au bout de 4 jours au stade 8 à 16 cellules. La vitesse de descente de l'œuf fécondé dans la trompe utérine est sous le contrôle des hormones stéroïdes variées qui retardent le passage pour les oestrogènes ou l'accélération pour les progestérones.(Parez M. , Duplan J.M .; 1987) Fig. 7.

**Fig.7 Premiers stades du developement embryonnaire**



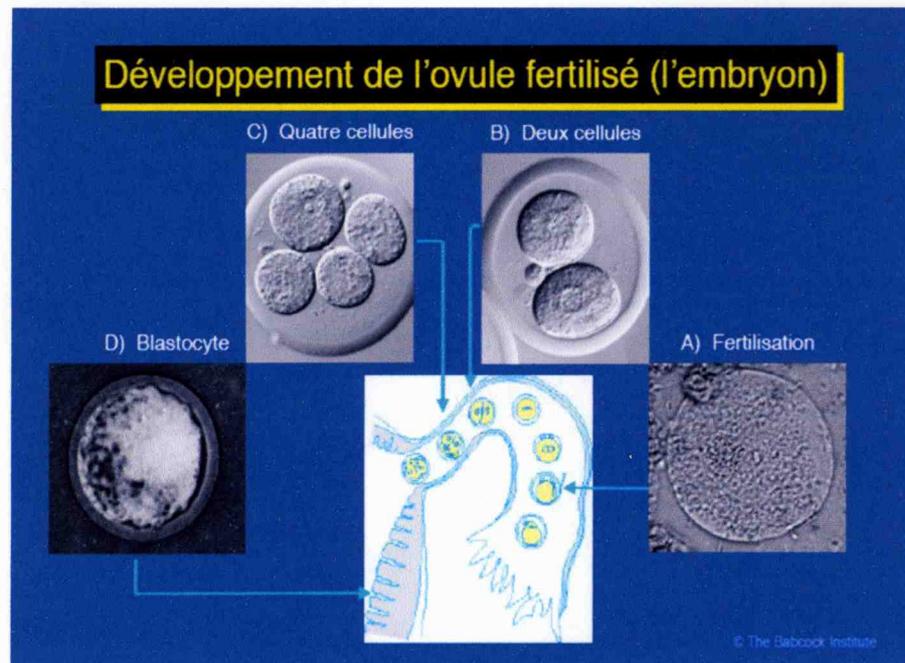
Au bout de 90 à 125 heures l'œuf est au stade de 16-32 cellules, l'embryon présent dans l'utérus est appelé morula (30-64cellules) d'un diamètre environ 150 microns et enfermé toujours dans sa zone pellucide (zone protectrice). Le nombre de cellules continue à augmenter dans cette forme morula puis se forme une cavitation (blastocoele) en même temps que s'organise la masse cellulaire en deux groupes : le bouton embryonnaire qui donnera l'embryon lui-même et le trophoblaste qui fournira les membranes extra embryonnaires.

Entre 140 et 175 heures (J7) l'embryon est appelé un jeune blastocyste et entre 160 et 210 heures (J8-J9) est appelé blastocyste. Ce dernier a ce stade comporte de 500 à 1000 cellules. Fig 8.

Sous l'action de la pression crée dans la zone pellucide par l'expansion cellulaire et de la sécrétion enzymatique interne, une rupture se produit dans l'enveloppe externe par laquelle l'embryon s'échappe habituellement vers le 10ème jour .Il est alors plus fragile et commence une phase d'élongation. C'est la phase de concept, avec interaction entre embryon et organisme maternel (action antilutéolytique)

Au 16ème jour, il mesure plusieurs centimètres et peut occuper déjà la moitié de la longueur de la corne utérine qui le contient .Il est toujours libre, le début de la phase initiale de

l'implantation se situera vers le 25<sup>ème</sup> jour, pour devenir matérialisé vers le 30<sup>ème</sup> jour par l'attachement chorionique sur les caroncules utérines. (Parez M. et Duplan J.M. 1987)



**Fig. 8 Développement de l'ovule fertilisé**

## **B. FOLLICULOGENESE & REGULATIONS HORMONALES**

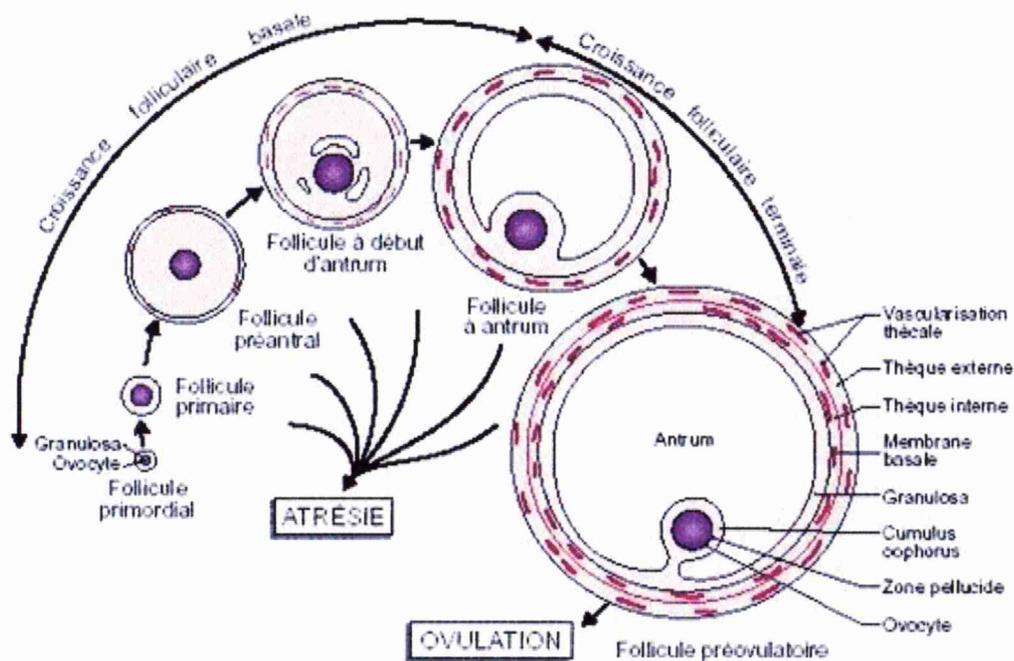
### **1 Folliculogénèse :**

La folliculogénèse est l'ensemble des phénomènes qui participent à la croissance et la maturation des follicules primordiaux , présents dans la zone corticale de l'ovaire (sous-forme de petits amas cellulaires ), composés chacun d'un ovocyte entouré de quelques cellules du stroma ovarien , aplaties , ou cellules folliculeuses (Fig. 9).

La croissance folliculaire résulte de trois phénomènes qui ont successivement un rôle essentiel:

- Augmentation de la taille de l'ovocyte.
- Multiplication des cellules de la granulosa .
- Augmentation de la taille de l'antrum .

Figure 9 : différentes étapes de la folliculogénèse (Monniaux D. et al., 1999)



#### **a. Les follicules primordiaux :**

Dés l'apparition du stade diplotène les ovocytes jusque là sont groupés par paquets , et liés par des ponts cytoplasmiques, s'isolent, trois ou quatre cellules somatiques les enveloppent , ces ensembles constituent les follicules primordiaux , qui s'entourent d'une membrane basale acellulaire . Les ovocytes isolés dégèrent.

### **b. La croissance folliculaire :**

Dans une première période, la croissance du follicule résulte de la multiplication des cellules somatiques et de celle de l'ovocyte (15-20  $\mu\text{m}$  de diamètre jusqu'à 70-100  $\mu\text{m}$  ). La croissance débute quand, à partir de follicules primordiaux, se forment des follicules primaires comprenant une assise de cellules cuboidales , puis des follicules secondaires qui possèdent plusieurs couches de cellules entourant l'ovocyte , c'est la granulosa .

Autour d'elle se différencie une assise double de cellules interstitielles : la thèque interne stéroïdène qui borde la granulosa et la thèque externe contractile.

Les cellules de la granulosa forment une population morphologiquement et physiologiquement homogène car elles communiquent entre elles par des jonctions perméables ( gap-junctions ) .

La granulosa est séparée la thèque interne par une lame basale que ne franchissent ni les vaisseaux, ni les fibres nerveuses. La fibronectine, qui est le composant majeur de cette lame, est sécrétée par les cellules de la granulosa.

Dans une seconde période, la croissance du follicule résulte essentiellement de la multiplication des cellules somatiques et du développement d'une cavité intrafolliculaire, l'antrum. Le follicule prend le nom de follicule tertiaire ou à antrum et vers la fin de sa croissance de follicule de Graaf.

**Durée de la croissance, folliculaire :** la folliculogénèse complète (du follicule primaire jusqu'au follicule ovulatoire) demande en général plusieurs semaines : 21 jours chez la vache. Arrivée à maturité, le follicule pré-ovulatoire mesure 1mm. (Hulshof et al., 1994).

**Le follicule primordial :** Centré par l'ovocyte I, est entouré de quelques cellules folliculaires endothéliiformes. Son diamètre moyen est de 40  $\mu\text{m}$ . Habituellement localisé en périphérie de l'ovaire, il représente le stade folliculaire quiescent. L'ovocyte, de diamètre compris entre 20 et 35  $\mu\text{m}$ , se trouve bloqué au stade diplotène de la prophase de sa première division méiotique (ovocytes primaires) par un polypeptide produit par la granuleuse des follicules primaires et secondaires : l'OMI (Oocyte Meiosis Inhibitor).

**Le follicule primaire :** Se caractérise par l'augmentation du volume de l'ovocyte et par l'agencement à sa surface d'une couche régulière de cellules cubiques. C'est durant cette période que l'ovocyte synthétise, et sécrète les glycoprotéines qui donneront naissance à une enveloppe hyaline poreuse: la zone pellucide. D'une épaisseur d'une dizaine de microns, elle est constituée à 95% de trois glycoprotéines, organisées en longs filaments interconnectés, appelées

ZP1, ZP2, ZP3. La ZP3 forme avec la ZP2 des filaments qui sont pontés par la ZP1. Seule la glycoprotéine ZP3 est reconnue par le spermatozoïde et déclenche la réaction acrosomique (Yanagimachi, 1994).

**Le follicule secondaire :** L'ovocyte ici atteint son volume maximal. Il s'est entouré d'une pellucide bien différenciée et de deux ou trois couches de cellules cubiques formant la granulosa. L'ensemble est limité extérieurement par la membrane basale qui s'est transformée en membrane de Slavjanski constituée de collagène de type IV, de fibronectine, de laminine et de protéohéparane sulfate.

**Le follicule tertiaire :** Il est dit cavitaire ou antral en raison de l'apparition au sein des couches de cellules folliculaires de petites cavités résultant de l'accumulation d'un transsudat plasmatique et de la sécrétion des cellules de la granulosa. Ces cavités finissent par confluer pour former l'antrum. Le développement progressif de l'antrum entraîne la séparation des cellules de la granulosa en cellules du cumulus oophorus. Celles-ci se différencient en corona radiata, couche cellulaire entourant directement l'ovocyte. Ces cellules du cumulus et de la corona présentent de nombreuses zones fonctionnelles (GAP junction) qui constituent autant de moyens de communication entre l'ovocyte et la cavité folliculaire. Chez la vache, le nombre de follicules antraux est de manière constante, compris entre 25 et 50. Il dépend du nombre de follicules entrant en phase de croissance, du taux de croissance de ces follicules et du nombre de follicules, qui s'atrophient (Armstrong, 1993). A ce stade, et chez tous les mammifères, le follicule cavitaire s'entoure, en dehors de la membrane de Slavjanski, d'une double enveloppe constituée par la thèque interne, faite de cellules interstitielles riches en ARN et en enzymes nécessaires à la stéroïdogénèse, et par la thèque externe formée d'un tassement de tissu conjonctif du stroma ovarien.

**Le follicule mûr ou follicule de De Graaf :** Représente la phase terminale du développement folliculaire. Cette phase ne concerne qu'un follicule sur 1000 entré en croissance (Saumande, 1991). Le follicule mûr se caractérise par une taille maximale de 10mm chez la brebis et la truie et de 25mm chez la vache, par un nombre maximal de cellules granuleuses et par une activité mitotique minimale de la granuleuse. Gonflé de liquide, le follicule affleure en surface de l'ovaire. L'ovocyte demeure enfermé dans un massif cellulaire formé de la corona radiata et du cumulus oophorus. Les thèques interne et externe sont bien différenciées et la membrane basale est bien visible entre les cellules folliculaires et la thèque interne. La thèque interne est une glande à part entière. La thèque externe est de nature fibreuse. Une fois l'antrum

formé, l'ovocyte entretient des échanges métaboliques avec le liquide folliculaire via les cellules du cumulus et avec le sang via les cellules de la granulosa et de la membrane basale. Chez la vache, il faut 42 jours pour qu'un follicule de 0,13mm atteigne la taille préovulatoire. En effet, l'activité mitotique se réduit progressivement pour céder la place à une différenciation cellulaire plus importante.

## 2. Régulations hormonales :

Seuls les follicules qui atteignent une certaine taille (deux mm) en temps opportun poursuivent leur développement. C'est parmi ceux-ci que le (ou les) follicules ovulatoires est (ou sont) désigné. Trois étapes successives sont responsables de ce tri folliculaire.

### a. Le recrutement :

Le recrutement est l'entrée en croissance terminale d'une cohorte de follicules gonadodépendants (diamètre : 2 mm). Un follicule gonadodépendant est un follicule qui a dépassé le stade auquel habituellement la plupart des follicules deviennent atrétiques. Il s'agit d'un mécanisme aléatoire où seuls sont recrutés les follicules atteignant " la bonne taille au bon moment " Le recrutement est provoqué par l'augmentation transitoire de la FSH. La FSH agit sur ces follicules en augmentant leur aptitude à aromatiser les androgènes en oestrogènes. Le recrutement d'un nombre de follicules supérieur à celui nécessaire constitue en quelque sorte la garantie qu'au moins un follicule se trouve dans les conditions optimales de développement et de sensibilité à l'action de concentrations minimales de FSH.

### b. La sélection :

La sélection est l'émergence du (ou des) follicule ovulatoire parmi les follicules recrutés. Cette sélection est secondaire à la réduction de la FSH qui a initié le recrutement. En effet, le développement du groupe de follicules recrutés s'accompagne d'une augmentation de la production d'oestradiol, mais également d'inhibine. Ces deux hormones exercent un rétrocontrôle négatif sur la production hypophysaire de FSH circulante devient inférieure à celle induisant le recrutement, les follicules recrutés entrent en atrésie, à l'exception du (ou des) seul follicule sélectionné, le mécanisme du choix du (ou des) follicule ovulatoire n'étant pas tout à fait connu.

### **c. La dominance :**

La dominance fait suite à la sélection. Elle est morphologique et fonctionnelle.

- Elle est qualifiée de morphologique parce qu'elle est exercée par le plus gros follicule présent sur l'un ou l'autre ovaire.
- Elle est également fonctionnelle parce que le follicule dominant est le seul qui soit capable de provoquer la régression de follicules en croissance, ou d'inhiber la croissance d'autres follicules, et d'ovuler dans un environnement hormonal approprié.

Elle correspond donc au blocage du recrutement et à l'accroissement rapide de volume du (ou des) follicule ovulatoire. Bien que la FSH diminue, le follicule dominant persiste car il a acquis un mécanisme d'autostimulation interne, l'oestradiol qu'il produit amplifie sa synthèse d'IGF1 qui est normalement sous le contrôle de la FSH. L'IGF1 stimule à son tour l'aromatisation des androgènes en oestrogènes. De plus, l'acquisition par la granulosa de récepteurs à la LH, associé à la sécrétion active de LH, contribue à maintenir une concentration élevée en AMPc dans les cellules folliculaires, et donc à la croissance du (ou des) follicule dominant.

Il est démontré que :

- La destruction d'un follicule dominant au début d'une vague de croissance folliculaire retarde la régression des follicules de taille directement inférieure;
- En fin de vague, sa destruction entraîne un recrutement plus précoce des follicules lors de la vague suivante.

La disparition du follicule dominant se traduirait par une nouvelle augmentation de l'hormone FSH, ce qui permettrait aux seconds follicules de devenir dominants à leur tour.

### **3. La stéroïdogénèse folliculaire**

La stéroïdogénèse folliculaire correspond à la synthèse, par les cellules de la thèque interne, des androgènes à partir du cholestérol sanguin puis, à leur aromatisation en oestrogènes par les cellules de la granulosa.

La stéroïdogénèse est fortement compartimentée dans le follicule.

- La thèque interne, qui contient des récepteurs à la LH, synthétise préférentiellement les androgènes. Ceux-ci diffusent au travers de la membrane de Slavjansky.
- Ils sont alors aromatisés en oestrogènes par les cellules de la granulosa qui possèdent des récepteurs à la FSH. Une collaboration est donc nécessaire pour produire des taux suffisants d'oestradiol. En effet, les équipements enzymatiques de ces deux tissus étant différents, chacun limite les capacités de l'autre.

- A partir de la granulosa, les oestrogènes diffusent dans le liuquide folliculaire et dans le compartiment vasculaire (effets périphériques et déroulement du cycle oestral ).

Les oestrogènes sont sécrétés de manière importante par les follicules antraux. Le follicule mur induit une concentration plasmatique de 12 pg /ml d'oestradiol chez la vache, cette concentration étant à l'origine de la décharge ovulatoire.

#### 4. Atrésie folliculaire :

L'atrésie (grec : a, privatif ; tresis, perforation)

Encore appelée **involution folliculaire**, l'atrésie constitue selon Monniaux D. et al., (1999) le devenir de la majorité des follicules présents dans l'ovaire. L'atrésie joue donc indirectement un rôle important dans la régulation du taux d'ovulation.

Elle peut se produire à n'importe quel moment de la folliculogénèse. L'atrésie est consolée par un mécanisme de mort cellulaire programmée, appelée apoptose pour les stades antraux, l'atrésie est souvent entraînée lors de la sélection, par une réduction de la FSH, secondaire aux sécrétions d'oestradiol et d'inhibine par le follicule dominant.

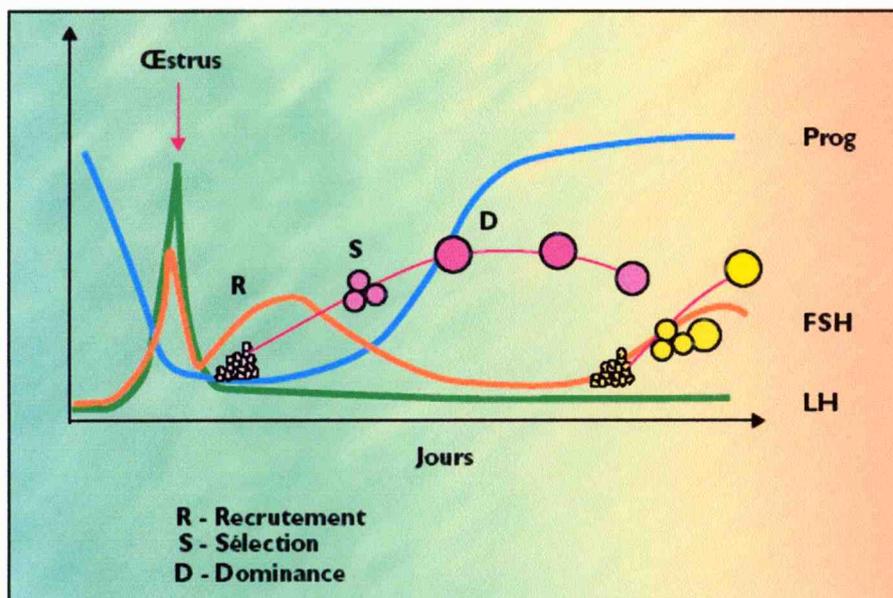
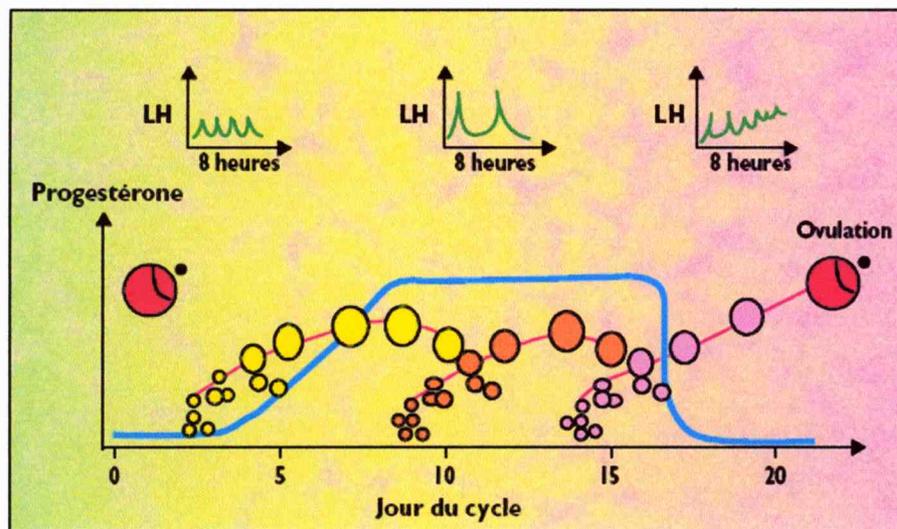


Fig. 10 Emergence d'une vague folliculaire (ENNUYER, 2000)



**Fig. 11** Evolution des vagues folliculaires au cours d'un cycle oestral chez la vache  
(ENNUYER, 2000)

## **CHAPITRE III TRANSFERT EMBRYONNAIRE**

### **A. Choix des animaux**

#### **1. Choix des receveuses**

##### **a. Introduction**

Le principal facteur limitant auquel nous sommes confrontés en transfert d'embryon est le nombre de receveuses aptes à recevoir un embryon. Le vétérinaire de terrain peut intervenir en exerçant pleinement son rôle de conseiller auprès de l'éleveur. (Broadbent P.J. et al., 1991).

Un examen génital élimine toutes formes d'anomalies, y compris une gestation indésirable.

Les conditions de départ nécessitent que ces animaux soient en état corporel correct, sains, de préférence sérologiquement positifs à la B.V.D. et déparasités. Toute forme de stress est à éviter.

