



ANNEE 1990

N° 24

**TRANSFERTS D'EMBRYONS  
CHEZ DES VACHES GOBRA,  
NDAMA ET MONTBELIARDE  
AU SENEGAL**

**THESE**

ECOLE INTER-ETATS  
DES SCIENCES ET MEDECINE  
VETERINAIRES DE DAKAR  
BIBLIOTHEQUE

Présentée et soutenue publiquement le 21 Juillet 1990 devant la Faculté de Médecine

et de Pharmacie de Dakar pour obtenir le grade de DOCTEUR VETERINAIRE

(DIPLOME D'ETAT)

par

**Moumouni OUATTARA**

né en 1961 à TENA (BURKINA FASO)

- Président du Jury : Monsieur Fadel DIADHIOU  
Professeur à la Faculté  
de Médecine et de Pharmacie de Dakar
- Rapporteur : Monsieur Papa El Hassan DIOP  
Professeur Agrégé à l'E.I.S.M.V. de Dakar
- Membres : Monsieur Alastair SERE  
Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar
- Monsieur José Marie AFOUTOU  
Professeur Agrégé à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar
- Monsieur Mamadou BADIANI  
Professeur Agrégé à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar
- Directeurs de Thèse : Monsieur Papa El Hassan DIOP  
Professeur Agrégé à l'E.I.S.M.V.
- Monsieur Frank ALLAIRE  
Assistant à l'E.I.S.M.V.

-----  
Scolarité

MS/fd

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT  
-----

I. - PERSONNEL A PLEIN TEMPS

1 - ANATOMIE-HISTOLOGIE-EMBRYOLOGIE

Kondi M. AGBA	Maître de Conférences Agrégé
Jacques ALAMARGOT	Assistant
Amadou NCHARE	Moniteur

2 - CHIRURGIE-REPRODUCTION

Papa El Hassane DIOP	Maître de Conférences Agrégé
Franck ALLAIRE	Assistant
Nahé DIOUF (Mlle)	Moniteur

3 - ECONOMIE-GESTION

Cheikh LY	Assistant
-----------	-----------

4 - HYGIENE ET INDUSTRIE DES DENREES  
ALIMENTAIRES D'ORIGINE ANIMALE (HIDAOA)

Malang SEYDI	Maître de Conférences Agrégé
Ibrahim SALAMI	Moniteur

5 - MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-  
PATHOLOGIE INFECTIEUSE

Justin Ayayi AKAKPO	Professeur
Rianatou ALAMBEDI (Mme)	Assistante
IDRISSOU-BAPETEL	Moniteur

6 - PARASITOLOGIE-MALADIES PARASITAIRES- ZOOLOGIE

Louis Joseph PANGUI	Maître de Conférences Agrégé
Jean BELOT	Maître-Assistant
Charles MANDE	Moniteur

7 - PATHOLOGIE MEDICALE-ANATOMIE PATHOLOGIQUE  
ET CLINIQUE AMBULANTE

Théodore ALOGNINOUBA	Maître de Conférences Agrégé
Roger PARENT	Maître-Assistant
Jean PARANT	Maître-Assistant
Yalacé Y. KABORET	Assistant
Lucien MBEURNODJI	Moniteur

8 - PHARMACIE - TOXICOLOGIE

François A. ABIOLA	Maître de Conférences Agrégé
Moctar KARIMOU	Moniteur

9 - PHYSIOLOGIE-THERAPEUTIQUE-  
PHARMACODYNAMIE

Alassane SERE	Professeur
Moussa ASSANE	Maître-Assistant
Mohamadou M. LAWANI	Moniteur
Lota Dabio TAMINI	Moniteur

10 - PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES  
ET MEDICALES

Germain Jérôme SAWADOGO	Maître de Conférences Agrégé
Adam ABOUNA	Moniteur

11 - ZOOTECNIE-ALIMENTAIRE

Kodjo Pierre ABASSA

Assistant

Mobinou A. ALLY

Moniteur

- CERTIFICAT PREPARATOIRE AUX ETUDES  
VETERINAIRES (CPEV)

Tchala KAZIA

Moniteur

II. - PERSONNEL VACATAIRE

- BIOPHYSIQUE

René NDOYE

Professeur  
Faculté de Médecine et de  
Pharmacie  
Université Ch. A. DIOP

Jacqueline PIQUET (Mme)

Chargée d'enseignement  
Faculté de Médecine et de  
Pharmacie  
Université Ch. A. DIOP

Alain LECOMTE

Maître-Assistant  
Faculté de Médecine et de  
Pharmacie  
Université Ch. A. DIOP

Sylvie GASSAMA (Mme)

Maître de Conférences Agrégée  
Faculté de Médecine et  
de Pharmacie  
Université Ch. A. DIOP

- BOTANIQUE - AGRO - PEDOLOGIE

Antoine NONGONIERMA

Professeur  
IFAN - Institut Ch. A. DIOP  
Université Ch. A. DIOP

III.- PERSONNEL EN MISSION (Prévu pour 1989-1990)

- PARASITOLOGIE

Ph. DORCHIES

Professeur  
ENV - TOULOUSE

L. KILANI

Professeur  
ENV SIDI THABET (TUNISIE)

S. GEERTS

Professeur  
Institut Médecine Vétérinaire  
Tropicale - ANVERS (Belgique)

- PATHOLOGIE PORCINE  
ANATOMIE PATHOLOGIQUE GENERALE

A. DEWAELE

Professeur  
Faculté Vétérinaire de CURGHEM  
Université de LIEGE (Belgique)

- PHARMACODYNAMIE-

H. BRUGERE

Professeur  
ENV - ALFORT

- PHYSIOLOGIE

J. FARGEAS

Professeur  
ENV - TOULOUSE

- MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE

- J. OUDAR

Professeur  
ENV - LYON

- Nadia HADDAD (Mlle)

Maître de Conférences Agrégée  
ENV - SIDI THABET (Tunisie)

- PHARMACIE-TOXICOLOGIE

L. EL BAHRI

Professeur  
ENV - SIDI THABET (Tunisie)

M.A. ANSAY

Professeur  
Faculté de Médecine Vétérinaire  
Université de LIEGE (Belgique)

- ANATOMIE PATHOLOGIQUE SPECIALE

F. CRESPEAU

Professeur  
ENV - ALFORT

- DENREOLOGIE

M. ECKHOUTE

Professeur  
ENV - TOULOUSE

J. ROZIER

Professeur  
ENV - ALFORT

- CHIRURGIE

A. CAZIEUX

Professeur  
ENV - TOULOUSE

**JE DEDIE**

**CE TRAVAIL . . .**



AU TOUT PUISSANT! CLEMENT ET MISERICORDIEUX

"Pour peu que DIEU le veuille !

Il n'y a de force qu'en DIEU"

( Sourate 18- La Caverne- Verset 39: CORAN ) -

A mes Parents

Ce travail est sans aucun doute le fruit de vos efforts.

Je vous l'offre en témoignage de l'affection que je

vous porte.

A mes frères et soeurs

"Les mains se lavent mutuellement". Unis, nous vaincrons  
dans le combat que constitue la vie.

A la famille Tiékoura Gabriel OUATTARA

Je me suis toujours senti chez moi dans votre famille.

Ce travail est le faible témoignage de ma reconnaissance.

A la famille Diakalya OUATTARA

Je suis touché par l'attention que vous m'avez toujours  
porté. Puisse l'avenir nous unir davantage.

A Ardjouma, Lamoussa, Souleymane et leur famille.

Chacun a sa pierre indispensable dans l'édifice.

A Soma OUATTARA et famille

Vous avez été le pionnier d'une oeuvre que nous tenterons  
de perpétuer.

A tous mes oncles, tantes, cousins et cousines.

A Alphonse COULIBALY

Plus qu'un ami tu es désormais pour moi un frère.

A Michelle Patricia SAGNA

Ton assistance morale et matérielle m'a été d'un apport indispensable pour la réalisation de ce travail. Il est également le tien.

A Paul Ismaël KEMDE

Pour notre si longue amitié. Qu'elle soit éternelle.

A tous ceux qui ont contribué à ma formation scolaire.

A tous mes amis et amies.

A tous les étudiants Burkinabè à Dakar.

A mes camarades de la 16<sup>e</sup> promotion de l'EISMV de Dakar.

A tous les membres de l'AEVD.

Au SENEGAL, pays hôte  
Inoubliable "Téranga"

Au BURKINA

Pour les sacrifices consentis.

Au Fond d'Aide et de Coopération Français ( FAC)

Pour l'appui financier à ma formation

A TOUS CEUX QUI SOUFFRENT DE FAIM ET DE MALNUTRITION  
A TRAVERS LE MONDE.

A TOUS CEUX QUI LUTTENT POUR LA LIBERTE.

A

N O S

M A I T R E S

E T

J U G E S...

MONSIEUR FADEL DIADHIOU

Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie  
de l'Université Cheikh Anta DIOP

Vous me faites un grand honneur en présidant  
ce jury de thèse.

Hommages respectueux.

MONSIEUR PAPA EL HASSAN DIOP

Professeur Agrégé à l'E.I.S.M.V. de Dakar

Après nous avoir proposé ce travail et l'ayant  
dirigé avec efficacité, il est le votre.

Profonde gratitude.

MONSIEUR ALASSANE SERE

Professeur à l'E.I.S.M.V. DE Dakar

C'est un honneur et un plaisir que vous me faites  
en acceptant de juger ce travail.

Profond respect et vive reconnaissance.

MONSIEUR JOSE MARIE AFOUTOU

Professeur Agrégé à la Faculté de Médecine et de  
Pharmacie de l'Université Cheikh Anta DIOP

Malgré vos multiples occupations, vous avez avec  
plaisir accepté de juger ce travail

Soyez en remercié

MONSIEUR MAMADOU BADIANE

Professeur Agrégé à la Faculté de Médecine et de  
Pharmacie de l'Université Cheikh Anta DIOP

Vous nous avez toujours impressionné par vos  
qualités humaines. D'où le grand plaisir que nous  
éprouvons de vous voir siéger à notre jury de thèse

Sincères remerciements et vive admiration.

MONSIEUR FRANK ALLAIRE

Assistant à l'E.I.S.M.V. de Dakar

Votre active participation à la réalisation de ce travail nous a beaucoup marqué.

Trouvez ici notre grande reconnaissance.

## REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier sincèrement les institutions et personnes suivantes:

- Le Gouvernement Canadien et à travers lui, l' Agence de Coopération et de Développement International(A.C.D.I.)et le Ministère de l'Agriculture du Canada pour avoir financé le séminaire;

- L'Agence Culturelle et de Coopération Technique(A.C.C.T) pour la réalisation du séminaire;

- Les Professeurs André DALLAIRE, Pierre LAMOTHE, Daniel BOUSQUET, Louis PICARD, Marc DERY de la Faculté Vétérinaire de Saint - Hyacinthe( Canada ) pour leur appui technique

- L'Union des Producteurs Agricoles du Québec ;

- Les Eléveurs du groupe COPLAIT ;

- Les Professeurs Alassane SERE, Papa El Hassan DIOP, Germain Jérôme SAWADOGO de l'E.I.S.M.V. de DAKAR ;

- les Docteurs Frank ALLAIRE et Moussa ASSANE de l'E.I.S.M.V.;

- Tous les participants au séminaire ;

- Et enfin tous ceux qui d'une manière ou d'une autre nous ont apporté leur concours.

**"Par délibération, la faculté et l'école ont décidé que les opinions émises dans les dissertations qui leur seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner aucune approbation ni improbation".**

T A B L E   D E S   M A T I E R E S



INTRODUCTIONPREMIERE PARTIE : GENERALITES SUR LE TRANSFERT EMBRYONNAIRE  
CHEZ LES BOVINS

DEFINITION - HISTORIQUE - INTERET ..... 3

CHAPITRE I : PRODUCTION D'EMBRYONS

I.1. PRODUCTION D'EMBRYONS <u>IN VIVO</u> .....	10
I.1.1. Choix de la donneuse .....	10
I.1.2. Superovulation .....	11
I.1.2.1. Bases physiologiques .....	11
I.1.2.2. Traitements de superovulation .....	13
I.1.2.3. Conséquences hormonales .....	17
I.1.3. Fécondation .....	18
I.1.4. Récolte des embryons .....	20
I.1.4.1. Premières étapes du développe- ment de l'oeuf .....	20
I.1.4.2. Bases physiologiques .....	21
I.1.4.3. Moment de la récolte .....	23
I.1.4.4. Méthodes de récolte .....	23
I.1.4.5. Recherche et appréciation des embryons .....	24
I.1.5. Devenir de la donneuse et problèmes associés à la superovulation .....	30
I.2. PRODUCTION D'EMBRYONS <u>IN VITRO</u> .....	32
I.2.1. Maturation d'ovocytes <u>in vitro</u> .....	32
I.2.2. Fécondation <u>in vitro</u> .....	33
I.2.3. Développement de l'oeuf <u>in vitro</u> et <u>in vivo</u> .....	33

CHAPITRE II : CONSERVATION DES EMBRYONS

II.1. BESOINS DE L'EMBRYON .....	34
II.2. MILIEUX DE RECOLTE ET TRANSFERT IMMEDIAT .....	34
II.3. CONSERVATION DES EMBRYONS .....	35
II.3.1. Conservation de courte durée .....	35
II.3.2. Conservation de longue durée .....	35

CHAPITRE III : TRANSFERT EMBRYONNAIRE

III.1. CHOIX DES RECEVEUSES .....	41
III.2. SYNCHRONIE OESTRAL ENTRE DONNEUSES ET RECEVEUSES .....	42
III.2.1. Traitements de synchronisation .....	42
III.2.2. Détection des chaleurs .....	46
III.2.3. Appréciation de la réponse .....	46
III.3. TRANSFERT DE L'EMBRYON .....	47
III.3.1. Conditions de mise en place .....	47

III.3.2. Méthodes de mise en place .....	47
III.4. TRANSFERT D'EMBRYONS ET RISQUES SANITAIRES.....	48

**CHAPITRE IV : MICROMANIPULATIONS EMBRYONNAIRES**

IV.1. DIVISION D'EMBRYONS .....	50
IV.2. SEXAGE DES EMBRYONS .....	50
IV.3. MODIFICATIONS DE L'OEUF .....	51
IV.3.1. Introduction de gènes .....	52
IV.3.2. Introduction de chromosomes .....	52
IV.4. ETUDE DU CARYOTYPE .....	52
IV.5. CLONAGE .....	53
IV.6. CHIMERES .....	53

**DEUXIEME PARTIE : CARACTERISTIQUES DES VACHES**

**CHAPITRE I : CARACTERISTIQUES ZOOTECHNIQUES**

I.1. AIRE GEOGRAPHIQUE DE REPARTITION - IMPORTANCE .....	55
I.2. CARACTERES PHYSIQUES - APTITUDES .....	57

**CHAPITRE II : RAPPELS ANATOMIQUES SUR L'APPAREIL GENITAL DE LA VACHE**

II.1. PORTION GLANDULAIRE : OVAIRES .....	61
II.1.1. Anatomie macroscopique .....	61
II.1.2. Anatomie microscopique .....	62
II.1.2.1. Structure topographique .....	62
II.1.2.2. Organites de l'ovaire.....	63
II.2. TRACTUS GENITAL .....	64
II.2.1. Conformation extérieure .....	64
II.2.2. Conformation intérieure .....	68
II.2.3. Topographie et moyens de fixité.....	70
II.2.4. Irrigation et innervation .....	70

**CHAPITRE III : ASPECT HORMONAL DU CYCLE SEXUEL DE LA VACHE**

III.1. CYCLE SEXUEL .....	72
III.1.1. Caractéristiques du cycle oestral .....	72
III.1.1.1. Phases .....	72
III.1.1.2. Durée du cycle et époque sexuelles .....	73
III.1.1.3. Retour des chaleurs après le part .....	74
III.1.2. Modifications histophysiologiques .....	75
III.1.3. Modifications extérieures .....	76

III.2. REGULATION HORMONALE DU CYCLE OESTRAL .....	77
III.2.1. Endocrinologie du cycle oestral .....	77
III.2.2. Relations hypothalamo-pituito-ovariennes .....	80

#### CHAPITRE IV : GESTATION ET DIAGNOSTIC DE GESTATION

IV.1. DUREE DE LA GESTATION CHEZ LA VACHE .....	84
IV.1.1. Durée moyenne de gestation .....	84
IV.1.2. Facteurs de variation de la durée .....	84
IV.2. DIAGNOSTIC DE GESTATION .....	85
IV.2.1. Diagnostic clinique .....	85
IV.2.1.1. Signes cliniques probables .....	85
IV.2.1.2. Signes cliniques sensibles ou certains .....	86
IV.2.2. Diagnostic de laboratoire .....	87
IV.2.2.1. Détermination hormonale .....	88
IV.2.2.2. Echographie .....	89

#### TROISIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE

##### CHAPITRE I : MATERIEL D'EXPERIENCE

I.1. CADRE D'EXPERIENCE .....	91
I.2. MATERIEL ANIMAL .....	91
I.3. MATERIEL DE LABORATOIRE .....	92
I.4. HORMONES UTILISEES .....	92

##### CHAPITRE II : PROTOCOLE EXPERIMENTAL

II.1. CHOIX, REPARTITION ET ENTRETIEN DES ANIMAUX .....	95
II.1.1. Choix des animaux et constitution des lots .....	95
II.1.2. Entretien des animaux .....	95
II.1.3. Examen clinique .....	95
II.2. TRAITEMENTS DES VACHES .....	97
II.2.1. Traitements de synchronisation .....	97
II.2.2. Traitements de superovulation .....	104
II.3. DETECTION DES CHALEURS ET FECONDATION .....	104
II.4. RECOLTE ET MANIPULATION DES EMBRYONS .....	106
II.4.1. Récolte des embryons .....	106
II.4.1.1. Appréciation de la réponse ovarienne .....	106
II.4.1.2. Préparation des animaux .....	106
II.4.1.3. Prélèvement des embryons .....	106
II.4.2. Manipulation des embryons .....	108
II.4.2.1. Recherche .....	108
II.4.2.2. Mise en pailllette .....	109

II.5. TRANSFERT DES EMBRYONS .....	112
------------------------------------	-----

### CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. RESULTATS .....	114
III.1.1. Chaleurs de référence .....	114
III.1.2. Superovulation - Fécondation - Récolte .....	115
III.1.2.1. Détection des chaleurs .....	115
III.1.2.2. Saillies .....	117
III.1.2.3. Récolte .....	117
III.1.3. Transferts et gestations chez les receveuses .....	120
III.2. DISCUSSION DES RESULTATS .....	127
III.2.1. Manipulation des animaux .....	127
III.2.2. Synchronisation et chaleurs de référence .....	127
III.2.3. Superovulation et récolte des donneuses .....	128
III.2.4. Transfert et gestation .....	129
III.3. APPLICABILITE DU TRANSFERT D'EMBRYONS EN AFRIQUE ET SUGGESTIONS	
III.3.1. Caractéristiques et problèmes de l'élevage africain .....	132
III.3.2. Rôle du T.E. dans le contexte de l'élevage africain .....	133
III.3.3. Sugestions .....	134
III.3.3. Sugestions .....	136

CONCLUSION

ANNEXES

BIBLIOGRAPHIE

## **TABLE DES ILLUSTRATIONS**

<u>A - TABLEAUX Nos</u>		Pages
I	Chronologie des transplantations embryonnaires dans les diverses espèces animales .....	5
II	Production d'embryons (vaches Pies-Noires) : coparaison en fonction des critères de reproduction.....	12
III	Variabilité de la réponse ovarienne à la superovulation en fonction du taux de LH incorporé à la FSH .....	15
IV	Stimulation ovarienne : jour du cycle en phase lutéale .....	15
V	composition du milieu de transfert ou PBS (phosphate Buffered Saline) par titre de solution .....	25
VI	Stades de développement embryonnaire normal et code international correspondant.....	26
VII	Qualité des embryons et codification internationale.....	26
VIII	Comparaison de 2 méthodes de congélation .....	39
IX	Effet de la synchronie du cycle oestral et développement embryonnaire.....	44
X	Hormones utilisées pour l'induction et/ou la synchronisation des chaleurs ...	45
XI	Principales hormones impliquées dans le contrôle du cycle oestral de la vache .....	78
XII	Diagnostif de gestation : dosage de progestérone .....	90
XIII	Répartition des vaches en lots de donneuses et receveuses /.....	96
XIV	Répartition des vaches en fonction du traitement.....	98
XV	Traitements de superovulation des donneuses .....	105
XVI	Réponses aux traitements de synchronisation .....	116
XVII	Chaleurs de superovulation .....	118
XVIII	Récolte des donneuses .....	119
XIX	Réponses à la superovulation .....	121
XX	Répartition des embryons collectés en fonction du traitement chez les donneuses Gobra.....	121

XXI	Fouiller rectal des receveuses avant transfert .....	122
XXII	Réponse ovarienne chez les receveuses à la suite des traitements de synchronisation .....	123
XXIII	Transfert des embryons et gestations .....	124
XXIV	Résumé (en pourcentages cumulés) des pertes en produits de conception après transfert embryonnaire .....	131

## B - FIGURES

1	Chronologie du développement de l'embryon de bovin de la fécondation à l'expansion du blastocyste .....	22
2	Catheter de type Foley dans l'utérus .....	25
3	Sondes de récolte cervicale des embryons .....	26
4	Position de l'embryon dans la paillette .....	30
5	Protocole de refroidissement des embryons .....	40
6	Conformation de l'appareil génital isolé .....	65
7	Conformation extérieure de la trompe utérine .....	66
8	Conformation extérieure de l'utérus isolé .....	67
9	Conformation intérieure de l'utérus .....	69
10	Variations endocriniennes en fonction de l'étape de cycle .....	79
11	Concentrations hormonales plasmatiques après administrations de $PGF_{2\alpha}$ .....	79
12	Adaptateur pour pose de spirales vaginales .....	100
13	Pose d'une spirale vaginale .....	100
14	Pose et retrait de l'implant sous-cutané .....	102

## C - SCHEMAS

1	Régulation neurohormonale du cycle sexuel des Mammifères .....	82
2	Schéma de traitement des vaches .....	99

D- PLANCHES

	-
1- Echographie.....	19
2- Sonde de Foley .....	107
3- Illustration du développement embryonnaire avec différents embryons récoltés au jour 7 ....	110
4- Congélateur pour embryons .....	111
5- Echographe : .....	126





PREMIER VEAU SENEGALAIS NE DE TANSFERT EMBRYONNAIRE  
ET SA MERE  
( CROISE MONTBELIARDE X GOBRA )

" Les dix cultés et l'obscurité ne s'aperçoivent en chacune science que par ceux qui ont entré... Car encore faut-il pousser à une porte pour savoir qu'elle nous est close."

( MONTAIGNE, Essais, III, 13 )

# INTRODUCTION

L'amélioration de la production et de la productivité du bétail a toujours été au centre des préoccupations des programmes d'élevage. Parmi les axes d'amélioration, la maîtrise de la reproduction occupe une place de choix puisque c'est par la reproduction qu'un individu "produit un ou plusieurs de ses semblables".

L'alimentation, par l'amélioration des conditions physiques et physiologiques de l'animal, contribue pour une large partie à la maîtrise de la reproduction : régularité de la cyclicité, influence sur certains paramètres de reproduction . L'insémination artificielle (I.A.), quant à elle contribue pour beaucoup à l'amélioration génétique par l'utilisation de taureau élite. Le transfert d'embryons a fait son apparition dans ce domaine depuis une trentaine d'années et permet, par l'augmentation de ses descendants, l'exploitation intensive du génome d'une femelle à haute potentialité génétique. Et les généticiens prévoient que le transfert d'embryons, s'il est correctement utilisé, peut permettre une augmentation substantielle (30 à 50 p. 100) du progrès génétique (76) ; son efficacité pouvait être accrue par les différentes techniques de micromanipulation de l'embryon.

Ceci a suscité un grand intérêt pour cette méthode de reproduction. Même si elle reste sur une entrée timide en Afrique, son intérêt n'y est pas pour autant négligeable. C'est pourquoi, elle a été au centre des Journées Scientifiques de la Francophonie tenues à Dakar au Sénégal du 2 au 11 mai 1989 et dont le thème était : "Mieux maîtriser la reproduction des espèces domestiques par le transfert d'embryons". Dans ce cadre, des transferts embryonnaires ont été réalisés sur 3 races bovines (Gobra, Ndama, Montbeliarde) représentant les races dominantes du pays. Ce travail qui en est issu est conçu en 3 parties:

- la première partie expose les généralités sur le transfert embryonnaire dans l'espèce bovine,
- la deuxième partie qui est consacrée à une étude bibliographique des races utilisées, passe en revue les caractères zootechniques et donne un aperçu général sur l'anatomie de l'appareil génital de la vache et quelques aspects de la physiologie de la reproduction,

- enfin la troisième partie qui est la partie expérimentale se termine sur des suggestions dans une perspective d'utilisation de cette biotechnologie en Afrique.

PREMIERE PARTIE

GENERALITES  
SUR LE TRANSFERT EMBRYONNAIRE  
CHEZ LES BOVINS

\*\*\*\*\*

## DEFINITION

Le transfert embryonnaire<sup>(\*)</sup> est une méthode de reproduction artificielle qui consiste à prélever, après fécondation, le ou les embryons dans l'appareil génital d'une femelle dite donneuse, pour le ou les transplanter dans l'appareil génital d'une ou plusieurs femelles, dites receveuses, dans lequel le ou les embryons vont se développer jusqu'à la naissance.

Dans l'espèce bovine, généralement la donneuse est une vache superovulée ; on augmente ainsi sa descendance par nourrice interposée. Mais la technique reste applicable à une donneuse non superovulée ; on se contente alors de prélever l'embryon à chaque cycle sexuel.

La complexité de la définition reflète bien celle de la mise en pratique même de cette biotechnologie, car il va falloir intervenir à plusieurs niveaux : sur la donneuse, sur l'embryon et sur la receveuse ; et c'est ce qui explique la découverte très découpée de la technique telle qu'elle est appliquée de nos jours.

## HISTORIQUE

Historiquement, le développement de la technique des transferts d'embryons peut se diviser en deux périodes. La première correspond aux premiers travaux de recherche sur le transfert d'embryons et la seconde à la commercialisation de la technique.

### - Période expérimentale

S'il fallait trouver une "paternité" au transfert d'embryons, on l'attribuerait volontiers à WALTER HEAPE. C'est en effet en 1891 que cet auteur réalise la première transplantation embryonnaire chez la lapine,

---

(\*) Par analogie avec la langue anglaise quoiqu'en réalité il ne s'agisse pas d'un embryon mais d'un oeuf puisqu'on est toujours avant J13.

mais dans le seul but d'étudier l'influence de l'environnement utérin sur le phénotype de l'embryon (70). Il ne s'agissait donc pas d'augmenter la descendance.

En 1938-1940, des auteurs russes (92, 93) réalisent pour la première fois une gestation multiple (donc une superovulation) chez la brebis traitée à la PMSG puisque l'insémination artificielle était relativement mieux maîtrisée depuis les travaux pionniers de SPALLANZANI (1784) rapportés par MARSHALL (99).

NICHOLAS en 1933 (116) démontre chez la rate l'importance et la nécessité de la synchronie des cycles de la donneuse et de la receveuse. Cette importance sera définitivement établie chez la vache lorsque WILLETT et Coll., en 1951 (167) réussissent le premier transfert d'embryons et obtiennent ainsi le premier veau né de cette technique; tous les essais antérieurs chez les ruminants ayant échoué notamment ceux de WARWICK et Coll. (165) chez la chèvre et la brebis en 1934 et ceux de UMBAUGH en 1949 (159) bien que ce dernier auteur ait obtenu une gestation avancée.

Les transferts embryonnaires se sont ensuite succédés chez diverses espèces (Tableau I).

#### - Développement et commercialisation de la technique

Les techniques, notamment celles de la récolte des embryons, ont parallèlement fait d'énormes progrès. C'est ainsi que des premières collectes d'embryons qui se faisaient après abattage des donneuses (69, 82), on est passé à la récolte par voie chirurgicale d'abord chez la femme (3) et ultérieurement chez les ruminants domestiques (52, 68), puis à la méthode cervicale (18, 107, 109), cette dernière étant d'application relativement plus facile sur le terrain.

Suite aux importants travaux de ROWSON et Coll. (138, 139, 140) à Cambridge (USA), la technique du transfert d'embryons a connu un essor commercial dans l'espèce bovine. Le nombre de transferts embryonnaires bovins réalisés en France est passé de 1 000 en 1980 à plus de 15 000 en 1988 (133).

TABLEAU I : CHRONOLOGIE DES TRANSPLANTATIONS EMBRYONNAIRES DANS LES DIVERSES  
ESPECES DE MAMMIFERES

REFERENCES	DATES	ESPECES CONCERNEES
HEAPE	1891	Lapin
NICHOLAS	1933	Rat
WARWICK et Coll.	1934	Mouton
WARWICK et Coll.	1934	Chèvre
FEKETE et LITTLE	1942	Souris
UMBAUGH	1949	Vache *
WARWICK et BERRY	1949	Chèvre
WILLETT et Coll.	1951	Vache
KVASNICKII	1951	Truie
MUTTER et Coll.	1964	Vache (voie cervicale)
CHANG	1968	Furet
OGURI et TSUTSUMI	1974	Jument
KRAEMER et Coll.	1976	Babouin
STEPTOE et EDWARDS	1978	Homme **
SCHRIVER et KRAEMER	1978	Chat
KINNEY et Coll.	1979	Chien

\* avorté

\*\* transfert précédé d'une fécondation in vitro

Source : (8)



En vue d'augmenter la rentabilité de la technique, les recherches sont surtout axées, actuellement, sur les micromanipulations d'une part et sur la fécondation in vitro d'autre part (16, 88, 150).

## INTERET DU TRANSFERT EMBRYONNAIRE CHEZ LES BOVINS

Le transfert embryonnaire présente chez les bovins un triple intérêt : médical, expérimental, zootechnique.

### - Intérêt médical

La fécondation in vitro suivie de l'implantation de l'embryon dans l'utérus a été utilisée dans l'espèce humaine pour traiter certaines formes de stérilité féminine (occlusion tubaire, défaut de la glaire cervicale) ou masculine (oligospermie) (133). C'est également un recours devant certaines malformations congénitales avec absence de trompes(154).

Chez les bovins, si cet intérêt médical ne fait pas encore l'unanimité, il pourrait s'avérer exploitable dans les prochaines années. La lutte contre certaines formes d'infertilité, si elles ne sont pas d'origine génétique, peut passer par le transfert embryonnaire. Ainsi, chez 12 vaches à haute performance de production mais ayant des troubles de la reproduction, REHBOCK (135) réussit 6 gestations dont 2 par transfert chirurgical et 4 par transfert cervical.

### - Intérêt dans la recherche fondamentale

La fécondation in vitro dont l'étude a précédé le transfert embryonnaire, a été utilisée en premier lieu pour étudier le mécanisme de la fécondation et du développement embryonnaire précoce. Le fait de disposer facilement d'ovules et d'embryons, permet d'étudier l'effet des agents pathogènes sur l'oeuf fécondé et l'embryon avant la nidation, améliorant ainsi la connaissance des causes de mortalité embryonnaire précoce. Une telle étude a été réalisée par COE et Coll. (29). Par la même occasion, la pathogénie des affections congénitales peut être élucidée.

L'étude de l'influence de l'environnement utérin sur le phénotype de l'embryon a été réalisée au cours de transferts d'embryons par HEAPE (70) chez la lapine, et GEISSERT et Coll. (58) chez la vache.

Les embryons obtenus par fécondation in vitro (ou in vivo) fournissent d'excellents modèles de recherche dans le domaine du génie génétique et diverses manipulations embryonnaires.

Enfin, des études sur les propriétés toxiques et tératogènes d'une molécule sur le matériel embryonnaire peuvent être envisagées.

- Intérêt zootechnique

Il constitue l'indication majeure du transfert d'embryons chez les bovins et il s'agit essentiellement de l'amélioration génétique et de la multiplication du génotype recherché.

. Le gain génétique d'une génération à la suivante est d'autant plus important que la pression de sélection est forte et que la précision de la connaissance de la production des descendants est grande. Si l'insémination artificielle (I.A.) permet d'obtenir une pression de sélection forte pour un reproducteur mâle, un tel avantage ne peut être exploité chez un reproducteur femelle compte tenu de la faiblesse du nombre moyen de descendants d'une vache durant sa carrière reproductive : 4 à 5 veaux (46). Le transfert embryonnaire permet de pallier cet inconvénient en permettant d'augmenter la descendance des meilleures femelles : 3 à 4 veaux par vache et par an (133). Le transfert d'embryons est à la femelle élite ce que l'insémination artificielle (I.A.) est au taureau(48). L'intérêt génétique peut se présenter ainsi sous deux aspects :

- un aspect individuel à savoir la reproduction de reproducteurs, femelles essentiellement,

- et un aspect collectif, c'est-à-dire la production de reproducteurs mâles en vue de leur utilisation pour l'I.A. après testage; ce testage pouvant se faire sur les soeurs obtenues par transfert embryonnaire dans le cas de la production laitière par exemple.

. Sur le plan zootechnique, d'autres intérêts, moins évidents mais non moins importants sont à envisager.

- La production de jumeaux par le transfert d'embryon chez une

receveuse peut contribuer à l'augmentation de la production de viande.

- On peut aussi par le transfert d'embryons, procéder à une reconstitution rapide de troupeaux d'élite décimés par un programme de prophylaxie collective (abattage des malades), dans la mesure où le germe responsable de l'infection n'est pas transmissible par l'embryon.

- Le transfert d'embryons participe à la conservation des races en voie de disparition et dont les caractères pourraient s'avérer intéressants dans l'avenir ou pour d'autres pays. En effet, grâce à l'appoint des techniques de congélation, on peut conserver pratiquement indéfiniment des ovules fécondés (11). Cet intérêt s'applique bien au bétail trypanotolérant d'Afrique où un programme de transfert d'embryons de ces races doit permettre à terme l'élevage bovin dans des régions riches en disponible fourrager mais malheureusement infestées de glossines.

- Le mouvement génétique dans l'espace par le biais du transfert d'embryons, outre qu'elle diminue les contraintes liées au transport d'animaux sur pied (coût, interdiction d'importation), apporte une sécurité sanitaire quasi totale. En effet, la réglementation internationale exige dans ces échanges l'intégralité de la zone pellucide de l'embryon, ce qui diminue les risques d'infection pour le pays importateur. De plus, le patrimoine génétique du pays exportateur est maintenu sur place.

- Au niveau d'un élevage, le sexage des embryons permet à l'éleveur de choisir le sexe de son futur veau.

Ces domaines d'action cités ne sont pas exhaustifs, car le transfert d'embryon est une technique en pleine évolution.

## CHAPITRE I : PRODUCTION D'EMBRYONS

Deux méthodes de production d'embryons sont à envisager:

- une production in vivo, la plus ancienne et la mieux maîtrisée et par conséquent la plus utilisée,
- et une production in vitro plus récente d'application.

### I.1.- PRODUCTION D'EMBRYONS IN VIVO

Elle consiste après superovulation et fécondation d'une donneuse, à récolter les embryons par un lavage des cornes utérines.

#### I.1.1. Choix de la donneuse

Le choix de la donneuse conditionne beaucoup la réussite du transfert embryonnaire. Outre les potentialités zootechniques, la future donneuse devra être en parfaite santé.

##### . Critère zootechnique

L'intérêt fondamentale du transfert d'embryons est d'ordre génétique. L'amélioration génétique se concrétise par la sélection des sujets dont la performance tant pour le type que pour la production est considérée comme supérieure. En plus, la donneuse devra être susceptible de transmettre ses caractères à ses descendants.

##### . Age

LAMOTHE (84) signale que plus la donneuse avance en âge, plus la réponse à la superovulation est erratique et il conseille une tranche d'âge entre 5 et 10 ans. Le même auteur remarque que du fait de l'apport d'hormones exogènes, la donneuse de plus de 10 ans présente des manifestations secondaires à la superovulation, notamment des infections : mammites, arthrites pour l'essentiel.

## . Etat sanitaire

L'état sanitaire de la donneuse conditionne certainement en grande partie non seulement le nombre d'embryons récupérés, mais aussi la qualité des embryons (Tableau II). Ainsi le pourcentage d'embryons viables passe de 81 p. 100 pour 15 donneuses en bon état général et sans problème de reproduction, à 37 p. 100 pour 27 donneuses réformées pour des motifs de subfertilité et/ou dont l'état général était très médiocre.

Sur le plan général, la donneuse devra être indemne de toute maladie susceptible d'être transmise à l'embryon ; il s'agit essentiellement de la tuberculose et surtout de la brucellose (113). Il est évident que la liste de ces maladies est variable d'une région à l'autre compte tenu de l'épidémiologie même des maladies.

La donneuse est donc une vache qui n'est ni trop jeune, ni trop âgée, avec un bon état général et un appareil génital en parfait état de santé ; et ses performances sont susceptibles d'intérêt.

### 1.1.2. Superovulation

#### 1.1.2.1. Bases physiologiques

Chez la femelle bovine pubère, l'ovaire est le siège d'une activité cyclique qui n'est interrompue, normalement, que par la gestation et s'arrête à la ménopause. L'événement essentiel du cycle est l'ovulation, c'est-à-dire la libération du gamète femelle qui est un ovocyte en métaphase II.

Il existe à la naissance 68 000 cellules germinales selon ERICKSON (1966) cité par NIBART et BOUYSSOU, (112) et le potentiel ovarien de follicules à antrum reste constant de 2 mois à 10 ans pour diminuer ensuite légèrement. Normalement un seul follicule de DE GRAFF achève sa maturation jusqu'à l'ovulation au cours d'un cycle naturel.

