

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMO



677THV-2

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA

FACULTE DES SCIENCES AGRO-BIO-VETERINAIRES

DEPARTEMENT DES SCIENCES VETERINAIRES

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU  
DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE**

THÈME :

**EFFET DE LA DOSE DE FSHp ET DE LA  
RACE SUR LE RENDEMENT DE LA  
SUPEROVULATION**

Réalisé par :

*Melle. BESSADI Nawel*

*Mr. BOUSSAFEUR Djafer*

Encadrés par : *Dr. GHARBI .I (M.A.A, USDB).*

Membres du jury :

- Président : *Dr. FERROUKH .M* (M.A.A, USDB).
- Examineur : *Dr. ADEL .D* (M.A.A, USDB).

*Promotion : 2010/2011.*

# *Remerciements*

- Nous remercions le bon dieu de nous avoir attribué la faveur de réussir nos études.
  - Très sincères remerciements, à notre promoteur D<sup>r</sup> GHARBI, pour ces qualités humaines et scientifiques. Profond respect.
  - Très honorés, nous remercions les membres du jury D<sup>r</sup> ADEL, D<sup>r</sup> FERROUKH d'avoir accepté d'examiner notre travail.
  - Nous tenons à remercier D<sup>r</sup> DECHICHA et D<sup>r</sup> FERROUKH pour leur aide lors de la réalisation de la partie expérimentale.
  - Un grand merci aux Docteurs Vétérinaires D<sup>r</sup> BABADJI, D<sup>r</sup> OUDAI et D<sup>r</sup> ZERROUKI qui ont contribué à notre formation par leurs conseils et leur disponibilité avec générosité et accueil amical au sein de leurs cabinets.
  - Des remerciements chaleureux à tous nos enseignants qui nous ont formé et nous ont enrichi par leur science et leur savoir depuis le primaire jusqu'à ce niveau. Hommages respectueux.
  - Vifs remerciements à tous ceux qui ont mis une blouse, et étaient présents à toute heure du jour ou de la nuit, et ont participé à la naissance de ce modeste travail, avec une fructueuse collaboration garnie d'une bonne ambiance et d'une énorme sympathie. Toute notre gratitude.
  - Un merci particulier à nos parents, pour tout...
- « *Que dieu le tout puissant veille sur nous tous et illumine nos chemins...* »

# Dédicaces

*-A mes très chers parents (ALI et MALIKA), sans vous je ne serais pas où j'en suis, pour les valeurs que vous m'avez transmises et pour avoir toujours cru en moi, j'espère contribuer à votre fierté, je ne vous le dirai jamais assez :  
merci pour tout, et surtout d'être vous !*

*-A mes très chères sœurs : l'ange DADOU, l'adorable LILIA, la jolie MOUNIA et ma chouchoute THINHINENE, pour notre complicité et notre humour*

*-A mon cher petit prince NASSIM, cadeau de bon dieu !*

*-A ma grande famille BESSADI et OUABED, en particulier mes grands parents, que vous soyez encore là ou plus haut.*

*-A la famille HABIB: Da Saadi et Na Ouardia, leurs filles et garçons, et une mention spéciale pour ZAHIR. Grand merci.*

*-A toute la famille BOUSSAFEUR, grand et petit, sans exception. Immense estime et profond respect.*

*-A mes amies : Zahia, Wahiba, Fatiha, Karima, Djouher, Saida, Souhila, Katia... et en particulier mes copines de chambre : Lilia et Lidya.*

*Que notre amitié ne s'amenuise jamais malgré la distance et le temps...  
vous me manquez !*

*-A mon grand frère que je n'ai pas eu de ma vie, Sofiane, pour votre présence et votre soutien indéfectible dans les moments de doute.*

*-A DJAFER, grâce à vous, rien ne m'a paru insurmontable, à vous, pour toutes les joies et les peines partagées... Vous oubliez trop souvent que vous êtes merveilleux et exceptionnel !*

*-Pour tous les gens qui ont croisé ma route et enchanté ma vie au cours de ces cinq bonnes années si vite passées, et m'ont appris au moins une chose !*

*-A tous ceux que je n'ai pas cités mais que je porte dans mon cœur...*

NAWEL

# *Dédicaces*

- A vous grand mère qui n'êtes plus là, votre souvenir restera toujours présent, repose en paix.*
- A mes très chers parents qui m'ont transmis le gène du courage et de la confiance en soi et m'ont fait comprendre que dans la vie toujours oser et ne jamais hésiter. Je vous dois ma vocation.*
- A mon oncle Kaci qui représente toujours pour moi un second père, et à sa petite famille.*
- A ma sœur Dhahbia, son mari Nadjib, et la petite jolie hanane. Heureuse vie.*
- A mes sœurs Fatima et Rafida, et mes frères mahrez, momoh, malik et sa fiancée Dhahbia. Bonne réussite... et bonheur infini.*
- A toute la famille BOUSSAFEUR et BENAMER surtout Zahou et son mari.*
- A Mr BESSADI Ali et Na malika à qui je suis reconnaissant et à toute leur famille. Merci infiniment.*
- A vous Dalila, pour votre précieux soutien, vous me devez beaucoup.*
- A ceux avec qui j'ai passé des bons moments mais surtout les moments durs où ils m'ont soutenu sans réserve, à vous : Sofiane, Mouloud, Nassim, Hamimi, Fahim, Da Yazid, Tarik, Salim, Abderezak, Ahmed, Lounis, sofiane06, Nawel, Saida, Lilia et Zahia... Chaleureux remerciements.*
- Il est adorable, gentil, généreux et surtout maladroit, on a vécu ensemble un bon épisode inoubliable de notre vie, il était et sera éternellement mon meilleur ami, à vous Sofiane. Merci pour tout ce que t'as sacrifié pour moi.*
- Elle est sincère, courageuse, très sympa mais surtout timide, pour tout ce qu'on a vécu..., n'oubliez jamais que vous êtes unique et vraiment une perle rare, à vous Nawel.*
- A tout le monde, je dédie ce travail en signe de reconnaissance et de respect.*

**DJAFER**

# **TABLES DES MATIERES**

<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	<b>I</b>
<b>LISTE DES FIGURES.....</b>	<b>II</b>
<b>LISTE DES PHOTOS.....</b>	<b>III</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS.....</b>	<b>IV</b>
<b>RESUME.....</b>	<b>V</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>

## **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **CHAPITRE I: LA PRODUCTION D'EMBRYONS IN VIVO CHEZ LES OVINS.**

<b>I-Introduction .....</b>	<b>2</b>
<b>II-Production in vivo d'embryons .....</b>	<b>2</b>
<b>II-1. Synchronisation des chaleurs.....</b>	<b>2</b>
<b>II-1.1. Les Progestagènes .....</b>	<b>2</b>
<b>II-1.2. Les prostaglandines .....</b>	<b>3</b>
<b>II-2. Superovulation .....</b>	<b>3</b>
<b>II-2.1. Les traitements de superovulation .....</b>	<b>3</b>
<b>II-2.1.1. PMSG.....</b>	<b>4</b>
<b>II-2.1.2. FSH.....</b>	<b>4</b>
<b>II-2.2. Les conséquences d'un traitement de superovulation.....</b>	<b>4</b>
<b>II-2.2.1. Apparition des chaleurs .....</b>	<b>4</b>

II-2.2.2. Développement folliculaire .....	5
II-2.2.3. Nombre d'ovulations .....	5
II-3. Fécondation .....	6
II-3.1. Saillie naturelle.....	6
II-3.2. Insémination artificielle.....	6
II-4. Collecte d'embryons .....	6
II-4.1. Technique chirurgicale.....	7
II-4.2. Technique laparoscopique .....	7
II-5. Examen et classement des embryons .....	7
II-6. Conservation des embryons .....	8

## **CHAPITRE II: VARIABILITE DE LA PRODUCTION D'EMBRYONS IN VIVO CHEZ LES OVINS.**

I. Introduction.....	9
II. Les facteurs intrinsèques.....	9
II.1. Effet de la race.....	9
II.2. L'âge.....	10
II.3. Etat des ovaires.....	11
II.4. L'individu.....	12
III. Les facteurs extrinsèques .....	12
III.1. Effet de la dose .....	12
III.2. La répartition des doses et rapport FSH/LH.....	12
III.3. Le choix de l'hormone du traitement .....	13
III.4. Facteurs nutritionnels .....	14
III.5. Effet de la répétition des traitements.....	14
III.6. La saison .....	15
III.7. Techniques d'insémination utilisées .....	15
III.8. Techniques de récolte utilisées .....	15

# PARTIE EXPERIMENTALE

OBJECTIFS.....	16
----------------	----

## CHAPITRE I : EFFET DE LA DOSE DE FSH<sub>p</sub> ET DE LA RACE (OULED DJELLAL, HAMRA) SUR LE COMPORTEMENT D'OESTRUS ET LA REPONSE OVARIENNE.

I- LIEU ET PERIODE DE L'EXPERIMENTATION.....	17
--	----

II- MATERIEL ET METHODES .....	17
--------------------------------	----

II.1. Matériel.....	17
---------------------	----

II.1.1. Animaux.....	17
----------------------	----

II.1.1.1. Brebis .....	17
------------------------	----

II.1.1.2. Béliers.....	18
------------------------	----

II.1.2. Appareillages et produits.....	19
--	----

II.1.2.1. Appareillages .....	19
-------------------------------	----

a. Echographe .....	19
---------------------	----

b. Endoscope .....	19
--------------------	----

c. Instruments .....	19
----------------------	----

d. Matériel de récolte du sperme et d'insémination .....	19
--	----

II.1.2.2. Produits .....	20
--------------------------	----

a. Hormones.....	20
------------------	----

b. Antibiotiques et autres produits .....	20
---	----

II.2. Méthodes.....	20
---------------------	----

II.2.1. Echographie.....	20
--------------------------	----

II.2.2. Traitements de synchronisation et de superovulation .....	21
---	----

II.2.2.1. Traitement de synchronisation des chaleurs .....	21
--	----

II.2.2.2. Traitements de superovulation .....	21
---	----

II.2.3. Détection d'oestrus.....	22
----------------------------------	----

II.2.4. Récolte et conditionnement du sperme .....	22
--	----

II.2.5. Fécondation.....	22
--------------------------	----

II.2.6. Endoscopie .....	22
--------------------------	----

<b>III. ANALYSE DES DONNEES.....</b>	<b>23</b>
<b>IV.RESULTATS.....</b>	<b>23</b>
<b>IV.1.Comportement d'œstrus chez les brebis superovulées.....</b>	<b>23</b>
<b>1. Effet de la dose utilisée.....</b>	<b>23</b>
1.1. La race Ouled Djellal.....	23
1.2. La race Hamra.....	24
<b>2. Effet de la race.....</b>	<b>24</b>
2.1. Cas de 16 UA.....	24
2.2. Cas de 20 UA.....	25
<b>IV.2.Réponse ovarienne après traitement de superovulation .....</b>	<b>26</b>
<b>1. Effet de la dose utilisée.....</b>	<b>26</b>
1.1. La race Ouled Djellal .....	26
1.2. La race Hamra.....	27
<b>2. Effet de la race .....</b>	<b>28</b>
2.1. Cas de 16 UA.....	28
2.2. Cas de 20 UA.....	29

**CHAPITRE II : EFFET DE LA DOSE DE FSHp ET DE LA RACE (OULED  
DJELLAL, HAMRA) SUR LE TAUX DE COLLECTE, FECONDATION ET LA  
QUALITE DES EMBRYONS.**

<b>I-MATERIEL ET METHODES.....</b>	<b>30</b>
<b>I-A- Matériel.....</b>	<b>30</b>
<b>I-A- 1. Animaux.....</b>	<b>30</b>
<b>I-A- 2. Instruments et produits .....</b>	<b>30</b>
<b>I.B. Méthodes.....</b>	<b>31</b>
<b>I-B-1. Préparation des animaux.....</b>	<b>31</b>
<b>I-B-2. Récolte des embryons.....</b>	<b>31</b>
<b>I-B-3. Tri et sélection des embryons .....</b>	<b>32</b>
<b>I-B.4. Soins post-opératoires .....</b>	<b>34</b>

<b>II. ANALYSES STATISTIQUES</b> .....	<b>34</b>
<b>III – RESULTATS</b> .....	<b>34</b>
<b>III -1. Résultat de la récolte des embryons</b> .....	<b>34</b>
<b>III.1.A. Nombre de Structures récoltées</b> .....	<b>35</b>
<b>III.1.B. Taux de récolte</b> .....	<b>36</b>
<b>IV. Classification des embryons</b> .....	<b>37</b>
<b>IV.1. Qualité des structures récoltées</b> .....	<b>37</b>
<b>IV.2. Détermination du taux de fécondité</b> .....	<b>39</b>
<b>IV.3. Détermination du nombre moyen des embryons transférables</b> .....	<b>39</b>
<b>IV.4. Effet de la dose utilisée sur le nombre moyen de structures récoltées, de fécondité et des embryons transférables</b> .....	<b>40</b>
<b>1.1.Chez la race Ouled Djellal</b> .....	<b>40</b>
<b>1.2.Chez la race Hamra</b> .....	<b>40</b>
<b>IV.5. Effet de la race sur le nombre de structures récoltées, de fécondité et des embryons transférables</b> .....	<b>40</b>
<b>2.1. Cas de 16UA</b> .....	<b>40</b>
<b>2.1. Cas de 20UA</b> .....	<b>40</b>
<b>DISCUSSION</b> .....	<b>41</b>
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>46</b>

# LISTE DES TABLEAUX

## Partie bibliographique

<b>Tableau I :</b> Effet traitements de superovulation sur le début et la durée des chaleurs chez la brebis Rambouillet [31] .....	4
<b>Tableau II :</b> Effet du type du traitement de superovulation sur le nombre d'ovulation .....	5
<b>Tableau III :</b> Classification des embryons selon leur qualité (d'après l'INRA-UNCEIA, 1990) .....	8
<b>Tableau IV :</b> Réponse ovulatoire de certaines races après un traitement de stimulation ovarienne .....	10
<b>Tableau V :</b> Effet de l'âge des donneuses superovulées sur le rendement de la superovulation .....	11
<b>Tableau VI :</b> Effet du type de traitement de stimulation ovarienne sur la réponse ovarienne et le nombre d'embryons transférables par femelle traitée [78] .....	13