Le rationnement doit permettre alors de satisfaire une croissance correcte, en respectant les apports énergétiques et azotés recommandés, sans oublier d'occuper la capacité d'ingestion de ces animaux par des fibres. Un minéral adapté est distribué régulièrement.

L'activité de transfert d'embryon concerne essentiellement les races laitières. Les éleveurs veulent obtenir des veaux dont la valeur génétique est, en moyenne, supérieure à celle de leurs parents. Souvent, les males qui naissent sont vendus pour être testés par les centres d'inséminations. L'éleveur qui multiplie une vache mère à taureaux a donc tout intérêt à faire naître les veaux le plus rapidement possible.

En général, le problème que nous rencontrons en transfert d'embryon n'est pas un problème de production d'embryons mais de nombre de femelles susceptibles de recevoir ces embryons. A raison, en moyenne de 6 embryons à transplanter par donneuse, nous devons optimiser le nombre de receveuses aptes à recevoir un embryon. Une analyse rétrospective des transferts effectués en 1993 révèle que seulement 55 % des receveuses synchronisées pour le transfert présentaient un corps jaune palpable. Des embryons ont dus être congelés alors que des receveuses étaient présentes mais inaptes. C'est donc un manque à gagner génétique et économique. (Broadbent P.J. et al., 1991).

Le vétérinaire de terrain peut jouer dans ce cas un rôle majeur de conseiller de l'élevage en intervenant à trois niveaux :

- sélection
- mise en condition
- préparation des receveuses

## **b. Tri préalable des receveuses**

### **Génotype :**

Le choix des receveuses est guidé par leur disponibilité, leur prix et leur bonne acclimatation à l'environnement local où se déroule le transfert. Indépendamment de ces facteurs, selon une étude menée par Turner J.W. et al. ; (1968) et Gaines J.A., et al. ; (1966), l'utilisation de receveuses de race croisée est préférable par rapport aux receveuses de race pure, car elles sont plus fertiles et plus viables.

Des études menées au royaume uni ont démontré qu'il était plus intéressant d'utiliser des receveuses de races laitières , que des receveuses de races allaitantes , particulièrement si ce sont des génisses ou de jeunes vaches , car moins chères , habituées à être manipulées , moins grasses et surtout plus fertiles (Broadbent P.J. et al., 1991).

Donaldson L.E., (1984), a quant à lui transféré des embryons sur des receveuses de 13 races différentes , toutes soumises aux mêmes conditions d'élevage . Il est apparu qu'après transferts embryonnaires par voie non chirurgicale, le taux de gestation le plus élevé concerne les races Herefords ( 75 % ).

Cependant contrairement aux précédents auteurs Van Wangtendonk de Leeuw A.M., et al. ; (1997), après avoir effectué 728 transferts d'embryons de blonde d'aquitaine sur des receveuses de type laitières , allaitantes ou mixtes , il s'avère qu'ils n'ont trouvé aucun type d'influence significative du type de receveuse sur le taux de gestation.

### **Age, Parité :**

La plupart des auteurs s'accordent à dire que l'utilisation de génisse comme receveuse donne de meilleurs résultats que celle des vaches , et ceci pour diverses raisons.

L'historique sanitaire d'une génisse est moins chargé, donc plus compatible avec le transfert embryonnaire que celui d'une vache, elles ont également un appareil de reproduction indemne de toute manipulation externe traumatisante, pas de gestation ni de césarienne qui pourrait provoquer des complications portant atteinte de l'indemnité de l'appareil reproducteur

de l'animal. Selon (Broadbent P.J. et al., 1991) un utérus vierge de toute gestation est plus apte pour le transfert embryonnaire, que celui d'une vache.

Broadbent P.J. et al. ; (1991) expliquent aussi qu'il est peu probable que les génisses soient sujettes aux stress nutritionnels, car elles ne conduisent pas de lactation ou de gestation.

Tous ces facteurs font en sorte que le taux de gestation des génisses après transfert embryonnaire soit en moyenne supérieur de 10 % par rapport à celui des vaches. (Nibart M., 1991 ; Chagas E Silva et al. 1999 ; Ponsart C. et al. ; 2000).

Toutefois, il s'avère que l'utilisation de génisses pour le transfert embryonnaire peut poser certains problèmes, elles n'ont pas d'antécédent de reproduction, donc il est possible qu'elles présentent des anomalies, ainsi que des malformations du tractus génital ou être tout simplement non cyclées. Il est de plus difficile de franchir le col utérin chez une génisse, selon Broadbent P.J. et al. ; (1991). Elles ont tendance aussi à veuler plus difficilement que les vaches.

Chez la vache la parité ne serait pas un facteur significatif pouvant influencer le taux de gestation chez les receveuses (Van Wangtendonk de Leeuw A.M., et al. ; (1997). Callesen H. et al. ; (1994), affirment également qu'ils n'ont pas observé de différence de taux de gestation selon le rang de lactation, grâce à une sélection sévère des vaches.

Bak A., et al. ; (1990) placent cette sélection au niveau des conditions de choix sanitaire et de fertilité des vaches sélectionnées. D'après Hasler J.F. (2001), l'effet parité serait lié aux fortes productions laitières des vaches et serait peu marqué en race à viande. Il n'est pas exclu de choisir des vaches pour le transfert embryonnaire surtout si ces dernières témoignent d'une bonne fertilité dans le passé.

Cependant, un avantage indéniable des génisses pour le transfert embryonnaire est leur coût modéré à l'achat par rapport aux vaches de même qualité, avec en plus une fertilité plus élevée, des besoins alimentaires moins importants que les vaches hautes productrices, ainsi que leur taille relativement uniforme et compacte par rapport à celle des vaches, qui permet de les rassembler en plus grand nombre.

Le choix d'une receveuse avant d'être introduit dans un programme de transfert se fait selon qu'elle soit cyclée (présence d'un corps jaune à la palpation), qu'elle ait atteint au moins les

2/3 de son poids adulte, mais pas trop grasse, une diminution sensible des résultats a été observée pour des génisses plus âgées, souvent plus grasses (Nibart M., 1991).

Chagas E Silva et al. ; (1999), ont observé que les génisses avaient un taux de gestation moyen de 53,7 %, significativement supérieur à celui des vaches (40,2%). Selon les mêmes auteurs, il y'a plus de transferts traumatiques chez les vaches, que chez les génisses et ceci à cause de la difficulté à manipuler les appareils génitaux de taille relativement importante.

La difficulté de transfert fait chuter le taux de gestation de façon importante avec une chute de 17,7% entre un transfert facile et difficile (Legrand S.F.R., 2003).

#### **Antécédents et état général des animaux :**

Un animal ayant déjà des antécédents de trouble de la reproduction (vache non cyclée, repeat-breeders) sera automatiquement éliminé du programme de transfert embryonnaire.

D'après Nibart M. (1991), il est très déconseillé de choisir des génisses âgées ayant déjà fait preuve de difficulté de reproduction avec plusieurs inséminations non fécondantes.

Il est important que les receveuses soient dans un bon état général, ni trop grasses, ni trop maigres, avec un bon état corporel à la mise à la reproduction note de 2,5 à 3 pour une multipare, 3 pour une primipare pour une réponse correcte au traitement de synchronisation

(Grimard B., et al. 1998), et n'ayant pas subi d'amaigrissement trop sévère ou souffrant d'affections intercurrentes (mammite aigue, parasitisme ...etc.

#### **Etat de l'appareil génital :**

Il peut être délicat d'expliquer à un éleveur, pourquoi un implant a été posé sur l'oreille d'une génisse gestante, Free-Martin, ou présentant une anomalie de l'appareil génital. Malheureusement, nous en rencontrons fréquemment, en particulier pour les receveuses d'origine extérieure au cheptel. De même, il est malvenu de faire avorter une génisse supposée vide à la suite du dernier transfert d'embryon. Il est donc indispensable de procéder à l'examen gynécologique de toutes les receveuses. - Les anomalies sont fréquentes chez les Free-Martin, en sachant que, parfois, seul un raccourcissement partiel des cornes utérines peut être palpé. Sur des animaux supposés normaux, il n'est pas rare de ne palper qu'une seule corne utérine, la deuxième étant atrophiée. - Si le suivi de troupeau est déficient, l'éleveur peut en toute bonne foi, inclure

des animaux gestants dans le lot (allotement avec un broutard «inoffensif»!). Certains animaux manifestent des chaleurs en cours de gestation. Des receveuses revues en chaleur suite au dernier transfert sont cependant découvertes gestantes ! - en cas de déficit alimentaire, antérieur ou concomitant à l'observation des animaux, les femelles non cyclées seront écartées. Si les erreurs de conduite du troupeau sont trop graves, il peut même être préférable d'annuler la synchronisation. (Bouderbal A. 2004).

Et donc l'une des premières vérifications à faire est de confirmer que l'animal n'est pas gestant. En effet, s'il a déjà subi une insémination artificielle ou un transfert et que ce même animal revienne en chaleur ce qui peut arriver, il y'a des fortes probabilités qu'il soit considéré comme non gestant par l'éleveur et soit remis dans le circuit de la reproduction.

Vérifier que l'animal est bien cyclé et c, en constatant la présence d'un corps jaune par palpation transrectale des ovaires. Cet examen peut être complété par une échographie ou un dosage de la progesterone.

Dans un second temps, un examen de l'appareil génital est effectué dans le but de détecter d'éventuelles anomalies congénitales, telles que le free martinisme qui se manifeste par des cornes utérines atrophiées ou un vagin oblitéré, un cathéter est introduit dans les voies génitales de l'animal et on examine les possibilités de franchissement, d'abord du vagin ensuite du col utérin, puis les deux cornes.

Vérifier l'involution utérine en début de lactation ; en effet après vêlage, il faut attendre un minimum de 60 jours pour assurer le retour à la cyclicité.

### **Aspect sanitaire**

Il paraît évident d'éliminer toutes les maladies réputées contagieuses, de même, de ne pas entreprendre de transplantation en cas de pathologie au sein du troupeau (type grippe, salmonellose...). Une maladie importante, et pour laquelle la conduite à tenir ne fait pas l'unanimité est la maladie des muqueuses. Il nous paraît dommageable de prendre le risque de poser un embryon sur un animal IPI ou susceptible de donner naissance à un veau IPI. L'objectif souhaitable est de n'avoir que des receveuses séro-positives (naturellement, ou vaccinées dans les mois qui précèdent la transplantation) et, bien entendu, viro-négatives (Bouderbal A. 2004).

Le statut sanitaire de la receveuse conditionne inexorablement son admission au sein d'un programme de transfert embryonnaire. Il paraît évident d'éliminer toutes les maladies réputées légalement contagieuses.

Concernant la para-tuberculose, il semble que les différents lavages des embryons ne suffisent pas à éliminer le virus du Mycobacterium. Il est donc recommandé de pratiquer un dépistage lors de suspicion clinique (Rohde R.F. et Shulaw W.P., 1990).

La néosporose peut être transmise aux embryons dans le cas où la donneuse est séropositive, cependant Baillargeon P. et al. (2001) ont montré que le traitement des embryons à la trypsine était un moyen efficace permettant d'obtenir des veaux indemnes de Néosporose, si les receveuses étaient séronégatives. Toutefois d'après les mêmes auteurs, l'utilisation de receveuses contaminées entraînait une augmentation des cas d'avortement et de transmission verticale. En cas de suspicion clinique, il est donc recommandé de procéder à un dépistage.

Tous les tests ainsi que tous les traitements, tels que la vaccination ou l'écornage doivent impérativement être terminés avant le début de la procédure de synchronisation des chaleurs des receveuses.

### **c. Mise en condition des animaux :**

#### **Stress :**

Il est très nuisible, quelle qu'en soit l'origine ; en particulier les écornages, et vaccinations, sont à proscrire. Un protocole de vaccination doit être terminé un mois et demi à deux mois avant la pose d'embryons. (Bouderbal A. 2004).

Des substances interviennent 5 à 30 mn après le stimulus. Il s'agit des glucocorticoïdes, fabriquées à la demande par la corticosurrénale sous l'influence d'éléments tels que l'ACTH (Adreno Cortico Tropic Hormone) libérée par l'antéhypophyse; celle-ci est à son tour régulée par le CRF (Corticotrophin Releasing Factor) synthétisé par les neurones du noyau para ventriculaire de l'hypothalamus (Dobson H. et al., 2003).

Les glucocorticoïdes sont responsables des réactions retardées à l'agent stressant :

- \* Hyperglycémie par formation de glucose à partir d'éléments non lipidiques.
- \* Réduction de la capture de glucose par un certain nombre de tissus biologiques.
- \* Modération des réactions cellulaires à l'agression.

Les modifications physiologiques entraînées par l'activation de l'axe corticotrope préparent l'organisme à résister à la situation des stress sans épuiser les ressources internes.

### **L'effet du stress sur la reproduction :**

Selon Dobson et al H., (2003), le cerveau en incluant l'hypothalamus est le principal centre de contrôle de la reproduction.

La fréquence des décharges de GnRH et de LH est contrôlée par le cerveau, dans le but de déterminer la croissance folliculaire, ainsi que le nombre final de follicules à ovuler,

Le stress perturbe le fonctionnement correct de l'axe hypothalamo-pituitaire-ovarien.

Un stress aigu provoque une diminution de la sécrétion de la GnRH, en résulte des troubles de la fonction ovarienne, ainsi que des perturbations dans les délais de

Un stress chronique provoque des perturbations de la décharge pulsatile de LH, la sécrétion d'oestradiol s'amointrit par rapport à la normale, la décharge de LH ne se fait plus au bon moment, donc l'ovulation est retardée ou inexistante. La faible concentration d'oestradiol peut compromettre l'expression des chaleurs.

### **Stress et transfert embryonnaire :**

Selon une étude menée par (Lowman B.G. et al.;1994), les animaux ayant traversé 5miles à travers les collines, 2 jours après insémination sur chaleurs maîtrisées sont moins fertiles que des animaux non stressés (81 % vs 96 % taux de gestation).

En général les équipes de transfert conseillent à leurs clients de réduire le stress de leurs animaux (donneuses, receveuses), les changements de groupes, l'introduction de nouveaux animaux, sont tout autant d'agents pouvant réduire les performances de reproduction, la taille d'animaux doit être elle aussi le plus raisonnable possible. Un groupe surchargé favorise l'apparition de stress (Dobson H. et al.2003).

### **Parasitisme :**

La mise en place d'une thérapeutique adaptée est préférable avant ou au début du traitement de synchronisation. Après la pose de l'embryon, elle est déconseillée (dans les 45 jours post-transfert) (Bouderbal A. 2004).

### **Alimentation :**

La préparation correcte des receveuses pour le transfert embryonnaire passe par une ration alimentaire appropriée et équilibrée.

L'influence de l'alimentation sur le fonctionnement ovarien est fait admis depuis longtemps, une alimentation insuffisante ou mal équilibrée est en élevage bovin, une cause de nombreux troubles de la reproduction (Bouderbal A. 2004)

### **Etat corporel :**

La note d'état corporel est l'expression de l'état d'engraissement, donc de l'équilibre de la ration alimentaire chez les bovins. Aussi, la synchronisation des chaleurs des vaches allaitantes donne de meilleurs résultats lorsque la note d'état corporel est de 2,5/5 à 3/5 pour une multipare, 3/5 pour une primipare (Grimard B., et al.; 1998). Une détérioration de l'état corporel engendre une baisse des performances de reproduction. Selon Enjalbert F. (1998), lorsque cette perte d'état corporel atteint ou dépasse 1,5 points l'influence de l'amaigrissement sur la reproduction devient importante, celle-ci est insignifiante si cette perte d'état reste inférieure à 1 point. Selon Odde K.G.(1990), il a été observé également des troubles de la reproduction chez les vaches trop grasses ( note supérieure à 6 sur une échelle allant de 1 à 9).

### **Bilan énergétique :**

Le déficit énergétique a souvent été apprécié à travers l'amaigrissement des vaches en début de lactation, les vaches en bilan énergétique négatif à la mise à la reproduction présentent de moins bons taux d'induction d'ovulation et de gestation après traitement de maîtrise des cycles que les vaches en bilan positif ou nul (Grimard B. et al.; 1994 ; Grimard B. et al.; 1997).

Chez les vaches allaitantes, une restriction de 20 à 30 % des apports énergétiques durant le dernier tiers de la gestation entraînent une augmentation de la durée de l'anoestrus post-partum de 8 à 21 jours (Bellows R.A. et Short R.E., 1980 ; Bellows R.A., et al.; 1982; Holness D.H et Hopley D.H., 1978; Wiltbank J.N., et al.; 1962 in Grimard B. et Humblot P., 1996), également un apport énergétique trop libéral en fin de gestation (+ 40p.cent) entraîne aussi une augmentation de la durée de l'anoestrus de 10 jours environ (Grimard B., 1996). Cette interaction entre bilan énergétique et reproduction, aussi bien au niveau central (modification de la sensibilité de l'hypophyse à la GnRH, modification de la sécrétion de LH, modification de la sensibilité de rétrocontrôle des oestrogènes) que périphérique (action sur la croissance folliculaire et la stéroïdeogénèse) fig 18 avec pour le niveau central des médiateurs, tels que

glucose, acide gras et/ou les corps cétoniques et pour les ovaires l'insuline et les IGFs (Mialot P. et Grimard B., 1996).

## **2. Le choix de la donneuse :**

La donneuse doit être choisie en fonction de leur haut mérite génétique du fait qu'elle soit responsable d'au moins 50% de la variabilité des résultats de production d'embryons (Nibart M., 1991) et donc choisie essentiellement pour ces qualités génétiques et zootechniques.

Pour présenter l'optimum de chances d'une bonne réponse à la superovulation, elles devront avoir un haut niveau de fertilité (jugé par leur passé de reproductrice, la durée de leur anoestrus, leur cyclicité, etc.) un très bon état sanitaire (absence d'infections utérines ou des trompes, etc.) et un très bon état général. L'exploration rectale, avant toute décision, permettra d'apprécier l'utérus et son col (taille, déformations, anomalies) et les ovaires.

Plusieurs auteurs ont démontré l'effet de l'âge sur la production d'embryons. Les génisses produisent en moyenne un embryon viable de moins que les vaches (Mancieux L. et al, 1999 ; Laurière P. et al., 2001). Selon Donaldson L.E. (1984), il y a une chute de la production et de la qualité des embryons transférables, lorsque l'âge de la donneuse va au-delà de 10 ans.

Cette baisse serait associée à une diminution du nombre de follicules entamant chaque jour leur croissance (Lerner S.P. et al, 1986 ; Drion P.V. et al., 1996), ainsi qu'à une augmentation du nombre d'ovocytes non fécondés (Mancieux L. et al., 2000).

Selon Bouderval A., 2004 : les vieilles donneuses répondent moins bien aux traitements de superovulation que les jeunes probablement du à la diminution avec l'âge de l'animal du nombre de follicules quittant la réserve ovarienne.

Les vaccinations, prises de sang, traitements antiparasitaires seront réalisés avant la préparation à la superovulation ou bien reportés après les prélèvements d'embryons, pour éviter tout stress durant cette période.

Toute maladie intercurrente telle que les marmites ou boiteries, les hyperthermies ont une action défavorable sur la réponse ovarienne, la qualité des ovocytes et des embryons (Put Ney D.J., et al., 1988 ; Nibart M., 1991).

Plusieurs auteurs ont montré les effets néfastes de l'infertilité au cours des périodes antérieures de reproduction sur la production d'embryons et la réussite du transfert (Ménard D. et Martinez-Bello J.D., 2000). Les résultats des stimulations précédentes (superovulation) peuvent permettre de classer la donneuse en bonne ou mauvaise à partir de la troisième collecte (Hahn J., 1986). Il semble inutile de préserver la donneuse au-delà de ce seuil, si les femelles n'ont pas donné d'embryon viable (Nibart M., 1991).

Il est nécessaire de faire un examen complet de l'appareil génital, et ce pour détecter les anomalies ou malformations éventuelles de l'appareil génital, ainsi qu'une partie des causes d'infertilité (métrites, follicules kystiques), et avant de débiter tout traitement sur la donneuse il faut au minimum 60 jours après vêlage afin d'assurer une bonne involution utérine et de permettre le retour à la cyclicité.

## **B. Synchronisation des chaleurs :**

### **1. Vérification de la cyclicité de la vache :**

On réalise deux examens à un intervalle de 11 jours, ou par dosage de progestérone ou par échographie.

#### **a. Deux examens à 11 jours d'intervall :**

Sont réalisés par palpation des ovaires par voie transrectale.

Pour une vache cyclée, l'opérateur doit noter une différence de la qualité d'ovaires. Soit un corps jaune, follicule ou follicule, corps jaune sur un même ovaire.

Pour une vache non cyclée, l'opérateur note une même qualité d'ovaires soit corps jaune lors des deux examens sur un même ovaire.

Données récoltées sur les vaches :

- Vache : numéro d'identification, note d'état corporel.
- Qualités du corps jaune à la palpation (consistance, bouchon de champagne, follicule, cicatrice d'ovulation).

#### **b. Echographie des ovaires :**

On réalise des échographies des ovaires, après palpation dans le but de mesurer leur diamètre ainsi que celui du corps jaune et de gros follicules grâce à un échographe muni d'une sonde linéaire de 7.5 Mhz.

Données recueillies après échographie :

- Diamètre de l'ovaire.
- Diamètre du corps jaune de la pointe à la base.
- Diamètre des plus gros follicules.
- Corps Jaune cavitaire ou pas.

#### **c. Dosage de la progestérone :**

Un prélèvement sanguin est effectuée à 7 jours (JO chaleurs).une prise de sang de 5ml par vache pour le dosage de la progestérone

Le prélèvement sanguin est effectué au niveau de la veine caudale, à l'aide de vacutainers héparines de 10ml après palpation des ovaires.

Les échantillons sont refroidis dans un mélange de glace/eau, puis conduits au laboratoire d'analyse ou ils ont subi une centrifugation de 2000g à 4°C pendant 15 minutes, dans le but d'obtenir une séparation du plasma, lequel a été transvasé dans des tubes de stockage, puis mis en congélation à -18°C.

### **Méthode de dosage de la progestérone :**

#### **- Matériels :**

Elecsys1010 (Roche diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim)

#### **-Méthode :**

La progestérone est dosée grâce à un test immunologique (électrochimie luminescence) pour la détermination quantitative in vitro de la progestérone dans le plasma.