SAUMANDE (142) signale que pour un follicule qui va ovuler, une vingtaine dégénèrent en cours de croissance. Et c'est l'action tonique des hormones gonadotropes, FSH et LH qui intervient dans la croissance folliculaire. Leur injection devrait donc permettre à ces

TABLEAU II : PRODUCTION D'EMBRYONS (VACHES PIES-NOIRES) : COMPARAISON EN  
FONCTION DES CRITERES DE REPRODUCTION DE LADONNEUSE

CRITERES DE REPRODUCTION	NOMBRE	CORPS JAUNES (MOYENNE)	EMBRYONS (MOYENNE)	TAUX DE COLLECTE (p. 100)	BONS EMBRYONS (MOYENNE)	VIABILITE (p. 100)
Réforme *	27	5,74	2,3	40	0,85	37
Reproduction normale	15	6,66	3,53	53	2,86	81
TOTAL	42	6,07	2,73	45	1,57	51

\* motif réforme : Repeat-breeding, endométrite

Source : (114)

follicules (qui normalement dégèneraient) de poursuivre leur développement.

#### I.1.2.2. Traitements de superovulations

Il s'agit de stimuler la croissance, la maturation de nombreux follicules et l'ovulation par des traitements hormonaux. Ces traitements font appel à des hormones capables de stimuler la maturation folliculaire ou d'autres qui seraient responsables de la synthèse de celles-ci.

##### - Les Hormones utilisées

Deux groupes d'hormones gonadotropes sont essentiellement utilisées :

- les gonadotropines hypophysaires dont l'hormone folliculo-stimulante (FSH) et l'hormone lutéinisante (LH) ;
- la gonadotropine sérique de jument gravide(PMSG).

. La PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropine) de nature glycoprotéique est sécrétée au niveau des cupules endométriales et extraite du sérum de jument gravide notamment entre 40. et 150. jours de gestation (42). Elle présente une double activité (FSH et LH) avec toutefois une activité FSH plus marquée.

. La FSH (Follicle Stimulating Hormone) est également de nature glycoprotéique, mais sécrétée par le lobe antérieur de l'hypophyse des mammifères et dont l'hypophyse de mouton et de porc constitue une source importante d'après les travaux de COURRIER et Coll. cités par DERIVAUX (42). Actuellement, la FSH provenant d'extraits purifiés d'hypophyse de porcs (FSH-P) est la plus utilisée (54).

Les préparations peu purifiées de FSH du commerce comprennent à la fois une activité FSH et LH (27). Et l'efficacité de la FSH dépend du pourcentage de LH qu'il contient (44, 50, 83) le taux moyen d'incorporation de LH (pour la FSH-P) étant de 20 p. 100 (50). Soit un rapport FSH/LH est égal à 4.



Des recherches actuelles visent à utiliser de la FSH pure et de la LH pure (133). Dans ce cas et selon les travaux de CHUPIN et Coll. (27) le taux moyen d'ovulation et le nombre d'embryons transférables augmente quand la dose de LH injectée diminue (Tableau III).

- Modalités d'utilisation

Les modalités d'utilisation des hormones de superovulation concernent d'une part le moment du traitement et d'autre part le schéma à adopter. Ces modalités reposent essentiellement sur le principe d'action des hormones.

\* Principe d'action

Avant 1973, tous les traitements de superovulation étaient appliqués en phase folliculaire du cycle oestral car on ne disposait d'autres moyens efficaces d'induction de la lutéolyse que l'énucléation manuelle du corps jaune (112). DOWLING (51) d'une part et HAFEZ et Coll. (65) d'autre part précisent que le meilleur moment de l'injection se situe à J16, en début de phase folliculaire, 4 jours avant l'oestrus présumé, à condition que les cycles soient régulièrement de 21 jours.

Depuis la découverte de l'effet lutéolytique de la prostaglandine  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) chez la vache en 1972 (139), la stimulation ovarienne s'est faite de plus en plus en phase lutéale (112).

Le moment optimal du début du traitement se situant entre J8 et J12 (Tableau IV).

Cette méthode permettrait d'obtenir avec plus de précision un intervalle de 4 jours entre la stimulation et l'oestrus induit (112). En effet, MOOR et Coll. (106) ont montré que les gonadotropines stimulent l'activité mitotique des follicules pré-antraux en même temps qu'elles réduisent l'atrésie dans les follicules antraux. Et la majorité des follicules antraux de taille moyenne se retrouverait entre le 8e et le 10e jour du cycle sexuel (45).

TABLEAU III : VARIABILITE DE LA REPOSE OVARIENNE A LA SUPEROVULATION  
EN FONCTION DU TAUX DE LH INCORPORE A LA FSH

FSH ( $\mu\text{g}$ )	LH ( $\mu\text{g}$ )	FSH/LH	CORPS JAUNES	EMBRYONS TRANSFERABLES
450	45 000	0,1	2,1	0,5
450	900	0,5	4,9	2,1
450	52	8,7	8,4	4,6

Source : (27)

TABLEAU IV : STIMULATION OVARIENNE : JOUR DU CYCLE EN PHASE LUTEALE

JOUR DU CYCLE	NOMBRE DE FEMELLES	NOMBRE D'OVULATIONS	REFERENCES
5 à 7	16	5,0	GORDON et BOLAND (1978)
8 à 11	134	12,9	NELSON et Coll. (1979)
12 à 14	49	10,2	SREENAN et BEEHAN (1977)

Source : (112)

La prostaglandine quant à elle, permet la lyse des corps jaunes qui sécrètent la progestérone. La levée de l'inhibition de cette hormone au niveau de l'hypothalamus favorise, par le biais de la Gn-RH, une sécrétion accrue d'hormones hypophysaires induisant ainsi l'apparition d'un nouveau cycle sexuel avec une croissance folliculaire.

#### \* Technique de superovulation

La technique de superovulation diffère selon que la gonadotropine est de la PMSG ou de la FSH. De plus, des variations de doses sont observées à l'intérieur de chaque type de gonadotropine.

. Selon SAUMANDE (142), l'importance de l'acide sialique dans la fraction glucidique de la PMSG expliquerait sa demi-vie très longue (120 heures) d'où sa facilité d'emploi : une seule injection suffit. Les doses utilisées ont varié de 800 UI (67) à 500 UI (65). De nos jours, une dose moyenne de 2500 à 3000 UI est injectée par voie intra-musculaire (169, 63) en fin de phase lutéale suivie d'une injection de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , ou un de ses analogues 48 heures après.

Quant à la FSH, sa demi-vie est très courte : 20 à 30 minutes selon KÖHLER et Coll. cité par NIBART et BOUYSSOU (112). Ceci oblige à faire une injection toutes les 12 heures. Généralement, la première injection est administrée entre le 9<sup>e</sup> et le 13<sup>e</sup> jour du cycle (45). Le nombre de jours du traitement peut varier de un (73) à quatre (28) ou cinq (122, 112). De même, la dose totale à injecter varie : 24 mg à 60 mg (54, 28). Elle est administrée alors en doses décroissantes, et l'injection de la prostaglandine est faite 48 heures après le début de la première injection de FSH.

Ainsi les traitements de superovulation sont à base soit de FSH, soit de PMSG (pour la stimulation ovarienne) auxquelles on associe la prostaglandine (pour la lutéolyse). La Gn-RH (Gonadotropine Releasing Hormone) qui a une activité stimulante sur la synthèse et/ou la libération de FSH et LH (42, 163) peut être utilisée comme complément aux traitements de superovulation.

La FSH, bien que d'emploi contraignant, présenterait selon certains auteurs (51, 79) une certaine supériorité sur la PMSG dans le traitement de superovulation. Mais GORLACH et Coll. (cités au Xe Congrès International de Reproduction et I.A.) (160) ont montré une supériorité de la PMSG sur la FSH si cette PMSG était associée à l'anti-PMSG (injecté au moment des chaleurs).

### I.1.2.3. Conséquences hormonales : profils hormonaux après fécondation

Du fait d'un apport exogène d'hormones dans le cadre de la stimulation ovarienne, il se produit chez la vache superovulée des variations plus ou moins importantes (selon le degré de réponse ovarienne) des concentrations plasmatiques aussi bien des hormones gonadotropes (LH, FSH) que stéroïdes (oestrogènes et progestérones). Ces variations de profils hormonaux ont été étudiées par plusieurs auteurs (62, 115, 142).

Chez la vache superovulée, il n'y a pas de différence significative dans les valeurs des pics de FSH et LH, comparativement à celles d'animaux cyclés non superovulés. Mais lorsque la réponse à la superovulation est bonne ( $16,0 \pm 7,1$  c.j.) les pics préovulatoires parallèles de FSH et LH coïncident avec le début de l'oestrus, tandis qu'ils surviennent 8 heures après le début de l'oestrus chez les animaux ayant répondu peu ( $3,6 \pm 2,8$  c.j.) comme au cours d'un cycle normal (142). De plus GOTO et Coll.(62) ont établi une corrélation de 0,66 entre le taux plasmatique de LH et le nombre d'embryons normaux que l'on récolte.

Les niveaux d'oestrogènes (oestradiol  $17-\beta$ , oestrone) apparaissent plus importants chez les animaux avec une bonne réponse (142, 115) et il existe une corrélation de 0,56 entre la concentration plasmatique d'oestradiol et le nombre d'embryons normaux le jour de la récolte (62).

Une augmentation des concentrations en progestérone (supérieure à 1 ng/ml de plasma) se produit 48 heures après le pic de LH chez la donneuse à bonne réponse, après 72 heures chez celle à réponse faible et après 132 heures au cours d'un cycle normal (142).

Les profils hormonaux de la vache superovulée peuvent s'avérer intéressants pour apprécier l'importance de la réponse ovarienne au traitement de stimulation. Ceci viendrait en complément à d'autres méthodes d'appréciation des modifications ovariennes comme de comptage des formations (c.j. et follicules) par palpation transrectale ou l'échographie (Planche 1).

### I.1.3. Fécondation

Il s'agit de procéder à la fécondation des ovocytes après le traitement de superovulation. Cette fécondation peut se faire naturellement par accouplement des donneuses (dès l'apparition des chaleurs) avec le taureau dont on recherche certains caractères et par conséquent les femelles sont mises en présence du mâle au moment des chaleurs survenant à la suite du traitement de superovulation.

Mais on utilise surtout l'insémination artificielle. Dans tous les cas, la semence utilisée devra être de bonne qualité. En effet de nombreux auteurs (9, 21, 104, 108) ont démontré l'influence de la qualité de la semence du taureau, tant sur la proportion d'embryons récoltés que sur leur qualité.

Dans l'industrie de l'I.A. et pour ce qui concerne le moment d'intervention, on applique surtout la loi "matin-soir" (45). A savoir qu'une vache détectée en oestrus le matin est inséminée dans l'après-midi, tandis que celle détectée l'après-midi est inséminée le lendemain matin. Cette loi est basée sur le principe que l'ovulation se produit en moyenne 24 heures après le début des chaleurs, que la durée de vie de l'ovule est de 12 heures et celle du spermatozoïde de 24 heures en moyenne. Le gamète mâle doit être présent au moment de l'ovulation et garder parallèlement une viabilité lui permettant de féconder l'ovocyte dans les 12 heures. Donc, il faut qu'il soit présent au minimum 12 heures avant l'ovulation soit encore 12 heures après le début des chaleurs.

Lorsqu'il s'agit de vaches superovulées, certaines considérations entrent en ligne de compte



PLANCHE 1: Echographie d'un ovaire d'une taure superovulée effectuée 25 heures après le début de l'oestrus.

Source: (45)

- le pic de LH, dans les cas de bonne réponse correspond au début de l'oestrus (142) alors que dans les conditions physiologiques normales, la décharge cyclique de LH se produit 8 heures après le début des chaleurs et l'ovulation 24 heures après la décharge de LH ;

- il s'écoule un délai de 24 heures entre la première et la dernière ovulation.

Pour ces raisons, certains auteurs (7, 66) ont préconisé trois inséminations à 12 heures d'intervalle à la période de l'oestrus attendu. Pour d'autres (33, 108, 165) deux I.A. pratiquées 12 et 24 heures après le début de l'oestrus suffisent. Finalement, les travaux de SCHIEWE (143) et ceux de DONALDSON (49) ont démontré que la multiplicité des inséminations chez la vache superovulée n'offrait pas réellement d'avantage par rapport à une seule insémination. Ainsi une seule insémination réalisée 48 heures après l'injection de PG permet d'obtenir un taux de fécondation de 75 p. 100.

Une fois la fécondation accomplie, les zygotes amorcent leur développement et la prochaine intervention consistera en la collecte des embryons.

#### I.1.4. Récolte des embryons

Le moment de la récolte des embryons et ses modalités sont basés sur la connaissance du développement embryonnaire tout au moins de ces premières étapes.

##### I.1.4.1. Premières étapes du développement de l'oeuf chez les bovins

Après fécondation, l'oeuf apparaît comme une grosse cellule à deux noyaux (les pronuclei mâle et femelle) qui ne tarderont pas à fusionner en un noyau unique, lequel va subir une série de divisions mitotiques (43).

Cet oeuf ou zygote est entouré d'une membrane de nature glycoprotéique (la zone pellucide) qui protège et maintient les cellules

embryonnaires (blastomères) ensemble ; le tout ayant un diamètre d'environ 170 µm, diamètre qui variera d'ailleurs très peu jusqu'au stade du blastocyste (127).

Après J4 l'embryon passe dans l'utérus. Il est alors formé d'une masse de cellules très bien liées entre elles.

Vers J6, des jonctions étroites se forment entre les blastomères, ces cellules perdent leur identité et l'embryon ressemble à une masse compacte. C'est le stade morula. La formation des jonctions permet l'accumulation de liquides jusqu'à ce qu'elles poussent sur la zone pellucide. Les cellules internes se groupent pour former le bouton embryonnaire qui donnera éventuellement un fœtus (127).

A partir de J7, on a un blastocyste.

La chronologie et les principales étapes du développement de l'oeuf sont retracées par la figure 1.

Cette première période de divisions de l'oeuf dure jusqu'au 11e - 12e jours et est suivie de la période embryonnaire (J13-J45) (112) à proprement dite, caractérisée par l'organogénèse. Toute modification du milieu au cours de la période de l'oeuf peut interférer gravement sur le développement et se trouver à l'origine de diverses embryopathies (42) et de mortalités embryonnaires.

#### I.1.4.2. Bases physiologiques de la récolte des embryons

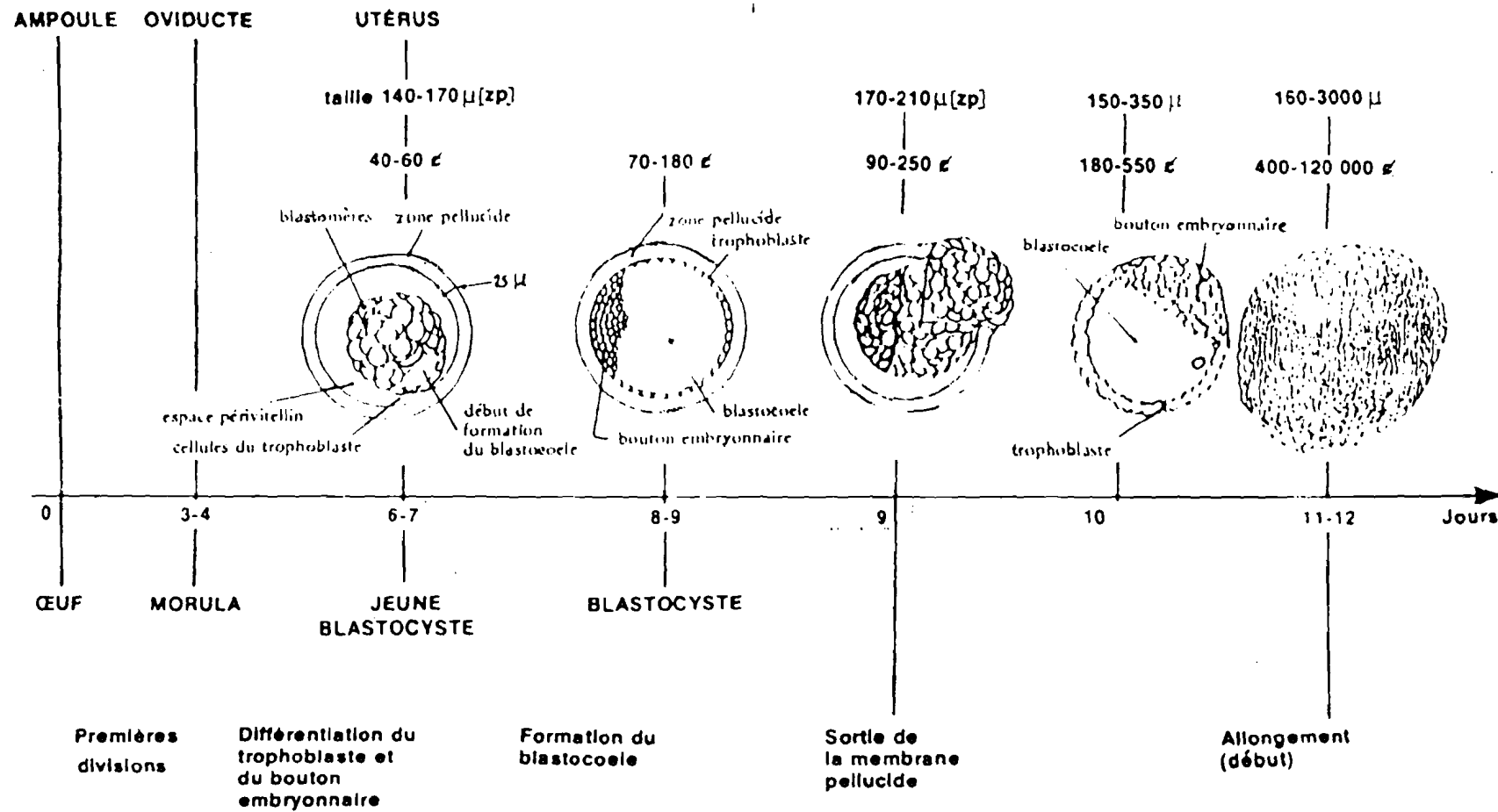
Quelques faits physiologiques expliquent les dates précises du cycle entre lesquelles il est possible de récupérer les embryons.

. En ce qui concerne la donneuse, et puisque la méthode de récolte cervicale est de règle actuellement (8,112), l'embryon doit être sorti de l'oviducte (J4 - J5) et encore libre dans l'utérus, donc à un stade antérieur au début de son immobilisation dans l'utérus (J13).

Il ne doit non plus pas être trop gros pour ne pas être lésé au cours des diverses manipulations ; or à partir de J13, on note une croissance importante du trophoblaste et l'embryon devient fragile (112).



FIGURE 1 : CHRONOLOGIE DU DEVELOPPEMENT DE L'EMBRYON DE BOVIN DE LA FECONDA TION A L'EXPANSION DU BLASTOCYSTE



œ = cellule

ZP = embryon dans la membrane pellucide

Source : (75)

. En ce qui concerne la receveuse, l'embryon doit être remis en place dans le même segment du tractus génital que celui dans lequel on l'a prélevé, c'est-à-dire les cornes utérines (112) et où il retrouvera des conditions semblables à son milieu d'origine; (8, 43,112) d'où la nécessité de la synchronie des cycles de la donneuse et de la receveuse (8).

Par ailleurs, NIBART et BOUYSSOU (112) citant les travaux de BRAND (1976) et ceux de NORTHEY et FRENCH (1980) rappellent d'une part qu'on observe des contractions du myomètre jusqu'à J5 et d'autre part, qu'à partir de J6, une substance sécrétée par l'embryon, la trophoblatine, est nécessaire pour éviter la disparition du corps jaune, lui-même nécessaire au maintien de la gestation.

#### I.1.4.3. Moment de la récolte

La combinaison de ces renseignements a fait que la période de la récolte a été établie entre J7 et J12 (J0 = jours des chaleurs) (112). Mais dans la pratique, les embryons sont prélevés à J7 -J8 (24,86, 113). Il s'agit dans tous les cas d'un oeuf qui est récolté et transféré et non d'un embryon comme le laisse entendre le terme "transfert d'embryon".

#### I.1.4.4. Méthode de récolte

La collecte des embryons est précédée par une appréciation de la réponse au traitement de superovulation et deux méthodes de récolte sont utilisées : la méthode par voie chirurgicale et celle par la voie cervicale.

#### - Appréciation de la réponse ovarienne

La réponse ovarienne au traitement de superovulation est estimée par le nombre de corps jaunes perçus par palpation transrectale des ovaires le jour de la récolte ; ou mieux, on peut procéder à un dosage de la progestérone dans le plasma, car l'évaluation du nombre de corps jaunes par palpation transrectale n'est pas très exacte (114). C'est la raison pour laquelle la corrélation entre le nombre de corps jaunes estimé par cette méthode et la concentration de progestérone dans le plasma de la donneuse le même jour n'est que de 0,61 (114) alors

que LEMON et SAUMANDE (89) trouvent une corrélation de 0,89 à la même période, lorsque les corps jaunes sont comptés par endoscopie.

- Récolte par voie chirurgicale

Pendant longtemps, elle a été la seule méthode utilisée (52). Mais elle n'est pratiquement plus employée, sauf en stations de recherche dans des buts d'expérimentation ou dans certains centres de transfert qui utilisent comme donneuses des génisses culardes dont le col de l'utérus est pratiquement infranchissable (112).

L'utérus est alors abordé par le flanc de l'animal. La récolte par voie chirurgicale a été vite supplantée par la méthode dite cervicale.

- Récolte par voie cervicale

En passant par le col utérin, on procède au rinçage des cornes à l'aide d'un milieu spécial injecté et récupéré par l'intermédiaire d'une sonde mise en place dans l'utérus. Un ballonnet gonflable, soit par de l'air soit par de l'eau, permet de fixer cette sonde dans la corne utérine et d'éviter le reflux du liquide vers le vagin. Le ballonnet est placé au niveau du corps utérin ("grand volume" de PBS) ou successivement au niveau de chaque corne ("petit volume" de PBS) (figure 2). Plusieurs types de sondes ont été inventées, les unes à deux voies et les autres à trois voies (figure 3).

Pour la préservation des embryons lors de leurs prélèvements, on utilise généralement une solution tampon phosphatée saline (PBS) dont la composition est donnée au tableau V.

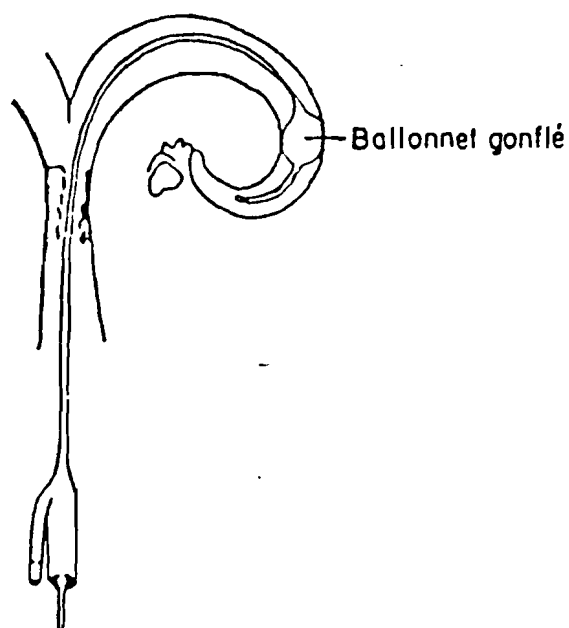
I.1.4.5. Recherche et appréciation de la viabilité des embryons

- Recherche des embryons

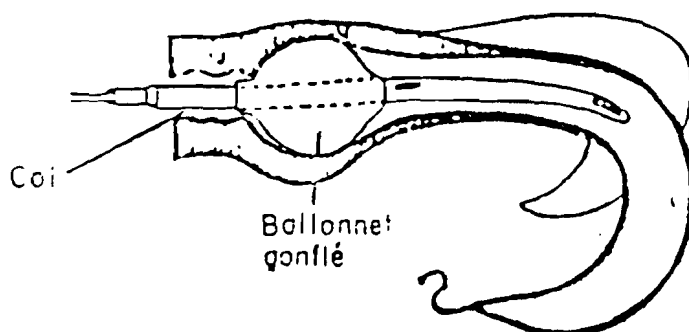
La recherche et l'examen des embryons dans le liquide de récolte doit se faire avec du matériel stérile dans les meilleures conditions de propreté et à température constante (20-25°C) (112). On élimine une grande partie du liquide de collecte soit après décantation.

**TABLEAU V :** Composition du milieu de transfert ou PBS (Phosphate Buffered Saline) par litre de solution

Solution A DULBECO	NaCl	8.0 g
	KCl	0.2 g
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.15 g
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.3 g
Solution B	CaCl <sub>2</sub>	0.1 g
	MgCl <sub>2</sub>	0.1 g
Autres	Sérum de veau	
	inactivé	2%
	Kanamycine	25 mg
	ou	
	pénicilline	100 000 u.l.
streptomycine	50 mg	



a) Cathéter de type Foley dans l'utérus.  
Position du ballonnet (petit volume de PBS).



b) Cathéter de type Foley dans l'utérus.  
Position du ballonnet (grand volume de PBS).

**FIGURE 2 :** CATHETER DE TYPE FOLEY DANS L'UTERUS

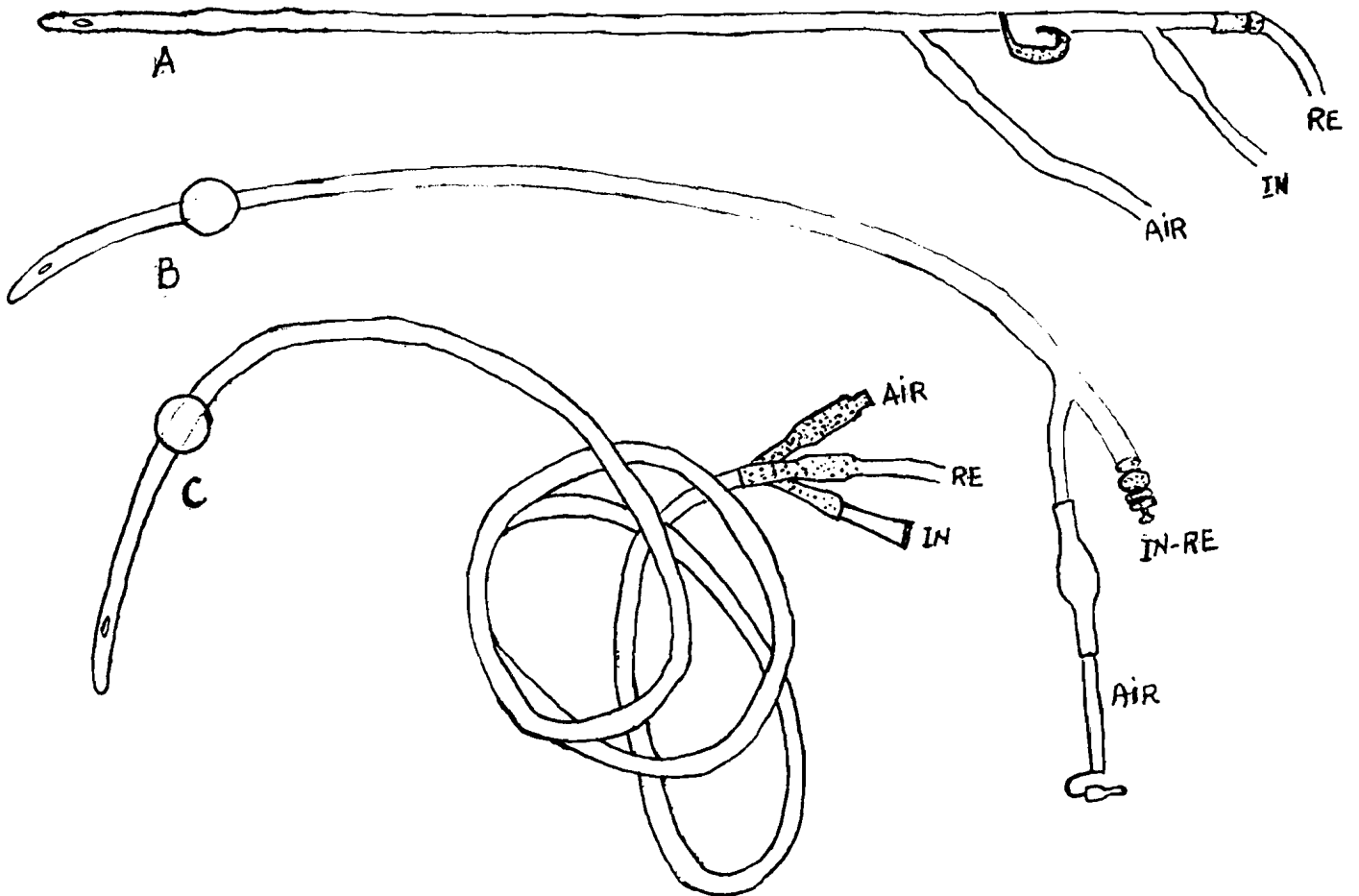


Fig. 3- Sonde de récolte cervicale des embryons

A= IMV-INRA trois voies(\*)

B= NEUSTADT-AISCH deux voies

( \* Ballonnet non gonflé )

C= FRANKLIN trois voies

AIR= Gonflage du ballonnet

IN= Injection

RE = Retour

soit par filtration en utilisant un millipore de 0,74  $\mu\text{m}$  de diamètre, soit encore par centrifugation (40, 41). Ces trois techniques ont donné respectivement 99 p. 100, 95 p. 100 et 50 p. 100 des embryons récupérés (160). Le décantat contenant en principe les embryons est examiné à la loupe binoculaire à lumière froide (112) à un grossissement 10 à 12 (127).

#### - Appréciation de la viabilité

Les critères d'appréciation de la viabilité des embryons sont encore presque exclusivement des critères morphologiques, en fonction du délai après la fécondation : symétrie de l'embryon, uniformité des granulations, compacité, exclusion ou non des blastomères et évidemment le stade de développement.

Un système international de codification numérique a été établi par ELSDEN (53) pour décrire le stade de développement et la qualité des embryons. Le stade de développement est désigné par un 1er chiffre de 1 à 9 (Tableau VI) et la qualité par un second de 1 à 4 (Tableau VII) ; la qualité étant définie par la déviation de l'embryon de l'apparence morphologique idéale d'un embryon à ce stade (54). Il est donc évident que la qualification de l'opérateur intervient pour beaucoup.

Mais les embryons, surtout ceux des vaches superovulées (donc ayant ovulé sur plusieurs heures) ne suivent pas nécessairement le schéma de développement classique et il est normal de retrouver à J7, par exemple, des morula, des jeunes blastocystes ou des blastocystes en expansion (127), néanmoins, ces embryons seront transférés autant que possible chez des receveuses respectivement à 6, 7 et 8 jours post-oestrus.

Il est signalé dans la littérature (112) des critères métaboliques comme le test de consommation du glucose (Philippon et Coll., 1980), ou la coloration vitale au diacétate de fluoroscéine (Schilling et coll., 1980) ou à l'éosine B ; cette dernière technique s'est révélée concluante pour des embryons de souris selon les travaux de DOOLEY et coll. rapportés au Xe Congrès International de Reproduction et d'Insémination Artificielle (160).

TABLEAU VI : STADES DE DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE NORMAL ET CODE INTERNATIONAL CORRESPONDANT

JOUR	EVENEMENT	MORPHOLOGIE	CODE INTERNATIONAL
0	Chaleur	Ovocyte folliculaire	
1	Ovulation	1 cellule avec cumulus	1
2		2 cellules	2
3		4,8 cellules	2
4		16,32 cellules	2
5	Passe dans l'utérus	Jeune morula	3
6		Morula compacte	4
7		Jeune blastocyste	5
8		Blastocyste	6
		Blastocyste en expansion	7
9		Eclosion	
10		Blastocyste libre	8
11		Début d'élongation	9
14		Blastocyste allongé	
20-23		Début des battements cardiaques et de l'attachement	

Source : (127)

TABEAU VII : QUALITE DES EMBRYONS ET CODIFICATION INTERNATIONALE

CODE	SIGNIFICATION
1	Embryon excellent ou avec quelques légers défauts
2	Embryon compact avec granulations assez uniformes (quelques blastomères peuvent être exclus et la symétrie imparfaite)
3	Embryon dont plusieurs blastomères sont exclus et/ou les cellules semblent vacuolisées
4	- Ovocytes non fécondés - Embryons complètement désorganisés

Source : (127)



Du fait du traitement de superovulation et des manipulations que subissent les donneuses, il est important d'envisager les suites quant à leur état de santé ou leur niveau de production.

#### I.1.5. Devenir de la donneuse et problèmes associés à la superovulation

Les organes génitaux, le cycle, la fertilité, les productions peuvent subir des perturbations plus ou moins importantes.

##### - Organes génitaux

. Après la récolte, il peut arriver que des embryons non récupérés produisent une gestation multiple. On préconise alors une injection de prostaglandine ou une solution d'un antibiotique irritant comme la tétracycline pour provoquer le retour en chaleur (126).

. 10 à 25 p. 100 des vaches superovulées présenteront des kystes folliculaires, mais aucune séquelle permanente n'a été signalée notamment après récolte par voie cervicale (126).

. Plus rares sont les problèmes de métrite. L'injection d'un antiseptique dans les cornes après récolte diminuerait ce risque (113).

##### - Retour en chaleur et délai inter-superovulation

Le cycle sexuel, après traitement de superovulation, est généralement allongé : 24 à 39 jours (112).

Une injection de prostaglandine pourrait produire un oestrus apparent 3 à 7 jours après (126) mais la fertilité à cette chaleur induite serait très faible (113) et le délai jusqu'à des chaleurs fécondantes normales deviendrait identique. Ce traitement n'aurait donc aucun intérêt.

Finalement, la donneuse superovulée devient réutilisable 60 jours après la récolte (84).

##### - Fertilité

La fertilité ultérieure de la donneuse ne semble pas être affectée par les opérations de production d'embryons (112, 113, 126).

- Production lactée

On peut noter chez la donneuse une chute quelquefois très importante (30 - 50 p. 100) de la production laitière (126), notamment chez les grandes productrices (50 kg et plus par jour). Il a été aussi signalé des pertes de lait et des problèmes de mammites subcliniques.

Au total, le traitement de superovulation, et la collecte des embryons affectent peu la santé de l'appareil génital et la production lactée des donneuses. Mais ils entraînent un retard dans la mise en reproduction de ces vaches, retard dû à la longueur du traitement (5 semaines) puis au retour en chaleurs (normales et fécondantes) tardif (5-6 semaines).

## I.2. PRODUCTION D'EMBRYONS "IN VITRO"

Compte tenu du nombre d'embryons transférables relativement faible (2 à 4) avec des donneuses considérées comme collectables (> 5 c.j.) (112), on a pensé que des ovaires prélevés à l'abattoir devraient pouvoir apporter une quantité abondante d'oeufs pour le transfert et les micromanipulations d'embryons. Encore faudrait-il pouvoir assurer in vitro la maturation, la fécondation et la culture des ovocytes folliculaires. De nombreux auteurs se sont investis dans ce sens (16,88, 147, 150).

### I.2.1. Maturation d'ovocytes in vitro

Pour obtenir des ovules de qualité permettant la fécondation in vitro et la production d'embryons, les chercheurs ont d'abord utilisé la superovulation suivie d'une laparoscopie (148) ou laparotomie (16) de façon à prélever les ovules dans les heures qui précèdent l'ovulation puis à les maturer. On a pu ainsi obtenir des veaux dans des proportions assez intéressantes (40 p. 100) (150). Mais, compte tenu du coût élevé de cette méthode, il devenait avantageux de tenter d'utiliser des ovocytes provenant de follicules plus petits, obtenus à l'abattoir, pour tenter d'obtenir leur maturation in vitro. C'est ainsi que depuis 1987, des veaux ont été obtenus de cette façon et plusieurs gestations rapportées (61, 94, 152, 162, 170).

Deux méthodes principales sont utilisées pour induire la maturation in vitro des ovocytes de bovin : l'isolation et la co-culture.

- l'isolation, outre les milieux de culture utilisés (34, 147) fait intervenir une autre espèce (lapin, mouton) dite porteuse où l'embryon demeure pendant 4 à 5 jours après la fécondation in vitro (147).

- la co-culture, quant à elle se fait en présence de 5 à 7 millions de cellules de la granulosa par ml obtenues par dissection folliculaire (147) et dans un milieu de culture approprié (94).

La première méthode est plus simple (147) mais ne permet d'obtenir des embryons de 6 à 7 jours (morula et blastocystes) que dans

5 à 35 p. 100 des cas (61, 152, 162) alors que la co-culture permet dans 38 à 74 p. 100 des cas à des ovules mûris in vitro de se rendre au stade de morula (94, 170).

### I.2.2. Fécondation in vitro

Cette étape consiste à mettre en présence des spermatozoïdes capotés et des ovules à maturité.

- La nécessité de la capacitation in vivo des spermatozoïdes avant la fécondation a été démontrée depuis 1951 (4). Deux méthodes de capacitation in vitro en vue de la fécondation in vitro ont été mis au point :

- la première par BRACKETT et Coll. (16) utilisant un milieu à osmolarité élevée (très salé) ;

- la seconde par PARRISH et Coll. (121) combine la sélection des spermatozoïdes mobiles ("Swing-up") et une exposition à l'héparine.

- L'incubation des ovules dure normalement 18 heures et 1 million de spermatozoïdes par ml sont utilisés.

Cette étape de la fécondation in vitro a lieu dans des micro-gouttes de 50 µl sous huile minérale et 5 ovules sont placés dans chaque micro-goutte (147). Puis les ovules ou les zygotes sont lavés et transférés dans des milieux de culture avec du Sérum de Veau Foetal (SVF) (150).

### I.2.3. Développement in vitro et in vivo

Les milieux de culture utilisés pour le développement des embryons d'une cellule au stade blastocyte chez la souris, le rat, le hamster ou même l'humain n'ont pu être utilisés chez les ruminants (mouton, bovins) (6), même après supplémentation avec différents types de sérums bovins (149). Seules les techniques de co-culture ou de transfert chirurgical dans l'oviducte d'un hôte intermédiaire (lapin, mouton) sont actuellement utilisées.