## Partie expérimentale

<b>Tableau I :</b> Poids, âge et note d'état corporel (NEC) des brebis donneuses .....	17
<b>Tableau II :</b> Race, âge, poids et note d'état corporel (NEC) des béliers .....	18
<b>Tableau III :</b> Début, fin et durée d'œstrus chez les brebis de race OD après induction de la superovulation avec une dose de 16 et 20 UA .....	23
<b>Tableau IV :</b> Début, fin et durée d'œstrus chez les brebis de race Hamra après induction de la superovulation avec une dose de 16 et 20 UA .....	24

<b>Tableau V</b> : Début, fin et durée d'œstrus après induction de la superovulation avec 16 UA de FSHp chez les brebis OD et H .....	25
<b>Tableau VI</b> : Début, fin et durée d'œstrus après induction de la superovulation avec 20 UA de FSHp chez les brebis OD et H .....	25
<b>Tableau VII</b> : Réponse ovulatoire après traitement de superovulation chez les brebis de la race OD .....	26
<b>Tableau VIII</b> : Réponse ovulatoire après traitement de superovulation chez les brebis de la race H .....	27
<b>Tableau IX</b> : Réponse ovulatoire après induction de la superovulation avec 16 UA de FSH-P chez les brebis OD et H.....	28
<b>Tableau X</b> : Réponse ovulatoire après induction de la superovulation avec 20 UA de FSHp chez les brebis OD et H.....	29
<b>Tableau XI</b> : Nombre de structures récoltées chez les brebis du lot 1, 2, 3 et 4.....	35
<b>Tableau XII</b> : Taux de récolte des embryons chez les brebis du lot 1, 2, 3 et 4.....	36
<b>Tableau XIII</b> : Qualité des structures récoltées. Embryons dégénéré (D), œuf non fécondé (NF).....	37
<b>Tableau XIV</b> : Taux de fécondité .....	39
<b>Tableau XV</b> : Nombre moyen des embryons transférables.....	39

# **LISTE DES FIGURES**

## **Partie expérimentale**

**Figure 1:** Protocole de synchronisation et de superovulation appliqué chez les lots 1 et 3 ...21

**Figure 2:** Protocole de synchronisation et de superovulation appliqué chez les lots 2 et 4..21

**Figure 3:** Schéma de montage des embryons en paillette pour une congélation ..... 33

# LISTE DES PHOTOS

## Partie expérimentale

<b>Photo 1</b> : Recherche des embryons sous une loupe binoculaire.....	32
<b>Photo 2</b> : Congélation des embryons : opération de seeding.....	34
<b>Photo 3</b> : Ovocyte non fécondé de classe 4.....	38
<b>Photo 4</b> : Blastocyste en expansion.....	38
<b>Photo 5</b> : Embryons dégénérés de classe 4.....	38
<b>Photo 6</b> : Blastocystes de classe 1.....	38

## TABLE DES ABREVIATIONS

<b>C°:</b>	Degré Celsius.
<b>CJ :</b>	Corps Jaune.
<b>D:</b>	Dégénéré.
<b>eCG :</b>	équine Chorionic Gonadotropin.
<b>FGA:</b>	Acétate de Fluorogestone.
<b>FSH:</b>	Follicule Stimulating Hormone.
<b>FSHo :</b>	Follicule Stimulating Hormone ovine.
<b>FSHp:</b>	Follicule Stimulating Hormone porcine.
<b>h:</b>	heure.
<b>HAP:</b>	Horse Anterior Pituitary.
<b>IA :</b>	Insémination Artificielle.
<b>IAIU:</b>	Insémination Artificielle Intra Utérine.
<b>INRA :</b>	Institut National de la Recherche Agronomique.
<b>J :</b>	Jours.
<b>LH :</b>	Luteinizing Hormone.
<b>LHp:</b>	Luteinizing Hormone porcine.
<b>MAP :</b>	Medroxyprogesterone.
<b>MOET:</b>	Multiple Ovulation and Embryon Transfer.
<b>NF:</b>	Non Fécondé.
<b>ND :</b>	Nom Déposé.
<b>NEC:</b>	Note d'Etat Corporel.
<b>OVD :</b>	Ovaire Droit.
<b>OVG :</b>	Ovaire Gauche.
<b>PBS :</b>	Phosphate Buffered Saline.
<b>PGF<sub>2</sub><math>\alpha</math> :</b>	Prostaglandine F2.
<b>PMSG :</b>	Prégnant Mare Sérum Gonadotrophine.
<b>UA :</b>	Unité Armour.
<b>UI :</b>	Unité Internationale.
<b>UNCEIA :</b>	Union Nationale des Coopératives d'Élevage et d'Insémination Artificielle.

# ***RESUME***

Chez les ovins, le principal facteur limitant dans les programmes de développement de la production et du transfert embryonnaire est l'extrême variabilité de la réponse ovulatoire. L'objectif principal de la présente étude a été d'évaluer dans le cadre de la production d'embryons *in vivo*, l'effet de la dose de FSHp (16 et 20 UA) et de la race (Ouled Djellal, Hamra) sur le rendement de la superovulation.

Quinze (15) brebis donneuses, dont sept (07) de race Ouled Djellal et huit (08) de race Hamra ont été utilisées dans notre travail. Ces dernières ont été réparties en quatre lots ; deux de race Ouled Djellal : lot 1 (n=4) et lot 2 (n=3) et les deux autres de race Hamra, lot 3 (n=4) et lot 4 (n=4). Toutes les donneuses ont été synchronisées par la pose d'éponges vaginales imprégnées de 40mg de FGA, pendant 14 jours. Le traitement superovulatoire a été administré durant les trois derniers jours du traitement progestatif. Les lots (1, 3) et (2, 4) ont reçu, respectivement, une dose de 16UA et 20UA de FSHp. La fécondation a été obtenue par l'utilisation de la saillie et l'insémination intra utérine; la récolte des embryons a été effectuée à j 7 par la voie chirurgicale.

Nos résultats montrent que la réponse ovarienne des brebis de race OD traitées avec 20 UA, a été plus élevée par rapport à celles traitées avec 16 UA ( $8.33\pm 5.03$  vs  $3.66\pm 1.15$ ). En revanche, les brebis de race H traitées avec 16 UA ont présentées une réponse ovarienne meilleure par rapport à celles traitées avec 20 UA (lot 3:  $9.75\pm 5.37$  vs lot 4 :  $7\pm 5.71$ ). De plus, la réponse ovarienne est significativement plus élevée chez les brebis de race H par rapport à celle de la race OD après induction de la superovulation avec 16 UA ( $9.75\pm 5.37$  vs  $3.66 \pm 1.15$ ). Le nombre d'embryons transférables a été nettement faible chez les lots 1 et 4 par rapport au lot 2 et 3 [lot 1 : ( $1,66\pm 0,57$ ), lot 4: ( $3\pm 2,16$ ) vs lot : 2 ( $5\pm 4$ ) et lot 3 ( $5,75\pm 4$ )].

Enfin, le rendement de la production d'embryons *in vivo* chez les brebis de race Hamra a été très satisfaisant lors d'utilisation d'une dose de 16UA ; en revanche, ce rendement a été satisfaisant lors d'utilisation d'une dose de 20UA de FSHp chez la race Ouled Djellal.

**Mots clés:** Race, Hamra, Ouled Djellal, superovulation, dose, FSHp, embryons.

**Abstract:**

In sheep, the main limiting factor in programs development of embryo production and transfer is the extreme variability in ovulatory response. The main objective of this study was to evaluate the production of embryos in vivo context, the effect of the FSHp dose (16 and 20 AU) and breed (Ouled Djellal, Hamra) on the efficiency of superovulation

Fifteen (15) sheep donors, divided into: seven (07) from Ouled Djellal breed and eight (08) from Hamra one; were used in our work. These were divided into four lots, two of Ouled Djellal breed; Lot 1 (n = 4) and lot 2 (n = 3) and the two others of Hamra race, lot 3 (n = 4) and Lot 4 (n = 4). All donors were synchronized by insertion of vaginal sponges impregnated with 40 mg of FGA for 14 days. Superovulatory treatment was administered during the last three days of progestin therapy. Lots (1, 3) and (2, 4) received, respectively, a dose of FSH 16UA and 20uA p. Fertilization was obtained by using mating and intrauterine insemination; embryo was collected by the 7 day surgery.

Our results show that the ovarian response of OD ewes treated with 20 AU, was higher compared to those treated with 16 AU ( $8.33 \pm 5.3$  vs  $3.66 \pm 1.15$ ). In contrast, the H ewes treated with 16 AU presented a greater ovarian response compared to those treated with 20 AU (Lot 3:  $9.75 \pm 5.37$  vs group 4:  $7 \pm 5.71$ ). In addition, the ovarian response was significantly higher in H ewes compared to the OD of the race after induction of superovulation with 16 AU ( $9.75 \pm 5.37$  vs.  $3.66 \pm 1.15$ ). The number of transferable embryos was significantly lower in groups 1 and 4 with respect to Lot 2 and 3 [Lot 1 ( $1.66 \pm 0.57$ ), lot 4: ( $3 \pm 2.16$ ) vs. batch: 2 ( $5 \pm 4$ ) and Lot 3 ( $5.75 \pm 4$ )].

At the end, the efficiency of embryo production in vivo in Hamra ewes was very better using a dose of 16UA, however the performance was satisfactory when using a dose of FSHp of 20uA at Ouled Djellal race.

**Tags:** Race, Hamra, Ouled Djellal, superovulation, dose, FSHp, embryos.

ملخص:

في الأغنام ، فإن العامل الرئيسي الذي يحد في برامج التتمة في إنتاج ونقل الجنين هو التباين الشديد في الاستجابة الإباضة. وكان الهدف الرئيسي من هذه الدراسة لتقييم في سياق إنتاج أجنة في الجسم الحي ، وتأثير جرعة من 16 و pFSH UA 20 والسباق (أولاد جلال ، الحمرا) على كفاءة فرط الإباضة.

أولاد خمسة عشر الماتحة الأغنام (15) ، وسبع (07) سباق استخدمت جلال وثمانية (08) سباق الحمراء في عملنا. أولاد جلال سباق قسمت هذه إلى أربع قطع ، لوط جلال 1 (ن = 4) والكثير 2 (ن = 3) والآخرا الحمرا العرق ، الكثير 3 (ن = 4) ولوط 4 (ن = 4). تزامنت جميع الجهات الماتحة التي الإدراج من الإسفنج المهيلي مشربة مع 40 ملغ من FGA لمدة 14 يوما. كانت تدار علاج فرط الإباضة خلال الأيام الثلاثة الماضية للعلاج البروجستين. وكانت القرعة (1 ، 3) و (2 ، 4) ، على التوالي ، وجرعة من UA 16 و FSH UA20 وقد تم الحصول على الإخصاب عن طريق استخدام التزاوج والتلقيح داخل الرحم ، ويقوم حصاد الجنين قبل الجراحة لمدة 7 أيام.

نتائجنا تشير إلى أن استجابة المبيض للتعامل مع النعاج أولاد جلال UA 20 ، كانت أعلى مقارنة مع الذين عولجوا مع UA 16 ( $5.3 \pm 8.33$  مقابل  $1.15 \pm 3.66$ ). في المقابل ، قدم النعاج الحمرا تعامل مع UA 16 استجابة المبيض أكبر مقارنة مع الذين عولجوا UA 20 (المجموعة:  $9.75 \pm 5.37$  مقابل أولاد جلال المجموعة 4 :  $5.71 \pm 7$ ). بالإضافة إلى ذلك ، كانت الاستجابة المبيض أعلى بكثير في النعاج الحمرا بالمقارنة مع من السباق بعد تحريض فرط الإباضة مع UA 16 ( $5.37 \pm 9.75$  مقابل  $1.15 \pm 3.66$ ) ، وعدد الأجنة المنقولة وبشكل ملحوظ انخفاض في المجموعات 1 و 4 فيما يتعلق 2 و 3 [ $1 (0.57 \pm 1.66)$  ، 4 ( $2.16 \pm 3$ ) مقابل : 2 ( $4 \pm 5$ ) و 3 ( $4 \pm 5.75$ )].

في النهاية، وكفاءة الإنتاج الجنين في الجسم الحي في النعاج الحمراء كانت جيدة جدا في استخدام جرعة من UA16، ولكن كان أداء مرضيا عند استخدام جرعة من UA20 من FSHp في سباق أولاد جلال.

العلامات : ، سباق ، الحمرا ، أولاد جلال ، فرط الإباضة ، الجرعة ، FSHp والأجنة.

***PARTIE***  
***BIBLIOGRAPHIQUE***

# ***INTRODUCTION***

Le cheptel ovin algérien déclaré à travers les campagnes de vaccination a atteint 22,5 millions de têtes en 2010 [1], il repose principalement sur trois races : Ouled Djellal, Hamra et Rumbi [2]. Sa part dans l'effectif global des ruminants est de 80% [3]. Ainsi, de par son importance, sa contribution à l'économie nationale est importante dans la mesure où il représente un capital de plus d'un milliard de dinars [4].

La race Ouled Djellal est la plus importante en terme d'effectif, elle constitue environ 58% du cheptel national. Ce type d'ovin aux membres forts est actuellement en pleine expansion, il est le plus intéressant par ses aptitudes tant physiques que productives (FAO, 2007). Cependant, la race Hamra est considérée comme la meilleure race à viande en Algérie, en raison de sa bonne conformation bouchère (finesse de son ossature et la rondeur de ses lignes).

Au cours des quatre dernières décennies, des changements notables dans la composition raciale des troupeaux ont été observés [5]. En effet, le mode d'élevage traditionnel, basé sur un savoir faire limité et les croisements anarchiques entre les races favorisent la disparition progressive du pure noyau de ces deux races. Il est donc nécessaire de mettre en œuvre des mesures visant leur préservation.