Echantillons décongelés, puis placés sur le plateau réactifs/ échantillons de Elecsys 1010 (photos 13, page 118)

Les résultats sont exprimés en : ng /ml.

## **2. Protocole de synchronisation des chaleurs :**

Les traitements de maîtrise des cycles permettent, chez les bovins, de synchroniser les chaleurs et d'inséminer des groupes d'animaux en aveugle le même jour. Le travail est ainsi simplifié et les périodes de vêlages peuvent être planifiées. L'intérêt de ces traitements est cependant limité par la variabilité de la fertilité à l'oestrus induit. Une part de cette variabilité est due au mécanisme d'action du traitement lui-même. Une autre dépend de facteurs liés à l'animal ou à l'environnement. La connaissance de ces paramètres devrait permettre d'améliorer les résultats.

Trois types de traitements hormonaux permettent de synchroniser les chaleurs chez les bovins. Les traitements à base de prostaglandine F2  $\alpha$  ou de ses analogues (2 injections à 11-14 jours d'intervalle), les traitements associant GnRH et PGF2  $\alpha$  (Ovsynch : GnRH à J0, PGF2  $\alpha$  à J7, GnRH à J9), les traitements à base de progestagènes (dispositif libérant de la progestérone ou du norgestomet associé à un oestrogène et/ou à des PGF2 $\alpha$  et de l'eCG). La prostaglandine F2  $\alpha$  et ses analogues provoquent la lutéolyse et les chaleurs qui suivent la deuxième injection s'étalent sur plusieurs jours ; l'insémination sur chaleurs observées après ce traitement améliore les résultats de fertilité. Les associations GnRH et prostaglandine et progestagène/

oestrogène/eCG agissent à la fois sur la croissance folliculaire et sur la lutéolyse ; les chaleurs qui apparaissent après traitement sont bien groupées et il est possible d'inséminer en aveugle. Compte tenu de leur mécanisme d'action, le premier traitement est réservé aux animaux cyclés alors que les deux traitements GnRH + prostaglandine (Ovsynch) et progestagènes peuvent être utilisés sur des animaux cyclés ou non (anoestrus). La fertilité à l'oestrus induit est variable, de 20 à 70 % sur de grands lots d'animaux.

Certains facteurs de variation sont connus mais non maîtrisables dans la pratique au moment de la mise à la reproduction (jour du cycle au moment du traitement, cyclicité avant traitement, rang de vêlage, conditions de vêlage, note d'état corporel). D'autres peuvent être utilisés pour améliorer la fertilité des animaux à risque (allonger l'intervalle vêlage-traitement, pratiquer un flushing, séparer temporairement le veau). Ainsi, une bonne connaissance des mécanismes physiologiques expliquant l'effet de chaque traitement, une évaluation des facteurs de risque présentés par les animaux à synchroniser et l'application de mesures correctrices devraient permettre d'adapter les traitements aux situations rencontrées (cyclées, anoestrus, suboestrus, troupeau laitier ou allaitant), afin d'améliorer la fertilité et de réduire la variabilité de la réponse au traitement.

#### **a. Les prostaglandines F2 $\alpha$**

L'effet lutéolytique de la prostaglandine F2 $\alpha$  est connu depuis 1972/1973 (Thibault C. et Levasseur M.C., 2001). La PGF2 $\alpha$  administrée entre J5 et J17 du cycle sexuel provoque la régression du corps jaune. La fréquence des pulses de LH augmente alors, provoquant une élévation significative de la sécrétion d'oestradiol par le follicule dominant, l'apparition de l'oestrus et l'ovulation. Malgré la lutéolyse rapide (24 heures), l'intervalle entre l'injection et les chaleurs est variable et dépend du stade décroissance du follicule au moment du traitement.

Les animaux qui possèdent un follicule dominant au moment de l'injection présentent des chaleurs dans les 2 à 3 jours. Si l'injection a lieu pendant la phase de recrutement, le follicule dominant se forme en 2 à 4 jours et l'intervalle entre l'injection et l'oestrus est plus long et plus variable. La prostaglandine F2 $\alpha$  ou ses analogues n'étant efficaces qu'entre J5 et J17, seuls 60 % des individus d'un lot d'animaux cyclés sont susceptibles de répondre correctement à une injection. Aussi les protocoles de synchronisation conseillés comprennent-ils 2 injections à 11-14 jours d'intervalle, toutes les femelles étant alors en phase de dioestrus au moment de la deuxième injection. La plupart des animaux expriment des chaleurs entre 48 et 96 h après l'arrêt du traitement et peuvent être inséminés à l'aveugle à 72 et 96 h. Cependant, la synchronisation n'est pas optimale. Le pourcentage de vaches en oestrus dans les 5 à 7 jours varie de 38 à 97 % (Mc Intosh D.A., et al 1984, Odde K.G., 1990, Laverdière G., 1994). Pour Mialot J.P. et al (1998) par

exemple, seules 60 % des vaches laitières inséminées 72 et 96 h après 2 injections de PGF2  $\alpha$ . à 11 jours d'intervalle présentaient une progestéronémie compatible avec la phase oestrale au moment des inséminations artificielles (IA). En effet, si les PGF2  $\alpha$  agissent sur la durée de vie du corps jaune, elles n'ont pas d'effet direct sur la croissance folliculaire. Au moment de la lutéolyse, le follicule dominant présent sur l'ovaire n'est pas à un stade précis de développement, ce qui explique l'étalement des chaleurs après traitement (Mialot J.P., et al 1999, Driancourt M.A., 2001 ; figure 2). Ceci explique que la fertilité soit généralement meilleure après insémination sur chaleurs observées que lors d'insémination systématique.

De plus, toutes les vaches ne sont pas vues en chaleurs après traitement (55,5 %, Stevenson J.S., et al 1999 ; 68 %, Mialot J.P., et al 1999). Ainsi, on conseille de réaliser une insémination sur chaleurs observées après la première injection de PGF2  $\alpha$ . Si l'animal n'est pas venu en chaleur, la deuxième injection est réalisée et l'animal inséminé sur chaleurs observées ou de façon systématique 72 et 96 h après la deuxième injection s'il n'est de nouveau pas vu en chaleurs. Ceci permet de réduire le coût du traitement et des inséminations.

Les taux de gestation (nombre de femelles gestantes/nombre de femelles traitées) calculés sur de grands lots d'animaux ( $n > 100$ ) varient de 22 à 58 % .

L'évaluation de l'utilisation systématique de ces traitements en élevage laitier montre qu'il existe un intérêt économique (intervalle vêlage-insémination plus court à taux de gestation global constant, Lucy M.C., et al 1986), surtout lorsque le taux de détection des chaleurs avant mise en place est faible (inférieur à 55 % ; Heuwieser W., et al 1995, Pankowski J.W., et al 1995, Mateus L., et al 2001).

Le traitement à base de PGF2 $\alpha$  se révèle être le moins coûteux (surtout si de nombreuses vaches sont fécondées après la première injection), mais ne peut être utilisé que si les vaches sont cyclées.

## **b. Les associations GnRH/ PGF2 $\alpha$**

L'idée de synchroniser la folliculogénèse avant l'administration de PGF2  $\alpha$  a amené à utiliser le GnRH. Le protocole, maintenant classique, est le suivant : injection de GnRH à J0, PGF2 $\alpha$  7 jours plus tard, GnRH 48 h après l'injection de PGF2  $\alpha$  (Twagiramungu H., et al 1994 et 1995). En fonction du stade de croissance du follicule dominant, le GnRH provoque soit l'atrésie soit l'ovulation ou la lutéinisation des gros follicules présents dans l'ovaire au moment du traitement et une nouvelle vague de croissance folliculaire émerge dans les 3-4 jours. Une injection de PGF2  $\alpha$  pratiquée 7 jours après la première injection de GnRH entraîne la lutéolyse au moment où un follicule dominant est présent et celui-ci devient préovulatoire. L'injection de GnRH réalisée 48 h après l'injection de PGF2  $\alpha$  provoque un pic de LH et l'ovulation 24 à 32 h plus tard pour 87 à 100 % des vaches (Pursley J.R. et al 1995 et 1998, Thatcher W.W. et al 2001). L'insémination peut être pratiquée entre 12 et 24 h après la seconde injection de GnRH (12-18 h, Chastant-Maillard S., et al. 2002 ; 16 h, Diskin M.G., et al 2001 ; 16-20 h : Pursley J.R. et al. 1997, Cartmill J.A. et al 2001 ; 16-24 h, Mialot J.P., et al 2003 ; 16-24 h, Moreira F., et al 2000).

La synchronisation des chaleurs est alors meilleure qu'avec les PGF2  $\alpha$  seules et permet l'insémination systématique sans détection des chaleurs (Pursley J.R., et al. 1997).

## **c. Les associations oestrogènes/progestagènes/eCG**

Deux dispositifs diffusant des progestagènes sont disponibles en Algérie. L'implant Crestar® (Intervet, 3 mg de norgestomet), et la spirale vaginale PRID® (Progesterone Intravaginal Device, Ceva, 1,55 g de progestérone). Ces dispositifs sont mis en place pendant 9 à 12 jours. Le traitement est complété par l'administration d'un oestrogène en début de traitement (injection de 5 mg de valérate d'oestradiol par voie intra-musculaire (IM) dans le cas du Crestar®, capsule contenant 10 mg de benzoate d'oestradiol associée au dispositif intravaginal pour le PRID® ; figure 5) et d'une surcharge de progestagène dans le cas du Crestar (3 mg de norgestomet par voie IM).

L'association oestrogène + progestagène agit à la fois sur la croissance folliculaire et sur la durée de vie du corps jaune (Chupin D., et al 1974, Driancourt M.A., 2001). Administrés en début de cycle, les oestrogènes ont une activité antilutéotrope, ils provoquent la disparition d'un corps jaune en début de formation qui pourrait persister après le retrait du dispositif et ainsi diminuer le taux de synchronisation des chaleurs.

## **C. Superovulation :**

### **1. Introduction**

Au cours de la vie de reproduction d'une femelle il existe un gaspillage considérable entre la réserve de départ et le nombre d'œufs émis. Le traitement de superovulation dans l'espèce bovine permet la production d'embryons en réduisant fortement l'écart entre la réserve et le nombre d'œufs émis au cours de chaque cycle de récolte (Amstrong, D.T., 1993 ; Mapletoft R.J., et al. 1994).

La production d'embryons par traitement de superovulation dépend de plusieurs facteurs, tel que la race, l'âge, la saison, l'état de l'ovaire et celui qui a le plus d'impacte est l'extrait hypophysaire utilisé. Aussi la maîtrise de la folliculogénèse est une étape capitale pour la réussite de production d'embryons. Le test des hormones gonadotropes sur la moitié de la phase lutéale (j9 – j13) n'a pas apporté de différence significative sur le taux d'ovulation des vaches (Mapletoft R.J., et al. 1994).

Deux grandes approches sont exploitées pour produire plus d'embryons, la première consiste à l'utilisation d'hormones pour induire la superovulation des femelles, quant à la seconde consiste à la récolte des ovocytes des ovaires, leur maturation et fécondation (méthode in -vitro). Sur le plan expérimental c'est la première méthode la plus employée. (Gordon, I., 1996).

### **2. Définition :**

On définit le phénomène de superovulation comme une réponse ovarienne à un traitement hormonal spécifique produisant un développement et un nombre d'ovulation au de la du standard moyen de l'espèce.

Ce traitement hormonal consiste à utiliser des hormones hypophysaires FSH pour obtenir de la superovulation en vue du transfert embryonnaire chez des femelles au potentiel génétique intéressant (Nibart M., 1991, Saummande J., 1995).

## 1. Les méthodes de superovulation

### a. PMSG

L'utilisation de PMSG comme traitement de superovulation est généralement applicable pour les bovins. Cette méthode consiste à administrer par voie intramusculaire (IM) une injection de 1800-3000 ui (habituellement 2000-2500 UI) de gonadotrophines chorioniques équine nommées PMSG, actuellement appelée eCG (équin chorionic gonadotrophin, extrait du sérum de juments en gestation). Le traitement est suivi d'une dose lutéolique de prostaglandine F2 alpha (PGF2 $\alpha$ ) en intramusculaire, et cela 2 à 3 jours plus tard; 12 à 24 heures après la première injection de PGF2 $\alpha$  on peut redonner une deuxième injection, qui paraît améliorer la production d'embryons. (Seidel G.E.Jr. et Seidel S.M., 1991).

Il y a quelques années, Col et Hart au USA ont démontré la capacité du sérum de juments gravides à introduire une augmentation du taux d'ovulation chez la rate et qui est devenu le traitement le plus utilisé pour la superovulation des animaux de ferme, tels les ruminants. (Gordon I., 1996).

#### **L'utilisation du sérum anti-PMSG :**

Il est connu depuis quelque temps que la PMSG peut induire la formation d'anti-corps, d'ici ont démarré des études permettant de trouver la possibilité de prévenir une stimulation excessive de l'ovaire (contenant de nombreux follicules anovulatoires) et secondairement de réduire le taux d'oestradiol par l'utilisation du sérum anti-PMSG (Thibault C., et Levasseur M.C., 2001).

Donc pour inhiber l'action prolongée de la PMSG.

De meilleurs résultats ont été rapportés quant à l'utilisation du sérum anti-PMSG entre 5-6 heures après le pic preovulatoire (Dieleman S.J., et al., 1993); la neutralisation de la PMSG à n'importe quel moment avant le pic de LH inhiberait le fonctionnement et la stimulation folliculaire (Vos P., et al., 1995). Pour ces raisons donner la anti-PMSG à un temps fixe relatif à l'utilisation de PMSG.

Au CANADA, Gonzalez A., et al (1994 a et b) ont administré de l'anti-PMSG 48 ou 60 heures après la prostaglandine (donnée 18 heures après les 2500 UI de PMSG) et ils rapportèrent que le nombre d'embryons transférables était significativement plus élevé que ce du lot de contrôle. De plus, plusieurs rapports attestent que le temps d'administration de l'anti-PMSG est

crucial si on veut qu'il soit effectif et ceci fait que les applications de ces méthodes la rende commercialement difficile sur terrain. (Gordon I., 1996).

### **L'utilisation de PMSG combinée à la prostaglandine :**

L'utilisation de la PMSG présente un avantage pratique car elle est administrée en une seule injection (Chupin D., 1988) par voie intramusculaire à la dose de 2500 à 3000 Ui. , le point négatif est qu'après le pic préovulatoire et l'ovulation les niveaux de eCG restent élevés et maintiennent le développement de follicules qui ne pourront pas ovuler mais perturberont l'environnement hormonal pendant la fécondation, les premières phases du développement des œufs et la migration dans l'oviducte jusqu'à l'entrée dans l'utérus (Chupin D., 1988). La longue demi-vie de la PMSG peut engendrer la production de follicules kystiques entraînant une diminution de la qualité des embryons .

En synchronisant toujours avec la  $PgF2\alpha$  des donneuses avec des receveuses on permettrait un transfert d'embryons frais seulement il faut savoir que l'apparition des chaleurs est précoce pour les premières alors qu'elle est tardive pour les secondes puisqu'il se situe au troisième jour (72 heures) après l'injection de la  $PGF2\alpha$  (Gordon, I., 1996).

### **b. Follicule stimulating hormon FSH :**

Les traitements de superovulation permettent d'accroître le nombre d'ovules fournis par l'ovaire environ 10 fois par rapport à l'ovulation naturelle.

Cependant cette moyenne recouvre une très large variabilité de réponse (0 à 50 et plus) sans qu'il soit actuellement possible de prévoir la réponse ni de préciser quels sont exactement les paramètres qui commandent cette variabilité (génétique, niveau hormonal).

Il apparaît que l'utilisation des extraits hypophysaires a permis d'obtenir un plus grand nombre d'embryons collectés et transférables (en moyenne 1 de plus par collecte).

Actuellement la FSH est obtenue à partir d'extraits hypophysaires d'origine porcine (p FSH).  
— (Beckers Le STIMUFOL<sup>ND</sup> est le produit le plus utilisé sur terrain actuellement en France (Meriel, France) qui permet d'obtenir une bonne stabilité des réponses (Nibart M., 1997).

Tableau 84 .

L'avantage des extraits hypophysaires est l'absence de formation d'anti-corps lors de traitements répétés (Thibault C. et Levasseur M.C. , mais sa demi-vie étant courte (20-70 mn)

fait qu'il contraignait à la répétition des injections lors de traitement de superovulation toutes les 12 heures pendant au moins quatre jours.

Plusieurs préparations ont été mises au point mais à des proportions différentes entre la FSH et LH. Mapeltoft R.J., et Pierson R.A., (1993) ont suggéré que le niveau maximal acceptable de contamination par la LH dans les préparations de FSH serait entre 15 et 20%.

Des études menées par Donaldson (1984) ont montré que le faible taux de fécondation obtenu avec la FSH serait imputable à la quantité de LH présente en association avec FSH et non au nombre d'insémination artificielle.

Les concentrations d'œstradiol augmentent dès 24 h après l'injection de FSH. Le maximum est observé 36 - 52 h après injection de PGF2 $\alpha$  et le retour au niveau de base 12 h après le pic de LH. Après stimulation par FSH, les valeurs maximales varient de 50 à 70 pg/ml. Les concentrations plasmatiques de progestérone (5 à 10 ng/ml) augmentent après l'injection de FSH en fonction des quantités de LH présentes dans les préparations. Celles-ci baissent 24 à 48 h après injection de PGF2 $\alpha$  chez les femelles superovulées au cours de la phase lutéale et ont le plus souvent disparu avant le retrait du progestagène (Keita J.B., 1995) chez celles ayant reçu FSH au cours d'un cycle maîtrisé. Les concentrations de progestérone au moment du pic de LH (j0) ne diffèrent pas selon les modalités de traitement (0,46 ng/ml en moyenne, selon Nibart et al., 1988). On remarque une augmentation de ces concentrations, 48 heures après le pic de LH chez les donneuses présentant une bonne réponse, après 72 heures chez celles dont la réponse est faible (< 2 corps jaunes) alors que celle-ci survient après 132 heures au cours du cycle normal (Combarrous Y., et Volland-Nail P., 1997).

### **Protocole proprement dit de traitement à base de FSHp :**

La réponse d'un traitement standard de superovulation, initié au début du cycle oestral (1-4 jours après oestrus), lorsque la dominance folliculaire ne s'est pas encore établie, bien que le taux d'ovulation accomplie est normal pour la superovulation le taux de fertilisation et le rendement embryonnaire était bas. Par contre Roberts et al., 1994 ont montré que la superovulation au début du cycle (2-6<sup>ème</sup> jour) ou au milieu du cycle (10-11<sup>ème</sup> jour) augmentait la proportion d'embryons transférables par rapport à l'autre période du traitement (Gordon I., 1996).

Les extraits hypophysaires de FSH sont généralement injectés 2 fois par jour pendant 4 jours par voie intramusculaire pour obtenir un effet optimum sur la réponse ovarienne. En effet, la

demi-vie de la FSH est très courte (70 min), d'où la nécessité d'injections multiples, permettant de maintenir des concentrations suffisantes dans la circulation périphérique (Chupin D., 1988).

La FSH peut être injectée en phase lutéale (entre J9 et J13 ; J0 = chaleurs) d'un cycle naturel ou induit. Dans ce cas, à la 5<sup>ème</sup> IM injection de FSH, une administration d'un analogue de PGF2 $\alpha$  entraîne la lutéolyse et permet les ovulations. Il est possible également d'injecter l'hormone de stimulation simultanément avec la PGF2 $\alpha$  au cours d'un traitement de maîtrise des cycles basé sur l'utilisation de progestagènes (CRESTAR® N.D., Intervet ou PRID® N.D., Sanofi). La PGF2 $\alpha$  peut être injectée 24 à 48 h avant le retrait du progestagène (Combarnous Y., et Volland-Nail P., 1997).

## **D. Transfert Embryonnaire proprement dit**

### **1. Méthode d'insémination artificielle des donneuses superovulées :**

#### **a. moment d'insémination**

Après traitement de superovulation on doit contrôler l'oestrus des donneuses superovulées, c'est-à-dire le début et durée de l'oestrus, qui sont des paramètres importants pour le moment d'insémination (callesen H., et al .1993).

L'insémination est l'acte par lequel la semence est déposée dans les voies génitales de la vache. Cette technique Retro-vaginale est la plus répandue parmi les techniques d'insémination artificielle des vaches.

Le moment de l'insémination est fonction de divers paramètres : moment de l'ovulation (12 heures environ après la fin des chaleurs, 30 heures environ après début de l'oestrus) ; durée des fécondabilité de l'ovule (environ 5 heures) aussi temps de remontée des spermatozoïdes (de 2 à 8 heures) et durée de la fécondabilité des spermatozoïdes (20 heures). (Parez M., Duplan J.M; 1987 ).

La mise en concordance de ces divers montre qu'il peut y'avoir possibilité de fécondation avec une insémination réalisée entre 12 et 18 heures après le début des chaleurs.

Le bon choix du moment de l'insémination est totalement tributaire de la bonne détection des chaleurs (connaissance de la régularité, de la durée du cycle oestral de la vache) . Cette détection des chaleurs est habituellement faite par l'observation comportementale, animal agité, crainte des autres vaches, tentative de monter chez d'autres vaches, avec beuglement et baisse d'appétit. lors

des vrais chaleurs cette vache se laisse monter sans dérober et c'est le signe principal des chaleurs (une montée dure 10-12 secondes et ceci tout le long de l'oestrus). aussi une vulve très congestionnée , rougeâtre avec mucus très filant et claire ainsi que le beuglement devient fréquent.

### **b. Techniques d'insémination :**

La sécurité de l'inséminateur est le facteur primordial qui doit être pris en considération .Il convient de s'approcher calmement de l'animal et lui faire savoir sa présence.

La paillette à semence congelée choisie est mise dans le thermos de décongélation après l'avoir secouée (contenant de l'eau chauffée à 34 c°, et cela est vérifié par un thermomètre).

La dose est essayée pour enlever toute trace, puis sectionnée (par des ciseaux) à son extrémité fermée .elle est ensuite introduite dans le pistolet. Une gaine plastique (jetable) assure la protection sanitaire de l'étanchéité de l'appareil prêt à l'emploi.