## CHAPITRE II : CONSERVATION DES EMBRYONS

Pendant le délai, plus ou moins long qui s'écoule entre le moment où les embryons sont récupérés chez les donneuses et celui où ils sont mis dans l'utérus des receveuses, les embryons doivent être maintenus en vie. Ceci nécessite avant tout une connaissance des besoins de l'embryon.

### II.1. BESOINS DE L'EMBRYON

Selon les travaux de KANE (1977) rapportés par NIBART et BOUYSSOU (112), il faut maîtriser les constituants et les facteurs physiques suivants pour que le milieu utilisé permette la survie de l'embryon :

- ions principaux :  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$   
 $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$
- osmolarité,
- pH,
- sources d'énergie : pyruvate, glucose, acides gras,
- acides aminés,
- vitamines,
- macromolécules (protéines),
- gaz,
- divers : récipient, pression ambiante, nombre d'embryons/ml, facteurs hormonaux, qualité de l'eau.

### II.2. MILIEUX DE RECOLTE ET TRANSFERT IMMEDIAT

Lorsque les embryons doivent être transférés dans les 6 heures qui suivent la récolte, le milieu de conservation est celui de la collecte.

Il s'agit généralement d'un milieu tamponé au phosphate de sodium : - PBS, WHITTINGHAM

- ou PBS, DULBECCO,

avec respectivement un pH de 7,2 et 7,3  $\pm$  0,1 et une pression osmotique de 290 milliosmoles et 293 milliosmoles (85, 112).

Au PBS conventionnel, sont ajoutés, après stérilisation du chlorure de calcium et du magnésium. Il est complété avec 20 p. 100 de sérum de veau inactivé et des antibiotiques (25 mg de Kanamycine/l ou  $10^3$  U.I de Pénicilline et 50 mg de Streptomycine~~l~~). Dépendant de sa source commerciale, le PBS peut être stérilisé à la chaleur ou sur filtre Métracil de 0,20  $\mu$ m.

D'autres milieux comme le HTM (Hartmann's Physiological Solution) semblent pouvoir être utilisés (90).

La température ambiante au moment des manipulations (examen, sélection, ...) doit être modérée et stabilisée entre 20 et 25°C (85).

### II.3. CONSERVATION DES EMBRYONS

En vue d'effectuer des transferts répartis dans l'espace (à plus ou moins longue distance) ou dans le temps (à plus ou moins longue échéance), il est nécessaire d'envisager d'autres méthodes de conservation des embryons.

Deux possibilités sont actuellement envisageables :

- l'une pour une conservation de courte durée (24 à 48 heures) : la culture (103, 112) ;

- et l'autre pour une conservation de longue durée, presque indéfiniment, (11) : la congélation.

#### II.3.1. Conservation de courte durée

La méthode d'isolation précédemment décrite et dans laquelle l'oeuf fécondé est mis dans l'utérus d'une espèce intermédiaire (lapin,

mouton) a été envisagée comme une méthode de conservation de courte durée puisque l'embryon peut y survivre 24 à 48 heures (112) voire 4 à 5 jours (147). Cette méthode a été exploitée dans ce sens il y a quelques années (112).

Plus pratique est la culture par laquelle on peut assurer non seulement la survie d'un blastocyste mais aussi son développement (112); il est alors nécessaire de lui fournir un milieu riche et complexe. Plusieurs milieux de culture ont été ainsi proposés (90) mais le plus utilisé semble être le milieu B<sub>2</sub> de MENEZO (103). Après 24 heures de culture à 37°C dans ce milieu, la viabilité de l'embryon est peu diminuée, mais après 48 heures de culture, le taux de gestation après transfert tombe à 30 p. 100 (112).

Au vu de la brièveté du délai de conservation et de la mise en pratique difficile sur le terrain pour la première méthode, et du pourcentage de succès faible pour la seconde, il est nécessaire de procéder à un autre type de conservation.

### II.3.2. Conservation de longue durée : la congélation

Elle consiste à "bloquer" le métabolisme cellulaire sans empêcher le développement ultérieur de l'embryon. Aux températures très inférieures (de l'ordre de -100 °C) (112), le métabolisme cellulaire est complètement "bloqué". Pour atteindre ces températures, deux facteurs létaux pour l'embryon sont à prendre en considération et ont été largement étudiés (13, 15, 125) :

- si la congélation est très rapide, il y a apparition de glace intracellulaire et la réanimation des embryons est diminuée (15). Néanmoins POLGE (131) a montré que les embryons pouvaient supporter une certaine quantité de glace intra-cellulaire si la décongélation était très rapide ;

- par contre si la congélation est très lente, les cellules sont exposées à des concentrations de solutés (PBS) néfastes à leur survie (131) car il s'en suit une déshydratation trop importante.

Pour empêcher la formation de gros cristaux de glace, un cryoprotecteur est ajouté au PBS. Ce cryoprotecteur, généralement du glycérol (128) peut être aussi du DMSO (Diméthylsulfoxyde) ou les deux (15). En se substituant à l'eau, dans une certaine mesure, ils évitent aussi les trop fortes concentrations salines intracellulaires (112).

#### . Etapas de la congélation

Après passage à température ambiante (20-25°C) dans le cryoprotecteur, l'embryon est introduit (avec 0,1 ml du milieu) dans une paillette (figure 4).

Le passage de la température ambiante à -7°C se fait en plaçant la paillette dans l'enceinte d'un congélateur pré-refroidi à cette température. Cette première opération dure 5 mn (128) à 8 mn (15).

La cristallisation est alors induite par refroidissement brutal des parois de la paillette à l'aide d'une pince préalablement refroidie dans l'azote liquide.

Ensuite, selon le protocole choisi, la paillette est soit placée directement pendant 30 mn dans un bain d'alcool réfrigéré à -30°C, soit soumise, à l'aide du congélateur programmable à des vitesses de refroidissement de 1,3°C/mn ou entre 0,3 et 0,5°C/mn (15, 128) jusqu'à -30°C (figure 5). Ce rythme de congélation très lent permet une formation progressive de glace qui entoure l'embryon. L'eau est donc retirée progressivement (puisqu'elle se transforme en glace) laissant une solution saline de plus en plus concentrée. Sous l'influence de ce milieu, l'embryon se déshydrate lentement et son volume diminue. Vers -30°C, la concentration du milieu intracellulaire est suffisante pour permettre de plonger directement les embryons dans l'azote liquide à -196°C où se fait la conservation définitive.

Au moment de son utilisation, la décongélation de l'embryon se fait par passage direct de la paillette au bain-marie à 37°C (15) ou tout simplement dans un bain d'eau à 20°C (128) jusqu'à disparition des glaçons. Le cryoprotecteur est ensuite enlevé soit par dilution graduelle dans des concentrations décroissantes (méthode par étape),



soit par immersion dans une solution de sucrose pour retirer le glycérol par osmose. Le sucrose peut être aussi placé directement dans la paillette, ce qui permet le transfert direct de l'embryon sans le retirer du contenant (méthode "one step") (128). Mais cette dernière méthode semble moins efficace que la première (Tableau VIII). La survie des embryons est estimée immédiatement après décongélation en fonction de leur aspect morphologique comme sur des embryons fraîchement récoltés.

Qu'il s'agisse d'un embryon fraîchement récolté ou décongelé, la bonne qualité de celui-ci est un facteur indispensable à la réussite du transfert embryonnaire. Mais il est un autre facteur non moins important, c'est la receveuse et son utilisation.

FIGURE 4 : POSITION DE L'EMBRYON DANS LA PAILLETTE

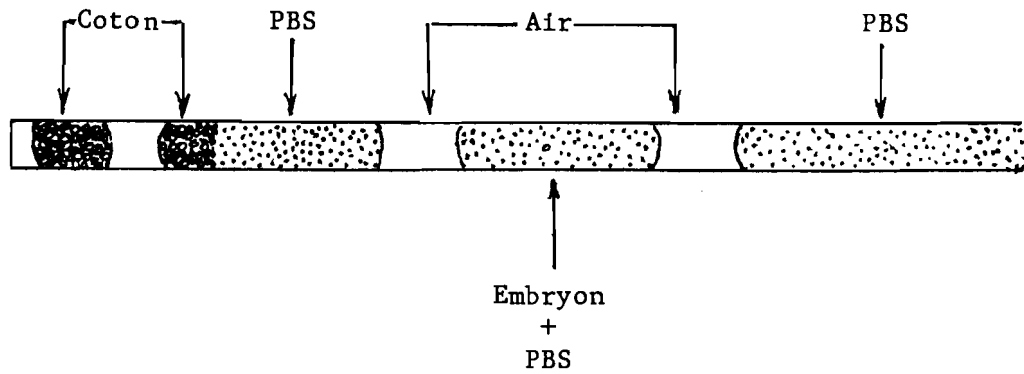


TABLEAU VIII : COMPARAISON DE DEUX METHODES DE CONGELATION

METHODES	NOMBRE D'EMBRYONS	NOMBRE DE GESTATIONS	TAUX DE GESTATIONS (EN P. 100)
"One Step"	86	25	29
Standard	34	17	50

Source : (128)

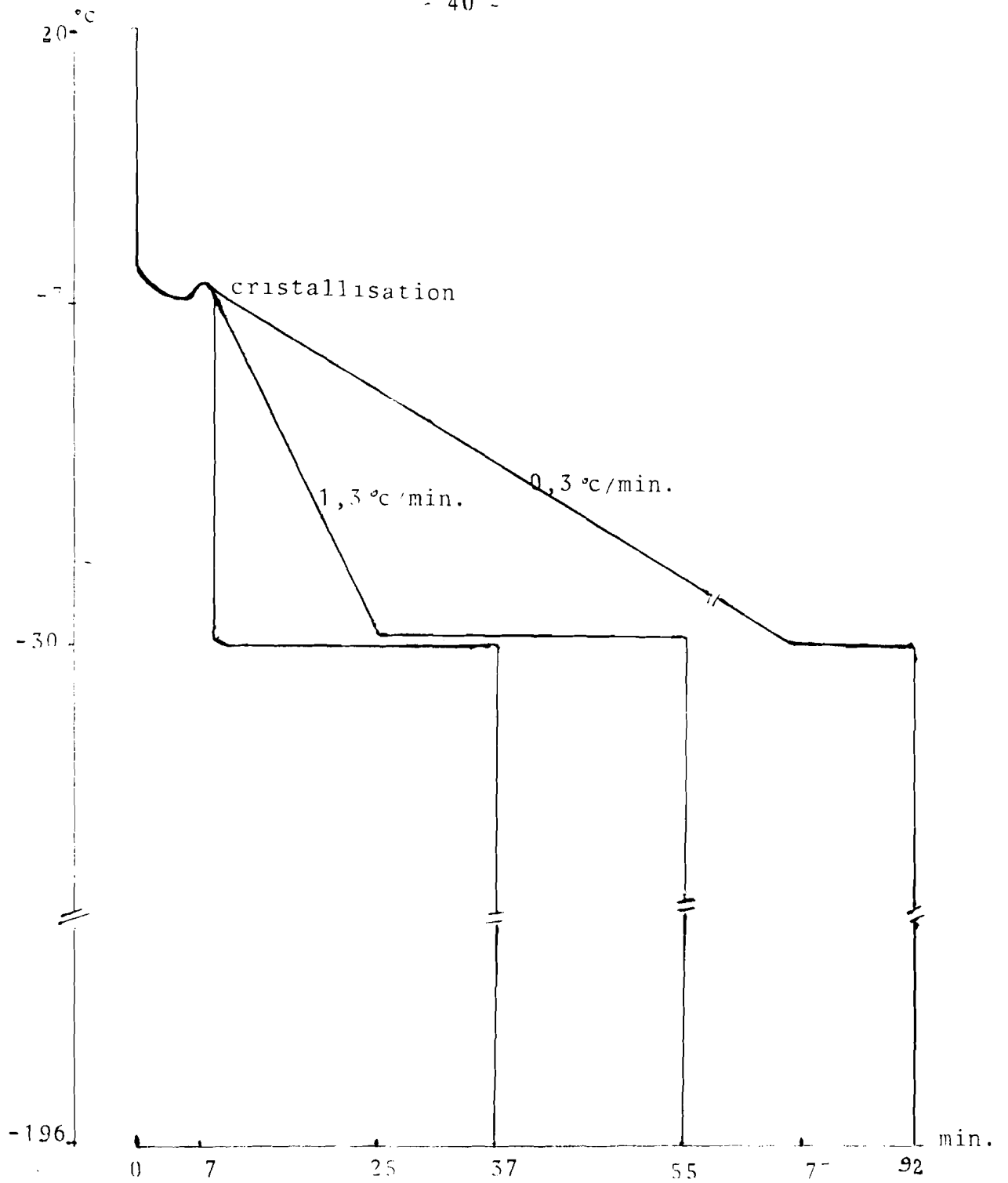


fig. 5: Protocoles de refroidissement des embryons

Source: ( 15 )

## CHAPITRE III : TRANSFERT EMBRYONNAIRE

Bien que la potentialité génétique de la receveuse soit moins importante (14), il n'en demeure pas moins que son choix soit particulièrement important puisqu'il conditionne en grande partie les résultats de gestation après transfert (112).

### III.1. CHOIX DES RECEVEUSES

#### . Conditions générales

Toute receveuse doit être en bonne santé générale et provenir d'un troupeau sain, exempt notamment de brucellose, tuberculose, leucose bovine... (14).

Le choix d'une race ne semble pas particulièrement important (14). Par contre la conformation corporelle des femelles influencera le taux de réussite dans la mesure où elle intervient dans le maintien de la gestation et surtout au moment du vêlage et de l'allaitement.

On peut ainsi choisir des génisses vierges, cyclées, de croissance régulière, et dont l'âge et le poids correspondent au moment adéquat de la mise à la reproduction (environ 2/3 du poids adulte) (112), ou alors des vaches à condition qu'elles soient cyclées et d'une bonne fertilité antérieure. Lorsqu'elles ont récemment vêlé, l'intervalle vêlage-transfert doit correspondre au moment optimale de la mise à la reproduction (minimum de 55 jours) (14, 112).

#### . Etat de l'appareil génital

Comme chez la donneuse, la receveuse (bien qu'elle n'aie pas besoin de concevoir l'embryon) doit être fertile (14), avoir des ovaires et un utérus exempts de pathologie (14) afin de pouvoir assurer un développement normal de l'embryon. L'appréciation de l'état de l'appareil génital se fait (au minimum) par sa palpation transrectale.

Ainsi donc les receveuses seront des vaches ou génisses en bonne santé avec des antécédants en reproduction favorables (pour les premières) et dont les organes génitaux sont considérés comme normaux après examen clinique approfondi (pour les secondes).

### III.2. SYNCHRONIE OESTRALE ENTRE DONNEUSES ET RECEVEUSES

Une fois les receveuses choisies, elles sont soumises au traitement de synchronisation de leurs chaleurs avec celles des donneuses. En effet, il est établi depuis longtemps (116, 140, 167) que la synchronisation exacte des chaleurs entre donneuses et receveuses est un facteur très important de réussite. Bien plus, le transfert embryonnaire tenant compte du stade oestral de la receveuse et du degré de développement de l'embryon permet d'augmenter le pourcentage de réussite (14) (Tableau IX).

On peut utiliser des receveuses en chaleurs naturelles, mais on utilise surtout des receveuses dont les chaleurs ont été induites par un traitement de maîtrise des cycles sexuels (112) la première méthode, assez ancienne, ayant donné des résultats plutôt inconstants (14).

#### III.2.1 Traitements de synchronisation

##### . Bases physiologiques et principe

Le principe de la synchronisation de l'oestrus est d'obtenir la simultanéité de l'oestrus sur un nombre déterminé de femelles (ici les donneuses et les receveuses). Cette synchronisation est obtenue en faisant subir aux femelles un traitement plus ou moins prolongé à base de progestagènes qui ont une action inhibitrice sur la sécrétion de gonadotropines et bloquent ainsi, durant un laps de temps, l'ovulation. L'arrêt du traitement entraîne la libération de gonadotropines qui provoquent l'ovulation.

Aux progestagènes dont nous venons de voir le rôle inhibiteur, on peut associer, en début de traitement, chez les vaches suitées, un oestrogène retard qui a pour rôle de diminuer la durée du traitement

par son effet lutéolytique, et en fin de traitement une hormone gonadotrope sérique dont la fonction est essentiellement folliculinisante à action rapide.

Les hormones utilisables sont exposées au tableau X. Mais fondamentalement, les traitements de synchronisation font appel aux progestatifs administrés sous forme de spirales vaginales (progestérone) ou d'implants sous-cutanés (Norgestomet) plus la PMSG ou la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (10, 14, 24, 25, 124, 146).

#### . Synchronisation avec les prostaglandines

Elles agissent par leur action lutéolytique, mais celle-ci nécessite deux conditions : la présence d'un corps jaune fonctionnel et un minimum de 5 jours post-ovulatoires (14). Le programme le plus utilisé consiste à faire 2 injections à 11 jours d'intervalle (14). Mais certains auteurs (124) préconisent un intervalle de 13 jours. En plus la réponse à la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  serait influencée par certains facteurs comme l'âge, la lactation. Ainsi par exemple la génisse aura une réponse plus rapide que la vache tarie, laquelle répondra plus rapidement que la vache en lactation (14). De même, le pourcentage de réponses et la rapidité du retour oestral varient selon le stade du cycle oestral lors du traitement.

#### . Synchronisation par la progestérone

Le traitement consiste en l'administration par implant sous-cutané ou spirale vaginale, de progestérone durant une période de 7 à 9 jours et 48 heures avant le retrait du dispositif, la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  est injectée (14).

Les produits utilisés sont essentiellement :

- la progestérone dans le cas des spirales vaginales PRID: 1 à 1,16 g de progestérone par spirale ;
- l'acétate de mélangestrol (MGA) utilisé dans l'alimentation: environ 0,6 mg de MGA/jour ;
- du Norgestomet dans le cas des implants sous-cutanés 6 mg/implant.

TABLEAU IX : EFFET DE LA SYNCHRONIE DU CYCLE OESTRAL ET DEVELOPPEMENT  
EMBRYONNAIRE SUR LE TAUX DE GESTATION

SYNCHRONIE JOUR	SYNCHRONIE RECEVEUSE-DONNEUSE		
	NOMBRE DE VACHES	NOMBRE DE GESTATIONS	TAUX DE GESTATION (P. 100)
+ 2	76	20	26
+ 1	148	73	49
0	204	107	52
- 1	98	45	46
- 2	58	13	22

Source : (14)

TABLEAU X : HORMONES UTILISEES POUR L'INDUCTION ET/OU LA SYNCHRONISATION  
DES CHALEURS

TYPE D'HORMONE	MODE D'ADMINISTRATION	ACTION BIOLOGIQUE
<p><u>I. GONADOTROPINES</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- P.M.S.G.</li> <li>- H.C.G.</li> <li>- H.C.G.+ )</li> <li>- P.M.S.G. )</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Injection</li> <li>Injection</li> <li>Injection</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Activité F.S.H. mimétique</li> <li>Activité LH mimétique</li> <li>Action combinée F.S.H. et LH mimétique</li> </ul>
<p><u>II. PROGESTAGENES</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Progestérone</li> <li>- Progestagènes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Injection, implant spirale )</li> <li>Injection, implant spirale , ovule )</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Stimulation de la phase lutéale (présence de c.j.)</li> </ul>
<p><u>III. OESTROGENES</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dérivés de l'oestradiol</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Injection, implant</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Action lutéolytique et augmentation de la réponse aux prostaglandines</li> </ul>
<p><u>IV. P.G.F.</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- PGF<sub>2α</sub> et ses analogues</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Injection</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Action lutéolytique après J5 chez les bovins</li> </ul>



On rapporte une meilleure synchronisation de l'oestrus avec les progestagènes qu'avec les prostaglandines mais les taux de fertilité sont plus élevés avec les prostaglandines.

Il faut noter que la superovulation accélère l'apparition des chaleurs chez la donneuse (12 à 24h), et ceci d'autant plus que la réponse ovarienne est plus importante (14, 112). On doit en tenir compte dans l'établissement du programme des traitements.

En conclusion, malgré ses limites, la  $PGF_{2\alpha}$  demeure un traitement hormonal efficace pour la synchronisation de l'oestrus. Le traitement combiné de la progestérone à la prostaglandine semble très prometteur pour une meilleure synchronisation des chaleurs. Cependant, la détection des chaleurs demeure un point important chez les receveuses afin d'obtenir les meilleurs taux de fertilité.

### III.2.2. Détection des chaleurs

De nombreux auteurs (5, 59, 87,158) ont montré l'importance de la détection des chaleurs pour une bonne maîtrise de la reproduction notamment pour les programmes d'I.A. et de transfert embryonnaire.

Le problème devient plus crucial lorsque l'on est en zone tropicale africaine où la femelle est réputée avoir des chaleurs difficilement observables (2, 35, 171) si bien que certains auteurs (47) ont eu recours à des méthodes de détection plus compliquées.

### III.2.3. Appréciation de la réponse

Elle est généralement faite par une simple palpation transrectale des ovaires (24, 37, 146) effectuée le jour du transfert. Le traitement est considéré comme efficace lorsqu'un corps jaune fonctionnel au moins est mis en évidence (146).

On retiendra également que le transfert se fait dans la corne utérine adjacente au corps jaune de préférence puisque, d'après les travaux de NEWCOMB et ROWSON (1980) rapportés par NIBART et BOUYSSOU (112) les meilleurs résultats sont obtenus ainsi.

### III.3. TRANSFERT DE L'EMBRYON

#### III.3.1. Conditions de mise en place

Le stress juste avant ou après le transfert a été signalé (112) comme un facteur défavorable ; il faut donc éviter tout changement brutal de régime alimentaire, les variations climatiques importantes, les interventions thérapeutiques et prophylactiques comme les vaccinations, traitements antiparasitaires, etc.

#### III.3.2. Méthodes de mise en place

Deux méthodes principales d'accès à la cavité utérine se sont succédées dans le temps : la voie chirurgicale et la voie cervicale.

##### III.3.2.1. Méthode chirurgicale

Les premiers transferts décrits ont été réalisés par mise en place directe de l'embryon dans l'utérus de la receveuse après laparotomie sur la ligne blanche et sous anesthésie générale (7, 86, 112).

D'application difficile au niveau de la ferme parce que trop traumatisante et demandant un personnel important, cette méthode a vite fait place à une méthode chirurgicale dite du flanc (112). L'utérus est abordé par le flanc ipsilatéral au corps jaune sous anesthésie paravertébrale et/ou locale et l'embryon est mis en place à l'aide d'un cathéter endoveineux (86).

##### III.3.2.2. Méthode cervicale

Elle est la plus employée actuellement parce que plus rapide et plus simple que la précédente. La méthode consiste à placer l'embryon dans la corne utérine ipsilatérale au corps jaune.

Divers instruments sont utilisés parmi lesquels le pistolet à insémination de type CASSOU détient une place prépondérante (86,112, 113). La canule de HANOURE est également utilisée par certains (86).

On conseille une protection de l'instrument par un manchon protecteur ou l'utilisation d'un vaginoscope (19, 86) afin d'éviter les contaminations vaginales.

L'embryon est déposé dans la corne utérine au niveau de la grande courbure et sans traumatiser l'endomètre (86).

Toutes ces opérations sont réalisées dans la plus grande asepsie afin d'éviter les problèmes sanitaires qui peuvent être liés au transfert d'embryon.

#### III.4. TRANSFERT D'EMBRYONS ET RISQUES SANITAIRES

Il s'agit de savoir si l'embryon et/ou l'opération de transfert embryonnaire est capable de transmettre une maladie bactérienne ou virale à la receveuse, et si oui, comment l'éviter.

La contamination de la receveuse peut se situer au niveau du pistolet utilisé ou directement au niveau de la paillette si l'embryon et/ou le liquide de transfert sont eux-mêmes contaminés.

BRAND et Coll. (19) ont déjà montré le rôle négligeable du pistolet dans cette contamination à condition d'utiliser une gaine protectrice adaptée au pistolet d'inoculation.

Par la suite MALLEK et Coll. (95) ont préconisé pour diminuer voire supprimer les risques d'infection, un lavage des embryons, après collecte, dans au moins trois bains successifs stériles (PBS), avant de procéder aux opérations de transfert.

Toujours dans le cadre de la prévention de ces risques, on conseille l'intégralité de la zone pellucide (160).

## CHAPITRE IV : MICROMANIPULATIONS EMBRYONNAIRES

Les techniques de micromanipulation utilisées depuis assez longtemps déjà sur les ovocytes, oeufs et embryons de mammifères et particulièrement des animaux de laboratoire (souris, ratte), (70, 117) se sont développées dans les années 70 (90, 97). Les applications de ces techniques sont nombreuses et ont été décrites par SEIDEL en 1982 (144). Ainsi, on peut injecter dans différents milieux cellulaires (cytoplasme, noyau) des molécules inertes (marqueurs, colorants) des ions, des molécules organiques (protéines, ARN, virus), des organites cellulaires, des agents porteurs de gènes (ADN, chromosomes), des cellules entières mêmes, etc. Inversement, certaines composantes peuvent être retirées.

Enfin à des stades plus avancés du développement embryonnaire, il est théoriquement possible :

- d'agréger des blastomères d'embryons provenant de deux ou plusieurs embryons,
- de séparer les blastomères d'embryons très jeunes (2 à 8 cellules), ou encore,
- de bissecter des embryons au stade morula compacte ou blastocyste.

La micromanipulation est facilitée par certains facteurs notamment :

- la présence d'une zone pellucide acellularite au niveau de l'oeuf de la plupart des mammifères (111),
- le blocage des oeufs à un stade précoce de développement (2 à 8 cellules) en culture in vitro, (101),

- la survie possible des oeufs dans un milieu de culture adéquat (comme le milieu B<sub>2</sub> de MENEZO) même pour des embryons plus âgés (morula, blastocyste) (137).

Dès lors, il devient possible de procéder à des manipulations comme le sexage, la division, le clonage sur des embryons bovins.

#### IV.1. DIVISION D'EMBRYONS

Elle s'effectue sur des morula ou des blastocystes, une microchirurgie permet, après avoir ouvert la zone pellucide, de diviser la masse cellulaire en deux puis de les replacer dans des zones pellucides (la 2e zone pellucide étant fournie par un embryon dégénéré) (128).

On peut ainsi conserver (après congélation) un des deux demi-embryons et effectuer des études cytologiques (sexage, anomalies chromosomiques...) sur l'autre (128, 129).

Lorsque l'étude est concluante, le premier demi-embryon est transféré et on obtient selon PICARD (128) des taux de gestation variant entre 50 et 60 p. 100 ; soit par rapport au nombre total d'embryons entiers de départ, un taux de 100 p. 100 alors que sans la division, ce taux aurait été de 60 à 70 p. 100 d'après le même auteur.

#### IV.2. SEXAGE DES EMBRYONS

Le sexage se fait en vue de transplanter sélectivement des embryons mâles ou femelles. Trois méthodes sont actuellement utilisées pour déterminer le sexe de l'embryon :

- une méthode cytogénétique,
- une méthode immunologique,
- et une méthode utilisant la sonde à ADN.

#### IV.2.1. Sexage cytogénétique

Il est possible de sexer les embryons par étude du caryotype de quelques cellules prélevées par microchirurgie sur un blastocyste. Ces cellules mises en culture sont fixées lors des mitoses ; l'analyse du caryotype et l'observation des chromosomes sexuels XX ou XY permettent de déterminer sans ambiguïté le sexe de l'embryon (80,128, 132).

Outre la biopsie qui peut s'effectuer aussi bien sur des embryons de J6 ou J7 que sur des embryons trophoblastiques (J12 - J15), on peut également procéder à l'observation du corpuscule de BARR (80).

Le taux de succès de cette méthode cytogénétique est de 60 p. 100 (128).

#### IV.2.2. Méthode immunologique

Ici le sexe est déterminé par la mise en évidence de l'antigène H-Y spécifique du mâle à l'aide d'un anticorps H-Y chez les embryons bovins entre J6 et J12<sup>et</sup> a été signalée par WACHEL en 1984 (164).

Mais cette méthode est de plus en plus abandonnée (128).

#### IV.2.3. Méthode de sexage par la sonde d'ADN

C'est la méthode de sexage utilisée actuellement sur le plan commercial.

Elle consiste en la mise en évidence du chromosome Y spécifique du mâle par hybridation en présence de sondes d'ADN spécifiques (111). Une biopsie d'une dizaine de cellules donne l'ADN embryonnaire.

Son inconvénient majeur, est le temps d'attente d'au moins 8 jours (128), le taux de succès étant important : 85 p. 100.

### IV.3. MODIFICATIONS DE L'OEUF

On peut modifier le devenir de l'embryon par introduction

d'agents porteurs d'informations génétiques.

#### IV.3.1. Introduction de gènes

L'introduction du fragment d'ADN porteurs de gènes se fait juste après la fécondation au moment de la fusion des deux pronoyaux (60). C'est ainsi que PALMITER et Coll. (129) ont obtenu des souriceaux géants par injection du gène qui dirige la synthèse de l'hormone de croissance dans l'oeuf.

Envisagée chez les bovins, cette technique pourrait présenter un intérêt en particulier dans le contrôle de la résistance à certaines maladies (111).

#### IV.3.2. Introduction de chromosomes

Des chromosomes entiers peuvent être isolés, identifiés et injectés dans l'oeuf mais dans ce cas, on obtient des cellules aneuploïdes qui, sauf pour les chromosomes sexuels, sont incompatibles avec un développement embryonnaire normal (111).

Des embryons aneuploïdes intéressants pour la recherche ne semblent présenter aucun intérêt en élevage du moins dans l'état actuel de nos connaissances (96).

### IV.4. ETUDE DU CARYOTYPE DE L'EMBRYON : ANOMALIES CHROMOSOMIQUES

Les anomalies chromosomiques de structure, ou de nombre chez l'adulte ne représentent certes qu'une faible proportion des anomalies apparues dès la vie embryonnaire (111) ; néanmoins, certaines aberrations chromosomiques ont pu être décelées chez l'embryon (32, 57).

Ainsi la translocation 1/29 chez les parents a un effet marqué sur la mortalité embryonnaire (64). La fréquence élevée des anomalies chez les zygotes produits par superovulation (81) pourrait poser à l'avenir de sérieux problèmes au transfert embryonnaire dans la mesure où elles peuvent être des causes de mortalité embryonnaire précoce chez les

bovins (74).

#### IV.5. CLONAGE

Le clonage consiste à utiliser les noyaux de cellules embryonnaires en vue de la multiplication d'embryons identiques. Les noyaux sont introduits (habituellement par fusion de cellules) à l'intérieur d'ovocytes énucléés (128).

Les nouveaux zygotes ainsi formés à partir des noyaux du même embryon, donneront des embryons ayant tous le même génotype et pourront :

- soit être transférés à des receveuses pour donner des animaux identiques,
- soit subir le même processus de transfert de noyau pour augmenter le nombre d'embryons clonés.

Bien que l'efficacité de la technique ne soit pas élevée (15 à 20 p. 100 de gestations), le clonage est déjà appliqué sur des animaux de haute valeur génétique au Canada et aux USA (128).

#### IV.6. CHIMERES

Un autre type de manipulation d'embryons conduit à la production de chimères, c'est-à-dire, un animal issu d'un mélange intime de cellules provenant de deux ou plusieurs individus différents. La production de chimère offre un intérêt en recherche fondamentale en ce sens qu'elle permet d'étudier et de comprendre les mécanismes du développement des mammifères.

Des chimères de moutons, de chèvres et de bovins ont été obtenues par FEHILLY et Coll. en 1984 (55).

L'inconvénient de cette méthode est qu'actuellement, on ne contrôle pas parfaitement la contribution relative de chaque embryon



à la chimère (133).

Ainsi, la micromanipulation embryonnaire a ouvert la porte à un important champ de recherche. Elle permet d'entrevoir des résultats spectaculaires dans le domaine de la production animale bien que suscitant des réflexions éthiques fondamentales sur l'avenir de la biologie.

En conclusion, le transfert embryonnaire apparaît comme une méthode de reproduction originale excessivement complexe. En effet chaque étape de l'opération (production, récolte et transfert de l'embryon) pose des problèmes spécifiques. L'exploitation des techniques nouvelles (congélation, micromanipulation) devrait dans l'avenir en faire un outil précieux d'augmentation quantitative et qualitative des productions animales. C'est pourquoi, et malgré les difficultés, l'élevage africain se doit d'y accorder une attention particulière. Mais son application chez une race bovine donnée doit non seulement se justifier (par des caractères particuliers que l'on recherche) mais aussi nécessite une bonne connaissance de la physiologie reproductive des animaux concernés.

DEUXIEME PARTIE

CARACTERISTIQUES DES VACHES

\*\*\*\*\*

## CHAPITRE I : CARACTERISTIQUES ZOOTECHNIQUES

Les caractéristiques zootechniques des bovins ont fait l'objet de nombreuses études (56, 118, 119).

### I.1. AIRE GEOGRAPHIQUE DE REPARTITION - IMPORTANCE

#### . LA RACE MONTBELIARDE

Elle constitue avec la Pie-Rouge de l'Est et l'Abondance un groupe désigné sous le nom de Pie-Rouge Continentale ou Juracique par opposition aux races pie-rouges des plaines exploitées dans le Nord-Ouest de l'Europe. Le berceau de la population pie-rouge de l'Europe continentale se situe en Suisse, dans les vallées et les plateaux de Jura et des Préalpes.

La race Montbeliarde, après des débuts modestes, couvrait aux lendemains de la dernière guerre mondiale les 2/3 de la Franche-Comté. Actuellement, elle couvre un territoire qui va du Sud de l'Alsace à la Lorraine jusqu'en Auvergne où elle constitue la race prédominante du développement de Haute-Loire.

Cette race a été introduite au Sénégal en fin 1976 dans le cadre d'un programme d'intensification de la production laitière dans la zone suburbaine de Dakar (fermes de Sangalkam) (38).

#### . LE ZEBU GOBRA

Le zébu Gobra quant à lui, est élevé par les peuls de la région du Djoloff au Sénégal. Il est apparenté aux zébus peuls de la zone sahélo-soudanienne, en particulier avec ceux élevés dans l'ouest du Mali, le zébu peul soudanais et le nigérien ; on considère, en l'absence de données objectives (marqueurs génétiques) que ces bovins sont le produit de l'absorption du bovin hamitique à longues cornes par des zébus venus de l'Est.

L'aire de répartition qu'il occupe depuis plusieurs siècles, est comprise entre les 12e et 16e degrés de longitude Ouest, 13° 5' et 16° 6' de latitude Nord ; elle occupe ainsi le Sénégal occidental depuis le bas du plateau du Ferlo jusqu'à la Mauritanie.

Les effectifs de la race sont estimés à 1 720 000 animaux dont 1 409 000 au Sénégal, 287 000 en Mauritanie, 24 000 en Gambie. Un seul essai d'acclimatation a été fait en dehors de son berceau d'origine dans le Nord de la Côte d'Ivoire mais malheureusement sans grand succès.

#### . LA RACE NDAMA

On s'accorde à reconnaître au Ndama une très ancienne présence en Afrique. Dans son berceau de race, le Fouta Djallon en Guinée, il est élevé par une population peule sédentarisée depuis plusieurs siècles. On considère, en effet, que la première installation de pasteurs peuls au Fouta Djallon est celle réalisée vers 1534 par KOLI GALADJO. Les bovins Ndama et leurs propriétaires sont les descendants des anciens occupants du Sahara.

Dans son berceau de race guinéen, la population de bovins Ndama s'élèverait à plus de 1,5 million d'animaux. La race est également présente en Gambie dans le Sud du Sénégal, dans le Sud-Ouest du Mali. Des noyaux de peuplement Ndama ont été créés dans les années 30 au Zaïre (VAN LANKER) et l'effectif y est estimé à 40 000 têtes, puis plus tard au Congo (Vallée du Niari) où il y aurait 20 000 Ndama, en République Centrafricaine, dans le Nord de la Côte d'Ivoire et au Nigéria. Elle constitue le groupe le plus important du cheptel des pays côtiers d'Afrique (45 p. 100) (141).

La race connaît depuis la deuxième guerre mondiale une demande accrue dans toute la zone guinéenne en raison de sa trypanotolérance. Dans un passé plus lointain, la race Ndama a été exportée aux Antilles (Iles Vierges) et en Amérique du Sud et y a contribué à la création de races nouvelles dans lesquelles elle a perdu son identité.

Ainsi les bovins Montbeliarde, Ndama, Gobra présentent une aire

géographique de répartition non négligeable. Ils ont connu au fil du temps des transferts de leur berceau d'origine, ceci étant le témoignage d'un intérêt particulier dont ils ont fait l'objet. Cet intérêt est lié à leurs aptitudes.

## I.2. CARACTERISTIQUES PHYSIQUES - APTITUDES

### . LA MONTBELIARDE

La Montbeliarde se présente comme un bovin de robe pie-rouge foncé à tête blanche, les taches autour des yeux et sur les joues étant toutefois tolérées. Le cornage est relevé, coupé en lyre. Le bassin est souvent incliné.

De grande taille (1,37 m à 1,40 m au garrot) et de poids important (700 kg environ) la Montbeliarde se prête bien à la production de viande bien que son exploitation soit surtout d'orientation laitière (118). C'est ainsi qu'en 284 jours de lactation, la Montbeliarde produit jusqu'à plus de 3 900 kg de lait. Mais cette production laitière reste handicapée par le taux butyreux relativement faible (3,65 p. 100 de matière grasse) (56).

La production de viande quant à elle, est le fait d'une certaine aptitude de la race à l'engraissement avec un âge moyen à l'abattage de 5 à 10 ans ; le poids vif est alors de 600 kg en moyenne avec un rendement à l'abattage de 46 p. 100 (56). Cette production de viande est particulièrement intéressante lorsqu'on procède à l'engraissement des taurillons (118). En effet les veaux ont une remarquable aptitude à grandir rapidement (56).