Les biotechnologies de la reproduction, en particulier la production *in vivo* d'embryons, en sont un des moyens. La superovulation est la principale étape influençant sa réussite, elle est induite par un traitement classique de synchronisation des chaleurs et de stimulation de la fonction ovarienne par une variété de préparations hormonales à activité gonadotrope ; les plus appropriés sont les extraits hypophysaires dits « FSHp » car ils permettent d'obtenir un taux élevé d'ovulation et des embryons de très bonne qualité [6]. La dose totale de FSH administrée varie de 16 à 20UA [7], [8]. Cette variation de dose dépend du type de préparation commerciale de FSH et de la race [9].

Dans cette optique, notre objectif est d'évaluer dans le cadre de la production d'embryons *in vivo*, l'effet de la dose de FSHp et de la race (Ouled Djellal, hamra) sur le rendement de la superovulation.

# *CHAPITRE I*

**LA PRODUCTION D'EMBRYONS IN VIVO  
CHEZ LES OVINS.**

## I- INTRODUCTION:

La maîtrise de la reproduction présente plusieurs avantages considérables. Elle permet de choisir la période de mise bas, de diminuer les périodes improductives, d'optimiser la taille de la portée et enfin d'accélérer le progrès génétique [10].

La production et le transfert d'embryons sont des techniques qui permettent d'obtenir des embryons dans leurs premiers états de développement. Ces techniques permettent la multiplication du nombre de descendants des femelles d'élites, contribuent aux progrès génétiques par l'augmentation de l'intensité de sélection, la réduction de l'intervalle entre générations, et la conservation des races en danger d'extinction.

La production d'un nombre important d'embryons suppose que les étapes successives de la stimulation ovarienne, de la fécondation, de la collecte de ces embryons et la possibilité de répéter plusieurs fois ces opérations chez la même donneuse soient maîtrisées [11].

## II- Production in vivo d'embryons :

La procédure de production d'embryons *in vivo* comportent différentes étapes :

- Synchronisation d'œstrus.
- Induction de la superovulation.
- Fécondation (insémination artificielle et/ou saillie naturelle).
- Collecte, recherche et tri des embryons.
- Conservation des embryons.

### II-1. Synchronisation des chaleurs :

Chemineau et al (1996), [10], définissent la synchronisation des chaleurs ou la maîtrise des cycles sexuels, comme étant le déclenchement du cycle œstral à un moment désiré chez une femelle déjà cyclique ou non. Cette technique a pour principe de prolonger la phase lutéale jusqu'à ce que tous les corps jaunes régressent et disparaissent [12].

Deux agents sont fréquemment utilisés pour la synchronisation des chaleurs dans les protocoles de superovulation chez les petits ruminants :

#### II-1.1. Les Progestagènes :

Ils ont l'avantage d'être beaucoup plus puissants et plus actifs que la progestérone [13]. Les progestagènes peuvent être administré grâce à différents supports (éponges, implants, CIDR®), par différentes voies (vaginales, IM, SC) et à différentes posologies. La méthode des éponges est de loin la plus utilisée de part sa facilité d'utilisation et les résultats fiables qu'elle apporte [14]. De plus, différents principes actifs sont retrouvés selon les spécialités : les CIDR® contiennent de la progestérone pure sous forme d'un sel de silicate, les implants

sous-cutanés contiennent du norgestomet et enfin les éponges vaginales peuvent contenir de l'acétate de fluorogestone (FGA) ou d'acétate de médroxyprogestérone (MAP) [15].

Les progestagènes bloquent la décharge de LH en exerçant un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. L'utilisation d'un progestagène de synthèse sans addition de PMSG fournit une bonne synchronisation des chaleurs et une bonne prolificité [16]. Les meilleurs résultats sont obtenus en saison sexuelle 92% contre 75% en saison d'ancestrus [17]. L'ovulation est normalement déclenchée 54h après la fin du traitement [18] et l'œstrus apparaît dans les 48h qui suivent le retrait [19].

### II-1.2. Les prostaglandines :

La prostaglandine n'induit la lutéolyse qu'entre le 5<sup>ème</sup> et le 14<sup>ème</sup> jour du cycle. La progestéronémie diminue au cours des 24 heures suivant l'injection, l'œstrus apparaissant chez la brebis dans un délai de 38 heures en moyenne, l'ovulation survenant 93±8 heures après l'injection de la prostaglandine. L'utilisation pratique de PGF2α pour la synchronisation de l'œstrus reste limitée à la saison sexuelle, en contre saison, leur efficacité dépend de leur association à d'autres hormones capables d'induire l'œstrus, un traitement combinant progestagène et prostaglandine avec ou sans PMSG [20].

L'importante variabilité des réponses et la nécessité de ne traiter que les brebis cyclées expliquent l'utilisation très limitée de cette méthode sur le terrain [21] et [22].

### II-2. Superovulation :

La superovulation est une stimulation ovarienne qui aboutit au développement et la production d'un nombre important d'ovulations au-delà du standard moyen de l'espèce [23] et [24]. Pour produire soit un grand nombre d'ovocytes en vue de la fécondation in vitro, soit plusieurs embryons pour les programmes de transfert d'embryons [14].

#### II-2.1. Les traitements de superovulation:

La fonction ovarienne peut être stimulée par une variété de préparations hormonales à activité gonadotrope les plus fréquemment utilisés sont [25]:

##### II-2.1.1. PMSG :

La première gonadotrophine utilisée pour obtenir une superovulation a été la PMSG (maintenant nommée eCG pour equine Chorionic Gonadotropin), administrée par voie intramusculaire en une seule injection de 1000 à 2000UI, un ou deux jours avant le retrait de l'éponge. Cependant, cette gonadotrophine présente deux inconvénients : d'une part, la forte activité LH de eCG peut induire une activation prématurée de la méiose ovocytaire, et d'autre

part, l'action prolongée de eCG due à sa longue demi-vie (4 à 6 jours. [26]), Au moment de l'œstrus, la PMSG n'est pas totalement éliminée et provoque une nouvelle croissance folliculaire avec sécrétion d'œstrogène qui perturbe le transit des gamètes. Ces effets conjugués peuvent expliquer les faibles performances obtenues avec eCG (2 à 3 embryons transférables en moyenne par donneuse) [11]. L'administration répétée de PMSG peut induire la formation d'anticorps dirigés contre cette hormone chez certaines femelles [10].

### II-2.1.2. FSH :

Les FSH utilisées dans les protocoles de superovulation sont extraites de broyas d'hypophyses de plusieurs espèces (porc, ovin) [27], des études comparatives ont montré la supériorité des extraits hypophysaires porcins (FSHp) ou ovins (FSHo) en terme de production d'embryons aptes au transfert. Cependant, cette hormone présente une courte demi-vie et nécessite l'administration de façon séquentielle de 6 à 8 injections à 12h d'intervalle dans les 3 ou 4 derniers jours du traitement progestagène [9].

La FSHp ne peut exercer pleinement son action pour la maturation folliculaire et l'ovulation qu'en liaison avec la LHp [28], la réponse ovulatoire est meilleure avec des rapports FSH/LH décroissants [29] qui sont de 0,3 à 0,4 lors des deux dernières injections réalisées à l'arrêt du traitement progestagène [9].

## II-2.2. Les conséquences d'un traitement de superovulation :

### II-2.2.1. Apparition des chaleurs :

La synchronisation des donneuses est essentielle pour que la collecte se fasse au moment idéal (6 à 7 jours après la fécondation). De plus, l'administration d'hormones gonadotropes (FSHp ou eCG) peut influencer le moment d'apparition de l'œstrus et le taux de synchronisation [30] (Cf. tableau I).

**Tableau I** : Effet traitements de superovulation sur le début et la durée des chaleurs chez la brebis Rambouillet [31].

	Traitement de superovulation	
	PMSG + FSH	FSHp
Nombre de brebis	8	8
Nombre et (%) de brebis qui ont ovulé	8 (100%)	6 (75%)
Fin de traitement – début d'œstrus (h)	34,90 ± 1,88	45,40 ± 4,03
Durée des chaleurs	32,60 ± 3,4	37,90 ± 1,79

**II-2.2.2. Développement folliculaire :**

L'effet des traitements de superovulation sur la morphologie et la physiologie hormonale des follicules a fait l'objet de plusieurs recherches dans l'espèce ovine. Ainsi, chez certaines brebis connues pour leur prolificité (Boroola, Romanov et Finn), l'augmentation du taux d'ovulation est habituellement associée à des altérations morphologiques et fonctionnelles des follicules ovulatoires, la taille des follicules est diminuée de 20 à 50%, le nombre de cellules de la granuleuse est réduit de 30%, la concentration en œstrogènes et en inhibine des follicules est réduite respectivement de 30 et 50%. De même, l'administration de PMSG ou de FSHp induit une réduction de la taille des follicules ovulatoires [32].

**II-2.2.3. Nombre d'ovulations :**

L'apport de gonadotrophines exogènes permet de déborder les mécanismes du contrôle naturel du taux d'ovulation, il est ainsi possible d'observer des taux d'ovulation variables chez la brebis (Cf. tableau II).

**Tableau II :** Effet du type du traitement de superovulation sur le nombre d'ovulation.

Traitement	Nombre de brebis	Nombre de CJ (moyenne)	Auteurs
eCG + FSH	23	11,8 ± 4,0	[33].
FSH	21	8,5 ± 3,8	
FSH/LH	10	14,9 ± 1,5	[29].

**II-3. Fécondation :**

Après synchronisation et superovulation, succède la méthode de lutte. Deux méthodes peuvent être appliquées, l'insémination artificielle et la saillie naturelle [9].

Le transport et la survie des spermatozoïdes dans les voies femelles peuvent être perturbés après traitement progestatif associé à l'induction de la superovulation [34].

**II-3.1. Saillie naturelle :**

Au cours de la saison sexuelle, la saillie naturelle est utilisée avec succès, la technique généralement employée est la monte en main. Elle débute dès l'apparition des chaleurs et consiste à appliquer deux à trois saillies de 12 heures d'intervalle, et puisque l'ovulation se produisant vers la fin des chaleurs, c'est pendant la deuxième moitié des chaleurs que la saillie sera la plus efficace. Mais cette technique n'est pas dénuée d'inconvénients tel l'entretien des béliers, qui doivent être très nombreux dans l'élevage. Par ailleurs, en contre saison, la faiblesse et l'absence de libido chez les mâles ne permettent pas d'être sûr de leurs aptitudes à la saillie et du pouvoir fécondant de la semence qui est plus faible durant cette période [35].

**II-3.2. Insémination artificielle :**

L'IA chez les ovins présente certaines caractéristiques qui ne correspondent pas à ce qui est couramment admis [36], l'endocol dessine de nombreux replis qui rendent le canal cervical très sinueux et empêche une insémination intra-utérine. L'insémination par laparoscopie constitue une méthode alternative mais elle est peu employée [20].

L'IAIU a lieu 48 à 60 heures après la fin du traitement progestatif directement dans les cornes utérines ( $80 \times 10^6$  spermatozoïdes), cette méthode permet d'obtenir des taux de fécondation élevés chez les donneuses ayant moins de 30 ovulations [11].

**II-4. Collecte d'embryons:**

Le but de l'opération est de récolter l'ensemble des embryons produits par la brebis de la façon la plus efficace et la moins traumatisante possible [37]. La plus part des équipes de transfert d'embryons dans l'espèce ovine préfèrent travailler entre J6 et J7, période correspondant au stade embryonnaire morula ou blastocyste et à localisation utérine [37], [38] et [39]. Les brebis sont mises en diète hydrique minimum de 18 à 24 h précédant la collecte. Les embryons sont récoltés par « lavages successifs » des deux cornes utérines, une solution physiologique (P.B.S) est injectée à l'une ou l'autre des extrémités de la corne utérine [37].

Il existe deux techniques différentes de récolte des embryons : Chirurgicale et laparoscopique. Pour le choix entre ces deux techniques, il faut considérer le devenir de la brebis donneuse [37]. De plus, ce choix dépendra du matériel dont dispose l'équipe de transfert embryonnaire et de ses habitudes [40].

**II-4.1. Technique chirurgicale :**

C'est la méthode de récolte la plus utilisée en raison du taux de collecte élevé observé [41], elle permet de collecter aisément 72% d'embryons (taux de collecte à J6) par rapport aux CJ, elle est aussi très accessible étant donné le peu de matériel qu'elle nécessite. Néanmoins, ce taux diminue après répétition de la manipulation sur le même sujet [40].

**II-4.2. Technique laparoscopique :**

La collecte laparoscopique, de maîtrise plus délicate, offre un rendement moyen de 62%. Elle est basée sur presque la même méthode que la collecte chirurgicale, mais un peu différente car celle-ci est réalisée grâce à l'observation des viscères par endoscopie, et le plus souvent on utilise une tranquillisation à base de xylazine en IV associée à une anesthésie locale traçante. Il a été observé que le taux de collecte obtenu par cette technique est 10 à 15% inférieur à celui obtenu par la technique chirurgicale. Toutefois, l'avantage principal de ce procédé est sa répétitivité sur le même sujet sans diminuer le taux de collecte d'embryons [37].

**II-5. Examen et classement des embryons :**

Les embryons récoltés après superovulation se présentant sous des aspects morphologiques divers, il est important d'en apprécier la qualité avant leur transfert ou autres manipulations biotechnologiques éventuelles [32].

Les embryons sont recherchés sous loupe binoculaire ( $\times 10-60$ ) puis jugés [37], après décantation (filtration) du liquide de récolte. L'estimation de la qualité de l'embryon en observant sa forme globale permet de fournir un pronostic sur sa viabilité [42]. A J6, l'embryon est au stade morula compactée, à J7 au stade blastocyste. La sortie de la zone pellucide se fait à J9. Les ovulations n'étant pas toutes synchrones, plusieurs stades embryonnaires peuvent être observés au cours d'une même récolte. Tous ces critères figurent dans la blastographie publiée par l'INRA-UNCEIA (1990) (Cf. tableau III). Certaines équipes rajoutent une classe 5 qui correspond aux ovocytes non fécondés.