La technique de l'insémination est celle du cathétérisme du col de l'utérus avec immobilisation de ce col par voie rectale .la main gauche gantée, lubrifiée tenant le col a travers la paroi rectale, l'opérateur introduit de la main droite le pistolet (après avoir inséré la paillette dans le barillet) dans la vulve (préalablement nettoyée) à un angle de 45° pour éviter le meat urinaire. Les replis vaginaux sont évités en poussant le col tenu de la main gauche vers l'avant. Une fois au niveau de corps de l'utérus on dépose la semence lentement et au complet, suivi d'un léger massage au niveau du corps de l'utérus .désinfecter les mains et le pistolet, vider le thermos, ranger le coffre à inséminer, et pour sécurité, fermer convenablement la bonbonne d'azote liquide. (Cette technique a été décrite selon Parez M.,Duplan J.M; (1987 ).

### **2. Récolte des embryons :**

Elle se fait sur les donneuses superovulées. C'est la technique par laquelle on prélève dans les voies génitales (cornes utérines) de la donneuse les embryons après avoir quitté l'oviducte pour pénétrer dans la corne utérine 4 ou 5 jours après l'oestrus (3ou 4 jours après l'ovulation) et surtout avant que l'embryon ne sorte de la membrane pellucide au 9ème jour.

Cette membrane qui constitue une excellente barrière de protection de l'embryon de la plupart des germes pathogènes. De plus seuls les embryons entourés de la membrane pellucide

supportent bien la congélation. Donc les embryons sont collectés entre j6 et j8 du cycle, j0 étant le moment des chaleurs.

Cette technique peut être réalisée par voie chirurgicale qui est maintenant rarement utilisée nécessitant une anesthésie générale sur un animal mis en décubitus dorsal, de pratiquer une laparotomie par la ligne blanche et un lavage de la corne utérine correspondant à l'ovaire ou se trouve le corps jaune, toujours entre j6 et j8.

### **3. Mise en place de l'embryon :**

La mise en place de l'embryon est un geste de cathétérisme cervical (IA) non chirurgicale. La supériorité des résultats consécutifs à la remise en place par la voie chirurgicale, même si elle est moins importante (7 à 10 %) qu'elle ne le fut au début de la décennie, justifie que cette voie reste employée pour des embryons d'un coût très élevé, dans des situations particulières (importation). (Parez M., Duplan J.M; 1987 ).

Elle se réalise sur l'animal debout, sous anesthésie locale (épidurale et sous-cutanée). L'incision au niveau du flan (10cm environ) du côté de l'ovaire reconnu porteur du corps jaune permet aisément d'atteindre la corne utérine de l'amener au niveau de l'ouverture chirurgicale d'en piquer la paroi avec une aiguille mousse pour replacer l'embryon dans la lumière de la corne. Quelques points de sutures (plan profond) et agrafe (plan cutané) termine l'opération, généralement sans séquelles, d'une durée d'environ (10) minutes (préparation de l'animal comprise).

Autre méthode, non chirurgicale par inoovulation directe de blastocyste de 6/7 jours à travers le canal cervical en limitant le rejet consécutif aux contractions utérines (en phase lutéale active les contractions utérines sont limitées).

La remise en place se fait au moyen d'un appareil de transfert (pistolet capable de recevoir la paillette contenant l'embryon). Cet inoovulation rigide de 3 mm de diamètre, revêtu de sa gaine protectrice permet la pénétration profonde dans le col et dans la corne utérine ( celle du côté de l'ovaire porteur du corps jaune), ce qu'autorise encore mieux l'inoovulateur télescopique sans risque de blesser la muqueuse utérine. Le corps intérieur de l'appareil, contenant l'embryon dans sa paillette souple, coulisse dans le corps extérieur rigide et peut ainsi être délicatement amené dans la corne, en suivant naturellement sa courbure jusqu'à la portion antérieure.

Toutes ces manipulations doivent être très douces et aussi réduites que possible : elles pourraient avoir un effet négatif sur l'environnement de l'embryon (réaction inflammatoire, réactions sécrétoires, etc.) et par conséquent sa survie ultérieure.

Le retrait de l'appareil après dépôt de l'embryon (poussée lente sur le piston) se fait également avec délicatesse pour éviter le risque de blessure de la muqueuse et celui de voir l'embryon déposé être ramené avec l'appareil. L'inovulation bien conduite demande environ cinq minutes, mais ne doit jamais être une course de vitesse.

La femelle inovulée ou receveuse est placée pendant trois à sept jours dans les meilleures conditions de calme possible, normalement alimentée, puis ensuite remise dans le troupeau et surveillée pour son éventuel retour en chaleurs. (Parez M., Duplan J.M; 1987 ).

*ETUDE EXPERIMENTALE*

## **Materiels et méthodes :**

### **A / Materiels :**

L'étude a été réalisée au niveau de la ferme expérimentale de l'université SAAD DAHLAB de Blida grâce à la coopération du CNIAAG et du département des sciences vétérinaires.

Cette ferme est située dans l'enceinte de l'université dans la commune de Soumaa wilaya de Blida.

Parmi les 15 vaches présentes dans cette ferme, 7 ont été utilisées pour cette étude, dont 4 donneuses et 3 receveuses.

#### **1. animaux :**

L'étude a porté sur un total de 7 vaches reçues à la clinique de l'université de Blida-département vétérinaire, pendant une durée de 3mois (novembre 2005-janvier 2006).

##### **1.1. lots des donneuses :**

Le premier lot représente les races améliorées au nombre de deux, et le second les races locales « Cheurfa ». (Tab. 6 & 7)

\*Tab 6 : lot des races améliorées :

N°	race	N°d'identification	age
1	Pie rouge	0008	6 ans
2	Pie noire	98000	8 ans

\* Tab 7 : lot des races locales :

N°	race	N°d'identification	age
3	Cheurfa	99002	7 ans
4	Cheurfa	99004	7 ans

## 1.2. Lots des receveuses : (Tab. 8)

Au nombre de trois, races améliorées.

\* Tab.8 lot des receveuses :

N°	race	N°d'identification	age
1	Pie noire	02008	4 ans
2	Pie noire	03003	5 ans
3	Pie rouge	99002	7 ans

## 2. produits utilisés :

« *CRESTAR* » : sous-forme de 2 composants

\* un implant en sous-cutané

\* une injection en intramusculaire

Maitrise des cycles sexuels chez les bovins.

2ml d'injectable CRESTARD (soit un flacon) contenant une solution huileuse de 3 mg de norges tomet + 3,8 mg d'oestradiol (S.F.Valerate)

L'implant CRESTARD : 3 mg de norgestomet (17 x acetoxy-11.B.methyl-19.

norpreg-4-en 3.20 dione ) voie sous cutanée (sous la peau /face externe de l'oreille)

« *ESTRUMATE* » ou *PGF2 $\alpha$* :

C'est de la prostaglandine de synthèse pour les espèces bovine et equine à un volume de 10 ml

Chaque ml contient 250  $\mu$ g cloprostenol

« *FOLLIGON®* » ou *PMSG*

FOLLIGONE®

1000 U.I

LYOPHILISAT injectable

Composition : Gonadotopine sérique (PMSG) 1000 ui

Parahydroxybenzoate de méthyle 0.5 mg

- « *STIMUFOL* » 40%

« *STIMUFOL* » 40% **FSHp-LHp**

Dose à 40 unité armour (1 unité armour correspond à 1 micro gramme de FSH pure) avec un pourcentage de 40% de LH

- **Matériels manuels :**

- un applicateur <<CRESTAR<sup>®</sup>>> produit de INTERVET International BV BOXMEER-HOLLAND.
- un désinfectant + compresses
- Seringue (35 ml, 20ml,10ml,et 1ml).
- Aiguillies (N°18)
- Matériels de l'insémination artificielle

a/la caisse :

- Thermos de décongélation, un thermomètre.
- Pistolet : barillet et piston.
- Des gaines.
- Une paire de ciseaux.
- Des gants avec un lubrifiant.
- Papier essuie-tout.
- Un désinfectant.

b/ un Bt avec de l'azote liquide : portant les paillettes de semance identifiées par le nom du taureau, N° d'identification , N° de code et la date de la récolte.

- Matériels du transfert embryonnaire :

- Sonde de Cassou à 3 voies.
- Milieu de conservation.
- Milieu et matériel de congélation.
- Paillette de conservat d'embryons
- Filtre spécifique.
- Lubrifiant stéril
- Gants et lubrifiant
- Pipette Pasteur
- Microscope
- Boites de pétri
- Milieu de conservation PBS :

C'est le milieu choisi pour la préservation des embryons récoltés.

C'est le tampon phosphate salin (phosphate buffered saline ou PBS).

On a ajouté au PBS après la stérilisation du chlorure de sodium et du magnésium, il est complété avec 20% de sérum de veau inactivé (FCS) et des antibiotiques (25 mg de Kanamycine/l ou  $10^5$  u.i de Péniciline Cristalline et 50 mg de streptomycine/l).

## B / Méthodes :

### **1. Préparation des animaux :**

Avant la collecte des embryons produits, les vaches sont d'abord sélectionnées (donneuse-receveuse) selon les critères suivants :

#### **1.1. Donneuses :**

Normalement la donneuse est choisie pour ses qualités génétique et zootechnique selon les performances recherchées.

Néanmoins, pour notre travail ce choix s'est fait sur la bonne réponse à la superovulation et la facilité de récolte (d'après des travaux antécédents).

Ceci est vrai pour les animaux de race améliorés, pour la population locale il n'y a pas eu réellement de choix pour la simple raison que le travail s'est fait sur les animaux présents.

Les animaux étaient en parfait état de santé avec un BCS (Body Condition Score) entre 2,5 et 3,5.

Les 4 donneuses ont été examinées pour évaluer leur cyclicité. Deux examens de palpation ovarienne par voie transrectale à 11 jours d'intervalle ont été effectués prouvant que toutes les vaches donneuses ont été cyclées.

#### **1.2. Receveuses :**

Leur choix s'est porté surtout sur l'état de santé général et spécial (intégrité de l'appareil génital) qui était bon, sans pathologies gynécologiques et un BCS de 3-3,5.

Ces 3 receveuses ont été examinées pour évaluer leur cyclicité par la réalisation de deux examens de palpation ovarienne par voie transrectale à 11 jours d'intervalle prouvant que les vaches choisissons cyclées, ainsi que par l'observation des chaleurs naturelles (au moins 2 chaleurs espacées de 21 jours).

## 2. Protocole expérimental proprement dit :

### 2.1. Synchronisation des donneuses :

Après avoir choisi les donneuses un traitement de synchronisation sur les vaches cyclées a été effectué par l'utilisation de l'implant CRESTAR pour les 2 lots de races améliorée et locale. (Tab. 9)

Tableau 9 : protocole de synchronisation des donneuses

jour	N°	Race	N° d'identification	Observations	Date	Heure
J0	1	PR	0008	* pose d'implant « CRESTAR » à l'oreille gauche sous cutané 3 mg de norgestomet.  * injection de 2 ml de « CRESTAR » injectable	25-12-2005	09 :30h
	2	PN	98000		25-12-2005	09 :40h
	3	Che	99002		26-12-2005	09 :15h
	4	Che	99004		26-12-2005	09 :20h
J 10	1	PR	0008	*retrait de l'implant de l'oreille gauche  *injection de PGF 2x  *Injection de PMSG	04-01-2006	09 :00h
	2	PN	98000		04-01-2006	09 :05h
	3	Che	99002		05-01-2006	09 :10h
	4	Che	99004		05-01-2006	09 :15h
J12	1	PR	0008	Les chaleurs de référence observées à partir de	05-01-2006	19 :300h
	2	PN	98000		05-01-2006	19 :30h
	3	Che	99002		06-01-2006	16 :00h
	4	Che	99004		06-01-2006	16 :00h

**PR** : PIE Rouge, **PN** : PIE noire, **CHE** : CHEURFA (Race locale)

### 2.2. Traitement de superovulation :

Après synchronisation des donneuses (Tab. 10), un programme de superovulation a été instauré en utilisant, le STIMUFOL FSHp.LHp 40 % , 10 jours après l'apparition des chaleurs de référence, pendant 4 jours à 12 heures d'intervalle à des doses décroissantes.

**Tableau 10** : protocole détaillé du programme de superovulation.

N° du lot	Dates	Heures	Doses
1 <sup>e</sup> lot -race améliorée- PR : 0008 PN : 98000	15-01-2006	08 :30 h 20 :25 h	2 ml 2 ml
	16-01-2006	08 :20 h 20 :15 h	1.5 ml 1.5 ml
	17-01-2006	08 :20 h 20 :05 h	1 ml+4 ml D'ESTRUMATE 1 ml
	18-01-2006	08 :40 h 20 :10 h	0.5 ml 0.5 ml
2eme lot -race locale-	16-01-2006	08 :40 h 20 :30 h	2 ml 2 ml
	17-01-2006	08 :40 h 20 :05 h	1.5 ml 1.5 ml
	18-01-2006	08 :45 h 20 :10 h	1 ml+4 ml d'ESTRUMATE 1 ml
	19-01-2006	08 :30 h 20 :30 h	0.5 ml 0.5 ml

### 2.3. Insémination artificielle :

Une double insémination artificielle espacée de 12 heures a été effectuée 24 h après la dernière injection du traitement de super ovulation


 1ere IA : le matin : 12 h après la dernière injection  
 2eme IA : le soir : 24 h après la dernière injection

Utilisation de 2 paillettes par insémination, et donc 4 paillettes par animal.

**1<sup>er</sup> lot** : de races améliorées

1<sup>ere</sup> IA → 19.01.2006 → à 8 :30 h

2eme IA → 19.01.2006 → à 20 :30h

**2eme lot** : de races locales "cheurfa" :

1ere IA → 20.01.2006 → à 8 :30h

2eme IA → 20.01.2006 → 20 :30 h

La semence des taureaux utilisée :

{ IBR NEG CB UCEAR 03125 FR 7495022208 LECUYER 907 46 42808  
{ Semence de taureau local non identifiée.

#### **2.4. La récolte embryonnaire :**

Après insémination, fécondation, et arrivée des embryons au niveau des cornes utérines 4 à 5 jours après l'oestrus, et avant leur sortie de la zone pellucide (zone protectrice de l'embryon) à J9, la récupération des embryons s'effectue donc à J7 après fécondation.

Selon notre propre protocole expérimentale, la collecte s'est faite sur les 2 lots de donneuses, avec un décalage de 24 heures pour chaque lot, durant cette récolte, on a utiliser :

- Sondes de récolte (la cassou à 3 voies) stérilisées ou désinfectées.
- Dilatateur cervical
- Bouteilles, conteneur et les différentes verreries de laboratoire, stérilisées et séchées aussi filtres spéciaux.
- PBS (phosphate buffered saline) de Dulbecco stérile, 1 litre par récolte.
- Milieu de conservation des embryons, PBS enrichi avec 4% de BSA (albumine bovine sérique fraction v 4 gr/litre) en plus d'antibiotique et d'antifongique.
- Anesthésie type XYLOCAINE
- Seringues de 10 ml et de 50 ml.
- Permanganate de potassium pour la désinfection du matériel
- Bétadine pour la désinfection sur l'animal
- Gants pour le fouillé rectal, alcool chirurgical.
- Savon, papier hygiénique, eau.

La 1<sup>ère</sup> récolte a eu lieu le 26/01/2006, et a concerné le 1<sup>er</sup> lot de race amélioré.

La donneuse a été contentonnée dans un travail, avec un système de cornadis afin de l'immobiliser, et coincer sa tête. Cette méthode de contention a été effectuée sur nos 4 donneuses.

La technique réalisée pour cette récolte est la non chirurgicale, ou dite par voie cervicale.

Par la suite une épidurale basse a été effectuée à raison de 3cc de « XYLOCAINE », et on laisse l'animal quelques minutes, le temps que l'anesthésie agisse. L'opérateur a effectué un examen de palpation ovarienne par voie transrectale afin d'apprécier la qualité ovarienne après traitement de super ovulation, autrement dit évaluer le nombre de corps jaune palpés sur chaque ovaire, et cela s'est fait après avoir vider le rectum en mettant un gant lubrifié.

Avant toute manipulation par voie vaginale on lave la zone vulvaire et ses pourtours, avec de la Bétadine dilué dans l'eau, bien séchée avec du papier hygiénique.

Délicatement, on introduit la sonde Cassou à travers le col utérin, on retire partiellement le mandrin pour permettre d'avancer la sonde plus profondément, guidé par la main présente dans le rectum, le ballonnet est alors gonflé grâce à une seringue et le mandrin retiré.

On réalise un rinçage de la corne utérine dans le but de récupérer les embryons qui s'y trouvent. Cela est fait en injectant et en récupérant à travers la sonde une solution PBS, suivant des doses croissantes : 2 fois 20ml, 2 fois 30 ml, 2 fois 40 ml, une fois 50 ml, la dernière seringue comportera 2 ml de PBS et 30 ml d'air. A chaque fois qu'on introduit une quantité de solution on la récupère pour la stocker dans un flacon identifié et propre à chaque vache. Pour la pie noire (seulement) du 1<sup>er</sup> lot de donneuses on a utilisé un filtre d'embryons spécial pour essai ; ce filtre nous a été offert par le CNIAAG afin de le tester.

On déplace la sonde après avoir remis le mandrin métallique vers l'autre corne et on effectue la même opération.

### **Manipulation et classification des embryons :**

L'évaluation des embryons est une des parties les plus critiques de la technique de transfert. La classification des embryons n'est pas un critère exact d'évaluation de leur viabilité, mais c'est la base de l'obtention de taux de gestations et de la sélection des embryons pour la congélation (Seidel G.E.Jr. et Seidel S.M., 1991).

Après avoir récupéré le liquide de récolte après lavage des cornes utérines on laisse les flacons contenant ce dernier au repos afin que les embryons sédimentent. Après siphonage, les 100 ml du fond sont répartis en boîtes de Pétri stériles à fond quadrillé qu'on va examiner sous microscope binoculaire afin de trouver les embryons, les compter, les évaluer et les conditionner pour leur emploi.

La classification des embryons se fait selon leurs caractères morphologiques.

Il existe en général une coopération entre l'aspect morphologique des embryons et le développement après transfert, mais il arrive parfois que des embryons classés moyens ou mauvais se développent normalement alors que d'autres classés excellent ne donnent lieu à aucune gestation (Seidel G.E.Jr. et Seidel S.M., 1991)-voir tableau 11

**tableau 11 :** les taux de gestation des embryons classés dans 4 groupes basé sur la morphologie (Seidel G.E.Jr. et Seidel S.M., 1991)

<b>Classification</b>	<b>Nombre</b>	<b>Pourcentage d'embryons</b>	<b>Taux de gestation ou embryons transférés</b>
excellent	275	54	63
bon	153	30	58
moyen	42	8	31
pauvre	42	8	12

## RESULTAS

Les résultats obtenus de cette étude expérimentale sont évalués selon le plan suivant :

- 1) Résultats de la préparation des animaux choisis.
- 2) Résultats du programme de super ovulation et de la récolte
- 3) Résultats de la classification d'embryons collectés

### 1. Resultats de la préparation des animaux choisis :

#### 1.1. La sélection des animaux :

Les animaux ont été choisis selon les critères d'état de santé et d'état d'embonpoint qui été bon. (Tab. 12, 13 & 14)

**Tab. 12**

1<sup>er</sup> lot des donneuses de races améliorées

N°	Race	N° d'identification	Age	Code chaire	Parité
1	Pie rouge	0008	6ans	2.5	Vache
2	Pie noire	98000	8ans	3	Vache

**Tab. 13**

2<sup>ème</sup> lot des donneuses de races locales :

N°	Races	N° d'identification	Age	Code chaire	Parité
1	Locale -cheurfa-	99002	7ans	4	Vache
2	Locale -cheurfa-	99004	7ans	3.5	Vache

**Tab. 14**

3<sup>ème</sup> lot des receveuses :

N°	Race	N° d'identification	Age	Code chaire	Parité
1	Pie noire	02008	4	2.5	Vache
2	Pie noire	03003	3	2.5	Vache
3	Pie rouge	99002	7	3	Vache

## 1.2. La cyclicité des animaux :

Les animaux choisis ont déjà été vus en chaleurs par le vacher. Néanmoins une double examinaisons par exploration rectale a été réalisée sur chaque vache pour confirmer leur cyclicité.

Tableaux (15, 16 & 17) décrivant les différentes observations sur les donneuses et receveuses :

Tab. 15 1<sup>er</sup> lot : donneuses de race améliorée :

N°	Race	N° d'identification	Ovaire gauche	Ovaire droite	Cyclicité
1	Pie rouge	0008	follicule	Corps jaune	+
2	Pie noire	98000	Corps-jaune	follicule	+

Tab. 16 2<sup>eme</sup> lot : donneuses de race locale :

N°	Race	N° d'identification	Ovaire gauche	Ovaire droite	Cyclicité
1	Local -cheurfa-	99002	Corps jaune devloppé	Corps jaune petit+follicule	+
2	Local -cheurfa-	99004	Ovaire lisse	Corps jaune	+

Tab. 17 3<sup>eme</sup> lot des receveuses :

N°	Race	N° d'identification	Ovaire gauche	Ovaire droite	cyclicité
1	Pie noire	02008	Ovaire lisse	Corps jaune	+
2	Pie noire	03003	Corps-jaune	Follicule+petit corps jaune	+
3	Pie rouge	99002	Follicule+petit corps jaune	Corps jaune	+

## 2. Resultats du programme de super ovulation et de la récolte :

### 2.1. Les signes de chaleurs de référence :

Les manifestations des chaleurs des femelles synchronisées ont été observées.

- Les premiers signes de chaleurs ont été observés à partir de 34 heures après retrait d'implant et injection de PGF2x.
- Le signe principal de chaleurs (se laisser chevaucher) a été observé dans les 55 heures du retrait d'implant et d'injection de PGF2x.
- Les premiers signes de chaleurs correspondant au pro-oestrus sont le changement d'attitude de l'animal qui devient agité, avec un reniflement plus ou moins marqué et une glaire cervicale peu abondante .d'une muqueuse vulvaire semi – congestionnée

- une fois en phase d'oestrus, ce même animal cherche une partenaire en le chevauchant, et en se laissant chevaucher. La glaire cervicale est abondante, filante et claire, sans oublier les séquences de beuglement avec baisse d'appétit.
- En fin de chaleur, la glaire cervicale devient opaque, et diminue de quantité, avec présence de filets de sang dans la glaire cervicale.

