

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

0000000000

ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES
E.I.S.M.V.

ANNEE 1994



ECOLE INTER-ETATS
DES SCIENCES ET MEDECINE N° 11
VETERINAIRES DE DAKAR
BIBLIOTHEQUE

INDUCTION DE LA SUPEROVULATION CHEZ LA
FEMELLE BOVINE NDAMA PENDANT LA SAISON DES
PLUIES AU SENEGAL

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 12 Novembre 1994
devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VETERINAIRE
(DIPLOME D'ETAT)

par

Awana ALI

né le 17 juin 1966 à Lomé (TOGO)

JURY

PRESIDENT DU JURY : M. Mamadou NDOYE Professeur à la Faculté de
Médecine et de Pharmacie de Dakar

DIRECTEUR ET
RAPPORTEUR DE THESE : M. Papa El Hassane DIOP Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar

MEMBRES : M. Charles Kondi AGBA Professeur Agrégé à l'E.I.S.M.V. de Dakar

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

M. Marie-José AFOUTOU Professeur Agrégé à la Faculté de
Médecine et de Pharmacie de Dakar

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

I. PERSONNEL A PLEIN TEMPS

1 - ANATOMIE - HISTOLOGIE - EMBRYOLOGIE

| | | |
|---------|----------------|------------------------------|
| Kondi | AGBA | Maître de Conférences Agrégé |
| Clément | RADE MBAIHINTA | Moniteur |

2 - CHIRURGIE - REPRODUCTION

| | | |
|-----------------|------|------------|
| Papa El Hassane | DIOP | Professeur |
| Awana | ALI | Moniteur |
| Mamadou | SEYE | Moniteur |

3 - ECONOMIE - GESTION

| | | |
|--------------|---------|------------------|
| Cheikh | LY | Maître-Assistant |
| Hélène (Mme) | FOUCHER | Assistante |

4 - HYGIENE ET INDUSTRIE DES DENREES

ALIMENTAIRES D'ORIGINE ANIMALE (HIDAOA)

| | | |
|-----------------|-------|---------------------|
| Malang | SEYDI | Professeur |
| Penda (Mlle) | SYLLA | Monitrice |
| Adama Abdoulaye | THIAM | Docteur Vétérinaire |

5 - MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE - PATHOLOGIE INFECTIEUSE

| | | |
|----------------|-----------|---------------------|
| Justin Ayayi | AKAKPO | Professeur |
| Jean | OUDAR | Professeur |
| Rianatou (Mme) | ALAMBEDJI | Assistante |
| Bataskom | MBAO | Moniteur |
| Komi A.E. | GOGOVR | Docteur Vétérinaire |

6 - PARASITOLOGIE-MALADIES PARASITAIRES-ZOOLOGIE

| | | |
|--------------|------------|---------------------|
| Louis Joseph | PANGUI | Professeur |
| Patrick E. | HABAMENSHI | Moniteur |
| Papa Ndéné | DIOUF | Docteur Vétérinaire |

7 - PATHOLOGIE MEDICALE-ANATOMIE PATHOLOGIE

CLINIQUE AMBULANTE

| | | |
|----------------|-----------|---------------------|
| Yalacé Y. | KABORET | Maître-Assistant |
| Pierre | DECONINCK | Assistant |
| El Hadji Daour | DRAME | Moniteur |
| Aly | CISSE | Moniteur |
| Ibrahima | HACHIMOU | Docteur Vétérinaire |

8 - PHARMACIE - TOXICOLOGIE

| | | |
|-------------|--------|------------|
| François A. | ABIOLA | Professeur |
| Omar | THIAM | Moniteur |

9 - PHYSIOLOGIE - THERAPEUTIQUE - PHARMACODYNAMIE

| | | |
|----------------|---------|------------------------------|
| Alassane | SERE | Professeur |
| Moussa | ASSANE | Maître de Conférences Agrégé |
| Charles Benoît | DIENG | Moniteur |
| Raphael | NYKIEMA | Docteur Vétérinaire |

10 - PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

| | | |
|-----------------|-----------|---------------------|
| Germain Jérôme | SAWADOGO | Professeur |
| Abdoulaye | SOW | Moniteur |
| Désiré Marie A. | BELEMSAGA | Docteur Vétérinaire |

11 - ZOOTECHNIE - ALIMENTATION

| | | |
|---------------|----------|------------------|
| Gbeukoh Pafou | GONGNET | Maître-Assistant |
| Ayao | MISSOHOU | Assistant |
| Malick | DRAME | Moniteur |

.../...

II. PERSONNEL VACATAIRE (prévu)

- BIOPHYSIQUE

René NDOYE Professeur
Faculté de Médecine et de Pharmacie
Université Ch. Anta DIOP de DAKAR

Sylvie (Mme) GASSAMA Maître de Conférences Agrégée
Faculté de Médecine et de Pharmacie
Université Ch. Anta DIOP de DAKAR

- BOTANIQUE - AGROPEDOLOGIE

Antoine NONGONIERMA Professeur
IFAN - Institut Ch. Anta DIOP
Université Ch. Anta DIOP de DAKAR

- PATHOLOGIE DU BETAIL

Magatte NDIAYE Docteur Vétérinaire - Chercheur
Laboratoire de Recherches Vétérinaires
de HANN

- AGRO-PEDOLOGIE

Alioune DIAGNE Docteur Ingénieur
Département "Sciences des Sols"
Ecole Nationale Supérieure
d'Agronomie - THIES

- SOCIOLOGIE RURALE

Oussouby TOURE Sociologue
Ministère du Développement Rural

.../...

III. PERSONNEL EN MISSION (Prévu)

- PARASITOLOGIE

Ph. DORCHIES Professeur
E.N.V. - TOULOUSE (France)

M. KILA'I Professeur
E.N.M.V. SIDI-THABET (Tunisie)

- ANATOMIE PATHOLOGIQUE GENERALE

G. VANHAVERBEKE Professeur
E.N.V. - TOULOUSE (France)

- ANATOMIE PATHOLOGIQUE SPECIALE

A.L. PARODI Professeur
E.N.V. - ALFORT (France)

- PATHOLOGIE DES EQUIDES ET CARNIVORES

A. CHABCHOUB Professeur
E.N.M.V. SIDI-THABET (Tunisie)

- ZOOTECHNIE - ALIMENTATION

A. BENYOUNES Professeur
(Tunisie) E.N.M.V. - SIDI-THABET

- ALIMENTATION

R. PARIGI-BINI Professeur
Université de PADOUE (Italie)

- DENREOLOGIE

J. ROZIER Professeur
E.N.V. - ALFORT (France)

.../...

- PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

P. BERNARD Professeur
E.N.V. - TOULOUSE (France)

M.N. ROMDANE Professeur
E.N.M.V. SIDI-THABET (Tunisie)

- PHARMACIE

J.D. PUYT Professeur
E.N.V. - NANTES (France)

- TOXICOLOGIE

G. SOLDANI Professeur
Université de PISE (Italie)

- PATHOLOGIE BOVINE

J. ESPINASSE Professeur
E.N.V. - TOULOUSE (France)

- PATHOLOGIE INFECTIEUSE

J. CHANTAL Professeur
E.N.V. - TOULOUSE (France)

DEDICACES

JE DEDIE CE TRAVAIL...

//-) DIEU LE PERE TOUT PUISSANT

qui donne au monde tout bien et toute grâce.

//-) MES PARENTS

Pour l'intérêt que vous portez à l'éducation de vos enfants et pour tous les efforts consentis, trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude et le témoignage de mon affection.

Que Dieu vous protège et vous garde.

//-) MES FRERES ET SOEURS

Que notre amour fraternel soit inébranlable en toute situation pour une Famille toujours solide et puissante. J'ai essayé de prendre exemple sur ceux d'entre vous qui ont déjà montré le chemin à suivre pour arriver. A vous autres qui êtes encore sur le chemin, tâchez de faire mieux que moi.

Que Dieu veille sur nous.

//-) Monsieur Alain Ahoté ADJAMBAO et Famille

Vous aviez guidé nos pas vers la Médecine Vétérinaire. Toute notre reconnaissance pour votre contribution à ce que nous sommes aujourd'hui.

Votre disponibilité permanente est pour nous une source d'espoir.

//-)ux Familles NATADJOU, KARKA, KERTEM-KANDJOU, DOROMISSA...

Oeuvrons à consolider davantage les liens qui nous unissent.

//-) Monsieur Koffi TOUGNON et Famille

En témoignage du lien d'amitié qui unit nos deux Familles.

//-) Monsieur Akrima KOGOE et Famille

En témoignage de l'affection que vous portez à notre Famille. Sincère reconnaissance.

//-) Monsieur Koffi AKODA et Famille

En témoignage de la solidarité entre nos deux Familles. Sincère reconnaissance.

.../...

//-) Tout le Personnel Enseignant, Administratif et Technique de l'E.I.S.M.V. de Dakar

Pour les sacrifices consentis à notre formation, trouvez ici le témoignage de notre sincère reconnaissance.

//-) Tous les étudiants de l'E.I.S.M.V.

En témoignage à l'atmosphère de bon voisinage qui règne entre nous en dépit de nos provenances d'horizons divers, trouvez ici l'expression de notre affection.

//-) Tous les étudiants de la 21 Promotion "Birago Diop" et à son répondant le Professeur Justin Ayayi AKAKPO

En souvenir des joies partagées au cours de nos activités.

//-) Tous les membres du G.E.VE.TO.

En témoignage de votre collaboration et de notre affection.

//-) Tous les étudiants Togolais au Sénégal

En souvenir des bons moments passés ensemble. Votre salut réside dans l'union.

//-)ux Docteurs Kokou ABOTCHI, Ibrahim D. BARRY et Bataskom MBAO

En témoignage des encouragements réciproques qui nous rendaient forts dans l'accomplissement de notre mission à Dakar.

//-)u Sénégal, Pays hôte

En reconnaissance de notre séjour paisible.

//-)u Togo

En témoignage de notre profonde reconnaissance.

A NOS MAITRES ET JUGES

- Monsieur Mamadou NDOYE

Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar

Vous nous faites un grand honneur en présidant notre jury de thèse. La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de juger ce travail malgré vos occupations est pour nous le reflet de la réputation que nous connaissons de vous.

Veuillez trouver ici Monsieur le Professeur, l'expression de notre sincère reconnaissance.

- Monsieur Papa El Hassane DIOP

Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar

Nous garderons surtout de vous votre dynamisme et votre rigueur dans le travail.

Malgré vos nombreuses occupations, vous avez toujours manifesté une disponibilité permanente à notre égard. Qui sommes-nous, cher Maître, pour bénéficier d'une telle attention ?

Très sincère reconnaissance.

- Monsieur Charles Kondi AGBA

Professeur agrégé à l'E.I.S.M.V.

Votre simplicité et votre amour du travail bien fait sont pour nous une référence. En dépit de vos obligations du moment, vous avez tenu à participer à l'appréciation de notre travail. Nous sommes très fiers, Monsieur le Professeur, de vous compter parmi nos juges.

Sincère reconnaissance.

- Monsieur Moussa ASSANE

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

Votre disponibilité à l'égard des étudiants est assurément la manifestation de vos qualités humaines et professionnelles. Ce travail nous donne une occasion supplémentaire de bénéficier de vos judicieux conseils.

Sincère reconnaissance.

Monsieur Marie-José AFOUTOU

Professeur agrégé à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar

Vous avez accepté avec joie d'apprécier ce travail. C'est pour nous un grand honneur de vous compter parmi nos juges. Nous allons nous aussi bénéficier de vos précieux conseils comme beaucoup d'autres avant nous.

Hommage respectueux.

REMERCIEMENTS

Nous remercions très sincèrement :

- Le réseau Biotechnologies Animales de l'U.R.E.F. pour avoir financé ce travail.
- Le Professeur BECKERS J.F. à la Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège (BELGIQUE) pour avoir fourni les hormones
- Le Laboratoire INTERVET (Boxmeer, HOLLANDE) pour avoir offert les implants.
- Le Laboratoire PITMAN-MOORE (BELGIQUE) pour avoir fourni les analogues synthétiques de la prostaglandine.

Nos remerciements vont également au Docteur Adama FAYE, Chercheur-Leader du C.R.Z. de Kolda et à tout le Personnel dudit Centre pour avoir rendu possible l'exécution de ce programme à travers la fourniture du matériel animal, les facilités accordées et les multiples marques d'attention qu'ils nous ont témoignées.

Une mention toute spéciale à Kalidou BA, Thierry D. NESSEIM, Fatou DIOP et Oumar FALL qui plus qu'un coup de main, ont exécuté ce programme avec enthousiasme et rigueur comme si c'était le leur. Qu'ils soient remerciés pour tout leur dévouement.

Nous ne manquerons de remercier Madame Mariam DIOUF (Bibliothécaire à l'E.I.S.M.V.), Monsieur Oumar BOUGALEB (Bibliothécaire au L.N.E.R.V.), Monsieur LOUM (U.N.E.S.C.O.), la bibliothécaire de la F.A.O. et Madame TALL (Secrétaire au Département de Chirurgie-Reproduction à l'E.I.S.M.V., dont la collaboration nous a été d'une grande utilité dans les recherches bibliographiques.

Toutes notre reconnaissance à Madame BASSE (L.N.E.R.V.) pour son remarquable travail de mise en forme de cet ouvrage et pour sa grande patience.

Nous remercions très sincèrement le Docteur Ayao MISSOHOU (E.I.S.M.V.) pour le traitement statistique de nos résultats à l'ordinateur et pour ses précieuses indications dans le traitement à la calculette.

Il serait très long de nommer et de remercier individuellement tous les autres dont le concours nous a été utile au cours des différentes étapes qui ont abouti à la réalisation de ce travail. Mais nous nous devons de témoigner de leur collaboration.

**"Par délibération, la Faculté et l'Ecole 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 approba-
tion ni improbation"**

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <u>INTRODUCTION</u> | 1 |
| <u>PREMIERE PARTIE - SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE</u> | 3 |
| <u>Chapitre 1 : Quelques aspects physiologiques de la reproduction chez les femelles bovines</u> | 5 |
| 1.1. La puberté | 5 |
| 1.2. Le cycle sexuel | 7 |
| 1.2.1. La composante cellulaire | 7 |
| 1.2.2. La composante hormonale | 8 |
| 1.2.2.1. Endocrinologie du cycle oestral | 8 |
| 1.2.2.2. Régulation hormonale | 9 |
| 1.2.3. La composante comportementale : l'oestrus | 10 |
| 1.2.3.1. Détection de l'oestrus | 10 |
| 1.2.3.2. Les manifestations de l'oestrus | 11 |
| 1.2.3.3. Durée et intensité de l'oestrus | 11 |
| 1.3. Saisonnalité de la fonction de reproduction chez les bovins tropicaux | 13 |
| <u>Chapitre 2 : Les biotechnologies de l'embryon</u> | 14 |
| 2.1. La transplantation embryonnaire | 14 |
| 2.1.1. Les paramètres techniques | 14 |
| 2.1.1.1. La production d'embryons | 14 |
| 2.1.1.2. Le transfert | 14 |
| 2.1.1.2.1. Facteurs de réussite du transfert | 14 |
| 2.1.1.2.2. Mise en place des embryons | 15 |
| 2.1.1.2.3. Implantation et reconnaissance embryo-maternelle | 16 |
| 2.1.1.3. La conservation des embryons | 16 |
| 2.1.2. Utilisations possibles du transfert d'embryons | 17 |
| 2.1.2.1. Utilisations génétiques | 17 |
| 2.1.2.2. Utilisations zootechniques | 18 |
| 2.1.2.3. Utilisations sanitaire et commerciale | 19 |
| 2.1.2.4. Utilisation d'autres biotechnologies | 19 |

| | Pages |
|----------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.2. Les biotechnologies appliquées au transfert d'embryons | 19 |
| 2.2.1. La bissection d'embryons | 19 |
| 2.2.2. Le sexage d'embryons | 20 |
| 2.2.3. La maturation <i>in vitro</i> (M.I.V.) et la Fécondation | |
| <i>in vitro</i> (F.I.V.) | 20 |
| 2.2.4. Le clonage | 21 |
| 2.2.5. La transgénèse | 21 |
| Chapitre 3 : Superovulation et production d'embryons | 22 |
| 3.1. La superovulation | 22 |
| 3.1.1. Physiologie de la superovulation | 23 |
| 3.1.2. Techniques de la superovulation | 23 |
| 3.1.2.1. Les hormones utilisées | 23 |
| 3.1.2.2. Induction de la superovulation | 24 |
| 3.1.2.3. Endocrinologie de la femelle superovulée | 24 |
| 3.1.2.3.1. Profils hormonaux après superovulation | 25 |
| 3.1.2.3.2. Prédiction de la réponse à la superovulation | |
| par dosage hormonal | 25 |
| 3.2. Fécondation, récolte et jugement des embryons | 27 |
| 3.2.1. Fécondation | 27 |
| 3.2.2. Récolte et jugement des embryons | 28 |
| 3.3. Résultats de la production d'embryons | 29 |
| 3.4. Facteurs de variation de la réponse à la superovulation | 32 |
| 3.4.1. Facteurs intrinsèques | 32 |
| 3.4.1.1. Etat des ovaires au début de la stimulation hormonale | 32 |
| 3.4.1.2. Age | 34 |
| 3.4.1.3. Etat général | 34 |
| 3.4.1.4. Individu | 34 |
| 3.4.1.5. Race | 35 |
| 3.4.1.6. Autres | 35 |
| 3.4.2. Facteurs extrinsèques | 35 |
| 3.4.2.1. Type de gonadotropines | 35 |
| 3.4.2.2. Influence du mâle | 36 |
| 3.4.2.3. Autres | 36 |

| | Pages |
|------------------------------------------------------------------------------|-------|
| <u>Chapitre 2 : Résultats</u> | 52 |
| 2.1. Caractéristiques oestriques | 52 |
| 2.1.1. Chaleurs de référence | 52 |
| 2.1.1.1. Synchronisation des chaleurs | 52 |
| 2.1.1.2. Intervalle injection Prostaglandine - apparition des chaleurs | 54 |
| 2.1.1.3. Intervalle retrait de l'implant - début de l'oestrus | 56 |
| 2.1.1.4. Moment d'expression de l'oestrus | 56 |
| 2.1.1.5. Manifestations des chaleurs | 56 |
| 2.1.1.6. Durée de l'oestrus | 58 |
| 2.1.1.7. Intensité de l'oestrus | 58 |
| 2.1.2. Chaleurs de superovulation | 61 |
| 2.2. Superovulation et production d'embryons | 61 |
| 2.2.1. Réponse ovarienne à la superovulation | 61 |
| 2.2.2. Récolte et jugement des embryons | 67 |
| | |
| <u>Chapitre 3 : Discussion</u> | 69 |
| 3.1. Sélection des animaux | 69 |
| 3.2. Caractéristiques oestriques | 69 |
| 3.2.1. Chaleurs de référence | 69 |
| 3.2.1.1. Synchronisation des chaleurs | 69 |
| 3.2.1.2. Délai d'apparition des chaleurs | 71 |
| 3.2.1.3. Durée de l'oestrus | 72 |
| 3.2.1.4. Intensité de l'oestrus | 73 |
| 3.2.2. Chaleurs de superovulation | 73 |
| 3.3. Production d'embryons et facteurs de variations | 74 |
| 3.3.1. Fécondation | 74 |
| 3.3.2. Appréciation de la réponse ovarienne à la stimulation hormonale | 75 |
| 3.3.2.1. Résultats globaux | 75 |
| 3.3.2.2. Effets de l'âge | 76 |
| 3.3.2.3. Effets de la dose | 77 |
| 3.3.2.4. Effets du jour d'induction de la superovulation | 78 |
| 3.3.3. Récolte | 79 |
| | |
| <u>CONCLUSION</u> | 80 |
| | |
| <u>BIBLIOGRAPHIE</u> | 84 |
| | |
| <u>ANNEXES</u> | 99 |

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Tableaux

| | <u>Pages</u> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| <u>Tableau I</u> : Age et poids à la puberté des races trypanotolérantes | 6 |
| <u>Tableau II</u> : Développement embryonnaire normal | 30 |
| <u>Tableau III</u> : Répartition des femelles par âge et par lots | 42 |
| <u>Tableau IV</u> : Répartition des doses selon le jour du traitement | 46 |
| <u>Tableau V</u> : Situation par lot de venues en oestrus | 54 |
| <u>Tableau VI</u> : Réactions individuelles : Génisses, 32 mg p-FSH à partir de J ₁₀ ... | 63 |
| <u>Tableau VII</u> : Réactions individuelles : Génisses, 40 mg p-FSH à partir de J ₁₀ ... | 63 |
| <u>Tableau VIII</u> : Réactions individuelles : Génisses, 32 mg p-FSH à partir de J ₁ ... | 63 |
| <u>Tableau IX</u> : Réactions individuelles : Génisses, 40 mg p-FSH à partir de J ₁ | 64 |
| <u>Tableau X</u> : Réactions individuelles : Vaches, 32 mg p-FSH à partir de J ₁₀ | 64 |
| <u>Tableau XI</u> : Réactions individuelles : Vaches, 40 mg p-FSH à partir de J ₁₀ | 64 |
| <u>Tableau XII</u> : Réactions individuelles : Vaches, 32 mg p-FSH à partir de J ₁ | 65 |
| <u>Tableau XIII</u> : Réactions individuelles : Vaches, 40 mg p-FSH à partir de J ₁ | 65 |
| <u>Tableau XIV</u> : Résultats des récoltes | 68 |
| <u>Encadré</u> : Classification des embryons selon leur qualité | 31 |

Figures

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <u>Figure 1</u> : Représentation schématique globale des interventions | 43 |
| <u>Figure 2</u> : Distribution des femelles selon la venue en chaleurs | 53 |
| <u>Figure 3</u> : Intervalle PG - chaleurs selon l'âge | 53 |
| <u>Figure 4</u> : Distribution des femelles selon le délai d'apparition de l'oestrus | 55 |
| <u>Figure 5</u> : Distribution des femelles selon le moment d'expression de l'oestrus | 57 |
| <u>Figure 6</u> : Durée de l'oestrus selon l'âge | 59 |
| <u>Figure 7</u> : Répartition des femelles selon la durée de l'oestrus | 59 |
| <u>Figure 8</u> : Distribution des femelles selon le nombre total de chevauchements acceptés .. | 60 |
| <u>Figure 9</u> : Distribution des femelles selon le moment d'acceptation de chevauchements | 62 |
| <u>Figure 10</u> : Répartition des femelles en fonction du nombre de corps jaunes palpés | 66 |

INTRODUCTION

Les nouvelles biotechnologies de la reproduction du bétail présentent un tel attrait qu'il ne serait être question de nos jours, de mettre en place un schéma d'amélioration génétique du bétail qui ne soit basé en tout ou partie sur leur utilisation (CHUPIN, 1993). Parmi elles, la transplantation embryonnaire (T.E.) représente l'outil indispensable qui permet l'utilisation d'autres biotechnologies plus sophistiquées (bissection, sexage, fécondation *in vitro*, clonage, transgénèse).

Discrètement mais sûrement le transfert d'embryons fait son entrée en Afrique surtout dans l'élevage de bovins, espèce domestique dont l'aptitude reproductrice est la plus limitée pour les femelles. Des essais y ont été entrepris sur les races locales de plus en plus sur le bétail trypanotolérant (BIANCHI *et al.*, 1986 ; JORDT *et al.*, 1986 ; JORDT et LORENZINI, 1990 ; OUATTARA, 1990 ; FALL, 1992 ; DIOP *et al.*, 1994a). Du fait de leur relative tolérance à la trypanosomose animale, laquelle sévit sur plus du tiers du continent africain, les bovins trypanotolérants, au delà des avantages d'un élevage de bovins (CHOQUEL, 1969 ; F.A.O., 1983) sont vraiment utiles dans cette partie de l'Afrique en rendant surtout possible leur implantation dans des zones où l'élevage n'a été encore pratiqué. Malgré leur petit format qui pendant longtemps a joué en leur défaveur, un large consensus s'est en effet établi pour considérer que ces races pouvaient représenter avec l'appui des biotechnologies animales, un excellent atout au développement de l'élevage dans les régions infestées de glossines.

L'objectif de notre travail n'est pas tant une démonstration en milieu africain de l'applicabilité de la transplantation embryonnaire, qu'une contribution à la maîtrise chez les races locales, de la superovulation qui constitue le véritable talon d'Achille de cette technique de reproduction animale. La superovulation présente en effet une grande variabilité dans sa réponse, variabilité à laquelle de nombreux auteurs ont tenté le plus souvent à travers des hypothèses de lui apporter explication et solution.

Il s'agit principalement à travers ce travail d'améliorer les connaissances concernant la physiologie de la reproduction des bovins trypanotolérants d'Afrique ainsi que celles concernant certains facteurs susceptibles de modifier l'efficacité de la superovulation. Ainsi, nous avons étudié pendant la saison des pluies, les effets de l'âge et des doses d'un agent stimulant, la p-F.S.H sur la réponse au traitement de superovulation.

.../...

Ce travail comporte deux parties :

- la première partie, consacrée à une étude bibliographique passe en revue certains aspects de la physiologie de la reproduction des femelles bovines et fait le point sur les biotechnologies de l'embryon bovin avec insistance sur l'étape de la production d'embryons.

- La deuxième partie rapporte notre contribution à l'amélioration de l'efficacité des traitements de superovulation chez la Ndama (bovin trypanotolérant) à travers une expérimentation réalisée au Centre de Recherches Zootechniques de Kolda au Sénégal.

PREMIERE PARTIE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

En zone tropicale, l'on distingue morphologiquement deux types de bovins : les bovins à bosse ou zébus (*Bos indicus*) et les bovins sans bosse (*Bos taurus*). Seuls les zébus sont en fait typiquement tropicaux. Quant aux taurins, ils sont soit autochtones, soit d'importation (CHICOTEAU, 1991).

Les bovins trypanotolérants d'Afrique appartiennent tous au groupe des taurins. Il s'agit de bovins autochtones capables de survivre en milieux infestés de glossines, vectrices de la trypanosomose, de s'y développer et de fournir une production appréciable. La trypanotolérance est caractérisée par des marqueurs cliniques, immunologiques et génétiques (TOURE, 1977 ; DUVALLET, 1993 ; d'IETEREN, 1994).

La répartition géographique adoptée pour caractériser l'habitat des bovins en Afrique subsaharienne suit des types particuliers de paysages et montre une adaptation des races à des milieux spécifiques (CHOQUEL, 1967). Le bétail trypanotolérant se trouve ainsi presque exclusivement en Afrique Occidentale et Centrale. Cette répartition est tributaire de la distribution des glossines. Ces régions possèdent malgré la trypanosomose, un potentiel très important en matière d'élevage. En effet, contrairement aux autres régions d'Afrique tropicale, en ce qui concerne la situation de l'élevage (HOSTE, 1992), seules l'Afrique Occidentale et Centrale grâce à l'espace, au bétail trypanotolérant, aux ressources alimentaires et en eaux dont elles disposent, ont la possibilité de faire face à long terme à la demande croissante de l'Afrique tropicale en produits animaux et d'origine animale, et ce, sans effets négatifs sur l'environnement. C'est la raison pour laquelle la F.A.O., sur recommandation de la Conférence Mondiale de l'Alimentation de 1974, avait fait démarrer depuis 1975 un "Programme de lutte contre la trypanosomiase animale africaine et de mise en valeur des zones en cause". L'un des points importants de ce programme est l'utilisation de bétail trypanotolérant dans les régions infestées par les glossines.

Parmi les bovins trypanotolérants, le taurin Ndama représente la catégorie la plus importante (TRAIL *et al.*, 1980a et b ; HOSTE *et al.*, 1988).

CHAPITRE 1 - QUELQUES ASPECTS PHYSIOLOGIQUES DE LA REPRODUCTION CHEZ LES FEMELLES BOVINES

La parfaite connaissance de la physiologie sexuelle des animaux et sa maîtrise sont indispensables à la réussite d'un programme de biotechnologies de la reproduction animale.

1.1. LA PUBERTE

Définie comme la période physiologique de l'instauration de la possibilité de fécondation, la puberté est caractérisée par le premier oestrus qui peut être soit observé à travers les comportements de l'animal, soit traduit par un niveau significatif de progestérone dans le plasma.

En réalité, la puberté n'est pas instantanée ; elle est plutôt un phénomène progressif (**SAUVEROCHE** et **WAGNER**, 1993). Avant la première ovulation en effet, les ovaires sont le siège de vagues de croissance de follicules à antrum qui n'arrivent pas à terme. Parfois, un follicule arrive même à maturité et ovule sans pour autant qu'il y ait formation de corps jaune. De plus, le fonctionnement des corps jaunes peut parfois s'établir graduellement. La puberté n'est donc pas nécessairement synonyme d'aptitude à la reproduction.

D'après des observations en divers sites, compilées par **SAUVEROCHE** et **WAGNER** (1993), il apparaît que pour des femelles d'une même race, le poids moyen semble être plus homogène (autour de 180 kg pour la Ndama) que l'âge moyen à la puberté (Tableau I). En effet, cet âge varie de 353 jours (environ 12 mois) à 856 jours (environ 29 mois) pour les mêmes Ndama. Cette disparité concernant l'âge à la puberté serait largement conditionnée par des facteurs du milieu en l'occurrence les variations de l'offre alimentaire d'où des variations de la vitesse de croissance des animaux.

C'est ainsi que l'on considère que la puberté se déclenche lorsque l'animal a atteint un certain pourcentage du poids adulte. Pour les Ndama, **MEYER** et **YESSO** (1991), observent que la puberté apparaît à 60 % du poids adulte contre 64 % pour les femelles Baoulé.