L'âge de la vache au premier vêlage se situe entre 2 ans et 1/2 - 3 ans, parfois même à 2 ans (56). Et les veaux pèsent à la naissance 45 kg (pour les mâles) et 40 kg (pour les femelles). Des programmes de croisement ont souvent été établis avec la Holstein rouge.

De par donc son format, la race Montbeliarde se prête bien à la production de viande bien que la préoccupation première de son élevage soit la production laitière.

### . LA GOBRA

Le zébu peul sénégalais (ou Gobra) est de taille supérieure à la moyenne (1,37 m à 1,43 m). La tête est longue, le front bombé, le chanfrein rectiligne. Les cornes sont longues et en lyre ou en coupe, mais sont plus courtes, chez le mâle. On rencontre également des cornes flottantes.

L'encolure est courte, le fanon accusé, la bosse développée (notamment chez le taureau).

La robe est généralement blanche, rarement rouge-pie ou froment.

En ce qui concerne le poids, les mensurations suivantes ont été rapportées (38) :

- 322 kg pour la vache adulte,
- 415 kg pour le taureau adulte,
- et 348 kg pour le boeuf adulte.

Ce poids non négligeable fait du Gobra un bovin principalement à aptitude bouchère, aptitude limitée (dans les conditions traditionnelles) par les ressources et le régime alimentaires (119). Et une possibilité d'extériorisation des potentialités a été démontrée par une simple amélioration de l'alimentation (39, 40, 41).

La production laitière qui est la préoccupation des éleveurs traditionnels, est estimée à 500-600 kg par lactation (119).

Dans les conditions traditionnelles, la production des jeunes est caractérisée par un certain nombre de facteurs (36) :

- le premier vêlage est relativement tardif et il se produit vers 5 ans,
- une période assez longue (2 ans en moyenne) sépare deux vêlages successifs,

- l'existence de saisons favorables à la fécondation associée à un taux de fécondité faible (autour de 60 p. 100).

Tout ceci contribue à diminuer la productivité du zébu Gobra, mais une amélioration semble possible par une maîtrise des facteurs comme l'alimentation, l'abreuvement, et le cycle oestral ( 36,124).

Un programme d'amélioration génétique par la sélection s'effectue à la station de Dahra Djoloff. Un essai de croisement avec le zébu pakistanais entre 1960 et 1970 a montré que les performances de la race locale étaient aussi bonnes que celle des animaux importés et que par conséquent, ce croisement était sans intérêt économique (119).

Le zébu Gobra est donc un bovin qui cache des performances intéressantes dans son milieu traditionnel d'élevage. Améliorées, ses aptitudes pourraient faire du Gobra le bovin d'avenir de la zone soudano-sahélienne.

#### . LA NDAMA

C'est un bovin sans bosse, de taille inférieure à la moyenne : 1 m à 1,10 m. La robe la plus fréquente est jaune uniforme décolorée sous le ventre. Les extrémités sont souvent plus foncées. Il existe un faible pourcentage (moins de 20 p. 100) de robes pies. Le cornage solide est le plus souvent en lyre ou en coupe.

Les animaux s'adaptent rapidement aux bons comme aux mauvais traitements.

Dans son berceau d'origine, la Ndama a été utilisée pour la culture attelée. Il y est également employé pour la production laitière mais ses aptitudes dans ce domaine sont plutôt médiocres : 3 litres de lait par jour pour 180 jours de lactation. Mais le taux butyreux compense cette faible production (jusqu'à 6 p. 100) (137).

De format général ramassé avec des masses musculaires bien développées, la race Ndama se prête bien à l'exploitation bouchère. En effet, sa vocation unanimement reconnue est la production de viande dans les zones où sa trypanotolérance lui confère un avantage particulier. Bien que de poids moyen faible (250 kg en moyenne) son rendement à l'abattage atteint 48 p. 100 (119).

Enfin comme les autres taurins tropicaux, la Ndama jouit d'une excellente fertilité.

COULOMB (31) indique, en Côte d'Ivoire, que le nombre de naissances annuelles par rapport au nombre de vaches présentes s'est situé, sur 14 ans à 88,5 p. 100 et pour 378 observations, l'intervalle moyen entre deux mises-bas a été de 420,8 jours.

Son amélioration génétique s'est effectuée soit par sélection des races locales en faisant reproduire les animaux ayant les meilleures qualités, soit par croisement, en introduisant des reproducteurs de races importées à haute performance. C'est ainsi qu'elle a fait l'objet de croisements avec la Brune des Alpes et la Jersiaise entre autres, dans de nombreux pays : Côte d'Ivoire, Mali, Sénégal, Niger, Madagascar, Kenya, etc...

Malgré ces aptitudes limitées (du reste améliorables), la Ndama est très recherchée en raison de sa trypanotolérance qui permet de l'utiliser dans les régions humides et de son pouvoir d'adaptation important.

Il ressort donc de cette étude que les bovins Ndama et Gobra présentent des caractères zootechniques susceptibles d'intérêt. La race Montbeliarde, de par ses aptitudes à la production mais surtout à l'adaptation peut contribuer à leur amélioration par des croisements. La technologie du transfert d'embryons peut être utilisée dans ce sens, encore faudrait-il que l'anatomie de l'appareil génital et l'endocrinologie sexuelle s'y prêtent.



## CHAPITRE II : RAPPELS ANATOMIQUES SUR L'APPAREIL GENITAL DE LA VACHE

L'appareil génital de la vache (Bos taurus) a fait l'objet de nombreuses études (23,90, 153) et d'autres auteurs (2, 35) ont relevé la particularité de celui de la vache zébu. Bos indicus. Nous subdivisons cette étude en deux parties :

- l'étude de la portion glandulaire : les ovaires
- et l'étude du tractus génital c'est-à-dire les oviductes, l'utérus, le sinus uro-génital, le vagin et la vulve.

### II.1. PORTION GLANDULAIRE DES ORGANES GENITAUX DE LA VACHE : LES OVAIRES

Ce sont des glandes paires à double fonction :

- la fonction gamétogène qui se traduit par la maturation et la libération d'ovules,
- et la fonction endocrine qui elle, se réduit à la sécrétion d'hormones.

Ces deux fonctions sont intimement liées.

#### II.1.1. Anatomie macroscopique de l'ovaire

Morphologiquement, la glande apparaît sous la forme d'une amande aplatie.

Sa surface est lisse ou, le plus souvent bosselée par des organites superficiels que l'on peut percevoir par palpation transrectale.

Sa taille est plus réduite chez Bos indicus.

#### Topographie et rapports

Situés à l'entrée du bassin, les ovaires sont placés à l'extrémité crâniale du tractus génital où ils sont maintenus par les ligaments

larges.

La topographie et les rapports varient au cours de la vie reproductive de la femelle.

Chez la génisse, ils sont situés à la jonction recto-colique et leur exploration transrectale est facile.

Chez la vache gestante, l'ovaire correspondant à la corne gravide se retrouve en situation franchement abdominale, à la suite de la migration gravidique de l'utérus.

Chez la vache multipare, l'augmentation de la longueur du ligament large se traduit par un déplacement de l'ovaire qui l'amène au niveau vertical du dernier espace inter-lombaire. Secondairement, l'accroissement de la hauteur du mésovarium se traduit par une position de plus en plus déclive de l'ovaire après chaque gestation.

Ces particularités topographiques doivent être prises en considération lors de l'exploration transrectale des ovaires chez une vache âgée.

### II.1.2. Anatomie microscopique de l'ovaire

Les ovaires se caractérisent structurellement par la présence d'organites dont l'évolution conditionne le fonctionnement de l'appareil génital.

#### II.1.2.1. Structures topographiques

Limité par un épithélium superficiel (germinatif), l'ovaire est constitué d'un stroma conjonctif qui renferme les vaisseaux, les nerfs et les organites ovariens.

L'épithélium germinatif, formé d'une couche de cellules cubiques ou cylindriques ne tapisse pas toute la surface de l'ovaire, mais laisse une zone de recouvrement péritonéale sur le bord dorsal. L'ovulation est impossible dans cette région car les follicules en voie de maturation qui y migrent, dégènèrent. Cette zone de recouvrement est parfois très particulièrement importante chez la femelle zébu réduisant ainsi considérablement une zone ovulatoire déjà limitée par la taille de

l'organe.

#### II.1.2.2. Les organites de l'ovaire

Ce sont les follicules évolutifs doués de la fonction gamétogène et les follicules involutifs auxquels est dévolue, au moins pour certains d'entre eux, la fonction endocrine de l'ovaire avec les corps progestatifs et gestatifs.

##### . Les follicules évolutifs

Ils sont dits pleins ou cavitaires selon leur morphologie, cette différence n'étant que le simple fait d'une évolution.

Les follicules pleins (primordiaux et primaires) sont très nombreux à la naissance. Puis leur nombre diminue rapidement avec l'âge : une partie dégénère et l'autre se transforme en follicules cavitaires.

Ces premiers follicules sont sensiblement moins nombreux chez Bos indicus que chez Bos taurus (2).

Généralement, au cours d'un cycle sexuel, 1 à 5 follicules cavitaires commencent le processus de croissance. Mais ce nombre se réduit toujours au cours de l'évolution ; et habituellement un seul arrive au stade de follicule mûr (de DE GRAFF). La paroi du follicule mûr se rompt pour libérer l'ovule : on parle alors de follicule déhiscent et ce stade correspond au moment de l'oestrus.

##### . Les follicules involutifs

Ils correspondent aux follicules dégénérés au cours des différentes transformations des follicules évolutifs. Ce sont d'une part les follicules atrétiques plus fréquents chez Bos indicus et d'autre part les follicules kystoïdes plutôt observés chez Bos taurus.

##### . Les corps progestatifs et gestatifs

Les corps progestatifs et gestatifs ou corps jaunes se développent à partir des follicules déhiscentes. Ils se transforment en glandes endocrines, d'activité courte (corps progestatifs) ou prolongée si l'ovulation a été suivie de fécondation (corps gestatifs).

## II.2. TRACTUS GENITAL DE LA VACHE

Le tractus génital de la vache présente trois étages distincts par leur conformation et par leurs fonctions.

- . Les trompes reçoivent les ovocytes et sont le siège de la fécondation.

- . L'utérus permet l'implantation de l'oeuf fécondé. Il protège le fœtus pendant la gestation et assure sa nutrition. L'utérus fermé par le col débouche dans le vagin.

- . Le sinus génital, complété par le vagin, est composé d'une partie profonde, le vestibule du vagin et d'un orifice : la vulve. Ces organes donnent passage au fœtus lors de la parturition, et reçoivent le pénis lors de la copulation.

### II.2.1. Conformation extérieure (Fig. 6)

Anatomiquement, l'utérus de la vache est de type "bipartitus" avec des cornes utérines qui ne sont réellement fusionnées que sur une très courte partie caudale représentant le corps de l'utérus. Chaque corne reçoit à son apex la trompe utérine.

- . Trompe utérine (oviducte ou trompe de Fallope) (Fig.7)

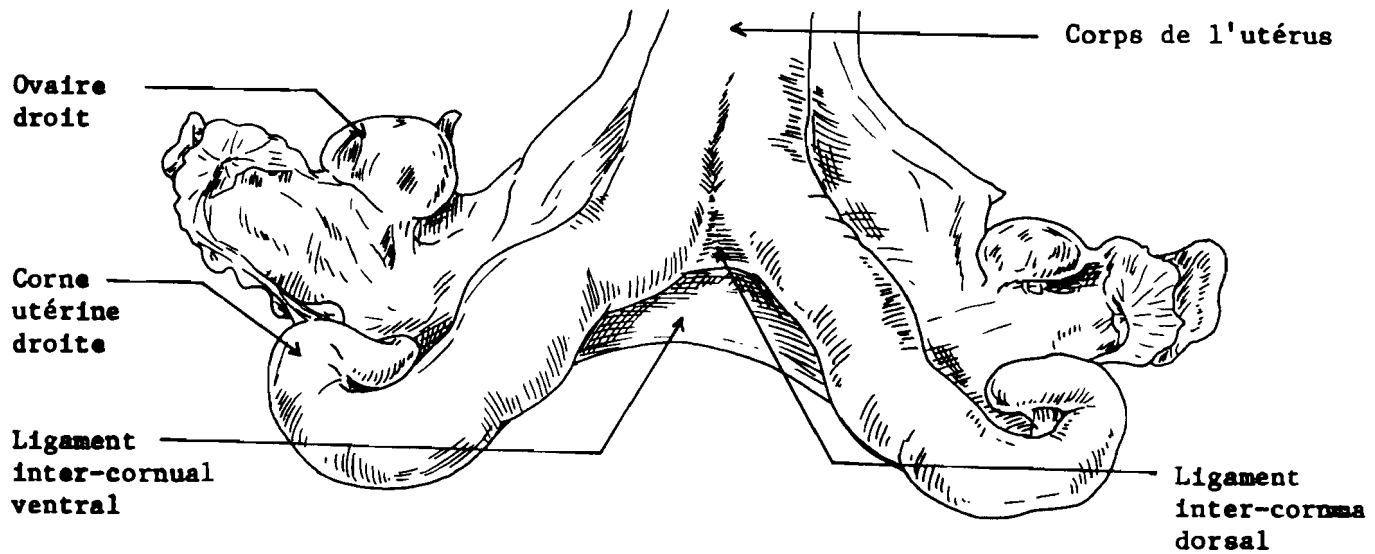
Elle commence par une partie évasée : l'infundibulum (ou "pavillon") qui s'ouvre dans la bourse ovarique par un ostium en regard de l'ovaire.

Elle est plus longue chez Bos taurus que chez Bos indicus.

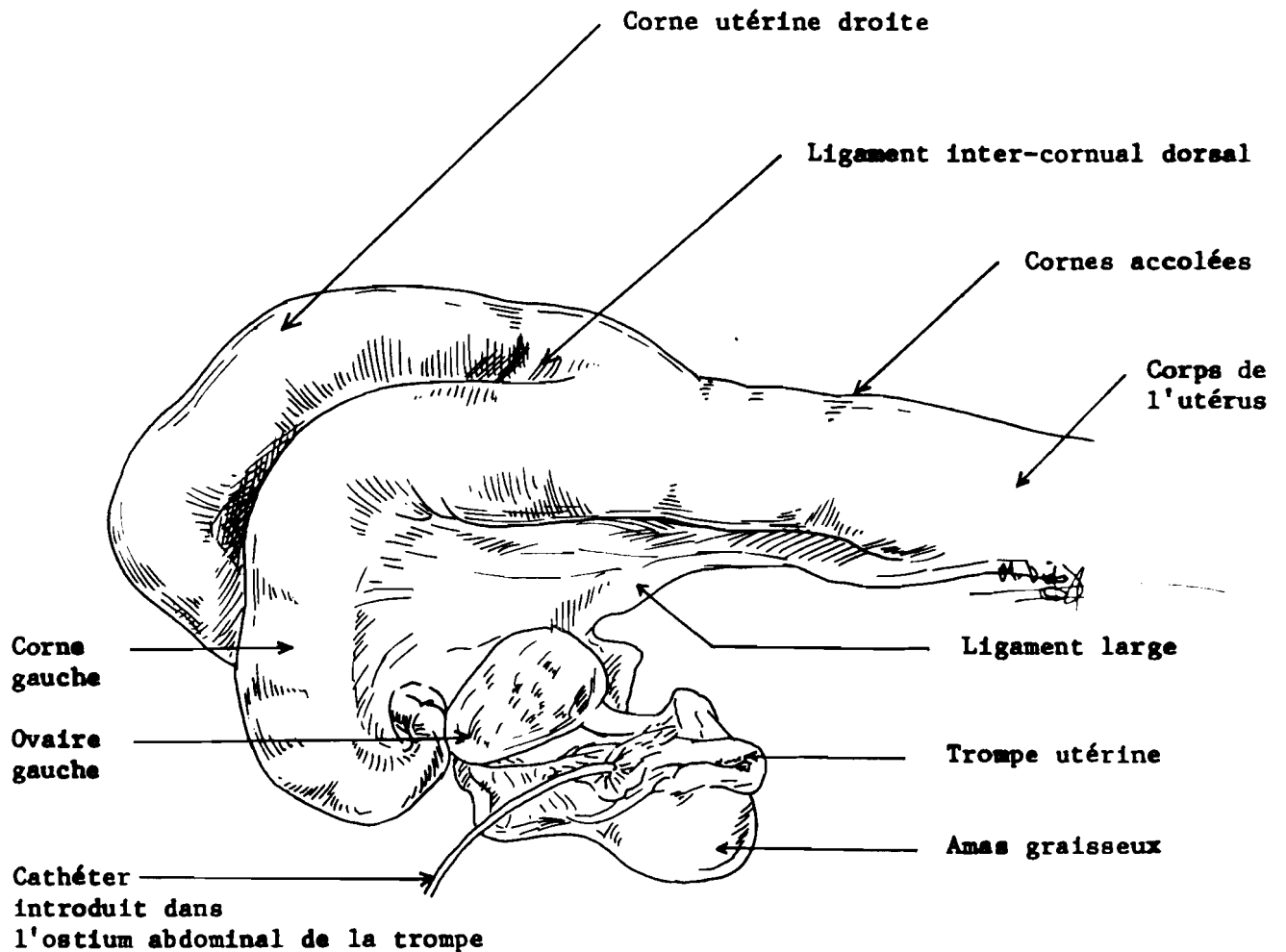
- . Utérus (Fig.8)

L'utérus est un sac musculo-membraneux situé à la limite des cavités pelvienne et abdominale et uni-rostralement à l'oviducte et caudalement au vagin.

**FIGURE 6 : CONFORMATION DE L'APPAREIL GENITAL ISOLE**



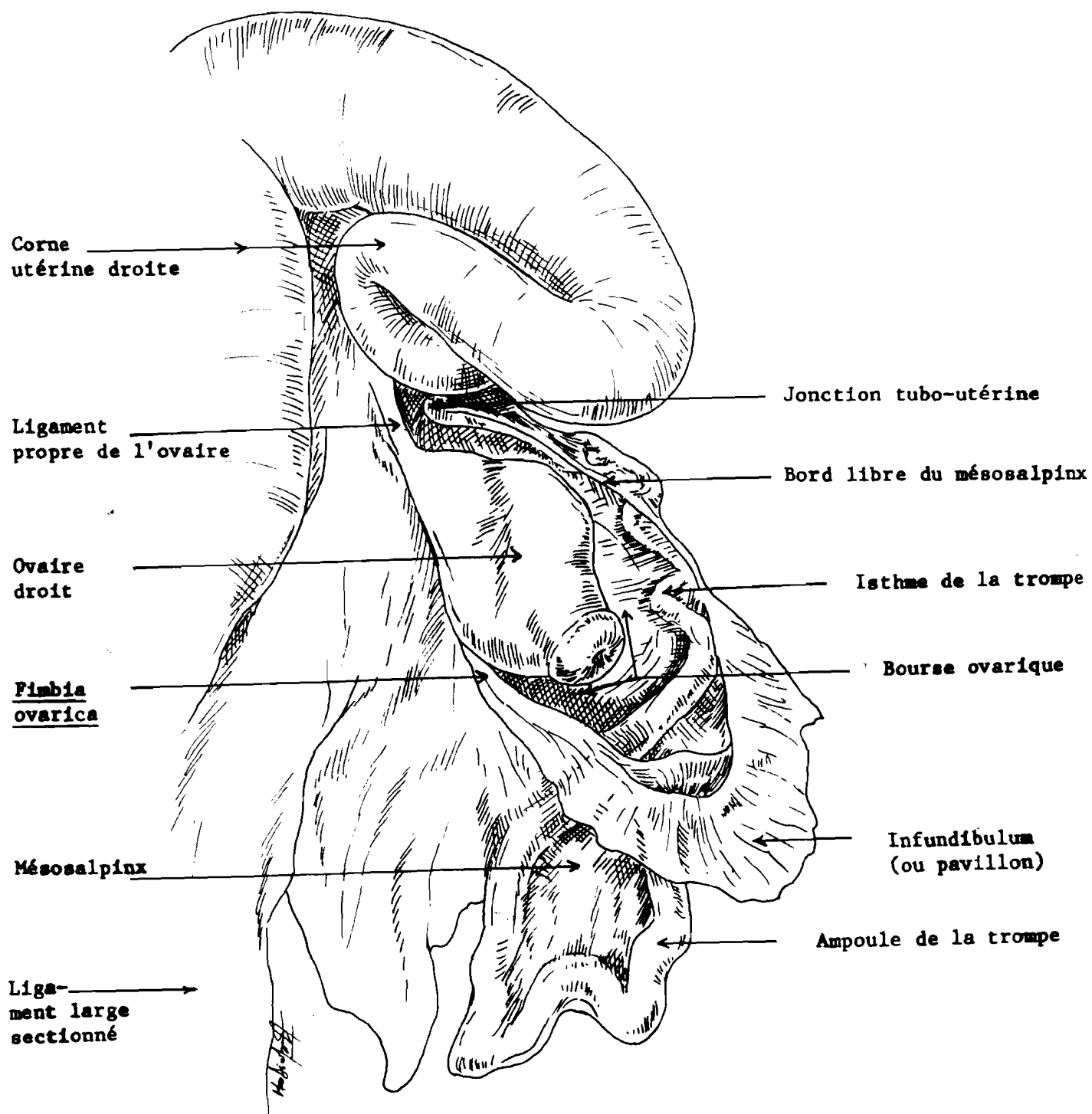
**a. Vue crâniale après étalement**



**b. Vue latérale, ovaire tiré latéralement**

**FIGURE 7 : CONFORMATION EXTERIEURE DE LA TROMPE UTERINE**

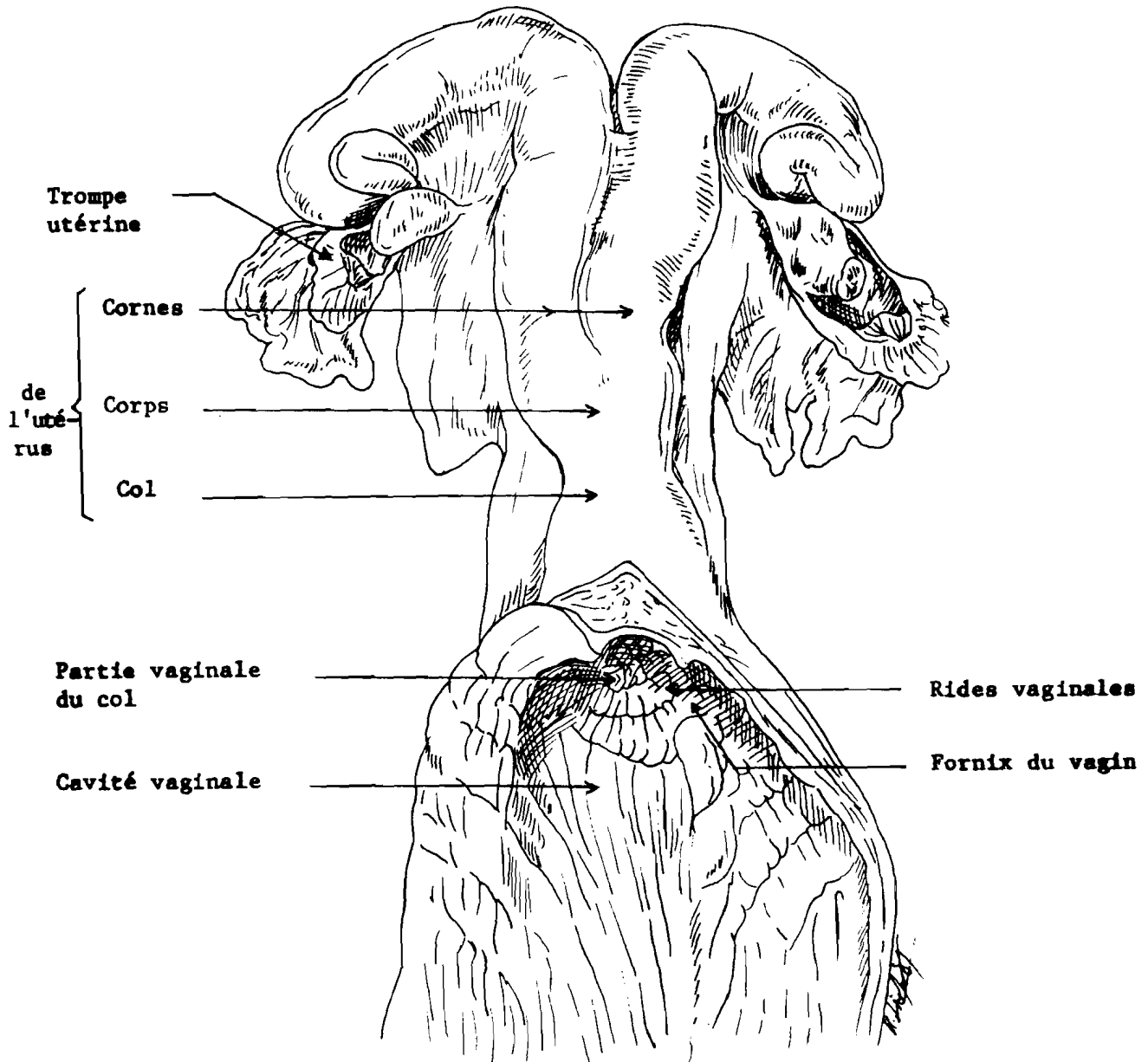
(Vue dorsale, ovaire basculé latéralement et dorsalement)



Source : (134)

**FIGURE 8 : CONFORMATION DE L'UTERUS ISOLE**

(Vue dorsale de l'utérus, paroi vaginale ouverte et rabattue)



Source : (134)

- Les cornes utérines sont longues de 25 à 40 cm chez Bos taurus et 10 à 12 cm chez Bos indicus. Une légère asymétrie des cornes n'est pas nécessairement pathologique.

Les portions caudales sont unies par deux ligaments intercornuaux.

- Le corps de l'utérus très court est un peu déprimé dorso-ventralement.

- Le col, d'une longueur de 5 à 6 cm environ avant la puberté et de 7 à 10 cm environ chez l'adulte, est facilement palpable par voie rectale en raison de sa consistance ferme et légèrement nodulaire. Cette consistance est due aux épaissements internes de sa paroi.

#### . Vagin et sinus uro-génital

Pourvu de parois molles, le vagin est extrêmement distensible.

Le vestibule du vagin se termine par l'orifice de la vulve. La commissure vulvaire ventrale est aiguë, portée par une saillante éminence cutanée

#### II.2.2. Conformation intérieure (Fig. 9)

La paroi des cornes utérines va, comme le diamètre de celles-ci, aller en croissant de l'apex à leur base. La paroi du corps est fine alors que celle du col atteint fréquemment 3 cm d'épaisseur.

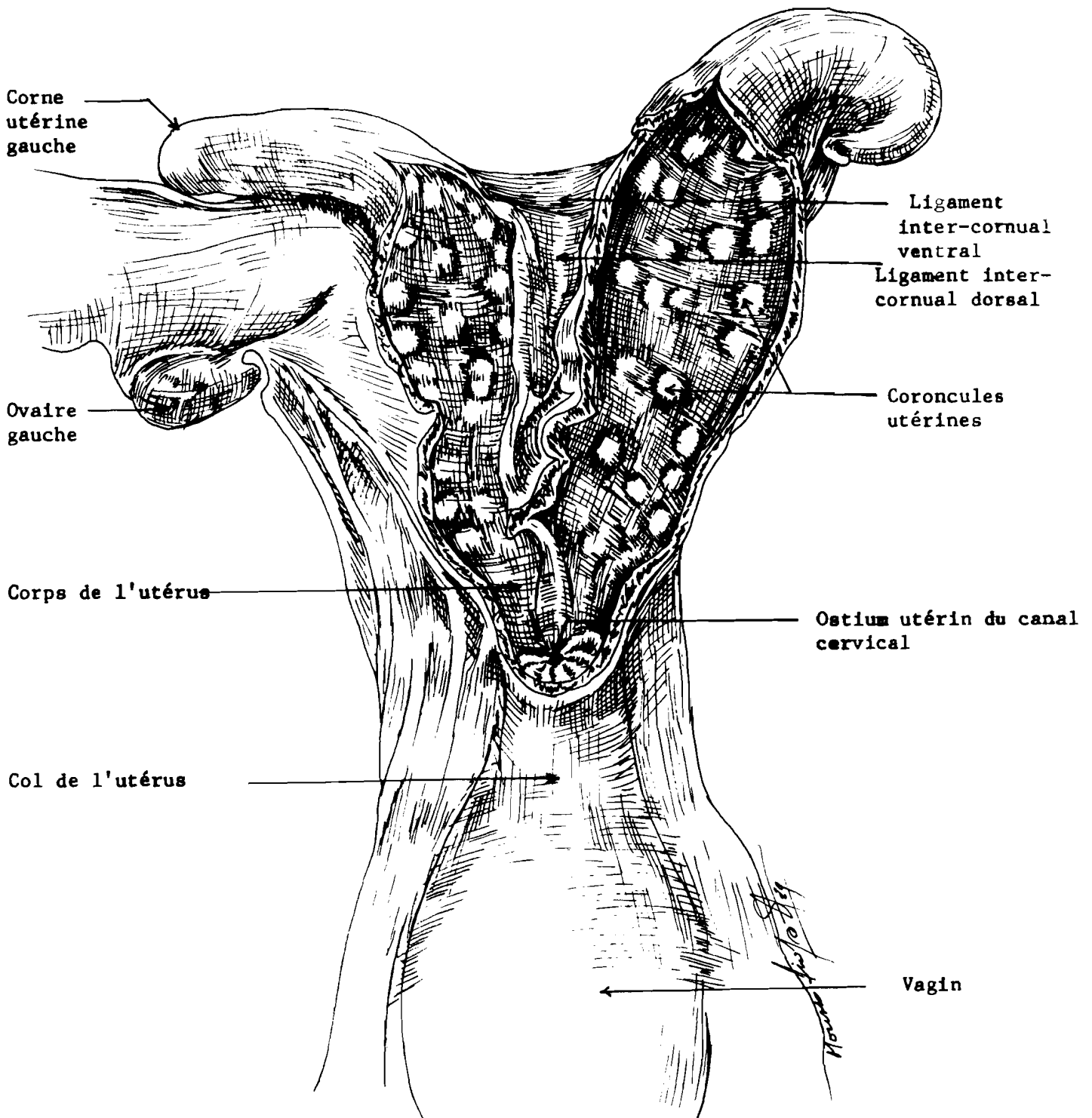
La muqueuse est fortement plissée en long, et présente généralement quatre rangées de renflements : les caroncules utérines. Au nombre d'une centaine, elles sont d'autant plus volumineuses, moins nombreuses et plus irrégulières au fur et à mesure que l'on va vers le corps de l'utérus.

Les parois du col, rigides dans les périodes de repos, sont souples pendant l'oestrus . Ces parois délimitent un canal cervical obturé par des plis circulaires qui le rendent infranchissable lorsqu'il est normalement fermé.



**FIGURE 9 : CONFORMATION INTERIEURE DE L'UTERUS**

(Après ouverture de la paroi dorsale)



La cavité vaginale est recouverte d'une muqueuse rosée. Au niveau du vestibule du vagin, cette muqueuse est riche en nodules lymphatiques, ce qui lui donne un aspect granuleux. L'orifice (ostium) externe de l'urètre y débouche.

### II.2.3. Topographie et moyen de fixité

#### . Moyen de fixité

L'utérus est maintenu en place par sa continuité avec le vagin et il est attaché à la paroi dorsale de l'abdomen et du bassin par deux vastes mesos : les ligaments larges délimitées latéralement par le ligament rond de l'utérus.

Le vagin est pour sa grande partie, logé dans le conjonctif rétropéritonéal de la cavité pelvienne.

#### . Topographie et rapports

La trompe utérine placée latéralement par rapport à l'ovaire est en rapport, à gauche avec le cul-de-sac dorsal du rumen et à droite avec les circonvolutions du jéjunum et parfois l'apex du caecum.

L'utérus, à l'exclusion du col, est placé dans la cavité abdominale. Cependant, en raison de la disposition des cornes utérines, cet organe n'avance que très peu dans l'abdomen, et à l'état de repos, n'atteint pas le plan transversal passant par l'angle de la hanche.

Le col de l'utérus repose sur le plancher du bassin et du tubercule dorsal du pubis.

Le vagin répond dorsalement au rectum, ventralement à la vessie et l'urètre.

### II.2.4. Irrigation et innervation

L'irrigation artérielle provient de quatre sources : l'artère ovarique, l'artère utérine, l'artère vaginale et l'artère honteuse interne. Ces artères sont accompagnées des veines correspondantes et de vaisseaux lymphatiques.

L'inervation se fait principalement par le nerf honteux interne, branche inférieure de la quatrième paire sacrée.

En conclusion, l'appareil génital de la vache se divise principalement en deux parties tant sur le plan anatomique que sur le plan fonctionnel.

La portion tubaire ou gestative associée aux organes copulateurs permettent la fécondation et assurent la protection et la nutrition de l'oeuf puis de l'embryon et du fœtus. Lorsque ce dernier a terminé son développement, ils sont l'agent actif de son élimination au moment du part.

La portion glandulaire correspondant aux ovaires tient sous sa dépendance, avec l'axe hypothalamo-hypophysaire, l'activité de l'appareil génital par la sécrétion des hormones de la reproduction et assure la maturation et la libération du gamète femelle.

## CHAPITRE III : ASPECT HORMONAL DU CYCLE SEXUEL DE LA VACHE

Chez tous les mammifères, l'appareil génital femelle présente, au cours et pendant toute la période d'activité génitale, des modifications structurales 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 (en principe) interrompues que par la gestation ; elles dépendent de l'activité fonctionnelle de l'ovaire, elle-même tributaire de l'action hypothalamo-hypophysaire (42).

### III.1. CYCLE SEXUEL DE LA VACHE

#### III.1.1. Caractéristiques générales du cycle oestral

##### III.1.1.1. Phases du cycle oestral

Les phénomènes biologiques qui apparaissent au cours du cycle oestral ont été divisés par HEAPE (1910) en 4 périodes correspondant à différentes phases de l'activité ovarienne (42, 163).

. Le pro-oestrus correspond à la période de maturation folliculaire (phase folliculinique).

. L'oestrus

C'est la période de maturité folliculaire suivie de l'ovulation.

. Le post-oestrus (ou métoestrus)

Il correspond à la période de formation et de fonctionnement du corps jaune avec installation d'un état prégravidique de l'utérus. Cette période est également appelée phase lutéale.

. Le dioestrus

C'est la période de repos sexuel, correspondant à la phase d'involution du corps jaune et retour à l'état initial.

De ces 4 phases, la plus importante à prendre en considération est l'oestrus car elle correspond à la phase de l'ovulation qui conditionne la période optimale pour la saillie contrôlée ou l'insémination artificielle.

III.1.1.2. Durée du cycle et époques sexuelles

La vache est une espèce polyoestrienne c'est-à-dire qu'elle présente plusieurs cycles pendant la saison sexuelle.

Bien que le cycle soit de type continu, il existe une notion d'époque sexuelle chez la vache (36, 42, 145). Ainsi dans les pays tempérés, les animaux mal entretenus peuvent présenter un anoestrus prolongé, principalement en automne et en hiver (42).

Chez le zébu en zone soudano-sahélienne, les cycles ne se manifestent pas en toutes saisons chez des animaux maintenus en élevage extensif. Il existe en fait des périodes sexuelles. Ainsi sur une étude statistique menée aux abattoirs de Dakar sur des femelles Gobra, CUQ et coll. (36) ont montré que les 2/3 des fécondations de l'année s'effectuent<sup>nt</sup> entre août et novembre ; de plus un léger accroissement a été noté en Avril-Mai soit deux époques sexuelles. Celles-ci seraient liées au disponible alimentaire, à l'abreuvement et aux facteurs climatiques (36, 145).

La durée moyenne de 21 jours (+ 3,68) est retenue chez Bos indicus (42). Mais COULOMB (31) et RALAMBOFINGA (134) notent le chiffre de 23 jours chez la femelle Ndama. Chez les génisses, ce cycle est légèrement plus court : 20 jours (+ 2,33) en moyenne.

La durée de l'oestrus est tout aussi controversée. De 14 à 15 heures chez les bovins des pays tempérés (4) elle passe à 13-23

heures chez la femelle zébu en zone soudano-guinéenne (145). Mais elle semble de plus courte durée chez les taurins d'Afrique puisque RALAMBOFINGA (134) retient 8 à 9 heures chez la Ndama et CHICOTEAU (cité par SERE)( 145) note une durée de 10,7 heures chez la Baoulé.

Ceci a évidemment une répercussion sur le délai entre la fin des chaleurs et l'ovulation qui varie de 14 à 16 heures en pays sahélien (145) contre 10 à 14 heures en pays tempéré (42).

### III.1.1.3. Retour des chaleurs après le part

La réapparition des chaleurs après la mise-bas survient après des délais variables,

- selon le type de troupeau (mode d'élevage),
- selon le niveau d'alimentation,
- et avec la période d'allaitement (42, 134) et il est très évident que la race est un facteur important de variation.

Les observations de RICHARD au Nigéria et PLASE en Floride rapportées par SERE (145) donnent chez la femelle zébu respectivement 83 à 163 jours et 65 jours tandis qu'une moyenne de 72,9 jours a été signalée chez la Ndama (134). Chez le bétail laitier, ce délai est plus court (35 à 60 jours) que chez le bétail à viande (50 à 80 jours) (42). L'oestrus réapparaît plus précocement chez les vaches soumises à la traite que chez celles qui allaitent. Il semble que la présence du veau sous la mère soit responsable du grand intervalle vèlage-premier oestrus, par épuisement des sécrétions hypothalamo-hypophysaires, consécutif aux têtées fréquentes (134).

Les saillies ou inséminations réalisées lors d'un oestrus survenant moins de 40 jours après la mise-bas ne fournissent qu'un très faible pourcentage de fécondation, et il est conseillé de ne pas faire saillir le bétail plus tôt que 60 jours après la mise-bas (42).

Aux différentes phases du cycle oestral, se superposent des modifications histo-physiologiques auxquelles s'ajoutent pendant l'oestrus des modifications externes.