\* Ce tableau (Tab. 18) démontre selon la synchronisation de nos femelles, la période d'apparition des chaleurs de référence par rapport à l'heure du retrait de l'implant.

Lot des donneuses :

N°	Race	N° d'identification	Debut des chaleurs	Les chaleurs	Fin des chaleurs
1	pie rouge	0008	34 :30 h	55 :00 h	76 :00 h
2	Pie noire	98000	34 :45 h	55 :10 h	76 :15 h
3	Locale -cheurfa-	99002	31 :30 h	47 :00 h	75 :45 h
4	Locale -cheurfa-	99004	31 :30 h	47 :00 h	75 :15 h

Tab. 19 : Lot des receveuses :

N°	Race	N° d'indentification	Chaleurs
1	Pie noire	02008	Matin
2	Pie noire	03003	Soir
3	Pie rouge	99002	Après-midi

Selon les chaleurs observées, on peut dire que toutes nos vaches ont été bien synchronisées autrement dit ont bien répondu au protocole de synchronisation "CRESTAR".

## 2.2. Evaluation de la réponse ovarienne au traitement de superovulation :

Au moment de la récolte toutes les femelles donneuses ont été soumises à une exploration rectale plus précisément à la palpation ovarienne afin d'apprécier la qualité de la réponse au traitement de super ovulation "STIMUFOL" à 40% par comptage des corps-jaunes présents sur chaque ovaire.

**Tableaux 20 & 21 : appréciation de la reponse ovarienne au traitement de super ovulation**

**Tab. 20 1<sup>er</sup> lot : des donneuses de race améliorées :**

N°	Race	N° d'identification	C-j à l'ovaire gauche	C-j à l'ovaire droit
1	Pie rouge	0008	10	12
2	Pie noire	98000	08	06

**Tab.21 2<sup>ème</sup> lot : des donneuses de race locale :**

N°	Race	N° d'identification	C-J à L'ovaire gauche	C-J L'ovaire droit
1	Locale -cheurfa-	99002	2	4
2	Locale -cheurfa-	99004	6	7

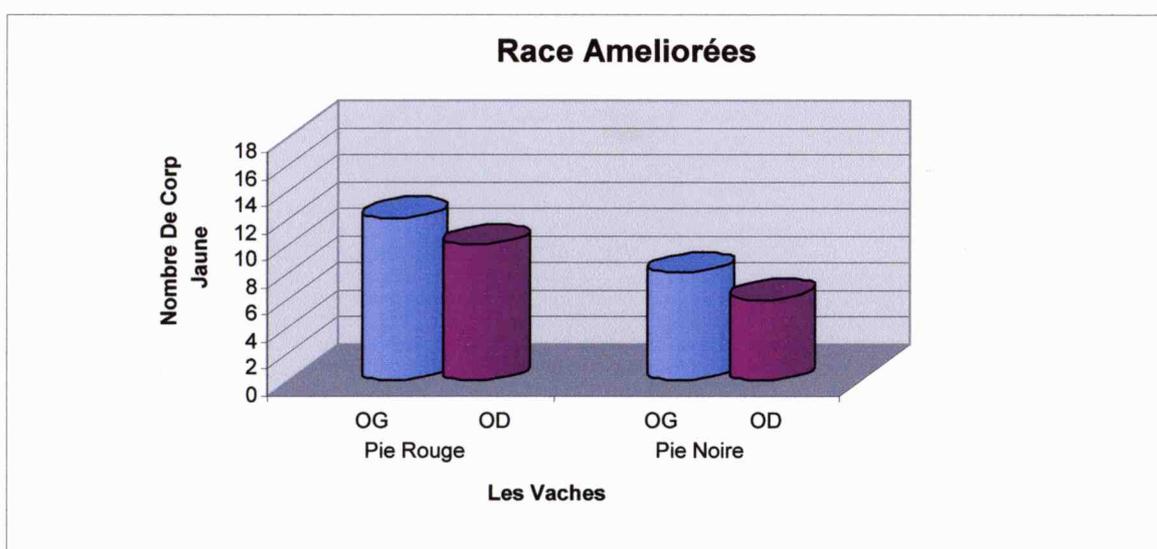


Fig.12 Reponse ovarienne chez les races ameliores

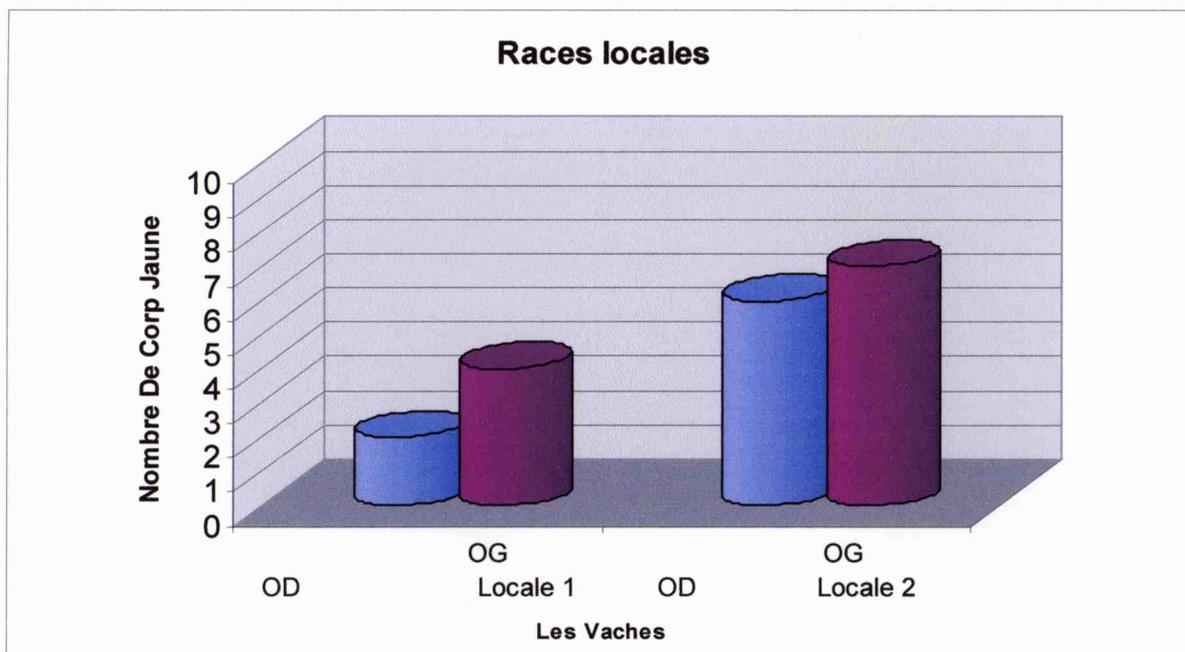


Fig.13 Reponse ovarienne chez les races locales

### 2.3. Resultat de la collecte :

La récolte a été réalisée sur les donneuses synchronisées puis traitées au "STIMUFOL" à 40%. La collecte n'a été satisfaisante que pour le premier lot des races améliorées.

La collecte embryonnaire sur les deux vaches de race améliorée a été réalisée dans de bonnes conditions après une épidurale basse effectuée par l'utilisation de 3cc de "XYLOCAINE".

La quantité de liquide récolté (PBS) était plus ou moins la même que celle administrée.

Lors de la récolte, un filtre spécial a été utilisé afin d'empêcher le passage des embryons à travers les mailles pour la vache donneuse pie noire –N° : 98000 seulement.

#### Tableaux 22 & 23 : Résultats de la récolte d'embryons :

Tab. 22 1<sup>er</sup> lot : des donneuse de race améliorée :

N°	Race	N° d'identification	Utilisation du filtre	Nombre d'embryons récoltés
1	Pie rouge	0008	–	4
2	Pie noire	98000	+	1

Tab. 23 2<sup>ème</sup> lot des donneuses de race locale

N°	Race	N° d'identification	Utilisation du filtre	Nombre d'embryons récoltés
1	Locale	99002	–	0
2	locale	99004	–	0

### 3. Resultats de la classification d'embryons :

Une fois repérés et isolés, les embryons ont été classés selon leurs caractères morphologiques d'après les critères de qualité (ELDSEN et al.1978).

Concernant la qualité d'embryons récoltés au nombre de 5 pour le premier lot de race améliorée , 2 embryons (Photo+description) étaient de bonne qualité classe I , donc congelables. Voir Annexe

Les 3 autres embryons (photo et annexe) étaient de qualité moyenne –classe II- donc transférable. (Tab. 24)

**Tab. 24** : résultat global de la classification des embryons récoltés –donneuse du 1<sup>er</sup> lot de race améliorée

N°	race	N° d'identification	Nombre de CJ estimés	Nombre d'emb. récolté	Classe I	Classe II	Transféré	Congelé
1	Pie rouge	0008	22	4	2	2	2	2
2	Pie noire	98000	14	1	0	1	1	0
3	Locale cheurfa	99002		0	0	0	0	0
4	Locale cheurfa	99004		0	0	0	0	0
total	/	/	?	5	2	3	3	2



**Photo montrant les quatres embryons récoltes**

## **Discussion :**

Le choix de la donneuse est important du fait qu'elle soit responsable d'au moins 50 % de la variabilité des résultats de production d'embryons ( Nibart M. , 1991 ).

Le choix des donneuses et des receveuses s'est fait sur les animaux présents dans la ferme expérimentale de l'université de Blida.

L'objectif réel de cette étude n'était pas basé sur la sélection génétique, mais plutôt sur la mise en place et la familiarisation de cette biotechnologie en Algérie.

L'une des conditions les plus importantes des animaux choisis est leur cyclicité. Une vache est considérée cyclée lorsqu'elle présente des structures palpables différentes sur l'ovaire entre la première et la deuxième exploration rectale à 11 jours d'intervalle.

Les 7 vaches ont montré une cyclicité normale confirmée par les résultats de l'exploration rectale (2 examens à 11 jours d'intervalle) avec des chaleurs facilement observables.

Les animaux choisis sont âgés entre 6 et 8 ans. Plusieurs auteurs ont démontré l'effet de l'âge sur la production d'embryons. Selon Donaldson L.E., (1984) il y'a une chute de la production et de la qualité des embryons transférables, lorsque l'âge de la donneuse va au-delà de 10 ans.

Cette baisse serait associée à une diminution du nombre de follicules entamant chaque jour leur croissance (Lerner S.P., et al., 1986 ; Drion P.V., et al., 1996), ainsi qu'à une augmentation du nombre d'ovocytes non fécondés Manciaux L.,et al., 2000).

La variabilité de la réponse ovarienne au traitement de superovulation reste très importante dépendante à la fois du nombre de follicules stimulés susceptibles d'ovuler ainsi qu'au nombre d'ovulations.

Des études sur la dynamique folliculaire ont montré que le principal facteur limitant dans la réponse à la stimulation gonadotrope est l'état de la population folliculaire, dont la taille se situe entre 3 à 6 mm au moment où débute le traitement de superovulation (Monniaux D. et al. 1983 ; Kawamatam M., 1994).

Cependant, des études récentes ont démontré que le nombre de follicules stimulés et le taux d'ovulation sont aussi influencés par des facteurs génétiques (Manciaux L., 1999 ; Ponsart C, et al, 2001 ; Tamassia M. et al ., 2001), ainsi que des facteurs d'élevage tels que l'alimentation (Freret S., 2000), et des facteurs physiologiques.

Le statut ovarien reste l'un des facteurs essentiels influençant la variabilité de la réponse ovarienne à la stimulation aux différentes gonadotropines.

Une étude réalisée par Monniaux D., (1982), après analyse par les techniques d'histologie quantitative, montre que les animaux chez lesquels sont observées de fortes réponses se caractérisent par la réponse d'un grand nombre de follicules dont la croissance est rapide.

Le seul facteur numérique expliquerait 70 % de la variabilité du nombre d'ovulation observées à la suite d'un traitement de superovulation. Cette valeur est à rapprocher des résultats publiés par Hahn J.,(1992), selon lequel 24 % de la variabilité de la réponse est expliquée par des facteurs extrinsèques. Par conséquent, pour améliorer l'efficacité de la superovulation, il faudrait intervenir avant la croissance et la maturation folliculaire, en augmentant le nombre de follicules susceptibles d'être recrutés.

Pour l'espèce bovine, la comparaison des réponses pour les animaux qui ont subi le traitement de superovulation avec et sans follicule dominant montre que le nombre moyen d'ovulations est doublé chez les animaux n'ayant pas subi l'influence d'un follicule dominant.

Il apparaît donc que l'amélioration de l'efficacité des traitements de superovulation dépend moins de la mise à disposition de nouvelles molécules ou de nouveaux protocoles de traitements, que de l'administration d'un prétraitement susceptible de faire régresser le follicule dominant t/ou d'augmenter le nombre de follicules stimulables par les gonadotropines (Saumande, 1995).

La qualité de la réponse ovarienne à notre traitement de superovulation est très bonne et encourageante. Nos résultats sur les races améliorées (18 %) sont légèrement meilleurs à ceux obtenus par CHUPIN (1988) qui a trouvé un taux de 14,7 %.

Le stress a un effet sur la reproduction en agissant sur le cerveau plus précisément l'hypothalamus « centre de contrôle de la reproduction » par les fréquences de décharge de

GnRH et de LH afin de déterminer la croissance folliculaire ainsi que le nombre final de follicules à ovuler (Dobson et al, 2003).

Le stress perturbe le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyséogonadique soit par diminution de la sécrétion de la GnRH d'où troubles de la fonction ovarienne, soit par perturbation de la décharge pulsatile de LH et baisse d'oestradiol sécrété, décharge ne se fait plus au bon moment donc ovulation retardée ou inexistante.

Pour les races locales le nombre de corps jaune était faible (6,5 %). Ceci peut être dû à plusieurs facteurs, les plus importants sont le stress et leur état d'embonpoint.

Les vaches de race locales réagissaient de manière agressive, ce qui faisait qu'à chaque injection de STIMUFOL il fallait une contention forcée. De même les travaux d'Adel (2004) sur la race locale ont été médiocres. Ceci peut être expliqué par l'effet race.

A savoir que l'excès de poids est néfaste. Les animaux obèses ont une mauvaise fertilité donc une réponse négative sur le nombre d'ovulations.

En effet l'influence de la nutrition sur les capacités de reproduction des mammifères domestiques est connue depuis très longtemps, et l'optimisation des performances zootechniques passe par une parfaite maîtrise de l'alimentation. Cette influence d'alimentation se fait sentir plusieurs semaines voir plusieurs mois plus tard. Elle est maximale durant la période critique ovulation-nidation (INRAP, 1988).

Les deux animaux de race locale ont un BCS entre 3,5 et 4 ce qui les rend vulnérables.

L'excès comme l'insuffisance par rapport aux normes peuvent entraîner une baisse de fertilité.

La détermination de l'état corporel est une méthode indirecte d'estimation de la quantité d'énergie métabolisable dans le tissu adipeux et musculaire des vaches laitières. Elle constitue un outil fondamental de la gestion nutritionnelle des exploitations

Bien que la réaction des vaches améliorées traitées au STIMUFOL sur le plan clinique était satisfaisante dans l'ensemble avec une moyenne de 18 corps jaune (Pie rouge 22–Pie noire 14) le

nombre d'embryons récoltés reste faible avec une moyenne de 2,5 par vache de race améliorée (Pie rouge 4- Pie noire).

Nos résultats sont inférieurs à ceux obtenus par Touati en 1993 et Adel en 2004 utilisant le même extrait hypophysaire et avec le même rapport FSH/LH c'est-à-dire 40 % respectivement  $8,5 \pm 0,54$  et 4,5). Par contre ils sont supérieurs à ceux trouvés par Amara de la même région (Blida) en 2004 (0,91 embryons / vache).

Cette différence peut être expliquée en grande partie par l'extrait hypophysaire utilisé par Amara : le PLUSET. Cet extrait hypophysaire est composé de FSH.LH. Porcine à proportions égales. L'extrait hypophysaire utilisé dans nos travaux est le STIMUFOL avec un rapport FSH / LH de 40 %.

En fin cette variation peut être expliquée par les différents résultats des travaux utilisant des extraits différents à proportions différentes de FSH / LH (Chupin D., et Procureur 1983 ; et Donaldson L.E., 1984).

L'utilisation du matériel spécifique adéquat pour la récolte, la manipulation et l'identification des embryons tels que : la sonde de Cassou à 3 voies, le filtre spécifique et loupe appropriée pour l'observation des embryons jouent un rôle certains dans les résultats du nombre d'embryons récoltés.

Pour notre travail, le nombre de 5 embryons pour les 2 vaches de race améliorée aurait du être supérieur (vue qu'il y a eu 36 ovulations). Cela peut être expliqué par le fait que :  
- au cours de la récolte on a du changer la sonde Cassou en raison de la défaillance d'une partie du caoutchouc de cette dernière. Ce qui a entraîné la perte d'une certaine quantité de liquide et probablement d'embryons (Pie rouge, N° d'identification : 0008).

Pour la Pie noire et suite à la recommandation du C.N.I.A.A.G. nous avons utilisé un filtre spécifique pour la récolte des embryons. Ce filtre a la capacité d'empêcher les embryons de passer à travers les mailles. Normalement après rinçage de ce filtre les embryons doivent tomber dans le récipient. Par contre ce que nous avons constaté, c'est qu'après rinçage du filtre une couche de débris fixait les mailles emprisonnant probablement ainsi un certains nombres d'embryons.

Pour ce qui est de la qualité des embryons récoltés, après classification la totalité a été congelée ou transférée respectivement classe I et classe II.

## CONCLUSION

Le travail réalisé avec comme premier objectif la maîtrise de la technique du transfert embryonnaire chez les bovins. Autrement dit la super-ovulation, la récolte, la recherche, la classification, le transfert et la congélation des embryons.

Cette biotechnologie n'est encore qu'à l'état embryonnaire en Algérie et nous espérons avec l'aide du CNIAAG rendre cette technique plus courante.

La transplantation embryonnaire doit donc être mise à profit afin d'intensifier la sélection des mères, des taureaux et d'I A.

Les résultats obtenus nous ont permis de constater que la réponse ovarienne au traitement de super-ovulation avec de la FSH.LH à 40% était bonne comparant nos résultats à d'autres.

Les donneuses de race améliorées ont mieux répondu que les donneuses de race locale « Cheurfa »

Pour ce qui est de la qualité des embryons récoltés, trois embryons de classe II ont été transférés sur des receveuses préalablement synchronisées et deux de classes I ont été congelés.

Ce travail nous a permis de nous initier à cette biotechnologie de deuxième génération et ouvrir une porte à d'autres travaux dans ce domaine indispensable à l'amélioration génétique de notre cheptel.

## **Recommandations**

Afin de maîtriser cette technique, nous recommandons de répéter plusieurs fois ce traitement, en essayant à chaque fois de déterminer le facteur limitant la réussite.

Pour cela, nous proposons pour avoir de bons résultats :

- Une bonne sélection de receveuses et des donneuses (santé et génétique).
- Elimination du stress (environnement, management et individuel).
- Prévoir un équipement adéquat pour la recherche, manipulation et classification des embryons (notamment loupe appropriée pour l'identification des embryons).
- Penser à la formation d'un personnel qualifié.