Tableau III : Classification des embryons selon leur qualité (d'après l'INRA-UNCEIA 1990).

Classification	Qualité	Description
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 de nombreuses cellules échappées, dégénérées, de tailles différentes, des vésicules grosses et nombreuses ; Mais présence d'une masse cellulaire homogène qui apparait viable.
4	Mort ou dégénéré	-Arrêt de développement à un stade précoce. -Cellules dégénérées.

## II-6. Conservation des embryons :

La conservation des embryons récoltés sur un animal donneur ou obtenus par fécondation in vitro constitue une étape essentielle du transfert d'embryons. Cette conservation peut se faire de deux manières [43]:

- 1/ Soit par une conservation de courte durée (24 à 48h) par un simple refroidissement.
- 2/ Soit par une conservation à long terme par cryopréservation et stockage dans de l'azote liquide. La cryoconservation permet la survie de 85 à 95% des embryons, et le taux de succès après transfert est équivalent à celui des embryons frais (50 à 60%) [44], ainsi que la création de banques d'embryons au même titre que les banques de sperme utilisées en insémination artificielle. Elle facilite la mise en œuvre sur le terrain de la transplantation embryonnaire et permet un commerce d'embryons à l'échelle internationale, diminuant ainsi considérablement les frais de transport et de quarantaine par rapport à l'exportation des animaux adultes [45].

# *CHAPITRE II*

**VARIABILITE DE LA PRODUCTION  
D'EMBRYONS IN VIVO CHEZ LES OVINS.**

## I. Introduction :

Malgré les améliorations apportées à la technique de production d'embryons in vivo chez les ovins et les caprins, certaines limites de cette technique peuvent être prises en compte: variabilité de la réponse au traitement hormonal, fécondité difficile des femelles fortement superovulées et la régression prématurée des corps jaunes [11]. Elle est liée à des facteurs intrinsèques de l'animal donneur tels que la race, l'âge, le statut reproducteur, aussi bien qu'extrinsèques comme la nature des gonadotrophines, leur pureté et leur programme d'utilisation [9].

Cette grande variabilité dans la réponse des donneuses aux traitements de superovulation rend difficile la planification rigoureuse du nombre de femelles receveuses et continue à être le principal facteur limitant dans les programmes du développement de production et de transfert embryonnaire [7].

## II. Les facteurs intrinsèques :

### II.1. Effet de la race :

La réponse au traitement à FSH peut varier considérablement, en raison de l'hétérogénéité entre les races des brebis [46]. Elle est plus élevée chez les races naturellement prolifiques [47].

En effet l'expression des chaleurs peut varier selon les races. Les brebis de race Santa Inês et Préalpes ayant reçu une dose de 20 mg de FSHp, ont présenté des débuts de chaleurs, 12h et 24h respectivement, après le retrait des éponges vaginales [48] et [49]. Les brebis de race Aragonesa traitées avec 18mg de FSHp ont montré l'œstrus dans un délai de 20h après le retrait des éponges [50].

Selon Baril et al, (1993) [9], La durée de l'œstrus dépend de la race, et dans une même race cette durée peut varier individuellement en fonction de nombreux facteurs comme la méthode de détection, le taux d'ovulation, le régime alimentaire, l'âge, la saison et la présence du mâle. De plus, des différences de réponse ovarienne au traitement de superovulation ont été décrites en fonction de la race [51] et [52]. Pour la brebis Romney Marsh, Armstrong et Evans (1983) [30] constatent une plus faible réponse au traitement FSHp que pour la brebis Mérinos. Suite à l'administration de 16mg de FSHp, la réponse ovulatoire des brebis de race Lacaune est inférieure à celle des brebis prolifiques Romanov x Préalpes [47]. Dans le tableau ci-dessous sont rapportées les réponses ovariennes de certaines races après induction de la superovulation (Cf. Tableau IV).

**Tableau IV:** Réponse ovulatoire de certaines races après un traitement de stimulation ovarienne.

Race	Traitement	Dose	Nombre d'ovulations	Références
Sarda	FSHp	250UI	8.2±2.0	[33]
Santa Inês	FSHp	200UI	10.6±1.0	[48]
Rambouillet	FSHp	200UI	9.4±2.4	[31]
Merino Espagnol	FSHp	200UI	9.5±0.6	[53]
Manchega	FSH	10mg	11.1±1.1	[54]
Corriedale	FSHo	176UI	6.2±1.1	[55]
Targhee×Rombouillet	FSH	24UI	16,2	[56]
Rideau-Arcott	FSH	8,75UI	9,9	[57]
Rasa-Aragonesa	FSHo	176UI	11,4	[58]
Romney Marsh	FSHp	16mg	8.05±3,8	[30]
Mérinos		16mg	16,6±3,7	
Lacaune	FSHp	16mg	12±1,5	[47]
Romanov x Préalpes		16mg	19,5±2,6	

Le facteur race peut aussi influencer le taux de fécondation et le nombre d'embryons récolté. Chez les brebis de la race Lacaune traitées avec 20mg de FSHp, le taux de fécondité chute de 75% à 50% chez les donneuses ayant respectivement moins et plus de 12 ovulations ; et ces résultats, confirmés par d'autres travaux, montrent que le taux d'œufs fécondés est corrélé négativement au taux d'ovulation [7]. Il a été démontré que pour la race Santa Inês, la proportion des ovules fertilisés était inférieure à celle observée chez d'autres races ovines [59]. Ainsi, il a été constaté que suite à l'administration d'une même dose de FSH (176UI), le nombre d'embryons récolté chez les brebis de race Corriedale est considérablement inférieur à celui récolté chez les brebis de la race Rasa- Aragonesa [55] et [58].

## II.2. L'âge :

L'âge de l'animal peut également constituer un facteur limitant compte tenu du fait que le nombre de follicules qui quittent la réserve diminue avec celui-ci [32]. En revanche, les résultats rapportés par Simonetti et al (2007) [55], Giovanni et al (2001) [33], Cordeiro et al (2002) [48], Forcada et al (2000) [58] et Gonzalez et al (2003) [54] ont montré que la réponse ovulatoire est plus importante chez les brebis adultes que celle des plus jeunes.

(Cf. Tableau V).

**Tableau V:** Effet de l'âge des donneuses superovulées sur le rendement de la superovulation.

Race	Age	Traitement	Nombre d'ovulations	Nombre d'embryons	Références
Santa Inês	2 à 4 ans	FSHo	10.6±1.0	5,2±0,8	[48]
Sarda	2 à 6 ans	FSH	8.05±3.8	4,9±1,03	[33]
Corriedale	3 à 6 ans	FSHp	6.2±1.1	1,4±0,4	[55]
-	4 à 7 ans	FSHp	11,2±08	9,1±08	[54]
Rasa-Aragonesa	Plus de 8 ans	FSHo	11,4	5,3	[58]

### II.3. Etat des ovaires:

Chez la brebis, le niveau de réponse ovarienne est lié au nombre et à la taille des follicules présents sur l'ovaire au moment de la stimulation [59].

Selon Saumande, 1995 [60], ce n'est pas le jour du début du traitement pendant le cycle qui influence les résultats mais la population folliculaire et notamment la présence ou l'absence de gros follicules au moment de l'initiation du traitement de superovulation. En effet, le taux d'ovulation induit est positivement corrélé au nombre de follicules de 1-2 mm et négativement corrélé avec le volume des gros follicules ( $\geq 3\text{mm}$ ) [7].

Il est à noter que la présence d'un follicule dominant, par ses sécrétions d'œstradiol et d'inhibine A, est délétère pour le recrutement d'un nombre conséquent d'autres follicules. En effet, le seul moment du cycle ovarien où il n'existe pas de follicule dominant correspond aux 24 heures suivant l'ovulation, d'où l'idée d'une équipe Uruguayenne du « Day 0 Protocol ». Dans ce protocole, la première administration des hormones gonadotropes se fait juste après l'ovulation déterminée par échographie, soit environ 36 heures après le début des chaleurs. Les résultats sont encourageants puisque le rendement d'ovulation est de  $13,6\pm 1,9$  avec le « Day 0 Protocol », contre  $10,4\pm 1,9$  avec un protocole commencé plus tard lors du cycle [61].

### II.4. L'individu :

La réponse ovulatoire moyenne est comprise entre 12 et 16 ovulations, mais il existe une grande variabilité de la réponse individuelle [7]. L'une des difficultés majeures pour développer la transplantation embryonnaire sur le terrain était liée à l'impossibilité de prévoir à l'avance le nombre d'embryons produits par chaque donneuse en raison de la très grande variabilité individuelle de réponse à la superovulation [62].

### III. Les facteurs extrinsèques :

#### III.1. Effet de la dose :

La superovulation peut être affectée par divers facteurs, qui incluent le type et la dose de gonadotrophines utilisées [63]. Les quantités de FSH à administrer pour obtenir la superovulation sont souvent exprimées en mg du standard Armour. Les doses les plus utilisées par les différentes études sont comprises entre 16 et 20 mg [64], sauf qu'elles peuvent s'avérer soit insuffisantes, soit au contraire excessives pour certains génotypes particuliers [7] et [8].

Selon Steve Lucero et Jack Ruttle, 1990 [65], il existe un effet dose sur l'expression des chaleurs et la réponse ovarienne. Des brebis traitées avec 18mg de FSHp ont été détectées en œstrus 24 heures après la fin du traitement progestatif et ont présenté 13,3 de corps jaunes, tandis que, celles qui ont reçu 24mg de FSHp n'ont présenté les chaleurs que 36 heures après la fin du traitement et le nombre de corps jaunes n'a été que de 9,3.

D'après Ryan et *al*, 1991 [66], la baisse du taux de fécondité et des embryons transférables, est associée à l'utilisation de dose très élevée des gonadotrophines.

#### III.2. Répartition des doses et rapport FSH/LH :

Plusieurs études ont montré que pendant le traitement le rapport FSH/LH semble être important dans la réponse de superovulation chez les petits ruminants pour la production d'embryons *in vivo* [67].

Certains travaux ont montré que l'utilisation de FSHp avec des doses décroissantes enrichies en LHp lors des deux dernières injections du traitement permettait d'obtenir une meilleure stimulation ovarienne qu'avec des rapports constants [68] et [69], ceci pouvant s'expliquer par la similitude avec la physiologie endocrinienne durant la phase folliculaire où la sécrétion de FSH est réduite suite à l'augmentation de la concentration en œstradiol et inhibin A [70]. Par ailleurs, selon Murphuy et *al*, 1984 [71], «si le rapport FSH /LH est trop faible par excès de LH, l'ovulation se trouve prématurée et les résultats sont faibles», en revanche, « si le rapport FSH /LH est trop élevé par manque de FSH, l'œstrus est retardé et les résultats sont aussi moins bons » [72]. Aussi, il existe un certain seuil de LH en dessous duquel il ne faut pas descendre sous peine de ne pas obtenir d'ovulation ; en effet, les préparations de FSH hautement purifiées induisent significativement moins d'ovulations que les préparations complémentées en LH [73]; Il a été montré qu'il été possible d'améliorer l'efficacité des traitements chez la brebis et la chèvre en administrant de façon séquentielle FSH en doses décroissantes et LH en doses croissantes [74].

### III.3. Le choix de l'hormone du traitement:

De nombreuses études comparant l'efficacité de la PMSG à celle de la FSH ont été réalisées dans le passé. Dans un premier temps, les résultats obtenus avec la FSH étaient très encourageants mais pas toujours reproductibles. Cette variabilité dans les résultats peut s'expliquer par la diversité des protocoles de superovulation (dose administrée, rythme des injections) et par une grande variabilité du rapport FSH/LH des préparations commerciales [75] et [76].

Il est généralement admis que l'efficacité de la FSH en terme de production d'embryons viables est supérieure à celle de la PMSG, même si la variabilité des réponses est toujours aussi importante [76]. Le rendement d'ovulation est de 16 corps jaunes par donneuse avec la FSHp contre 10 corps jaunes par donneuse pour l'eCG. (Cf tableau VI). Pour BOLAND et al (1991) [77], l'utilisation de la PMSG serait associée à un nombre élevé de follicules anovulatoires du fait de sa longue demi-vie.

**Tableau VI :** Effet du type de traitement de stimulation ovarienne sur la réponse ovarienne et le nombre d'embryons transférables par femelle traitée [78].

Espèce	Traitements	Corps jaunes	Embryons transférables
Ovins	FSHp (constant)	13,2	6,5
	FSHp (décroissant)	18,5	7,5
	PMSG (1200 UI)	9,3	1,9
	PMSG (3000 UI)	10,7	1,1

### III.4. Facteurs nutritionnels :

Diverses études ont décrit l'influence du niveau alimentaire sur la fertilité à l'œstrus induit en fournissant aux animaux une ration insuffisante par rapport aux besoins énergétiques. Il a été constaté que les brebis souffrantes d'une sous alimentation durant le traitement de superovulation pourraient présenter un effet de lutéolyse prématurée des corps jaunes et qui peut aussi être engendré par la sécrétion prématurée de PGF2 [79]. La prise de poids avant la lutte est un facteur d'amélioration des performances de reproduction. En revanche, une étude indique que la prise excessive du concentré réduit la réponse ovulatoire et a une influence négative sur le nombre et la qualité des embryons après superovulation par des changements du nombre de follicules disponibles ou de la sensibilité des follicules à FSH [80].

### III.5. Effet de la répétition des traitements :

La répétabilité des traitements de superovulation est très élevée chez les brebis mais particulièrement faible (13%) chez les vaches [81]. Les premières études qui impliquent des traitements répétés de superovulation ont montré qu'il y avait une réduction progressive dans la proportion des brebis superovulées et une baisse considérable dans la moyenne du taux d'ovulation, surtout entre le premier et le deuxième traitement. [82], [83] et [84].

En général, l'augmentation du rang de collecte a pour effet une baisse significative du nombre d'embryons transférables [85], [87] et [87]. Hupka et al (2000) [88] constatent une augmentation significative du nombre d'ovocytes non fécondés et du nombre d'embryons dégénérés. Par contre, pour Govignon et al (2000) [89], la répétition des collectes n'a pas d'effet sur le nombre d'embryons dégénérés et l'augmentation du nombre d'ovocytes non fécondés n'est significative qu'à partir de la 4<sup>ème</sup> collecte.