### III.1.2. Modifications histophysiologiques

Elles dépendent d'un mécanisme endocrinien où le rôle essentiel revient aux hormones ovariennes. Cycle ovarien et cycle des organes génitaux se superposent de la façon suivante (42, 163).

#### . Pendant le pro-oestrus,

- l'ovaire est en phase folliculaire et les follicules sont perceptibles à la palpation transrectale ;
- on note une hyperhémie et des phénomènes sécrétoires au niveau de la trompe et de l'utérus;
- les cellules vaginales se multiplient.

#### . Pendant l'oestrus,

- c'est la ponte ovulaire spontanée,
- le corps jaune a débuté son développement,
- et une activité glandulaire accusée se produit au niveau des différents segments du tractus génital,
- le col est affaissé avec une sécrétion abondante de glaire cervicale.

#### . Pendant le post-oestrus,

- le corps jaune actif est perceptible au niveau de l'ovaire,
- l'utérus est le siège de modifications prégravidiques (hypertrophie et hyperplasie de myomètre), sa lumière est difficile à percevoir et à la palpation elle est dure,
- la trompe et le vagin sont au repos.

#### . Pendant le dioestrus,

- le corps jaune régresse,
- la muqueuse utérine revient au repos,

et déjà de nombreux follicules commencent leur évolution.

Mais plus importantes sont les modifications externes puisqu'elles sont les plus appréciables en pratique dans la détection des chaleurs.

### III.1.3. Modifications extérieures ou signes de chaleurs

Il s'agit de modifications comportementales observées lors des chaleurs et qui suffisent dans de nombreux cas à détecter les chaleurs (145).

Il a pu être noté entre autres :

- une agitation de la femelle,
- une légère diminution de l'abreuvement 2 à 3 jours avant l'oestrus,
- une déviation de la queue avec une miction fréquente en jets saccadés qui se termine par des contractions vulvaires,
- une muqueuse vulvaire fortement congestionnée,
- un mucus filant, translucide qui s'écoule des voies génitales notamment chez les génisses,
- des contractions vulvaires lors d'attouchements dorsaux,
- mais surtout l'acceptation du chevauchement considérée comme le signe majeur d'une femelle en oestrus.

Le déroulement des phénomènes biologiques au cours du cycle et les modifications organiques et comportementales qui s'en suivent ne sont que la traduction d'un mécanisme complexe de nature neurohormonale.



## III.2. REGULATION HORMONALE DU CYCLE OESTRAL

### III.2.1. Endocrinologie du cycle sexuel

Le contrôle de l'activité cyclique dépend de la production et de l'équilibre entre les hormones sécrétées par différents organes. Ces hormones sont d'origine hypothalamique, hypophysaire et génitale (ovaire, utérus) (Tableau XI).

Les modifications ovariennes et les variations de taux des hormones se superposent aux principales phases du cycle oestral comme l'indique la figure 10.

#### \* Evolution des taux hormonaux

. Stéroïdes ovariens : oestrogènes et progestérone

Le cycle sexuel de la vache comporte sur le plan de sa composante hormonale :

- une phase oestrogénique courte (3 jours environ)
- et une phase progestéronique beaucoup plus longue : 17-18 jours (155).

La première est concomitante de la croissance folliculaire terminale précédant l'ovulation. Elle se caractérise par des niveaux croissants d'oestrogènes, essentiellement d'oestradiol 17  $\beta$ , dont le maximum est lors du pic préovulatoire de LH, de l'ordre de 11 à 20 pg/ml dans le plasma périphérique (157).

La phase lutéale se caractérise par une élévation progressive de la progestérone dont la concentration moyenne atteint un plateau vers le 8e jour, plateau qui persiste jusque vers le 16e - 17e jour après l'oestrus. Cette période se termine avec l'action de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (figure 11). En effet chez la vache l'augmentation de la sécrétion de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  se manifeste au 16e-17e jour du cycle (12). Le taux plasmatique de progestérone chute alors brutalement et reste inférieur à 0.5 ng/ml pendant toute la durée de la phase folliculaire (157).

TABLEAU XI : PRINCIPALES HORMONES IMPIQUEES  
DANS LE CONTROLE DU CYCLE OESTRAL DE LA VACHE

<u>ORGANE</u>	<u>HORMONE</u>	<u>FONCTION</u>
Hypothalamus	Gn-RH	Provoque le relachement de la LH et de la FSH
Hypophyse (lobe antérieur)	FSH	Stimule la croissance folliculaire
	LH	Induit la maturation finale et l'ovulation du follicule ainsi que le maintien du corps jaune
Corps jaune	Progestérone	Relachement de l'utérus. Sécrétion utérines et contrôle de la sécrétion de LH
Follicules	Oestrogènes	Contrôle la sécrétion de LH et de FSH, stimule la sécrétion de PGF, augmente la circulation sanguine du système génital
	Inhibine	Inhibe la sécrétion de FSH
Utérus	PGF <sub>2α</sub>	Introduit la régression du corps jaune

Source : (12)

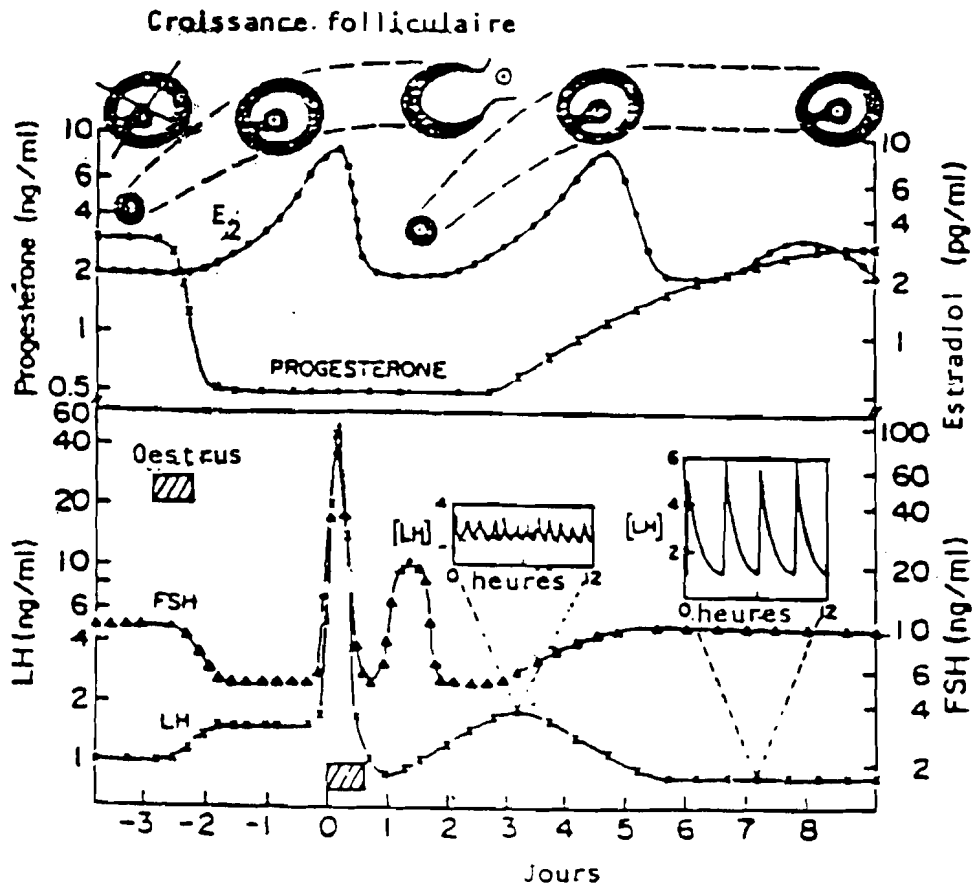


FIGURE 10 : VARIATIONS ENDOCRINIENNES EN FONCTION DE L'ETAPE DU CYCLE OESTRAL

Source : (12)

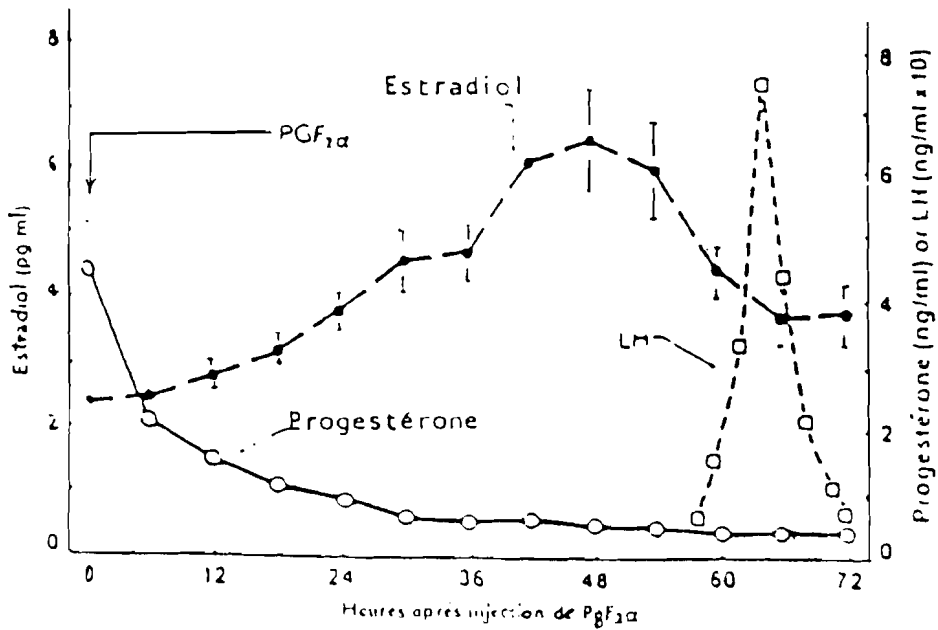


FIGURE 11 : CONCENTRATIONS HORMONALES PLASMATIQUES APRES ADMINISTRATION DE PGF<sub>2α</sub>

Source : (12)

THIBIER (156) a montré que la sécrétion de ces stéroïdes ovariens était de nature pulsative ainsi que celle de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  en particulier en fin de phase lutéale.

#### . Gonadotropines hypophysaires : LH et FSH

L'évolution des gonadotropines au cours du cycle se fait comme suit :

- un niveau de base dit tonique uniforme pendant toute la durée du cycle,
- et une décharge cyclique, dite pic préovulatoire, de très courte durée et de très grande amplitude (Figure 10).

Une deuxième décharge de FSH s'observe au post-oestrus même en absence de LH. Ceci serait dû à la levée de l'inhibition de l'inhibine du follicule ovulatoire (12).

En réalité pour le niveau tonique, il s'agit d'une sécrétion pulsative autour d'un niveau de base dont la moyenne va de surcroît varier selon le stade du cycle (156).

### III.2.2. Relation hypothalamo-pituito-ovarienne

Cette relation s'établit dans le cadre de la régulation hormonale du cycle.

#### . Oestrogènes

L'oestradiol augmente la sensibilité de la pituitaire (hypophyse) à répondre au Gn-RH par action directe sur elle.

Au pic de LH, l'oestradiol agit directement sur l'hypothalamus pour augmenter la sécrétion de Gn-RH ; et les pics préovulatoires de LH et de FSH sont dûs :

- à l'augmentation de Gn-RH
- à l'augmentation de la réponse LH et FSH à Gn-RH

. Progestérone

Elle a un effet inhibiteur sur le pic de LH. La concentration de LH varie donc de façon inverse à celle de la progestérone.

Tant que la progestérone est élevée, il n'y a pas d'ovulation à cause du blocage du pic préovulatoire de LH : de plus il n'y a pas de sécrétion augmentée d'oestradiol.

. Gn-RH

La réponse maximale de LH à Gn-RH se situe à l'oestrus.

Deux vagues de Gn-RH ont une meilleure réponse en LH qu'une seule de même intensité :

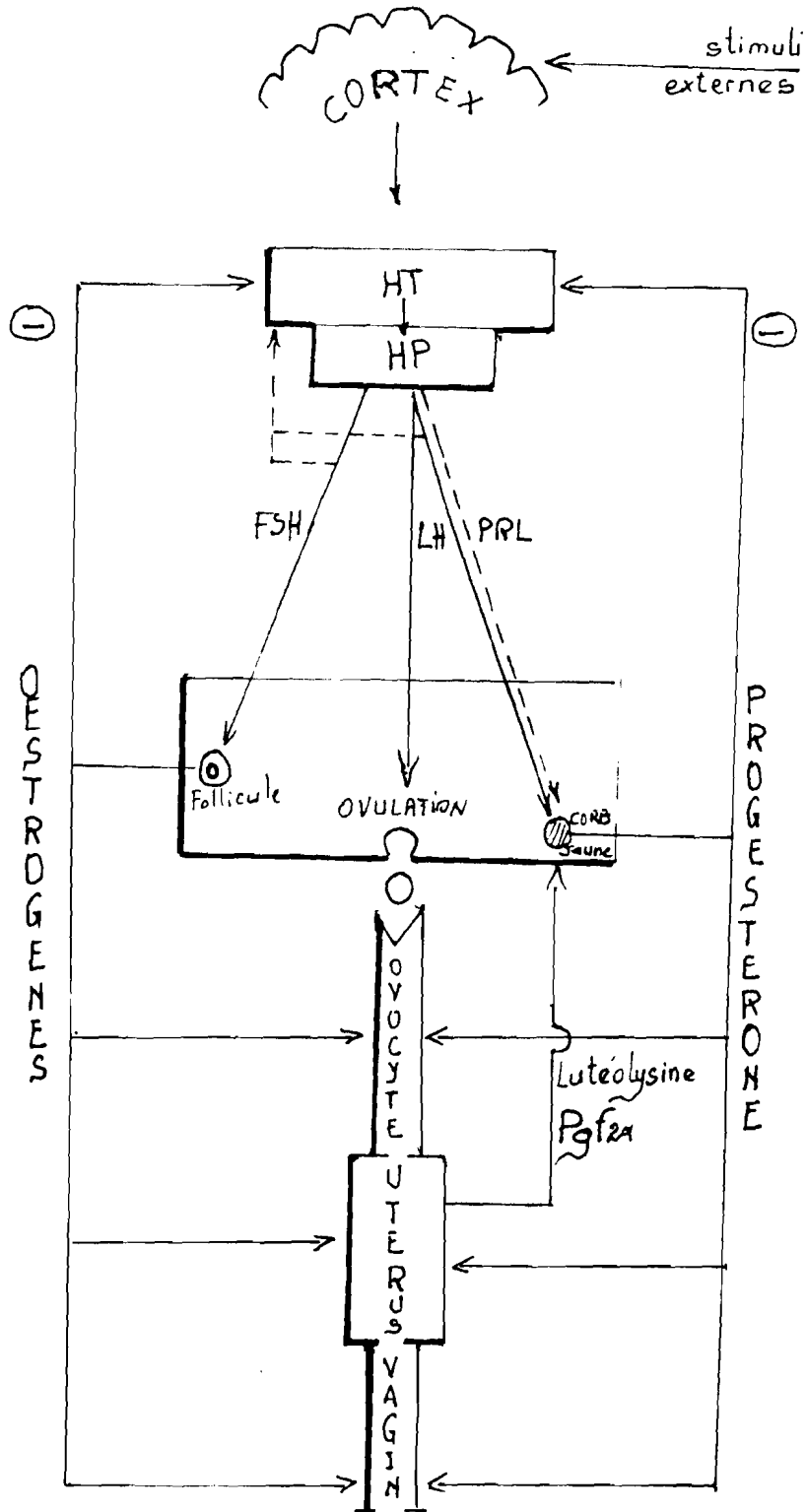
- la première vague a un effet amorceur direct sur la pituitaire ;

- la deuxième entraîne une augmentation de la réponse, mais seulement dans les 3 heures après la première, car la pituitaire est ensuite désensibilisée pour 72-96 heures (12).

Le schéma 1 donne une représentation du mécanisme de cette régulation neurohormonale du cycle.

Mais tous ces mécanismes de rétro-contrôle stéroïdes-hormones pituitaires ou hypothalamiques ne peuvent expliquer à eux seuls des variations individuelles que l'on peut observer et ceci d'autant plus que des facteurs comme la saison peuvent avoir une influence sur la reproduction chez la vache.

La connaissance de ces phénomènes endocriniens est indispensable à la pratique du transfert d'embryons. Mais un diagnostic de gestation est nécessaire quelques temps après la mise en place de l'embryon. Aussi faudrait-il en connaître les bases.



SCHEMA 1/: Régulation neurohormonale du cycle sexuel des Mammifères.

Source: (163)

## CHAPITRE IV : GESTATION ET DIAGNOSTIC DE GESTATION

### CHEZ LA VACHE

Le développement de l'oeuf in utero depuis le moment de la fertilisation jusqu'au moment de la parturition représente l'état gestatif.

La gestation se déroule suivant les trois périodes classiquement décrites (43, 112) :

- la période de l'oeuf, très courte (J1 à J12) s'étend du moment de la fertilisation jusqu'à l'éclosion blastocytaire,
- la période embryonnaire (J13 à 145) correspond à l'organogenèse,
- la période foetale, la plus longue correspond au développement foetal ; elle s'étend de la fin de la période embryonnaire à la parturition.

La gestation crée chez la parturiente un état physiologique nouveau et entraîne une série de modifications morphologiques plus spécialement localisées au niveau des organes génitaux.

Ces modifications morphologiques et physiologiques de la vache gestante bien que non exposées dans cette étude constituent avec les variations subies par le foetus les bases du diagnostic de gestation. Mais il convient tout d'abord de préciser la durée de gestation chez la vache.

#### IV.1. DUREE DE LA GESTATION CHEZ LA VACHE

La durée de la gestation peut se définir comme étant le temps écoulé entre le moment de la fécondation et celui de la mise bas.

Ce temps varie non seulement en fonction des races bovines mais également des individus. C'est pourquoi il est préférable de parler de durée moyenne. De plus cette durée de vie in utero du produit est influencée par certains facteurs.

##### IV.1.1. Durée moyenne de gestation

Elle oscille entre 276 et 290 jours soit globalement 9 mois (43). Cette variation bien établie chez les races bovines en pays tempérés semble moins évidente en pays tropicaux. Chez la femelle zébu, elle est de 285 jours (43) et COULOMB (31) la situe entre 272 et 294 jours chez la Ndama soit une moyenne de  $285 \pm 1,7$  j. En plus de ces fluctuations interspécifiques, la durée de gestation est sujette à certains facteurs de variation.

##### IV.1.2. Facteurs de variation de la durée de gestation

Parmi les facteurs influençant la durée de la gestation, il y a lieu de retenir le génotype du fœtus, le nombre de produits, le sexe, des facteurs endocriniens. La saison pourrait jouer un rôle déterminant dans les régions tropicales.

- Les facteurs génétiques interviendraient pour 30 à 64 p. 100 dans le déterminisme du temps de gestation (43).

- La durée de gestation est généralement plus longue pour un fœtus de sexe masculin que pour un fœtus de sexe féminin.

- La gemellité s'accompagne généralement d'une réduction de 3 à 6 jours de la durée de gestation chez la vache.



- Chez les bovins, les facteurs endocriniens sont surtout relatifs au taux d'hormones stéroïdes. C'est ainsi qu'il a été constaté que le taux de progestérone se maintient à un niveau élevé lors de gestation prolongée alors que dans les conditions normales, ce taux doit diminuer environ 10 jours avant le terme tandis qu'augmente celui des oestrogènes (43).

#### IV.2. DIAGNOSTIC DE LA GESTATION CHEZ LA VACHE

Le diagnostic précoce de gestation chez la vache revêt une importance particulière lors d'insémination artificielle ou de transfert d'embryons. Il a pour objectif de dépister d'une part les femelles gestantes en vue d'une attention particulière (alimentation notamment) et d'autre part les femelles non gestantes en vue de leur réutilisation.

Le diagnostic de gestation est d'ordre clinique ou de laboratoire et a été bien décrit par DERIVAUX et ECTORS (43).

##### IV.2.1. Diagnostic clinique

Il repose sur des signes cliniques probables qui ne sont qu'indicatifs et donc insuffisants et sur des signes certains comportant des modifications perceptibles des organes génitaux à la faveur du fouiller rectal.

##### IV.2.1.1. Signes cliniques probables

###### a) Cessation des chaleurs

La non-réapparition des chaleurs après un délai normal d'un cycle sexuel est un élément indicatif de gestation.

L'interprétation de ce signe doit se faire avec prudence notamment chez les races tropicales où l'existence de chaleurs frustrées, donc passant inaperçues, a été assez souvent signalée, ainsi que des périodes d'anoestrus prolongées (2, 35, 47, 134, 171). Inversement, DERIVAUX et ECTORS (43) estiment que 2 à 5 p. 100 des vaches gestantes peuvent extérioriser des manifestations oestrales.

## b) Modification de caractère

La vache gestante est généralement plus douce et plus maniable.

## c) Développement abdominal

Il est le fait de la croissance du fœtus et de l'hypertrophie utérine qui s'en suit.

Un diagnostic différentiel est à faire d'avec un simple état d'embonpoint ou un état pathologique (tumeur, acite, pyomètre .

## d) Développement mammaire

Il est seulement évident vers le 4e-5e mois de gestation et est surtout intéressant à considérer chez la génisse.

## e) Etat croqué

On désigne ainsi l'affaissement des ligaments sacro-sciatiques survenant dans les jours qui précèdent le part. On dit que la vache se "casse".

Mais une telle attitude peut être l'expression de la nymphomanie (trouble fonctionnel et hyperoestrogénique).

IV.2.1.2. Signes cliniques sensibles ou certains

## a) Mouvements foetaux

Ce sont les déplacements spontanés du fœtus vers le 5e-6e mois de gestation, déplacements perceptibles lors d'une fouille rectale ou parfois même, en fin de gestation, à vue d'oeil du côté droit de l'abdomen.

## b) Toucher externe

A partir du 6e mois, le poing appliqué à la partie inférieure de l'abdomen juste en avant du grasset, reçoit un choc "en retour".

## c) Toucher interne : fouiller rectal

Il reste la méthode de choix pour le diagnostic clinique certain de la gestation.

\* Chez la vache non gestante, l'utérus est situé presque tout entier dans la cavité pelvienne.

\* Chez la vache gestante, on perçoit :

- au niveau de l'ovaire, le corps jaune gestatif,
- au niveau de l'utérus :

- . au 2e mois les membranes foetales avec en plus un col fermé et recouvert d'un mucus épais. On peut alors à cette période. poser un diagnostic de gestation avec certitude dans 90 p. 100 des cas.

- . au 3e mois une distension asymétrique des cornes.

- . au 4e-5e mois, une intensification des signes précédants auxquels s'ajoute l'hypertrophie de l'artère utérine qui présente une pulsation : le "thrill artériel". Les cotyléons sont perceptibles.

- . entre le 5e et le 7e mois, l'utérus "plonge" dans la cavité abdominale et un diagnostic erroné est alors possible.

La croissance du foetus va s'intensifier du 7e mois à la fin de la gestation et la perception devient plus facile, et le développement mammaire confirme le diagnostic.

\* Gestation gémellaire

Les éléments de diagnostic sont identiques à ceux d'une gestation simple sauf que lors d'une gestation bicornale, l'asymétrie est absente ou peu marquée.

#### IV.2.2. Diagnostic de laboratoire

Le diagnostic de laboratoire comporte des dosages hormonaux et l'échographie.

#### IV.2.2.1. Détermination hormonale

##### a) Progestérone

Il s'agit d'un dosage radioimmunologique de la progestérone dont la concentration reste élevée (normalement) si la femelle est fécondée, alors qu'il chute chez une femelle non fécondée. Le dosage se fait à partir du plasma ou d'un lait et les prélèvements s'effectueront au mieux entre le 23e et le 24e jour (43).

L'interprétation des résultats est résumé au tableau XII. La correspondance entre le résultat du diagnostic hormonal et le nombre de mise bas est de 99-100 p. 100 lors de diagnostic négatif, de 80-85 p. 100 lors de diagnostic positif (43). C'est dire donc que 20 p. 100 des femelles diagnostiquées positives en progestérone, ne mettent pas bas. Ceci est dû à :

- des erreurs : récolte incorrecte,
- la variabilité du cycle oestral : cycle trop court ou très long,
- la présence d'un corps jaune persitant,
- des infections du tractus génital, mais surtout à la mortalité embryonnaire.

##### b) Oestrogènes

Le diagnostic de gestation chez la vache par mise en évidence des oestrogènes (dans le plasma ou les urines) est d'application tardive.

En effet ce n'est qu'après le 150e jour de gestation que le taux plasmatique des oestrogènes est augmenté et peut atteindre 6 à 7 ng/ml (43).

La négativité de ce test radioimmunologique exprime un état non gestatif mais elle n'exclut pas une gestation débutante.

D'autres méthodes sont signalées mais sont peu utilisées comme le test d'élasticité de la glaire cervicale ou l'absence de cristallisation de la glaire en feuille de fougère.

#### IV.2.2.2. Echographie

L'échographie utilise les ultra-sons qui lorsqu'ils rencontrent une surface séparant deux milieux de densité différente sont en partie réfléchis, en partie absorbés. La partie réfléchie est captée par un quartz émetteur-récepteur, transformée en impulsions électriques et traitée de manière telle qu'elle puisse être visualisée sur un écran cathodique. Un pic ou un point lumineux apparaît alors, dont la hauteur dans le premier cas ou la brillance dans le second sont proportionnelles à l'intensité de l'ultra-son captée.

D'abord utilisée chez la vache pour l'étude de la croissance folliculaire et la détection du moment de l'oestrus (45, 90) elle est de plus en plus un outil de diagnostic de gestation à partir de la 3e-4e semaine de gestation (90).

On a recourt généralement à des fréquences de 3,5 ou 5 méga-hertz. C'est une technique précoce et fiable à partir du 28e jour (48).

En conclusion, les méthodes de diagnostic à retenir chez la vache sont :

- la détermination du taux progestéronique ou l'utilisation de l'échographie en début de gestation,
  
- et la méthode du fouiller rectale lors d'un diagnostic plus tardif,

TABLEAU XII : DIAGNOSTIC DE GESTATION : DOSAGE DE P<sub>4</sub>. PLASMA :

Résultat négatif ..... 0,5 ng/ml ou 1 ng/ml

Résultat positif ..... 2 ng/ml

Résultat douteux ..... 1 à 2 ng/ml

. LAIT :

Résultat positif ..... .. 11 ng/ml

Résultat négatif ..... 8 ng/ml

Résultat douteux ..... 8 à 11 ng/ml

. CREME :

Résultat positif ..... &gt; 1 ng/10 µl

Résultat négatif ..... &lt; 1 ng/µl

Source : (43)

TROISIEME PARTIE

PARTIE EXPERIMENTALE

\*\*\*\*\*

## CHAPITRE I : MATERIEL D'EXPERIENCE

### I.1. CADRE D'EXPERIENCE

L'expérience s'est déroulée dans les locaux de la clinique de l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires (EISMV) de DAKAR pour les Ndama et Gobra, et dans deux fermes à SANGALKAM pour les Montbeliarde .

A la clinique, trois parcs permettent la stabulation libre des animaux en dehors des moments de manipulations. Une douzaine de cages de contention a été aménagée pour la stabulation entravée et les manipulations.

L'expérience s'est étalée globalement sur dix mois (de mi-avril à mi-février).

### I.2. MATERIEL ANIMAL

Les animaux proviennent du Centre de Recherches Zootechniques (CRZ) de DAHRA pour les Gobra et du CRZ de KOLDA pour les Ndama. Quant aux Montbeliarde, elles font partie des élevages de la coopérative des Producteurs de lait (COPLAIT).

Sur le plan sanitaire, il s'agit de vaches régulièrement suivies, provenant d'élevages bien tenus avec des programmes de vaccination et de déparasitage.

Agées de 4 à 8 ans, elles ont des poids moyens de 250 kg (pour les Ndama), 650 kg (pour les Montbeliarde) et 350 kg (pour les Gobra).

Chaque vache a vêlé au moins une fois et n'a connu aucun problème de mise-bas.



### I.3. MATERIEL DE LABORATOIRE

Il s'agit de matériel utilisé lors des différentes opérations. Ce sont :

- .le matériel de prélèvement des embryons (annexe 1),
- . une loupe binoculaire (M5 WILD) pour la recherche et l'examen des embryons,
- . un échographe pour le diagnostic précoce de gestation,
- . un pistolet d'insémination type "CASSOU" pour le transfert,
- . un congélateur (BIOCOOL) et de l'azote liquide pour la conservation des embryons.

### I.4. HORMONES UTILISEES

Pour les traitements de superovulation des donneuses et de synchronisation des receveuses, quatre types de produits ont été utilisés. Ce sont :

- des prostaglandines,
- de la progestérone associée à de l'oestradiol,
- de la FSH,
- et de la PMSG.

#### a) Les prostaglandines

##### Le Dinoprost (LUTALYSE N.D.)

C'est une prostaglandine naturelle ayant par conséquent une action lutéolytique sur le corps jaune.

Il est utilisé essentiellement pour la maîtrise des cycles sexuels chez les femelles cyclées.

Le Cloprosténol : ESTRUMATE N.D. (COOPERS AGROPHARM INC.)

C'est un analogue de la prostaglandine injectable, dont la structure s'apparente à celle de la Prostaglandine  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ).

\* Action

L'Estrumate provoque la résorption physiologique et morphologique du corps jaune chez les bovins ; ce qui déclenche l'oestrus 2 à 5 jours après le traitement, suivi de l'ovulation et de la fertilité normale.

La Fenprostalène : SYNCHROCEPT B N.D. (SYNTEX INTERNATIONAL)

La Fenprostalène est un analogue synthétique de la  $PGF_{2\alpha}$ , 25 fois plus active que cette dernière chez les bovins.

b) La progestérone

Les sources de progestérones utilisées sont constituées par des spirales vaginales et des implants sous-cutanés.

- Les implants sous-cutanés : SYNCHRO-MATE B N.D.  
(CEVH LABORATOIRES, INC)

Il s'agit d'un polymère hydrophile (HYDRON N.D.) qui sert de support à deux composantes hormonales : le Norgestomet et le Valérate d'oestradiol.

Chaque implant est dosé à 6,0 mg de Norgestomet, et la pose de l'implant s'accompagne d'une injection de solution contenant, pour 2 ml, 5,0 mg de Valérate d'oestradiol et 3,0 mg de Norgestomet.

- Les spirales intravaginales, PRID (Progestérone Releasing Intravaginal Device with oestradiol) (ABBOTT)

Chaque spirale est composé de 1,55 g de progestérone répartie sur un support en silicone et 10 mg de benzoate d'oestradiol contenu dans une capsule gélatineuse.

c) La F.S.H. = F.S.H.-P. (N.D.) (SCHERING CANADA INC)

(Follicle Stimulating hormone - Pituitary)

F.S.H.-P injectable est de la gonadrophine A extraite d'hypophyses de porcs.

d) La P.M.S.G. = EQUINEX N.D. (AYERST Laboratories)

C'est de la gonadotrophine sérique de juments gravides à activité F.S.H. mimétique : stimulation de la croissance folliculinique des ovaires fonctionnels.

## CHAPITRE II : PROTOCOLE EXPERIMENTAL

### II.1. CHOIX, REPARTITION ET ENTRETIEN DES ANIMAUX

#### II.1.1. Choix des animaux et constitution des lots

Les vaches retenues pour l'expérience ont été sélectionnées sur la base des critères définis par les auteurs nord-américains et européens (84, 112, 113, 114) :

- aucun animal ne devait présenter de signes cliniques de maladie,
- la santé de l'appareil génital, estimée par palpation transrectale, est jugée satisfaisante,
- les vaches sont susceptibles de concevoir ou de mener à terme une gestation puisqu'ayant eu au moins un produit.

Ainsi 34 vaches ont été sélectionnées et réparties en 13 donneuses et 21 receveuses. Le tableau XIII donne le détail de la répartition.

Les causes de rejet ont été essentiellement un mauvais état général, une suspicion de gestation débutante...

#### II.1.2. Entretien des animaux

L'alimentation est constituée de concentrés (aliment complet) et de fanes d'arachides.

L'abreuvement se fait ad-libitum par une distribution continue d'eau.

#### II.1.3. Examen clinique

Deux ou trois jours avant le début des traitements, les vaches ont fait l'objet d'un examen clinique centré sur l'appareil génital, notamment l'utérus et les ovaires :

- présence ou absence de corps jaune,

TABLEAU XIII : REPARTITION DES VACHES EN LOTS DE DONNEUSES ET RECEVEUSES

	R A C E			TOTAL
	Gobra	Ndama	Montbeliarde	
Donneuses	9	4	0	13
Receveuses	9	5	7	21
TOTAL	18	9	7	34

- état du col avec ou non la présence de glaire,
- signes éventuels de métrite...

Les résultats de cet examen étaient reportés sur une "fiche d'intervention" (annexe 2).

## II.2. TRAITEMENTS DES VACHES

Ils ont comporté d'une part, la synchronisation des cycles sexuels des donneuses et des receveuses et d'autre part, la superovulation des donneuses.

### II.2.1. Traitements de synchronisation

Suivant le traitement de base, trois lots ont été constitués. Le tableau XIV résume ces traitements suivant qu'il s'agisse de donneuses ou de receveuses.

. Le lot 1 comprenant 2 Gobra et 6 Montbeliarde a été traité aux prostaglandines : le Dinoprost pour les Gobra et la Fenprostalène pour les Montbeliarde. Deux injections intra-musculaires à 11 jours d'intervalle ont été effectuées comme le préconise des travaux antérieurs (14, 113) ; chaque injection correspondant soit à 1 mg de Fenprostalène soit à 25 mg de Dinoprost (schéma 2).

. Le lot 2 sous spirales progestéroniques est composé de 9 Gobra, 1 Ndama et 1 Montbeliarde.

#### - Pose de la spirale

L'arrière-train de la vache est lavé à l'eau savonneuse, puis la vulve est désinfectée à l'alcool à 70°.

La spirale est mise en place en arrière du col utérin à l'aide d'un appareil adapté (figure 12). Pour éviter d'éventuelles contaminations entre vaches, l'appareil est désinfecté après chaque opération à la Bétadine ; celui-ci jouant également le rôle de lubrifiant à l'introduction de l'appareil dans le vagin (figure 13).