Tableau I : Age et poids à la puberté des races trypanotolérantes

| Race | Pays et système | | N | Définition | Age (j) | | Poids (kg) | | Référence |
|-------------------|-----------------|---------|----|--------------------------|---------|-------|------------|-------|---------------------|
| | | | | | x | ± e.t | x | ± e.t | |
| Baoulé | Burkina Faso | Station | 15 | Premier oestrus | 414 | 66 | 120 | 21 | Chicoteau 1989 |
| | Burkina Faso | Station | 14 | Premier pic Progestérone | 426 | 61 | 123 | 17 | Chicoteau 1989 |
| | Côte d'Ivoire | Station | 6 | Premier pic Progestérone | 732 | 103 | 134 | 17 | Meyer et Yesso 1991 |
| | Côte d'Ivoire | Station | 5 | Premier pic Progestérone | 782 | 128 | 120 | 18 | Meyer et Yesso 1991 |
| Ndama | Ghana | Station | 8 | Premier pic Progestérone | 856 | 171 | 176 | 24 | Gyawu et al. 1989 |
| | Ghana | Station | 18 | Premier pic Progestérone | 781 | 158 | 182 | 14 | Osei et al. 1991 |
| | | Station | 5 | Premier oestrus | 353 | 73 | < 200 kg | | Ralambofiringa 1975 |
| | | Station | 5 | Premier pic Progestérone | 815 | 104 | 175 | 20 | Meyer et Yesso 1991 |
| Ndama x Baoulé | Ghana | Ferme | 50 | Premier pic Progestérone | 899 | 132 | - | - | Osei et al. 1989 |
| | Ghana | Ferme | 50 | Premier pic Progestérone | 949 | 79 | - | - | Osei et al. 1989 |

Source : SAUVEROCHE et WAGNER, 1993

x = moyenne
j = jour

N = nombre de femelles
kg = kilogramme

e.t = écart-type

1.2. LE CYCLE SEXUEL

Instauré dès la puberté, le cycle sexuel se traduit par une succession d'évènements se produisant à trois niveaux :

- au niveau de l'ovaire (cycle ovarien),
- au niveau hormonal (cycle hormonal).
- et au niveau comportemental (cycle oestral),

1.2.1. La composante cellulaire

Chez les bovins, les femelles naissent avec une importante réserve d'ovocytes qui s'est constituée pendant la vie foetale. Ces ovocytes dont le développement s'est arrêté constituent le pool des follicules primordiaux.

Dès la puberté, se déroule périodiquement au sein de l'ovaire en absence de fécondation, la croissance des follicules depuis le stade des follicules primordiaux jusqu'aux follicules qui ovulent ou qui deviennent atrétiques. L'ensemble de ces processus de développement folliculaire constitue la **folliculogénèse**. La population folliculaire dans un ovaire est très hétérogène (SAUMANDE, 1981). Les follicules sont classés selon divers critères tels que la taille (le diamètre est la donnée la plus fréquemment retenue), la morphologie ou le degré d'évolution (nombre de couches de cellules de la granulosa et l'importance relative de l'antrum) et l'état (normal ou atrétique).

A la suite d'hypothèses contradictoires à propos du comportement du développement des follicules ovariens pendant le cycle oestral chez les bovins, SIROIS et FORTUNE (1988) ayant essayé de déterminer à l'échographie si la croissance des follicules ovariens est continue et indépendante de la phase du cycle ou si des vagues de croissance folliculaire se produisent à un moment précis du cycle, indiquent que durant chaque cycle oestral, il peut y avoir 2, souvent 3, parfois 4 vagues de croissance folliculaire. Durant chaque vague, précisent-ils, plusieurs follicules débutent leur croissance avec un "dominant" en leur sein puis en présence d'un corps jaune fonctionnel régressent avant le démarrage d'une nouvelle vague. Pour les femelles qui présentent 3 vagues par cycle, les première, deuxième et troisième vagues ont débuté respectivement aux jours $1,9 \pm 0,3$; $9,4 \pm 0,5$ et $16,1 \pm 0,7$ (longueur du cycle oestral : $20,7 \pm 0,4$ j) tandis que pour les femelles qui présentent 4 vagues par cycle, les première, deuxième, troisième et quatrième vagues ont débuté respectivement aux jours 2, 8, 14 et 17 (longueur du cycle oestral : 23 jours). Quel que soit le nombre de vagues par cycle, ce n'est que dans la dernière vague que le follicule dominant ovule.

Apportant une précision sur la sélection du follicule dominant dans la dernière vague, **TOUATI *et al.*** (1989) indiquent qu'au moment de la régression lutéale chez la vache, plusieurs follicules se trouvent au stade cavitaire (3 à 5 mm de diamètre) et c'est celui d'eux dont le développement sera plus rapide qui arrivera seul à maturité après avoir provoqué l'atrésie des autres.

MARION et **GIER** (1971) cités par **SAUMANDE** (1981) ont observé chez la vache qu'au cours de la folliculogénèse parmi les follicules qui quittent le pool des primordiaux, 1 sur 2000 atteint le stade préovulatoire. Toutefois, dès l'âge de 7 à 9 ans, le nombre de follicules engagés dans la croissance commence à diminuer.

L'ovulation, événement exceptionnel du cycle survient après rupture du follicule mûr ou follicule de **DE GRAAF**. L'ovule est alors libéré au niveau du stigma. L'ovulation survient en moyenne 10 à 11 heures après la fin des chaleurs (**RALAMBOFIRINGA**, 1975) ou en moyenne 24 heures après le début des chaleurs, avec une fréquence plus élevée sur l'ovaire droit que sur l'ovaire gauche : 63 % contre 27 % (**THIMONIER**, 1978 rapportant les observations de **MARIANA et al.**, 1970). Cette prédominance de l'activité ovarienne droite également notée chez les bovins trypanotolérants (Baoulé) s'accompagne selon **MAMBOUE** (1987) cité par **SAUVEROCHE** et **WAGNER** (1993), d'une taille plus grande de l'ovaire droit $3,0 \pm 1,9$ cm contre $2,4 \pm 1,3$ cm pour l'ovaire gauche.

Après l'ovulation, le follicule rompu se transforme en corps jaune ou *corpus luteum* (C.L.). Selon que l'ovulation ait été suivie ou non de fécondation, il est dit corps jaune gestatif (C.L. verum) dans le premier cas ou corps jaune périodique (C.L. spurium) dans le second cas ; c'est ce dernier qui va régresser en corps blanc ou *corpus albicans*.

1.2.2. La composante hormonale

Elle est en étroite relation avec la composante cellulaire.

1.2.2.1. Endocrinologie du cycle oestral

Diverses hormones sont impliquées dans le cycle oestral (**BOUSQUET**, 1989). Parmi elles, les oestrogènes (oestradiol-17 β et oestrone) et la progestérone sont les principaux produits de l'activité ovarienne.

- Les oestrogènes

Parmi les oestrogènes produits par le follicule, l'oestradiol-17 β est prédominant. Il est à cet effet souvent exclusivement dosé.

Chez les bovins trypanotolérants, les valeurs limites d'oestradiol trouvées par **DIOUF** (1991) sont de 6,9 - 15 pg/ml chez la Ndama. **MEYER** et **YESSO** (1992) cités par **SAUVEROCHE** et **WAGNER** (1993) trouvent pour leur part des limites plus faibles : 5,8 - 10,8 pg/ml (Ndama) et 5,1 - 10,9 pg/ml (Baoulé).

Leur dosage pose quelques difficultés tenant à leur faible concentration (**SAUMANDE**, 1987) ce qui nécessite des méthodes de dosage très sensibles.

- La progestérone

L'évolution souvent observée dans la progestéronémie est la suivante :

- . moins de 1 ng/ml de J₀ jusqu'à J₂ - J₃ ;
 J₀ = jour du début de l'oestrus)
- . 1 à 1,4 ng/ml jusqu'à J₈ - J₉
- . 7 à 14 ng/ml (9,5 \pm 0,4 ng/ml) jusqu'à J₁₇
- . de J₁₇ à J₂₀ diminution et retour à moins de 1 ng/ml.

Selon **SAUVEROCHE** et **WAGNER** (1993), la progestéronémie élevée en phase lutéale chez les races trypanotolérantes (jusqu'à 15 ng/ml) comparée aux valeurs des autres races (moins de 5 ng/ml) serait un caractère spécifique de ces races trypanotolérantes.

Il existe différentes méthodes de dosage de la progestérone (**DIOUF**, 1991). Elles peuvent être classées en trois grands groupes : les **tests biologiques**, les **tests physico-chimiques** (radio-immunodosage, enzymo-immunodosage, fluoro-immunodosage ...) et les **tests immuno-enzymatiques** dont l'ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) est le plus utilisé actuellement.

Outre l'étude de l'activité ovarienne, le dosage de progestérone permet de poser un diagnostic précoce de gestation ou plus précisément de non-gestation.

1.2.2.2 Régulation hormonale

Les différentes hormones impliquées, par leur production et l'équilibre s'établissant entre elles, assurent le contrôle de l'activité cyclique.

La régulation hormonale s'établit dans un axe hypothalamo-pituitaire-ovarien où les principales caractéristiques relationnelles de chaque hormone sont bien connues (BOUSQUET, 1989).

1.2.3. La composante comportementale : l'oestrus

C'est l'ensemble des phénomènes physiologiques et comportementaux qui précèdent et accompagnent l'ovulation chez les femelles de mammifères.

Bien qu'étant le seul événement visible du cycle, sa détection n'est pas toujours aisée. De nombreux facteurs ont en effet des incidences sur l'extériorisation de l'oestrus, sa durée et son intensité (SAUVEROCHE et WAGNER, 1993).

1.2.3.1. Détection de l'oestrus

Opération délicate mais dont la précision est essentielle, la détection des chaleurs est un élément clé dans la maîtrise de la reproduction des animaux domestiques par les biotechnologies animales. Presque toutes les étapes de la production au transfert d'embryons sont fixées par rapport au début de l'oestrus. C'est ce qui fait écrire RECCA (1981) : "maîtriser la reproduction c'est d'abord bien détecter les chaleurs".

Diverses méthodes existent pour faciliter la détection des chaleurs (HANZEN, 1981 ; GUEYE, 1983 ; DIOUF, 1991 ; MEYER et YESSO, 1991). Il y a des méthodes de détection par observation directe ou indirecte (marqueurs et révélateurs de chevauchements) et des méthodes de détection non visuelles (dosage des hormones sexuelles, mesure du pH intra-vaginal, etc...). Chaque méthode a ses avantages et ses inconvénients, et donc selon le cas offre une sensibilité et une spécificité variables. Parmi elles, la détection par observation directe mérite une attention particulière.

Pour être efficace, chaque individu du troupeau doit être identifié. De plus, deux observations d'une demi-heure environ peuvent être fixées matin et soir : en élevage extensif, tôt le matin avant la remise au pâturage et le soir au retour à l'étable). Une double période d'observations permet la détection de 88 % des chaleurs (DONALSON, 1968 cité par HANZEN, 1981). L'observation permanente est cependant plus efficace mais l'éleveur n'a pas que cela à faire.

Une bonne détection exige de l'observateur la connaissance des modifications comportementales en période d'oestrus.

.../...

1.2.3.2. Les manifestations de l'oestrus

En dépit d'une multitude de manifestations (activité généralement limitée, appétit réduit, attirance d'autres vaches, beuglements fréquents, tentatives de chevauchement d'autres vaches, recherche de la proximité des mâles, etc...), l'acceptation du chevauchement par un congénère (mâle ou femelle), donc l'immobilisme postural de la femelle, représente le signe majeur de l'oestrus. C'est le critère généralement retenu pour caractériser le début de l'oestrus.

Certains signes anatomiques révèlent également l'état d'oestrus. Il s'agit entre autres de la tuméfaction et de la congestion de la vulve, parfois de l'émission puis de l'écoulement d'une glaire transparente entre les lèvres vulvaires. Pendant cette période, l'examen transrectal des organes génitaux internes révèle à la palpation, un utérus très tonique (signe pathognomonique) et au niveau de l'ovaire un gros follicule ou un point ovulatoire.

1.2.3.3. Durée et intensité de l'oestrus

- Durée

La durée exacte de l'oestrus est de détermination parfois difficile. Ce qui la rend en fait difficile c'est la détermination de son début et de sa fin, lesquels repères ne sont assez nets que lors de chaleurs intenses.

Elle serait de 18 à 19 heures chez les taurins des pays tempérés et de 7 à 10 heures (valeurs extrêmes 1-21 heures) chez les zébus. Avec parfois de grandes variations chez les bovins trypanotolérants, elle est en moyenne de l'ordre de 10-12 heures en cycle naturel (RALAMBOFIRINGA, 1975) qu'en cycle induit (DIOP *et al.*, 1994b et c ; MEYER et YESSO, 1991).

- Intensité

Elle peut être traduite à travers le nombre de chevauchements acceptés (lui-même fonction de la durée des chaleurs) par unité de temps (heure ou demi-heure).

Les bovins trypanotolérants présentent une valeur un peu réduite ou comparable aux 4 à 6 chevauchements rapportés chez les bovins des pays tempérés (PACCARD, 1985 cité par SAUVEROCHE et WAGNER, 1993).

.../...

C'est au cours de la nuit que l'oestrus se manifeste avec plus d'intensité. Selon SAUVEROCHE et WAGNER (1993), les vaches n'extériorisent mieux un comportement sexuel que pendant les heures fraîches. L'activité de monte apparaît en effet le plus souvent en début de soirée et se termine généralement en début de matinée.

En milieu tropical, deux pics d'intensité sont souvent notés chez les bovins trypanotolérants. RALAMBOFIRINGA (1975) en Côte d'Ivoire, observe le pic le plus important le matin entre 7 et 9 heures chez la Ndama. Au Sénégal, DIOP *et al.* (1994b, 1994c) signale chez la Ndama, un caractère plutôt nocturne de l'oestrus (18 h - 6 h). Bien que le rythme bimodal soit encore observé (0-6 h , 18-24 h), plus de femelles extériorisent l'oestrus entre 18 h et 24 h.

Il existe toutefois une différence significative dans le moment d'apparition des chaleurs entre le milieu traditionnel et la station. Cette différence porte soit sur le taux de venue en chaleur supérieur en milieu traditionnel (87 % contre 72 % entre 18 h et 6 h), soit sur le moment d'apparition du pic nocturne d'intensité de l'oestrus qui se trouve déplacé en milieu traditionnel vers 15-17 h (RALAMBOFIRINGA, 1975). Dans ce second cas, les Ndama étant attachées la nuit, n'ont pu être observées pendant cette période.

1.3. SAISONNALITE DE LA FONCTION DE REPRODUCTION CHEZ LES BOVINS TROPICAUX

De nombreuses études ont montré l'existence de variations saisonnières de la fonction de reproduction chez les bovins. Le fait le plus marquant est représenté par le saisonnement des vêlages particulièrement net en milieu non maîtrisé. Un regard sur la répartition des vêlages en élevages non maîtrisé révèle en effet qu'elle est irrégulière. La distribution des vêlages dans l'année indique que les mises bas sont souvent centrées sur certaines périodes de l'année. Même en station, PLANCHENAULT (1987) cité par CHICOTEAU (1989) constate que la conduite atténue le pic de vêlage sans le faire disparaître.

Le saisonnement des vêlages peut trouver origine dans divers facteurs pouvant affecter la fertilité dans les deux sexes : alimentation, pathologie, conduite du troupeau... Mais il est difficile de distinguer dans cette saisonnalité, la part de variation tenant à la conduite du troupeau de celle tenant aux facteurs environnementaux. Pour CHICOTEAU (1989), les variations saisonnières de la fonction sexuelle sont pour la

plupart dues aux effets indirects du climat sur l'alimentation et la pathologie. Il voit en ce saisonnement des vêlages une adaptation en particulier au disponible alimentaire et au risque pathologique. La saison des pluies serait alors la période de fertilité naturelle des bovins en milieu tropical.

En relation principalement avec les variations du disponible alimentaire, **SAUVEROCHE et WAGNER** (1993) citant respectivement OSEI *et al.* (1989) puis THIOMBIANO (1989), rapportent chez la Ndama et la Baoulé, une influence de la saison de naissance sur l'âge à la puberté.

Cependant, l'analyse des répartitions de vêlages en particulier en élevage extensif peut révéler que la période de fertilité naturelle des bovins coïncide avec la saison sèche. Le saisonnement ne peut plus dans ce cas, être lié à un facteur alimentaire (**CHICOTEAU**, 1989). Il serait nécessaire en milieu traditionnel de respecter ce saisonnement.

Un fait est réel : dans l'année, il y a des mois plus propices que d'autres à la fécondation. Ce fait peut être mis en relation avec le taux de cyclicité des femelles, variable selon les saisons : 91 % de femelles Baoulé cyclées en saison sèche fraîche contre moins de 50 % en saison pré-pluvieuse, chaude et humide (**CHICOTEAU *et al.***, 1990). Il a été en effet démontré que la fertilité des femelles cyclées est supérieure à celle des femelles non cyclées (**CHICOTEAU**, 1989 citant successivement CHUPIN, 1977 ; CHUPIN et PELOT, 1977 ; AGUER, 1981 ; BROWN *et al.*, 1988). La saison pré-pluvieuse dans ces conditions (Burkina Faso) est donc la plus défavorable chez les Baoulé.

En ce qui concerne spécialement le cycle sexuel, les bovins trypanotolérants ne présentent pas de variations saisonnières ni de la durée de l'oestrus ni de son intensité en condition de station (**CHICOTEAU *et al.***, 1990). Ce second caractère en particulier traduit d'après THIMONIER et CHEMINEAU (1988) cités par **SAUVEROCHE et WAGNER** (1993) une adaptation de ces races aux conditions climatiques tropicales. Des races européennes, placées en climat tropical présentent en effet une nette diminution de la durée de l'oestrus (GWAZDAUSKAS, 1985 cité par **SAUVEROCHE et WAGNER**, 1993).

La fonction sexuelle des bovins trypanotolérants est tout à fait comparable en milieu contrôlé à celle des bovins des zones tempérées (**CHICOTEAU**, 1991). Ceci autorise l'utilisation en milieu tropical des biotechnologies de la reproduction animale.

.../...

CHAPITRE 2 - LES BIOTECHNOLOGIES DE L'EMBRYON

2.1. LA TRANSPLANTATION EMBRYONNAIRE

C'est un ensemble de techniques de reproduction qui consiste après fécondation, en la collecte d'embryons de l'utérus de femelles appelées donneuses (mères génétiques) puis à les transférer dans l'utérus d'autres femelles appelées receveuses (mères porteuses) qui assurent la gestation jusqu'à terme.

2.1.1. Les paramètres techniques

La transplantation embryonnaire peut être divisée en trois étapes : la production, le transfert et le stockage des embryons.

2.1.1.1. La production d'embryons

Elle regroupe quatre opérations : la superovulation, la fécondation, la collecte et le jugement.

L'obtention chez une femelle de plusieurs ovulations à la fois nécessite l'induction hormonale d'une superovulation. La fécondation est obtenue le plus souvent en milieu tropical par saillie naturelle, en monte libre ou contrôlée, quoique possible également par insémination artificielle avec de la semence fraîche ou congelée.

La collecte des embryons est généralement effectuée par voie cervicale bien que possible également par voie chirurgicale. La qualité des embryons est ensuite appréciée et seuls sont retenus les embryons aptes à donner lieu à une gestation après transfert.

La sélection des donneuses ne doit pas être laissée au hasard. Il faut veiller aux qualités génétiques et à l'intégrité de l'appareil génital (LAMOTHE, 1989a) lors de leur sélection.

2.1.1.2. Le transfert

2.1.1.2.1. Facteurs de réussite du transfert

Le taux de succès du transfert d'embryons dépend d'une multiplicité de facteurs dont la qualité des embryons, le choix de receveuses et la synchronie oestrals des receveuses avec le stade de développement embryonnaire.

L'appréciation de la qualité des embryons est susceptible de varier en fonction de la personnalité de chacun et ne permet sans doute pas de trier réellement les meilleurs embryons.

Le choix des receveuses est un préalable à réaliser. Il faut en effet des receveuses d'embryons dont l'état de l'appareil génital et l'état général permettent d'assurer une gestation normale.

L'asynchronie utérine étant considérée comme une cause de mortalité embryonnaire (POPE, 1988), l'âge de l'embryon au moment du transfert doit nécessairement correspondre à celui de l'utérus qui le reçoit. Un écart d'un jour (± 1 jour) est toutefois toléré en pratique. HUMBLLOT (1988) estime cependant que le développement d'un embryon plus âgé que l'utérus d'un jour environ peut être normal mais la réciproque n'est pas possible.

Le traitement de synchronisation des receveuses dans son ensemble est similaire à celui des donneuses d'embryons. Lors de traitement simultané de donneuses et de receveuses, les dernières reçoivent la prostaglandine 12 heures avant les premières. De plus les receveuses ne sont pas inséminées à l'oestrus sauf parfois lors de la production de jumeaux.

2.1.1.2.2. Mise en place des embryons

Bien que possible par voie chirurgicale, la mise en place dans l'utérus par la méthode cervicale est simple, rapide et la plus couramment employée. Elle repose sur l'utilisation de pistolet d'I.A. "CASSOU", l'embryon remplaçant la semence à l'intérieur de la paillette. L'embryon est alors déposé dans la corne ipsi latérale au corps jaune.

Le transfert est effectué entre J₇ et J₁₁ (J₀ = jour de début de l'oestrus). Cependant le taux de gestation obtenue par la méthode cervicale est meilleur lorsque le transfert est pratiqué à J₁₀ - J₁₁ qu'à J₇ (NIBART et BOUYSSOU, 1981). Ceci semble être lié à la qualité des embryons : il est en effet plus aisé de juger la qualité des embryons à J₁₀ - J₁₁ qu'à J₇.

Les taux de conception après transfert par voie cervicale sont supérieurs d'au moins 5 % par rapport à la voie chirurgicale d'après LAMOTHE (1989c) se basant sur les statistiques québécoises en matière de transfert d'embryons.

2.1.1.2.3. Implantation et reconnaissance embryo-maternelle

Après sa sortie de la membrane pellucide, l'embryon reste libre pendant un temps long (environ 20 jours) dans la lumière utérine avant de s'implanter à la muqueuse utérine sous l'effet de diverses hormones (HUMBLOT, 1988 ; HUMBLOT, 1991). Le signal du maintien du corps jaune est donné bien avant l'implantation.

Le milieu utérin est journallement modifié et cette modification assure la croissance de l'embryon. Toute modification anormale de cet environnement par quelques causes que ce soit peut être à l'origine d'accidents de gestation (CHAFFAUX, 1992).

Afin d'éviter tout surplus donc pertes d'embryons lors de préparation simultanée des donneuses et receveuses, la conservation d'embryon en particulier la congélation en permettant une transplantation différée rend possible le commerce d'embryons.

2.1.1.3. **La conservation des embryons**

L'embryon bovin peut être conservé pendant 24 à 48 heures entre 0-4 °C mais avec une diminution de viabilité (CHUPIN, 1985 citant respectivement BONDURANT *et al.*, 1981 ; LINDNER *et al.*, 1982).

La congélation permet quant à elle de rendre possible la conservation prolongée. Grâce à elle le T.E. permet la conservation à long terme de la variabilité génétique des races animales.

La conservation de l'embryon par congélation est bien décrite (PICARD, 1989c ; SEIDEL, Jr et SEIDEL, 1991).

Le principe de la congélation est d'empêcher la formation de gros cristaux de glace au moment de la cristallisation du milieu de culture contenu dans une paillette et contenant l'embryon. Un cryoprotecteur est ajouté à ce milieu avant la congélation : il s'agit le plus souvent de glycérol.

La cristallisation débute généralement vers -7 °C et se poursuit à un rythme régulier mais lent de 0,5 °C (0,3 °C -0,7 °C/minute jusqu'à -30 °C (ou -35 °C à -38 °C).

L'embryon se déshydrate progressivement (l'eau intracellulaire libérée se transforme en glace) et le milieu intracellulaire devenant de plus en plus concentré supporte le passage direct dans l'azote liquide à -196 °C.

.../...

Il existe une nouvelle approche de cryoconservation sans formation de cristaux de glace : la **vitrification**. Il s'agit de soumettre les embryons à des concentrations très élevées de cryoprotecteurs rendant possible l'immersion directe des paillettes contenant les embryons dans l'azote liquide. Une description de cette méthode est faite par **MASSIP (1993)**.

Le mérite de cette méthode de congélation par vitrification réside dans le fait qu'elle n'utilise aucun appareil coûteux de congélation. Elle ne permet pas malheureusement un transfert direct. La vitrification n'est pas encore utilisée en routine pour la congélation d'embryons bovins (**SEIDEL, Jr et SEIDEL, 1991**).

Après décongélation dans un bain d'eau à 20 °C environ, le cryoprotecteur doit être retiré avant transfert. Le retrait de cryoprotecteur se fait soit hors de la paillette par dilutions successives, soit de l'intérieur de la paillette par une solution de sucre (**RENARD et al., 1982**) permettant ainsi le transfert direct après décongélation : c'est la méthode "**one step**". **MASSIP et VAN DER ZWALMEN (1984)** proposent une simplification de la méthode de transfert direct après décongélation sans dilution en congelant (dans les paillettes) les embryons dans un mélange glycérol-sucrose.

Divers variantes de congélation pour un transfert direct après décongélation ont été proposées (**TOUATI et al., 1990 ; VOELKEL et HU, 1992**).

2.1.2. Utilisations possibles du transfert d'embryons

L'impact possible du transfert d'embryons nié autrefois à ses débuts puis exagéré récemment dans les schémas "MOET" est aujourd'hui estimé à une plus juste mesure (**CHUPIN, 1993**). Malgré ses nombreuses utilisations possibles, il serait néanmoins judicieux de s'assurer rigoureusement de son intérêt économique avant de la mettre en application. La mise en application de cette méthode de reproduction peut servir une multiplicité d'objectifs, d'ordres génétique (aspect individuel et collectif), zootechnique, sanitaire et commercial (**MOCQUOT, 1982 ; COLLEAU, 1985 ; CHUPIN, 1985 ; SMITH, 1988 ; PERRIN, LACAZE et COUPET, 1989 ; SEIDEL Jr et SEIDEL, 1991 ; CHUPIN, 1993 ; COLLEAU, 1993 ; DIOP, 1993**).

2.1.2.1. Utilisations génétiques

L'amélioration génétique des caractères de production fait intervenir la création du progrès génétique et la diffusion de ce progrès.

Hormis la variabilité génétique, le transfert d'embryons affecte positivement les autres paramètres (la précision d'estimation de la valeur génétique de chaque reproducteur, la pression de sélection et l'intervalle de génération), lesquels sont étroitement dépendants les uns des autres. Le progrès génétique rapidement créé puis disséminé par le biais du transfert d'embryons, est donc la résultante de la combinaison de ces quatre paramètres à travers les quatre voies (père-fils, père-filles, mère-fils et mère-filles) de transmission de gènes d'une génération de reproducteurs à la suivante.

Outre son apport dans les schémas "classiques", le transfert peut constituer la base des schémas "MOET" : *Multiple Ovulation and Embryo Transfer* (NICHOLAS et SMITH, 1983 cités par SEIDEL, Jr et SEIDEL, 1993). Les programmes "MOET" bien que pouvant être utilisés chez les bovins de boucheries, seraient spécialement utiles pour améliorer la production laitière. Il y a des MOET "Juvéniles" (donneuses de 2 ans et taureaux de 6 ans) et des MOET "Adultes" (donneuses et adultes de 4 ans).

L'efficacité comparée des différents schémas d'amélioration utilisant le transfert d'embryons (CHUPIN, 1993) montre que le T.E. a un intérêt certain.

2.1.2.2. Utilisations zootechniques

Le T.E. accroît le nombre de descendants de donneuse de valeur, laquelle va produire avec l'efficacité actuelle de la technique, au moins autant de veaux en un an que normalement pendant toute sa productive. C'est d'ailleurs la principale utilisation du transfert d'embryons chez les bovins.

La production de jumeaux constitue un aspect attrayant rendue possible par le T.E. Il s'agit d'augmenter surtout la quantité de viande par le transfert de 2 embryons dans une receveuse non inséminée (62 % de gestations dont 61 % de naissance gémellaire, soit par le transfert d'un embryon dans une receveuse préalablement inséminée (61 % de gestations dont 52 % de naissance gémellaire) avec seulement une augmentation de 30 % de la ration alimentaire.

.../...

2.1.2.3 Utilisations sanitaire et commerciale

Le transfert d'embryons (T.E.) est le moyen le plus sûr au plan sanitaire d'échange de gènes. La zone pellucide lorsqu'elle est intacte constitue en effet une barrière contre toute transmission de maladies : chez les bovins, aucune bactérie et pratiquement aucun virus (sauf le virus de l'IBR-IPV¹ et le virus de la stomatite vésiculeuse) ne s'adsorbe à la surface de la zone pellucide.

Grâce à la congélation et au T.E., le transfert d'embryons est plus facile et d'un coût négligeable que le transport d'animaux. Le veau né après transfert même de race exogène bénéficie de l'immunité passive de la receveuse autochtone.

2.1.2.4. Utilisation d'autres biotechnologies

Outre ses applications en recherches, le T.E. est la seule technologie qui permet l'exploitation des autres technologies de la reproduction animale.

2.2. LES BIOTECHNOLOGIES APPLIQUEES AU TRANSFERT D'EMBRYONS

2.2.1. La bissection d'embryons

C'est la division chirurgicale des embryons. Elle se fait habituellement sur des morulas ou des blastocytes généralement de **qualité 1**, lesquels contiennent suffisamment de cellules. Cette abondance de cellules évite de porter atteinte à la viabilité des demi-embryons après la division.