L'hypothèse la plus souvent avancée pour expliquer la diminution de la réponse ovarienne associée à la répétition des traitements est celle d'une auto-immunisation contre les hormones de stimulation ovarienne, PMSG et FSHp [90] et [22]. Il n'y a pas de données disponibles concernant l'existence d'anticorps anti-FSHp. Par contre, l'existence d'anticorps anti-PMSG, chez les bovins, a été confirmée par Drion et al (2001) [91]. Cependant, l'administration répétée de FSHo ne provoque pas de diminution de nombre d'ovulations chez les brebis [92].

Selon Brebion et al, (1990) et Forcada et al, (2000) [93] et [58], la répétabilité de la superovulation, varie selon l'espèce considérée. Chez les brebis hyperprolifiques de génotype croisé Boorola × Romanov traitées 6-7 fois à intervalle de 60 jours par 20mg de FSHp, aucune diminution significative de la réponse n'a été observée.

### III.6 La saison :

Il est à noter que la diminution des concentrations endogènes de FSH pendant l'œstrus peut limiter des augmentations du taux d'ovulation en réponse aux gonadotrophines exogènes [94]. Chez les brebis de race Lacaune traitées avec FSHp en période d'œstrus saisonnier, le nombre moyen d'ovulations par femelle est inférieur à celui obtenu pendant la saison de reproduction [47].

Cette différence n'a pas été observée chez des chèvres laitières, bien que la qualité des embryons soit plus élevée dans la saison de reproduction [35].

**III.7. Techniques d'insémination utilisées :**

La technique d'insémination, naturelle ou artificielle, joue un rôle important sur le taux de fécondation des ovocytes et donc sur le rendement d'embryons transférables. La saillie naturelle apporte les meilleurs résultats, avec 75% de taux de fécondation, contre 55 à 60% pour l'insémination artificielle cervicale ou intra-utérine [11]. L'essor de l'IA chez les ovins est consécutif d'une part aux propriétés particulières du sperme chez cette espèce (résistance aux procédés de congélation) et d'autre part à la relative difficulté du cathétérisme du col utérin [95].

Des études ont montré que l'association de la saillie naturelle et l'insémination artificielle peut améliorer le taux de fertilisation comparé à l'insémination artificielle seule [96] et [97].

**III.8. Techniques de récolte utilisées :**

Il existe trois techniques différentes de récolte des embryons chez les caprins et les ovins : trans-cervicale, chirurgicale et laparoscopique [37]. La difficulté de franchissement du cervix impose raisonnablement une approche transpéritoniale [98], donc la récolte ne peut se faire que par laparotomie abdominale (chirurgicale) ou sous contrôle endoscopique (laparoscopie) [6].

Ces deux méthodes de collecte ont été comparées dans différentes études, ainsi le taux de récupération des embryons par laparoscopie atteint 62% contre 85% par technique chirurgicale, mais la formation d'adhérences est bien plus importante lors d'une laparotomie que par laparoscopie [92].

***PARTIE***  
***EXPERIMENTALE***

# ***OBJECTIFS***

Chez les ovins, la superovulation a connu durant ces dernières décennies un développement admirable et une apogée inimaginable .Cependant, la réponse au traitement de superovulation peut être affectée par divers facteurs, qui incluent le type et la dose de gonadotrophines utilisés, et elle peut varier considérablement, en raison de l'hétérogénéité entre les races des brebis.

Dans cette optique, nous avons visé par le biais de notre travail, évaluer dans le cadre de la production d'embryons in vivo, l'effet de la dose de FSHp et de la race (Ouled Djellal , Hamra) sur :

- Le comportement d'œstrus et la réponse ovarienne.
- Le taux de collecte, fécondation et la qualité des embryons.

# *CHAPITRE I*

**EFFETS DE LA DOSE DE FSHP ET DE LA RACE (OULED  
DJELLAL, HAMRA) SUR LE COMPORTEMENT  
D'OESTRUS ET LA REPONSE OVARIENNE.**

**I- LIEU ET PERIODE DE L'EXPERIMENTATION :**

Notre étude expérimentale s'est déroulée au niveau de la station expérimentale de l'université « Saad Dahleb » de Blida durant la période allant du 16 mars 2010 jusqu'au 23 mai 2010.

**II- MATERIEL ET METHODES :****II.1. Matériel :****II.1.1. Animaux :****II.1.1.1. Brebis :**

Quinze (15) brebis donneuses, dont sept (07) de race Ouled Djellal (OD) et huit (08) de race Hamra (H) ont été sélectionnées pour la réalisation de notre travail. Les renseignements relatifs à l'identification des brebis donneuses sont rapportés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau I : Poids, âge et note d'état corporel (NEC) des brebis donneuses.**

Brebis		Race	Age (mois)	Poids (kg)	NEC
Lot 01	B1	OD	30	48	3
	B2	OD	24	37	2.5
	B3	OD	18	40	2.75
	B4	OD	40	37	2.5
	<b>Moyenne ± écart type</b>			<b>28±9.38</b>	<b>40.5±5.19</b>
Lot 02	B5	OD	24	37	2.5
	B6	OD	36	49	3
	B7	OD	12	28	2
	<b>Moyenne ± écart type</b>			<b>24±12</b>	<b>38±10.53</b>
Lot 03	B8	H	12	26	2
	B9	H	48	42	2.75
	B10	H	60	48	3
	B11	H	18	30	2
	<b>Moyenne ± écart type</b>			<b>34.5±23.17</b>	<b>36.5±10.24</b>
Lot 04	B12	H	72	50	3
	B13	H	48	51	3
	B14	H	18	33	2
	B15	H	18	42	2.5
	<b>Moyenne ± écart type</b>			<b>39±26,15</b>	<b>44±8,36</b>

Les brebis donneuses ont été réparties respectivement en quatre lots dont deux (1 et 2) de race OD et deux (3 et 4) de race H :

- **Lot 1** : présente un âge moyen de  $28 \pm 9,38$  mois, un poids moyen de  $40,5 \pm 5,1$  kg et une note d'état corporel moyenne de  $2,68 \pm 0,24$ .
- **Lot 2** : présente un âge moyen de  $24 \pm 12$  mois, un poids moyen de  $38 \pm 10,53$  kg et une note d'état corporel moyenne de  $2,5 \pm 0,7$ .
- **Lot 3** : présente un âge moyen de  $34,5 \pm 23,17$  mois, un poids moyen de  $36,5 \pm 10,24$  kg et une note d'état corporel moyenne de  $2,43 \pm 0,57$ .
- **Lot 4** : présente un âge moyen de  $39 \pm 26,15$  mois, un poids moyen de  $44 \pm 8,36$  kg et une note d'état corporel moyenne de  $2,62 \pm 0,57$ .

### II.1.1.2. Béliers :

Sept béliers ont été utilisés, dont cinq de race OD (D1, D2, D3, D4, D5) et deux de race H (D6, D7). Les renseignements relatifs à leur identification sont rapportés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau II : Race, âge, poids et note d'état corporel (NEC) des béliers.**

Béliers	Race	Age (ans)	Poids (kg)	NEC
D1	OD	7,5	60	3
D2	OD	5,5	74	3.5
D3	OD	4,5	82	3.5
D4	OD	4,5	51	2.5
D5	OD	4,5	62	2.5
<b>Moyenne <math>\pm</math> écart type</b>		<b>5,3<math>\pm</math>1,30</b>	<b>65,8<math>\pm</math>12,21</b>	<b>3<math>\pm</math>0.5</b>
D6	H	8,5	71	3
D7	H	3,5	63	3
<b>Moyenne <math>\pm</math> écart type</b>		<b>6<math>\pm</math>3,53</b>	<b>67<math>\pm</math>5,65</b>	<b>3<math>\pm</math>0</b>

Les béliers de la race OD présentent un âge moyen de  $5,3 \pm 1,30$  ans, un poids moyen de  $65,8 \pm 12,21$  kg et une note d'état corporel moyenne de  $3 \pm 0,5$ . Tandis que, les béliers de la race H présentent un âge moyen de  $6 \pm 3,53$  ans, un poids moyen de  $67 \pm 5,65$  et une note d'état corporel moyenne de  $3 \pm 0$ .

L'ensemble des animaux séjournait dans une bergerie sous un éclairage naturel et ont reçu de l'eau et du foin à volonté complétement avec 500g de concentré/jour/animal. Un déparasitage interne et externe par l'administration de l'Ivomec<sup>ND</sup> et de l'Albendazole<sup>ND</sup> a été réalisé deux mois avant le début de l'expérimentation.

**II.1.2. Appareillages et produits :**

Pour la réalisation de notre expérimentation, des appareils tels que l'échographe, l'endoscope ainsi que d'autres instruments et produits ont été utilisés.

**II.1.2.1. Appareillages:****a. Echographe :**

Nous avons utilisé un échographe de type pie médical 100 LC équipé d'une sonde bi fréquence 6/8 MHZ.

**b. Endoscope :**

Le matériel endoscopique utilisé comporte :

- Une optique à vision directe (0°), diamètre externe 6,5mm (STORS).
- Un générateur de lumière froide à intensité variable (STORS).
- Un câble de fibre optique (STORS).
- Une canule à piston et orifice pour l'insufflation d'air (STORS).
- Une pompe avec filtre et commande de pompe au pied (STORS).
- Un trocart avec canule de 5,5mm recevant la pince à préhension (STORS).
- Un tuyau de connexion entre la pompe et le robinet d'arrivée de l'air, fixé sur le trocart recevant l'endoscope.
- Une pince à préhension atraumatique.

**c. Instruments :**

- Balance Marchal.
- Applicateur d'éponges vaginales.

**d. Matériel de récolte du sperme et d'insémination:**

Le matériel utilisé pour la récolte et le contrôle du sperme est présenté ci-dessous :

- Vagin artificiel.
- Plaque chauffante.
- Lames, lamelles et porte-lames.
- Lame de NEBAUER.
- Pipettes Pasteur.
- Micropipette.
- Microscope optique.
- Bain-marie.
- Etuve.
- Rasoir et lames de rasoir.
- Tubes à essai.

- Pipettes graduées.
- Pistolet d'insémination artificielle.
- Paillettes d'insémination.

### II.1.2.2. Produits :

#### a. Hormones :

- **Eponges vaginales** : imprégnées de 40mg d'acétate de fluorogestone (FGA), ce produit est commercialisé sous le nom de (Chronogest<sup>ND</sup>).
- **FSHp et LHp**: extraits hypophysaires porcins purifiés (hormones produites par l'équipe du Pr BECKERS .FMV Liège Belgique) (Stimufol<sup>ND</sup>).

#### b. Antibiotiques et autres produits :

- Péni-strep<sup>ND</sup> injectable et terramycine<sup>ND</sup> spray.
- Biocide, alcool chirurgical, alcool iodé, Bétadine, savon de Marseille, Eau distillée, Ovixcell, NaCl 0,9 %, alcool polyvinylique.
- Vaseline et gel à échographe.
- Alluspray<sup>ND</sup>.
- Xylazine (Rompun<sup>ND</sup>), Xylocaine (Lidocaine 2%<sup>ND</sup>).

### II.2. Méthodes :

Notre protocole expérimental comporte les étapes suivantes :

1. Echographie.
2. Traitements de synchronisation et de superovulation.
3. Détection des chaleurs.
4. Récolte et conditionnement du sperme.
5. Fécondation (saillie naturelle et insémination artificielle).
6. Endoscopie.

#### II.2.1. Echographie :

Pour la sélection des brebis vides, une échographie transrectale est réalisée en position debout et couchée selon la technique décrite par KHAN (1994).

Pour l'interprétation d'une image échographique nous avons considéré que :

- Les structures anéchogènes, apparaissent noires à l'écran (exemple : les liquides).
- Les structures hyperéchogènes, sont à l'origine d'une réflexion importante des ultrasons qui forment une image claire à l'écran (exemple : les os).
- Les structures hypoéchogènes, apparaissent relativement sombres gris foncé (exemple : les tissus).

## II.2.2. Traitements de synchronisation et de superovulation :

### II.2.2.1. Traitement de synchronisation des chaleurs :

La synchronisation de l'œstrus a été obtenue chez l'ensemble des brebis par la mise en place d'éponges vaginales durant 14 jours.