## REFERENCES

- 1) Bak A., Callsen H., et Greve T., 1990. embryo transfer as method of breeding in high producing dairy herds, in 6e cologue scientifique A.E.T.E, Lyon 7-8 septembre 1990; pp, Fond.M.Mériaux.Ed. (Lyon).
- 2) Bellows R.A et Short R.E., 1980.Effects of precalving feed level on birth weight, calving difficulty and subsequent fertility. *J. Anim. Sci.* 46 : 1522-1528.
- 3) Bellows R.A et Short R.E.,Richardson G V., 1982 Effects of sire, age of dam and gestation feed level on dystocia and post partum reproduction. *J. Anim. Sci.* 55 : 18-27.
- 4) Brassard, P; Martineau, R ; Twagiramung, H., 1997 l'insémination artificielle à temps fixe enfin possible.Symposium sur les bovins laitiers.CPRQ-, 79.
- 5) Broadbent P.J., Stewart M., Dolman D.F., 1991.Recipient management and embryo transfert. *Therio.*35,125-129.
- 6) Burns P.D., Spitzer J.C., Bridges Jr W.C., Henricks D.M., Plyler B.B., 1993. Effects of metestrous administration of a norgestomet implant and injection of norgestomet and oestradiol valerate on luteinizing hormone release and develoment and function of corpora lutea in suckled beef cows. *J. Anim.Sci.*, 71, 983-988.
- 7) Cartmill J.A., El-Zarkouny S.Z., Hensley B.A., Lamb G.C., Stevenson J.S., 2001. Stage of cycle, incidence, and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols. *J. Dairy Sci.*, 84, 1051-1059.
- 8) Chagas E Sliva J., Cdadao M.R., Lopes Da Costa L., 1999. Effect of parity and type of oestrus of recipient on pregnancy rate following embryo transfer in dairy cattle. In: *Comptes rendus de la 15éme reunion de l'A.E.T.E. Lyon, 10-11 septembre*, 132.
- 9) Chastant-Maillard S., Balandraud J., Jegou L., Kessler T.,Quinton H., Constant F., Mialot J.P., 2002. Actualités dans le traitement de l'infécondité chez la vache : autour du GnRH. In : *Conduite à tenir de l'animal au troupeau, du troupeau à l'animal. Journées Nationales des Groupements Techniques Vétérinaires*, 217-224. SNGTV Ed, Paris.
- 10) Chupin D, 1988. Superovulation par PMSG ou FSH pour le transfert embryonnaire. *Colloque Soc Fr Etude de Fertilité* 26: 213-232. In : Combarous Y, Volland-Nail P, 1997. *Les Gonadotropines*. INRA, Paris. Association of Bovine Practitioner, AABP Ed, Vancouver, 95-105.
- 11) Chupin D, Procureur R, 1983. La stimulation de l'ovaire pour produire des embryons chez les bovins. In : Saumand J. *Superovulation chez les bovins. Actualités et perspectives*. AETE. 1987and ovulation in dairy cows and allowing successful fixedtime insemination. *Br. Vet. J.*, 147, 171-182.
- 12) Chupin D., Deletang F., Petit M., Pelot J., Le Provost F., Ortavant R., Parez M., Mauléon P., 1974. Use of progestagens in subcutaneous implants for the control of sexual cycles in the cow. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.*, 14, 27-39.dairy herds with low estrus detection efficiency. *J. Dairy Sci.*, 80, 2766-2774.
- 13) Deletang F. 1998 Rappels d'anatomie et de physiologie in « Maitriser la reproduction c'est maitriser l'avenir » le PRID C.E.V.A. sante animale.
- 14) Derivaux J. et Ectors F. 1985. *Reproduction chez les animaux domestiques*. Cabay, louvain la Neuve- Belgique.
- 15) Diskin M.G., Sreenan J.M., Roche J.F., 2001. Controlled breeding systems for dairy cows. In: M.G. Diskin (ed), *Fertility in the high producing dairy cow*, Occasional publication n°26, 175-193. British Society of Animal Science, Edinburgh.
- 16) Dobson H., Ghuman S.P.S., Prabhaker S., et Smith R.F., 2003. A conceptual model of the influence of stress on femal reproduction. *Reproduction*. 125 : 151-163.
- 17) Donaldson LE, 1984. Dose of FSH-P as a source of variation in embryo production from superovulated cows. *Theriogenology* 22: 205-212. IN : Combarous Y, Volland-Nail P, 1997. *Les Gonadotropines*. INRA, Paris

- 18) Driancourt M.A., 2001. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*, 55, 1211-1239.
- 19) Drion P.V, Beckers J.F, Ectors F.J, Hanzen C, Houtain J.Y, Lonergan P., 1996. Regulation de la croissance folliculaire et lutéale : 1. Folliculogénèse et atresie. *Le point vétérinaire* .28: numéro special , 881-891.
- 20) Drion P.V., Beckers J.F., Ectors F.J., Hanzen C., Houtain J.Y., Lonergan P., 1996. Efficacy of an intravaginal progesterone insert and an injection of PGF2a for synchronizing oestrus and shortening the interval to pregnancy in postpartum beef cows, peripubertal beef heifers, and dairy heifers. *J. Anim. Sci.*, 79, 982-995.
- 21) Edmonson AJ, Lean .IJ, Weaver , CO et al 1989 :Body condition scoring chart for Holstein dairys cows .*J.Dairy .Sci.*,72, 68-78.
- 22) Efficacy of an intravaginal progesterone insert and an injection of PGF2a for synchronizing estrus and shortening the interval to pregnancy in postpartum beef cows, peripubertal beef heifers, and dairy heifers. *J. Anim. Sci.*, 79, 982-995.
- 23) Enjalbert F., 1998. Alimentation et reproduction chez les bovines : la préparation des receveuses. In : *Comptes rendus des journées nationales des GTV .Tours, 27-28-29 mai, 49-55.*
- 24) Feret S., 2000. Variation du niveau d'apport nutritionnel et production d'ovocytes et d'embryon chez les ruminants : étude bibliographique. *Elevage et insémination*. 297 :3-5.
- 25) Fortune J.E. Ovarian follicular growth and development in mammals. *biol.reprod.*,1994; 50:225-232
- 26) Gaines J.A., McClure W.H., Vogt D.W., et Kincaid C.M., 1966. Heterosis from crosses among British breeds of beef cattle : Fertility and calf performance to weaning. *J.Anim.Sci.*25:5-13.
- 27) Gong J.G, Bremley T.A, Webb .R The effect of recombinant bovine somatotrophin on ovarian follicular growth and development in heifers. *J . Repord Fert* 1993: 17 -247-254.
- 28) Grimard B et ., Humblot P, Mialot J.P., Jeanguyot N., Sauvant D., Thibier M., 1997. Absence of reponse to oestrus induction and synchronization treatment in related to lipid mobilisation and postpartum interval in suckled beef cows. *Nut. Reprod. Dev.*, accepté pour publication.
- 29) Grimard B et, Humblot P., 26 janvier 1996. Endocrinologie du post-partum et rétablissement de l'activité ovarienne chez la femelle bovine : influence du mode de production laitière journée AERA, Maison Alfort, *Compte rendu AERA Ed.*, p. 7-28.
- 30) Grimard B., 1996. Relations nutrition- reproduction chez la vache allaitante : Effets d'une restriction alimentaire sur la fertilité à l'oestrus induit chez la vache allaitante de race Charolaise. Thèse de doctorat de l'INA-PG, Paris. 148p.
- 31) Grimard B., Humblot P., Mialot J.P., Sauvant D., Thibier M., 1994. Effects of energy restriction on response to oestrus synchronization treatment in postpartum charolais suckled beef cows. *J. Reprod. Fert.*, Abstarct series, 14, abstract33.
- 32) Grimard B., P.C., Ponter A.A., Khireddine B., Mialot J.P., 1998. Synchronisation des chaleurs, méthodes et facteurs de réussite en élevage allaitant. In *Comptes rendus des journées nationals des GTV . Tours, 27-28-29 mai, 113-120.*
- 33) Grimard B., Ponter A.A., Rosso V., Wissocq B., Humblot P., 2000. Effect of prostaglandin F2a injection 48 hours before CRESTAR® implant removal on fertility at induced oestrus in cyclic beef cows bred in winter. 14th International Congress on Animal Reproduction, Stockholm, 2-6 July 2000, Abstracts, Vol 1, 14:38.
- 34) Gyawu P., Ducker M.J., Pope G.S., Saunders R.W., Wilson G.D.A., 1991. The value of progesterone, oestradiol benzoate and cloprostenol in controlling the timing of oestrus Régulation de la croissance folliculaire et lutéale : 1. Folliculogénèse et atresie. *Le point vétérinaire* .28 : numéro spécial, 881-891. Thèse de doctorat 3°cycle. Paris VI.
- 35) Hahn J., 1992. Attempts to explain and reduce variability of superovulation. *Therio.*, 28:268-75.
- 36) Hahn J., 1996. communications personnelles

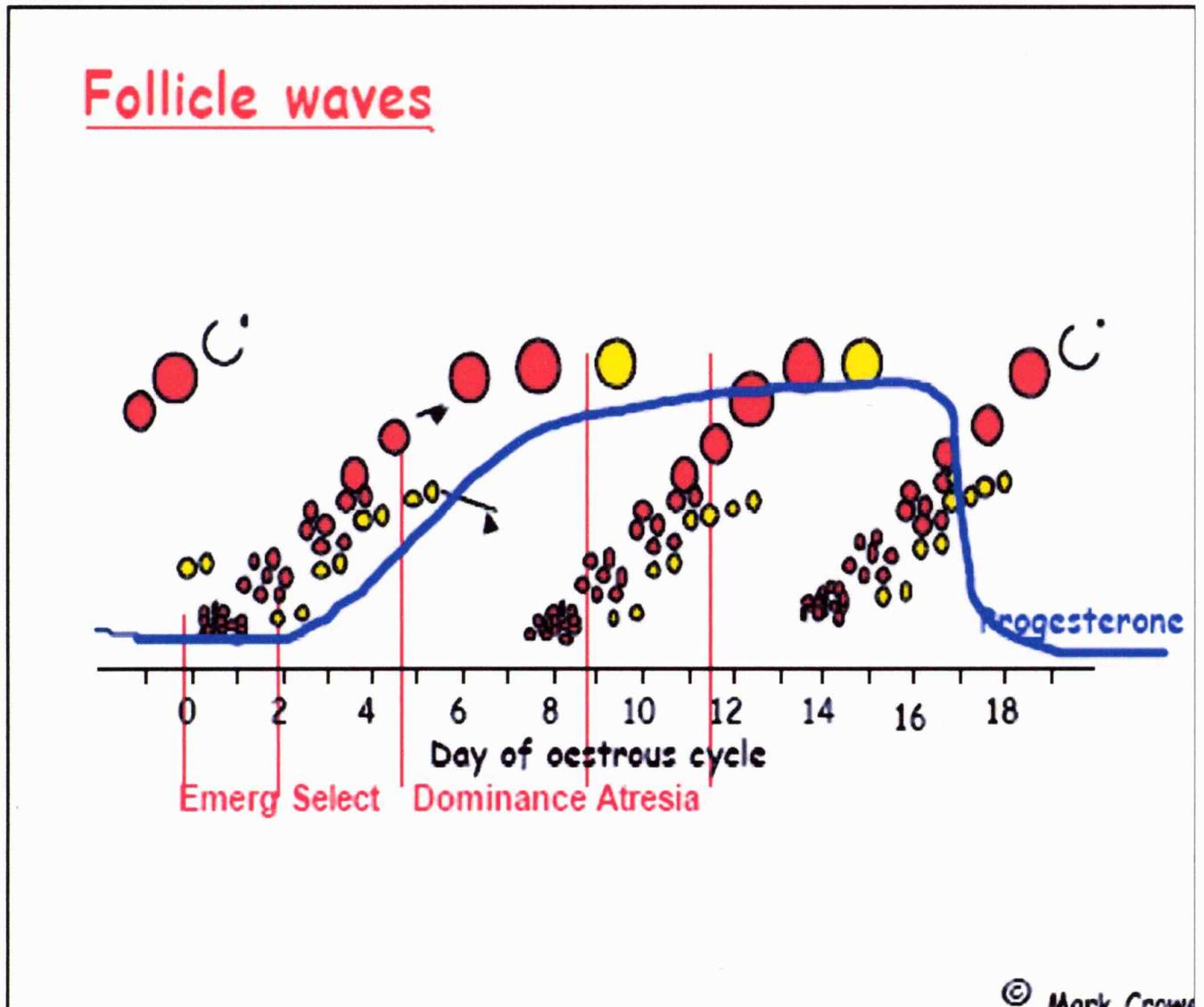
- 37) Hasler J.F., 2001. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Therio*. 56 : 1401-15.
- 38) Heuwieser W., Oltenacu P.A., Lednor A.J., Foote R.H., 1995. Evaluation of different protocols for prostaglandin synchronization to improve reproductive performance in
- 39) Holmes D.H et Hopley D. H., 1978. The effects of plane of nutrition, live weight, temporary weaning and breed on the occurrence of oestrus in beef cows during the post-partum period. *Anim. Prod.* 2: 47-54.
- 40) Kawamata, M. 1994. Relationships between the number of small follicles prior to superovulatory treatment and superovulatory response in Holstein cows. *Journal of Veterinary Medical Science* 56(5), 965-967. In: Gordon I. 1996. *Reproduction in: Cattle and Buffaloes*. Vol. 1, Cab International, UK.
- 41) KO JCH, Kastelic JP. Del Campo Mr et Coll. Effects of dominant follicle on ovarian follicular dynamics during the oestrus cycle in heifers. *J. Reprod. Fert* 1991; 91-511-519.
- 42) Lacerte, G., La détection des chaleurs et le moment de l'insémination artificielle. centre d'insémination artificielle du Québec Saint-hyacinthe. symposium sur les bovins laitiers. 30 octobre 2003, CRRAQ 2003, 1-3.
- 43) Lauriere P., Maniere J., Chastant S., Grimard B., 2001. facteur de variation de la production chez les vaches charolaises superovulées en région Bourgogne, 361-364.
- 44) Laverdière G., 1994. Comparaison de l'effet de deux analogues de la prostaglandine F2 $\alpha$  sur la synchronisation de l'oestrus chez la vache de boucherie. *Can. J. Anim. Sci.*, 74, 29-36.
- 45) Lavoit M, Fortune JE. Follicular Dynamics in heifers after injection of PGF2 $\alpha$  during the first wave of follicular development. *Theriogenology* 1990.
- 46) Legrand S.F.R., 2003. transfert embryonnaire en race charolaise en clientèle: étude des facteurs de réussite liés à la receveuse et à l'embryon. Thèse N° 10, ENVA Ifort.
- 47) Lerner S.P, Thayne W, Baker Henschen T. Meredith S. Inskip E.K, 1986. Age, dose of FSH and other factors affecting superovulation in Holstein cows. *J. Anim. Sci.* 63: 176-83.
- 48) Lerner S.P., Thayne W.V., Baker Henschen T., Meredith S., Inskip E.K., 1986. Age, dose of FSH and other factors affecting superovulation in Holstein cows. *J. Anim. Sci.* 63: 176-83.
- 49) Lowman B.G., Scott N.A., Scott P.R, 1994. An evaluation of some breeding management options in beef herds in the UK. *Vet Record*. 135 : 9-12.
- 50) Lucy M.C., Billings H.J., Butler W.R., Ehnis L.R., Fields M.J., Kesler D.J., Kinders J.E., Mattos R.C., Short R.E., Thatcher W.W., Wettemann R.P., Yelich J.V., Hafs H.D., 2001.
- 51) Lucy M.C., Stevenson J.S., Call E.P., 1986. Controlling first service and calving interval by prostaglandin F2 alpha, gonadotropin-releasing hormone, and timed insemination.
- 52) Manciaux L, Ponsart C, Grisouard D, Humblot P, 2000. Sources of variation in embryo production following superovulation in the Monbelliard breed. *Therio* .53:502.
- 53) Manciaux L., 1999. Paternal influence on embryo yield following superovulation in the montbeliard breed. *AETE* : 200.
- 54) Manciaux L., Ponsart C., Grisouard D., Humblot P., 2000. Sources of variation in embryo production following superovulation in the monbelliard breed. *Therio*. 53 : 502.
- 55) Mateus L., Da Costa L.L., Cardos J.J., Silva J.R., 2001. Treatment of unobserved oestrus in a dairy cattle herd with low oestrus detection rate up to 60 days post-partum. *Reprod. Domest. Anima.*, 37, 57-60.
- 56) McIntosh D.A., Lewis JA, Hammond D., 1984. Conception rates in dairy cattle treated with cloprostenol and inseminated at observed oestrus. *Vet. Rec.*, 115, 129-30
- 57) Menard D.P., Martinez-Bello J.D., 2000. Is it possible to increase the number of viable embryos using progestagènes ear implants 1-3 days before standard superovulation, SOV with low response cows or low fertility cows. *AETE* 186.

- 58) Mialot J.P et Grimard B., 1996. alimentation énergétique et fécondité chez la vache allaitante, journées nationales des GTV. Pathologie de la nutrition ,233-241.
- 59) Mialot J.P., Constant F., Dezeaux P., Grimard B., Deletang F., Ponter A.A., 2003. Estrus synchronization in beef cows: comparison between GnRH + PGF2 $\alpha$  + GnRH and PRID + PGF2 $\alpha$  + ECG. Theriogenology, 60, 319-330.
- 60) Mialot J.P., Laumonier G., Ponsart C., Fauxpoint H., Barassin E., Ponter A.A., Deletang F., 1999. Postpartum subestrus in dairy cows: comparison of treatment with prostaglandin F2alpha or GnRH + prostaglandins F2 alpha + GnRH. Theriogenology, 52, 901-911.
- 61) Mialot J.P., Noel F., Puyalto C., Laumonier G., Sauveroche B., 1998. Traitement de l'anoestrus post-partum chez la vache laitière par le CIDR-E ou la prostaglandine
- 62) Monniaux D., 1982. Origine de la variabilité de la réponse ovulatoire à PMSG chez la génisse.
- 63) Moreira F., de la Sota R.L., Diaz T., Thatcher W.W., 2000. Effect of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. J. Anim. Sci., 78, 1568-76.
- 64) Nibart M., Piumi F., Morel A., Geldhof A et Lacaze S., 1997. Compte rendu de la visite au présde l'équipe TE du CIA d'Oosterzele (Belgique) les 15 et 16 octobre 1997.
- 65) O'Connor, M., Heat detection and timing of insemination for cattle. Pennstate college of agricultural sciences cooperative extention. 1993, 1-18.
- 66) Odde K.G., 1990. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. J. Anim. Sci., 68, 817-830.
- 67) Pankowski J.W., Galton D.M., Erb H.N., Guard C.L., Grohn Y.T., 1995. Use of prostaglandin F2a as a postpartum reproductive management tool for lactating dairy cows. J. Dairy Sci., 78, 1477-1488.
- 68) Perez. M., Duplan. J.M., 1987. ; L'I.A. Bovine : Reproduction et amelioration genetique. I.T.E.B& U.N.C.E.I.A. Edition : Marion. G. (p :101-124)
- 69) Peters A.R. et Ball P.J.H. 1994. Reproduction in cattle. Butter worths – U.K.
- 70) Ponsart C., Govignon A., Rohou A., Manciaux L., Delcroix D., Grisouard D., Humblot P., 2001. Effects of paternal origin of the donor cow on embryo production after superovulation in the prim holstein and montbeliard breeds. THERIO. 5551° / 369.
- 71) Ponsart C., Khieddine B., Ponter A.A., Humblot P., Sauvant D., Mialot J.P., Grimard B., 2000. Influence of the type of energy supply on LH secretion, follicular growth and response to oestrus synchronization treatment in feed restricted suckler beef cows. Therio. 54: 1373-1387.
- 72) Pratt S.L., Spitzer J.C., Burns G.L., Plyler B.B., 1991. Luteal function, estrous response, and pregnancy rate after treatment with norgestomet and various dosages of estradiol valerate in suckled cows. J. Anim. Sci., 69, 2721-2726.
- 73) Pursley J.R., Kosorok M.R., Wiltbank M.C., 1997a. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. J. Dairy Sci., 80, 301-306.
- 74) Pursley J.R., Mee M.O., Wiltbank M.C., 1995. Synchronisation of ovulation in dairy cows using PGF2alpha and GnRH. Theriogenology, 44, 915-923.
- 75) Pursley J.R., Silcox R.W., Wiltbank C.W., 1998. Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization
- 76) Putney D.J., Drost M., Thatcher W.W., Wright J.M., Delorenzo M.A., 1988. Influence of environmental temperature on reproductive permormance of bovine embryo donors and recipients in the southwest region of the united states . terio.30 :905-922.
- 77) Rhodes F.M., Burke C.R., Clarck B.A., Day M.L., MacMillan K.L., 2002. Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anestrous cows and cows which have resumed oestrous cycles. Anim. Reprod. Sci., 69, 139-150. J. Dairy Sci., 69, 2186-2194

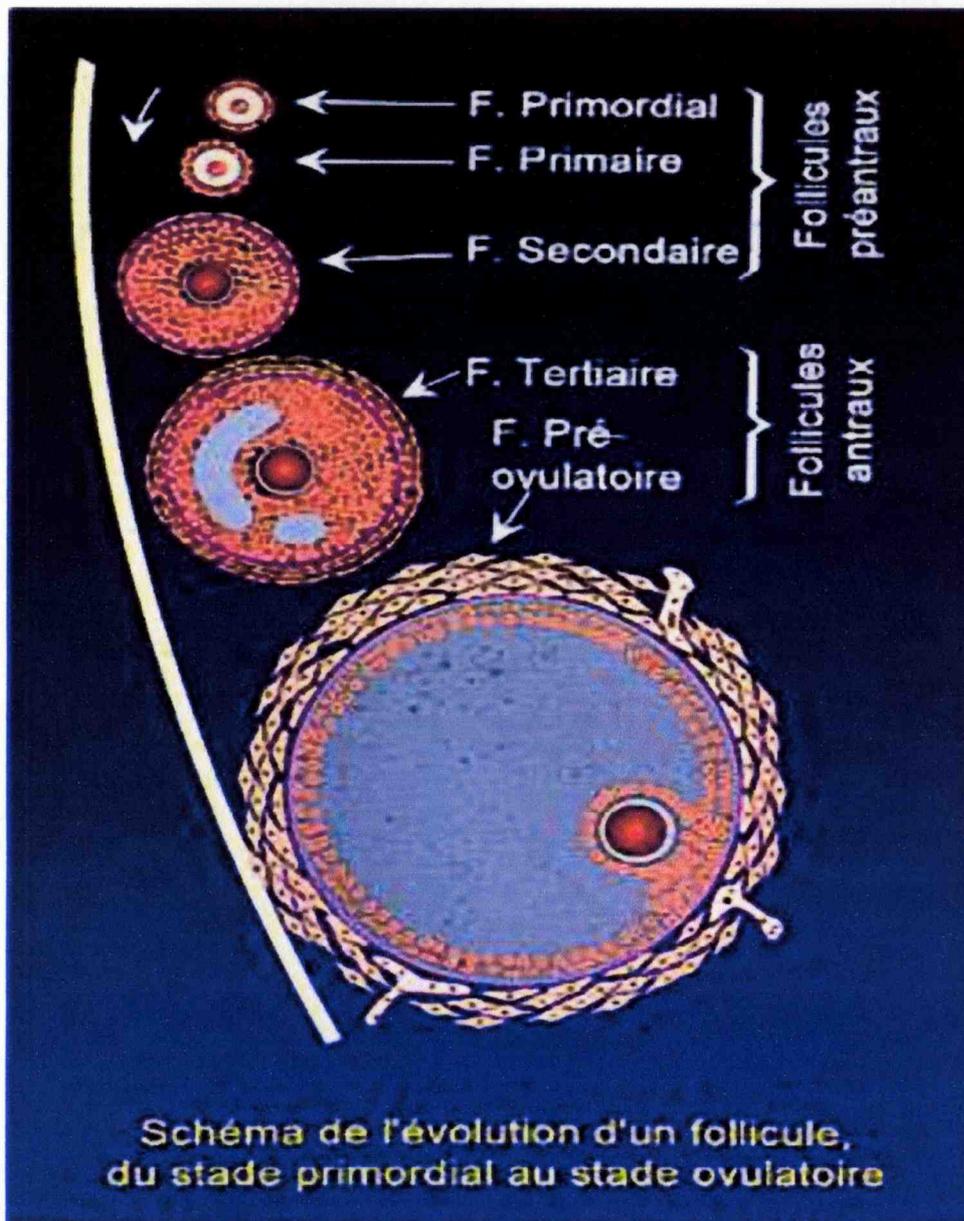
- 78) Roche JF, Boland MP, 1991 Turnover of dominant follicles in cattle of different reproductive states. *Theriogenology*,.
- 79) Rohde R.F et Shulaw W.P., 1990. Isolation of *Mycobacterium paratuberculosis* from the uterine flush fluids of cows with clinical paratuberculosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, JID- 750
- 80) Ryan D.P., Snijders S., Yaakub H., O'Farrell K.J., 1995. An evaluation of estrus synchronization programs in reproductive management of dairy herds. *J. Anim. Sci.*, 73, 3687- 3695.
- 81) Saumande J, 1995. La production d'embryons chez les bovins : quelles voies de recherches pour augmenter l'efficacité des traitements de superovulation INRA, *Prod Anim* 8: 275-283.
- 82) Stevenson J.S., Kobayashi Y., Thomson K.E., 1999. Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including OvSynch and combinations of gonadotrophin-releasing hormone and prostaglandin F2 alpha. *J. Dairy Sci.*, 82, 506-515.
- 83) Tamassia M., Heymen Y., Lavergne Y., Richard C., Gelin V., Renard J.P., Chastant-Maillard S., 2001. Maternal influence in bovine oocyte and in-vitro embryo production. *AETE*
- 84) Thatcher W.W., Patterson D.J., Moreira F., Pancardi M., Jordan E.R., Risco C.A., 2001. Current concepts for estrus synchronization and timed insemination. In : *American*
- 85) Turner J.W., Farthing B.R and Robertson G.L., 1968. Heterosis in reproductive performance of beef cows. *J. Anim. Sci.* 27 : 336-338.
- 86) Twagiramungu H., Guibault L.A., Dufour J.J., 1995. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: A review. *J. Anim. Sci.*, 73, 3141-3151.
- 87) Twagiramungu H., Guibault L.A., Proulx J.G., Dufour J., 1994. Influence of corpus luteum and induced ovulation on ovarian follicular dynamics in postpartum cyclic cows treated with buseriline and cloprostenol. *J. Anim. Sci.*, 72, 1796- 1805.
- 88) Van wagtendonk-De Leeuw A.M., Den Daas J.H.G., Rall W.F., 1997. Field trial to compare pregnancy rates of bovine embryo cryopreservation methods : Vitrification and onestep dilution versus slow freezing and three-step dilution. *Theriogenology* . 18: 1071-1084.
- 89) Weeb R, Gong JG, Law AS. Control of ovarian function in cattle. *J. Reprod. Fert* 1992.
- 90) Wildman EE, Jones G.M, Wagner P.E. 1982 : A dairy cow body condition scoring system and its relationship to select production characteristics. *J. Dairy Sci.*, 65, 495-501.
- 91) Wiltbank J.N., Rowden W.W., Ingalls J.E., Gregory K.E., Koch R.M., 1962. Effect of energy level on reproductive phenomena of mature Hereford cows. *J. Anim. Sci.* 21: 219-225.