La méthode de bissection d'embryons décrite par **SRIPONGPUN *et al.***, (1986) a connu une simplification (**SPIRONGPUN *et al.***, 1987) marquée par la non remise systématique des demi-embryons dans une membrane pellucide. **WARFIELD, SEIDEL Jr** et **ELSDEN** (1986) ont en effet démontré qu'il n'y a aucun avantage à insérer les demi-embryons dans des zones pellucides avant le transfert, la zone pellucide n'étant pas indispensable à la survie embryonnaire après congélation-décongélation (**BLAKEWOOD *et al.***, 1986).

¹ Rhinotrachéite Infectieuse Bovine

La bissection permet des gains de productivité numérique d'embryons par donneuse. Ce qui augmente significativement les résultats du transfert d'embryons (PICARD 1989c). Le nombre de veaux obtenus par donneuse se trouve augmenté de 40 % par la bissection (I.N.R.A. et U.N.C.E.I.A., 1990). Elle permet en outre la production de vrais jumeaux.

2.2.2. Le sexage d'embryons

C'est la détermination du sexe de l'embryon. Cette possibilité de choisir le sexe d'un embryon est d'un excellent atout surtout en élevage laitier.

Le sexage utilise plusieurs méthodes après biopsie de cellules trophoblastiques des embryons :

- l'**analyse cytogénétique** dont la fiabilité estimée à 100 % (COTINOT, 1992) reste la méthode de référence.
- la **détection de l'antigène H-Y** sur embryon de sexe mâle dont les résultats peu fiables en font une technique qui tend à être abandonnée.
- l'**utilisation de la sonde d'ADN** spécifique permet de prédire avec exactitude le sexe de 85 % (PICARD, 1989c) ou 85 à 100 % avec une moyenne de 92 % (THIBIER, 1993) des embryons biopsiés ; c'est la seule technique utilisée commercialement à l'heure actuelle.

2.2.3. La Maturation *In Vitro* (M.I.V.) et la Fécondation *In Vitro* (F.I.V.)

La technique in vitro offre plusieurs points d'intérêt (THIBIER, 1993).

La maturation des ovocytes et la fécondation in vitro peuvent permettre une production massive et à faible coût d'oeufs destinés au clonage, à la transgénèse. La M.I.V. et la F.I.V. n'assurent pas cependant une compétence au développement, équivalente à celle des oeufs produits in vivo eu égard au taux de développement jusqu'au stade morula-blastocyste : 30 % vs 40 à 60 % (CROZET, 1992).

Le prélèvement d'ovocytes sous contrôle échographique (PIETERSE et al., 1991 cités par CHUPIN, 1993) donne des résultats intéressants. Il est en effet possible de prélever en moyenne 15 ovocytes par collecte ce qui donnerait 4 ou 8 embryons transférables par semaine selon l'efficacité actuelle de la technique (SCHANS et al.,

1992 rapportés par CHUPIN, 1993). Il est de plus possible de répéter la collecte au moins 2 fois par semaine et ce pendant plusieurs mois. Il est par ailleurs possible de réaliser sur génisse prépubère la ponction d'ovocytes immature (CHUPIN, 1993), d'où raccourcissement supplémentaire de l'intervalle de génération. Mais cette technique demeure longue, fastidieuse et difficile à maîtriser.

Plus encore que le T.E., les techniques *in vitro* sont donc un passage obligé pour la mise en oeuvre au moindre coût, des autres technologies comme le clonage ou le transfert de gènes.

2.2.4. Le clonage

C'est la technique qui permet à partir de noyaux prélevés sur un seul embryon (à J₅ ou J₆) d'au moins 16 cellules (16 à 50 cellules selon RENARD et HEYMAN, 1992) et transplantés dans autant de cytoplasmes d'ovocytes préalablement énuclés, d'obtenir une série d'animaux génétiquement identiques (PICARD, 1989c ; I.N.R.A. et U.N.C.E.I.A., 1990 ; HEYMAN, CHESNE et RENARD, 1991).

RENARD et HEYMAN (1992) estiment que le rendement global (nombre de veaux nés par rapport au nombre d'embryons reconstitués, est très faible : moins de 5 %.

On ne peut que craindre à long terme, un frein à la diversité génétique.

2.2.5 La transgénèse

C'est l'introduction par micromanipulations dans le génome d'un embryon (au stade 1 cellule ou 2 cellules) d'un gène étranger à l'espèce ou d'un gène de l'espèce mais modifié.

Le gène intègre le génome des cellules gonadiques du fœtus et peut donc être transmis à l'ensemble de la descendance de l'individu qui en naîtra. On peut ainsi obtenir une lignée d'animaux transgéniques (I.N.R.A. et U.N.C.E.I.A., 1990).

Au stade actuel de développement de la technique de transgénèse, parmi les embryons ayant survécu à la microinjection d'A.D.N., 0 à 20 % des nouveaux-nés après transfert sont transgéniques (HOUDEBINE, 1992).

Elle est surtout d'utilisation expérimentale.

CHAPITRE 3 - SUPEROVULATION ET PRODUCTION D'EMBRYONS

La superovulation constitue l'étape de base du transfert d'embryon.

Le traitement simultané de plusieurs femelles passe par la maîtrise des cycles sexuels. Deux types de produits sont généralement utilisés :

- les **prostaglandines** dont une double injection à 11-12 jours d'intervalle permet à travers la lyse de corps jaune de regrouper les chaleurs d'un groupe de femelles cyclées ;

- les **progestagènes**, dont l'unique administration peut permettre l'apparition ultérieure d'oestrus aussi bien chez les femelles cyclées que les **non cyclées**, sont souvent utilisées en pratique associée à différentes interventions, facultatives, susceptibles d'améliorer le taux d'induction (SAUVEROCHE et WAGNER, 1993) :

- . administration au premier jour du traitement d'induction de l'oestrus d'une "surcharge" de stéroïdes (oestrogènes accompagnés ou non de progestérone),

- . injection de prostaglandines 48 heures avant l'arrêt du traitement,

- . injection ou non de P.M.S.G. (*Pregnant Mare's Serum Gonadotrophin*) à une dose non superovulatoire au moment de l'arrêt du traitement de maîtrise des cycles (stimulant la croissance folliculaire).

3.1. LA SUPEROVULATION

3.1.1. Physiologie de la superovulation

La femelle bovine pubère, lorsqu'elle est en activité sexuelle, produit généralement un ovule par cycle. Les gestations gémellaires sont de ce fait exceptionnelles.

Il est à présent très bien établi (ADAMS, 1994) que chez les bovins, la croissance folliculaire se produit en vagues successives dont la dernière amène le follicule dominant à l'ovulation. Le rôle de la F.S.H. (Follicle Stimulating Hormone) est établi dans l'étiologie des vagues folliculaires (ARMSTRONG, 1993 ; ADAMS, 1994). La régulation de la croissance folliculaire du follicule primordial au follicule mûr (follicule cavitaire) est sous la dépendance d'hormones gonadotropes hypophysaires. C'est ainsi que seules des méthodes intervenant sur les toutes dernières étapes de la croissance folliculaire sont employées pour réaliser la superovulation (SAUMANDE, 1981).

.../...

Pour chaque follicule qui va ovuler, ce sont environ une vingtaine de follicules qui subissent une atresie au cours d'un cycle (SAUMANDE, 1977 cité par NIBART et BOUYSSOU, 1981). L'injection d'hormones à activité F.S.H. devrait donc permettre au moins à la plupart de ces follicules qui normalement dégènèrent d'arriver au terme de leur croissance et d'ovuler. Les F.S.H. et P.M.S.G. ayant une activité F.S.H. et L.H. (F.S.H. dominant) assureraient la croissance et la maturation des follicules qui auraient dû subir l'atresie tout en stimulant d'autres follicules. D'après les travaux de MOOR *et al.* (1984) rapportés par DIOP (1987), les gonadotrophines stimulent en fait l'activité mitotique des follicules préantraux et réduisent l'atresie dans les follicules antraux.

Ceci autorise l'usage des hormones gonadotropes soit d'origine hypophysaire, la F.S.H., soit d'origine chorionique, la P.M.S.G., dans les traitements de superovulation.

3.1.2. Techniques de superovulation

Elles sont nombreuses et ont beaucoup varié depuis la découverte de la superovulation. C'est en particulier chez les bovins que la superovulation a enregistré d'importants progrès. L'objectif principal de tout traitement de superovulation demeure après fécondation, la production d'un maximum d'embryons viables et transférables.

3.1.2.1. Les hormones utilisées

Deux types d'hormones peuvent être utilisés dans les traitements de superovulation : la F.S.H. et la P.M.S.G. Cependant, le nombre de préparations à activité superovulatoire s'est considérablement accru.

La F.S.H. a une demi-vie courte de l'ordre de 20 à 70 minutes (KOHLER et coll., 1968 cités par NIBART et BOUYSSOU, 1981) ce qui impose afin d'obtenir un taux sanguin suffisant, deux injections quotidiennes à 12 heures d'intervalle. Selon le mode classique lequel propose pour une dose totale de 24 à 60 mg (DIOP, 1987 citant respectivement ELSDEN *et al.*, 1977 ; CHUPIN et PROCUREUR, 1982 ; ALCIVAR et coll., 1983 ; MONNIAUX et coll. 1983 ; DONALDSON, 1984a) des injections à doses décroissantes ou une injection unique (rarement).

Pour la P.M.S.G., son utilisation provoque la croissance d'un nombre important de follicules qui n'ovulent pas. Selon SAUMANDE (1977) cité par NIBART et BOUYSSOU (1981), ces follicules qui n'ovulent pas n'appartiennent pas en réalité au groupe de follicules stimulés par la P.M.S.G. au début de son administration. Ainsi l'utilisation au moment des chaleurs d'un **anti-P.M.S.G.** permet de diminuer le nombre

de follicules non ovulés. L'**anti-P.M.S.G.** doit cependant être utilisé avec discernement. Ayant une activité anti-L.H., son administration à un mauvais moment (au moment du pic de L.H.) pourrait bloquer les ovulations. Les follicules "anovulés" se sont en fait développés après les chaleurs sous l'effet de la P.M.S.G. injectée antérieurement mais dont la demi-vie longue de l'ordre de 120 heures explique que même dans les 10 jours suivant son administration, des niveaux significatifs (de P.M.S.G.) peuvent encore être mesurés. Cette disponibilité persistante autorise une injection unique de **P.M.S.G.**

Bien que plus contraignante d'emploi que la **P.M.S.G.**, c'est la **F.S.H.** qui est la plus couramment utilisée.

3.1.2.2. Induction de la superovulation

D'après **NIBART et BOUYSSOU (1981)** rapportant respectivement **DOWLING (1949)**, **HAFEZ et coll. (1963)**, le meilleur moment pour initier un traitement de superovulation se situerait en début de la phase folliculaire, plus exactement à J_{16} pour un cycle de 21 jours. Mais depuis la découverte de l'effet lutéolytique de la prostaglandine $PGF_{2\alpha}$ et de ses analogues structuraux, la superovulation autrefois induite en phase folliculaire est de plus en plus fréquemment initiée en phase lutéale au début de la seconde vague de croissance folliculaire entre J_9 et J_{10} (J_0 = jour des chaleurs de référence). La $PGF_{2\alpha}$ est alors injectée en général 48 heures après l'administration de l'hormone de stimulation en cycle naturel.

Récemment, **ADAMS (1994)** rapporte que la superovulation pouvait être induite avec une efficacité équivalente lorsque le traitement démarre avec le début de la deuxième ou de la première (entre J_0 et J_1) vague folliculaire ; la $PGF_{2\alpha}$ intervient dans ce nouveau cas 72 heures après le début de l'administration de l'hormone de stimulation.

La $PGF_{2\alpha}$ peut également être injectée au cours d'un cycle maîtrisé, 48 heures (à 12 heures du retrait de l'implant) ou 72 heures suivant le début de la stimulation hormonale (**MAPLETOFT et PIERSON, 1993**).

3.1.2.3. Endocrinologie de la femelle superovulée

Les traitements de superovulation d'après **SAUMANDE (1987)** provoquent des modifications uniquement sur les niveaux des hormones stéroïdes. Ces traitements induisent en effet une production accrue d'abord d'oestrogènes en rapport avec le

nombre de follicules préovulatoires, puis de progestérone, fonction du nombre de corps jaunes (BOOTH *et al.*, 1975 ; NIBART et BOUYSSOU, 1981 ; SAUMANDE, 1987 ; NIBART, 1991).

Les modifications résultant des stimulations hormonales ou superovulatoires ne perturbent pas cependant la chronologie des événements qui conduisent à l'ovulation. Elles ont néanmoins une répercussion sur le nombre d'ovulation et probablement sur le nombre d'embryons et leur qualité.

A une exception près (une seconde élévation des niveaux plasmatiques d'oestradiol 17 β est décelée après ovulations à la suite d'une superovulation par la P.M.S.G.) les stimulations par la F.S.H. et la P.M.S.G. ont les mêmes conséquences sur les concentrations hormonales.

3.1.2.3.1. Profils hormonaux après superovulation

- Oestrogènes :

Les pics préovulatoires de F.S.H. et L.H. sont précédés par des niveaux élevés d'oestrogènes.

L'oestradiol augmente dès 24 heures après l'administration du traitement de superovulation, atteint son maximum (50 à 150 pg/ml selon HERRERA, 1985 cité par NIBART, 1991) 36 à 52 heures après l'injection de prostaglandine. Le retour des oestrogènes (oestradiol-17 β) à leur niveau basal (5 à 10 pg/ml selon HERRERA, 1985 cité par NIBART, 1991) est noté environ 12 heures (NIBART et BOUYSSOU, 1981) après le pic de L.H.

DRAME (1994) trouve chez les femelles Ndama un maximum de 57,2 à 264,4 pg/ml 35 à 55 heures après l'injection de PGF $_2\alpha$.

- Progestérone

Chez les donneuses (bovins) et quel que soit le traitement de superovulation (P.M.S.G., P.M.S.G. + anti-P.M.S.G., F.S.H.), le niveau de progestérone est en moyenne 0,65 ng/ml au moment du pic de L.H. (J $_0$) puis reste constant pendant quelques temps.

Le niveau basal moyen (0,1 ng/ml) signalé par DIOUF (1991) en cycle naturel chez les Ndama n'est jamais atteint probablement à cause de la lutéinisation des

follicules non ovulés ou de la croissance d'un corps jaune suite à une ovulation prématurée (NIBART, 1991).

L'élévation progressive de progestérone pendant la phase lutéale peut être perceptible dès 48-72 heures (45 heures en moyenne d'après DRAME, 1994) après le pic de L.H. contre 132 heures au cours d'un cycle normal (NIBART et BOUYSSOU, 1981).

3.1.2.3.2. Prédiction de la réponse à la superovulation par dosage hormonal

L'appréciation de la réponse ovarienne se réalise à la récolte d'embryons par dénombrement de corps jaunes, le nombre de corps jaunes étant théoriquement égal au nombre d'ovulation.

SAUMANDE (1987) signale qu'il y a une forte corrélation (0,8 - 0,9) entre le nombre de structures (follicules préovulatoires et corps jaunes), donc entre le taux d'oestrogènes (oestradiol 17 β) d'une part, de progestérone d'autre part et le nombre d'ovulation dénombré sous endoscopie.

La corrélation entre le nombre de corps jaune et le taux de progestérone tombe néanmoins à 0,61 (NIBART *et al.* 1980 cités par NIBART et BOUYSSOU, 1981).

Considérant que seules les gonadotrophines F.S.H. et L.H. présentent fréquemment des anomalies dans leurs profils, le recours aux profils hormonaux gonadiques (oestradiol 17 β et progestérone) est un excellent moyen pour apprécier les modifications ovariennes faisant suite aux traitements de superovulation. Mieux encore ces profils hormonaux peuvent constituer un critère de prédiction de la réponse à la superovulation. Comme l'ont si justement démontré NIBART *et al.* (1988), ces profils hormonaux sont en effet différents selon que les animaux aient bien répondu ou non à la stimulation hormonale. D'après leurs observations, les animaux qui ne répondent pas à la superovulation peuvent ne pas présenter un pic de F.S.H. et de L.H. au moment des chaleurs alors que ceux-ci sont toujours présents chez tous les animaux ayant répondu au traitement.

Le dosage d'oestrogènes, spécialement de l'oestradiol-17 β peut donc à ce titre permettre de prédire la réponse ovarienne. Les pics préovulatoires de F.S.H. et L.H. sont précédés par des niveaux élevés d'oestradiol-17 β , plus importants chez les animaux

ayant présenté une bonne réponse que chez ceux ayant présenté une réponse faible à la stimulation superovulatoire. Du fait de la constante faiblesse des concentrations plasmatiques d'oestradiol-17 β (inférieure à 20 pg/ml) (SAUMANDE, 1987), et à défaut d'un dosage plasmatique très sensible effectué en début des chaleurs, seul le dosage d'oestradiol 17 β conjugué dans le lait traduit mieux la réponse ovarienne.

De même, la détermination de la progestéronémie plasmatique serait le meilleur prédicateur du taux d'ovulation et par le même fait mais sous réserve de non fécondation, le meilleur prédicateur du nombre d'embryons récoltables. En effet, hormis J₀ caractérisé par toute absence de relation significative ($P > 0,05$) entre les concentrations plasmatiques de progestérone et le taux d'ovulations, la progestéronémie devient corrélée (0,51 à 0,56) (NIBART et BOUYSSOU, 1981) entre le taux d'ovulations entre J₁ et J₇ (jour de récolte d'embryons).

La corrélation observée entre la progestéronémie plasmatique à J₇ et la réponse ovarienne est jugée trop faible pour utiliser le taux de progestérone plasmatique comme critère d'aptitude à la collecte (CHICOTEAU, 1989 citant respectivement LAMOND et GADDY, 1972 ; BETTERIDGE *et al.*, 1981 ; MONNIAUX *et al.*, 1983 ; ALI DINAR *et al.*, 1987 ; GOTO *et al.*, 1987 ; ELLEN et FOOT, 1988). Le taux d'erreur par rapport à la palpation transrectale est en effet très important : 30 % pour 2 ng/ml, 16 % pour 10 ng/ml). SAUMANDE (1977) cité par NIBART et BOUYSSOU (1981) trouve cependant qu'à J₃ les donneuses à faible réponse (< 5 C.J.) ont un taux maximum de progestérone plasmatique de 1 ng/ml contre un taux supérieur à 2,7 ng/ml chez les donneuses à bonne réponse (> 5 C.J.).

3.2. FECONDATION, RECOLTE ET JUGEMENT DES EMBRYONS

3.2.1. Fécondation

Considérant que chez la femelle bovine superovulée, il s'écoule un temps de 24 heures (parfois plus) entre la première et la dernière ponte d'ovules, et que la première ovulation survient plus tôt qu'en conditions physiologiques normales (SAUMANDE, 1977 rapporté par OUATTARA, 1990), des auteurs ont variablement proposé des régimes de triple, double ou unique inséminations. YADAV (1986a) cité par DIOP (1987) remarque que chez des vaches superovulées, 80 % des ovulations surviennent dans les 19 à 22 heures suivant la première ovulation. Le coût des semences (insémination artificielle) et quelques essais comparatifs ont conduit à limiter à 2 I.A., 12 à 24 heures après le début de l'oestrus (PICARD, 1989a).

3.2.2. Récolte et jugement des embryons

La récolte des embryons bovins par voie cervicale est réalisée en général à J7 (J₀ : jour de début de l'oestrus). Cette période de récolte est la résultante de plusieurs facteurs :

- la chronologie du développement embryonnaire étant bien connue comme chez les bovins (HUMBLLOT, 1981 ; PICARD, 1989b ; I.N.R.A. et U.N.C.E.I.A., 1990), il est admis qu'à J₅ (J₀ = jour du début de l'oestrus) tout embryon qui suit un développement normal atteint la corne utérine (Tableau II) ;
- pour des raisons sanitaires, la législation (O.I.E. et I.E.T.S.) impose que l'embryon soit transféré avant sa sortie de la zone pellucide (à partir du 10^e jour après le début des chaleurs) ;
- à J₇ les embryons libres dans l'utérus n'ont pas encore sécrété la substance indispensable au maintien de la gestation (NIBART et BOUYSSOU, 1981). Cette substance va pouvoir être sécrétée après le transfert définitif sur des receveuses.

La récolte par la méthode cervicale consiste à rincer les cornes utérines avec un milieu liquide spécial (*Phosphate Buffered Saline* : P.B.S.) auquel on ajoute parfois du serum de veau foetal (S.V.F.) inactivé juste avant usage (LAMOTHE, 1989b), injecté et récupéré avec les embryons, ovules, etc... à l'aide d'une sonde. Il existe plusieurs types de sonde (2 ou 3 voies, souple ou rigide). Selon le modèle de sonde, on peut utiliser soit un petit volume, soit un grand volume du milieu de récolte.

Après décantation du liquide de récolte, le surnageant est éliminé et c'est le décantat supposé contenir les embryons qui est observé à la loupe binoculaire. Un moyen d'améliorer la récolte d'embryons selon VANDEPLASSCHE (1985) est de faire passer la plus grande partie du liquide de lavage à travers un filtre spécial. L'usage de ce filtre permettrait en effet la récupération de 10 % d'embryons supplémentaires.

La viabilité et la qualité des embryons sont ensuite appréciées en conditions particulières de survie (température, éléments nutritifs) après recherche et rinçage. L'Organisation Internationale des Epizooties (O.I.E.) et la Société Internationale de Transfert Embryonnaire recommandent dans le cadre de la prophylaxie sanitaire en matière de transfert d'embryons, de laver les embryons dans 10 bains successifs de P.B.S. Ceci supprimerait tout maintien d'agents exogènes dans l'environnement de l'embryon.

L'appréciation se fonde sur divers critères morphologiques et/ou métaboliques : test de consommation de glucose, coloration vitale au diacétate de fluoresceine, à l'éosine B (MECHEKOUR *et al.*, 1986 ; etc...). Bien qu'ils soient subjectifs et donc imparfaits, on utilise en pratique presque exclusivement des éléments morphologiques (PICARD, 1989b ; I.N.R.A. et U.N.C.E.I.A., 1990). Pour un jour de récolte donné, il n'est pas rare d'observer des embryons normaux issus d'une même femelle superovulée, à différents stades de développement plus ou moins avancés (NIBART et BOUYSSOU, 1981) ; PICARD, 1989b ; I.N.R.A. et U.N.C.E.I.A., 1990). Ce phénomène décrit par récolte d'embryons est lié à l'étalement des ovulations après superovulation.

Le système de classification établi par l'I.E.T.S. (*International Embryo Transfer Society*) est une codification numérique décrivant le stade de développement et la qualité des embryons. D'après ce système international, le **stade de développement** est désigné par un chiffre compris entre 1 et 9 (Tableau II) et la **qualité** par un autre chiffre compris entre 1 et 4 (Encadré - page 31) inscrit après le premier, donnant ainsi un nombre à deux chiffres.

Cette codification numérique permet de juger les embryons en *transférables* ou *non transférables*. De plus elle sert de base à toute décision concernant le devenir des embryons transférables : congelables ou non, micro-manipulables ou non, etc...

3.3. RESULTATS DE LA PRODUCTION D'EMBRYONS

Chez les bovins trypanotolérants d'Afrique, le nombre d'embryons transférables obtenus par femelle est globalement faible : 0,3 à 3,0 en moyenne (BIANCHI *et al.*, 1986 ; JORDT *et al.*, 1986 ; CHICOTEAU, 1989 ; DIOP *et al.*, 1989 ; OUATTARA, 1990 ; FALL, 1992 ; DIOP *et al.*, 1994a) comparé aux résultats moyens obtenus dans les pays tempérés : 2,0 à 4,0 embryons (NIBART et BOUYSSOU, 1981) ; 5,5 embryons (CHUPIN, 1985).

Tableau II : Développement embryonnaire normal

| Jour | Evènement | 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 à 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 élongation | 9 |
| 14 | | Blastocyste allongé | |
| 20-23 | | Début des battements cardiaques et de l'attachement | |

Source : PICARD, 1989b.

.../...

Classification des embryons selon leur qualité

1. Excellent

Embryon idéal pour son jour de collecte, sphérique, symétrique, avec des cellules de couleur et texture comparables. Blastomères polygonaux au stade morula, aspect compact.

Bon

Embryon un peu en retard de développement par rapport à son jour de collecte ou embryon semblable à l'embryon excellent mais asymétrique, ou exclusion de quelques blastomères dans l'espace périvitellin.

2. Moyen

Embryon en retard de développement de 1 à 2 jours (Blastomères sphériques au stade morula) ou des défauts bien précis comme :

- nombreuses cellules échappées dans l'espace périvitellin, des vésicules, des cellules dégénérées, blastomères de taille variable ;
- aspect plus clair ou plus sombre que normal.

3. Médiocre

- Nombreux défauts, comme nombreuses cellules échappées, cellules dégénérées, cellules de taille différente, vésicules grosses et nombreuses ;
- mais présence d'une masse cellulaire homogène qui apparaît viable.

4. Mort ou dégénéré

Arrêt de développement à un stade précoce. Cellules dégénérées.

3.4. FACTEURS DE VARIATION DE LA REPONSE A LA SUPER-OVULATION

L'objectif des traitements de superovulation est en élevage bovin selon FOOTE (1986) cité par MAPLETOFT et PIERSON (1993), l'obtention du maximum d'embryons fertiles et transférables avec une forte probabilité de gestation. Or la superovulation est caractérisée le plus souvent par des résultats très variables. La réponse aux traitements de superovulation est en effet très variable d'une femelle à l'autre et pour une même femelle, d'un traitement à l'autre. 10 à 20 p.100 des donneuses ne répondent pas au traitement de superovulation (moins de 2 corps jaunes) d'après NIBART (1993) ou ne fournissent aucun embryon transférable (COLLEAU, 1993). Cette extrême variabilité, par ses effets négatifs, constitue un problème majeur en reproduction animale par le transfert d'embryons. Elle représente en effet, un frein au développement de la technique du transfert d'embryons malgré ses nombreux avantages.

Pour HAHN (1992), moins de 40 % des causes de la variabilité trouvent actuellement explication. C'est peut être la raison pour laquelle les résultats en superovulation n'ont guère évolué depuis un certain temps malgré les efforts de recherches. Les résultats sur une période de 10 ans (1980-1990) de superovulation obtenus dans une station de transfert d'embryons, rapportés par PREISINGER (1992) cité par HAHN (1992), illustrent bien cette constatation. Tout se passe comme si le plafond est atteint ou presque atteint.

Divers facteurs affectent la superovulation chez les bovins. Les principaux sont évoqués ci-après.

3.4.1. Facteurs intrinsèques

Il s'agit de facteurs inhérents à la femelle donneuse. Celle-ci est responsable d'au moins 50 % de la variabilité de production d'embryons (CHUPIN; 1985 ; NIBART, 1991 citant respectivement MARIANNA, GIRARD et CHUPIN, 1977 ; MONNIAUX, CHUPIN et SAUMANDE, 1983 ; DONALDSON, 1984).

3.4.1.1. Etat des ovaires au début de la stimulation hormonale

Il s'agit plus précisément de la structure folliculaire de l'ovaire à l'initiation du traitement de superovulation. Cette structure folliculaire détermine le choix du moment d'injection dans le cycle. A quel moment du cycle faut-il injecter l'agent stimulant pour espérer récolter à la fin, le maximum d'embryons viables et transférables : en phase folliculaire ou en phase lutéale ? La question est loin d'être tranchée définitivement.

Selon NIBART (1990) citant GRASSO (1989), ROUILLER *et al.*, (1989), la présence d'un follicule dominant au début du traitement de superovulation entraînerait une mauvaise réponse ovarienne. Cette constatation est faite au cours de nombreuses études (GUILBAULT *et al.*, 1991 ; CALDER et RAJAMAHENDRAN, 1992 ; GRAY *et al.*, 1992 ; BUNGARTZ et NIEMANN, 1993 ; ADAMS, 1994 ; LINDSEY *et al.*, 1994 ; WEHRMAN *et al.*, 1994). Cependant WILSON *et al.* (1989) cités par NIBART (1989), observent quant à eux que la présence au début du traitement de superovulation d'un follicule dominant ipsilatéral ou contralatéral au corps jaune n'a pas d'effets sur la réponse ovarienne. GOULDING *et al.* (1989) cité par NIBART (1990) montrent au contraire que le nombre d'embryons transférables produits par des génisses est supérieur lorsque la superovulation est induite entre J₉ et J₁₁ qu'à J₂ (6,2 contre 2,4 par femelle). Or il est admis qu'il n'y a pas de follicule dominant à J₂.

Il convient de noter qu'à chacune des publications sur ce sujet, l'unique critère était la présence ou non d'un follicule dominant. Aucune étude n'a malheureusement démontré que le follicule dominant morphologiquement était fonctionnel lorsqu'il est présent. La taille du follicule seule ne serait donc pas un bon indicateur de dominance fonctionnelle à condition que sa fonctionnalité soit démontrée. On estime parfois (GRAY *et al.*, 1992 ; BUNGARTZ et NIEMANN, 1993) que c'est dans sa phase de croissance que le follicule dominant serait en fait synonyme de mauvaise réponse comme si le follicule cesse subitement toute activité en phase de régression.