TABLEAU XIV : REPARTITION DES VACHES EN FONCTION DU TRAITEMENT

a) Donneuses

Vaches (Race & n°)	TRAITEMENTS	
	Synchronisation.	Superovulation
Nd. 1 Gb. 22 24 26 28 29	Implants	PMSG
Gb. 21 23  Nd. 2 11 12		F S H
Gb. 23 27	Prostaglandines	

b) Receveuses

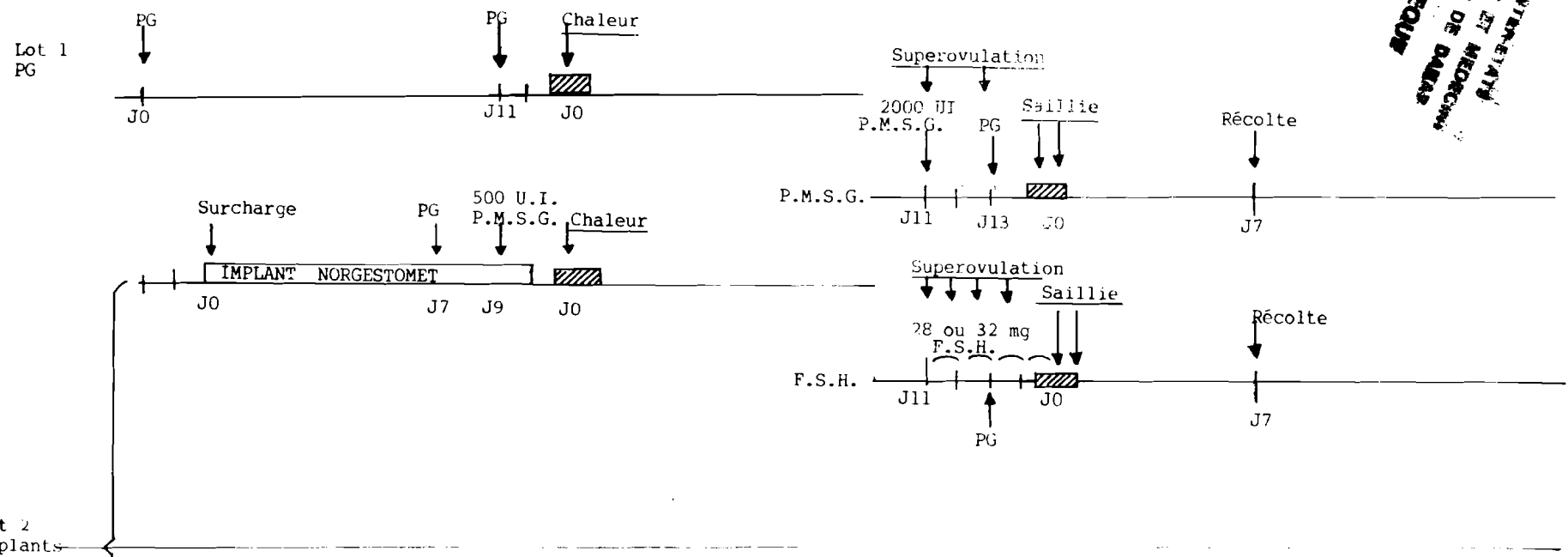
Vaches (Race & n°)	TRAITEMENTS
	Traitement Synchronisation
Nd. 3 4 6 7	Implants
Gb. 30 à 38 Nd. 5 Mb. 629	Spirales
Mb. 13 40 41 96 403 721	Prostaglandines

Nd. = Ndama  
Gb. = Gobira  
Mb. = Montbellarde

SCHEMA 2 : SCHEMAS DE TRAITEMENTS DES VACHES

ÉCOLE NATIONALE  
DES SCIENCES ET MÉTIERS  
AGRICULTURES DE BORDEAUX  
BIBLIOTHÈQUE

DONNEUSES



RECEVEUSES

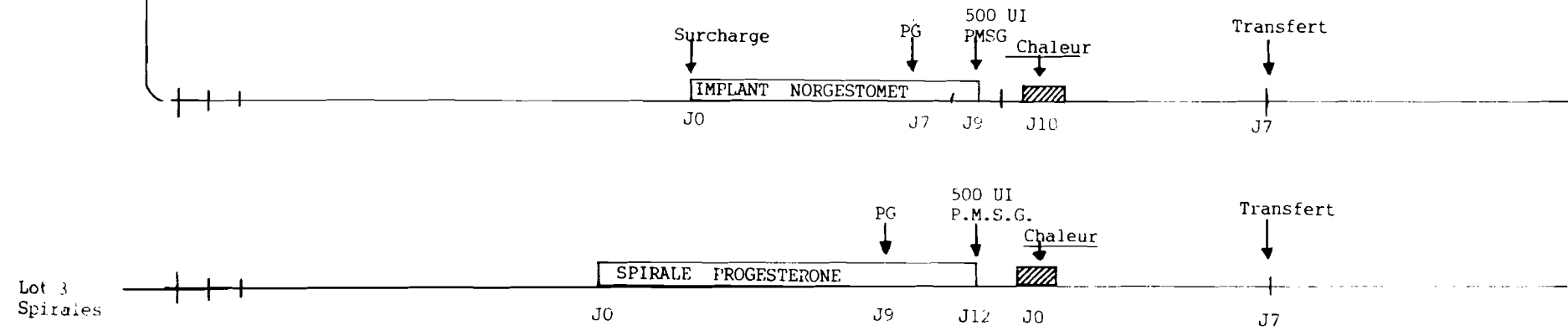




FIGURE 12: ADAPTATEUR POUR LA POSE DE SPIRALES VAGINALES

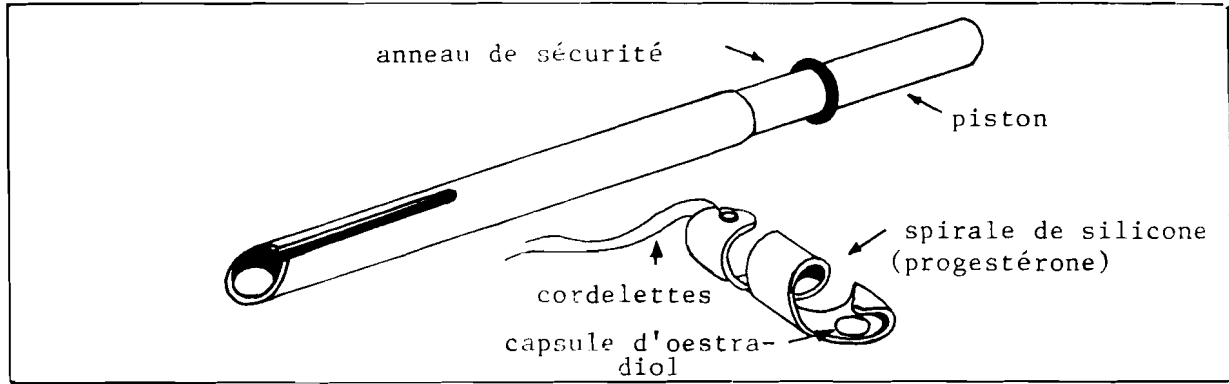
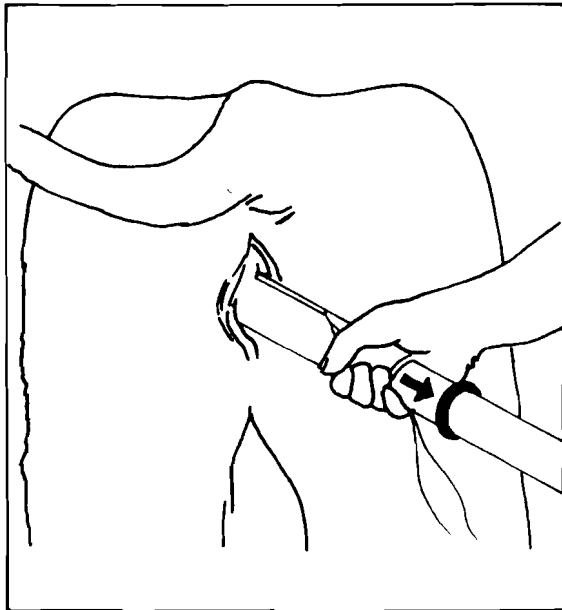
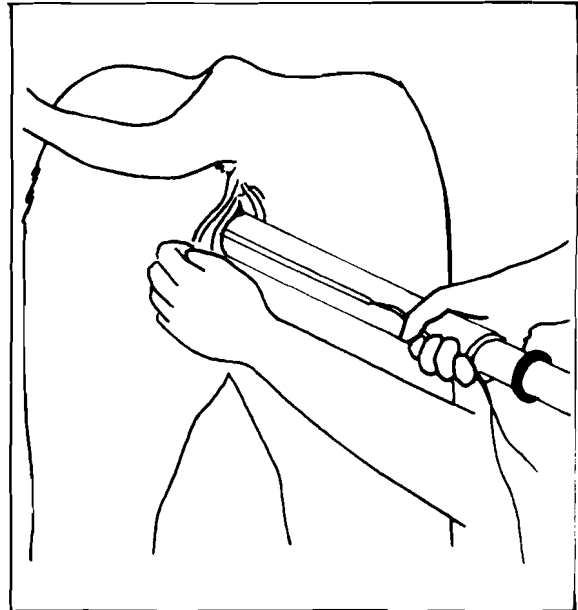


FIGURE 13 : POSE D'UNE SPIRALE VAGINALE



b) Retrait de l'adaptateur



a) Introduction de l'adaptateur

L'observation des cordelettes pendant à la commissure inférieure des lèvres vulvaires certifie la présence de la spirale durant le traitement et permet ainsi une surveillance régulière.

- Dépose de la spirale

Elle se fait en principe 12 jours après la pose mais par une erreur de lecture du calendrier de traitements et pour des problèmes de synchronisation avec les donneuses, nous avons été amenés à procéder à cette opération au bout de 10 jours.

Le retrait du dispositif se fait en tirant légèrement sur les cordelettes d'une main tandis que l'autre main introduite dans le rectum aide à la régression de la spirale.

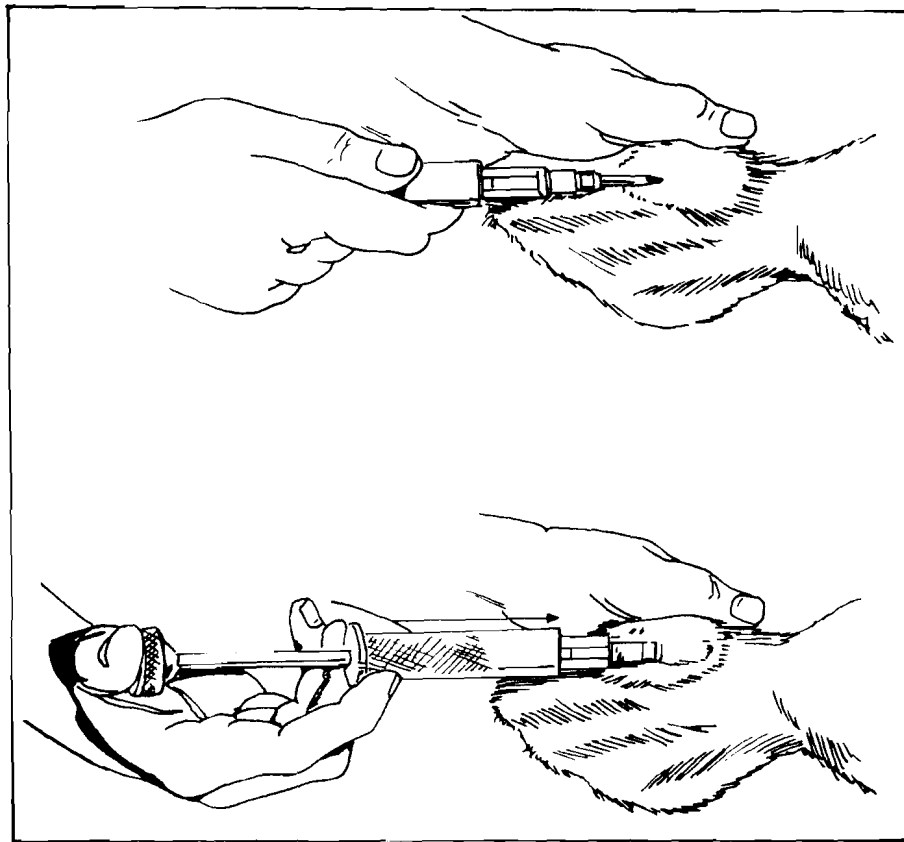
. Le lot 3 a été mis sous implants de Norgestomet et comprend 7 Gobra et 8 Ndama.

La pose de l'implant en sous-cutané à la base et en face externe de l'oreille (figure 14 a) s'effectue à l'aide d'un pistolet spécial. Elle est accompagnée d'une injection de 2 ml d'une solution contenant 5,0 mg de Valérate d'oestradiol et 3,0 mg de Norgestomet ("surcharge").

Le retrait de l'implant (figure 14 b) s'est fait 9 jours après à la faveur d'une légère incision cutanée perpendiculaire à l'axe de l'implant.

Aussi bien avec les spirales qu'avec les implants, les vaches reçoivent en intra-musculaire 2 ml d'ESTRUMATE N.D. (correspondant à 500 µg de PGF<sub>2α</sub>) 2 jours avant le retrait du dispositif et 500 UI de PMSG le jour du retrait.

Au total, 13 donneuses et 21 receveuses ont été traitées et leur répartition en fonction du traitement et de la race figure au tableau XIV.



FUGYRE 14 a: POSE DE L'IMPLANT SOUS-CUTANE

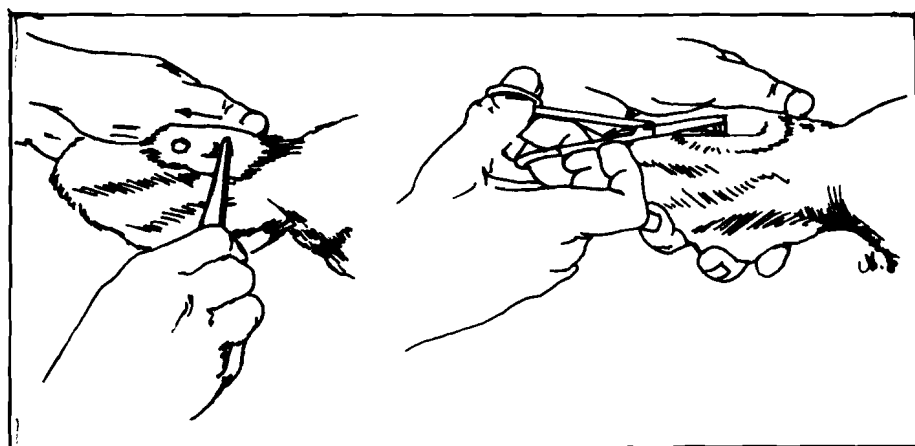
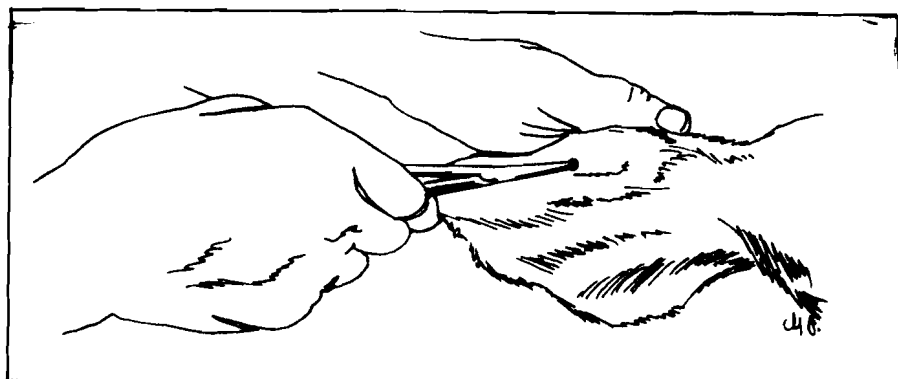


FIGURE 14b : RETRAIT DE L'IMPLANT

### II.2.2. Traitements de superovulation

Deux groupes de donneuses ont été constitués pour ce traitement selon l'hormone utilisée.

Ainsi 7 vaches (4 Gobra et 3 Ndama) ont été superovulées avec FSH-P et constituent le premier groupe. Le deuxième groupe quant à lui, a subi un traitement à la PMSG et se compose de 5 Gobra et d'une Ndama.

Pour le traitement à la FSH, deux doses différentes sont utilisées selon qu'il s'agisse de Gobra ou de Ndama (respectivement 32 mg et 28 mg). Le traitement s'est dans tous les cas étendu sur 4 jours à partir de J11 du cycle (J0 = chaleurs de référence) (schéma 2).

Pour la PMSG, la femelle Ndama a reçu 2000 UI tandis que les femelles Gobra ont reçu 2500 UI. Dans tous les cas, le traitement a été administré en IM à J11.

Chaque vache reçoit en plus 25 mg de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  le 13e jour et ceci indépendamment du traitement de base et de la race. La répartition des traitements sur les quatre jours est résumée au tableau XV.

### II.3. DETECTION DES CHALEURS ET FECONDATION

La détection des chaleurs, quand elles apparaissaient, a été assez aisée : un oestrus comportemental (monte avec immobilisation) comme le décrit GOFFAUX (59) a été généralement observé.

Toutes les femelles Ndama ont été saillies naturellement dès l'apparition des chaleurs par un taureau Ndama âgé de 7 ans. Les femelles Gobra quant à elles, ont fait l'objet d'une double insémination artificielle 12 et 24 heures après le début des chaleurs. Elles ont été saillies avec de la semence de Montbeliarde congelée.

TABLEAU XV : TRAITEMENT DE SUPEROVULATION DES DONNEUSES

VACHES (RACE)	Trai- tement	J11		J12		J13		J14	
		Matin	Soir	Matin	Soir	Matin	Soir	Matin	Soir
Ndama	FSH 28 mg	5 mg	5 mg	4 mg	4 mg	3 mg +25mg PGF <sub>2α</sub>	3 mg +25mg PGF <sub>2α</sub>	2 mg	2 mg
Gobra	32 mg	5 mg	5 mg	5 mg	5 mg	4 mg +25mg PGF <sub>2α</sub>	4 mg +25mg PGF <sub>2α</sub>	2 mg	2 mg
Ndama + Gobra	PMSG 2000 UI ou 2500 UI	2000 UI ou 2500 UI		-		25 mg PGF <sub>2α</sub>	25 mg PGF <sub>2α</sub>		

## II.4. RECOLTE ET MANIPULATION DES EMBRYONS

### II.4.1. Récolte des embryons

Elle s'est effectuée 7 jours après le début des chaleurs. Le prélèvement des embryons nécessite des opérations préalables, notamment l'appréciation de la réponse ovarienne au traitement de superovulation et la préparation des animaux.

#### II.4.1.1. Appréciation de la réponse ovarienne

Par palpation transrectale des ovaires (après vidange du rectum), le nombre de corps jaunes est estimé. Seules sont retenues les vaches présentant au moins 4 corps jaunes.

#### II.4.1.2. Préparation des animaux

Il s'est agi d'assurer, durant l'opération de prélèvement, d'une part une aseptic aussi rigoureuse que possible et d'autre part une insensibilisation des organes génitaux.

L'aseptic est réalisée comme précédemment décrite à la pose des spirales.

L'insensibilisation des organes génitaux est assurée par une anesthésie épidurale (entre le sacrum et la première vertèbre coccigène). Une seringue est chargée de 7 ml de XYLOCAINE à 2 p. 100; la moitié de la dose est injectée dans le canal rachidien et les injections suivantes se font à la demande. Durant tout le temps du prélèvement, la seringue reste donc en place. Mais en général, 3,5 ml ont suffi.

#### II.4.1.3. Prélèvement des embryons

La récolte s'est effectuée par voie cervicale à l'aide d'une sonde de FOLEY à 2 voies (planche 2) et avec "petit volume" de PBS.

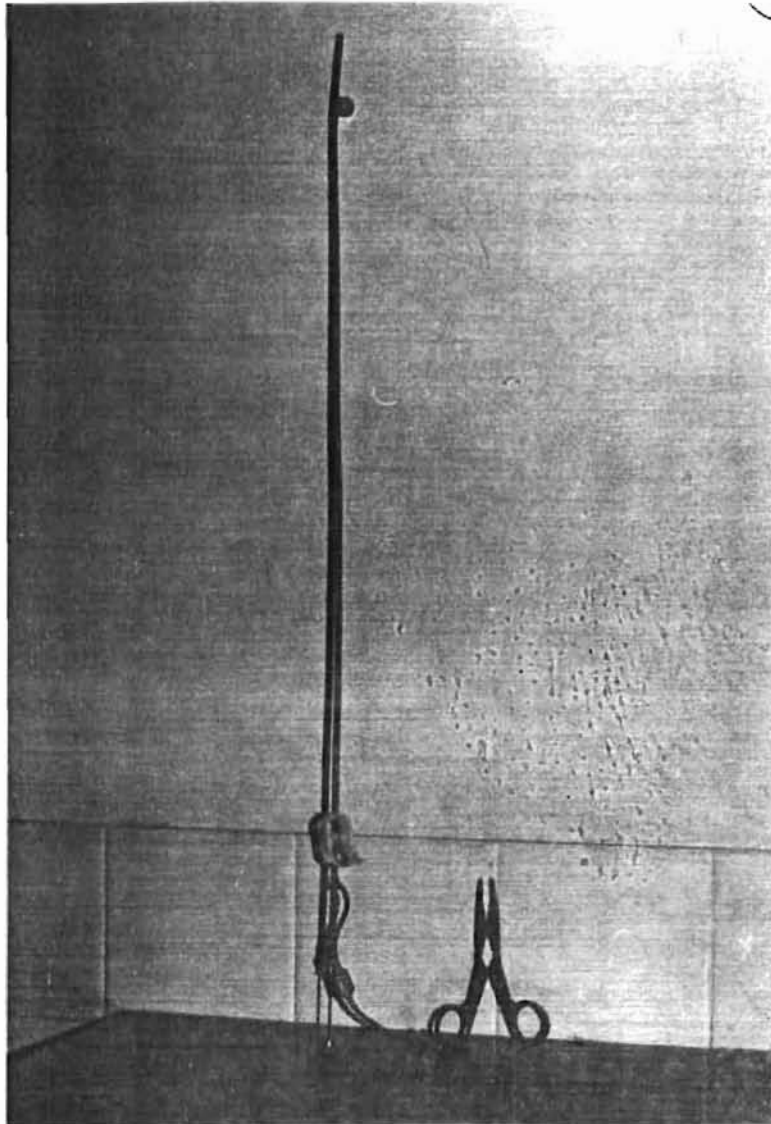


PLANCHE 2: Sonde de récolte des embryons (type FOLEY).

- Ballonnet gonflé avec de l'air
- Un mandrin en acier soutient le tube
- A coté, la pince qui empêche le reflux du liquide.



Les opérations se succèdent ainsi :

- introduction de la sonde dans une des cornes utérines. La sonde est rendue rigide par un mandrin en acier inoxydable glissé dans le canal central. L'extrémité de la sonde doit être placée assez profondément, pour que le ballonnet qui en assure la fixation, ainsi que l'étanchéité de la corne soit à la hauteur du ligament intercornual ;
- gonflage du ballonnet avec une solution saline contenue dans une seringue ; une main dans le rectum apprécie la tension et lorsque celle-ci est jugée suffisante la pose d'une pince évite le reflux de l'eau ;
- retrait du mandrin et injection de PBS + 20 p. 100 de sérum de veau foetal, cette solution étant au préalable gardée au bain-marie (30-35 °C);
- lavage des cornes par fraction de 25 ml.

Chaque corne utérine subit ainsi 8 à 10 rinçages et au fur et à mesure le liquide de récolte est stocké dans une éprouvette de 500 ml.

## II.4.2. Manipulation des embryons

### II.4.2.1. Recherche et évaluation des embryons

Signalons d'abord que tous les instruments utilisés sont stériles et les manipulations se font à la température de la pièce (20 °C).

### . Recherche

Le milieu de récolte est d'abord filtré en millipores (0,74 µm de diamètre) et le décantat supposé contenir les embryons est placé dans deux ou trois boîtes de Pétri (20 ml par boîte) dont le fond a été quadrillé avec une aiguille (1 cm<sup>2</sup> par carré). Ceci facilite le repérage et le décompte des embryons. La recherche des embryons se fait à la loupe binoculaire à un grossissement de 10 ou 12. Lorsqu'un embryon est repéré, il est aspiré à l'aide d'un embout de pipette et placé dans une boîte de Pétri plus petite contenant du PBS supplémenté de 20 p. 100 de sérum de veau inactivé, plus 100 UI de Pénicilline et 100 µg de Streptomycine par ml.

### . Evaluation

La recherche terminée, l'évaluation se fait de plus forts grossissements (jusqu'à 80). La planche 3 représente des photographies d'embryons à différents stades d'évolution. Le stade 8 cellules, morula, jeune blastocyste) ainsi que la qualité sont notés sur une "fiche d'évaluation" (annexe 3). Ceci permet de les classer selon les critères définis par ELSDEN (53). Seuls les embryons de type 1 ou 2 sont retenus soit pour la congélation soit pour le transfert immédiat.

#### II.4.2.2. Mise en paillette et congélation

Tous les embryons jugés transférables sont mis en paillette comme l'indique la figure 4 ; ensuite ceux ne devant pas faire l'objet d'un transfert immédiat, ont été congelés en vue de leur conservation.

Pour la congélation, nous avons utilisé un congélateur BIOCOOL (planche 4).

#### Technique de congélation

1. L'embryon est placé dans une solution à 10 p. 100 de glycérol pour 10 à 15 minutes ;
2. Les paillettes sont placées dans le congélateur pré-refroidi à -7°C et on attend 5 minutes ;

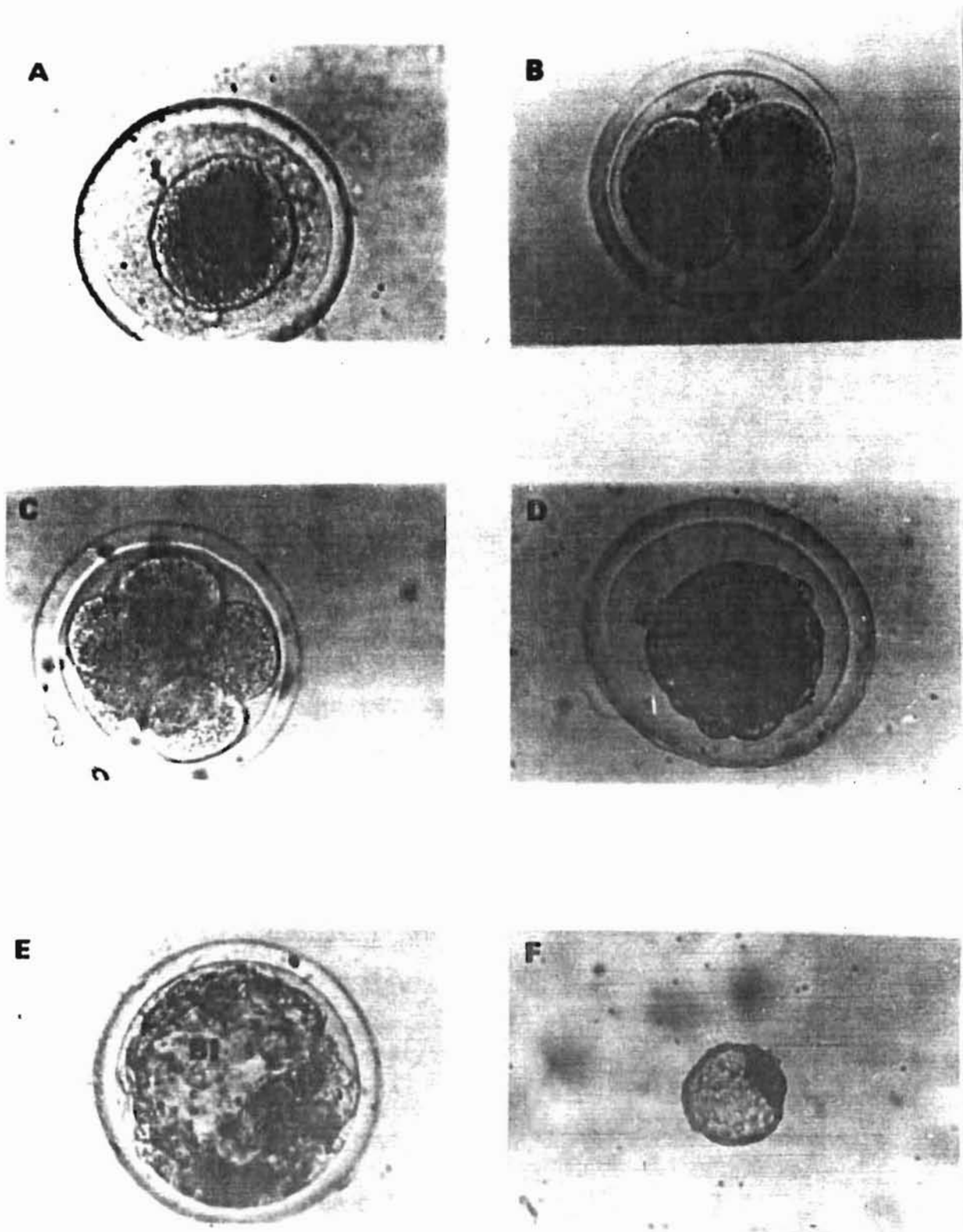


PLANCHE 3 : ILLUSTRATION DU DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE  
AVEC DIFFERENTS EMBRYONS RECOLTES AU JOUR 7

A- Ovule non fécondé                      C- Embryon de 8 cellules                      E- Blastocyste  
B- Embryon de 2 cellules                      D- Morula    F- Blastocyste éclot

El = Blastocoele

BE = Bouton embryonnaire

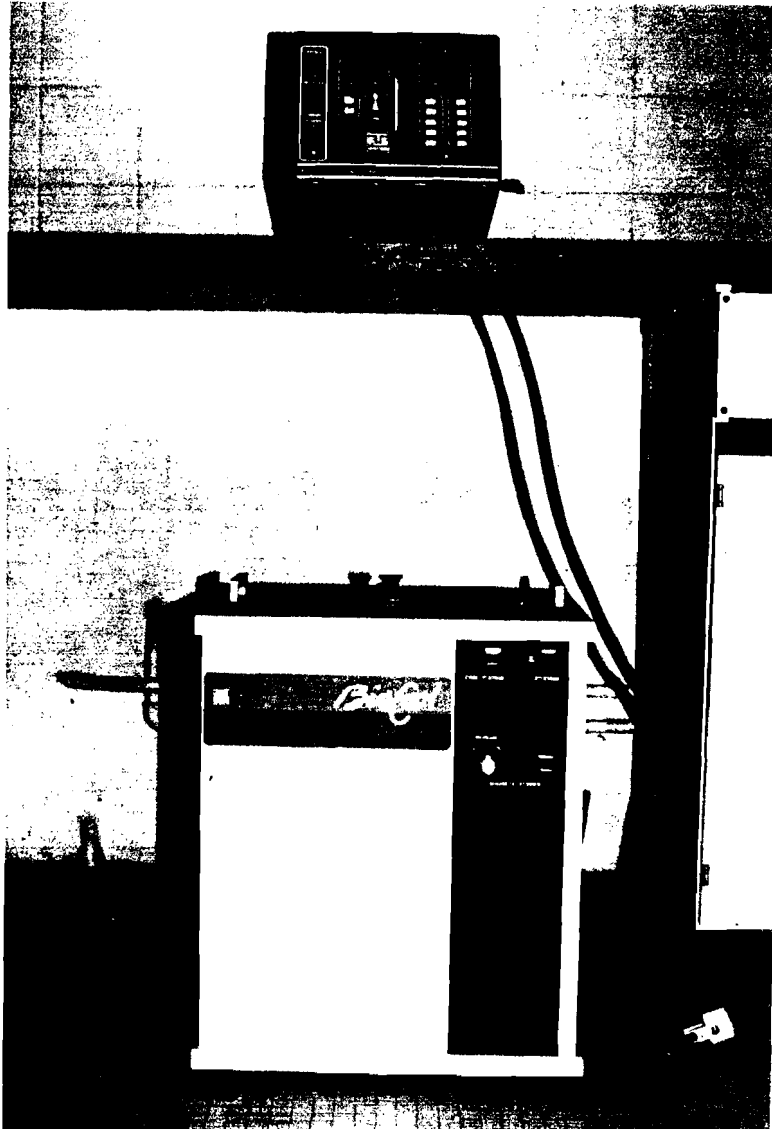


PLANCHE 4 ; Congélateur " BIOCOOL " utilisé pour la congélation des embryons.

3. Après, la cristallisation est induite en touchant les paillettes avec une tige refroidie à l'azote liquide et on attend encore 5 minutes ;

4. Puis la congélation se fait à un rythme de 0,3°C par minute à 0,5°C par minute, jusqu'à -33°C ;

5. Après quoi, les paillettes sont plongées dans l'azote liquide pour la conservation définitive.

## II.5 TRANSFERT DES EMBRYONS

Deux types d'embryons ont été transférés dans le cadre de cette expérience : des embryons frais Montbeliarde-Gobra chez cinq femelles Gobra et une femelle Ndama , et des embryons congelés importés (Holstein) chez trois femelles Montbeliarde.

Seules les femelles receveuses présentant au moins un gros corps jaune ont été retenues.

Ainsi 9 femelles au total ont été jugées aptes au transfert.

Les embryons importés ont dû subir au préalable une décongélation.

### Technique de décongélation

Un passage direct des paillettes dans un bain d'eau a permis la décongélation à proprement dit, suivie de la déglycérolisation dans du sucre.

a) 1,71 grammes de sucre dans 9 cc de PBS + 20 p. 100 de sérum de veau foetal (SVF) a permis d'obtenir une 1re solution à 0,5 mole.

b) 2 cc de glycérol dans une quantité suffisante de PBS + 20 p. 100 de SVF pour obtenir 10 cc, ont donné une deuxième solution à 20 p. 100 de glycérol.

c) Puis les mélanges suivants sont effectués à partir de ces 2 solutions mères :

	<u>Glycérol</u> <u>20 p. 100</u>	<u>Sucrose</u> <u>0,5 M</u>	<u>PBS +</u> <u>20 p. 100 SVF</u>	<u>Solutions finales</u>
1)	1 cc +	1 cc	+ 0	= 2 cc glycérol à 20 p. 100 + Sucrose 0,5 M
2)	0 +	2 cc	+ 0	= 2 cc sucrose 0,5 M
3)	0 +	0	+ 2 cc	= 2 cc PBS + 20 p. 100 SVF

d) Un passage de l'embryon pendant 1 à 2 mn dans chacune des trois solutions obtenues assure la déglycérolisation. L'embryon est ensuite évaluée comme lorsqu'il s'agit d'un embryon frais.

Le transfert a été également cervical.

Les femelles receveuses qui sont au même état physiologique que les donneuses (J7 + 24 heures) ont reçu les embryons. On utilise un pistolet d'insémination artificielle de type CASSOU.

La paillette est montée sur le pistolet.

L'embryon est déposé dans la corne utérine adjacente au corps jaune juste avant la courbure et sans traumatisme.

Rappelons que les receveuses, lors du transfert, ont subi les mêmes préparatifs que les donneuses lors de la récolte.

Notons également que 2 vaches (une Gobra et une Montbeliarde) qui présentaient un corps jaune sur chaque ovaire, ont reçu deux embryons chacune (un dans chaque corne).

## CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

### III.1. RESULTATS

#### III.1.1. Chaleurs de référence

Ce sont les chaleurs observées aussi bien chez les donneuses que chez les receveuses à l'issue du traitement de synchronisation.

##### - Chez les donneuses

###### . Avec les implants de Norgestomet (SYNCHRO-MATE B N.D.)

Toutes les 11 vaches donneuses ayant fait l'objet de ce traitement sont venues en chaleurs 2 jours après le retrait de l'implant ou encore 96 heures après l'administration de prostaglandine (Schéma 2), soit 100 p. 100 de succès.

Les chaleurs ont été observées entre 5 heures et 9 heures du matin soit 40 heures au plus tard après le retrait de l'implant.

###### . Avec les prostaglandines (DINOPROST)

Les chaleurs sont également survenues chez les deux vaches le 2e jour après la seconde injection de prostaglandine. L'oestrus s'est manifesté entre 5 heures et 9 heures du matin.

##### - Chez les receveuses

###### . Sous spirales progestéroniques (PRID N.D.)

Sur 11 vaches traitées, seule la Montbeliarde n'est pas venue en chaleurs. Chez le reste, les chaleurs ont été observées l'après-midi entre 17 heures et 21 heures 30 avec une majorité (5/8) entre 18 heures et 18h 15 mn.

###### . Sous implants

Les 4 femelles Ndama sont toutes venues en chaleurs 2 jours après le retrait de l'implant. Les manifestations de l'oestrus ont été signalées entre 17h et 20h, 2 vaches les ayant montrées à 19h, soit en moyenne 50 heures après le retrait de l'implant.

. Sous Prostaglandine (SYNCHROCEPT B N.D.)

Sur les 6 vaches Montbeliarde traitées, une n'a pas manifesté de signes extérieurs d'oestrus. Chez les autres, les chaleurs sont survenues entre 16h et 18h 30 mn du 2e jour, soit entre 47 et 51 heures après la seconde injection de PG.

Au total, sur les 34 vaches traitées par différents procédés, 32 ont montré des signes extérieurs d'oestrus soit 94,12 p. 100. Ce sont toutes les 13 donneuses et 19 receveuses.

La répartition des chaleurs de synchronisation en fonction, d'une part de la nature du traitement et d'autre part de la race, est exposée aux tableaux XVIa et XVIb.

III.1.2. Superovulation - Fécondation - Récolte

III.1.2.1. Détection des chaleurs

En ce qui concerne les 3 vaches Ndama traitées avec FSH, les chaleurs sont survenues le jour même de la dernière injection de FSH, soit 36 heures après la 1re injection de Prostaglandine. Ces chaleurs ont été observées entre 20h 40 mn et 20h 45 mn.

Quant à celle traitée à la PMSG, elle est venue en chaleurs 40 heures après la 1re administration de Prostaglandine.

Pour les 4 vaches Gobra ayant reçu la FSH, les chaleurs se sont manifestées 24 heures après la dernière injection de FSH soit 64 heures après la première injection de Prostaglandine. Ces chaleurs ont été observées entre 00h 15mn et 1h 45 mn.

Sur les 5 vaches Gobra traitées à la PMSG, 4 sont venues en chaleurs 40 heures après la première administration de Prostaglandine.



TABLEAU XVI : REPOSES AUX TRAITEMENTS DE SYNCHRONISATION

a) .... en fonction de la race

RACE	NOMBRE DE VACHES TRAITEES	NOMBRE DE VACHES AYANT PRESENTE DES CHALEURS
Gobra	18	18 (100 p. 100)
Ndama	9	9 (100 p. 100)
Montbeliarde	7	5 (71,43 p. 100)
TOTAL	34	32 (94,12 p. 100)

b) .... en fonction du traitement

TRAITEMENT	NOMBRE DE VACHES TRAITEES	NOMBRE DE VACHES AYANT PRESENTE DES CHALEURS
Implants	15	15 (100 p. 100)
P.G.	8	7 (87,50 p. 100)
Spirales	11	10 (90,91 p. 100)
TOTAL	34	32 (94,12 p. 100)

Ainsi, sur 13 vaches donneuses traitées, 12 ont manifesté l'oestrus (92,3 p. 100) :

- 8 Gobra sur 9 (89 p. 100) et toutes les Ndama (4/4 = 100 p. 100) sont concernées ;
- et la FSH a donné 100 p. 100 (7/7) de chaleurs contre 83,3 p. 100 (5/6) pour la PMSG (Tableaux XVIIa et XVIIb).

Comparativement aux receveuses, les donneuses ont manifesté les chaleurs 3 à 7 heures plus tôt.

Comparativement aux receveuses, les donneuses ont manifesté les chaleurs 3 à 7 heures plus tôt.

### III.1.2.2. Saillies

#### . Ndama

Trois vaches ont été saillies par le taureau à 22h, 23h et 3h. La quatrième n'a pas été saillie.

#### . Gobra

Elles ont été inséminées 12 heures et 24 heures après le début des chaleurs.

Finalement, c'est 11 vaches (3 Ndama et 8 Gobra) qui ont été saillies.

### III.1.2.3. Récolte

#### - Réponse ovarienne

Les résultats de la palpation transrectale des ovaires figurent au tableau XVIII.

Au total 18 follicules (13 aux ovaires droits et 5 aux ovaires gauches) ont été décelés et 63 corps jaunes dont 33 à droite et 30 à gauche.