# ANNEXE 1

Croissance folliculaire au cours d'un cycle oestral chez la vache Ennuyer (2000)

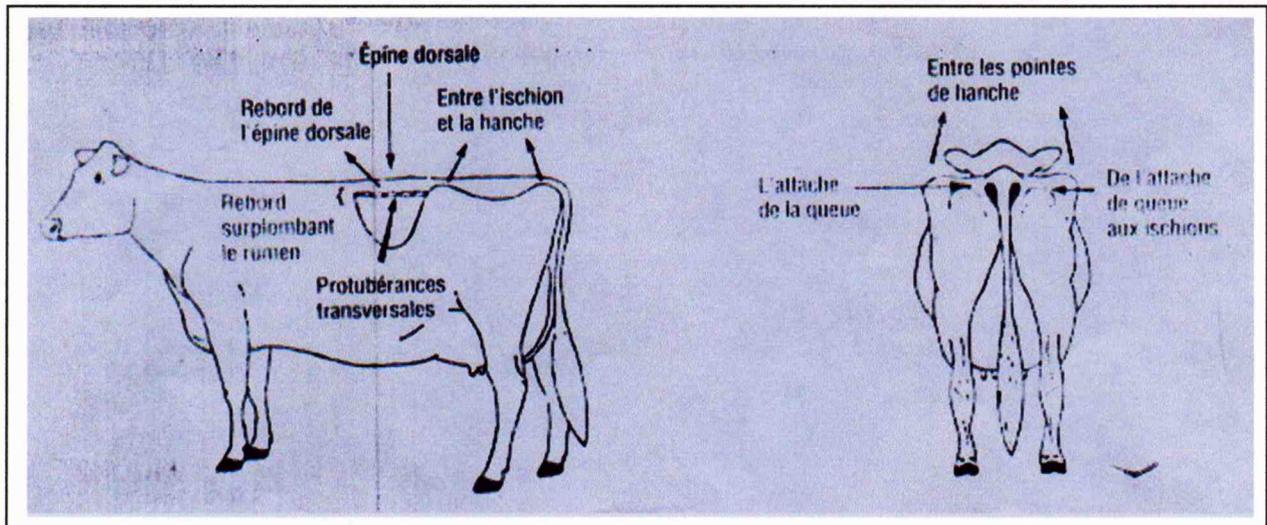


## ANNEXE 2



**Evolution d'un follicule du stade primordiale au stade ovulatoire**

# ANNEXE 3



Localisation des points de palpation d'après Farmer.B et coll [109].

Grille d'évaluation de l'état chair des bovins laitiers d'après Edmonson. A et coll [110].

	Poin- tage	Épine dorsale	Rebord de l'épine dorsale	Protubérances transversales	Rebord surplombant le rumen	Hanches et ischions	Entre l'ischion et la hanche	Entre les pointes de hanche	De l'attache de queue aux ischiens
Manque d'état de chair sévère (squelettique)	1.00	Protubérances distinctes en forme de dents de scie	Profonde dépression	Très proéminent > 1/2 de la longueur visible	Rebord bien défini et décharné	Angulaires à l'extrême	Sévère dépression, dé- pourvu de chair	Sévère dépression	Os très proémi- nent, cavité en forme de «V» sous la queue
	1.25								
	1.50								
Ossature visible	1.75	Protubérances visibles	Dépression visible	1/2 de la longueur visible	Rebord proéminent	Proéminents	Cavité prononcée		Os proéminent, cavité en forme de «U» sous la queue
	2.00			Entre 1/2 et 1/3 de la longueur visible					
	2.25								
État de chair équilibré	2.50	Saillante, silons palpables		1/3-1/4 visible	Rebord apparent		Mince cou- verture de chair	Dépression bien définie	Premier signe de dépôt graisseux
	2.75		Courbe légèrement inclinée	< 1/4 visible	Rebord légè- rement appa- rent	Lisses	Dépression	Faible dépression	Os lisse, cavité peu profonde tapissée de dépôt graisseux
	3.00			Surface égale protubérances peu visibles					
	3.25		Légère pente						
	3.50	Surface lisse épine dorsale difficile à discerner					Dissimulés	Légère dépression	
Ossature bien recouverte	3.75			Lisses, bordure arrondie					Os arrondis par la graisse, lé- gère dépression sous la queue
	4.00	Plate, protu- bérances non discernables	Presque plat			Arrondis par la graisse	Incliné	Plat	
	4.25						Plat		
État de chair excessif	4.50			Bordure à peine visible		Enrobés de graisse			Os enrobé de graisse, cavité comblée par la graisse
	4.75								
	5.00	Enrobée de graisse	Arrondi (convexe)	Enrobées de graisse	Bombé		Arrondi	Arrondi	

# ANNEXE 4

## **Score 0 : Etat d'émaciation de l'animal**

- Q** Région sous caudale très nettement cavitaire  
Peau tendue sur les hanches et les tubérosités ischiatiques
- L** Apophyse transverses et épineuse nettement visible et saillante

## **Score 1 : Etat pauvre (état des vaches hautes productrices ou vieilles vaches)**

- Q** Région sous caudale nettement cavitaire  
Hanches saillantes sans palpation de graisse sous cutanée
- L** Extrémités des apophyses transverses dures au toucher  
Surface supérieure des apophyses transverses aisément palpées  
Effet de planche des apophyses épineuses  
Profonde dépression entre les hanches et les vertèbres lombaires

## **Score 2 : Etat moyen**

- Q** Légère dépression sous caudale et entre les tubérosités ischiatiques  
Aisément palpés et bien visibles.
- L** Extrémités des apophyses transverses enrobées  
Pressions requises pour palper la partie supérieure des apophyses  
Transverses  
Présence d'une dépression entre les vertèbres lombaires et les hanches  
Apophyses épines nette mais sans effet de planche.

## **Score 3 : Etat bon**

- Q** Peau souple étant donné la présence d'un léger dépôt de graisse tubérosités  
Ischiatiques palpable et d'aspect arrondi.
- L** Pression requise pour palper l'extrémité des apophyses, transverses  
Légère dépression entre les vertèbres lombaires et hanches arrondies.

## **Score 4 : Etat gras**

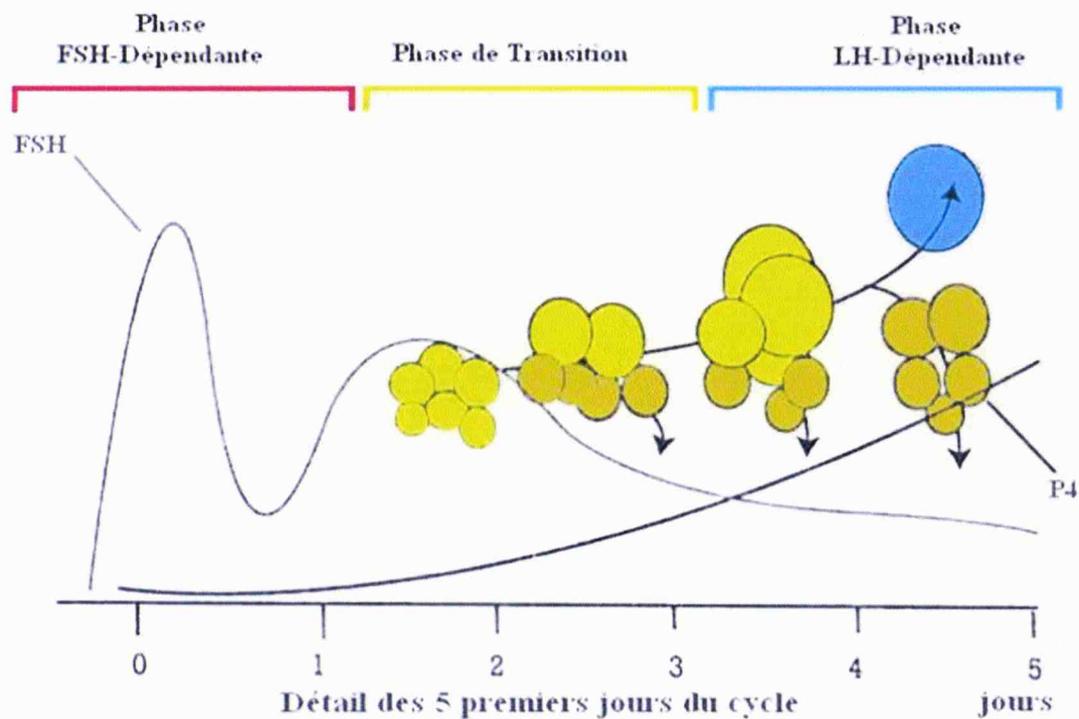
- Q** Dépôt de graisse autour de la queue et des tubérosités ischiatiques.  
Pression à exercer pour palper les tubérosités ischiatiques.
- L** Apophyses transverses non palpable, hanches peu palpables  
Pas de dépression entre les vertèbres lombaires et hanches.

## **Score 5 : Etat bon**

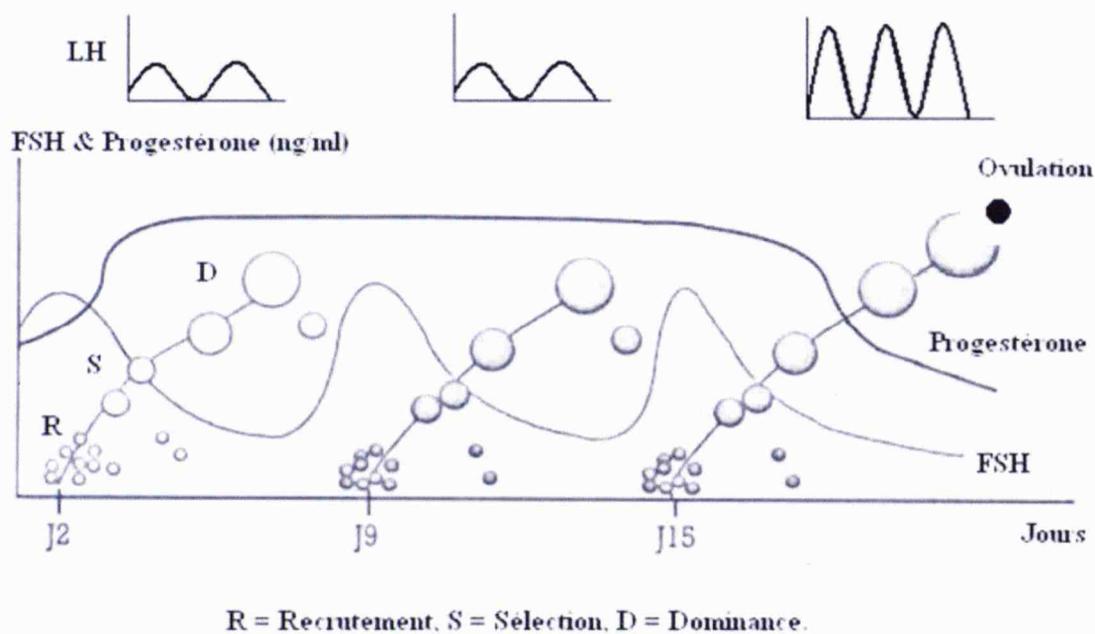
- Q** Tubérosités ischiatiques non visibles  
Distension cutanée
- L** Apophyses transverses et hanches non visibles.

**Interprétation des signes cliniques d'évaluation de l'état d'embonpoint. 0 :**

# ANNEXE 5

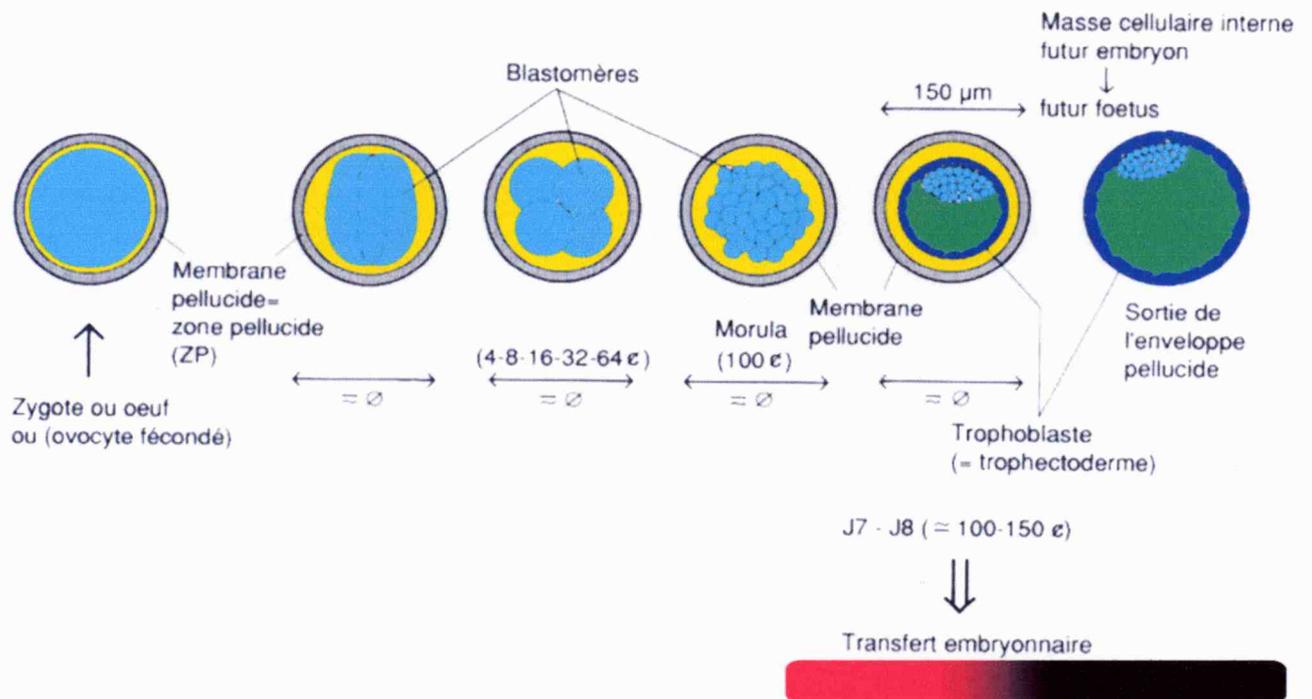


## Evolution des vagues folliculaires



# ANNEXE 6

## Le Développement Embryonnaire Précoce



### FECONDATION

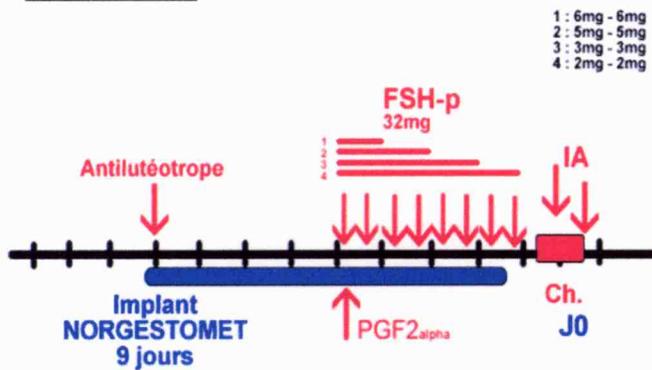
- Après la fécondation, l'œuf ou zygote commence sa segmentation.
- Après formation du trophoblaste, l'embryon sécrète une protéine antilutéolytique, la trophoblastine (interféron- $\gamma$ , IFN $\gamma$ ). (Martal et al., 1979)

# ANNEXE 7

## Superovulation par la FSHp & LHp

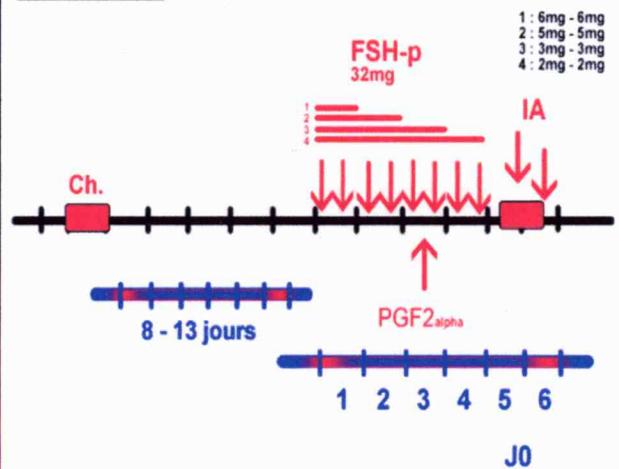
### Superovulation par la FSH-p

Cycle maîtrisé:



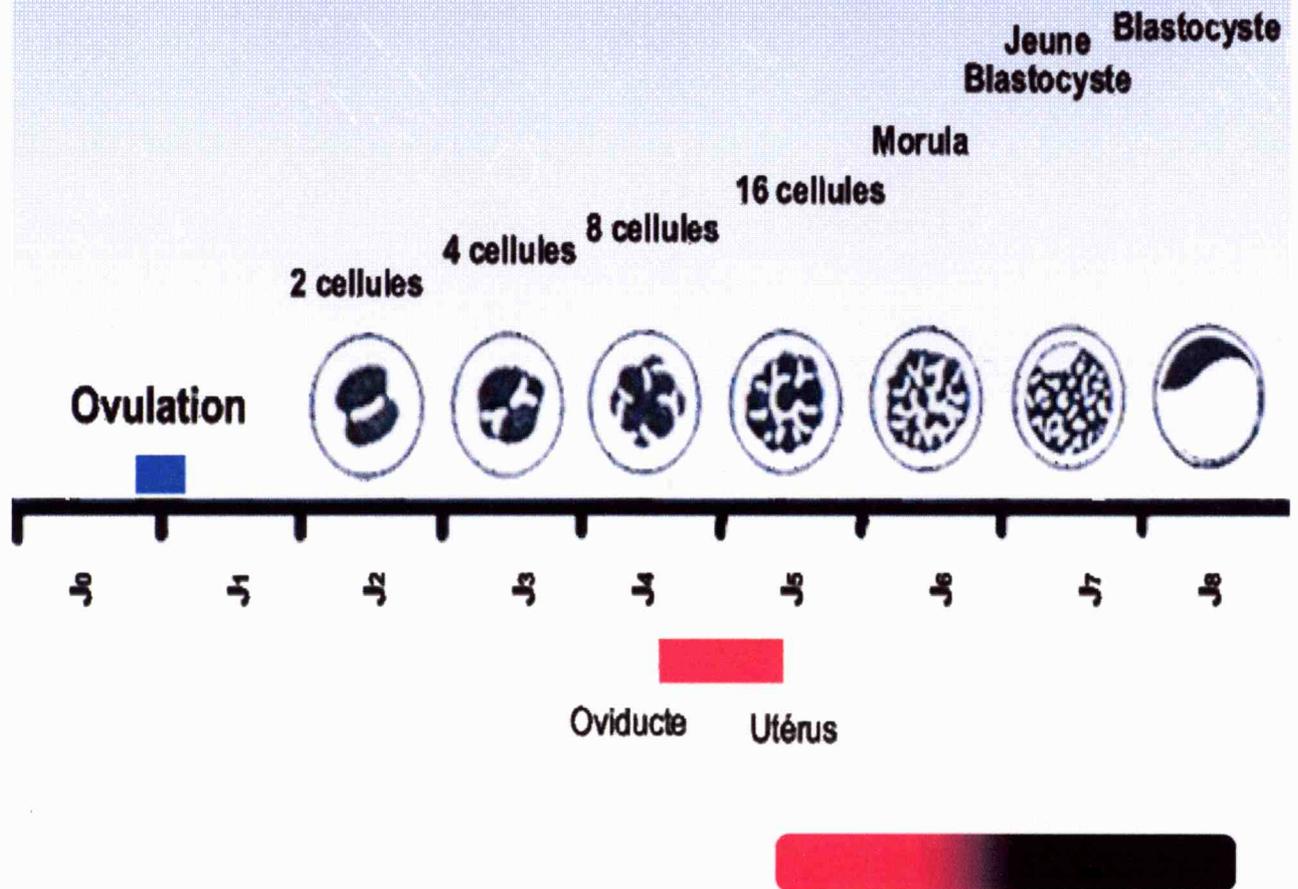
### Superovulation par la FSH-p

Cycle normal:



# ANNEXE 8

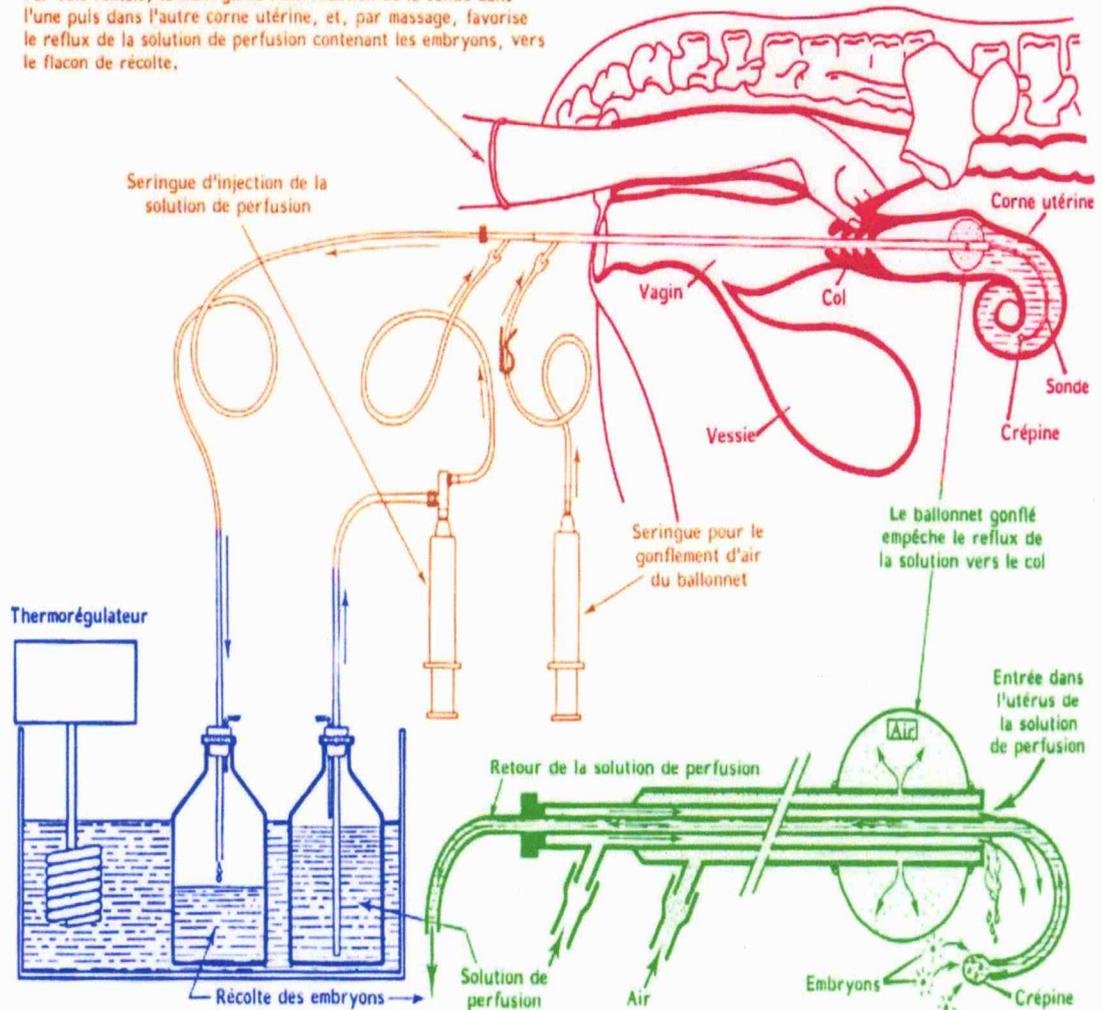
## Période de récolte



## ANNEXE 9

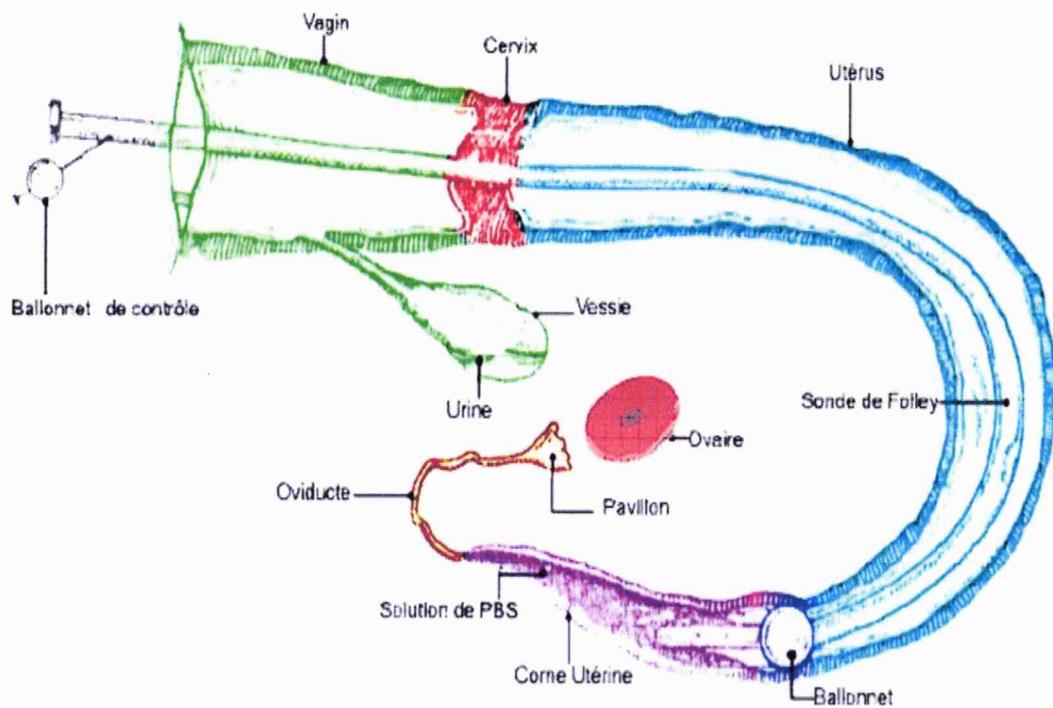
# Récolte avec la sonde Cassou

Par voie rectale, la main guide l'introduction de la sonde dans l'une puis dans l'autre corne utérine, et, par massage, favorise le reflux de la solution de perfusion contenant les embryons, vers le flacon de récolte.



# ANNEXE 10

## Récolte avec la sonde allemande



# ANNEXE 11



**Vaches de l'expérimentation**



## **ANNEXE 12**



**Vache de race locale « Cheurfa » utilisée dans l'expérimentation**

# ANNEXE 13

**Vache en pro-oestrus**



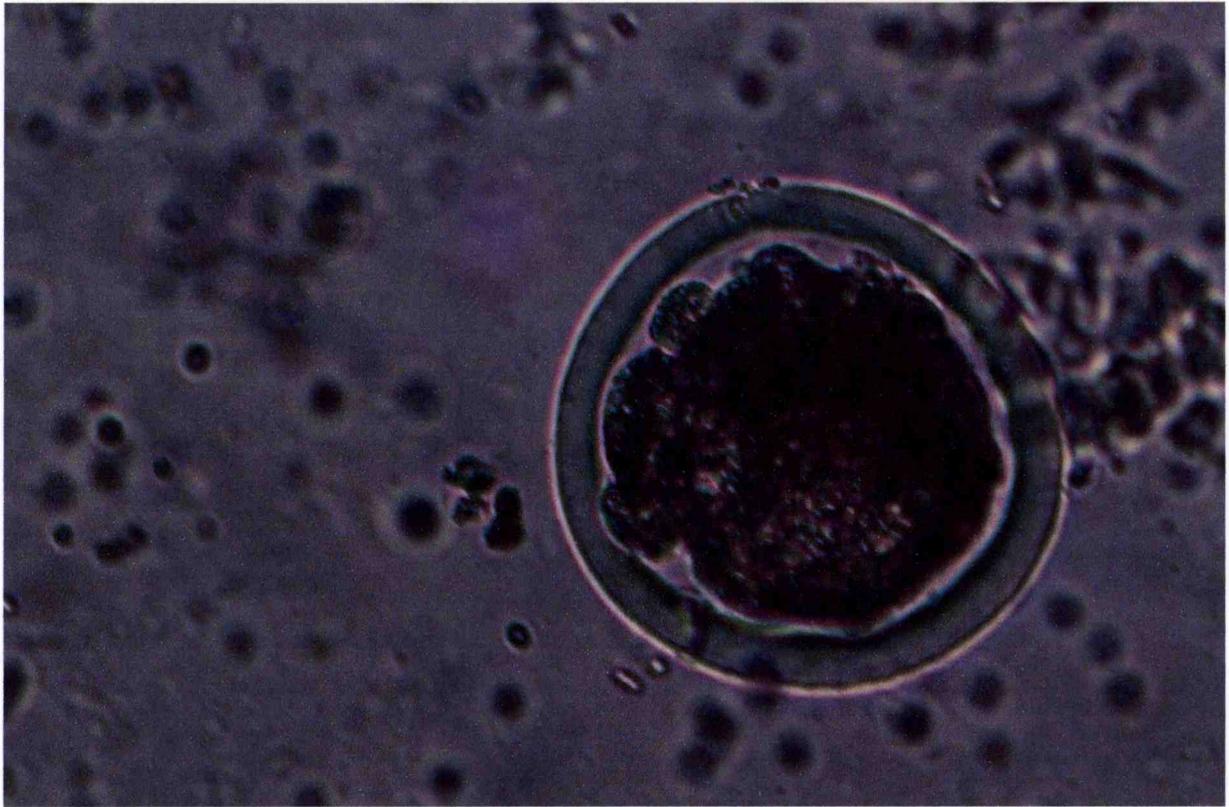
**Filtre utilise pour la recolte**

# ANNEXE 14

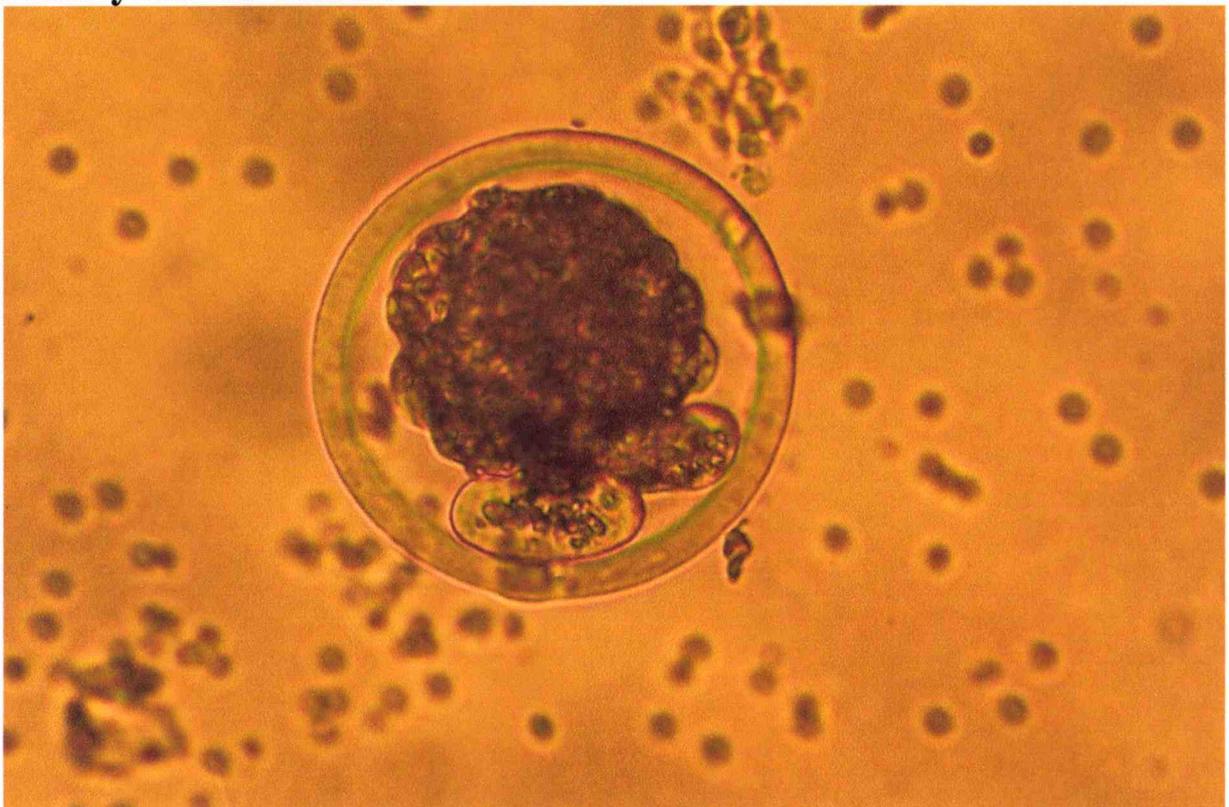
**Observation du liquide récolte pour la recherche des embryons**



## ANNEXE 15



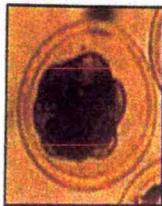
**Embryons de récolte**





**Quatre des cinq embryons récoltés**

## EMBRYONS BOVINS : EXEMPLES DE STADES DE DÉVELOPPEMENT ET DE QUALITÉ



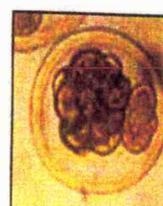
Jour du cycle : 6  
Code de stade : 3  
Code de qualité : 1  
Commentaires : a



Jour du cycle : 6,5  
Code de stade : 3  
Code de qualité : 1  
Commentaires : a



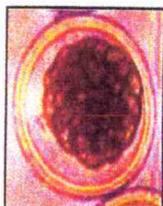
Jour du cycle : 6,5  
Code de stade : 3  
Code de qualité : 2  
Commentaires : a, b



Jour du cycle : 6,5  
Code de stade : 3  
Code de qualité : 2  
Commentaires : a, b



Jour du cycle : 6,5  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 1  
Commentaires : b, c, d



Jour du cycle : 7  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 1  
Commentaires :



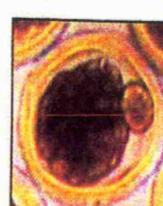
Jour du cycle : 7  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 1  
Commentaires :



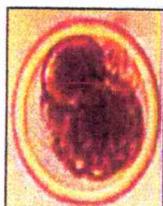
Jour du cycle : 7  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 1  
Commentaires : d



Jour du cycle : 7  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 1  
Commentaires : d



Jour du cycle : 7  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 1  
Commentaires : d



Jour du cycle : 7  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 2  
Commentaires : b



Jour du cycle : 7  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 2  
Commentaires : b



Jour du cycle : 7  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 2  
Commentaires : b



Jour du cycle : 7  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 2  
Commentaires : b, e



Jour du cycle : 7  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 2  
Commentaires : b

### Commentaires :

- Si cet embryon est récolté au jour 7 ou après, son développement ne correspond pas au stade de développement prévu; son code de qualité devrait donc être réduit d'une unité.
- Les grosses cellules qui ont été expulsées du bouton embryonnaire avant le stade de 16 cellules constituent au moins 15% de l'ensemble du matériel cellulaire jusqu'au stade 5 de développement des embryons.
- Les gros blastomères individuels indiquent que la phase de compactage n'est pas terminée et que l'embryon est au début du stade 4.
- Les blastomères expulsés, qu'ils soient petits ou individuels, constituent moins de 15% de l'ensemble du matériel cellulaire et l'embryon correspond au stade de développement prévu.
- Spermatozoïde sur la zone pellucide.

## EMBRYONS BOVINS : EXEMPLES DE STADES DE DÉVELOPPEMENT ET DE QUALITÉ



Jour du cycle : 7  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 2  
Commentaires :



Jour du cycle : 7  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 3  
Commentaires : f,g



Jour du cycle : 7  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 3  
Commentaires : f,g



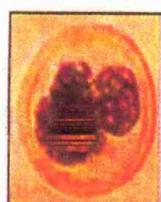
Jour du cycle : 7  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 3  
Commentaires : f,g



Jour du cycle : 7  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 3  
Commentaires : f,g



Jour du cycle : 7  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 3  
Commentaires : f,g



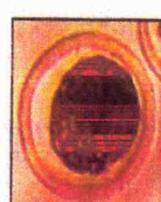
Jour du cycle : 7  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 3  
Comment. : f,g,h



Jour du cycle : 7  
Code de stade : 5  
Code de qualité : 1  
Commentaires :



Jour du cycle : 7  
Code de stade : 5  
Code de qualité : 1  
Commentaires : d



Jour du cycle : 7  
Code de stade : 5  
Code de qualité : 1  
Commentaires :



Jour du cycle : 7  
Code de stade : 5  
Code de qualité : 1  
Commentaires : d,i



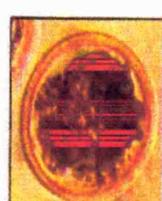
Jour du cycle : 7  
Code de stade : 5  
Code de qualité : 2  
Commentaires : e



Jour du cycle : 7  
Code de stade : 5  
Code de qualité : 2  
Commentaires :



Jour du cycle : 7  
Code de stade : 5  
Code de qualité : 2  
Commentaires :



Jour du cycle : 7  
Code de stade : 5  
Code de qualité : 3  
Commentaires : g

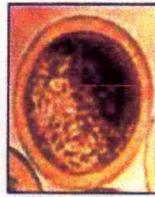
### Commentaires :

- d. Les blastomères petits ou individuels constituent moins de 15% de l'ensemble du matériel cellulaire et l'embryon correspond au stade de développement prévu.
- e. Spermatozoïde sur la zone pellucide.
- f. Les embryons qui présentent de nombreuses cellules expulsées ou des débris doivent être retournés avec précaution afin de déterminer la présence et la qualité de tout bouton embryonnaire viable.
- g. Les embryons de code de qualité 3 possèdent un bouton embryonnaire qui correspond à moins de 50% de tout le matériel cellulaire contenu à l'intérieur de la zone pellucide.
- h. Le bouton embryonnaire de cet embryon est correct bien que très petit. Si le bouton embryonnaire correspond à moins de 25% de l'ensemble du matériel cellulaire, le code de qualité 4 doit être attribué (non viable).
- i. Une forme irrégulière est une variation commune au développement de la blastocèle.

## EMBRYONS BOVINS : EXEMPLES DE STADES DE DÉVELOPPEMENT ET DE QUALITÉ



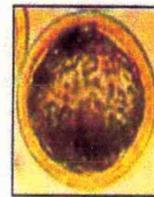
Jour du cycle : 7  
Code de stade : 5  
Code de qualité : 3  
Commentaires :



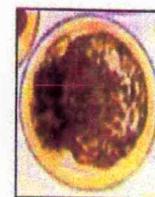
Jour du cycle : 7  
Code de stade : 6  
Code de qualité : 1  
Commentaires :



Jour du cycle : 7,5  
Code de stade : 6  
Code de qualité : 1  
Commentaires : k



Jour du cycle : 7,5  
Code de stade : 6  
Code de qualité : 1  
Commentaires : d,k



Jour du cycle : 7,5  
Code de stade : 6  
Code de qualité : 2  
Commentaires : k



Jour du cycle : 7,5  
Code de stade : 7  
Code de qualité : 1  
Commentaires :



Jour du cycle : 7,5  
Code de stade : 7  
Code de qualité : 1  
Commentaires :



Jour du cycle : 7,5  
Code de stade : 7  
Code de qualité : 1  
Commentaires : j



Jour du cycle : 7,5  
Code de stade : 7  
Code de qualité : 1  
Commentaires : j



Jour du cycle : 7,5  
Code de stade : 7  
Code de qualité : 2  
Commentaires : j,k



Jour du cycle : 8,0  
Code de stade : 8  
Code de qualité : 1  
Commentaires : j



Jour du cycle : 8,0  
Code de stade : 8  
Code de qualité : 1  
Commentaires : j



Jour du cycle : 7,0  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 2  
Commentaires : l



Jour du cycle : 7,0  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 1  
Commentaires : m



Jour du cycle : 7,0  
Code de stade : 4  
Code de qualité : 1  
Commentaires : n

Commentaires :

- d. Les blastomères petits ou individuels constituent moins de 15% de l'ensemble du matériel cellulaire et l'embryon correspond au stade de développement prévu.
- j. L'affaissement de la blastocèle est un processus physiologique normal qui ne diminue pas le code de qualité.
- k. Les cellules expulsées des embryons de stade 6, 7 et 8 sont souvent comprimées contre la zone pellucide; elles ne sont évidentes que lorsque l'embryon s'affaisse suite à un processus physiologique normal ou qu'un additif cryoprotecteur est ajouté.
- l. La zone pellucide de cet embryon présente une surface plane (même concave) ce qui pourrait amener l'embryon à coller à la boîte de Pétri ou à la paillette. Ce défaut à lui seul empêche l'attribution du code de qualité 1 à l'embryon; il ne devrait pas être utilisé à des fins de commerce international à moins que des ententes prévoient l'utilisation d'embryons n'ayant pas le code de qualité 1.
- m. La présence de débris cellulaires à la surface de la zone pellucide indique que cet embryon n'a pas été lavé selon les procédures recommandées.
- n. Dans le coin droit supérieur de l'image, on peut voir que la zone pellucide de cet embryon est perforée. Les embryons dont la zone pellucide n'est pas intacte ne devraient pas être utilisés à des fins de commerce international.

## RESUME

Le transfert embryonnaire est une technique de reproduction très importante pour l'amélioration génétique, pourtant elle n'est toujours pas pratiquée dans notre pays.

De cela le CNIAAG et une équipe d'enseignants-chercheurs ont contribué à faire réaliser cette technique en choisissant de bonnes donneuses et receveuses, les préparer, synchroniser leurs chaleurs, en utilisant CRESTAR puis effectuer un traitement de superovulation à base de FSHp.LHp « STIMUFOL 40 % » puis les inséminer.

On été évalué par la suite la qualité de la réponse ovarienne au traitement de superovulation, la récolte, la classification des embryons récoltés et leur transfert ou congélation.

Les résultats obtenus ont été satisfaisants et encourageants. Sur cinq, trois de classe II ont été transférés et deux autres de classe I ont été congelés.