ROMERO *et al.*, (1991) cité par U.N.C.E.I.A. (1991) abordant le statut ovarien avant traitement sous l'angle de petits follicules indiquent que les femelles qui ont un nombre supérieur ou égal à 7 follicules de petite taille (3 - 6 mm de diamètre) à l'induction de la superovulation ont après le traitement, plus de follicules préovulatoires, plus de corps jaunes et plus d'embryons que celles ayant 0 - 3 petits follicules. Des tentatives de prétraitement (immunisation active anti-stéroïde : anti P.M.S.G. ; injection de liquide folliculaire de J₂ à J₈ du cycle ; injection de facteurs de croissance : la Somatotrophine) ont été menées en vue d'améliorer la réponse ovarienne à travers l'augmentation du nombre de petits follicules en début du traitement superovulatoire ; les résultats le plus souvent contradictoires ne permettent pas de tirer des conclusions.

ARMSTRONG (1993) citant successivement HASLER *et al.*, (1983) et DONALDSON (1984) indique que la période idéale pour induire la superovulation serait comprise entre J₈ et J₁₄ ou entre J₉ et J₁₃. La réponse en cette période est en effet meilleure et il n'y a pas de différence dans le taux moyen d'ovulation. Mais en ce

qui concerne le nombre d'embryons produits, ROMERO et al. (1989) cités par U.N.C.E.I.A. (1990) trouvent que le résultat est supérieur à J₁₀ qu'à J₁₃. Donc la superovulation initiée en début de la deuxième vague de la croissance folliculaire (J₈ - J₁₀) donnerait meilleurs résultats. Des résultats similaires sont également obtenus en début de première vague : J₀ - J₁ (ADAMS, 1994).

3.4.1.2. Age

Un âge avancé produirait une mauvaise réponse (MAPLETOFT et PIERSON, 1993 citant successivement HASLER et al., 1981 ; HASLER et al. 1983 ; LERNER et al., 1986). Cependant LE GUILLOUX et CLOCHET (1989) cités par NIBART (1991) estiment que les génisses produiraient en moyenne un embryon viable de moins que les vaches adultes de moins de 9 ans.

L'âge idéal pour une donneuse serait compris entre 4 et 10 ans (PICARD, 1989a).

3.4.1.3. Etat général

Les meilleures réponses à la superovulation sont obtenues selon MIGUET (1982) cité par NIBART (1991), chez les femelles en bon état général. Ce constat est confirmé par les observations de CHICOTEAU (1989) qui trouve chez les Baoulé que les vaches aptes à la collecte (≥ 5 C.J.) sont effectivement plus lourdes que les vaches non aptes (224 ± 33 kg VS 207 ± 39 kg ; $P < 0,02$).

Chez la Ndama au contraire, DIOP *et al.*, (1989a et b) cités par SAUVEROCHE et WAGNER (1993), découvrent au contraire qu'un excès d'embonpoint donne de mauvais résultats (1 C.J. en moyenne avec 28 mg de F.S.H. ; 0 C.J. avec 2000 U.I. de P.M.S.G.).

3.4.1.4. Individu

Les femelles à forte fréquence de gestation gémellaire donneraient une meilleure réponse (SNYNER, 1986 cité par MAPLETOFT et PIERSON, 1993). De plus du fait de la grande variabilité individuelle, c'est à l'issue des résultats de 3 collectes successives (HAHN, 1986 cité par NIBART, 1991) que les donneuses peuvent être classées en **bonnes, moyennes et mauvaises** productrices d'embryons.

La superovulation est toutefois peu héritable et peu répétable (HAHN, 1992).

3.4.1.5. Race

Il semble qu'il n'y a pas de différences de production d'embryons viables selon la race (type laitier ou allaitant). Cependant **CHUPIN *et al.*** (1985) découvrent que pour une meilleure réponse, la race Holstein (laitière) a besoin d'une forte proportion de F.S.H. alors que la race charolaise (allaitante) demande plutôt une forte proportion de L.H.

3.4.1.6. Autres

L'intervalle entre le part et le début du traitement superovulatoire, le rang de vêlage, le rang de collecte (au cours de traitements répétés), le niveau de production laitière, la teneur en matières grasses du lait,... sont également évoqués comme facteurs ayant un effet certain sur la réponse à la superovulation.

3.4.2. Facteurs extrinsèques

3.4.2.1. Type de gonadotrophine

Concernant spécifiquement la F.S.H., la comparaison de l'efficacité superovulatoire des préparations contenant différents taux de L.H. révèle l'influence négative des niveaux élevés de L.H. dans la production d'embryons (**DONALDSON et WARD**, 1987 ; **ARMSTRONG**, 1993 ; **MAPLETOFT et PIERSON**, 1993), donc une supériorité des préparations de F.S.H. à activité L.H. basse. Des niveaux élevés de L.H. dans les préparations de F.S.H. réduisent en effet les taux de fécondation. Pour le rapport L.H./F.S.H., un minimum de 5 % est toutefois nécessaire (**ALMEIDA**, 1987) ; le niveau maximal acceptable se situe entre 15 et 20 % (**MAPLETOFT et PIERSON**, 1993).

Certaines études (**U.N.C.E.I.A.**, 1989) tendent à démontrer pour leur part l'inutilité de la présence de L.H. dans les préparations de F.S.H. d'où l'élaboration de préparations très purifiées grâce à des techniques telles que la chromatographie d'affinité en présence d'anticorps monoclonaux ou grâce au génie génétique qui fournit une préparation de F.S.H. parfaitement pure : F.S.H. recombinant.

Pour une même préparation de F.S.H., il y aurait un **effet voie d'administration** et **rythme d'administration** (**LOVIE *et al.***, 1994). **BO et al.** (1991) cité par **U.N.C.E.I.A.** (1991), rapporte en effet que l'injection par voie intra-musculaire (I.M.) de Folltropine (Vetepharm-Canada) au rythme classique de 2 injections par jour pendant 4 jours donne des résultats supérieurs à dose totale égale (20 ml : 40 mg NIH-FSH PI) que par voie sous-cutanée (S.C.). Cependant, ajoutent-ils, toujours à la même

.../...

dose totale (40 mg) une injection unique en S.C. donne des résultats égaux ou supérieurs aux 8 injections classiques effectuées par voie I.M.

En ce qui concerne la P.M.S.G., l'utilisation d'un anti-P.M.S.G. dans le traitement d'induction de superovulation améliorerait la production d'embryons (DIELEMAN, 1993).

Un effet dose est également à signaler. L'augmentation de la dose de l'agent stimulant (F.S.H. ou P.M.S.G.) améliore à partir d'un certain niveau, la réponse ovarienne (nombre d'ovulation) mais pas nécessairement le nombre d'embryons transférables. Chez la Baoulé, CHICOTEAU (1989) n'observe pas de différence significative dans le nombre de corps jaunes palpés entre 24 à 36 mg de F.S.H. ou 2000 à 2500 UI de P.M.S.G., alors que DIOP *et al.* (1994a) observent chez la Ndama que la réponse s'améliore lorsqu'ils passent de 32 mg à 36 mg.

3.4.2.2. Influence du mâle

Les taux d'embryons transférables sont équivalents que les femelles soient fécondées par monte naturelle ou par insémination artificielle. Cependant, le taureau semble intervenir sur le taux de fécondation (ou de non fécondation) mais aussi sur la mortalité embryonnaire précoce : 6 à 10 jours après la fécondation (HUMBLOT *et al.*, 1986 citant successivement COUROT et COLAS, 1984 ; HUMBLOT, 1985 ; et NIBART, 1991 citant successivement CRISTER, ROWE et DEL CAMPO, 1980 ; NEWCOMB, 1982 ; GREVE, 1982 ; HUMBLOT, DALLA PORTA et SCHWART, 1982).

3.4.2.3. Autres

Parmi les autres facteurs (mois, saisons, années, ferme, etc...) influençant la superovulation, la ferme à travers la conduite d'élevage (alimentation, stabulation, hygiène générale) joue en fait un rôle dominant (NIBART, 1991 ; PREISINGER, 1992 cité par HAHN, 1992), tant en taux d'ovulation qu'en taux d'embryons transférables.

DEUXIEME PARTIE

ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE 2 - RESULTATS

Les poids moyens des lots constitués ne diffèrent pas significativement ($P > 0,05$) aussi bien chez les génisses que chez les vaches. Mais entre génisses et vaches, la différence est hautement significative : les vaches sont nettement plus lourdes que les génisses (235 ± 27 kg vs 163 ± 20 kg ; $P < 0,001$).

2.1. CARACTERISTIQUES OESTRALES

2.1.1. Chaleurs de référence

2.1.1.1. Synchronisation des chaleurs

Sur les 37 femelles (20 génisses, 17 vaches) traitées au CRESTAR^R, 3 d'entre elles (1 génisse, 2 vaches) ont perdu leur implant. Le moment de la perte des implants étant inconnu, les pertes n'ayant été constatées qu'au moment de leur retrait, lesdits animaux ont été retirés du protocole expérimental.

A l'issue de ce traitement de synchronisation, 23 femelles (tableau V) soit 67,6 p.100 étaient venues en chaleurs. Par extension au critère glaire-tuméfaction vulvaire 2 autres femelles (1 génisse, 1 vache) sont à inclure soit 73,5 p.100 de venues en chaleurs.

Les vaches présentent un taux de venues en chaleurs supérieur ($P < 0,05$) aux génisses (86,7 p.100 vs 52,6 p.100) (figure 2, page 53).

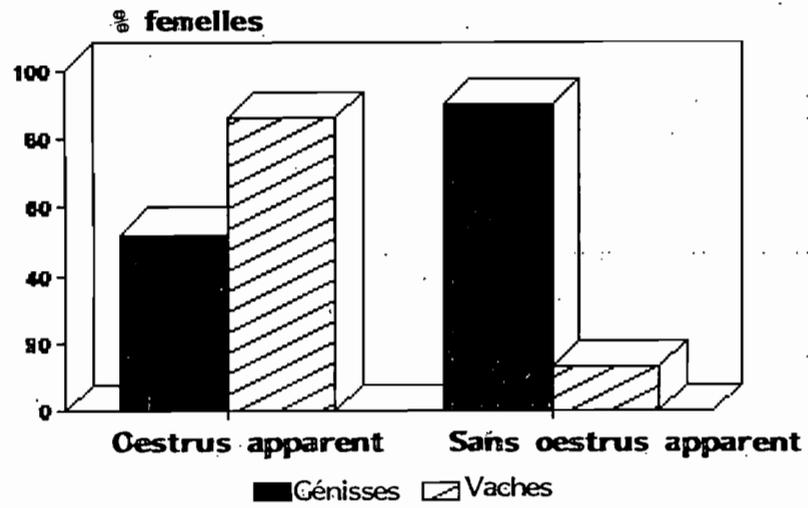


Figure 2 : Distribution des femelles selon la venue en chaleur

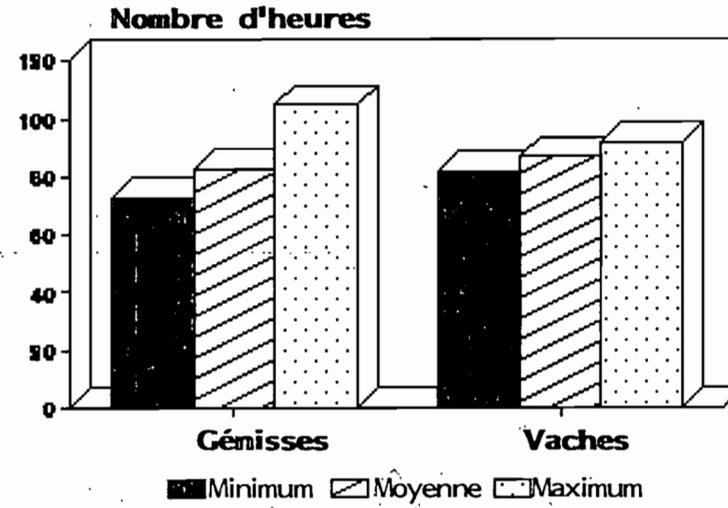


Figure 3 : Intervalle Prostaglandine - chaleur selon l'âge

Tableau V : Situation par lot de venues en chaleurs

| | Lots | Venues en chaleurs | |
|--------------------------------------|-----------------|--------------------|------|
| | | n | % |
| G E N I S S E S | I (n = 5) | 2 | 40 |
| | III (n = 5) | 3 | 60 |
| | V (n = 4) | 1 | 25 |
| | VII (n = 5) | 4 | 80 |
| V A C H E S | II (n = 4) | 3 | 75 |
| | IV (n = 4) | 4 | 100 |
| | VI (n = 4) | 3 | 75 |
| | VIII (n = 3) | 3 | 100 |
| TOTAL | N = 34 | 23 | 67,6 |

2.1.1.2. Intervalle injection Prostaglandine - apparition des chaleurs

L'intervalle moyen pour l'effectif de venues en chaleur était de $84 \text{ h } 53 \pm 7 \text{ h } 09^9$ avec des écarts de 72 h 25 à 104 h 39 (figure 3, page 53).

Cet intervalle ne présente pas de différence selon l'âge ($82 \text{ h } 38 \pm 9 \text{ h } 40$ chez la génisse contre $86 \text{ h } 37 \pm 3 \text{ h } 28$; $P > 0,05$) bien que les chaleurs précoces aient été observées chez les génisses (figure 4, page 55).

⁹ Pour des raisons d'uniformité entre toutes les caractéristiques de l'oestrus, la détermination de cet intervalle n'a considéré que les femelles dont la fin de chaleurs a été connue.

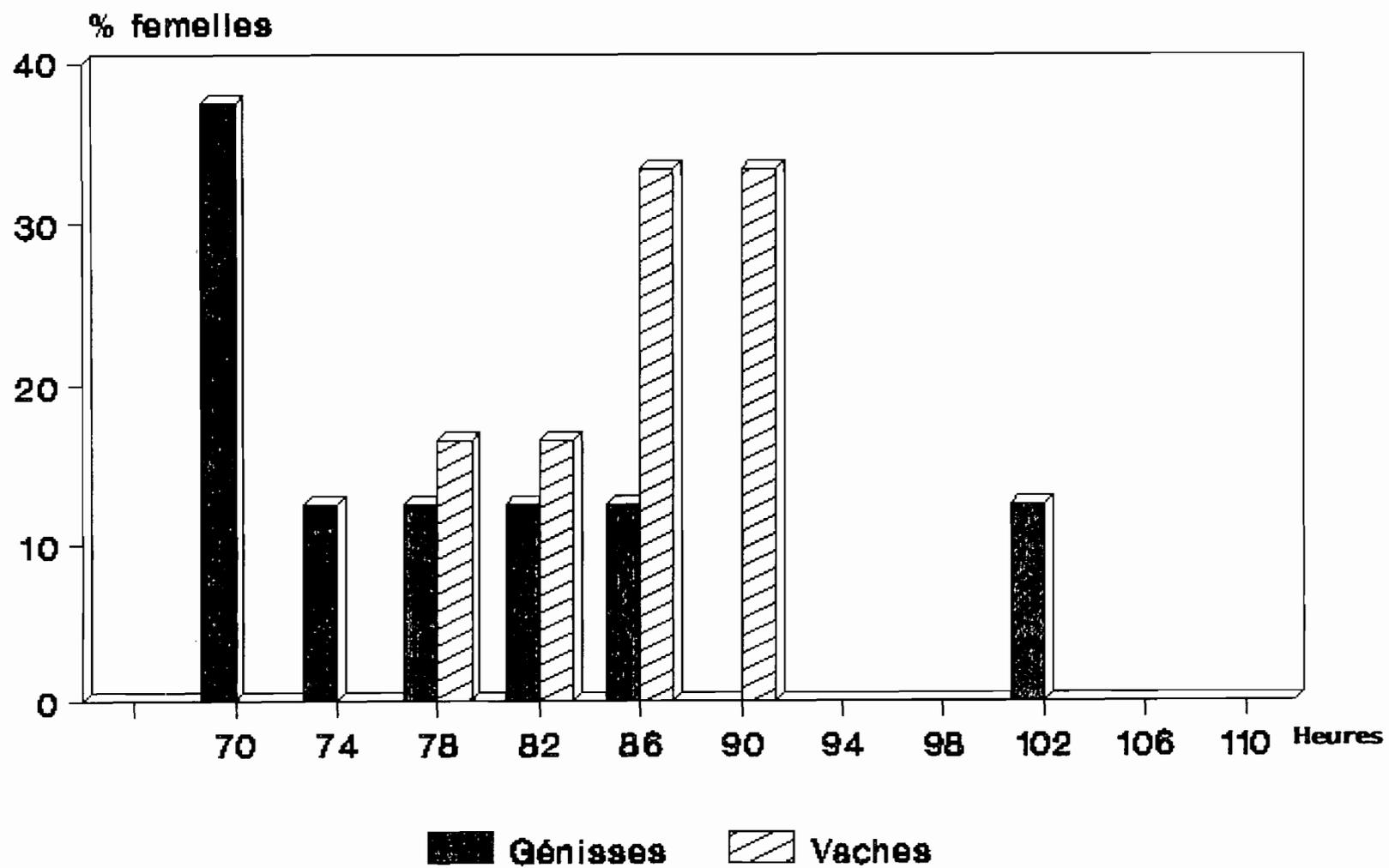


Figure 4 : Distribution des femelles selon le délai d'apparition de l'oestrus

2.1.1.3. Intervalle retrait de l'implant - apparition de l'oestrus

Il était de 35 h 42 \pm 8 h 48 pour l'effectif de venues en oestrus avec des écarts de 24 h 10 à 56 h 59.

Par rapport au retrait de l'implant, la distribution des femelles selon le délai d'apparition de l'oestrus reste la même que par rapport au moment d'injection de Prostaglandine.

2.1.1.4. Moment d'expression de l'oestrus

A l'exception des vaches, les génisses ont manifesté le comportement d'oestrus pratiquement à toutes les heures (figure 5, page 57).

2.1.1.5. Manifestation des chaleurs

Diverses manifestations ont été observées. Parmi elles, l'acceptation du chevauchement demeure le signe le plus remarquable.

En prélude au chevauchement, il y avait rapprochement des deux partenaires (celle qui monte et celle qui est montée). Dans un premier temps, la femelle en début d'oestrus allait à la recherche d'une partenaire. Elle s'arrêtait auprès d'une femelle rencontrée et lui flairait la région vulvaire. Lorsque cette dernière était consentante, elle flairait aussi celle en début d'oestrus et tendait le museau vers le ciel après avoir retroussé la lèvre. Fréquemment les deux partenaires tournaient en cercle en se flairant mutuellement. Cette manifestation pouvait durer des heures. Puis à un moment, la femelle en début d'oestrus cessait de tourner, ne bougeait pas lorsque sa partenaire lui déposait et frottait le menton sur sa croupe. A cet instant, la partenaire exécute un saut caractéristique de l'accouplement. A partir de cette première acceptation de chevauchement, la femelle en oestrus attirait l'attention des autres congénères sur elle. Elle se laissait alors chevaucher. C'était parfois le début d'une série de chevauchements.

La vache en oestrus tentait parfois des chevauchements. En général, les vaches sont plus actives dans le chevauchement des autres le plus souvent des génisses que dans l'acceptation de chevauchements.

Des beuglements fréquents sont entendus, parfois sans jamais être accompagnés de chevauchements. Les femelles en oestrus présentaient parfois de fréquentes émissions de petits jets d'urine.

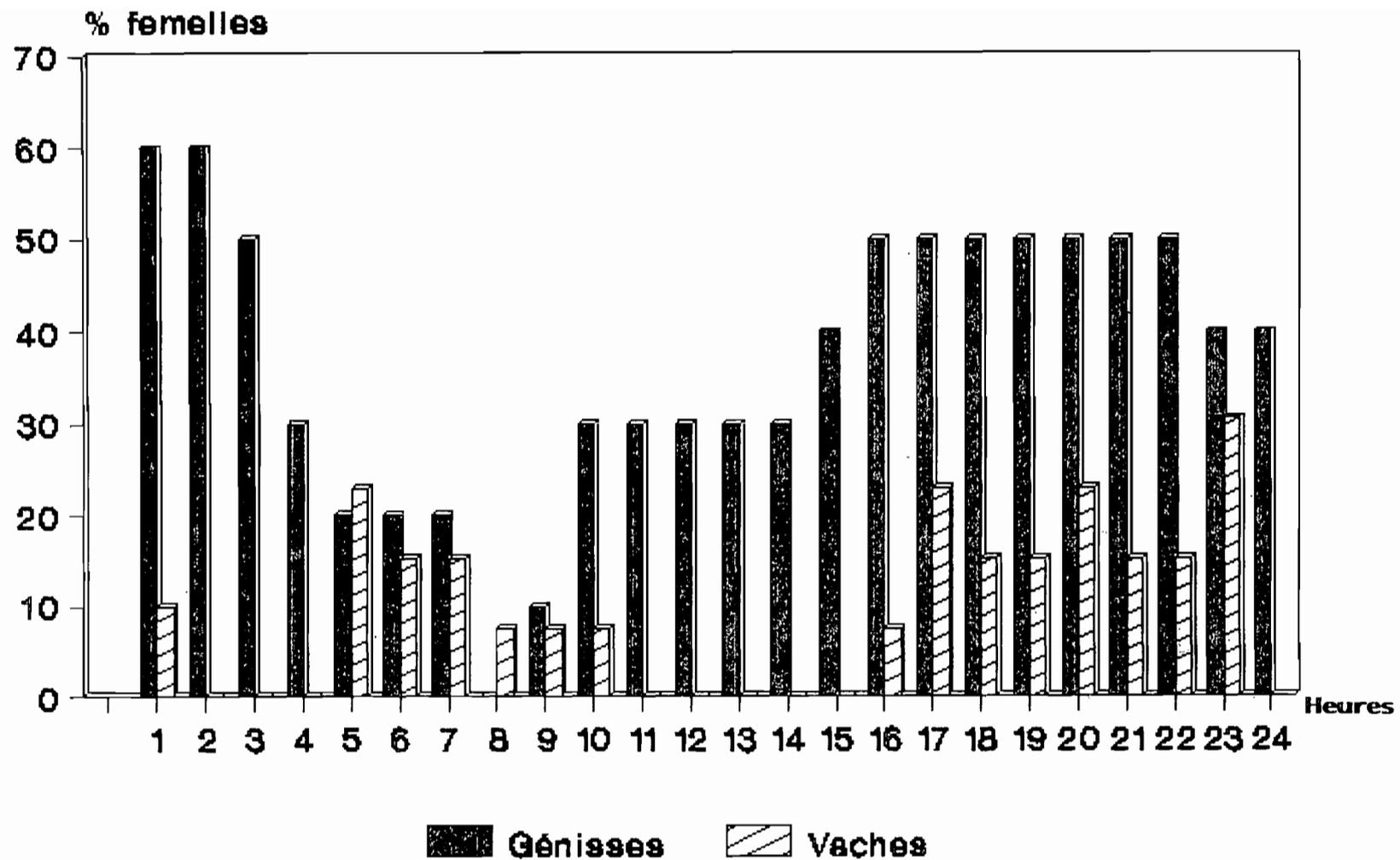


Figure 5 : Distribution des femelles selon le moment de l'expression de l'oestrus

Certaines femelles s'isolaient parfois après un grand nombre de chevauchements acceptés puis allaient se reposer en position couchée.

Une posture particulière a été observée en permanence : la femelle en oestrus se cambre.

Outre ces manifestations comportementales, il y avait d'autres signes observés : écoulement d'une glaire transparente à travers les lèvres vulvaires, parfois il ne s'agit que de taches de glaires.

Toutes les femelles ayant accepté des chevauchements ont présenté des glaires et avaient les vulves tuméfiées.

Pour refuser un chevauchement, la femelle en oestrus ne s'immobilise plus lors d'une tentative de chevauchement par un congénère.

2.1.1.6. Durée de l'oestrus

La durée moyenne observée était de $8\text{ h }28 \pm 4\text{ h }37$ avec des écarts de $2\text{ h }04$ à $18\text{ h }07$ (figure 6, page 59).

La distribution des femelles selon la durée de l'oestrus (figure 7, page 59) fait apparaître une différence significative ($P < 0,05$) entre vaches et génisses : la durée des chaleurs est plus longue chez les génisses ($10\text{ h }56 \pm 4\text{ h }31$) que chez les vaches ($5\text{ h }11 \pm 1\text{ h }58$).

2.1.1.7. Intensité de l'oestrus

L'intensité moyenne de l'oestrus est de $6-7^{10}$ chevauchements acceptés par heure (durée totale de l'oestrus) avec des variations individuelles de 0 à 33 acceptations de chevauchements par heure.

Durant l'oestrus 0 à 128 chevauchements ont été acceptés. La distribution des femelles selon le nombre de chevauchements acceptés (figure 8, page 60) fait apparaître une différence significative ($P < 0,05$) entre génisses et vaches : les génisses ont accepté plus de chevauchements que les vaches (9 ± 4 contre $3 \pm 2,8$ chevauchements acceptés par heure).

¹⁰ Pour les mêmes raisons évoquées lors de la détermination de l'intervalle PG-début oestrus, les mêmes considérations ont été faites pour l'intensité de l'oestrus.

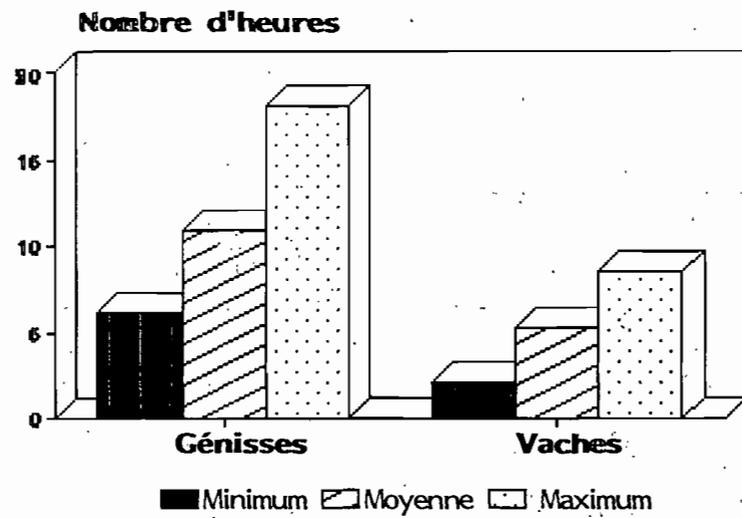


Figure 6 : Durée de l'oestrus selon l'âge

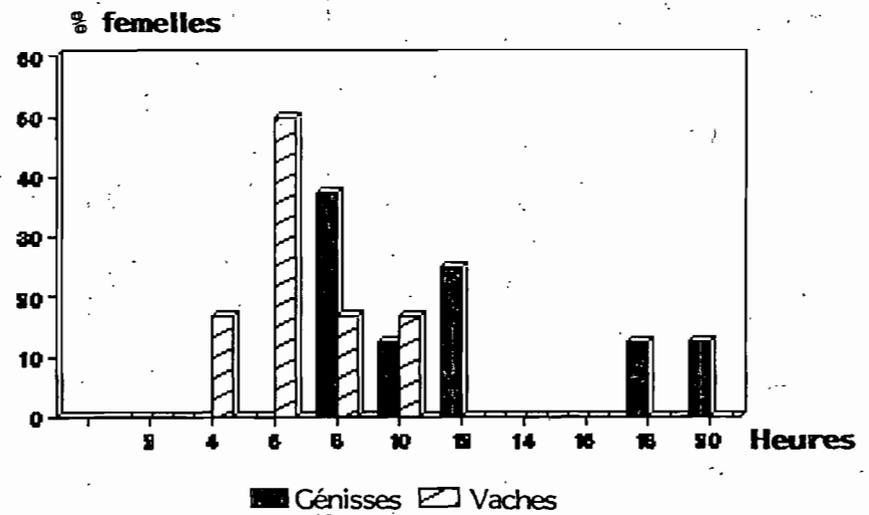


Figure 7 : Répartition des femelles selon la durée de l'oestrus

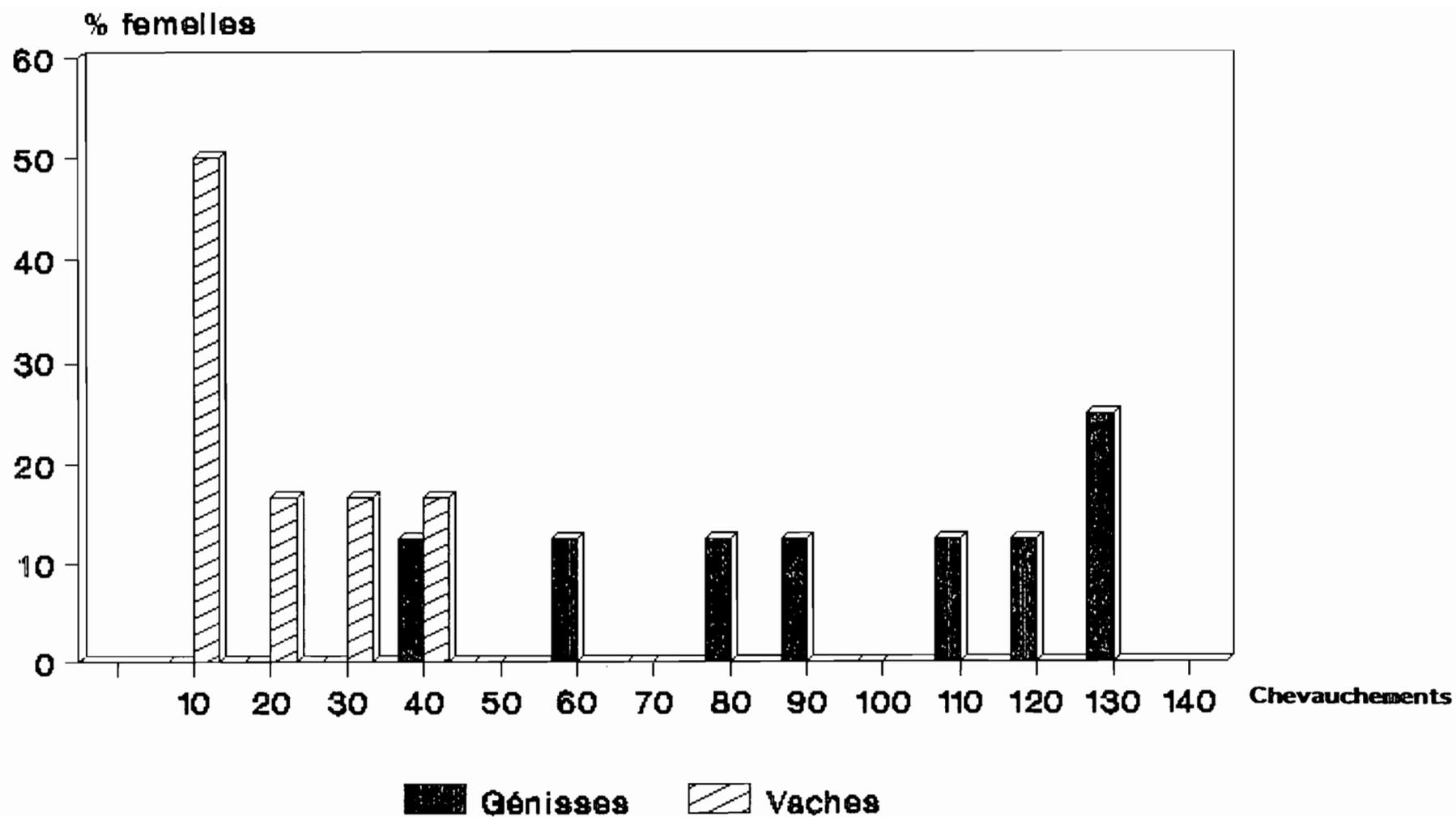


Figure 8 : Distribution des femelles selon le nombre total de chevauchements acceptés

Le nombre de chevauchements acceptés est corrélé à la durée de l'oestrus.