TABEAU XVII : CHALEURS DE SUPEROVULATION

a) en fonction de la race

RACE	NOMBRE DE VACHES TRAITEES	NOMBRE DE VACHES AYANT PRESENTE DES CHALEURS
GOBRA	9	8 (89 p. 100)
NDAMA	4	4 (100 p. 100)
TOTAL	13	12 (92,3 p. 100)

b) en fonction du traitement

TRAITEMENT	NOMBRE DE VACHES TRAITEES	NOMBRE DE VACHES AYANT PRESENTE DES CHALEURS
FSH	7	7 (100 p. 100)
PMSG	6	5 (83,3 p. 100)
TOTAL	13	12 (92 p. 100)

TABLEAU XVIII : RECOLTE DES DONNEUSES

OV.D = Ovaire droit  
 OV.G = Ovaire gauche  
 F = Follicule  
 C.J.= Corps jaune

\* = Il ne s'agit pas en fait d'embry  
 dégénérés mais de morula de mau  
 qualité non transférables

VACHES		REPOSE OVARIENNE					RECOLTE - EXAMEN			TRANSFERT	CONSERVA- TION	OBSERVATIONS
Race	N°	OV. D	OV.G	C.J.		NOMBRE D'EMBRYONS						
		F.	C.J.	F	C.J.	(TOTAL)	Récolté	Transférable	Dégénéré	Transféré	Congelé	
GOBRA	21	0	2	0	1	3	-	-	-	-	-	non récolté: nombre de corps jaunes insuffisan
	23	2	3	0	5	8	3	3	0	2	1	-
	25	1	6	1	1	7	7	3	4	3	0	-
	27	1	6	0	5	11	12	8	4	2	6	1 C.J. non déte té à la palpati
	24	3	3	0	5	8	-	-	-	-	-	non récolté (pneumorectum)
	26	0	4	0	5	9	2	morula B et C	2*	0	-	-
	28	2	2	0	3	5	0	0	0	0	0	1 embryon non récupéré
	29	0	5	0	4	9	1	morula C	1*	-	-	non récolté : pneumorectum
NDAMA	1	4	0	4	0	0	-	-	-	-	-	non récolté corps jaunes in fisants ou
	2	0	1	0	0	1	-	-	-	-	-	inexistants
	12	0	1	0	1	2	-	-	-	-	-	
<b>TOTAL</b>	<b>=</b>	<b>13</b>	<b>33</b>	<b>5</b>	<b>30</b>	<b>63</b>	<b>25</b>	<b>14</b>	<b>11</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	

Les variations des réponses ovariennes (nombre de corps jaunes estimés) en fonction du traitement et de la race sont montrées par le tableau XIX. Ainsi avec la FSH une moyenne de 1,5 corps jaunes par vache a été obtenue chez la Ndama, chiffre qui passe à 7,25 chez la Gobra. Chez cette dernière race, la PMSG a donné 7,75 C.J. Toute race et traitement confondus, une moyenne de 5,73 C.J. par vache a été trouvée.

- Collecte des embryons

La récolte qui ne s'est finalement réalisée que chez 6 Gobra a donné au total 25 embryons dont 14 ont été estimés transférables, les 11 autres ayant été jugés dégénérés (Tableau XVIII).

Ces 25 embryons sont répartis en fonction du traitement de superovulation au tableau XX. On peut donc retenir qu'en moyenne, chaque femelle Gobra a donné 4,6 embryons transférables lorsqu'elle a été superovulée avec FSH et aucun lorsqu'il s'agissait de la PMSG ; les 3 embryons récoltés dans ce lot étant des morula de mauvaise qualité et par conséquent non transférables.

III.1.3. Transferts et gestations chez les receveuses

- Réponse ovarienne au traitement de synchronisation

Sur les 19 receveuses ayant montré un oestrus à la suite du traitement de synchronisation, seules 9 (3 Montbeliarde, 1 Ndama, 5 Gobra) ont présenté un gros corps jaune à la palpation transrectale le jour du transfert (tableau XXI) ; elles ont été par conséquent jugées aptes à recevoir un embryon (tableaux XXIIa et XXIIb). Parmi elles, 2 avaient 2 C.J. (1 sur chaque ovaire), les 7 autres l'ayant en majorité (5/7) sur l'ovaire droit (tableau XXI):

- Transfert et gestation (tableau XXIII)

Les résultats du transfert se présentent comme suit :

- 5 vaches Gobra ont reçu 6 embryons croisés Montbeliarde-Gobra (une vache ayant reçu 2 embryons),
- une vache Ndama un embryon croisé Montbeliarde-Gobra,

TABLEAU XIX : REPOSE A LA SUPEROVULATION

TRAITEMENT	VACHES		NOMBRE C. J.	
	Race	Nombre	Total	Moyenne/Vache
FSH 28 mg 32 mg	Ndama	2	3	1,5
	Gobra	4	29	7,25
PMSG 2000 UI	Ndama	1	0	0
	Gobra	4	31	7,75
TOTAL		11	63	5,73

TABLEAU XX : REPARTITION DES EMBRYONS COLLECTES EN FONCTION DU TRAITEMENT  
CHEZ LES DONNEUSES GOBRA

TRAITEMENT	NOMBRE DE VACHES	NOMBRE D'EMBRYONS			
		Récoltés		Transférables	
		Total	Moyenne/Vache	Total	Moyenne/Vache
FSH	3	22	7,3	14	4,6
PMSG	3	3	1	0	0,0

TABLEAU XXI : FOUILLER RECTAL DES RECEVEUSES AVANT LE TRANSFERT

VACHES		OVAIRE DROIT (C.J.)	OVAIRE GAUCHE (C.J.)	APTITUDE AU TRANSFERT
RACE	N°			
Gobra	30	1	0	+
	31	1	1	++
	32	0	0	-
	33	0	1	+
	34	0	0	-
	35	1	0	+
	36	0	0	-
	37	1	0	+
	38	0	0	-
Ndama	3	0	0	-
	4	1	0	+
	5	0	0	-
	6	0	0	-
	7	0	0	-
Montbeliarde	41	0	1	+
	13	1	1	++
	40	0*	0	-
	721	1	0	+
	403	0	0	-

0\* : aucun corps jaune mais présence  
d'un kyste ovarien

TABLEAU XXII: REPONSE OVARIENNE CHEZ LES RECEVEUSES A LA SUITE DES TRAITEMENTS DE SYNCHRONISATION

a) en fonction de la race

RACE	NOMBRE DE VACHES TRAITEES	NOMBRE DE VACHES AYANT PRESENTE DES CHALEURS	VACHES AYANT AU MOINS 1 C.J.	
			Nombre	(p. 100)*
Gobra	9	9	5	55,5
Ndama	5	5	1	20,0
Montbeliarde	7	5	3	60,0
TOTAL	21	19	9	47,7

b) en fonction du traitement

TRAITEMENT	NOMBRE DE VACHES TRAITEES	NOMBRE DE VACHES A CHALEURS	VACHES AYANT PRESENTE AU MOINS 1 C.J.	
			Nombre	(p. 100)*
Implants	4	4	3	75,0
PG	6	5	0	0,0
Spirales	11	10	6	60,0
TOTAL	21	19	9	47,7

(p. 100)\* = par rapport au nombre de vaches en chaleurs



TABLEAU XXIII : TRANSFERT DES EMBRYONS ET GESTATIONS

ORIGINE DES EMBRYONS	NOMBRE D'EMBRYONS (QUALITE)	VACHES RECEVEUSES	CORNE UTERINE DE TRANSFERT	DIAGNOSTIC DE GESTATION A J30		DIAGNOSTIC DE GESTATION A J90 (FOUILLER TRANSRECTAL)
				C.J.	Echographie	
Gb.23	1 (4-1)	Gb. 35	D	-	-	-
	1 (5-1)	Nd. 4	D	+	+	-
Gb.25	1 (4-1)	Gb.37	D	+	-	-
	2 (4-1)	Gb.31	D - G	+	+	-
Gb.27	1 (4-1)	Gb.30	D	+	+	+
	1 (4-1)	Gb.33	G	+	+	+
Holstein (congelés)	1 (5-1)	Mb.41	G	-	-	-
	1 (5-1)	Mb.13	D - G	-	-	-
	1 (5-1)	Mb.721	D	-	+	-

D = corne droite

G = corne gauche

- et 3 vaches Montbeliarde ont reçu 4 embryons Holstein dont 2 placés chez une même vache.

Le diagnostic précoce de gestation (J30) à l'échographie a révélé 3 femelles Gobra, une Montbeliarde et la femelle Ndama gestante (tableau XXIII). Une Gobra (Gb 37) a été seulement suspectée gestante.

Les deux Montbeliarde non gestantes sont venues en chaleurs avant la date de ce premier diagnostic.

Lors d'un diagnostic plus tardif (J90) seules deux vaches Gobra portaient (Gb 30 et 33).

Chez les donneuses qui faisaient alors l'objet d'un contrôle, deux étaient gestantes à J30 dont une gestation gemellaire ; cette gestation a été confirmée à 3 mois et le fouiller rectal a révélé la présence de 4 veaux.

Ces trois gestations ont évolué jusqu'à terme. Ainsi la donneuse après 259 jours de gestation a donné naissance à 4 veaux (3 mâles et une femelle) dont le poids moyen était de 12 kg. Un des veaux est mort dans la première semaine. Quant aux deux receveuses, leurs parts sont survenus après 283 et 293 jours de gestation. Les veaux (tous des mâles) ayant un poids moyen à la naissance de 25 kg. Malheureusement l'un d'eux est mort à la suite d'erreurs de manipulation.

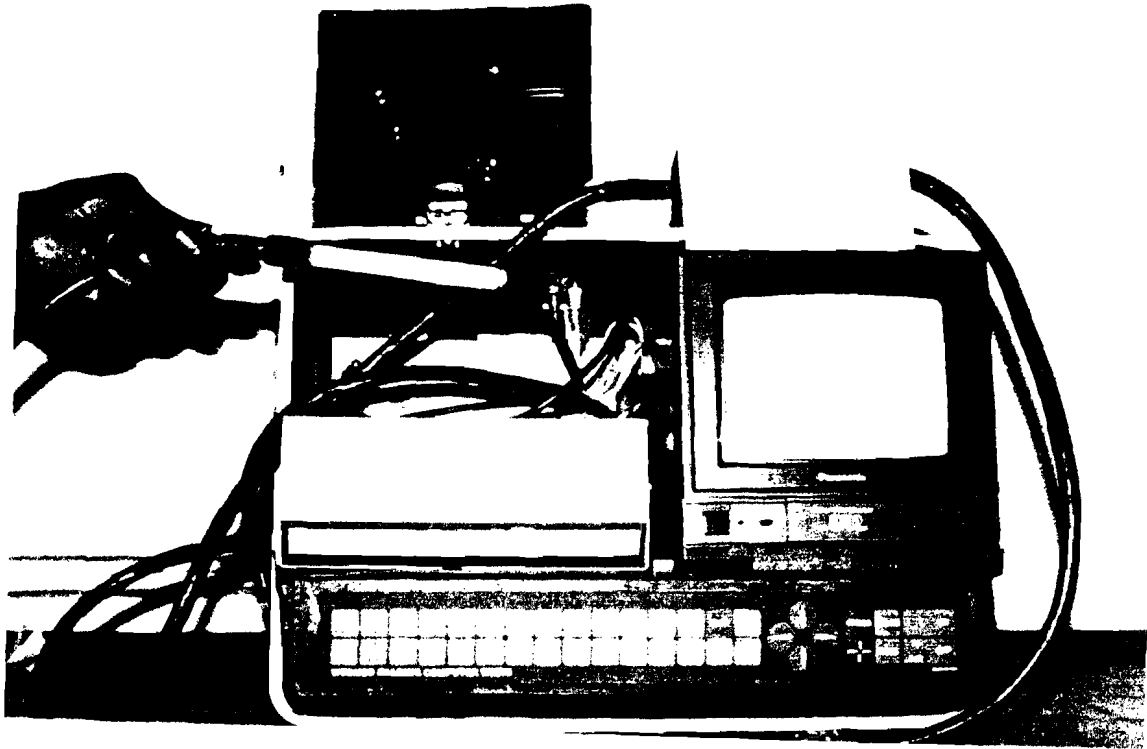
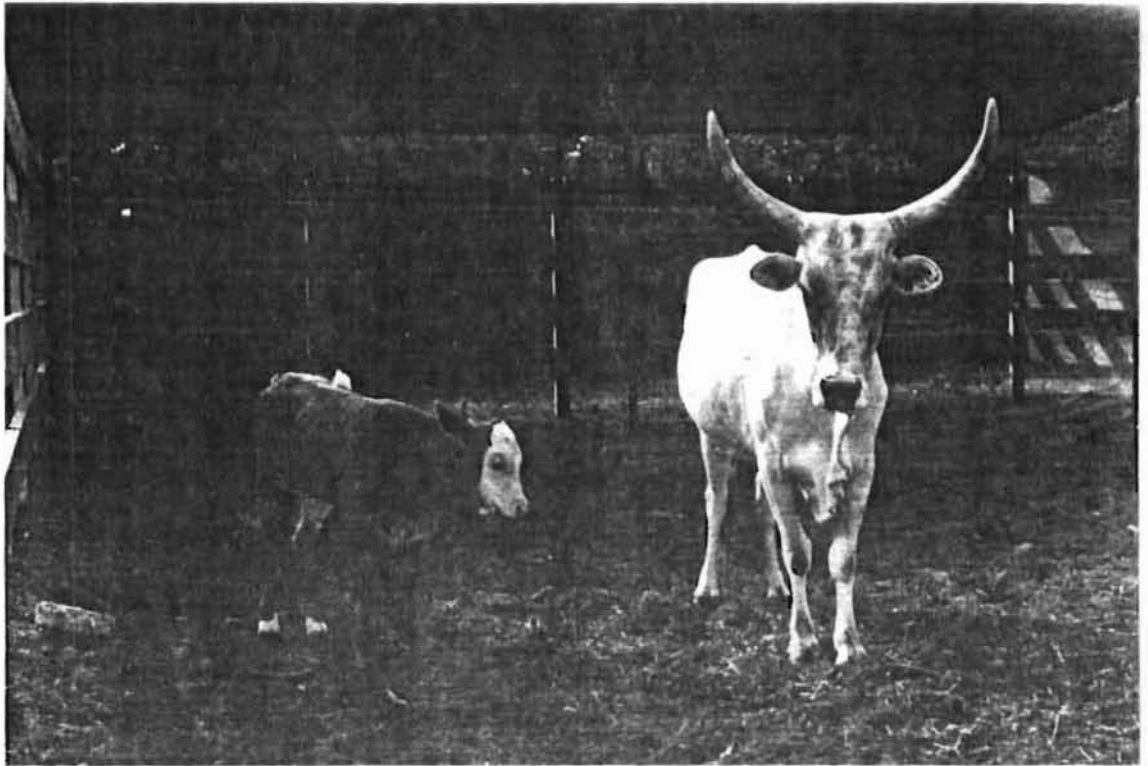


PLANCHE 5 : Echographe utilisé pour le diagnostic  
précoce de gestation.



PREMIER VEAU SENEGALAIS NE DE TANSFERT EMBRYONNAIRE  
ET SA MERE  
( CROISE MONTBELIARDE X GOBRA )

" Les difficultéz et l'obscurité ne s'aperçoivent en chacune science que par ceux qui ont entrée... Car encore faut-il pousser à une porte pour sçavoir qu'elle nous est close ."

( MONTAIGNE, Essais, III, 13 )

## III.2. DISCUSSION DES RESULTATS

### III.2.1. Manipulation des animaux

Compte tenu du caractère peu docile des races tropicales que sont le Zébu Gobra et les taurins Ndama, les opérations du transfert d'embryons nécessitent du personnel pour la contention. Ce handicap semble s'estomper lorsque les manipulations deviennent plus fréquentes.

Les dispositions anatomiques des organes génitaux chez les deux races tropicales se prêtent bien aux différentes opérations de fouille rectale comme chez les vaches en pays tempérés. Seulement la taille réduite des ovaires (2) rend leur palpation moins évidente surtout en période d'anoestrus, anoestrus fréquent chez les vaches durant la plus grande partie de la saison sèche (2, 134, 145). Néanmoins cette difficulté disparaît lorsque les différents traitements hormonaux sont entamés.

### III.2.2. Synchronisation et chaleurs de référence

Sur le plan quantitatif, les bonnes réponses aux traitements de synchronisation (32 vaches sur les 34 traitées ont présenté des chaleurs) correspondent aux résultats trouvés chez le zébu au Sénégal (30, 78, 102) et chez le zébu et le taurin au Nigéria (1). Nous avons observé de meilleurs résultats chez les Gobra et Ndama (100 p. 100 de vaches en chaleurs) que chez la Montbeliarde (71,43 p. 100). Ceci est probablement dû au fait que les races locales rustiques sont mieux adaptées à leur berceau d'origine que les races importées notamment en ce qui concerne l'alimentation et le climat.

Qualitativement, on note un synchronisme parfait des cycles sexuels des donneuses et des receveuses : les receveuses sont venues en chaleurs 3 à 7 heures après les donneuses alors qu'un écart de 12 à 24 heures est tolérable sans qu'il n'y ait diminution du taux de succès (168). En plus, il faut noter le bon regroupement des chaleurs sur 3 à 4 heures.

L'oestrus est survenu en moyenne 45 heures après l'arrêt du traitement, ce qui correspond aux normes déjà signalées (24, 124, 146). La

durée du traitement écourtée avec les spirales (10 jours au lieu de 12) n'a entraîné aucun effet sur le déclenchement des chaleurs.

En ce qui concerne la nature du traitement, les implants progestagènes semblent donner de meilleurs résultats (100 p. 100 des vaches en chaleurs contre 90,91 p. 100 avec les spirales et 87,50 p. 100 avec la PG).

### III.2.3. Superovulation et récolte des donneuses

Nous constatons une absence de réponse ovarienne aux traitements de superovulation chez la Ndama. Ces résultats désastreux correspondent à ceux des travaux de BIANCHI et Coll. (9) réalisés chez la vache Baoulé au Burkina, une autre race trypanotolérante. Les résultats de JORDT et Coll. (77) en Gambie chez la Ndama également ne sont pas meilleurs : sur 10 vaches traitées seules deux ont réagi positivement au traitement. Plusieurs explications peuvent être envisagées :

- les doses de FSH et PMSG,
- l'état d'embonpoint observé chez les Ndama au moment de l'expérience,
- la qualité de la semence du taureau.

Pour la première hypothèse et compte tenu des échecs devenus répétitifs chez les taurins d'Afrique tropicale, il serait peut-être nécessaire d'utiliser des doses plus élevées de FSH ou de PMSG.

La deuxième hypothèse trouve son explication dans le fait qu'un excès d'embonpoint peut perturber l'ovulation dans une certaine mesure. L'établissement des profils hormonaux des vaches à traiter afin de faire la relation entre la cinétique des hormones et la qualité des embryons devrait pouvoir lever l'équivoque.

La troisième explication possible de cet échec serait l'utilisation d'un taureau de mauvaise fertilité. En effet, aucun contrôle n'a été effectué sur la semence du taureau utilisé pour la fécondation. Bien qu'en monte naturelle, il est donné de bons résultats, nous trouvons

que ce contrôle aurait été plus judicieux. De nombreux auteurs (9, 21, 104, 108) ont en effet démontré l'influence de la qualité de la semence du taureau tant sur la proportion d'embryons récoltés que sur leur qualité.

Afin d'éliminer l'éventualité d'une déficience raciale peu probable, les prochains essais devront tenir compte des trois facteurs que nous avons signalés.

La femelle zébu Gobra, elle, semble être mieux apte à la production d'embryons, notamment lorsqu'on utilise la FSH (à la dose de 32 mg) comme hormone polyovulatoire, avec une moyenne de 7,3 embryons récoltés dont 4,6 d'excellente qualité. Bien que ces chiffres soient légèrement inférieurs aux moyennes généralement admises (respectivement 9 et 5,5) (26), ils restent acceptables car il ne faut pas perdre de vue que c'est la première fois qu'un tel essai est réalisé chez cette race.

Nous avons pu constater, en accord avec la littérature (24, 26, 105), une supériorité de la FSH sur la PMSG dans le traitement de superovulation. Cela est dû au fait que non seulement la PMSG induit un taux d'ovulation moindre (105), mais elle entraîne également, à cause de sa demi-vie très longue, l'apparition tardive de nombreux follicules (24) susceptibles, par leur présence, leur sécrétion ou leur rupture, de rendre le milieu utérin inadéquat aux tous premiers stades de développement des embryons. C'est ainsi que les 3 embryons que nous avons collectés dans ce lot dans le cadre de cette étude étaient non seulement de mauvaise qualité, mais tous au stade morula. Mais compte tenu de la facilité d'emploi (une seule injection suffit), on pourrait envisager d'y associer l'anti-PMSG (injecté au moment des chaleurs) comme le préconisent certains auteurs (160).

#### III.2.4. Transferts et gestations

Aucun problème particulier n'a été rencontré quant à la mise en place des embryons dans le tractus génital.

L'échec de l'opération chez la Ndama, l'intervention possible de facteurs aussi nombreux que complexes (race, nombre faible d'animaux, endocrinologie sexuelle...) rendent difficilement interprétables les résultats dans l'état actuel des connaissances. Des études plus poussées devraient arriver à élucider la question.

Chez la femelle Gobra, les résultats semblent acceptables tout au moins pour un début : 2 naissances pour 5 transferts. Il ne faut en effet pas oublier que dans les pays où l'on enregistre les taux de succès les plus importants actuellement (plus de 55 p. 100) (22, 168), les débuts ont été modestes : 20 p. 100 de succès (17, 72, 109, 136, 151).

De nombreux problèmes sont à prendre en considération si l'on veut obtenir à l'avenir de meilleurs résultats

. Ainsi l'âge des receveuses (4 à 8 ans) pourrait avoir eu une certaine influence. En effet une chute de 10 à 15 p. 100 du taux de réussite des transferts a été observée par NIBART (110) lorsque les receveuses étaient des vaches. Il faudrait donc autant que possible utiliser des génisses.

. Mais le problème le plus important à considérer doit être la mortalité embryonnaire. HEYMAN (71) estime à près de 30 p. 100 les pertes embryonnaires après transfert embryonnaire. MARKETTE et Coll. (98) ont établi que l'essentiel du "gaspillage" d'embryons se situait entre le transfert et 24 jours après l'ovulation, mais qu'il y avait ensuite une somme d'éléments non négligeable qui concourraient à perdre le bénéfice de plus de 15 p. 100 des gestations ayant commencé (Tableau XXIV).



TABLEAU XXIV : RESUME (EN POURCENTAGE CUMULE) DES PERTES EN PRODUITS DE  
CONCEPTION APRES TRANSFERT EMBRYONNAIRE (\*)  
(Adapté de MARKETTE, SEIDEL Jr. et ELSDEN, 1985)

STADE (MOIS) APRES OVULATION	P. 100 DES PERTES DE PRODUITS DE CONCEPTION
0,5 (15 jours)	4,1
0,8 (24 jours)	26,4
2	32,7
3	34,8
9 (Vêlage)	36,5

(\*) estimé sur un millier de transfert d'embryons frais  
"non manipulés"

Source : (98)

Plusieurs facteurs interviennent dans cette mortalité embryonnaire. Ils sont tout aussi liés à la mère qu'à l'embryon.

. Facteurs liés à l'embryon

L'instauration de la reconnaissance maternelle de l'embryon est sous la dépendance d'une protéine trophoplastique antilutéolytique, la trophoblastine ou OTP<sub>1</sub> (protéine trophoblastique ovine 1) (100) dont la présence est surtout nécessaire pour une courte période critique (J16 à J24 chez les bovins). Quelques cas de mortalité embryonnaire pourraient être le résultat d'une sécrétion insuffisante de ce signal embryonnaire.

D'autres facteurs intrinsèques peuvent intervenir dans les pertes de produits de gestation (161). Ainsi la qualité génétique y joue un rôle : anomalies chromosomiques, mutation d'un seul gène voire les mutations engendrées par l'environnement défavorable.

. Facteurs maternels

Les facteurs maternels sont essentiellement liés au degré de synchronisme entre l'état de la muqueuse utérine et le stade développement de l'embryon. Dans le cas de notre étude, nous pensons avoir eu très peu à faire à de tels cas.

Après cette étude du transfert d'embryons et ayant relevé les problèmes qui s'y associent, il convient d'envisager l'avenir de cette biotechnologie en Afrique, compte tenu du caractère particulier de l'élevage africain.

### III.3. APPLICABILITE DU TRANSFERT EMBRYONNAIRE BOVIN EN AFRIQUE ET SUGGESTIONS

En Afrique, plusieurs facteurs conjuguent leurs effets pour limiter les productions animales d'une manière générale et plus particulièrement les productions bovines.

### III.3.1. Caractéristiques et problèmes de l'élevage bovin en Afrique

. Si l'on exclut les régions à haute altitude, un des problèmes majeurs qui se posent à l'élevage est le manque de disponible alimentaire tant du point de vue quantitatif que qualitatif, notamment dans les régions arides et semi-arides. Or de nombreuses expériences, en particulier celles de DENIS et Coll. (39, 40, 41) au Sénégal, ont montré que l'on pouvait améliorer significativement la production par la seule intervention sur l'alimentation. De même, il a été démontré l'effet bénéfique d'une alimentation équilibrée sur les paramètres de reproduction. Ainsi par exemple chez la vache zébu Gobra, l'âge au premier vêlage passe de 48-60 mois à 39 mois et l'intervalle entre vêlages de 18-22 mois à 15 Mois (46).

. A ce problème alimentaire, s'ajoute celui du potentiel génétique faible des races exploitées dont le poids moyen se situe autour de 350 kg et la production laitière moyenne par jour est de 2 à 3 litres pour le Zébu Gobra.

Pour corriger ces déficits, la tendance est à la réalisation de croisements. Ceci amène soit à des problèmes d'adaptation des produits de croisement (157) soit que le croisement ne donne pas les résultats escomptés. C'est le cas pour le croisement Gobra-Zébu pakistanais au Sénégal (119) et où il s'est révélé que la race locale (Gobra) était aussi performante que celle importée.

. D'autres facteurs limitant le développement de l'élevage bovin sont les facteurs infectieux et parasitaires dont les trypanosomoses animales. Ces derniers constituent sans aucun doute le fléau le plus important qui sévit dans les zones où le disponible fourrager est important. Son éradication permettrait de multiplier par sept la production de viande (46). Le problème est d'autant plus crucial que l'on assiste de plus en plus à un métissage naturel des taurins trypanotolérants avec les zébus (qui descendent vers le sud à la recherche de fourrage) et dont les produits sont trypanosensibles (22).

La non maîtrise des mouvements du bétail (transhumance, échanges commerciaux) rend difficile la lutte contre ces maladies mais aussi elle contribue à leur diffusion.

. Le mode d'exploitation : l'élevage est dans son ensemble de type extensif doublé de la transhumance dans les zones arides et semi-arides. Les animaux parcourent ainsi de longues distances à la recherche de pâturage et d'eau ; ce qui a pour conséquence des pertes de poids assez importantes.

Parmi les facteurs limitants l'épanouissement de l'élevage, figure le facteur humain. Traditionnellement, l'élevage en Afrique est de type sentimental, favorisant ainsi la thésaurisation et complètement incompatible avec les objectifs de développement. C'est ainsi que le taux d'exploitation se situe autour de 10 p. 100 (46).

Il ressort à travers l'étude de ces facteurs limitants, la nécessité de rationaliser l'élevage en vue d'améliorer les productions. Parmi les actions à mener le transfert embryonnaire peut jouer un rôle non négligeable.

### III.3.2. Rôles du transfert d'embryons dans le contexte de l'élevage africain

Face à ces contraintes dont nous venons de voir le rôle limitant pour l'amélioration des productions, le transfert d'embryons peut être exploité essentiellement à trois niveaux :

- le commerce international,
- l'amélioration génétique,
- la préservation de caractères intéressants.

#### . LE COMMERCE INTERNATIONAL

En Afrique, il se pose à deux niveaux : un commerce sud-sud et un commerce nord-sud ; le premier niveau visant un transfert de bétail présentant des caractères intéressants dans leur berceau d'origine vers des zones aptes à les accueillir et le second l'importation

en vue de croisements d'amélioration.

Dans tous les cas, le transfert d'embryons est susceptible de transformer les échanges pour au moins trois raisons :

- le transport d'embryons congelés est facile et d'un coût négligeable par rapport à l'importation des animaux sur pieds ;
- le transfert d'embryons est le mode d'échange le plus sûr au plan sanitaire et dans ce cas, on exige l'intégralité de la zone pellucide de l'embryon ;
- le veau ainsi produit est supposé être mieux adapté à l'environnement par l'apport d'anticorps maternels pendant la gestation et la lactation.

En plus le patrimoine génétique du pays exportateur est conservé sur place.

#### . L'AMELIORATION GENETIQUE

Les techniques de prélèvement et de transplantation des embryons permettent d'exploiter au maximum le potentiel génétique des meilleures femelles par l'implantation de leurs embryons chez des femelles de moindre valeur. En effet, l'amélioration de la prolificité (3 à 4 descendants par vache et par an) est certainement le fait le plus spectaculaire de cette technique.

Le transfert embryonnaire pourrait permettre également de faire produire précocément des embryons à une femelle. On peut ainsi raccourcir les intervalles entre générations et par conséquent accélérer le progrès génétique par voie mâle (par l'I.A.) et par voie femelle (par le transfert des embryons).

. LA PRESERVATION DE CARACTERES INTERESSANTS

Les conséquences du transfert d'embryons pour l'amélioration génétique dépendent de la rareté, de l'originalité, du patrimoine héréditaire de ceux-ci :

- soit qu'il s'agisse d'espèce, de races exceptionnelles devenant de plus en plus rares,
- soit qu'il s'agisse de variantes extrêmes dans une race donnée.

Les deux cas s'appliquent parfaitement au phénomène de trypanotolérance. En effet, compte-tenu du métissage, avec les zébus trypanosensibles, des taurins trypanotolérants, on risque d'assister de plus en plus à une raréfaction de ce caractère. Ainsi grâce à l'appoint des techniques de congélation, on peut conserver pratiquement indéfiniment des embryons de bovins trypanotolérants en vue d'utilisation, ou d'étude de ce caractère qui du reste, est assez mal expliqué.

De plus, le transfert embryonnaire peut être un moyen privilégié de diffusion de ce caractère particulier.

Devant ces nombreuses possibilités d'amélioration de l'élevage, il convient d'accorder une certaine place à la biotechnologie du transfert d'embryons en Afrique.

III.3.3. Suggestions

L'utilisation de toute nouvelle technologie passe par sa maîtrise parfaite. La maîtrise de la biotechnologie du transfert d'embryons en Afrique nécessite des interventions que nous situons à 3 niveaux.

. Au niveau de l'élevage

Le mode d'élevage extensif nous semble incompatible avec le transfert embryonnaire et ceci pour plusieurs raisons :

- la rigueur du traitement des vaches nécessite un élevage "à vue" ;

- l'abreuvement et l'alimentation non régulièrement assurés peuvent compromettre les chances de succès de cette technique ; par conséquent seul un élevage intensif peut s'y prêter. Et ceci d'autant plus qu'il vise toujours un objectif précis (production bouchère ou laitière). Ce qui n'est pas toujours le cas en élevage traditionnel.

De plus, en élevage intensif, les facteurs nutritionnels et pathologiques sont mieux maîtrisés , ce qui assure une meilleure cyclicité des vaches.

Il s'agira donc dans un premier temps de créer un noyau de femelles d'élite selon des caractères recherchés : aptitudes (bouchère ou laitière), facilité d'adaptation et rusticité, trypanotolérance,... Et dans un deuxième temps de procéder à la multiplication de ces caractères. Les croisements peuvent y trouver leur compte.

#### . Au niveau de l'animal

Il s'agit essentiellement de procéder à une étude approfondie de la physiologie reproductive de nos animaux notamment en dressant leurs profils endocriniens. En effet, peu d'investigations ont été faites dans ce domaine et un transfert embryonnaire d'avenir ne saurait s'en passer.

#### . Au niveau de la recherche et de la formation

. Il convient d'introduire l'enseignement des principes de la biotechnologie du transfert d'embryons dans les programmes des formations vétérinaires comme c'est le cas actuellement de l'insémination artificielle ; et ceci d'autant plus qu'il entre dans le cadre des connaissances scientifiques.

. Dans le domaine de la recherche, le transfert embryonnaire doit occuper une place prépondérante dans la conservation des espèces et des races en voie de disparition. Ceci se fera par la création d'une

banque de gènes telle que le conçoit la F.A.O.

Il faudra par conséquent procéder, de façon prioritaire, à la formation de cadres qualifiés. Après quoi, la création d'un cadre de travail tels que des centres régionaux spécialisés d'une manière générale en reproduction et particulièrement en I.A. et transfert embryonnaire pourrait nous amener à de bons résultats quant à l'exploitation de cette biotechnologie nouvelle qu'est le transfert d'embryons.



## CONCLUSION

Le transfert embryonnaire est une méthode de reproduction artificielle qui consiste à prélever, avant la nidation, le ou les embryons d'une femelle dite donneuse pour les transplanter dans l'utérus de femelle de la même espèce dite receveuse. Appliquée depuis une trentaine d'années chez les bovins, la technique a atteint une dimension commerciale depuis environ vingt ans grâce à ces nombreux avantages, entre autres l'intérêt zootechnique et génétique.

Sur le plan de son principe, une femelle donneuse est choisie selon des critères bien définis. Elle est inséminée après un traitement de superovulation visant à produire le plus possible d'embryons transférables. Quelques jours plus tard (6 à 8 jours) les embryons sont collectés puis transférés dans l'utérus de femelles receveuses se trouvant au même stade physiologique que la donneuse. L'intervention médicale vise donc à réaliser la synchronisation des cycles sexuels des donneuses et receveuses et la superovulation des donneuses. La synchronisation n'est possible que par la maîtrise des cycles sexuels par utilisation des progestagènes et des prostaglandines. Quant à la superovulation, elle est réalisée par des traitements à base de FSH ou de PMSG.

Des expériences que nous avons menées, il ressort que les vaches locales (Gobra, Ndama) se prêtent bien au transfert d'embryons. En effet, elles présentent des caractères zootechniques susceptibles d'intérêts :

- la rusticité qui leur confère une qualité d'adaptation formidable aux conditions les plus rudes ;
- des potentialités de production et de reproduction qui, à l'occasion, peuvent être extériorisées ;
- la trypanotolérance pour la Ndama, etc.

La disposition anatomique de l'appareil génital permet assez bien les différentes manipulations et ces animaux répondent plus ou moins bien aux traitements.

C'est ainsi que pour la synchronisation, nous avons obtenu une bonne réponse : 32 vaches sur les 34 traitées ont présenté des chaleurs et les meilleurs résultats ont été observés chez les vaches Gobra et Ndama (100 p. 100 des vaches en chaleurs) par rapport aux Montbeliarde (71,43 p. 100). Mais surtout on observe un bon regroupement des chaleurs: sur 3 à 4 heures. Le synchronisme donneuses-receveuses est parfait avec un écart de 3 à 7 heures et quand on sait qu'un écart de 12 à 24 heures est tolérable. L'oestrus est survenu en moyenne 45 heures après l'arrêt du traitement. Les taux de réponse en fonction de la nature du traitement sont de :

- 100 p. 100 avec les implants de Norgestomet,
- 90,91 p. 100 avec les spirales progestéroniques,
- et 87,50 p. 100 avec les prostaglandines.

En ce qui concerne la superovulation des donneuses constituées uniquement de Gobra et Ndama, une moyenne de 7,3 embryons par vache dont 4,6 d'excellente qualité a été obtenue lorsque le traitement était à base de FSH.

Aucun embryon de bonne qualité n'a pu être obtenu avec la PMSG quand bien même que la réponse ovarienne soit comparable à celle d'avec la FSH (respectivement 7,75 et 7,25 C.J. en moyenne par vache). Au total sur 14 embryons jugés transférables, 7 ont été transférés et les 7 autres conservés après congélation.

Le transfert a porté sur 9 vaches dont 5 Gobra, 1 Ndama et 3 Montbeliarde.

A la suite de résorptions et mortalités embryonnaires seules 2 Gobra et 1 Montbeliarde étaient gestantes un mois après. En plus, le contrôle des donneuses a révélé une d'elle (une Gobra) porteuse d'une gestation gemellaire. Le diagnostic de gestation à 3 mois était positif pour les 3 vaches Gobra et révélait en plus que la donneuse était porteuse de 4 veaux. Ces gestations ont évolué jusqu'à terme et ont donné 6 veaux croisés Montbeliarde-Gobra.

Ces résultats, quoique peu spectaculaires, sont prometteurs pour l'élevage africain. Le transfert d'embryons pourrait alors y être d'un concours précieux à différents niveaux. Par l'amélioration de la prolificité elle permettra d'exploiter au maximum le potentiel génétique, non négligeable de nos races bovines. Grâce à l'apport de la technique de congélation, le transfert d'embryons peut permettre non seulement la préservation de certains caractères intéressants comme la trypanotolérance, mais également leur diffusion.

Mais tout ceci ne sera possible que si des mesures sont prises en vue d'une parfaite maîtrise de la biotechnologie du transfert d'embryons:

- la création d'un noyau de femelles d'élite dans le cadre d'un élevage intensif ;
- une étude approfondie de la physiologie reproductive des animaux, notamment en matière d'endocrinologie sexuelle ;
- une intégration du transfert d'embryons à la recherche-formation dans le cadre d'institution spécialisées.

Cette dernière mesure nous paraît un objectif prioritaire dans la mesure où elle conditionne les autres.