### II.2.2.2. Traitements de superovulation :

- ☒ Le traitement de superovulation consiste à administrer pour chaque brebis des Lots 1 et 3 une dose totale de 16UA et pour celles des lots 2 et 4 une dose totale de 20UA de FSHp répartie en 6 injections biquotidiennes (12 heures d'intervalle) et décroissante, durant les trois derniers jours du traitement progestagène. (cf. protocole (figure 1)).
- ☒ Le rapport FSH/LH a été modifié par addition de 60 $\mu$ g et 90 $\mu$ g de LHp, lors des deux dernières injections chez l'ensemble des brebis

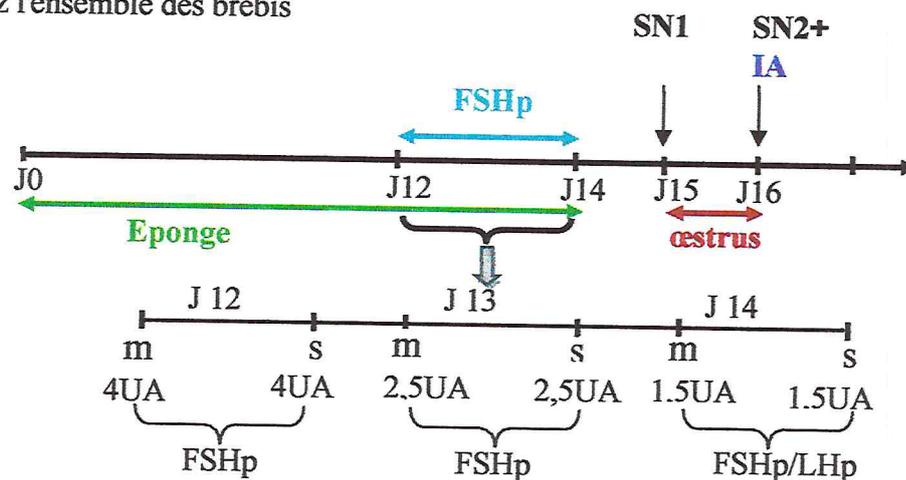
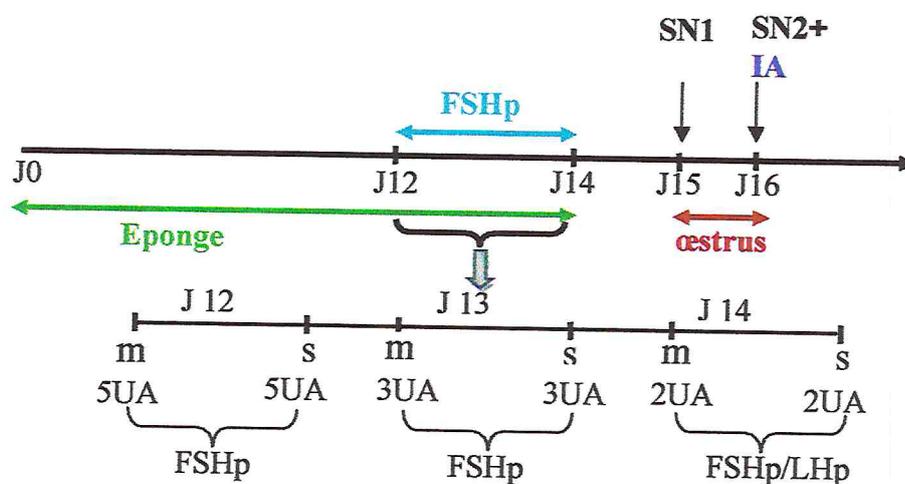


Figure 1 : protocole de synchronisation et de superovulation appliqué chez lots 1 et 3.



(m : matin ; s : soir)

Figure 2 : Protocole de synchronisation et de superovulation appliqué chez les lots 2 et 4.

### II.2.3. Détection d'œstrus :

La détection de l'œstrus, à l'aide de béliers détecteurs munis d'un tablier, toutes les quatre heures, a débuté 12 heures après le retrait des éponges vaginales.

Toute brebis restant immobile au chevauchement était considérée comme étant en chaleur.

### II.2.4. Récolte et conditionnement du sperme:

La récolte de sperme sur les sept (07) béliers entraînés a été réalisée selon la technique de Baril et *al.*, (1993), en suivant les principales étapes suivantes :

- Nettoyage et désinfection de la verge.
- Préparation et lubrification du vagin artificiel.
- Récolte de sperme en présence d'une brebis en chaleur.
- Contrôle qualitatif et quantitatif du sperme (volume, motilité massale et individuelle, concentration).
- Dilution du sperme avec l'Ovixcell.
- Mise en paillettes (0,25ml) de la semence diluée ( $100 \times 10^6$  spz).
- Conservation des paillettes à + 15°C.

### II.2.5. Fécondation :

La fécondation a été obtenue par une double saillie monte en main (la première a été réalisée 12h après le début d'œstrus) à l'aide des béliers reproducteurs à raison d'un mâle pour cinq brebis ; suivie d'une insémination in utero sous contrôle endoscopique avec  $100 \times 10^6$  spermatozoïdes, 52 heures après le retrait de l'éponge vaginale selon la technique décrite par Baril et *al.*, (1993).

### II.2.6. Endoscopie

L'examen endoscopique réalisé juste avant la récolte des embryons selon la méthode décrite par (Baril et *al.*, 1993) , avait comme but la détermination du nombre de corps jaunes. La technique consiste à faire deux incisions de la peau abdominale ventrale 5 à 7cm crânialement à la mamelle et 3 à 4cm latéralement à la ligne blanche, afin de pouvoir insérer deux trocarts:

- Un premier trocart de 7mm était d'abord mis en place pour pouvoir insérer l'optique de l'endoscope et d'insuffler de l'air stérile dans l'abdomen permettant ainsi une meilleure observation de l'appareil génital.
- Un deuxième trocart de 5mm était mis en place pour y insérer une pince atraumatique. Cette dernière permet la manipulation de la matrice et des ovaires.

Une fois l'ovaire (ovaire gauche ou droit) a été visualisé, un dénombrement de corps jaunes est réalisé.

**III. ANALYSE DES DONNEES :**

Les résultats sont exprimés par la moyenne  $\pm$  écart type. Pour la comparaison des moyennes, nous avons utilisé le test t de students (Logiciel SYSTAT, version 10).

**IV.RESULTATS :****IV.1.COMPORTEMENT D'OESTRUS CHEZ LES BREBIS SUPEROVULEES:**

Les résultats de la détection des signes d'œstrus chez les brebis des lots 1, 2, 3 et 4 en fonction de la dose de FSHp et de la race, sont présentés ci-dessous :

**1- Effet de la dose utilisée :****1.1. La race Ouled Djellal :**

Le comportement d'œstrus a été détecté chez 06 brebis (03 brebis du lot 1 et 03 brebis du lot 2) soit un taux de venue en œstrus de 85.71%.

Le tableau ci-dessous rapporte les résultats de la détection d'œstrus :

**Tableau III : Début, fin et durée d'œstrus chez les brebis de race OD après induction de la superovulation avec une dose de 16 et 20 UA.**

**IRE : Intervalle retrait d'éponge vaginale (heures).**

Lots	Brebis	Dose de FSHp (UA)	IRE- début d'œstrus	IRE- fin d'œstrus	Durée d'œstrus
Lot 1	B1	16	28	68	40
	B2	16	28	56	28
	B3	16	20	60	40
	B4	16	-	-	-
	<b>Moyenne <math>\pm</math> écart type</b>			<b>25.33<math>\pm</math>4.61</b>	<b>61.33<math>\pm</math>6.11</b>
Lot 2	B5	20	16	60	44
	B6	20	20	60	40
	B7	20	20	56	38
	<b>Moyenne <math>\pm</math> écart type</b>			<b>18.66<math>\pm</math>2.30</b>	<b>58.66<math>\pm</math>2.30</b>
<b>Moyenne <math>\pm</math> écart type</b>			<b>22<math>\pm</math>4.89</b>	<b>60<math>\pm</math>4.38</b>	<b>38.33<math>\pm</math>5.42</b>

**NB :** la brebis B4 du lot 1 a perdu l'éponge vaginale et n'a pas présenté des signes de chaleur.

Le traitement statistique des résultats a montré que :

- ☒ le début d'œstrus tend à être significativement précoce chez les brebis du lot 2 par rapport à celui du lot 1 ( $18.66 \pm 2,30$  vs  $25.33 \pm 4,61$  ;  $p = 0.08$ ), cependant aucune différence significative n'a été observée entre les deux lots concernant la durée d'œstrus ( $36 \pm 6,92$  vs  $40,66 \pm 3,05$ ,  $p \geq 0.05$ ).

## 1.2. La race Hamra :

Le comportement d'œstrus a été détecté chez la totalité des brebis de race Hamra soit un taux de venue en œstrus de 100%. Le tableau ci-dessous rapporte les résultats de la détection d'œstrus :

**Tableau IV : Début, fin et durée d'œstrus chez les brebis de race Hamra après induction de la superovulation avec une dose de 16 et 20 UA.**

Lots	Brebis	Dose de FSHp (UA)	IRE- début d'œstrus	IRE- fin d'œstrus	Durée d'œstrus
Lot 3	B8	16	24	72	48
	B9	16	20	72	52
	B10	16	24	56	32
	B11	16	20	56	36
	<b>Moyenne ± écart type</b>			<b>22±2,30</b>	<b>64±9,23</b>
Lot 4	B12	20	24	72	48
	B13	20	20	72	52
	B14	20	20	64	44
	B15	20	20	56	36
	<b>Moyenne ± écart type</b>			<b>21±2</b>	<b>66±7,65</b>
<b>Moyenne ± écart type</b>			<b>21,5±2,07</b>	<b>65±7,92</b>	<b>43,5±7,83</b>

Nos résultats montrent que le début et la durée d'œstrus ont été semblables chez les lots 3 et 4 (début œstrus:  $22 \pm 2,30$  vs  $21 \pm 2$  ; durée d'œstrus :  $42 \pm 9,52$  vs  $45 \pm 6,83$ ).

- ☒ Indépendamment de la race : le début d'œstrus a été significativement précoce chez les brebis traitées avec une dose de 20 UA par rapport à celles traitées avec 16 UA ( $23.42 \pm 3.59$  vs  $20 \pm 2,30$  ;  $p = 0.05$ ).

## 2- Effet de la race :

### 2.1. Cas de 16 UA :

Les résultats de la détection des signes d'œstrus, chez les deux races, après induction de la superovulation avec dose de FSHp de 16 UA, sont rapportés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau V : Début, fin et durée d'œstrus après induction de la superovulation avec 16 UA de FSHp chez les brebis OD et H.**

Lots	Brebis	Race	IRE- début d'œstrus	IRE- fin d'œstrus	Durée d'œstrus
Lot 1	B1	OD	28	68	40
	B2	OD	28	56	28
	B3	OD	20	60	40
	B4	OD	-	-	-
	<b>Moyenne ± écart type</b>			<b>25.33±4,61</b>	<b>61,33±6,11</b>
Lot 3	B8	H	24	72	48
	B9	H	20	72	52
	B10	H	24	56	32
	B11	H	20	56	36
	<b>Moyenne ± écart type</b>			<b>22±2,30</b>	<b>64±9,23</b>
<b>Moyenne ± écart type</b>			<b>23.42±3.59</b>	<b>62.85±7.55</b>	<b>39.42±8.46</b>

Nous n'avons pas noté une différence significative entre les deux races concernant le début et la durée d'œstrus (début d'œstrus : OD : 25.33±4,61 vs 22 ±2,30 : H ; durée d'œstrus : OD : 36±6,92 vs 42±9,52 : H)

## 2.2. Cas de 20 UA :

Les résultats de la détection des signes d'œstrus, chez les deux races, après induction de la superovulation avec dose de 20 UA de FSHp, sont rapportés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau VI : Début, fin et durée d'œstrus après induction de la superovulation avec 20 UA de FSHp chez les brebis OD et H.**

Lots	Brebis	RACE	IRE- début d'œstrus	IRE- fin d'œstrus	Durée d'œstrus
Lot 2	B5	OD	16	60	44
	B6	OD	20	60	40
	B7	OD	20	56	38
	<b>Moyenne ± écart type</b>			<b>18.66±2,30</b>	<b>58,66±2,30</b>
Lot 4	B12	H	24	72	48
	B13	H	20	72	52
	B14	H	20	64	44
	B15	H	20	56	36
	<b>Moyenne ± écart type</b>			<b>21±2</b>	<b>66±7,65</b>
<b>Moyenne ± écart type</b>			<b>20±2,30</b>	<b>62.85±6,81</b>	<b>43,14±5,63</b>

Nous n'avons pas noté une différence significative entre les deux races concernant le début et la durée d'œstrus après induction de la superovulation avec 20 UA de FSHp (début d'œstrus : OD :  $18.66 \pm 2.30$  vs  $21 \pm 2$  :H ; durée d'œstrus: OD:  $40.66 \pm 3.05$  vs  $45 \pm 6.83$  :H). En fin, nos résultats montrent que :

- Indépendamment de la dose de FSHp utilisée aucune différence n'a été observée entre les deux races concernant le début et la durée d'œstrus (début d'œstrus / OD :  $22 \pm 4.89$  vs.  $21,5 \pm 2,07$  : H ; durée d'œstrus / OD :  $38.33 \pm 5,42$  vs.  $43,5 \pm 7,83$ : H).

#### IV.2.REPONSE OVARIENNE APRES TRAITEMENT DE SUPEROVULATION :

Les résultats du dénombrement des corps jaunes chez les brebis des lots 1, 2, 3 et 4 en fonction de la dose de FSHp et de la race, sont présentés ci-dessous :

##### 1- Effet de la dose utilisée :

##### 1.1. La race Ouled Djellal :

Réponses ovulatoires après traitement de superovulation chez les brebis de la race OD sont rapportées dans le tableau suivant :

**Tableau VII : Réponse ovulatoire après traitement de superovulation chez les brebis de la race OD.**

Brebis	Dose de FSHp (UA)	Nombre de corps jaunes		Total	
		OVG	OVD		
Lot 1	B1	16	00	03	
	B2	16	02	01	03
	B3	16	02	03	05
	Moyenne $\pm$ écart type		1.33 $\pm$ 1.15	2.33 $\pm$ 1.15	3.66 $\pm$ 1.15
Lot 2	B5	20	04	09	13
	B6	20	03	06	09
	B7	20	02	01	03
	Moyenne $\pm$ écart type		3.00 $\pm$ 1.00	5.33 $\pm$ 4.04	8.33 $\pm$ 5.03
Moyenne $\pm$ écart type		2.16 $\pm$ 1.32	3.83 $\pm$ 3.12	6 $\pm$ 4.14	

Nos résultats montrent que la réponse ovarienne tend à être significativement plus élevée chez le lot de brebis traitées avec 20 UA par rapport à celle des brebis traitées avec 16 UA ( $8.33 \pm 5.03$  vs.  $3.66 \pm 1.15$ ,  $p = 0.1$ ).

### 1.2. La race Hamra :

Réponses ovulatoires après traitement de superovulation chez les brebis de race H sont rapportées dans le tableau suivant :

**Tableau VIII : Réponse ovulatoire après traitement de superovulation chez les brebis de la race H.**

Brebis		Dose de FSHp (UA)	Nombre de corps jaunes		Total
			OVG	OVD	
Lot3	B8	16	01	02	03
	B9	16	08	05	13
	B10	16	04	04	08
	B11	16	08	07	15
	<b>Moyenne ± écart type</b>			<b>5.25±3.40</b>	<b>4.5±2.08</b>
Lot4	B12	20	05	02	07
	B13	20	05	10	15
	B14	20	01	01	02
	B15	20	01	03	04
	<b>Moyenne ± écart type</b>			<b>3±2.30</b>	<b>4±4.08</b>
<b>Moyenne ± écart type</b>			<b>4.12±2.94</b>	<b>4.25±3.01</b>	<b>8.37 ±5.34</b>

Nos résultats ont révélé une différence statistiquement non significative entre la réponse ovarienne du lot 3 et celle du lot 4 ( $9.75 \pm 5.37$  vs.  $7 \pm 5.71$ ,  $p = 0.1$ ).