L'acceptation des chevauchements a été manifestée durant toute la durée de l'oestrus avec toutefois des périodes de fortes acceptations dans le jour (figure 9, page 62).

2.1.2. Chaleurs de superovulation

Au cours du traitement de superovulation, 1 vache n'a pas eu la deuxième injection de p-F.S.H. et a été retirée du protocole.

A l'issue de ce traitement, 5 vaches ont manifesté le comportement d'oestrus, soit 22,7 p.100 (par rapport aux femelles ayant été vues en oestrus après le traitement de synchronisation et superovulées, n = 22) ou 15,2 p.100 (par rapport à toutes les femelles superovulées, n = 33). Les 5 vaches avaient toutes été vues en chaleurs de référence.

L'intervalle moyen PG - début oestrus était de 41 h 28 \pm 3 h 13 avec des écarts de 39 h 00 à 47 h 50.

D'intensité partielle faible, les chaleurs de superovulation ont été marquées par quelques rares acceptations de chevauchements, régulières dans la première heure des chaleurs au cours de laquelle 4 à 27 chevauchements ont été acceptés. Les chevauchements étaient devenus rares par la suite : 0 - 2 /heure.

La fin des chaleurs n'ayant pas été connue, la durée de l'oestrus n'a pas été déterminée.

Le comportement d'oestrus a été manifesté entre 23 h 20 et 8 h 20

2.2. SUPEROVULATION ET PRODUCTION D'EMBRYONS

2.2.1. Réponse ovarienne à la superovulation

En considérant toutes les femelles superovulées (n = 33), 9 génisses (47,4 p.100 ; n = 19) et 11 vaches (78,6 p.100 ; n = 14) ont répondu à la stimulation hormonale (5,4 \pm 3,7 corps jaunes) avec respectivement 3,0 \pm 1,0 corps jaunes (C.J.) chez les génisses et 7,3 \pm 3,9 corps jaunes chez les vaches.

Les résultats globaux sont présentés dans les tableaux VI à XIII.

.../...

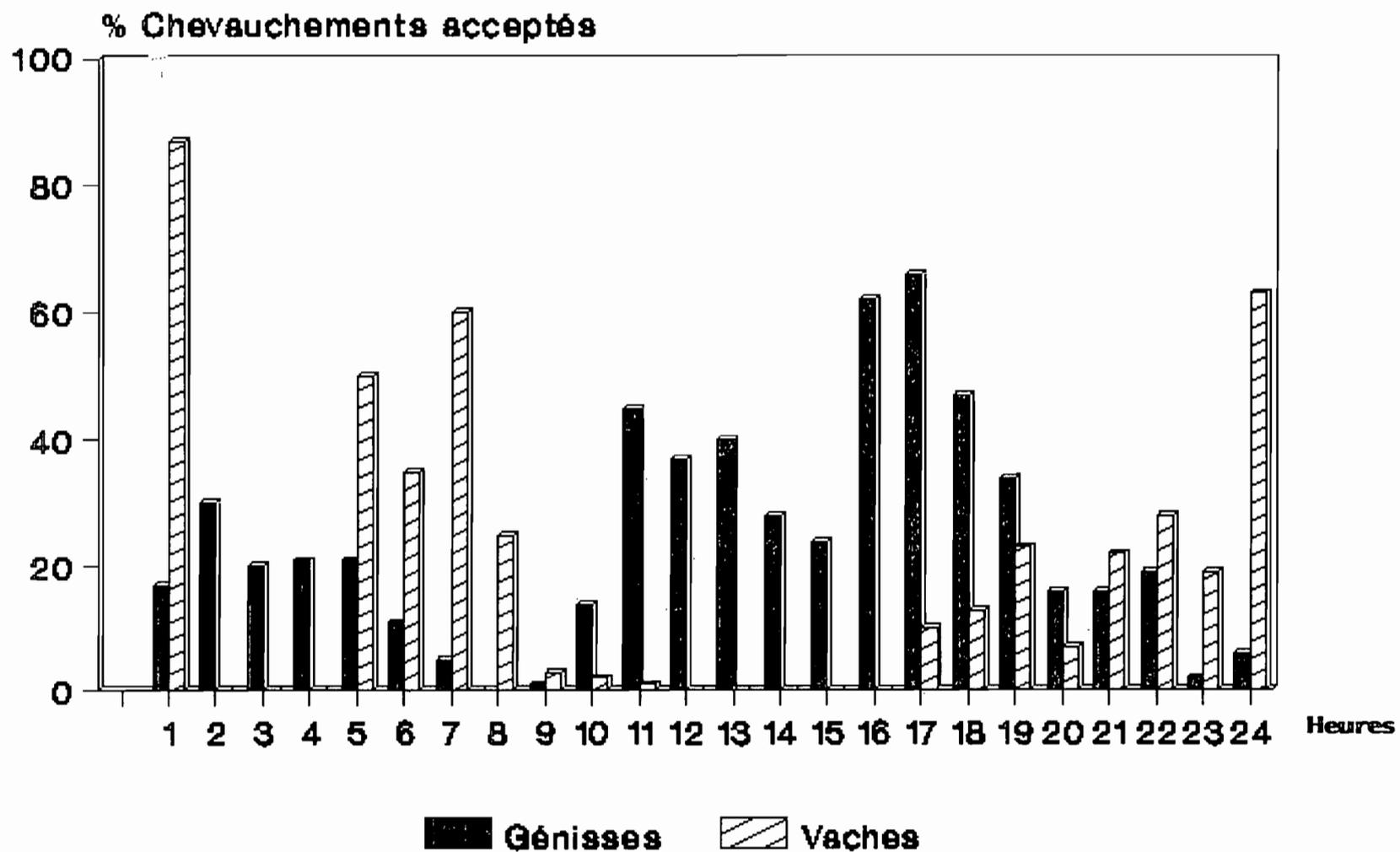


Figure 9 : Distribution des femelles selon le moment d'acceptation de chevauchements

Tableau VI : Réactions individuelles : Génisses, 32 mg p-F.S.H. à partir de J₁₀

| Lot | Nombre de corps jaunes | | | Nombre de follicules | | |
|-----|------------------------|------|-------|----------------------|------|-------|
| | ov.G | ov.D | Total | ov.G | ov.D | Total |
| a | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| a | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 |
| I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 1 | 3 | 4 | 2 | 1 | 3 |
| | 1 | 2 | 3 | 1 | 1 | 2 |

ov.G. : ovaire gauche

ov.D. : ovaire droite

a : femelles ayant présenté des manifestations d'oestrus après le traitement de synchronisation.

Tableau VII : Réactions individuelles : Génisses, 40 mg p-F.S.H. à partir de J₁₀

| Lot | Nombre de corps jaunes | | | Nombre de follicules | | |
|------|------------------------|------|-------|----------------------|------|-------|
| | ov.G | ov.D | Total | ov.G | ov.D | Total |
| | 3 | 1 | 4 | 1 | 1 | 2 |
| a | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| IIIa | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 |
| a | 1 | 1 | 2 | 3 | 1 | 4 |
| | 0 | 2 | 2 | 0 | 1 | 1 |

Tableau VIII : Réactions individuelles : Génisses, 32 mg p-F.S.H. à partir de J₁

| Lot | Nombre de corps jaunes | | | Nombre de follicules | | |
|-----|------------------------|------|-------|----------------------|------|-------|
| | ov.G | ov.D | Total | ov.G | ov.D | Total |
| | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 3 |
| | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| V a | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 3 | 2 | 5 | 1 | 2 | 3 |

.../...

Tableau IX : Réactions individuelles : Génisses, 40 mg p-F.S.H. à partir de J₁

| Lot | Nombre de corps jaunes | | | Nombre de follicules | | |
|-------|------------------------|------|-------|----------------------|------|-------|
| | ov.G | ov.D | Total | ov.G | ov.D | Total |
| | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| a | 1 | 2 | 3 | 2 | 1 | 3 |
| VII a | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| a | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| a | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 |

Tableau X : Réactions individuelles : Vaches, 32 mg p-F.S.H. à partir de J₁₀

| Lot | Nombre de corps jaunes | | | Nombre de follicules | | |
|------|------------------------|------|-------|----------------------|------|-------|
| | ov.G | ov.D | Total | ov.G | ov.D | Total |
| a | 6 | 7 | 13 | 2 | 1 | 3 |
| a | 5 | 6 | 11 | 1 | 1 | 2 |
| II | 1 | 0 | 1 | 2 | 2 | 4 |
| a, b | 3 | 3 | 6 | 1 | 2 | 3 |

b : Femelles ayant manifesté les chaleurs de superovulation.

Tableau XI : Réactions individuelles : Vaches, 40 mg p-F.S.H. à partir de J₁₀

| Lot | Nombre de corps jaunes | | | Nombre de follicules | | |
|------|------------------------|------|-------|----------------------|------|-------|
| | ov.G | ov.D | Total | ov.G | ov.D | Total |
| a | 0 | 2 | 2 | 1 | 0 | 1 |
| IV a | 2 | 1 | 3 | 2 | 1 | 3 |
| a,b | 6 | 4 | 10 | 2 | 1 | 3 |

Tableau XII : Réactions individuelles : Vaches, 32 mg p-F.S.H. à partir de J₁

| Lot | Nombre de corps jaunes | | | Nombre de follicules | | |
|------|------------------------|------|-------|----------------------|------|-------|
| | ov.G | ov.D | Total | ov.G | ov.D | Total |
| a | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| VI b | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| a,b | 4 | 4 | 8 | 1 | 1 | 2 |
| | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 |

Tableau XIII : Réactions individuelles : Vaches, 40 mg p-F.S.H. à partir de J₁

| Lot | Nombre de corps jaunes | | | Nombre de follicules | | |
|-------------|------------------------|------|-------|----------------------|------|-------|
| | ov.G | ov.D | Total | ov.G | ov.D | Total |
| a,b | 8 | 5 | 13 | 0 | 2 | 2 |
| VIII a,b | 1 | 4 | 5 | 0 | 1 | 1 |
| a | 4 | 3 | 7 | 2 | 1 | 3 |

Les femelles (génisses et vaches) qui n'ont pas répondu à la stimulation hormonale avaient des ovaires petits et le plus souvent lisses. Celles ayant réagi présentaient par contre des ovaires généralement plus gros et avec des structures ovariennes. Chez les femelles ayant particulièrement réagi, les follicules et corps jaunes donnaient au toucher l'aspect d'une grappe.

La réponse de l'ovaire gauche ne diffère pas de celle de l'ovaire droit ($P > 0,05$) aussi bien chez les génisses (14 contre 16 C.J.) que chez les vaches (41 sur chaque ovaire). La superovulation a présenté toutefois une variabilité d'une femelle à l'autre (figure 10, page 66).

En ne prenant en compte après superovulation que les femelles ayant manifesté les chaleurs de référence par le comportement ($n = 22$), 13 femelles (3 génisses, 10 vaches) ont répondu à la stimulation hormonale avec une moyenne de $6,5 \pm 3,9$ C.J., variant de $2,3 \pm 0,5$ C.J. chez les génisses à $7,8 \pm 3,7$ C.J. chez les vaches.

.../...

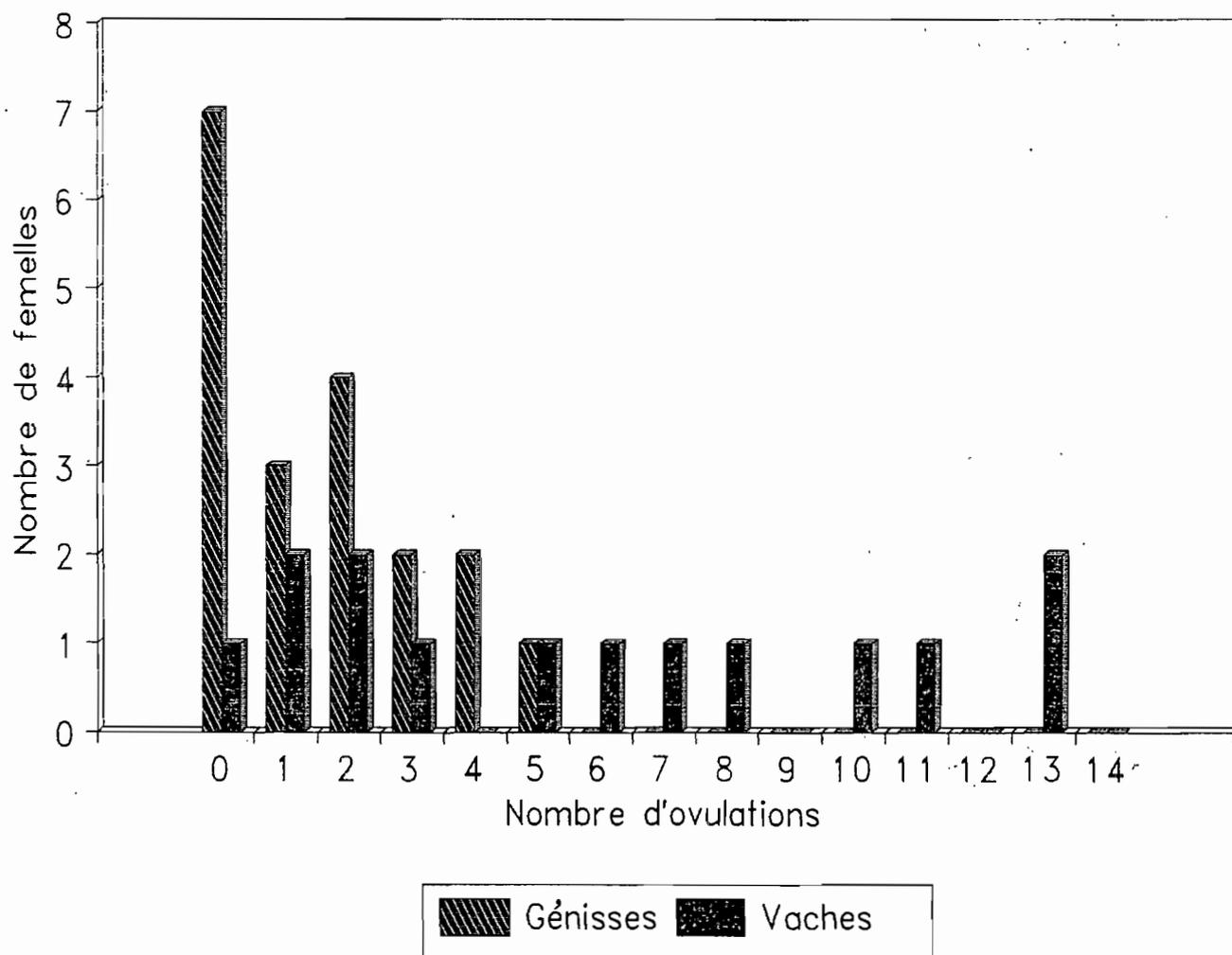


Figure 10 : Répartition des femelles en fonction du nombre de corps jaunes palpés.

Par extension aux femelles superovulées ayant présenté des modifications organiques après le traitement de synchronisation (+ 2 génisses, + 1 vache), la réponse ovarienne reste inchangée chez les génisses ($2,3 \pm 0,5$ C.J.), mais tombe légèrement à $7,2 \pm 3,9$ C.J. chez les vaches, ramenant le résultat global (génisses - vaches) à $6,2 \pm 4$ C.J.

Toutes les vaches ayant présenté des chaleurs de superovulation ($n = 5$) ont bien réagi : $9,4 \pm 2,7$ C.J. Par extension à 2 vaches n'ayant présenté que de la glaire, la réponse devient $8,8 \pm 3,8$ C.J. Par contre 3 des 7 génisses ayant présenté des glaires après superovulation n'ont pas eu de réactions ovariennes : ovaires lisses sans corps jaunes ni follicules.

Sur les 19 femelles (12 génisses, 7 vaches) n'ayant pas présenté des signes d'oestrus (acceptations de chevauchements, glaire - tuméfaction vulvaire) après la superovulation, 15 (8 génisses, 7 vaches) ont eu des réactions ovariennes (au moins 1 corps jaune). Parmi elles, 9 (5 génisses, 4 vaches) ont répondu à la stimulation hormonale avec $3,9 \pm 1,7$ C.J. ($3,4 \pm 1,2$ C.J. chez les génisses ; $4,5 \pm 2,0$ C.J. chez les vaches).

L'effet de l'âge (génisses vs vaches) est hautement significatif : un plus grand nombre de corps jaunes ont été palpés chez les vaches que chez les génisses (82 vs 30 C.J.).

Même si la dose de 32 mg de p-F.S.H. révèle une légère supériorité d'efficacité par rapport à la dose de 40 mg de p-F.S.H. ($6 \pm 3,7$ vs $4,8 \pm 3,5$ C.J.) et le traitement débutant à J₁₀ par rapport à J₁ ($5,4 \pm 3,8$ vs $5,2 \pm 3,4$ C.J.), ni la dose (32 vs 40 mg), ni le jour du début d'induction de la superovulation (J₁, vs J₁₀) n'ont d'effets sur la réponse ovarienne ($P > 0,05$) aussi bien chez les génisses que chez les vaches.

Pour chaque catégorie (génisses, vaches) il n'y a pas de corrélation entre poids et réponse ovarienne, ni entre rang de vêlage et réponse ovarienne chez les vaches.

2.2.2. Récolte et jugement des embryons

A l'issue de la superovulation, 11 femelles (3 génisses, 8 vaches) étaient aptes à la récolte mais seules 6 vaches ont pu être récoltées.

Tableau XIV : Résultats des récoltes

| | Nombre C.J. | Récolte | | | Taux de récolte (p.100) |
|------|----------------|----------|--------|-------------|-------------------------------|
| | | Ovocytes | Morula | Blastocyste | |
| a, b | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| a, b | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| a, b | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| a, b | 13 | 2 | 0 | 0 | 2 15,4 |
| a, b | 11 | 10 | 0 | 0 | 10 90,9 |
| a | 6 | 3 | 2 | 1 | 6 100 |
| | 56 | 15 | 2 | 1 | 18 32,1 |

La moyenne d'embryons récoltés est alors de 3.

Le blastocyste est un jeune, d'excellente qualité : 5.1. Il a été jugé transférable et a été transféré sur une receveuse. Une morula d'excellente qualité 4.1. a été également transférée.

La deuxième morula n'a pas été transférée car de moins bonne qualité : 4.3.

Ainsi la moyenne transférable est de 0,3 par femelle récoltée.

Les 15 ovocytes se répartissent comme suit : 12 dégénérés 1 en voie de dégénérescence et 2 normaux.

.../...

CHAPITRE 3 - DISCUSSION

3.1. SELECTION DES ANIMAUX

Bien que toutes les génisses retenues au moment du déparasitage aient dépassé l'âge moyen à la puberté, elles avaient pour la plupart des poids faibles, inférieurs au poids moyen à la puberté chez la Ndama. Nous les avons gardées dans l'espoir qu'elles atteindraient des poids satisfaisants lorsque nous reviendrions intervenir sur elles un mois plus tard. Notre espoir était fondé sur le fait que le déparasitage a été réalisé un mois avant le démarrage du protocole expérimental et que les animaux étaient entretenus sur du pâturage abondant et de bonne qualité (saison des pluies), donc des gains quotidiens de poids intéressants en perspective. Nous n'avons malheureusement pas obtenu les résultats escomptés. Nous les avons donc conservées telles quelles pour notre expérience parce qu'en dépit du poids faible de beaucoup d'entre elles, elles étaient les 20 plus lourdes génisses disponibles au Centre répondant à nos critères de sélection.

En ce qui concerne les vaches, il n'a été possible de retenir sur la base des critères de sélection, qu'un effectif total de 20 pour en faire également 4 lots de 5 individus. Seules 17 vaches étaient vides et à au moins 2 mois après le part, d'où la constitution d'un lot de 5 et de trois de 4 individus.

3.2. CARACTERISTIQUES OESTRALES

3.2.1. Chaleurs de référence

3.2.1.1. Synchronisation des chaleurs

Le taux de synchronisation brut que nous avons obtenu avec le CRESTAR^R (67,6 p.100) est inférieur à ceux obtenus chez la Ndama avec la même méthode de synchronisation par **OUATTARA** (1990) (100 p.100), puis **DIOP *et al.*** (1994a et b) (97,8 p.100) au Sénégal ou en Côte d'Ivoire par **MEYER** et **YESSO** (1991) chez la Ndama et la Baoulé (100 p.100) ou encore au Mali par **CISSE** (1993) chez la Ndama synchronisée aux Prostaglandines (90 p.100).

Il apparaît que le taux de venues en chaleurs que nous avons obtenu, bien que moyen et supérieur au taux ce 48,9 p.100 obtenu par **OUEDRAOGO** (1989) au Burkina Faso chez les Baoulés traitées aux implants, n'est pas satisfaisant à notre avis dans un programme de maîtrise de cycle sexuel.

Les génisses ayant présenté une mauvaise réponse à la synchronisation, leur état ovarien avant traitement pourrait être incriminé. Nous pensons que les génisses traitées ne seraient pas à majorité pubères compte tenu de leur poids. Bien que les progestagènes soient efficaces que la femelle bovine soit cyclée ou non, d'où leur intérêt (AGUER, 1981), il est invraisemblable qu'ils soient un déclencheur de la puberté d'où le résultat observé : 10 génisses venues en chaleurs contre 19 traitées (52,6 p.100) contre 13 sur 15 (86,7 p.100) chez les vaches.

Notre protocole ne nous a pas permis d'effectuer la palpation transrectale des animaux pendant la période d'oestrus. L'état tonique de l'utérus (signe pathognomonique) aurait révélé avec exactitude la situation de venue ou non en chaleur de chaque femelle.

les résultats de la stimulation hormonale nous ont néanmoins fait remarquer que parmi les femelles qui n'avaient pas manifesté des comportements d'oestrus (9 génisses, 2 vaches), certaines avaient présenté des corps jaunes à la palpation transrectale. Elles auraient à notre avis, des ovaires actifs au moment du traitement de synchronisation ; il s'agirait dans ce cas de chaleurs silencieuses ayant concerné 7 génisses (77,7 p.100 de non venues en oestrus). Il se pourrait aussi qu'au moment de la synchronisation, ces génisses n'aient pas eu des ovaires actifs et que c'est au moment de l'induction de la superovulation que les ovaires sont entrés en activité. Il ne s'agirait donc pas dans cette seconde situation de cas de chaleurs silencieuses.

Par contre toujours sur la base des résultats de l'appréciation de la réponse ovarienne, parmi les femelles ayant manifesté le comportement d'oestrus (10 génisses et 13 vaches), 5 génisses (50 p.100) et 1 vache (7,7 p.100) n'ont pas eu de réactions ovariennes : ovaires petits et sans structures. Elles n'auraient pas ovulé à notre avis suite aux chaleurs de référence car ce ne serait quand même pas la p-F.S.H. qui arrêterait l'activité ovarienne. Il s'agirait probablement de chaleurs anovulatoires. Ce phénomène de chaleurs anovulatoires a été déjà signalé par **DIOP *et al.*** (1994c) dans 41,6 p.100 des cas.

Nous ne pouvons malheureusement pas confirmer ces hypothèses car notre protocole ne nous a pas permis de contrôler par dosage hormonal en particulier de L.H. au moment des chaleurs, l'activité ovarienne, ni après le traitement de synchronisation par palpation transrectale en phase lutéale.

.../...

3.2.1.2. Délai d'apparition des chaleurs

Il est équivalent qu'il soit déterminé par rapport à l'administration de la prostaglandine, ou par rapport au retrait de l'implant, l'intervalle injection PG-retrait de l'implant étant constant : 48 heures (47 h 58 \pm 0 h 32 dans notre expérience.

Le délai moyen PG-chaleurs (84 h 53 \pm 7 h 09) ou retrait implant - chaleurs (35 h 42 \pm 8 h 48) que nous avons observé est comparable à ceux observés chez la Ndama par **DIOP *et al.*** (1994b) (83,96 h \pm 14,6 h par rapport à la prostaglandine ou 34,78 \pm 14,9 h par rapport au retrait de l'implant) puis **DRAME** (1994) (35,4 h par rapport au retrait de l'implant). Il est par contre inférieur après retrait de l'implant au délai de 59 heures observé par **DIOUF** (1991) chez la Ndama, ou 51,6 \pm 16,8 h chez la Baoulé par **CHICOTEAU** (1989).

Même avec un traitement aux prostaglandines, **OUEDRAOGO** (1989) a observé chez la Baoulé un délai comparable (84,9 \pm 20,6 heures) alors que **CHICOTEAU** (1989) observé chez la Baoulé, un délai de 64,6 \pm 14,4 heures inférieur au nôtre.

La connaissance du délai moyen d'apparition de l'oestrus après synchronisation de l'oestrus est nécessaire pour situer le moment d'ovulations. Devant la variabilité du délai moyen d'apparition des chaleurs après l'application d'une même méthode de synchronisation chez une même race, il nous a paru intéressant de connaître le déterminisme de ce délai : est-ce une variabilité individuelle ou une variabilité due au moment d'injection de prostaglandines ou de retrait de l'implant ? Du fait que ces chaleurs donnent à un jour déterminé le stade du cycle sexuel d'un grand nombre de femelles traitées, d'où l'appellation chaleurs de référence, il serait utile dans un programme de superovulation où tout est fixé au jour près de pouvoir faire apparaître l'oestrus à partir d'un moment désiré.

Si pour une méthode de synchronisation aux prostaglandines les choses apparaissent plus simples, il n'en est pas de même pour le traitement que nous avons appliqué, combinant implant et prostaglandine. La prostaglandine a certes une action lutéolytique, mais le maintien de l'implant après la prostaglandine permettrait-il l'apparition de l'oestrus ? Doit-on agir sur le moment d'injection de la prostaglandine ou sur le moment du retrait de l'implant pour déplacer à volonté le moment d'apparition de l'oestrus ?

3.2.1.3. Durée de l'oestrus

La durée moyenne observée ($8 \text{ h } 28 \pm 4 \text{ h } 37$) traduit une brièveté des chaleurs chez la femelle Ndama, comparée à ce qui est généralement signalé chez les bovins des pays tempérés (18 à 24 heures).

Elle est toutefois inférieure aux observations faites chez la Ndama au Sénégal par **DIOP *et al.*** (1994b et c) qui étaient respectivement de $10,17 \pm 2,81 \text{ h}$ et $11,28 \text{ h}$, ou encore faites chez la Baoulé au Burkina Faso par **CHICOTEAU** (1989) ($10,5 \pm 5,1$ heures) et **OUEDRAOGO** (1989) ($10,7 \pm 5,1$ heures). Notre observation selon laquelle les génisses manifestent l'oestrus pendant une plus longue durée que les vaches ($10 \text{ h } 56 \pm 4 \text{ h } 31$ contre $5 \text{ h } 11 \pm 1 \text{ h } 58$) est en contradiction avec celle faite chez la Baoulé ($10 \text{ h } 00 \pm 5 \text{ h } 00$ contre $11 \text{ h } 50 \pm 5 \text{ h } 30$) par **MAMBOUE** (1987) cité par **SAUVEROCHE et WAGNER** (1993).

Si la caractérisation de l'oestrus est apparemment aisée du fait de l'observation d'une multitude de manifestations plus ou moins fréquentes, régulières et connues de l'homme, il n'en est pas de même pour le début et la fin de l'oestrus. Les critères "acceptation de chevauchement" et de "refus de chevauchement" que nous avons adoptés pour caractériser respectivement le début et la fin des chaleurs, bien que manifestes ; ne sont à notre avis que des expressions approximatives de la délimitation dans le temps de l'oestrus.