ANNEXES

ANNEXE 1

MATERIEL UTILISE LORS DU PRELEVEMENT DES EMBRYONS

1. Sérum de veau (inactivé) (FCS-foetal calf serum)
2. Tampon phosphate salin (PBS)
3. Boîtes de Pétri
4. Eau stérile
5. Solution saline (0,85 p. 100)
6. Alcool à 70 p. 100
7. Lubrifiant
8. Gants de caoutchouc
9. Catheter Foley n° 18 et stylet
10. Anesthésique : Xylocaïne à 2 p. 100
11. Seringues (35 ml, 10 ml)
12. Pincettes
13. Cylindre gradué (500 ml)
14. Feuille pour noter les données
15. Marqueur indélébile
16. Gazes et serviettes
17. Bain-marie

Annexe 2 : FICHE D'INTERVENTION

\*\*\*\*\*

VACHE N° \_\_\_\_\_

RACE :

AGE : b

POIDS :

EXAMEN CLINIQUE N°	UTERUS	OV. D.		OV. G.		COL	GLAIRE	OBSERVA- TIONS
		F	CL	F	CL			

SYNCHRONISATION :

PG

SPIRALE

IMPLANT

DEBUT

DATE

PG

FIN

CHALEURS

DEBUT

FIN

SAILLIE 1re

2e

3e

TRANSFERT :

D. GESTATION :





## **BIBLIOGRAPHIE**

1. ADEYMO (O.), KODJE (A.), ODILI (P.I.).- Control of oestrus in Bos indicus and Bos taurus heifers with Prostaglandine PGF<sub>2α</sub>.  
Theriogenology, 1979, 12 : 255-262.
2. AGBA (C.K.).- Particularités anatomiques et fonctionnelles des organes génitaux de la femelle zébu.  
Thèse Méd. Vét. Dakar, 1975, n°12.
3. ALLEN (E.), PRATT (J.P.), NEWELL (Q.U.), BLAND (L.).- Recovery of human ova from the uterine tubes : time of ovulation in the menstrual cycle.  
J. Am. Med. Ass., 1928, 91 : 1018-1020.
4. AUSTIN (C.R.).- Observations on the penetration of permatozoa into the mammalian egg.  
Austra. J. Sci. Res., 1951, 84 : 581-589.
5. BARR (H.L.). Influence of oestrus detection on days open in dairy herds.  
J. Dairy Sci., 1975, 58 : 246-247.
6. BAVISTER (B.D.).- Role of oviduct secretion in embryonic growth in vivo and in vitro.  
Theriogenology, 1988, 29 : 143-154.
7. BETTERIDGE (K.J.).- Embryo transfer in farm animals.  
Ed. L.E.A. Rowson, 1977, monograph 16 : 1-9.
8. BETTERIDGE (K.J.).- An historical look at embryo transfer.  
J. Reprod. Fert., 1981, 62 : 1-13.
9. BIANCHI (M.).- Effet du taureau sur la qualité des embryons récoltés après superovulation. Relation avec les caractéristiques du spermogramme.  
Mémoire D.E.A. Univ. Pierre et Marie-Curie, Paris VIe, 1985.
10. BIANCHI (M.), CHICOTEAU (P.), CLOE (C.), BASSINGA (A.).- Premiers essais de transfert d'embryons sur bovins de race Baoulé au Burkina Faso.  
Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 1986, 39 (1) : 139-144.
11. BONNEAU (M.).- Perspectives résultant des manipulations d'embryons dans les espèces animales. Premiers entretiens de Bourgelat, Ed. Point Vétérinaire, Alfort, 1981, pp. 353-358.

12. BOUSQUET (D.).- Aspect hormonal du cycle oestral chez la vache. In : "Mieux maîtriser la reproduction des espèces domestiques par le transfert d'embryons". Sommet de la Francophonie, Journées Scientifiques : 2 au 11 mai 1989, Dakar, pp. 1-11.
13. BOUSQUET (D.), HEYMAN (Y.), PICARD (L.), GUAY (P.).- La congélation des embryons bovins et leur survie évaluée par culture in vitro. Méd. Vét., Québec, 1983, 13 : 73-77.
14. BOUSQUET (D.), VAILLANCOURT (D.).- Choix et synchronisation des receveuses. In "Mieux maîtriser la reproduction des espèces domestiques par le transfert d'embryons". Sommet de la Francophonie, Journées Scientifiques : 2 au 11 mai 1989, Dakar, pp. 73-88.
15. BOUYSSOU (B.), CHUPIN (D.).- La congélation en deux étapes des embryons bovins avec deux cryoprotecteurs. Elev. et Insém., 1981, 182 : 19-22.
16. BRACKETT (B.G.), BOUSQUET (D.), BOICE (M.L.), DONAWICK (W.J.), EVANS (J.F.), DRESSEL (M.A.).- Normal development following in vitro fertilization in the cow. Biol. Reprod., 1982, 27 : 147-158.
17. BRAND (A.), AARTS (M.H.), ZAAVER (D.), OXENDER (W.D.).- Recovery and transfer of embryos by non-surgical procedures in lactating dairy cattle. In : "Control of Reproduction in the cow". J. M. SREENAN Ed., NIJHOFF, La Haye, 1978, pp : 281-291.
18. BRAND (A.), DROST (M.).- Embryo collection by non surgical methods embryo transfer in farm animals : A review of technics and applications, 1977, Monograph 16, pp : 16-19 et 31-34.
19. BRAND (A.), GUNNICK (J.W.), DROST (M.), AARTS (M.H.), DE BOIS (C.H.W.).- Non surgical embryo transfer in cattle. II. Bacteriological aspect. In : Seminar on egg transfer in cattle in the E.E.C. programme of coordination in research on beef production, 1975, pp: 57-72.
20. BRITT (J.H.).- Induction and synchronization of ovulation. In : "Reproduction in farm animals" E.S.E. HAFEZ LEA and FEBIGER Edit., Philadelphia, 1987, pp : 507-516.
21. CALLAGHAN (B.D.), KING (G.J.).- Determination of fertilization rate of artificial insemination sires. Theriogenology, 1980, 14 : 403-410.

22. CAMUS (E.), LANDAIS (E.), POIVEY (J.P.).- Contribution à l'étude de l'élevage bovin sédentaire du Nord Côte-d'Ivoire : Structure génétique de la population, perspective d'évolution. Rapport CRZ SODEPRA, Côte d'Ivoire, 1980.
23. CHATELAIN (Eliane).- Anatomie descriptive du tractus génital de la vache.  
Elev. et Insém., 1984, 202 (suppl.) : 18 p.
24. CHICOTEAU (P.), CLOE (L.), BASSINGA (A.).- Essais préliminaires de synchronisation des chaleurs chez la femelle Baoulé.  
Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 1986, 39 (1): 161-163.
25. CHUPIN (D.).- Maîtrise de la reproduction chez les bovins. Principes. Résultats. Limites.  
Annls. Méd. vét., 1977, 121 : 329-338.
26. CHUPIN (D.).- Applications pratiques du transfert d'embryons chez les bovins.  
Elev. et Insém., 1985, 206 : 3-16.
27. CHUPIN (D.), COMBARNOUS (Y.), PROCUREUR (R.).- Antagonistic effects of LH on FSH induced superovulation in cattle.  
Theriogenology, 1984, 21 : 229.
28. CHUPIN (D.), PROCUREUR (R.).- Use of pituitary FSH to induce superovulation in cattle : effect of injection regime.  
Theriogenology, 1982, 17 : 81. (Abstr.).
29. COE (P.H.), GIBSON (C.D.), KAWEENE (J.B.), MORROW (D.A.), MARINEZ (R.O.).- The use of embryo collection technic, in Holstein heifers : a model to study early embryonic death.  
Theriogenology, 1987, 27 (5) : 729-736.
30. COLY (R.).- Etude comparative de 3 méthodes de détection de l'oestrus chez la femelle zébu Gobra (Bos indicus) au Sénégal.  
Thèse Méd. vét., Dakar, 1985, n°13.
31. COULOMB (J.).- La race Ndama. Quelques caractéristiques zootechniques.  
Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 1976, 29 (4) : 367-380.
32. CRIBIU (E.P.), POPESCU (C.P.).- L'étude cytogénétique de l'embryon et du taureau.  
Elev. et Insém., 1982, 190 : 21-23.

33. CRISTER (J.K.), ROWE (R.F.), DEL CAMPO (M.R.), GINTHER (O.J.).- Embryo transfer in cattle : Factors affecting superovulatory response, number of transferable embryos, and length of post-treatment estrous cycles. *Theriogenology*, 1980, 13 : 397-406.
34. CRITSER (E.S.), LEIBFRIED-RUTLEDGE (M.L.), FIRST (N.L.).- Influence of cumulus cell association during in vitro maturation of bovine oocytes on embryonic development. *Biol. Reprod.*, 1986, 34 (suppl.1) : 286.
35. CUQ (P.).- Bases anatomiques et fonctionnelles de la reproduction chez le zébu (Bos indicus). *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1973, 26 : 21-48.
36. CUQ (P.), FERNEY (J.), VAN CRAEYNEST (P.).- Le cycle génital de la femelle zébu (Bos indicus) en zone soudano-sahélienne du Sénégal. *Rev. Méd. vét.*, 1974, 37 : 147-173.
37. DAWSON (F.L.M.).- Accuracy of rectal palpation in diagnostic of ovarian function in the cow. *Vet. Rec.*, 1975, 96 : 218-220.
38. DENIS (J.P.).- L'amélioration de la production laitière au Sénégal. Résultats actuels. *Liaison-Sahel*, 1984, 2 : 15-26.
39. DENIS (J.P.), VALENZA (J.).- Exteriorisation des potentialités du zébu Gobra. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1971, 24 : (3) : 409-418.
40. DENIS (J.P.), VALENZA (J.).- Extériorisation des potentialités du zébu Gobra. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1972, 25 (2) : 245-257.
41. DENIS (J.P.), VALENZA (J.).- Extériorisation des potentialités du zébu Gobra. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1974, 27 (1) : 109-111.
42. DERIVAUX (J.).- Reproduction chez les animaux domestiques. Ed. Derouaux, Liège, 1971, I, 156 p.
43. DERIVAUX (J.), ECTORS (F.).- Physiologie de la gestation et obstétrique vétérinaire. Ed. du Point Vétérinaire, Maisons-Alfort, 1980, 273 p.
44. DESSURAUULT (J.), BOUSQUET (D.).- Facteurs endocriniens pouvant affecter le nombre et la qualité des embryons chez la vache. *Méd. Vét. Qué.*, 1985, 15 (suppl.2) : 85-89.

45. DIOP (P.E.H.).- Insémination artificielle et fécondation chez les taures suroovulées. Mémoire Maîtrise ès-science, Faculté des Etudes supérieures, Univ. Montréal, 1987, 153 p.
46. DIOP (P.E.H.).- Application de la technologie du transfert d'embryons dans le contexte de l'élevage africain. Communication au IIIe Sommet de la Francophonie, Journées Scientifiques sur le transfert d'embryons, 2-11 mai 1989, Dakar.
47. DIOP (P.E.H.), GUEYE (N.D.), MBAYE (M.), NDIAYE (M.), DIALLO (I.).- La détection des chaleurs de la femelle zébu Gobra par une femelle androgénisée en milieu tropical. Méd. Vét. Qué., 1988, 18 (4) : 191-193.
48. DIOP (P.E.H.), LAMOTHE (P.), ALLAIRE (F.), BOUSQUET (D.), PICARD (L.), DERI (M.), SAWADOGO (G.), ASSANE (M.), SERE (A.), OUATTARA (M.).- Le transfert d'embryons au Sénégal : résultats préliminaires. Communication au Symposium International sur le rôle de la biologie dans la solution de la crise alimentaire en Afrique, Yamoussokro (Côte d'Ivoire), 25 au 29 juillet 1989.
49. DONALDSON (L.E.).- Effect of insemination regimen on embryo production in superovulated cows. Vet. Rec., 1985, 117 : 35-37.
50. DONALDSON (L.E.), DARRELL (N.N.).- Superovulation in the cattle. Dose to FSH with and without LH contamination. Theriogenology, 1985, 23 (1) : 189.
51. DOWLING (D.F.).- Problems of the transplantation of fertilized ova. J. agric. Sci., Camb., 1949, 39 : 374-396.
52. ELSDEN (R.P.).- Embryo collection by surgical methods. Embryo transfer in farm animals. A review of the techniques and applications. Agriculture Canada, 1977, Monograph. 16, pp.10-13.
53. ELSDEN (R.P.).- Bovine embryo transfer. Proc. Soc. Theriogenology, OMANA, NEBRASKA, 1980, pp.101-103.
54. ELSDEN (R.P.), NELSON (L.D.), SEIDEL (G.E.).- Superovulating cows with follicle stimulating hormone and pregnant mare's serum gonadotrophine. Theriogenology, 1978 9 : 17-26.
55. FEHILLY (C.B.), WILLADSEN (S.M.), TUCKER (E.M.).- Experimental chimaerism in sheep. J. Reprod. Fert., 1984, 70 : 347-351.

56. FRENCH (M.N.), JOHANSSON (I.), JOSHI (N.R.), Mc LAUGHLIN (E.A.).- Les Bovins d'Europe.
57. GAYERIE de ABREU (F.), LAMMING (G.E.), SHAW (R.C.).-  
A cytogenetic investigation of early stage bovine embryos. Relation with embryo mortality. Proc. 10th Intern. Congr. on Anim. Reprod. and A.I., Urbana, III USA, 1984, 2 : 82.
58. GEISERT (R.D.), ZAVY (M.T.), BIGGERS (B.G.), GARRETT (J.E.), WETTEMAN (R.P.).- Characterization of the uterine environment during early conceptus expansion in the bovine.  
Anim. Reprod. Sci., 1988, 16 (1) : 11-25.
59. GOFFAUX (M.).- Méthodes de détection de l'oestrus chez les bovins.  
Elev. et Insém., 1974, 144 : 3-25.
60. GORDON (J.).- Transgenic mice : a new and powerful experimental tool in mammalian developmental genetics.  
Devel. Gen., 1983, 4 : 1-20.
61. GOTO (K.), KAJIHARA (Y.), KOSAKA (S.), KOBAYASHI (M.), NAKANISHI (Y.), OGAWA (K.).- Pregnancies after in vitro fertilization of cow follicular oocytes, their incubation in vitro and their transfer to the cow uterus.  
Theriogenology, 1988, 29 : 251.
62. GOTO (K.), OHKUBO (S.), NAKANISHI (Y.), OGAWA (K.), TASAKI (M.), OHTA (H.), INOHAE (S.), TATEYAMA (S.), KAWABATA (T.), ISHII (S.), MIYAMOTO (A.), FURUSAWA (T.), UMEZU (M.), MASAKI (J.).- Endocrine profiles and embryo quality in superovulated Japanese Black Cattle.  
Theriogenology, 1988, 29 (3) : 615-629.
63. GREVE (T.), LEHN-JENSEN (H.), RASBECH (N.O.).- Non surgical recovery of bovine embryos.  
Theriogenology, 1977, 7 : 239-251.
64. GUSTAVSSON (I.).- Chromosome evaluation and fertility.  
Proc. 10th Intern. Congr. on Anim. Reprod. and A.I., Urbana III, USA, 1984, 4 : 1-8.
65. HAFEZ (E.S.E.), SUGIE (T.), GORDON (I.).- Superovulation and related phenomena in the beef cow. I. Superovulatory responses following PMS and HCG injections.  
J. Reprod. Fert., 1963, 5 : 359-379.
66. HALLEY (S.M.), RHODE III (R.C.), Mc KELLER (L.D.), RANDEL (R.D.).- Successful superovulation, non surgical collection and transfer of embryos from Brahman cows.  
Theriogenology, 1979, 12 : 97-108.

- 67 HAMMOND Jr (J.), BHATTACHARYA (P.).- Control of ovulation in cow. J. Agric. Sci., 1944, 134 : 1-15.
68. HARTMAN (C.G.).- How large is the mammalian egg? A review. Q. Rev. Biol., 1929, 4 : 373-388.
69. HARTMAN (C.G.), LEWIS (W.N.), MILLER (F.W.), SWETT (W.W.).- First findings of tubal ova in the cow together with notes on oestrus. Anat. Rec., 1931, 48 : 267-275.
70. HEAPE (W.).- Preliminary note on the transplantation and growth of mammalian ova with a uterine foster-mother. Proc. R. Soc., London, 1891, 48 : 457-458.
71. HEYMAN (Y.).- Factors affecting the survival of whole and half embryos transferred in cattle. Theriogenology, 1985, 23 : 63-75.
72. HEYMAN (Y.), RENAR (J.P.), OZIL (J.P.), du MESNIL du BUISSON (F.).- Cervical embryo transfer at different stages in cattle. In : "Control of reproduction in cow". (JM. SREENAN, Ed.), NIJHOFF, La Haye, 1978, pp. 330-335.
73. HILL (K.G.), Mc FARLAND (C.W.), RONIE (R.W.), VIKER (S.D.), CODKE (R.A.).- A single 50 mg injection of follicle stimulating hormone (FSH) for superovulation of embryo donor cattle. Theriogenology, 1985, 23 (1) : 196 (Abstr.).
74. HUMBLLOT (P.).- La mortalité embryonnaire chez les bovins : fréquence, importance respective des facteurs d'apparition. (Cité par NIBART, M. : Elev. et Insém., 1984, 202 : 3-18.
75. HUMBLLOT (P.).- Physiologie de la reconnaissance embryomaternelle chez la vache. Rec. Méd. Vét., 1981, 157 (1) : 39-52.
76. I.N.R.A.- Reproduction et Sélection des Ovins et Bovins à viande. 3e Cong. Mond. Reprod. et Sélect. des Ovins et Bovins à Viande, 19-23 juin 1988. Prod. Anim., 1988, 1 (4) : 283-286.
77. JORDT (T.), MAHON (G.D.), TOURAY (B.N.), NGULO (W.K.), MORRISON (W.I.), RAWLE (J.), MURRAY (M.).- Successful transfer of frozen Ndama embryo from the Gambia to Kenya. Trop. Anim. Hlth Prod., 1986, 18 : 65-75.
78. KAMARA (B.).- Etude comparative de 3 méthodes de synchronisation des chaleurs chez la femelle zébu Gobra. Thèse Méd. vét., Dakar, 1985, n°16.



79. KHILKEVICH (S.), OVCHINNIKOV (A.). Superovulation of donor cow in relation to their hormonal status prior to treatment.  
Anim. Breed. Abstr., 1988, 56 (8) : 653.
80. KING (W.A.).- Sexing embryos by cytological methods.  
Theriogenology, 1984, 21 : 7-17.
81. KING (W.A.), BETTERIDGE (K.J.), BOUSQUET (D.), GREVE (T.).- Cytologically detectable abnormalities in bovine zygote after in vivo and in vitro fertilization.  
J. Dairy Sci., 1985, 68 : 248-249.
82. KVASNICKII (A.V.).- Interbreed ova transplantations.  
Anim. Breed. Abstr., 1951, 19 : 224.
83. LAMOTHE (P.).- La production d'embryons chez les bovins.  
Méd. Vét. Qué., 1980 10 (2) : 9-13.
84. LAMOTHE (P.).- Le choix de la donneuse : généralités et aspect économique. In : "Mieux maîtriser la reproduction des espèces domestiques par le transfert d'embryons". Sommet de la Francophonie - Journées Scientifiques, 2-11 mai 1989, Dakar, pp : 17-28.
85. LAMOTHE (P.).- Le prélèvement des embryons. In "Mieux maîtriser la reproduction des espèces domestiques par le transfert d'embryons".  
Sommet de la Francophonie - Journées scientifiques, 2-11 mai 1989, Dakar, pp : 45-55.
86. LAMOTHE (P.). Le transfert de l'embryon. In "Mieux maîtriser la reproduction des espèces domestiques par le transfert d'embryons".  
Sommet de la Francophonie - Journées Scientifiques, 2-11 mai 1989, Dakar, pp 89-95.
87. LAUDERDALE (J.W.).- Estrus detection and synchronization of dairy cattle in large herds.  
J. Dairy Sci., 1974, 37 (3) : 348-354.
88. LE GUIENNE (B.), THIBIER (M.).- Premiers blastocystes bovins obtenus en totalité in vitro. Note préliminaire.  
Elev. et Insém., 1988, 224 : 11-14.
89. LEMON (M.), SAUMANDE (J.).- Oestradiol 17 $\beta$  and Progesterone induction of superovulation by PMSG in cattle.  
J. Reprod. Fert., 1972, 31 : 501-502.
90. LIEGEOIS (L.).- Compte Rendu XVII<sup>e</sup> Réunion de la Société internationale de transfert embryonnaire.  
Elev. et Insém., 1988, 224 : 21-23.

91. LIN (T.P.).- Egg micromanipulation. In : Methods in mammalian embryology.  
Daniel J.C. Ed. Freeman, San Francisco, 1971, : 157-171.
92. LOGINOVA (N.V.), LOPYRIN (A.I.).- Increasing multifoetation in sheep by the action of mare pregnancy serum.  
Probetmy Zhivot., 1938, 10 : 114-120 (Abstr.).
93. LOPYRIN (A.I.), LOGINOVA (N.V.), BABICEV (I.G.).- Field experiments on raising the proportion of multiple births in Karakul sheep.  
Sov. Zooteekh., 1940, 1 : 82-88 (Abstr.).
94. LU (K.H.), GORDON (I.), GALLAGHER (M.), Mc GOVERN (H.).- Pregnancy established in cattle by transfer of embryos derived from in vitro fertilization of oocytes matured in vitro.  
Vet. Rec., 1987, 121 : 259-260.
95. MALLEK (Z.), GUERIN (B.), NIBART (M.) PARIEZ (M.), THIBIER (M.).- Analyse bactériologique des liquides de collecte et de transfert embryonnaire de vaches donneuses saines ou atteintes de métrites.  
Elev. et Insém., 1984, 202 : 15-22.
96. MARKERT (C.L.). Genetic manipulation of mammalian embryos : current techniques and their potential usefulness in livestock improvement.  
Proc. 10th Intern. Congr. on Anim. Reprod. and A.I. (Urabana III, USA), IV, pp. II, 13-19.
97. MARKERT (C.L.), PETERS (R.M.).- Manufactured hexaparental mice show that adults are derived from three embryonic cells. Science, 1978, 202 : 56-58.
98. MARKETTE, SEIDEL Jr (G.E.), ELSDEN (R.P.- Compte rendu XIe Conf. ann. de la Soc. inter. de transfert embryonnaire.  
Elev. et Insém., 1985, 206 : 25-26.
99. MARSHALL (F.H.A.).- Development of transplanted rat eggs.  
Longmans Green and Co., London, 1910, pp. 181-182.
100. MARTIAL (J.), CHARLIER (M.), CHARPIGNY (G.), CAMOUS (S.), CHENE (N.), REINAUD (P.), SADE (S.), GUILLOMOT (M.).- Interference of trophoblastin in ruminant embryonic mortality : A review.  
Lives. Prod. Sci., 1987, 17 : 193-210.
101. MAURER (R.R.).- Advances in embryo culture. In : methods in mammalian reproduction. Daniel J.C. Ed. Academic Press, New York. (Cité par MARKET C.L. Proc. 10th Intern. Congr. on Anim. Reprod. and A.I., Urabana, III, USA, 1984, IV, pp II, 13-19.

102. MBAYE (M.), NDIAYE (M.).- Etude des chaleurs après traitement de maîtrise du cycle sexuel chez la vache Gobra. Rapport annuel CRZ Dahra, 1983.
103. MENEZO (Y.).- Mise au point d'un milieu artificiel défini pour la survie et la maturation des gamètes et pour la culture de l'oeuf fécondé. C.R. Acad. Sci. Paris série D, 1976, 282 : 1967-1970.
104. MILLER (D.M.), JOHNSON (W.H.), CATES (W.F.), MAPLETOFT (R.J.).- Superovulation studies in heifers to determine fertilization rates of bulls with high levels of certain sperme difects. Theriogenology, 1981, 15 : 122 (Abstr.).
105. MONNIAUX (D.), CHUPIN (D.), SAUMANDE (J.).- Superovulation responses of cattle. Theriogenology, 1983, 19 : 55-81.
106. MOOR (R.M.), KRUIP (A.M.), GREEN (D.).- Intraovarian control of folliculogenesis : limits to superovulation. Theriogenology, 1981, 21 (1) : 103-115.
107. MUTTER (L.R.), GRADEN (A.P.), OLDS (R.).- Succesful non surgical bovine embryo transfer. A.I. Digest., 1964, 12 : 3-5.
108. NEWCOMB (R.).- Investigations of factors affecting superovulation and non surgical embryo recovery from lacting British Friesian cows. Vet. Rec., 1980, 106 : 48-52.
109. NEWCOMB (R.), CHRISTIE (W.B.), ROWSON (L.E.A.).- Non surgical recovery of bovine embryos. Vet. Rec., 1978, 102 : 414-417.
110. NIBART (M.).- Programme national de transplantation d'embryons dans l'espèce bovine. Compte rendu Journées d'information I.T.E.B., U.N.C.E.I.A. "Transplantation embryonnaire", 1983, pp. 113-120.
111. NIBART (M.).- Micromanipulation embryonnaire et clonage. Définition et perspectives. Elev. et Insém., 1984, 202 : 3-10.
112. NIBART (M.), BOUYSSOU (B.).- Le transfert embryonnaire chez les bovins. Rec. Méd. vét., 1981, 157 (1) : 71-87.
113. NIBART (M.), BOUYSSOU (B.), FLORIN (B.).- La transplantation embryonnaire. Elev. et Insém., 1979, 172 : 3-8.
114. NIBART (M.), BOUYSSOU (B.), SCHWARTZ (J.L.).- Transplantation embryonnaire chez les bovins. Rapport d'activités des Services techniques de l'U.N.C.E.A. (1980). Elev. et Insém., 1981, 182: 3-18.

115. NIBART (N.), SLIMANE (M.), HERRERA (R.), JEANGUYOT (N.), MECHEKOUR (F.), HUMBLLOT (P.), THIBIER (M.).- Variations des concentrations plasmatiques des hormones gonadotropes (FSH, LH) et stéroïdes (oestradiol-17 $\beta$ , progestérone) après différents traitements de superovulation chez la vache.  
Elev. et Insém., 1988, 226 : 11-30.
116. NICHOLAS (J.S.).- Development of transplanted rat eggs.  
Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1933, 30 : 1111-1113.
117. NICHOLAS (J.S.), HALL (B.V.).- Experiments on developing rats. II. The development of isolated blastomeres and fused eggs.  
J. Expl. Zool., 1942, 90 : 441-459.
118. NICKS (B.).- Notes du cours d'Ethnologie des animaux domestiques. 1987, 1 : 87p.
119. PAGOT (J.).- L'élevage en pays tropicaux.  
Ed. G.P. Maison-Neuve et Larose, 1985, 525p.
120. PALMITER (R.D.), BRINSTER (R.L.), TRUMBAVER (M.E.), ROSENFELD (M.G.), BIRNBERG (N.C.), EVANS (R.M.).- Dramatic growth of mice development from eggs micro-injected with metallothinein-growth hormone fusion genes.  
Nature, 1982, 330 : 611-615.
121. PARRISH (J.J.), SUSKO-PARRISH (J.L.), FIRST (N.L.).- Effect of heparin and chondroitin sulfate in the acrosome and fertility of bovine sperme in vitro.  
Theriogenology, 1985, 24 : 537-549.
122. PAWLYNSHYN (V.), LINDSELL (C.E.), BRAITHAITE (M.), MAPLETOFT (R.J.).- Superovulation of beef cows with FSH.P : a dose response trial.  
Theriogenology, 1986, 25 (1) : 179.
123. PERRIN (J.), COUPET (H.).- A method for cervical transfer in cattle.  
Theriogenology, 1977, 7 : 189-194.
124. PETIT (M.).- Maîtrise des cycles sexuels.  
Elev. et Insém., 1979, 170 : 7-27.
125. PICARD (L.).- Principe de cryobiologie et congélation d'embryons.  
Méd. Vét. Qué., 1984, 14 : 55-59.
126. PICARD (L.).- La surovulation et la production d'embryons.  
In : "Mieux maîtriser la reproduction des espèces domestiques par le transfert d'embryons".  
Sommet de la Francophonie. Journées scientifiques, 2-11 mai 1989, Dakar, pp. 30-44.

127. PICARD (L.).- Selection d'embryons. In "Mieux maîtriser la reproduction des espèces domestiques par le transfert d'embryons".  
Sommet de la Francophonie - Journées Scientifiques, 2-11 mai 1989, Dakar, pp. 56-72.
128. PICARD (L.).- La micromanipulation, la congélation et le sexage des embryons. In "Mieux maîtriser la reproduction des espèces domestiques par le transfert d'embryons".  
Sommet de la Francophonie - Journées Scientifiques, 2-11 mai 1989, Dakar, pp. 96-104.
129. PICARD (L.).- KING (W.A.), BETTERIDGE (K.J.).- Cytological studies of bovine half-embryos.  
Theriogenology, 1984, 21 : 252.
130. PINCUS (G.).- Observations on the living eggs of the rabbit.  
Proc. R. Soc. B, 1930, 107 : 132-167.
131. POLGE (C.).- The freezin of mammalian embryos : perspectives and possibilities (and discussion). In : The freezing of Mammalian embryos (Ciba Fdn. Symp. n°52).  
Ed. K. Elliott et J. Whelan. Elsevier. Excerpta Medica. North Holland, Amsterdam, 1977, pp. 3-18.
132. POPESCU (C.P.), CRIBIU (E.P.).- L'étude cytogénétique de l'embryon bovin. Compte rendu IIe congr. Intern. "Le transfert d'embryons chez les Mammifères". (Annecy, 20-22 sept. 1982). Ed. Ch. Merieux et M. Bonneau, pp. 277-283.
133. RACHAIL (Mireille).- Transplantations et manipulations embryonnaires en médecine vétérinaire.  
Sci. Vét. Méd. comp., 1989, 91 : 15-26.
134. RALAMBOFIRINGA (A.).- Notes sur les manifestations du cycle oestral et sur la reproduction des femelles Ndama.  
Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 1978, 31 (1) : 91-94.
135. REHBOCK (F.).- Embryo transfer as a therapeutic procedure in high-giclding cows with reproductive disturbance.  
Thierhygiene-Information, 1986, 18 (Suppl. 54) : 201-205 (Abstr.).
136. RENARD (J.P.), HEYMAN (Y.), du MESNIL du BUISSON (F.).- Unilateral and bilateral cervical transfer of bovine embryos at the blastocyst stage.  
Theriogenology, 1977, 7 : 189-194.
137. RENARD (J.P.), MENEZO (Y.), HEYMAN (Y.).- Alternative tests to assess viability of bovine embryos.  
Theriogenology, 1982, 17 : 106.

138. ROWSON (L.E.A.), LAWSON (R.A.S.), MOOR (R.M.).- Production of twins in cattle by eggs transfer.  
J. Reprod. Fert., 1971, 25 : 261-268.
139. ROWSON (L.E.A.), LAWSON (R.A.S.), MOOR (R.M.), BAKER (A.A.).  
Eggs transfer in the cow : synchronization requirements.  
J. Reprod. Fert., 1972, 28 : 427-431.
140. ROWSON (L.E.A.), MOOR (R.M.), LAWSON (R.A.S.).  
Fertility following egg transfer in the cow : effect of method medium and synchronization of oestrus.  
J. Reprod. Fert., 1969, 18 : 517-523.
141. RÜDENAUER (M.).- Production de viande de bovins trypanotolérants en savane guinéenne d'Afrique Occidentale. Eschoborn, 1982, 344 p.
142. SAUMANDE (J.).- Induction d'une superovulation dans l'espèce bovine. Caractéristiques de l'agent stimulant. Effet sur la croissance folliculaire. Traitements utilisés. Conséquences hormonales.  
Ann. Méd. vét., 1977, 121 : 449-477.
143. SCHIEWE (M.E.).- Various artificial insemination schedules and fertility of superovulated beef donor cattle.  
M. Sc. Thesis, Louisiana State University Baton Rouge, 1983.
- 144.- SEIDEL Jr (G.E.).- Microsurgery and micromanipulation of the mammalian embryos. Compte rendu IIe Congr. Intern. "Le transfert d'embryon chez les Mammifères" (Annecy, 20-22 sept. 1982), Ed. Ch. Merieux & M. Bonneau pp. 115-122.
145. SERE (A.).- Les particularités physiologiques du cycle oestral chez la femelle zébu. In : "Mieux maîtriser la reproduction des animaux domestiques par le transfert d'embryons". Sommet de la Francophonie - Journées Scientifiques, 2-11 mai 1989, Dakar, pp. 170-181.
146. SIGNORET (J.P.), THIMONIER (J.), PELOT (J.).- La maîtrise de l'ovulation chez les bovins. In "Mieux connaître, comprendre et maîtriser la fécondité bovine. Journées de la Société française de Buiâtrie, Paris, 17-18 oct., 1988, pp. 235-244.
147. SIRARD (M.A.), KING (W.A.), XU (K.P.).- La maturation des ovules de bovins.  
Méd. Vét. Qué., 1988, 18 (4) : 181-185.
148. SIRARD (M.A.), LAMBERT (R.D.), BELAND (R.), BERNARD (C.).- The effects of repeated laparoscopic surgery for ovarian examination and follicular aspiration in cow.  
Anim. Reprod. Sci., 1985, 9 : 25-30.

149. SIRARD (M.A.), LAMBERT (R.D.), GUAY (P.).- In vitro development of in vitro fertilized bovine follicular oocytes obtained at laparoscopy.  
Anim. Reprod. Sci., 1986, 12 : 21-26.
150. SIRARD (M.A.), LAMBERT (R.D.), MENARD (D.P.), BEDOYA (M.).- In vitro fertilization in the cow : six calves are born from surgical or non surgical uterine transfer to heifers.  
Theriogenology, 1986, 25 : 198.
151. SREENAN (J.M.).- Non surgical embryotransfer in cow.  
Theriogenology, 1981, 15 : 69-83.
152. STUBBINGS (R.B.), BETTERIDGE (K.J.), BASRUR (P.K.).- Investigations of culture requirements for bovine oocytes maturation in vitro.  
Theriogenology, 1988, 29 : 313.
153. TAGAND (R.), BARONE (R.).- Splanchnologie comparée.  
Gouv. Gen. A.O.F. Direct. Santé publ. Lyon, 1945, 173p.
154. THIBAUT (C.).- La fécondation.  
La Recherche, 1976, 67 : 411-420.
155. THIBIER (M.).- Le cycle sexuel des mammifères domestiques.  
I. Description du cycle sexuel de la vache.  
Econ. et Méd. Anim., 1976, 17 : 117-134.
156. THIBIER (M.).- Hormonologie de la reproduction. Un nouveau concept : la régulation endocrine par modulation de fréquence.  
Rec. Méd. Vét., 1981, 157 : 25-28.
157. THIBIER (M.), SAUMANDE (J.).- Oestradiol-17 $\beta$ , progesterone and hydroxyprogesterone concentrations in jugular venous plasma in cow prior and during oestrus.  
J. Steroid Biochemistry, 1975, 6 : 1443-1437.
158. THIMONIER (J.).- L'activité ovarienne chez les bovins.  
Moyens d'études et facteurs de variations.  
Annals. Méd. Vét., 1978, 20 (4) : 397-407.
159. Uмбаugh (R.E.).- Superovulation and ovum transfer in cattle.  
Am. J. Vet. Res., 1949, 10 : 295-298.
160. U.N.C.E.I.A.- Services techniques. Compte rendu Xe Congr. Intern. Reprod. Anim. et I.A. (10-14 juin 1984 - Urbaba - Champaing. USA), I : Physiologie mâle et conservation des embryons.  
Elev. et Insém., 1984, 202 : 23-28.
161. U.N.C.E.I.A.- Compte rendu XIe Conf. An. Soc. Intern. Transfert embryonnaire.  
Elev. et Insém., 1985, 206 : 25-28.

162. UTSUMI (K.), KATOH (H.), IRITANI (A.).- Developmental ability of bovine follicular oocytes matured in culture and fertilized in vitro.  
Theriogenology, 1988, 29 : 320.
163. VAISSAIRE (J.P.).- Sexualité et Reproduction des mammifères domestiques et de laboratoire.  
Ed. Maloine, Paris, 1977, 457 p.
164. WACHEL (S.S.).- H-Y antigen in the study of sex determination and control of sex ratio.  
Theriogenology, 1984, 21 : 18-28.
165. WARWICK (B.L.), BERRY (R.O.), HORLACHER (W.R.).- Results of mating rams to Angora female goats.  
Proc. 27th Ann. Meet. Am. Soc. Anim. Prod., 1934, pp. 225-227.
166. WEST (G.), WEST (C.), RISLEY (D.), DONALDSON (L.).- Effect of breeding regime on percent ova fertilized in superovulated cows.  
Theriogenology, 1984, 21 : 273.
167. WILLETT (E.L.), BLACK (W.G.), CASIDA (L.E.), STONE (W.H.), BUCKER (P.J.).- Successful transplantation of a fertilized bovine ovum. Science, N.Y., 1951, 113 : 247.
168. WRIGHT (J.H.).- Non-surgical embryo transfer in cattle : embryo-recipient interactions.  
Theriogenology, 15 : 43-57.
169. WRIGHT Jr. (R.W.), ANDERSON (G.B.), CUPPS (P.T.), DROST (M.).- Successful culture in vitro of bovine embryos to the blastocyst stage. Biol. Reprod., 1976, 14 : 157.
170. XU (K.P.), GREVE (T.), CALLENSSEN (M.), HYTTEL (P.).- Pregnancy resulting from in vitro fertilization of bovine oocytes matured in vitro.  
J. Reprod. Fert., 1987, 81 : 501-504.
- 171.- YAMEOGO (R.B.). Le point de nos connaissances actuelles sur la reproduction des femelles zébu Gobra. Problèmes à résoudre et perspectives d'avenir.  
Thèse Méd. Vét., Dakar, 1983, n° 21.



## SERMENT DES VETERINAIRES DIPLOMES DE DAKAR

\*\*\*\*\*

Fidèlement attaché aux directives de Claude BOURGELAT, Fondateur de l'Enseignement vétérinaire dans le monde, je promets et je jure devant mes maîtres et mes aînés :

- d'avoir en tous moments et en tous lieux le souci de la dignité et de l'honneur de la Profession Vétérinaire,
- d'observer en toutes circonstances les principes de correction et de droiture fixés par le code déontologique de mon pays,
- de prouver par ma conduite, ma conviction, que la fortune consiste moins dans le bien que l'on a, que dans celui que l'on peut faire,
- de ne point mettre à trop haut prix le savoir que je dois à la générosité de ma patrie et à la sollicitude de tous ceux qui m'ont permis de réaliser ma vocation.

Le Candidat

VU

POUR LE DIRECTEUR  
de l'Ecole Inter-Etats  
des Sciences et Médecine  
Vétérinaires

POUR LE PROFESSEUR RESPONSABLE  
de l'Ecole Inter-Etats  
des Sciences et Médecine  
Vétérinaires

VU

LE DOYEN  
de la Faculté de Médecine  
et de Pharmacie

LE PRESIDENT DU JURY

Vu et permis d'imprimer

Dakar, le \_\_\_\_\_

LE RECTEUR, PRESIDENT DE L'ASSEMBLEE  
DE L'UNIVERSITE DE DAKAR