- ☒ Nous avons noté que indépendamment de la race, aucune différence n'a été observée entre les doses 20UA et 16UA concernant la réponse ovarienne ( $7.57 \pm 5.02$  vs.  $7.14 \pm 5.07$ ;  $p \geq 0.05$ ).

## 2-Effet de la race :

## 2.1. Cas de 16 UA :

Les résultats de la réponse ovarienne après induction de la superovulation avec 16 UA de FSHp chez les brebis OD et H sont rapportés dans le tableau suivant :

**Tableau IX : Réponse ovulatoire après induction de la superovulation avec 16 UA de FSH-P chez les brebis Ouled djellal et Hamra.**

Brebis		RACE	Nombre de corps jaunes		Total
			OVG	OVD	
Lot 1	B1	OD	00	03	03
	B2	OD	02	01	03
	B3	OD	02	03	05
	Moyenne ± écart type		1.33±1.15	2.33±1.15	3.66 ±1.15
Lot 3	B8	H	01	02	03
	B9	H	08	05	13
	B10	H	04	04	08
	B11	H	08	07	15
	Moyenne ± écart type		5.25±3.40	4.5±2.08	9.75±5.37
Moyenne ± écart type			3.57±3.25	3.57±1.98	7.14±5.07

La réponse ovarienne tend à être significativement plus élevée chez les brebis de race H par rapport à celle de la race OD après induction de la superovulation avec 16 UA (9.75±5.37 vs 3.66 ±1.15, p=0.1).

## 2.2. Cas de 20 UA :

Les résultats de la réponse ovarienne après induction de la superovulation avec 20 UA de FSHp chez les brebis OD et H dans le tableau suivant :

**Tableau X : Réponse ovulatoire après induction de la superovulation avec 20 UA de FSHp chez les brebis OD et H.**

Brebis	Race	Nombre de corps jaunes		Total	
		OVG	OVD		
Lot 2	B5	OD	04	09	13
	B6	OD	03	06	09
	B7	OD	02	01	03
	<b>Moyenne ± écart type</b>		<b>3±1</b>	<b>5.33±4.04</b>	<b>8.33 ±5.03</b>
Lot4	B12	H	05	02	07
	B13	H	05	10	15
	B14	H	01	01	02
	B15	H	01	03	04
	<b>Moyenne ± écart type</b>		<b>3±2.30</b>	<b>4±4.08</b>	<b>7±5.71</b>
<b>Moyenne ± écart type</b>		<b>3±1.73</b>	<b>4.57±3.77</b>	<b>7.57±5.02</b>	

Nos résultats ont révélé que la réponse ovarienne a été comparable chez les deux races (réponse ovulatoire: OD/ 8.33 ±5.03 vs 7±5.71 : H).

- ☒ Nous avons noté que indépendamment de la dose de FSHp utilisée, la réponse ovarienne a été légèrement plus élevée (statistiquement non significative) chez les brebis de race H (réponse ovarienne / OD : 6±4.14 vs. 8.37 ±5.34: H,  $p \geq 0.05$ ).

# *CHAPITRE II*

**EFFETS DE LA DOSE DE FSHP ET DE LA RACE (OULED  
DJELLAL, HAMRA) SUR LE TAUX DE COLLECTE,  
FECONDATION ET LA QUALITE DES EMBRYONS.**

Cette partie de l'expérimentation comporte les opérations de récolte et conditionnement des embryons, elles ont été réalisées le 22<sup>ème</sup> jour après la mise en place des éponges vaginales, c'est-à-dire le 7<sup>ème</sup> jour après la saillie naturelle.

**I-MATERIEL ET METHODES :**

**I-A- Matériel:**

**I-A-1. Animaux :**

Les brebis utilisées sont les mêmes décrites dans le chapitre I (15 brebis donneuses dont 06 de race Ouled Djellal et 08 de race Hamra).

**I-A-2. Instruments et produits :**

Les instruments et les produits utilisés sont les suivants :

- ❖ Sonde cannelée.
- ❖ Pinces à champ.
- ❖ Bain marie.
- ❖ Tubes gradués (50ml).
- ❖ Champs de tissu.
- ❖ Flacons de récolte stériles.
- ❖ Rasoir et lames de rasoir.
- ❖ Pinces Bulldogs.
- ❖ Ciseaux et Forceps.
- ❖ Bistouri et lames.
- ❖ Seringues de 50ml.
- ❖ Porte-aiguille et aiguilles de suture.
- ❖ Fil de suture non résorbable n°6, fil de suture résorbable " Vicryl décimale n°2 et 5 ".
- ❖ Sonde métallique à trois orifices.
- ❖ PBS.
- ❖ PGF2α (Estrumate<sup>ND</sup>).
- ❖ Alcool iodé.
- ❖ Alcool chirurgical.
- ❖ Alluspray<sup>ND</sup>.
- ❖ Pénicilline/streptomycine injectable.
- ❖ Anesthésique local (Lidocaine<sup>ND</sup>) et général (Rompun<sup>ND</sup>).
- ❖ Clamps vasculaires.
- ❖ Boîtes de pétrie quadrillées.

- ❖ Petites boites de pétrie rondes.
- ❖ Une pipette en verre montée sur une seringue à insuline.
- ❖ Loupe binoculaire (Nikon) et microscope inversé (Hund).

**I.B. Méthodes :**

**I-B-1. Préparation des animaux :**

La préparation a commencé la veille du jour de récolte, elle est commune à tous les animaux et consiste à l'isolement et la mise en diète complète des brebis.

Pour faciliter le nettoyage et le rasage du site opératoire, la brebis est installée en position dorsale sur une table mobile. La tranquillisation des brebis par la xylazine a été effectuée en IM avec une dose de 0.1mg/kg.

**I-B-2. Récolte des embryons :**

Elle est réalisée par voie chirurgicale, sept jours après la première saillie, par lavage des cornes utérines à l'aide d'une solution de PBS à 37°C. La récolte est effectuée seulement en cas d'existence de plusieurs corps jaunes actifs et d'absence des adhérences.

**a) Préparation de la brebis :**

La brebis est anesthésiée avec de la kétamine en IV avec une dose de 5.5mg/kg, la contention de la brebis est faite sur une table à plan inclinable à ce que le train postérieur en haut et la tête en bas, ce qui facilite l'accessibilité et le maniement du tractus génital. La zone opératoire, s'étendant de la base de la mamelle à l'ombilic, est désinfectée deux fois avec de l'alcool chirurgical et iodé. Ensuite le champ de tissu est fixé aux membres postérieurs par deux pinces à champ.

**b) Technique de récolte :**

Après confirmation de l'absence des adhésions par endoscopie, une laparotomie sur la ligne blanche est réalisée, les cornes utérines sont extériorisées par un forceps et les organites ovariens sont dénombrés. A l'aide d'un petit ciseau pointu, la corne utérine est ponctionnée au niveau de la jonction utéro-tubaire et la sonde métallique munie d'un cathéter de collecte est mise en place. Puis, 40ml de PBS à 37°C sont injectés à la base de la corne utérine (au niveau de la bifurcation), et le liquide est alors récupéré par la voie de retour dans un flacon en plastique stérile. Cette opération doit être effectuée lentement pour éviter toute perte de liquide.

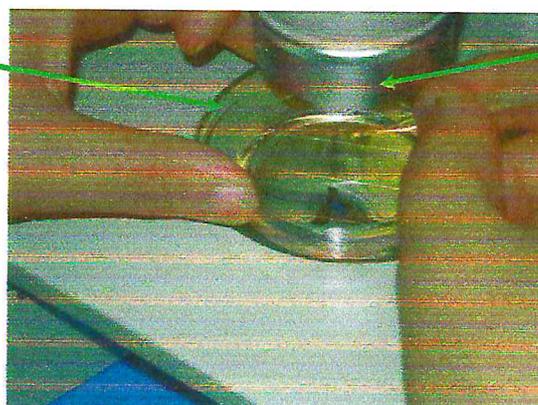
Une fois que tout le matériel de collecte a été retiré, une suture de la paroi abdominale est effectuée par des points en X avec le Vicryl® décimale n°5, enfin la peau est suturée par des points simples avec du fil non résorbable n°6.

### I-B-3. Tri et sélection des embryons :

#### a) Recherche des embryons :

Dès la fin de la récolte, le flacon est mis à décanter sur une surface stable, le surnageant est alors éliminé par siphonage, le reste du liquide est versé dans une boîte de Pétrie quadrillée pour procéder à la recherche des embryons, celle-ci est réalisée à l'aide d'une loupe binoculaire (Cf. photo 3), les embryons sont recherchés au grossissement ( $\times 40$ ), puis récupérés grâce à une micropipette, pour être ensuite déposés dans une boîte de Pétrie ronde.

Boîte de pétrie



Loupe binoculaire

**Photo 1 : Recherche des embryons sous une loupe binoculaire.**

#### b) Examen et conditionnement des embryons :

La qualité des embryons ainsi que leur stade de développement sont déterminés à l'aide d'un microscope inversé (grossissement  $\times 60$ ), selon la nomenclature de l'IETS (1998). Dans un premier temps, les embryons à congeler (classe I et II) sont identifiés et lavés dans un milieu de conservation (milieu de conservation F1). Puis ces embryons sont conditionnés dans une paillette de 0.25ml (deux embryons par paillette (figure5)) dans un milieu de congélation à base d'éthylène glycol (IMV ZA 468 à 1.5 M d'éthylène glycol). La congélation a été réalisée à l'aide d'un biocongélateur programmable selon la méthode classique lente.

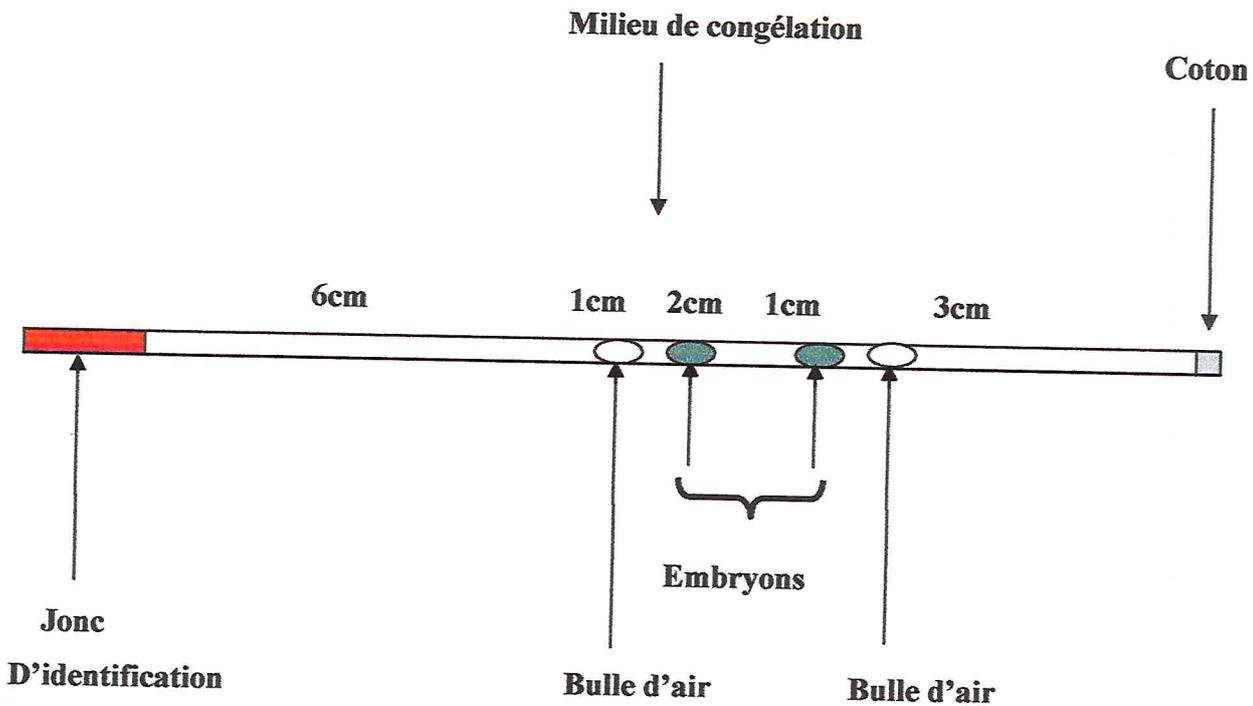
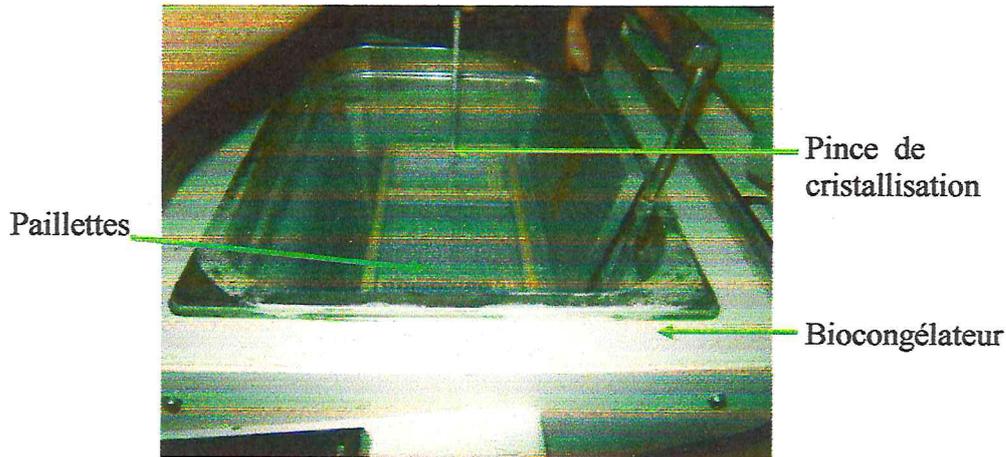


Figure 3 : Schéma de montage des embryons en paille pour une congélation.