L'acceptation du premier chevauchement ne marque pas nécessairement le début exact des chaleurs : une femelle en oestrus ne peut en effet être chevauchée par une congénère lorsqu'elle s'isole, ou qu'elle manifeste des signes de dominance dans le troupeau rendant son approche difficile. Elle peut ainsi refuser le chevauchement d'une congénère, accepter celui d'une autre, laquelle peut ne pas être la première venue, ni nécessairement une "surveillante" des chaleurs. Cette manifestation de préférence dans l'acceptation de chevauchement s'observe particulièrement à la fin de l'oestrus où la femelle en oestrus accepte après une longue période de refus, uniquement la monte d'une femelle particulière. C'est ainsi que nous avons fréquemment observé des acceptations de chevauchements alternant avec des refus. Dans ces cas, c'est l'heure du dernier refus qui a été retenue pour caractériser la fin de l'oestrus.

Pour les femelles dont nous n'avons pas pu déterminer la durée de l'oestrus (la fin des chaleurs n'ayant pas été révélée par un refus de chevauchement), nous pensons

.../...

qu'il est possible d'évoquer dans l'avenir un critère supplémentaire : "l'heure de la dernière acceptation de chevauchement" pour marquer la fin des chaleurs dans cette situation.

3.2.1.4. Intensité de l'oestrus

Globalement, l'intensité des chaleurs manifestée au cours de notre étude est supérieure aux $2,7 \pm 0,5$ acceptations de chevauchements signalées chez la Ndama par GYAWU *et al.* (1991) cités par SAUVEROCHE et WAGNER (1993) ou chez la Baoulé $4,4 \pm 3,3$ chevauchements par heure (CHICOTEAU, 1989), $4,4 \pm 3$ heures (OUEDRAOGO, 1989).

Les chaleurs de forte intensité ont été observées dans notre étude chez les génisses. Au delà du fait que l'intensité dépend aussi de la durée de l'oestrus plus longue chez les génisses, elle tiendrait plus à notre avis de la présence de vaches, les génisses faisant état de dominées dans le troupeau se laissaient chevaucher plus facilement et plus fréquemment. De plus la manifestation de préférence précédemment évoquée a aussi une répercussion sur l'intensité des chaleurs. Une femelle qui accepte préférentiellement les chevauchements d'une congénère se laisse chevaucher d'autant plus fréquemment que celle-ci reste tout près d'elle et manifeste le désir de chevaucher. Par ailleurs une femelle en oestrus peut être plus active dans le chevauchement ou la tentative de chevauchement des congénères que dans l'acceptation passive de leurs chevauchements. Ce comportement réduit considérablement le nombre de chevauchements acceptés par une femelle en oestrus plus active que passive. C'était le cas le plus souvent des vaches d'où leur intensité moyenne plus faible.

Contrairement aux vaches, les génisses ont toléré les chevauchements pendant toutes les heures, même aux heures chaudes. Cela serait lié à notre avis au délai d'apparition des chaleurs après le traitement de synchronisation. Les génisses étant venues en chaleurs en général plus tôt que les vaches et ayant eu les chaleurs les plus longues ont en effet couvert pratiquement une période de 24 heures.

3.2.2. Chaleurs de superovulation

Comparées aux chaleurs de référence, elles sont d'apparition précoce après l'administration de prostaglandine. La réduction de cet intervalle par rapport à celui observé après traitement de synchronisation serait probablement causée par la décharge rapide (par l'apport exogène de F.S.H., la superovulation induirait une accélération de tout le processus de la croissance folliculaire) et massive d'oestrogènes secrété par le plus grand nombre de follicules en croissance.

.../...

Cet intervalle moyen (PG- chaleurs de superovulation) est toutefois supérieur à celui trouvé chez la Ndama par **DIOP *et al.*** (1994a) avec la F.S.H. (36 heures), lesquels trouvent par contre un délai supérieur avec la P.M.S.G. (48 heures), comparable à celui observé par **DRAME** (1994) avec la P.M.S.G. ($49,25 \pm 5,25$ heures).

Les chaleurs de superovulation ont été dans l'ensemble peu apparentes, ce qui pourrait justifier les résultats globaux obtenus : les résultats nettement meilleurs obtenus chez les 5 vaches ayant manifesté le comportement d'oestrus après superovulation sont évocateurs.

L'appréciation de la réponse ovarienne ayant été effectuée en phase lutéale (7 jours après les chaleurs de superovulation, nous pourrions affirmer avec plus d'assurance sur la base des résultats obtenus qu'il n'y a pas eu de chaleurs anovulatoires après la stimulation hormonale mais qu'il y aurait eu par contre des chaleurs silencieuses (extension à 2 vaches ayant présenté la glaire et une réaction ovarienne) ou totalement inapparentes chez toutes celles qui ont eu une réaction ovarienne sans avoir présenté un signe d'oestrus (14/19).

Cette étude devra être reprise pendant la saison sèche afin de préciser d'éventuelles variations saisonnières des caractéristiques de l'oestrus.

Nous pensons qu'en pratique, il faut certes connaître les caractéristiques oestralles mais il n'est pas nécessaire de faire une détection de l'oestrus par observation permanente.

3.3. PRODUCTION D'EMBRYONS ET FACTEURS DE VARIATIONS

3.3.1. Fécondation

La fécondation a été réalisée par saillies naturelles. Alors que nous avions tous les matériels pour la réalisation de l'insémination artificielle, celle-ci n'a malheureusement pas pu être réalisée pour raison de non disponibilité de dilueur de sperme. Ceci n'est pas sans conséquences sur les résultats de récolte.

Nous avons constaté que la femelle bovine ne peut accepter la monte qu'en état d'oestrus. Les chaleurs de superovulation ayant été frustrées (seules 5 vaches ont pu manifester le comportement d'oestrus, les taureaux d'insémination laissés avec les femelles pendant les 4 premiers jours de chaleurs (dates présumées) n'ont pu

saillir d'abord que 3 vaches sur 16 (effectif total de 4 lots). Ceci élimine déjà de la récolte une grande partie des femelles récoltables pour absence de fécondation, donc pas d'embryons récupérables possibles. Nous aurions pu les récolter pour l'évaluation du taux de récolte à travers les ovocytes. Mais il nous fallait des embryons pour les receveuses préparées. C'est pourquoi elles ont été plutôt intégrées à l'effectif d'animaux ayant servi d'initiation puis de pratiques aux techniques de récolte et de transfert d'embryons.

A partir du 5^e jour de saillies, nous avons décidé d'effectuer des saillies systématiques en monte en "main". Ces saillies systématiques réalisées à heure fixe (48 heures après la prostaglandine) pour l'ensemble des femelles des 4 derniers lots, ont consisté en une seule opération de deux montes successives par le même taureau, du fait des difficultés liées à cette pratique. Or les ovulations sont étalées dans le temps après la superovulation. La non multiplicité des saillies au moins à 12 heures d'intervalle et le moment des saillies expliqueraient l'observation à la récolte d'un grand nombre d'oeufs non fécondés.

3.3.2. Appréciation de la réponse ovarienne à la stimulation hormonale

3.3.2.1. Résultats globaux

L'appréciation de la réponse ovarienne s'est faite par le comptage des formations : corps jaunes et follicules. Théoriquement, le nombre de corps jaunes correspond au nombre d'ovulations. C'est pourquoi après présentation générale, nous avons surtout exprimé nos résultats en terme de corps jaunes.

La palpation transrectale des ovaires n'étant pas très précise (DAWSON, 1975 ; THIMONIER, 1978) il est évident que le nombre de corps jaunes que nous avons donné est sous estimé lorsque la réponse ovarienne est particulièrement bonne. Dans ces conditions en effet, les corps jaunes en grappe à la surface des ovaires sont pratiquement coalescents d'où leur individualisation difficile à travers la palpation transrectale.

Le nombre moyen d'ovulations obtenues ($5,4 \pm 3,7$ C.J. ou $6,6 \pm 3,9$ selon que toutes les femelles ont été considérées ou seulement celles ayant manifesté les chaleurs de référence) est faible ou satisfaisant comparé aux résultats observés en d'autres sites. Certaines équipes considèrent qu'une femelle a répondu à la stimulation lorsqu'elle a au moins 3 corps jaunes. D'autres équipes ne donnent que le résultat des femelles récoltables (4 - 5 corps jaunes au moins).

.../...

Il apparait néanmoins au vu de nos résultats qu'en dépit des phénomènes de chaleurs anovulatoires, les résultats sont meilleurs lorsqu'on ne soumet à la superovulation que les femelles ayant manifesté les chaleurs de référence. Mais y a-t-il avantage après un traitement préliminaire de synchronisation des chaleurs, à ne superovuler que les femelles ayant manifesté le comportement de l'oestrus ? Le gain supplémentaire en nombre total d'ovulations, donc probablement en nombre d'embryons, induit par la superovulation de toutes les femelles synchronisées, justifie-t-elle l'induction de la stimulation hormonale chez toutes les femelles synchronisées ? A chacun de choisir selon ses moyens et ses objectifs la stratégie à adopter : superovuler toutes les femelles synchronisées ou seulement celles ayant manifesté le comportement d'oestrus après synchronisation ?

3.3.2.2. Effet de l'âge

Il ressort de notre étude que l'effet de l'âge est hautement significatif : les vaches ont présenté plus de corps jaunes que les génisses. Si les génisses avaient pu être récoltées, elles donneraient évidemment moins d'embryons que les vaches.

Les vaches ayant déjà vêlé au moins une fois, leur fertilité est connue. Il est par contre difficile de juger de la fertilité des génisses.

L'absence de corrélation entre rang de vêlage et réponse ovarienne, nous fait penser que la différence de réponse entre génisses et vaches tient plus au moins des animaux qu'à l'âge. La meilleure réponse obtenue chez les génisses est 5 C.J. contre 13 chez les vaches. La sortie du pool des primordiaux se ferait donc d'autant mieux que l'animal est lourd autrement dit l'activité ovarienne est améliorée avec le poids de l'individu. D'après **MONNIAUX** (1983) en effet, une meilleure réponse est obtenue lorsque les ovaires sont actifs. Il est donc nécessaire au vu de nos résultats (la bonne performance des vaches mêmes les très âgées), de relativiser en milieu africain, l'idée selon laquelle la réponse à la superovulation est aléatoire à partir de 10 ans. Cela est peut être le cas dans les pays développés où les femelles entrent tôt à la reproduction et le rythme de vêlage tend vers 1 par an. Il est normal qu'à 10 ans, la femelle soit fatiguée et bonne pour la réforme. Dans les conditions africaines par contre où la première mise bas a lieu généralement après 3 ans et l'intervalle entre deux vêlages successifs approche 2 ans, il est facile de trouver des femelles bonnes reproductrices d'âges avancés. C'est pourquoi nous pensons que quel que soit l'âge de la femelle, elle peut être superovulée tant qu'elle a un bon état général.

La mauvaise réponse des génisses au traitement de synchronisation, puis au traitement de superovulation pose ainsi le problème de cyclicité : les génisses n'auraient pas toutes atteint la puberté. La puberté signalée chez la Ndama à 60 % du poids adulte, appliquée dans notre situation, donnerait un poids à la puberté trop faible pour nos génisses. En effet, même en considérant la limite supérieure du poids moyen des vaches (235 ± 27 kg) soit 262 kg, nos génisses seraient pubères dès 157,2 kg. Or le poids moyen des génisses utilisées était pourtant supérieur (163 ± 20 kg).

Nous pensons qu'une étude préalable de cyclicité s'impose avant l'utilisation de toute génisse en particulier dans un programme de production d'embryons. A défaut d'une étude préalable de cyclicité, un poids minimum de 170 kg doit être fixé pour les génisses. On ne peut craindre qu'un frein à l'amélioration génétique (retard à la mise en reproduction). Nous pensons qu'il est possible de contourner ce frein en améliorant l'alimentation des génisses devant être utilisées comme donneuses d'embryons. Par cette pratique en effet, elles atteindraient dans un délai acceptable leur poids à la puberté.

3.3.2.3. Effet de la dose

Bien qu'une légère infériorité de la réponse ovarienne soit observée à la dose de 40 mg, la différence n'est significative qu'avec 32 mg de p-F.S.H.

D'après NIBART et BOUYSSOU (1981), la réponse ovarienne augmente avec la dose mais pas nécessairement le nombre d'embryons transférables. DIOP *et al.* (1994a) ont en effet observé que la réponse s'améliore chez la Ndama, lorsqu'ils passent de 32 à 36 mg de F.S.H. Dans notre expérience, c'est possible qu'à 40 mg, la réponse ovarienne commence à chuter après avoir atteint un maximum d'efficacité. La dose totale optimale de p-F.S.H. chez la Ndama serait donc comprise entre 32 mg et 40 mg. Le passage de 32 à 40 mg de p-F.S.H. a été probablement trop brusque pour permettre de percevoir une modification de la courbe dose-réponse. C'est pourquoi nous proposons des variations douces de doses par unité de 2 mg. Ceci donnerait une approche plus exacte de la courbe dose-réponse. Cette étude devra être appuyée par une estimation du coût de chaque régime d'induction de superovulation chez la Ndama en vue de définir la dose qui donnerait la meilleure réponse au moindre coût.

Le rapport L.H./F.S.H. de la préparation utilisée (20 %) pourrait expliquer qu'à 40 mg la réponse soit légèrement plus faible qu'à 32 mg. En effet, le mode d'injection de l'hormone superovulatoire à dose décroissante fait administrer une grande quantité de L.H. en début de traitement. Entre 32 et 40 mg une plus grande quantité de L.H. est

injectée en début de traitement à 40 mg qu'à 32 mg perturbant ainsi probablement l'endocrinologie régissant la croissance folliculaire. Considérant que le fabricant de STIMUFOL^R recommande 45-50 mg chez la vache et 32-36 mg p-F.S.H. chez la génisse, nous pourrions émettre l'hypothèse qu'une forte proportion de L.H. a un effet néfaste chez la race Ndama.

Simultanément à la recherche de la dose-réponse des hormones superovulatoires chez la Ndama, une étude devra être menée en vue de déterminer chez cette race trypanotolérante le rapport L.H./F.S.H. idéal.

3.3.2.4. Effet du jour d'induction de la superovulation

Le choix du jour d'induction de la superovulation est en rapport avec le statut de l'ovaire au moment de la stimulation hormonale. Lorsque la femelle donneuse est considérée comme responsable d'au moins 50 % de la variabilité de production d'embryons il est aisé de comprendre l'importance accordée au moment d'induction de la superovulation.

A J₁₀ la stimulation intervient en période de la seconde vague de croissance folliculaire. Pour une meilleure réponse, l'intervention devra avoir lieu en début de vague avant la sélection d'un follicule dominant (MAPLETOFT et PERSON, 1993 ; ADAMS, 1994). C'est pourquoi il est conseillé de débiter le traitement à J₉ pour une femelle ayant un cycle de 21-23 jours, ou à J₁₀ pour un cycle de 18-20 jours. Or chez la femelle Ndama, la durée du cycle varie de 20,3 ± 2,2 jours à 21,3 ± 2,7 jours d'après les résultats compilés par SAUVEROCHE et WAGNER (1993) soit un intervalle de 18 à 24 jours pour la durée des cycles. Lors d'une intervention en troupeau de femelles, il serait utopique de vouloir déterminer la durée du cycle de chacune d'elles. La connaissance de la durée exacte d'un cycle est cependant nécessaire pour le choix du jour de démarrage du traitement de superovulation. Mieux après synchronisation de chaleurs, il est peu probable qu'à J₁₀, toutes les femelles soient au même stade du fait de la variabilité du nombre de vagues par cycle (2,3 ou 4 vagues par cycle selon les femelles).

A J₁ par contre, exceptée la variabilité induite par l'étalement du moment du début des ovulations, (présente aussi à J₁₀), toutes les femelles débuteraient simultanément la croissance folliculaire de la première vague à quelques heures près. Le démarrage de l'induction de la superovulation à J₁ réduirait davantage à notre avis la variabilité de la réponse. Cela n'a pas été certes constaté dans notre expérience, le nombre de corps jaunes variant de 0 à 13 dans les deux cas (J₁, J₁₀).

.../...

L'absence de différence significative dans la réponse à la superovulation que le traitement débute à J₁ qu'à J₁₀ corrobore les observations de **ADAMS** (1994) selon lesquelles la superovulation peut être induite avec efficacité équivalente que le traitement soit initié en début d'émergence de la première ou de la deuxième vagues folliculaires. Un retard d'un jour par rapport au jour d'émergence de la vague pouvant affecter négativement la réponse à la superovulation, nous préconisons le démarrage des traitements de superovulation à partir de la première vague. Outre le gain de temps, il est plus facile de repérer le jour d'émergence de la première vague (jour d'ovulation) que celui de la seconde vague au sein d'un effectif important de femelles après un traitement de synchronisation des chaleurs.

Les réponses étant légèrement inférieures à J₁ qu'à J₁₀, des études complémentaires sont encore nécessaires pour améliorer les résultats de l'induction à partir de J₁. Ces études devront revoir le moment du traitement lutéolytique, appliqué tôt en phase lutéale dans notre étude (J₄) d'où peut être la légère infériorité des résultats. Il est en effet possible qu'après l'administration de prostaglandine (au matin du 3e jour après les chaleurs de superovulation), des corps jaunes se forment au terme des 8 injections de la F.S.H. pendant que le taux circulant de prostaglandine n'est plus efficace pour provoquer leur lyse. Cette probable mise en place de corps jaunes après l'injection de l'hormone de superovulation pourrait affecter négativement la réponse ovarienne.

3.3.3. Récolte

Pour n'avoir pas été saillies systématiquement (lots V, VI, VII, VIII) ou pour raison technique (col infranchissable : 1 génisse) ou pour raison sanitaire (métrite : 2 vaches ; 1 génisse), seules 6 vaches ont pu être récoltées.

Nous avons obtenu un taux de collecte (32 %) supérieur à celui obtenu chez la Baoulé par **CHICOTEAU** (1989) mais inférieur à ceux signalés par **JORDT et al.** (1986) chez la Ndama (73 à 93 %).

Notre faible taux de collecte peut s'expliquer par le fait que nous avons réalisé plusieurs récoltes sans embryons ou ovocytes. Mais la récolte jusqu'à 10 ovocytes chez une femelle (taux de collecte : 90,9 %), 6 chez une autre (taux de collecte : 100 %) est toutefois encourageant.

CONCLUSION

La présence en Afrique de la trypanosomose sur plus du tiers du continent, entrave considérablement le développement de l'agriculture dans les régions à glossines. L'économie de la plupart des 37 pays concernés repose cependant sur l'agriculture qui fournit à la fois les denrées alimentaires et la quasi totalité des matières premières pour les industries locales et pour l'exportation.

La croissance démographique oblige à étendre les zones de cultures et d'élevage jusque dans les régions à forte densité de glossines ce qui rend indispensable la lutte contre la trypanosomiase et son vecteur (mouches tsé-tsé). Eu égard aux effets néfastes sur l'environnement de la lutte contre les mouches tsé-tsé basée sur l'emploi d'insecticides, l'utilisation du bétail trypanotolérant s'avère indispensable pour le développement de l'élevage dans ces zones affectées devant la rareté des ressources financières nécessaires pour alimenter et soutenir le processus de développement. Les bovins trypanotolérants au delà des avantages d'un élevage de bovins seraient donc utiles dans cette partie de l'Afrique.

Or les bovins constituent une espèce domestique dont l'aptitude reproductrice est l'une des plus faibles : la femelle bovine lorsqu'elle est en activité sexuelle produit le plus souvent un ovule par cycle. Grâce à l'avènement de la biotechnologie du transfert d'embryons, il est en effet possible d'induire une augmentation du taux d'ovulation à travers une stimulation hormonale : la **superovulation**.

Mais la superovulation est caractérisée par une variabilité dans sa réponse, variabilité qui constitue un facteur limitant majeur de la biotechnologie du transfert d'embryons.

Alors que d'énormes progrès sont réalisés dans le domaine des biotechnologies de la reproduction animale, à l'origine parfois de surproduction dans les pays développés, peu d'informations sont disponibles à ce jour en Afrique sur le comportement des bovins autochtones face à ces nouvelles méthodes de reproduction artificielle. La reproduction des bovins par le transfert d'embryons y est donc une méthode mal maîtrisée malgré ses nombreux avantages.

Afin d'améliorer les connaissances concernant la physiologie de la reproduction des bovins Ndama et celles concernant certains facteurs susceptibles d'affecter positivement l'efficacité de la superovulation chez cette race, nous avons entrepris une étude sur les effets de l'âge des femelles, des doses de p-F.S.H. (**STIMUFOL^R**) et du

jour d'initiation de la stimulation hormonale. Cette étude réalisée pendant la saison des pluies au Sénégal a eu pour cadre le Centre de Recherches Zootechniques (C.R.Z.) de Kolda.

Au départ 20 génisses réparties en 4 lots de 5 individus de poids homogène et 17 vaches réparties également en 4 lots de poids homogène (1 lot de 5 individus et 3 lots de 4 individus) ont été préalablement synchronisées par le Norgestomet (**CRESTAR^R**) associé au Cloprostenol (**ESTRUMATE^R**), un mois après leur déparasitage à l'Ivermectine (IVOMEC). Les caractéristiques oestrales ci-après indiquées ont été observées à ce stade du protocole expérimental.

52,6 p.100 des génisses et 86,6 p.100 des vaches soit 67,6 p.100 des femelles traitées ont manifesté le comportement de l'oestrus.

Le délai d'apparition de l'oestrus après la prostaglandine était de 84 h 53 \pm 7 h 09 pour l'effectif (35 h 42 \pm 8 h 48 après le retrait de l'implant) avec une différence non significative ($P > 0,05$) entre vaches (82 h 38 \pm 9 h 40) et génisses (86 h 37 \pm 3 h 28).

A l'exception des vaches, les génisses ont manifesté le comportement d'oestrus (acceptation de chevauchement) pratiquement à toutes les heures. La durée moyenne pour l'effectif était de 8 h 28 \pm 4 h 37 avec une différence significative à l'avantage des génisses : 10 h 56 \pm 4 h 31 contre 5 h 11 \pm 1 h 58 ; $P < 0,05$.

L'intensité de l'oestrus était de 6-7 acceptations de chevauchement par heure avec une différence significative entre vaches et génisses, à l'avantage des génisses : 9 \pm 4 chevauchements acceptés/h contre 3 \pm 2,8 chevauchements acceptés/h chez les vaches.

La superovulation induite au cours de deux traitements de 4 jours chacun débutant soit à J₁ soit à J₁₀ a consisté en deux injections quotidiennes en doses décroissantes (doses totales 32 mg ou 40 mg).

Les chaleurs de superovulation ont été en général très peu manifestes : 5 vaches ont extériorisé à travers le comportement à 41 h 28 \pm 3 h 13 après l'injection de prostaglandines. D'intensité partielle faible, la durée n'a pas pu être déterminée.

.../...

OBJECTIFS :

L'objectif principal de cette expérimentation est de déterminer chez la femelle Ndama les influences de l'âge (génisses vs vaches), de la dose de p-FSH et du moment d'induction de la superovulation (J_1 vs J_{10}) sur la réponse au traitement en termes de nombre d'ovulations, nombre d'embryons et la qualité des embryons afin d'aider à la définition d'un régime optimum de superovulation chez cette race trypanotolérante d'Afrique.

L'objectif secondaire est de fournir des informations sur les caractéristiques de l'oestrus chez les Ndama.

CHAPITRE 1 - MATERIEL ET METHODES

1.1. LE CADRE EXPERIMENTAL

L'étude expérimentale a eu pour cadre la station du Centre de Recherches Zootechniques (C.R.Z.) de Kolda. Située au Sud du Sénégal, la région de Kolda appartient aux zones africaines infestées de glossines.

Le climat qui y règne est de type sub-guinéen caractérisé par :

- une saison sèche (novembre à mai) fraîche en janvier, et chaude entre février et mai ;
- et une saison pluvieuse de juin à octobre, avec des précipitations de 1000 à 1700 mm dont le maximum tombe dans le mois d'août.

La végétation y est dense prenant l'allure en certains endroits de forêts ombrophiles et offrant des pâturages variables selon les saisons.

1.2. MATERIEL

1.2.1. Matériel animal

L'expérience a porté sur des taurins Ndama appartenant au C.R.Z. de Kolda.

1.2.1.1. Nombre - Parité

Un nombre égal (20) de génisses et de vaches a été recherché pour cette étude.

Sont considérées comme **génisses** toutes les femelles qui n'ont jamais vêlé mais qui sont susceptibles de concevoir après mise à la reproduction, et comme **vaches**, toutes celles qui ont vêlé au moins une fois.

1.2.1.2. Entretien

Les femelles retenues sont regroupées en un troupeau isolé des autres animaux sans toutefois faire l'objet d'entretien particulier.

L'alimentation et l'abreuvement se faisaient *ad-libitum*. Les animaux étaient amenés au pâturage le matin et ramenés à l'étable le soir. Du fait de la saison des pluies, le pâturage était abondant et de bonne qualité.

Les programmes de prophylaxie en vigueur au C.R.Z. de Kolda étant rigoureusement respectés, les animaux qui y sont entretenus étaient bien suivis sur le plan sanitaire.

.../...

1.2.2.2.3. p-FSH (STIMUFOL R)⁴

C'est un produit à activité superovulatoire chez les femelles bovines.

Il est présenté sous forme de lyophilisat injectable de Follitropine porcine (p-FSH) associée à de la Lutropine porcine (p-LH).

Chaque flacon de lyophilisat contient 500 μ g de Follitropine et 100 μ g de Lutropine.

10 μ g de FSH-p de la spécialité (Annexe III) sont équivalents à 1 mg de p-FSH-P1 du N.I.D.D.K.D. (*National Institute of Diabetes Digestive and Kidney Diseases*)

1.3. METHODES

1.3.1. Sélection des animaux

Toutes les femelles proposées pour l'expérimentation ont fait l'objet d'un examen clinique ayant repris l'essentiel des techniques classiques décrites par **ROSENBERGER** (1979) et **VANDEPLASSCHE** (1985), puis d'une sélection basée sur les principaux critères de choix indiqués par **NIBART** et **BOUYSSOU** (1981), **LAMOTHE** (1989a), **SEIDEL Jr** et **SEIDEL** (1991).

Après la recherche de commémoratifs par la consultation des fiches individuelles de gestion de troupeaux (âge, date de la dernière mise-bas s'il y en a eue et rang de vêlage) ou par la détermination (poids), l'accent a été mis sur l'examen clinique des femelles particulièrement sur leur appareil de reproduction. Par la palpation rectale, l'attention a été portée sur chaque portion de l'appareil génital interne.

Ont été retenues à l'issue de cet examen clinique les femelles :

- supposées ayant atteint la puberté, d'âge compris entre 3 et 15 ans et de conformation satisfaisante ;
- supposées non-gestantes et ne présentant aucun signe clinique de maladie ;
- et étant au moins à 60 jours après le part.

.../...

⁴ **STIMUFOL R**, Laboratoire **Rhone Mérieux**, Lyon - FRANCE
numéro lot de fabrication 93 L

Les taureaux quant à eux ont été choisis parmi les taureaux d'insémination du C.R.Z. Il s'agit de taureaux sains dont la qualité de la semence a été jugée satisfaisante après examen.

Après sélection, les animaux retenus ont été déparasités à l'Ivermectine (IVOMECND, Laboratoire MSD, FRANCE).

1.3.2. Protocole expérimental

Le protocole a démarré un mois après la sélection des animaux.

1.3.2.1. Constitution des lots

Elle a démarré avec le début d'exécution du protocole (figure I ; Annexe IV) et a pris fin au bout de 8 jours.

Chaque jour, un lot était constitué au hasard. Pour ce faire, toutes les femelles étaient amenées dans un parc, puis elles étaient conduites à travers un couloir par où ne pouvait passer qu'un animal à la fois. A l'extrémité du couloir se trouve une bascule au niveau de laquelle chaque traitement individuel pouvait être exécuté, du fait des moyens de contention qu'elle offre. C'était à ce niveau que les 8 lots ont été progressivement constitués.

Les lots de génisses (I, III, V, VII) et de vaches (II, IV, VI, VIII) ont été constitués de façon alternée. Selon qu'il s'agissait de la constitution d'un lot de génisses ou de vaches, seules étaient retenues les 5 ou 4 premières femelles de la catégorie (Tableau III) au niveau de la bascule.

Tableau III : Répartition des femelles par âge et par lots

| | LOTS | | | | | | | |
|-----------|-------------------|-----|---|-----|-----------------|----|----|------|
| | I | III | V | VII | II | IV | VI | VIII |
| Effectifs | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 4 | 4 |
| | GENISSES (n = 20) | | | | VACHES (n = 17) | | | |

.../...

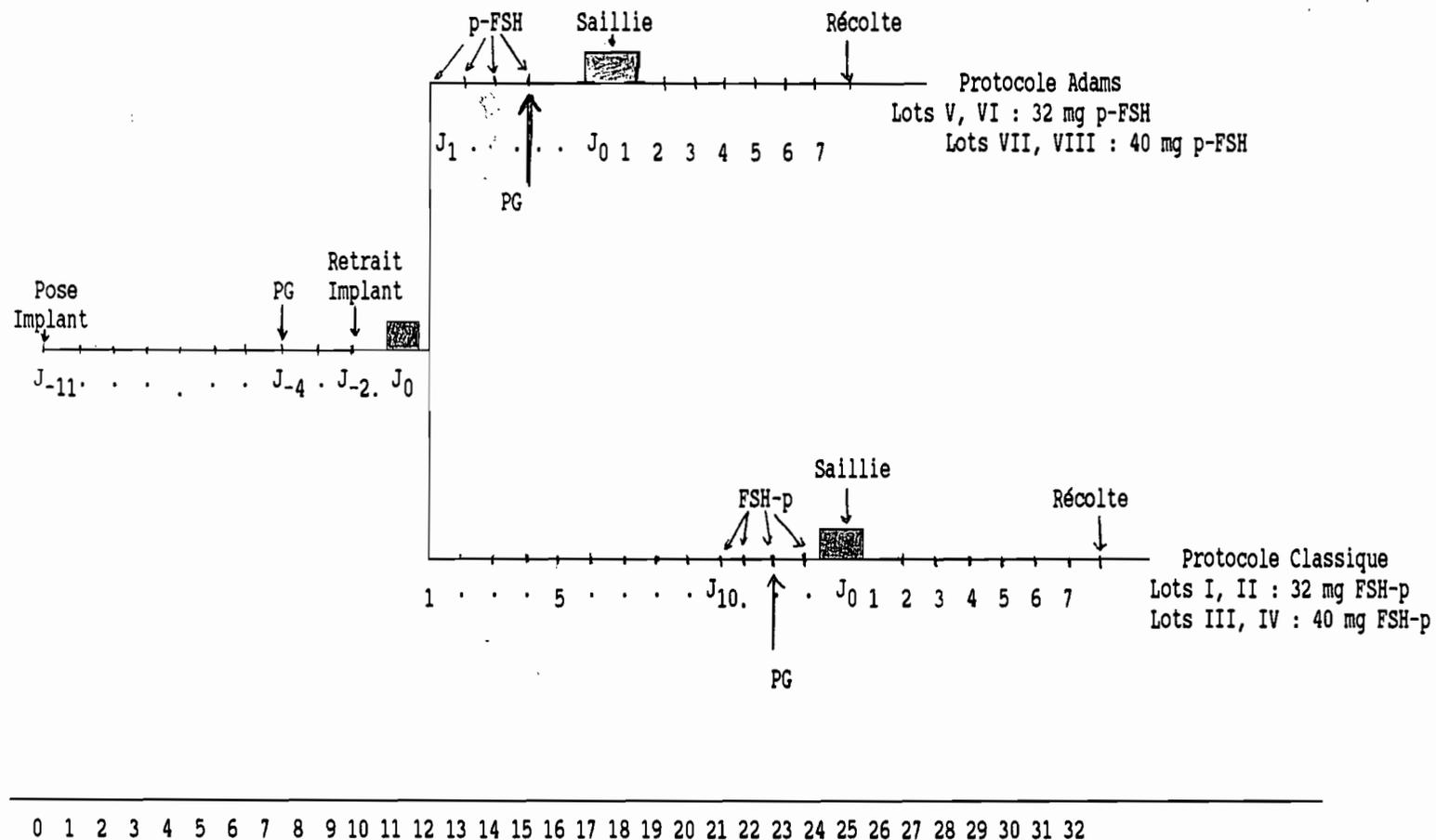
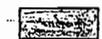


Figure 1 : Représentation schématique globale des interventions

J₀ : Jour de l'oestrus

 : Période des chaleurs

Pour l'identification individuelle des animaux, les numéros des boucles d'oreilles utilisées au Centre ont été conservés. En plus, les cornes de tous les individus d'un même lot ont été peintes d'une couleur caractéristique permettant une identification de groupe.

1.3.2.2. Traitement de synchronisation des chaleurs

1.3.2.2.1. Méthodes d'intervention

Le même traitement de synchronisation a été appliqué à tous les lots : c'est le **CRESTAR^R** qui a été utilisé selon le mode indiqué à la figure 1.

La pose de l'implant est précédée de la désinfection à l'alcool 70 °C de la zone d'implantation (milieu de la face externe de l'oreille). Simultanément à la pose sous-cutanée de l'implant, l'animal reçoit une injection intra-musculaire de 2 ml de la solution de Crestar.

L'implant a été maintenu en place pendant 9 jours. Au 7^e jour après l'implantation, chaque femelle a reçu un traitement lutéolytique complémentaire à base de prostaglandine : 500 mcg (2 ml) de Cloprostenol (**ESTRUMATE^R**) en injection intra-musculaire.

Le retrait de l'implant a été réalisé à travers une petite incision de l'oreille. La désinfection de la face externe de l'oreille a été renouvelée à l'alcool 70 °C.

1.3.2.2.2. Méthodes d'évaluation

1.3.2.2.2.1. Détection des chaleurs

La venue en oestrus après le traitement de synchronisation a été détectée au cours d'une observation permanente des femelles traitées.

La surveillance des chaleurs a débuté pour chaque lot 24 heures après le retrait de l'implant et a été poursuivie pendant 48 heures. Les animaux du lot à surveiller étaient placés dans un parc où les observations ont été faites.

Au cours de cette observation permanente de 48 heures, toutes manifestations de chaque individu ont été notées.

1.3.2.2.2. Critères d'appréciation de la réponse au traitement de synchronisation

- Critères principaux

L'acceptation du chevauchement d'un congénère étant considérée comme le signe caractéristique de l'oestrus ; est venue en chaleurs toute femelle ayant accepté au moins un chevauchement. L'heure de la première acceptation de chevauchement (début de l'oestrus) a été notée. A partir de ce moment les autres acceptations de chevauchements ont été portées et regroupées par heure. Le compte des chevauchements acceptés a été poursuivi jusqu'au refus définitif de chevauchement (fin de l'oestrus) dont l'heure a été notée.

L'âge (génisse vs vache) a été envisagé comme facteur de variation.

Le **taux de synchronisation** exprime le nombre de femelles venues en chaleurs par rapport au nombre total de femelles ayant subi le traitement de synchronisation.

L'intervalle de temps écoulé entre le moment d'injection de la prostaglandine ou le moment du retrait de l'implant et le début de l'oestrus exprime le **délai d'apparition de l'oestrus**.

La **durée de l'oestrus** est exprimée par le temps écoulé entre le début et la fin de l'oestrus.

L'**intensité de l'oestrus** indique le nombre total de chevauchements acceptés par une femelle par heure (durée totale de l'oestrus).

- Critères secondaires

L'émission de glaire, la congestion et la tuméfaction vulvaires ont été secondairement considérées.

1.3.2.3. **Superovulation et production d'embryons**

1.3.2.3.1. Méthodes d'intervention

1.3.2.3.1.1. Traitement de superovulation

Soit J_0 jour des chaleurs de référence, le traitement de superovulation a été initié soit à J_1 (Protocole spécial : ADAMS, 1994) pour les lots V, VI, VII, VIII, ou soit à J_{10} (Protocole Classique) pour les lots I, II, III, IV (figure 1).

Il a consisté en deux injections quotidiennes de STIMUFOL^R, à 12 heures d'intervalle et à doses décroissantes pendant 4 jours.

Un traitement lutéolytique complémentaire de 500 mcg (2 ml) de Cloprostérol a été administré simultanément à la 5e injection de l'agent de superovulation pour les lots I, II, III, IV ou à la 7e injection de l'agent de superovulation pour les lots V, VI, VII et VIII.

A l'issue des 8 injections de p-FSH (STIMUFOL^R) des doses totales de 32 mg et de 40 mg ont été administrées respectivement aux lots I, II, V, VI d'une part et aux lots III, IV, VII, VIII d'autre part selon les rythmes ci-après indiqués :

Tableau IV : Répartition des doses selon le jour du traitement

| Dose totale | Moment d'injection | Jours | | | |
|-------------|--------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 1er jour | 2e jour | 3e jour | 4e jour |
| 32 mg | <u>Matin</u> | 6mg (1,2ml) | 5mg (1 ml) | 3mg (0,6ml) | 2mg (0,4ml) |
| | <u>Soir</u> | 6mg (1,2ml) | 5mg (1 ml) | 3mg (0,6ml) | 2mg (0,4ml) |
| 40 mg | <u>Matin</u> | 7mg (1,4ml) | 6mg (1,2ml) | 4mg (0,8ml) | 3mg (0,6ml) |
| | <u>Soir</u> | 7mg (1,4ml) | 6mg (1,2ml) | 4mg (0,8ml) | 3mg (0,6ml) |

Simultanément au traitement de superovulation 3-4 receveuses par jour de récolte (lots I, II, III et IV) ont été synchronisées par la Prostaglandine (2 ml : 500 mcg de Cloprostérol) dans deux villages environnants de telle sorte qu'elles soient à J₇ après leurs chaleurs de synchronisation aux jours de récoltes.

1.3.2.3.1.2. Détection des chaleurs et fécondation

La détection des chaleurs de superovulation a été faite à travers une surveillance permanente de 48 heures.

La fécondation a été réalisée pendant les chaleurs de superovulation. Lorsqu'elle a eu lieu, elle a été effectuée soit par la monte libre dès la manifestation de l'oestrus à travers l'acceptation du chevauchement, soit par "monte en main" le jour présumé des chaleurs de superovulation 48 à 50 heures après l'administration de prostaglandine.

.../...

Pendant les périodes de saillie, un taureau est laissé dans le troupeau des femelles. Lorsqu'il manifeste une préférence pour une femelle (au delà de 3 saillies en monte libre) cette dernière est provisoirement mise à l'écart. En "monte en main", deux montes ont été réalisées à chaque fois par saillie.

Pour chaque femelle saillie, le numéro d'identification du taureau a été noté (numéro de boucle d'oreille).

1.3.2.3.1.3. Techniques de récolte, de recherche, d'examen et de transfert d'embryons

Les matériels utilisés au cours de chacune de ces opérations ont été stérilisés.

- Récolte

La récolte a eu lieu au 7e jour après les chaleurs de superovulation autrement dit au 7e jour après la saillie.

La récolte proprement dite a été précédée par la préparation de la femelle à récolter. Après sa contention, le rectum a été d'abord complètement vidé des matières fécales. Les organes génitaux externes ont été lavés au savon ordinaire, puis rincés abondamment à l'eau de robinet. Ils ont été ensuite nettoyés avec une solution antibactérienne : gluconate de Chlorhexidine 2 % (**ROUHEX^R-G 2 %**)⁵.

Une anesthésie épidurale basse a été ensuite pratiquée : 3-4 ml de Chlorhydrate de mépivacaïne 2 % (**CARBOCAINE - V^R 2 %**)⁶ ont été ainsi injectés dans le canal rachidien à travers les deux premières vertèbres coccygiennes. La queue a été ensuite attachée vers l'avant à la corne de l'animal.

La récolte a été faite selon la méthode indiquée pour la voie cervicale (LAMOTHE 1989b ; SEIDEL Jr et SEIDEL, 1991). Le cathéter de type Foley à 2 voies (15 ou 18), préalablement testé par un faible volume de solution saline, muni du stylet a été d'abord lubrifié avec un gel bactériostatique contenant du gluconate de Chlorhexidine (**K - Y^{*}**)⁷.

.../...

⁵ **ROUHEX^R-G 2 %**, Laboratoire : Rouquier, Chambly, QUEBEC, CANADA numéro lot de fabrication : 13 LB

⁶ **CARBOCAINE-V^R 2 %**, Laboratoire : Upjohn, Orangeville, Ontario, CANADA numéro lot de fabrication : 6157 ; solution 20 mg/ml

⁷ **K - Y^{*}**, Laboratoire Johnson-Johnson Medical Inc, Arlington, Texas, USA. numéro lot de fabrication : 8919

L'ensemble cathéter - stilet a été ensuite introduit dans le vagin et guidé à travers le col vers une corne utérine. Le ballonnet, placé crânialement au ligament intercornuel a été gonflé avec une solution saline physiologique stérile de Chlorure de Sodium 0,9 % (MTC PHARMACEUTICALS, Cambridge, Ontario, CANADA), permettant ainsi de fixer la sonde. Le passage du col a nécessité parfois l'usage du dilateur de LAMOTHE.

Six à huit lavages successifs ont été réalisés pour chaque corne avec 20 ml de tampon phosphate (P.B.S. *)⁸ préalablement tiédi au bain-marie (37 °C), en plusieurs mouvements de va-et-vient avec le piston de la seringue.

Les liquides de récolte ont été recueillis dans des éprouvettes graduées (une éprouvette pour les 2 cornes d'une même femelle).

500 mcg (2 ml) de Cloprosténol ont été administrés à l'animal à la fin de chaque récolte.

- Recherche et examen des embryons

Considérant que les embryons normaux ne flottent pas, une période de décantation de 30 minutes au bain Marie (37 °C) a été respectée entre la récolte et la recherche d'embryons.

Après décantation du milieu de récolte, le surnageant a été éliminé à travers un filtre spécial et 50 ml de décantat ont été laissés à chaque fois dans l'éprouvette graduée. Le filtre a été ensuite légèrement rincé au P.B.S. dans l'éprouvette.

Le décantat a été finalement distribué dans 4-5 boîtes de Pétri à fond quadrillé et l'examen a eu lieu aussitôt au stéréoscope.

Lorsqu'un embryon était observé, il était aspiré dans une seringue d'insuline à laquelle a été monté un embout spécial. Il était ensuite placé dans une petite boîte de Pétri contenant un milieu de culture (20 % de sérum de veau inactivé : 2 ml de sérum de veau inactivé et 8 ml de P.B.S. dans la même seringue). Ce sérum de veau (lyophilisat + 12 ml de P.B.S.) contient en plus de la Pénicilline, la Streptomycine et la Fungizone.

.../...

P.B.S. *⁸, Laboratoire BioChem, Montréal CANADA numéro lot de fabrication 108706
pH : 7,3 ± 0,1. Contient en plus du Glucose (1 g/l) et du Pyruvate de Sodium (36 mg/l)

Le mélange était versé dans la petite boîte de Pétri à travers un filtre dont les millipores étaient de $0,22 \mu\text{m}$: MILLEX^R -GS.

1.3.2.3.2. Méthodes d'évaluation

1.3.2.3.2.1. Appréciation de la réponse au traitement de superovulation

Les mêmes critères d'appréciation ont été appliqués aux chaleurs de superovulation.

Pour la réponse proprement dite, la réaction ovarienne (nombre d'ovulations) a été retenue. Ce nombre d'ovulation a été déterminé à travers le **nombre de corps jaunes** palpés par palpation transrectale. Toute femelle ayant eu au moins 2 corps jaunes a été considérée comme ayant répondu à la stimulation hormonale.

A été récoltée toute femelle ayant eu au moins 4 corps jaunes.

Pour chaque récolte, le **taux de récolte** (nombre d'embryons et d'ovocytes récoltés par rapport au nombre de corps jaunes présents) a été évalué.

1.3.2.3.2.2. Sélection et classification des embryons

- Appréciation de la viabilité des embryons

Seuls les critères morphologiques (INRA-UNCEIA, 1990) ont été utilisés.

Une première observation a été faite au faible grossissement (10 x 10 à 10 x 40) en retournant plusieurs fois l'embryon à l'aide d'une fine pipette. Cette observation a porté essentiellement sur la zone pellucide en particulier et sur l'embryon en général. L'examen de la zone pellucide a pris en considération certains caractères recherchés : la sphéricité et l'intégrité. L'observation de l'embryon dans son ensemble a concerné successivement la taille (zone pellucide comprise), la forme générale, l'opacité, l'homogénéité des blastomères, la formation du blastocoele et le volume dans l'espace péri-vitellin. Cette première observation a permis d'isoler tous les embryons qui semblent être normaux.

Une seconde observation menée à un plus fort grossissement (10 x 60) a porté sur les autres embryons qui ne présentaient pas toutes les caractéristiques de la normalité. Cette seconde observation a porté spécialement sur les cellules et a concerné

successivement l'état d'agrégation des cellules, l'intégrité des cellules (vacuoles, granulations, désorganisation du matériel cellulaire), l'étude de variation de taille entre cellules, le détachement éventuel des cellules dans l'espace péri-vitellin, l'aspect clair ou sombre des cellules. Cette seconde observation a permis d'isoler les embryons qui paraissent encore utilisables.

- Classification des embryons

C'est le système de classification international établi par l'I.E.T.S. qui a été utilisé. Ce système décrit le stade de développement (Tableau II, page 30) et la qualité (Encadré, page 31) défini par la déviation éventuelle des embryons par rapport à l'aspect morphologique idéal d'un embryon à ce stade.

A chaque étape de la production d'embryons, ont été successivement envisagés les facteurs de variation suivants :

- l'âge (génisses vs vaches)
- la dose (32 mg vs 40 mg)
- le jour d'initiation de la superovulation (J_1 vs J_{10})

1.3.3. Méthodes statistiques

L'analyse statistique des résultats a été effectuée soit à l'aide d'une calculette scientifique EL-506P soit à l'ordinateur IBM avec le logiciel STATGRAPHICS 5.0.

Les tests suivants ont été utilisés :

- test de comparaison des moyennes,
- test ANOVA (Analyse de variance),
- test d'indépendance entre deux variables quantitatives.

L'ouvrage de SCHWARTZ D. (1969) a servi de référence.

Un seuil de signification (P) est choisi pour les tests. Il représente la probabilité de se tromper ou la limite supérieure du risque. Avec P fixé à 0,05 (soit 5 p.100 de chances de se tromper), il est dit par convention que l'effet obtenu est :

- non significatif si $P > 0,05$
- significatif si $P < 0,05$
- hautement significatif si $P < 0,001$.

La moyenne est suivie de l'écart-type précédé du signe \pm .

.../...

RESULTATS ATTENDUS

Renseignements d'une part sur la qualité des chaleurs chez la Ndama et d'autre part sur la qualité de la réponse à la superovulation induite avec la p-FSH (STIMUFOL^R).

Globalement 47,4 p.100 de génisses et 78,6 p.100 de vaches ont répondu à la stimulation hormonale avec respectivement $3,0 \pm 1,0$ corps jaunes et $7,3 \pm 3,9$ corps jaunes.

La mauvaise réponse des génisses tiendrait au fait qu'avec leur âge avancé (3 - 4 ans) elles ne seraient pas pubères pour la plupart, résultat de leur réponse ovarienne globale faible en moyenne comparée à celle des vaches.

Cette étude nous a permis de constater que la dose optimale de F.S.H. pour l'induction d'une superovulation chez la Ndama serait comprise entre 32 et 40 mg de p-F.S.H. (20 % L.H.).

Pour le jour d'initiation du traitement de superovulation, nous avons constaté que la superovulation peut être induite avec une efficacité équivalente que le traitement débute à J₁ ou J₁₀. Mais nous pensons que le traitement débutant à J₁ serait à l'origine d'une réduction de la variabilité de la réponse de la femelle bovine à la stimulation hormonale. Pour une intervention débutant à J₁ en effet, l'état ovarien de toutes les femelles synchronisées serait au même stade quelle que soit la durée de leur cycle et quel que soit le nombre de vagues de croissance folliculaire par cycle. Le traitement initié à J₁ permet en outre un gain de temps autorisant plus de répétition du traitement de superovulation que ne permettrait le traitement débutant à J₁₀ dans un même intervalle de temps.

Ce travail devra être repris pendant la saison sèche en vue de préciser les caractéristiques oestrales et la qualité de la réponse des Ndama en d'autres périodes de l'année.

Des études complémentaires seraient toutefois nécessaires afin de mieux définir un régime optimum de superovulation chez la Ndama avec la F.S.H. (dose totale, teneur en L.H....).

BIBLIOGRAPHIE

1 - ADAMS, G.P.

Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle : implications for synchronization and superstimulation.

Theriogenology, 1994, 41 (1) : 19-29.

2 - AGUER, D.

Les progestagènes dans la maîtrise des cycles sexuels chez les bovins.

Rec. Méd. vét., 1981, 157 (1) : 53-60.

3 - ALMEIDA, A.P.

Superovulation in cattle : a combined treatment using synchromate B with either P.M.S.G. or F.S.H.

Theriogenology, 1987, 27 (2) : 329-335.

4 - ARMSTRONG, D.T.

Recent advances in superovulation of cattle.

Theriogenology, 1993, 39 : 7-24.

5 - BIANCHI, M.; CHICOTEAU, P. ; CLOE, C. ; BASSINGA, A.

Premiers essais de transferts d'embryons sur bovins de race Baoulé au Burkina-Faso.

Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 1986, 39 (1) : 139-144.

6 - BLAKEWOOD, E.G. ; RORIES, R.W. ; POOL, S.H. ; GODKE, R.A.

Freezing bovine embryos without a zona pellucida.

Theriogenology, 1986, 25 : 141.

7 - BOOTH, W.D. ; NEWCOMB, R. ; STRANGE, H. ; ROWSON, L.E.A.

Plasma oestrogen and progesterone in relation to superovulation and egg recovery in the cow.

Vet. Rec., 1975, 97 : 366-369.

8 - BOUSQUET, D.

Aspect hormonal du cycle oestral chez la vache (1-11).

In : LAMOTHE, P. ; DIOP, P.E.H., eds. "*Mieux maîtriser la reproduction des espèces domestiques par le transfert d'embryons*".

Journées Scientifiques et Professionnelles du Sommet de la Francophonie, 2 au 11 mai 1989 - Dakar - 181 p.

.../...

9 - BUNGARTZ, L. ; NIEMANN, H.

Effects of a dominant follicle on ovarian responses of dairy cows following various superovulatory treatment schedules.

Theriogenology, 1993 , 39 : 198.

10 - CALDER, M. ; RAJAMAHENDRAN, R.

Follicular growth, ovulation and embryo recovery in dairy cows given FSH at the beginning or middle of the estrous cycle.

Theriogenology, 1992 , 38 : 1163-1174.

11 - CHAFFAUX, St.

Les accidents de la gestation chez la vache.

El. & Ins., 1992 , (251) : 1-8.

12 - CHICOTEAU, P.

Adaptation physiologique de la fonction sexuelle des bovins Baoulé au milieu sud-soudanien.

Thèse : doctorat es Sciences : Université de Paris XII : 1989.

13 - CHICOTEAU, P.

Reproduction des bovins tropicaux.

Rec. Méd. Vét., 1991 , 167 (3-4) : 241-247.

14 - CHICOTEAU, P. ; CLOE, C. ; BASSINGA, A.

Essais préliminaires de synchronisation des chaleurs.

Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 1986 , 39 (1) : 161-163.

15 - CHICOTEAU, P. ; COULIBALY, M. ; BASSINGA, A. ; CLOE, C.

Variations saisonnières de la fonction sexuelle des vaches Baoulé au Burkina-Faso.

Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 1990 , 43 (3) : 387-393.

16 - CHOQUEL, P.G.

Intérêt et utilisation des bovins trypanotolérants.

Thèse : Méd. vét. : Alfort : 1969 ; 22.

17 - CHUPIN, D.

Applications pratiques du transfert d'embryons chez les bovins.

El. & Ins., 1985 , (206) : 3-16.

18 - CHUPIN, D.

Nouvelles technologies de la reproduction : implications pour l'obtention et la dissémination du progrès génétique (169-182).

In : CHUPIN, D. ; WAGNER, H. ; WILSON, T. eds. "*L'amélioration génétique des bovins en Afrique de l'Ouest*". - Rome : F.A.O. (Etude FAO Production et Santé animales ; 110), 1993 - 296 p.

19 - CHUPIN, D. ; COMBARNOUS, Y. ; PROCUREUR, R.

Different effect of L.H. on F.S.H.-induced superovulation in two breeds of cattle.
Theriogenology, 1985, 23 : 184.

20 - CISSE, A. B.

Synchronisation des chaleurs chez des vaches Ndama et Zébu maure avec la Prostaglandine F₂α (21-26):

In : DIOP, P.E.H., eds. "*Maîtrise de la Reproduction et Amélioration génétique des Ruminants : apport des technologies nouvelles*" - Dakar - (Actualités Scientifiques UREF). Les Nouvelles Editions Africaines du Sénégal, 1993 - 290 p.

21 - COLLEAU, J.J.

Efficacité génétique du transfert d'embryons dans les noyaux de sélection chez les bovins laitiers.

Génét. Sel. Evol., 1985, 17 : 499-538.

22 - COLLEAU, J.J.

Les biotechnologies de l'embryon bovin : application à la sélection, réalités et enjeux économiques.

Cahiers Agricultures, 1993, 2 : 93-102.

23 - COTINOT, C.

Choix du sexe : possibilités et limites chez les animaux domestiques.

Cahiers Agricultures, 1992, 1 (5) : 325-334.

24 - CROZET, N.

La maturation des ovocytes et la fécondation *in vitro* chez les animaux domestiques de ferme.

Cahiers Agricultures, 1992, 1 (5) : 301-307.

- 25 - DAWSON, A.F.
Accuracy of rectal palpation in diagnosis of ovarian function in the cow.
Vét. Rec., 1975, 96 (9) : 218-220.
- 26 - DIELEMAN, S.J. ; BEVERS, M.M. ; VOS, P.L.A.M. ; LOOS, F.A.M.
PMSG / anti-PMSG in cattle : a simple and efficient superovulatory treatment ?
Theriogenology, 1993 , 39 (1) : 25-41.
- 27 - DIOP, P.E.H.
Insémination artificielle et fécondation chez les taures suroovulés.
Mémoire : Maîtrise es Sciences : Faculté des Etudes Supérieures, Université de Montréal : 1987.
- 28 - DIOP, P.E.H.
Biotechnologies et élevage africain (145-159).
In : DIOP, P.E.H. éd. "*Maîtrise de la Reproduction et amélioration génétique des Ruminants : Apport des technologies nouvelles*" - Dakar - (Actualités Scientifiques UREF). Les Nouvelles Editions Africaines du Sénégal, 1993 - 290 p.
- 29 - DIOP, P.E.H. ; FALL, R. ; MBAYE, M. ; FAYE, L. ; FALL, A. ; FAYE, A.
Le transfert d'embryons en milieu villageois sénégalais.
Dakar Médical, 1994 (Sous presse).
- 30 - DIOP, P.E.H. ; FAYE, L. ; FALL, R. ; LY, O.K. ; MBAYE, M. ; BOYE, C.
Maîtrise de la reproduction de la femelle bovine Ndama par le Norgestomet (CRESTARND).
Dakar Médical, 1994 (Sous presse).
- 31 - DIOP, P.E.H. ; FAYE, L. ; FALL, R. ; LY, O. ; SOW, A.M. ; MBAYE, M. ; FALL, A. ; FAYE, A. ; BOYE, C.
Caractéristiques de l'oestrus chez les femelles Ndama et Jerseyaise au Sénégal après maîtrise du cycle sexuel par le Norgestomet.
Dakar Médical, 1994 (Sous presse).
- 32 - 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.
African Bioscience Network, 24-29 juillet 1989 - Yamoussoukro (Côte d'Ivoire).

33 - DIOUF, M.N.

Endocrinologie sexuelle chez la femelle Ndama au Sénégal.

Thèse : Méd. Vét. : Dakar : 1991 ; 31.

34 - DONALDSON, L.E. ; WARD, D.N.

L.H. effects on superovulation and fertilization rates.

Theriogenology, 1985, 27 : 225.

35 - DRAME, E.H.D.

Cinétique hormonale (Oestrogènes, Progestérone et Luteining hormon) chez une femelle Ndama superovulée.

Thèse : Méd. vét. : Dakar, 1994 - 33.

36 - DUVALLET, G.

Aspects pratiques du P.S.N.Q. : Sélection sur la trypanotolérance. Evaluation des tests disponibles et de leur utilisation dans un programme de sélection. (45-51).

In : CHUPIN, D. ; WAGNER, H. ; WILSON, T. eds. "*L'amélioration génétique des bovins en Afrique de l'Ouest*". - Rome : F.A.O. (Etude FAO Production et Santé animales ; 110), 1993 - 296 p.

37 - FALL, R.

Le transfert d'embryons en milieu villageois au Sénégal.

Thèse : Méd. Vét. : Dakar 1992. 41.

38 - F.A.O.

La Situation Mondiale de l'Alimentation et de l'Agriculture 1982. La production animale : aperçu mondial. Rome : F.A.O. (F.A.O. : Agriculture ; 15), 1983 - 199 p.

39 - GRAY, B.W. ; CARTER, R.E. ; STRINGFELLOW, D.A. ; RIDDELL, M.G. ; RIDDELL, K.P. ; WRIGHT, J.C.

The effects of FSH-priming and dominant follicular regression on the superovulatory response of cattle.

Theriogenology, 1992, 37 : 631-639.

40 - GUEYE, N.

Contribution à l'étude de la détection des chaleurs par la vache androgénisée.

Thèse : Méd. Vét. : Dakar : 1983 ; 24.

.../...

41 - GUILBAULT, L.A. ; GRASSO, F. ; LUSSIER, J.G. ; ROUILLIER, P. ; MATTON, P.

Decrease superovulatory responses in heifers superovulated in the presence of a dominant follicle.

J. Reprod. Fert., 1991 , 91 : 81-89.

42 - HAHN, J.

Attempts to explain and reduce variability of superovulation.

Theriogenology, 1992 , 38 : 269-275.

43 - HANZEN, C.H.

L'oestrus : manifestations comportementales et méthodes de détection.

Ann. Méd. Vét., 1981 , 125 (8) : 617-633.

44 - HEYMAN, Y. ; CHESNE, P. ; RENARD, J.P.

Transplantation de noyaux et obtention de clones chez les mammifères domestiques.

Rec. Méd. Vét., 1991 , 167 (3-4) : 315-322.

45 - HUMBLLOT, P.

Physiologie de la reconnaissance embryo-maternelle chez les vaches.

Rec. Méd. Vét., 1981 , 157 (1) : 39-52.

46 - HUMBLLOT, P.

Reconnaissance maternelle de la gestation et maintien du corps jaune.

El. & Ins., 1988 , (225) : 23-26.

47 - HUMBLLOT, P.

Signaux embryonnaires et contrôle de la gestation des ruminants.

Rec. Méd. Vét., 1991 , 167 (3-4) : 193-202.

48 - HUMBLLOT, P. ; BIANCHI, M. ; MECHEKOUR, F. ; NIBART, M. ; THIBIER, M.

Effets respectifs du taureau sur les taux de non fécondation et de mortalité embryonnaire précoce après superovulation.

El. & Ins., 1986 ; (211) : 15-25.

49 - HOSTE, C.H.

Contribution du bétail trypanotolérant au développement des zones affectées par la trypanosomiase animale africaine.

Rev. Mond. Zootech., 1992, 70-71 : 21-29.

50 - HOSTE, C.H. ; CHALON, E. ; d'IETEREN, G. ; TRAIL, J.C.M.

Le bétail trypanotolérant en Afrique Occidentale et Centrale. Rome : F.A.O. (Etude FAO Production et Santé Animales ; 20/3), 1988 : 281 p.

51 - HOUDEBINE, L.M.

La transgénèse animale et ses applications.

Cahiers Agricultures, 1992, 1 (5) : 317-324.

52 - d'IETEREN, G.

L'utilisation du test de détection des antigènes trypanosomiens pour l'amélioration génétique du bétail trypanotolérant.

In : DIOP, P.E.H. ; KAECKENBEEK, A., eds "*Biotechnologies des moyens de diagnostic et de prévention des maladies animales*". (Actualités Scientifiques U.R.E.F.). Paris : John Libbet Eurotex, 1994 (Sous presse).

53 - I.N.R.A. - U.N.C.E.I.A.

Blastographie : Transfert, fécondation *in vitro* et clonage d'embryons bovins.

El. & Ins., 1990, (235) : 1-39.

54 - JORDT, T. ; LORENZINI, E.

Multiple superovulations in Ndama heifers.

Trop. Anim. Hlth. Prod., 1990, 22 (3) : 178-184.

55 - JORDT, T. ; MAHON, G.D. ; TOURAY, B.N. ; NGULO, W.K. ; MORRISSON, W.I. ; RAWLE, J. ; MURRAY, M.

Successful transfer of frozen Ndama embryos from the Gambia to Kenya.

Trop. Anim. Hlth. Prod., 1986, 18 (2) : 65-75.

56 - LAMOTHE, P.

Choix de la donneuse : généralités et aspects économiques. (17-28).

In : LAMOTHE, P. ; DIOP, P.E.H., eds. "*Mieux maîtriser la reproduction des espèces domestiques par le transfert d'embryons*". Journées Scientifiques et Professionnelles du Sommet de la Francophonie, 2 au 11 mai 1989 : Dakar - 181 p.

.../...

57 - LAMOTHE, P.

Le prélèvement des embryons. (45-55).

In : LAMOTHE, P. ; DIOP, P.E.H., eds. "*Mieux maîtriser la reproduction des espèces domestiques par le transfert d'embryons*". Journées Scientifiques et Professionnelles du Sommet de la Francophonie, 2 au 11 mai 1989 : Dakar - 181 p.

58 - LAMOTHE, P.

Le transfert de l'embryon. (89-95).

In : LAMOTHE, P. ; DIOP, P.E.H., eds. "*Mieux maîtriser la reproduction des espèces domestiques par le transfert d'embryons*". Journées Scientifiques et Professionnelles du Sommet de la Francophonie, 2 au 11 mai 1989 - Dakar - 181 p.

59 - LINDSEY, B.R. ; LOONEY, C.R. ; FUNK, D.J. ; FABER, D.C. ; GUE, C.S. ; KRAMER, A.J.

The effect of apparent Dominant Follicle Removal (D.F.R.) prior to F.S.H. treatment on superstimulated response in problem donors.

Theriogenology, 1994 , 41 (1) : 238.

60 - LOVIE, M. ; GARCIA, A. ; HACKETT, A. ; MAPLETOFT, R.J.

The effects of dose schedule and route of administration on superovulatory response to follitropin in Holstein cows.

Theriogenology, 1994 , 41 (1) : 241.

61 - MASSIP, A.M.A.

Place de la congélation dans les techniques de reproduction animale et exemples de méthodes proposées pour les embryons bovins. (213-224).

In : DIOP, P.E.H., éd. "*Maîtrise de la reproduction et amélioration génétique des ruminants : apports des technologies nouvelles.*"- Dakar - (Actualités Scientifiques U.R.E.F.). Les Nouvelles Editions Africaines, 1993 : 290 p.

62 - MASSIP, A. ; VAN DER ZWALMEN, P.

Direct transfer of frozen cows embryos in-glycerol-sucrose.

Vet. Rec., 1984 , 115 : 327-328.

63 - MAPLETOFT, R.J. ; PIERSON, R.A.

Factors affecting superovulation in the cow : practical considerations.

Embryo Transfert Newsletter, 1993 , 11 (3) : 15-24.

.../...

64 - MECHEKOUR, F. ; SRIPONGMUN, S. ; NIBART, M. ; THIBIER, M.

Note sur le test de coloration à l'éosine B pour l'évaluation de la viabilité embryonnaire.

El. & Ins., 1986, (212) : 15-19.

65 - MEYER, C. ; YESSO, P.

Etude des chaleurs des vaches trypanotolérantes Ndama et Baoulé en Côte d'Ivoire. I : Particularités des composantes comportementale et organique.

Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 1991, 44 (2) : 119-206.

66 - MOCQUOT, J.C.

Impact possible du transfert d'embryons sur l'amélioration génétique des bovins par sélection.

El. & Ins., 1982, (191) : 11-23.

67 - MONNIAUX, D.

Origine de la variabilité de la réponse ovulatoire à P.M.S.G. chez la génisse.

Thèse : Doct. 3e cycle : Université Pierre et Marie Curie - Paris VI : 1982.

68 - NIBART, M. ; BOUYSSOU, B.

Le transfert d'embryons chez les bovins

Rec. Méd. Vét., 1981, 157 (1) : 71-87.

69 - NIBART, M.

Compte-rendu de la quinzième réunion de la Société Internationale de Transfert Embryonnaire.

El. & Ins., 1990, (236) : 21-?

70 - NIBART, M.

Le transfert embryonnaire et les biotechnologies appliquées : bissection et sexage.

Rec. Méd. Vét., 1991, 167 (3-4) : 261-290.

71 - NIBART, M. ; 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 β , progestérone) après différents traitements de superovulation chez la vache.

El. & Ins., 1988, (226) : 11-30.

.../...

72 - OUATTARA, M.

Transferts d'embryons chez des vaches Gobra, Ndama et Montbéliardes au Sénégal.

Thèse : Méd. Vét. Dakar : 1990 ; 24.

73 - OUEDRAOGO, A.

Contribution à l'étude de la synchronisation des chaleurs chez la femelle Baoulé (*Bos taurus*) au Burkina Faso.

Thèse : Méd. Vét. : Dakar : 1989 . 4.

74 - PERRIN, J. ; LACAZE, S. ; COUPET, H.

Impact du transfert embryonnaire en ferme.

El. & Ins., 1989 , (231) : 15-24.

75 - PICARD, L.

La suroovulation et la production chez les bovins. (29-44).

In : LAMOTHE, P. ; DIOP, P.E.H., eds. "*Mieux maîtriser la reproduction des espèces domestiques par le transfert d'embryons*". Journées Scientifiques et Professionnelles du Sommet de la Francophonie, 2 au 11 mai 1989 - Dakar - 181 p.

76 - PICARD, L.

Sélection des embryons. (56-72).

In LAMOTHE, P. ; DIOP, P.E.H., eds. "*Mieux maîtriser la reproduction des espèces domestiques par le transfert d'embryons*". Journées Scientifiques et Professionnelles du Sommet de la Francophonie, du 2 au 11 mai 1989 - Dakar - 181 p.

77 - PICARD, L.

La micromanipulation, la congélation et le sexage des embryons. (96-104).

In : LAMOTHE, P. ; DIOP, P.E.H., eds. "*Mieux maîtriser la reproduction des espèces domestiques par le transfert d'embryons*". Journées Scientifiques et Professionnelles du Sommet de la Francophonie, du 2 au 11 mai 1989 - Dakar - 181 p.

78 - POPE, W.F.

Uterine asynchrony : a cause of embryonic loss.

Biol. Reprod., 1988 , 39 : 999-1003.

79 - RALAMBOFIRINGA, A.

Contribution à l'étude de la physiologie de la reproduction. La méthodologie de la détection de l'oestrus et la technologie de l'insémination artificielle de la vache Ndama en République de Côte d'Ivoire.

Thèse : Méd. Vét. : Lyon : 1975 ; 74.

80 - RECCA, A.

Maîtriser la reproduction c'est d'abord bien détecter les chaleurs.

Elevage, 1981 , (112) : 29-32.

81 - RENARD, J.P. ; HEYMAN, Y.

La multiplication par clonage : un nouvel outil pour la sélection animale.

Cahiers Agriculture, 1992 , 1 (5) : 309-316.

82 - RENARD, J.P. ; HEYMAN, Y. ; OZIL, J.P.

Congélation de l'embryon bovin : une nouvelle méthode de décongélation pour le transfert cervical d'embryons conditionnés une seule fois en paillettes.

Annl. Méd. Vét., 1982 , 126 : 23-32.

83 - ROSENBERGER, G.

Examen clinique des bovins. Méthodes, résultats, interprétations. Maisons-Alfort, Ed. Point Vétérinaire, 1979 - 526 p.

84 - SAUMANDE, J.

Ovogenèse et Folliculogenèse.

Rec. Méd. Vét., 1981 , 157 (1) : 29-38.

85 - SAUMANDE, J.

Endocrinologie de la superovulation chez la vache.

Thèse : doctorat es Sciences Naturelles : Université de Paris XII : 1987.

86 - SAUVEROCHE, B. ; WAGNER, H.G.

Physiologie de la reproduction des bovins trypanotolérants : Synthèse des connaissances actuelles. Rome : F.A.O. (Etude F.A.O. Production et Santé Animales ; 112), 1993 - 149 p.

87 - SCHWARTZ, D.

Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. Paris : Flammarion
Médecine - Sciences (Statistique en biologie et en médecine ; 3e édition - 13e tirage),
1990 - 306 p.

88 - SEIDEL Jr, G.E. ; SEIDEL, S.M.

Training manual for embryo transfer in cattle. Rome : F.A.O. (Animal Production
and Health paper ; 77), 1993 - 164 p.

89 - SIROIS, J. ; FORTUNE, J.E.

Ultrasonographic monitoring of ovarian follicular dynamics during the oestrus cycle
in heifers.

Theriogenology, 1988 , 25 (1) : 308.

90 - SMITH, C.

Amélioration génétique du bétail grâce aux unités de sélection en noyau ouvert.

Rev. Mond. Zootech., 1988 , 65 : 2-10.

91 - SRIPONGPUN, S. ; NIBART, M. ; MECHEKOUR, F. ; THIBIER, M.

Bissection d'embryons bovins. I. Survie *in vitro* et absence d'influence de la
membrane pellucide.

El. & Ins., 1986 , (216) : 15-26.

92 - SRIPONGPUN, S. ; NIBART, M. ; MECHEKOUR, F. ; HUMBLLOT, P. ; THIBIER, M.

Bissection d'embryons bovins. II. Méthode simplifiée taux de réussite *in vivo* et
intérêt technico-économique.

El. & Ins., 1987 , (217) : 9-20.

93 - THIBIER, M.

Les nouvelles biotechnologies de la reproduction. (151-168).

In : CHUPIN D., WAGNER H., WILSON T. eds. "*L'amélioration génétique des
bovins en Afrique de l'Ouest*". - Rome : F.A.O. (Etude F.A.O. Production et Santé
Animales ; 110), 1993 - 296 p.

94 - THIMONIER, J.

L'activité ovarienne chez les bovins. Moyens d'étude et facteurs de variations.

Ann. Méd. Vét. 1978 , 122 (1) : 81-92.

95 - TOUATI, K. ; BECKERS, J.F. ; ECTORS, F.J. ; ECTORS, F.

Mise au point sur la folliculogénèse.

Ann. Méd. Vét., 1989, 133 : 583-588.

96 - TOUATI, K. ; BORMANS, M. ; ECTORS, F. ; MASSIP, A.

Congélation d'embryons bovins par la méthode au glycérol-sucrose pour transfert direct après décongélation.

Ann. Méd. Vét., 1990, 134 : 249-251.

97 - TOURE, S.M.

La trypanotolérance : revue de connaissances.

Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 1977, 30 (2) : 144-157.

98 - TRAIL, J.C.M. ; HOSTE, C.H. ; WISSOCQ, Y.J. ; LHOSTE, P.

Le bétail trypanotolérant en Afrique Occidentale et Centrale : Etude générale.- Rome : F.A.O. (Etude F.A.O. Production et Santé Animales ; 20/1), 1980 - 155 p.

99 - TRAIL, J.C.M. ; HOSTE, C.H. ; WISSOCK, Y.J. ; LHOSTE, P.

Le bétail trypanotolérant en Afrique Occidentale et Centrale : Etude par pays. - Rome : F.A.O. (Etude F.A.O. Production et Santé Animales ; 20/2), 1993 - 310 p.

100 - U.N.C.E.I.A.

Compte-rendu de la Conférence Annuelle de la Société Internationale de Transfert Embryonnaire.

El. & Ins., 1989, (230) : 17-20.

101 - U.N.C.E.I.A.

Compte-rendu de la réunion 1991 de la Société Internationale de Transfert Embryonnaire.

El. & Ins., 1991, (242) : 23-26.

102 - VANDEPLASSCHE, M.

La fertilité des bovins. Rome : F.A.O. (Etude F.A.O. Production et Santé Animales ; 25), 1985 - 102 p.

103 - VOELKEL, S.A. ; HU, Y.X.

Direct transfer of frozen-thawed bovine embryos.

Theriogenology, 1992, 37 (1) : 23-37.

104 - WARFIELD, S.J. ; SEIDEL Jr, G.E. ; ELSDEN, R.P.

Transfer of bovine demie-embryos with and without zonae pellucidae.

Theriogenology, 1986 , 25 : 212.

105 - WEHRMAN, M.E. ; BERGFELD, E.G. ; CUPP, A.S. ; KOJIMA, F.N. ;
PETERS, K.E. ; MARISCAL, V. ; SANCHEZ, T. ; KITTOK, R.J. ; KINDER, J.E.

Development of a persistent ovarian follicle influences response to superovulation in heifers.

Theriogenology, 1994 , 41 : 332.

ECOLE INTER-ETATS
DES SCIENCES ET MÉDECINE
VÉTÉRINAIRES DE DAKAR
BIBLIOTHÈQUE

ANNEXES

A N N E X E I

Principales caractéristiques du matériel
animal et constitution des lots

GENISSES

| LOTS | Numéro d'identification | Age (date de naissance) | Poids (kg) |
|------|----------------------------|----------------------------|---------------|
| I | 1510 | 17-04-1990 | 132 |
| | 1543 | 18-04-1991 | 188 |
| | 1552 | 15-05-1991 | 141 |
| | 1557 | 15-06-1991 | 187 |
| | 1569 | 25-09-1991 | 162 |
| III | 1542 | 05-02-1991 | - |
| | 1549 | 15-05-1991 | 148 |
| | 1550 | 15-05-1991 | 159 |
| | 1566 | 15-06-1991 | 180 |
| | 9991 | 27-02-1990 | 155 |
| V | 1509 | 08-04-1990 | 168 |
| | 1546 | 20-05-1991 | 157 |
| | 1551 | 03-06-1991 | 176 |
| | 1567 | 15-06-1991 | 171 |
| | 1598 | 27-02-1990 | 140 |
| VII | 1506 | 30-03-1990 | 180 |
| | 1548 | 15-05-1991 | 213 |
| | 1553 | 15-06-1991 | 170 |
| | 1562 | 15-05-1991 | 143 |
| | 9993 | 15-06-1991 | 142 |

163 ± 20 kg

VACHES

| LOTS | Numéro d'identification | Age (date de naissance) | Poids (kg) | Rang de vêlage |
|------|----------------------------|----------------------------|---------------|-------------------|
| II | 775 | 06-09-1979 | 235 | 9 |
| | 789 | 31-10-1979 | 271 | 8 |
| | 1025 | 02-06-1982 | 249 | 8 |
| | 1284 | 16-06-1986 | 282 | 2 |
| | 1452 | 16-04-1989 | 179 | 2 |
| IV | 763 | 29-06-1979 | 273 | 12 |
| | 909 | 06-05-1980 | 239 | 10 |
| | 1096 | 13-05-1983 | 233 | 2 |
| | 1294 | 19-07-1986 | 257 | 2 |
| VI | 1028 | 15-06-1982 | 247 | 7 |
| | 1061 | 11-10-1982 | 215 | 7 |
| | 1131 | 15-09-1983 | 257 | 6 |
| | 1247 | 14-10-1985 | 226 | 4 |
| VIII | 930 | 09-11-1980 | 194 | 7 |
| | 1417 | 28-05-1988 | 211 | 1 |
| | 1435 | 15-10-1988 | 238 | 2 |
| | 1458 | 24-04-1989 | 210 | - |

235 ± 27 kg

ANNEXE II

Liste des matériels techniques

- Pistolets transfert miniaturisés
- Sondes 2 voies récolte embryons bovins
- Mandrins ZA 540
- Gaines transfert latéral diam 3 embout métal
- Chemises sanitaires transfert embryonnaire bovin
- Extraits secs 2 g albumine Bov/l QSP pour 1 Litre/collecte embr.
- Paillettes 0,25 ml transparentes bovine
- Lubrifiant pour examen gynécologique
- Seringues 5 cc réutilisables, stérilisables 180 °C, embout Luer-Lo
- Boîtes de petri usage unique diamètre 35
- Filtres 0,22 microns
- Aiguilles G 19/11/10 LG 40
- Seringues à usage unique 20 cc sans joint
- Seringues insuline 1 ml
- Seringues à usage unique 10 cc
- pipettes verre grad. bas/hau 10 cc
- Eprouvettes graduées 500 cc pyrex
- Gants 5 doigts pour mise-bas
- Gaines universelles fendues
- Poudre de bouchage rouge
- Solution Na Cl 9/1000
- Savon
- Dilatateur de LAMOTHE

Présentation d'une p-F.S.H. : STIMUFOL^R



RHÔNE MÉRIEUX

STIMUFOL

214795-01

A USAGE VÉTÉRINAIRE

DÉNOMINATION

STIMUFOL

A usage vétérinaire

Lyophilisat injectable de follitropine porcine et lutropine porcine.

ESPÈCES ANIMALES

STIMUFOL est destiné aux femelles bovines.

INDICATIONS

La follitropine porcine (pFSH), associée à la lutropine porcine (pLH), induit la superovulation ou polyovulation chez la femelle bovine quand elle est administrée à un moment déterminé du cycle sexuel. Il est nécessaire de vérifier, avant tout traitement, que l'animal présente un bon fonctionnement ovarien.

POSOLOGIE ET MODE D'EMPLOI

Après remise en solution d'un flacon de lyophilisat dans 10 ml de solvant, injecter la quantité nécessaire sous forme de 8 fractions. Les injections sont effectuées à raison de 2 par jour à 12 heures d'intervalle pendant 4 jours. Elles débutent entre les 9^e et 13^e jours du cycle sexuel de la femelle bovine.

Le fractionnement de la dose utilisée est effectuée soit en 8 parties égales, soit en 8 parties inégales pour lesquelles les valeurs vont décroissant pendant le traitement.

A ce traitement est associé un traitement lutéolytique complémentaire.

Les injections successives sont effectuées en des points différents.

Posologie : Elle est exprimée par la quantité totale de pFSH injectée à la femelle bovine.

Pour la vache, la posologie conseillée est de 450 à 500 µg de pFSH pour le traitement d'une durée de 4 jours.

- Fractionnement en 8 parties égales :

1^{er} à 125 ml à chacune des 8 injections.

- Fractionnement en volumes à injecter décroissants, tenant compte du dosage indiqué ci-dessus, selon les exemples suivants :

1^{er} exemple

1^{er} jour : 1,7 ml à 1,9 ml à chacune des 2 injections

2^e jour : 1,4 ml à 1,6 ml à chacune des 2 injections

3^e jour : 0,8 ml à 0,9 ml à chacune des 2 injections

4^e jour : 0,6 ml à chacune des 2 injections

2^e exemple :

1^{er} jour : 1,4 ml à 1,6 ml à chacune des 2 injections

2^e jour : 1,2 ml à 1,4 ml à chacune des 2 injections

3^e jour : 1,0 ml à chacune des 2 injections

4^e jour : 1,0 ml à chacune des 2 injections

Pour la génisse, la posologie conseillée est de 320 à 360 µg de pFSH pour le traitement d'une durée de 4 jours.

- Fractionnement en 8 parties égales :

0,8 à 0,9 ml à chacune des 8 injections.

- Fractionnement en volumes à injecter décroissants, tenant compte du dosage indiqué ci-dessus, selon l'exemple suivant :

1^{er} jour : 1,1 ml à 1,2 ml à chacune des 2 injections

2^e jour : 0,9 ml à 1,0 ml à chacune des 2 injections

3^e jour : 0,6 ml à 0,7 ml à chacune des 2 injections

4^e jour : 0,6 ml à 0,7 ml à chacune des 2 injections.

CONTRE-INDICATIONS

Animaux présentant un mauvais fonctionnement ovarien.

Animaux dont le cycle sexuel n'a pas encore atteint, ou a déjà dépassé la période recommandée pour l'initiation du traitement.

EFFETS INDÉSIRABLES

L'administration de STIMUFOL sur les vaches en lactation peut entraîner une diminution de la lactation.

PRÉCAUTIONS PARTICULIÈRES

Respecter les conditions habituelles d'asepsie.

UTILISATION EN CAS DE GESTATION

Vu l'indication du produit, cette rubrique est sans objet.

TEMPS D'ATTENTE

Nul.

FORME, VOIE D'ADMINISTRATION ET CONDITIONNEMENT

Boîte de 1 flacon de lyophilisat injectable de follitropine porcine et lutropine porcine + 10 ml de solvant.

1 traitement = 1 flacon de lyophilisat repris dans 10 ml de solvant administrés en 8 fractions égales ou décroissantes.

Voie intramusculaire.

DELIVRANCE

Sur prescription médicale.

CONSERVATION ET VALIDITÉ

Conservé entre +2°C et +8°C et à l'obscurité.

Après remise en solution, la spécialité maintenue dans son flacon, entre +2°C et +8°C et à l'obscurité, peut être conservée 4 jours.

Validité : voir date de péremption sur l'emballage.

COMPOSITION

STIMUFOL est un lyophilisat de pFSH et de pLH obtenu à partir d'une solution de protéines hypophysaires, enrichie en pFSH et dont la concentration en pLH a été ajustée subséquentement.

Formule : Pour un flacon de lyophilisat : Follitropine porcine : 500 µg - Lutropine porcine : 100 µg. Solvants : parahydroxybenzoate de méthyle : 10 mg - parahydroxybenzoate de propyle : 2,5 mg - S. Isotonica qsp 10 ml.

NB : 10 µg de pFSH de la spécialité sont équivalents à 1 mg de la pFSH-P1 du NIDDKO (National Institut of Diabetes Digestive and Kidney Diseases).

TITULAIRE D'ENREGISTREMENT ET FABRICANT

Titulaire d'enregistrement : RHÔNE MÉRIEUX BELGIUM S.A.

Av. J. Bordelet 13 - 1140 BRUXELLES - Tél. 02/242 48 84

Fabricant : Rhône Mérieux - Lyon - France

A N N E X E I V .

Protocole expérimental : interventions journalières

| | | | | |
|----------|---------|---------|----------|-----------|
| | 32 mg | | 40 mg | |
| Génisses | I 5 | V 5 | III 5 | VII 5 |
| Vaches | II 5 | VI 5 | IV 5 | VIII 5 |

LOTS I, II, III, IV

PROTOCOLE CLASSIQUE
FSH J10, 11, 12, 13

LOTS V, VI, VII, VIII

PROTOCOLE ADAMS
FSH J1, J2, J3, J4

| | | L O T S | | | | L O T S | | | |
|-----------|----|---------|------|------|------|---------|-------------|-------------|--------|
| | | I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII |
| Août | 23 | | | | | | | | |
| | 24 | | | | | | | | |
| | 25 | | | | | | | | |
| | 26 | | | | | | | | |
| | 27 | | | | | | | | |
| | 28 | | | | | | | | |
| | 29 | | | | | | | | |
| | 30 | PG | | | | | | | |
| | 31 | | PG | | | | | | |
| Septembre | 1 | RI | | PG | | | | | |
| | 2 | | RI | | PG | | | | |
| | 3 | Ch.R | | RI | | PG | | | |
| | 4 | | Ch.R | | RI | | PG | | |
| | 5 | | | Ch.R | | RI | | PG | |
| | 6 | | | | Ch.R | | RI | | PG |
| | 7 | | | | | Ch.R | | RI | |
| | 8 | | | | | FSH | J1 Ch.R | | RI |
| | 9 | | | | | | FSH J1 Ch.R | | |
| | 10 | | | | | | | FSH J1 Ch.R | |
| | 11 | | | | | PG | | | FSH J1 |
| | 12 | FSH | J10 | | | | PG | | |
| | 13 | | FSH | J10 | | IA | | PG | |
| | 14 | | | FSH | J10 | | IA | | PG |
| | 15 | PG | | | FSH | J10 | | IA | |
| | 16 | | PG | | | FSH | J10 | | IA |
| | 17 | IA | | PG | | | | | |
| | 18 | | IA | | PG | | | | |
| | 19 | | | IA | | | | | |
| | 20 | | | | IA | | | | |
| | 21 | | | | | Réc. | | | |
| | 22 | | | | | | Réc. | | |
| | 23 | | | | | | | Réc. | |
| | 24 | | | | | | | | Réc. |
| | 25 | Réc. | | | | | | | |
| | 26 | | Réc. | | | | | | |
| | 27 | | | Réc. | | | | | |
| | | | | | | Réc. | | | |

P.I. = Pose Implant
 P.G. = Prostaglandine
 R.I. = Retrait Implant
 Ch.R. = Chaleur de Référence

F.S.H. = Follicle Stimulating Hormone
 I.A. = Insémination Artificielle
 Réc. = Récole

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 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".

"QUE TOUTE CONFIANCE ME SOIT RETIREE S'IL ADVIENNE
QUE JE ME PARJURE".

RESUME

Induction de la superovulation chez la femelle bovine Ndama en saison des pluies au Sénégal

La FSH (STIMUFOL^R) a été utilisée pour induire la superovulation en phase lutéale chez la Ndama (bovins trypanotolérants) pendant la saison des pluies au Sénégal.

Préalablement au traitement de stimulation ovarienne, les cycles oestriques de 37 femelles (20 génisses, 17 vaches) étaient synchronisés avec le CRESTAR^R par la méthode combinant l'implant, l'injection de Crestar et la Prostaglandine (Durée du traitement : 9 jours). Les caractéristiques oestriques observées au cours d'une détection de l'oestrus de 48 heures ont été indiquées.

Après synchronisation, la superovulation a été induite à J₁ ou J₁₀ (J₁ = jour de l'oestrus). Elle a consisté pendant 4 jours, en deux injections intramusculaires à chaque 12 heures en doses décroissantes avec un total de 32 et 40 mcg p-FSH. Quarante-huit heures après le début du traitement dans le groupe de J₁₀ (immédiatement après la 5^e injection), ou 72 heures après dans le groupe J₁ (immédiatement après la 7^e injection), 500 mcg de Cloprosténol (ESTROMATE^R), un analogue synthétique de la prostaglandine, ont été injectés par voie intramusculaire à toutes les femelles.

Le nombre de corps jaunes a été déterminé par palpation transrectale pratiquée 7 jours après oestrus/saillie naturelle des femelles. Celles qui avaient une bonne réponse ovarienne (≥ 4 C.J.) ont été récoltées par voie cervicale ayant utilisé un cathéter Foley à deux voies et la solution de Phosphate bovine Saline (PBS).

NOTES-CLÉ : Bovin - Ndama - Superovulation - p-FSH - Transfert d'embryons - Sénégal.

ECOLE INTER-ETATS
DES SCIENCES ET MÉDECINE
VÉTÉRINAIRES DE DAKAR
BIBLIOTHEQUE

SUMMARY

Induction of superovulation in Ndama cattle during the raining season in Senegal

Follicle Stimulating Hormone (STIMUFOL^R) was used for induction of superovulation in the luteal phase in Ndama (trypanotolerant cattle) during raining season in Senegal.

Prior the ovarian superstimulation treatment, the oestrous cycles of 37 females (20 heifers, 17 cows) were synchronized with CRESTAR^R by the method combining Crestar implant, Crestar injection and Prostaglandin (Duration of implantation : 9 days). The oestrous characteristics observed during a 48-hours oestrus detection were indicated.

After synchronization, superovulation was induced on Day 1 or Day 10 (Day 0 = oestrous). The regimen was 4 days of twice daily treatment (8 treatments) every 12 hours in decreasing daily doses with a total of 32 and 40 mcg p-FSH given intramuscularly. Forty-eight hours after the initial p-FSH administration in Day 10 treatment group (immediately after the 5th p-FSH treatment) or 72 hours after in the Day 1 treatment group (immediately after the 7th p-FSH administration), all females were injected intramuscularly with 500 mcg Cloprostenol (ESTROMATE^R), a prostaglandin F_{2α} analogue.

The number of corpora lutea (C.L.) was determined by transrectal palpation performed 7 days after oestrus/natural service of the females. Based on number of C.L., the uteri of those that had a good ovarian response (≥ 4 C.L.) were flushed for non-surgical recovery of embryos using a two-way Foley catheter and Bulbecco's phosphate buffered Saline (P.B.S.).

KEY WORDS : Cattle - Ndama - Superovulation - p-FSH - Embryos transfer - Senegal.

Auteur (Author) : Awana ALI

Adresse permanente (permanent address) : BP 20378 LOME (Togo) Tél. (00228) 21 88 40