Après un temps d'équilibration de l'embryon en paille dans la solution de cryoprotecteur, la méthode consiste à :

- Mettre de l'azote dans le coffret du biocongélateur.
- Mise en marche du biocongélateur, commutateur en AS.
- Transférer la paille dans le coffret du biocongélateur et le refroidissement de l'embryon se fait lentement à raison de diminuer 1 à 3°C par minute jusqu'à la température de -7°C.
- Maintenir l'embryon à -7°C pendant 5 à 7 minutes pour stabiliser la paille (l'embryon).
- Après avoir retiré la barre du seeding immergée dans l'azote liquide, procéder au seeding (cristallisation : Cf. photo 4) en appliquant la barre du seeding sur les pailles des 2 extrémités.
- Passer le commutateur en PS, le refroidissement de l'embryon reprend pour une température de -30°C à raison de diminuer 0.3 à 0.6°C par minute.
- A -30°C, la paille est plongée dans la cuve d'azote liquide à -196°C

Les embryons congelés sont transférés dans un container d'azote liquide.



**Photo 2 : Congélation des embryons: opération de seeding.**

#### **I.B.4. Soins post-opératoires :**

Quand les étapes de la récolte sont achevées, les brebis ont été soumises à une antibiothérapie, quotidienne, à base de pénicilline-streptomycine en injection IM pendant les 3 jours qui suivent l'intervention dans le but d'éviter les surinfections.

Les brebis donneuses ont reçu deux doses de PGF2 à raison de 0,01mg/kg, le jour et le lendemain de l'intervention pour éviter toute gestation éventuelle par les embryons échappés à la récolte. Des visites quotidiennes ont été faites pour s'assurer de l'état de santé des brebis et le bon déroulement de la cicatrisation des plaies et cela jusqu'à l'exérèse définitive des fils de suture non résorbables après dix jours.

#### **II. ANALYSES STATISTIQUES :**

Les résultats sont exprimés par la moyenne  $\pm$  l'écart type. Pour la comparaison des moyennes, nous avons utilisé le test t de student et le Khi 2 (Logiciel SYSTAT, version 10).

**III - RESULTATS :****III -1. Résultat de la récolte des embryons :**

L'examen microscopique des liquides de récolte, pour chaque brebis, a révélé les résultats suivants :

**III.1.A. Nombre de structures récoltées:**

Les résultats de la récolte sont présentés dans les tableaux suivants :

**Tableau XI : Nombre de structures récoltées chez les brebis du lot 1 ,2 ,3 et 4.**

	Brebis	Race	Nombre de structures Récoltées		Total
			CD	CG	
Lot 1	B1	OD	01	01	02
	B2	OD	01	00	01
	B3	OD	02	01	03
	<b>Moyenne ± écart type</b>		1,33±0,57	0,66±0,57	2±1
Lot 2	B5	OD	03	07	10
	B6	OD	03	03	06
	B7	OD	01	01	02
	<b>Moyenne ± écart type</b>		2,33±1,15	3,66±3,05	6±4
<b>Moyenne ± écart type</b>			1.83±0.98	2.16±2.56	4±3.40
Lot 3	B8	H	01	00	01
	B9	H	05	04	09
	B10	H	02	03	05
	B11	H	05	06	11
	<b>Moyenne ± écart type</b>		3,25±2,06	3,25±2,5	6,5±4,43
Lot 4	B12	H	01	02	03
	B13	H	04	03	07
	B14	H	01	00	01
	B15	H	02	00	02
	<b>Moyenne ± écart type</b>		2±1,41	1,25±1,5	3,25±2,63
<b>Moyenne ± écart type</b>			2.62±1.76	2.25±2.18	4.87±3.79

## III.1.B. Taux de récolte :

Les résultats relatifs aux taux de récolte des embryons sont rapportés dans le tableau suivant:

Tableau XII : Taux de récolte des embryons chez les brebis du lot 1, 2, 3 et 4.

Brebis	Races	Nombre de CJ	Nombre de structures récoltées	Taux de récolte (%)	
Lot 1	B1	OD	03	02	66,66
	B2	OD	03	01	33.33
	B3	OD	05	03	60
	<b>Taux moyen</b>				54.54
Lot 2	B5	OD	13	10	76.92
	B6	OD	09	06	66.66
	B7	OD	03	02	66.66
	<b>Taux moyen</b>				72
<b>Taux moyen</b>				66.66	
Lot 3	B8	H	03	01	33.33
	B9	H	13	09	69.23
	B10	H	08	05	62.50
	B11	H	15	11	73.33
	<b>Taux moyen</b>				66.66
Lot 4	B12	H	07	03	42.85
	B13	H	15	07	46.66
	B14	H	02	01	50.00
	B15	H	04	02	50.00
	<b>Taux moyen</b>				46.42
<b>Taux moyen</b>				58.20	

Nos résultats montrent que le taux de récolte chez les brebis du:

- Lot 1 est de 54.54 %
- Lot 2 est de 72 %
- Lot 3 est de 66.66 %
- Lot 4 est de 46.42

## IV. Classification des embryons :

## IV.1. Qualité des structures récoltées :

Les résultats de la classification des structures récoltées sont rapportés dans le tableau ci-dessous :

Tableau XIII : Qualité des structures récoltées. Embryon dégénéré (D), œuf non fécondé (NF).

Brebis		Race	Embryons				
			Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4	
						D	NF
Lot 1	B1	OD	01	01	00	00	00
	B2	OD	00	01	00	00	00
	B3	OD	02	00	00	01	00
<b>Total</b>			03	02	00	01	
<b>Taux moyen (%)</b>			50	33.33	00	16.67	
Lot 2	B5	OD	05	03	01	01	00
	B6	OD	03	02	00	01	00
	B7	OD	01	00	00	00	01
<b>Total</b>			09	05	01	03	
<b>Taux moyen (%)</b>			50	27.78	5.55	16.67	
Lot 3	B8	H	01	00	00	00	00
	B9	H	04	02	02	00	01
	B10	H	02	02	00	01	00
	B11	H	06	02	02	01	00
<b>Total</b>			13	06	04	03	
<b>Taux moyen (%)</b>			50	23.08	15.38	11.54	
	B12	H	02	01	00	00	00
	B13	H	04	02	00	01	00
	B14	H	01	00	00	00	00
	B15	H	01	00	01	00	00
<b>Total</b>			08	03	01	01	
<b>Taux moyen (%)</b>			61.53	23.07	7.7	7.7	

Les résultats du tableau ci-dessus montrent que pour le :

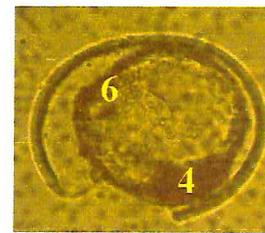
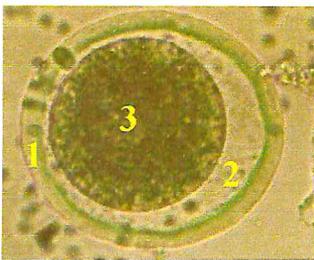
Lot 1: le taux des embryons de classe 1, 2 et 4 est respectivement de 50%, 33.33%, 16.67%.

Lot 2: le taux des embryons de classe 1, 2,3 et 4 est respectivement de 50%, 27.78%, 5.55%, 16.67%.

Lot 3: le taux des embryons de classe 1, 2,3, et 4 est respectivement de 50%, 23.08%, 15.38 %, 11.54 %.

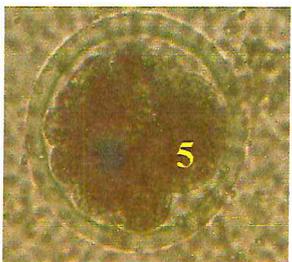
Lot 4 : le taux des embryons de classe 1, 2,3, et 4 est respectivement de 61.53%, 23.07 %, 7.7%, 7.7%.

Les photos ci-dessous représentent des embryons de différentes classes :

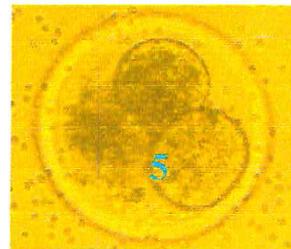


**Photo 3 : Ovocyte non fécondé de classe 4.**

**Photo 4 : Blastocyste en expansion.**

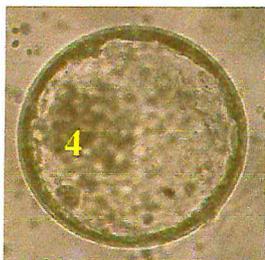


-a-



-b-

**Photo 5 (a et b): Embryons dégénérés de classe 4.**



-c-



-d-



-e-

**Photo 6 (c, d et e): Blastocystes de classe 1.**

(1) Zone pellucide ; (2) Espace périvitellin; (3) chromatine condensé;(4) Bouton embryonnaire. (5) Blastomères, (6) Trophoblaste, (7) Blastocœles.

#### IV.2. Détermination du taux de fécondité :

Les résultats du taux de fécondité sont rapportés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau XIV : Taux de fécondité.**

Lots	Structures récoltées		Taux de fécondité (%)
	Embryons	Ovocytes	
1	06	00	100
2	17	01	94.44
3	25	01	96.15
4	13	00	100
<b>Total</b>	61	02	96.82

Nos résultats montrent que le taux de fécondité est de :

- ❖ 100 % pour le lot 1 et 4.
- ❖ 94.44 % pour le lot 2.
- ❖ 96.15 % pour le lot 3.
- ❖ 96.82 % pour l'ensemble des brebis traitées.

#### IV.3. Détermination du nombre moyen des embryons transférables:

Le tableau ci-dessous présente le taux des embryons transférables.

**Tableau XV : Nombre moyen des embryons transférables.**

Lots	Embryons Transférables	
	Nombre	Moyenne ± écart type
1	05	01.66±0.57
2	15	05±04
<b>Moyenne ± écart type</b>		03.33±3.14
3	23	05.75±4
4	12	03±2.16
<b>Moyenne± écart type</b>		04.37± 3.33

Nous avons constaté que le nombre moyen des embryons transférables pour le lot 1, 2,3et 4 est respectivement de :

- $01.66 \pm 0.57$  soit un taux de 83.33 %.
- $05 \pm 04$  soit un taux de 83.33 %.
- $05.75 \pm 4$  soit un taux de 88.46 %.
- $03 \pm 2.16$  soit un taux de 92.30 %.

#### IV.4. Effet de la dose utilisée sur le nombre moyen de structures récoltées, de fécondité et des embryons transférables :

Le traitement statistique des données a révélé que :

##### 1.1. Chez la race Ouled Djellal :

- ☒ Le nombre moyen des structures récoltées tend être significativement plus élevé chez le lot 2 par rapport a celui du lot 1 ( $6 \pm 4$  vs.  $2 \pm 1$ ,  $p=0.1$ ).
- ☒ Aucune différence significative n'a été observée entre les deux lots concernant le taux de fécondité (100 %vs. 94.44%).
- ☒ Quoique le nombre moyen des embryons transférables soit plus élevé chez le lot 2 néanmoins cette différence n'a pas été statistiquement significative ( $05 \pm 4$  vs.  $1.66 \pm 0.57$ ).

##### 1.2. Chez la race Hamra :

- ☒ Aucune différence significative n'a été observée entre le lot 3 et le lot 4 concernant le nombre moyen des structures récoltées ( $6.50 \pm 4.43$  vs.  $3.25 \pm 2.63$ ), embryons transférables ( $05.75 \pm 4$  vs  $03 \pm 2.16$ ) et le taux de fécondité (96.15 % vs. 100 %).

#### IV.5. Effet de la race sur le nombre de structures récoltées, de fécondité et des embryons transférables :

Le traitement statistique des données a révélé que :

##### 2.1. Cas de 16 UA :

- ☒ Le nombre moyen des structures récoltées et des embryons transférables tend être significativement plus élevé chez la race Hamra par rapport a celui de la race Ouled Djellal (structures récoltées :  $6.5 \pm 4.43$  vs.  $2 \pm 1$ ,  $p=0.1$ ); (embryons transférables :  $5.75 \pm 4$  vs.  $1.66 \pm 0.57$ ,  $p=0.1$ ). Cependant aucune différence significative n'a été observée entre les deux races en ce qui concerne le taux de fécondité.

##### 2.2. Cas de 20 UA :

- ☒ Aucune différence significative n'a été observée entre les deux races lors d'utilisation de 20 UA.

---

# ***DISCUSSION***

## I – EFFET DE LA DOSE DE FSHp ET DE LA RACE SUR LE COMPORTEMENT D'ŒSTRUS ET LA REPOSE OVARIENNE.

### I.1. Comportement d'œstrus :

Nos résultats ont révélé que, le taux de venue en œstrus est de 85.71 % et 100 % chez les brebis de race OD et H, respectivement. En effet, les résultats obtenus sont compris dans la fourchette décrite par Brébion et Baril (1993) [9] qui rapportent, que plus de 85% des brebis de race Lacaune viennent en œstrus après l'induction de la superovulation avec des doses de 16 et 20 mg de FSHp.

Le début d'œstrus a été en moyenne de  $22 \pm 4.89$  et  $21,5 \pm 2,07$  chez la race OD et H respectivement. Néanmoins, chez la race OD, le début d'œstrus a été précoce chez les brebis traitées avec 20 UA par rapport à celles traitées avec 16 UA (lot 2 :  $18.66 \pm 2.30$  vs lot 1 :  $25.33 \pm 4.61$ ). Et aucune différence n'a été observée entre les deux de lots de race H, concernant le début d'œstrus (lot 3 :  $22 \pm 2.30$  vs lot 4 :  $25.33 \pm 4.61$ ).

Les mêmes constatations ont été signalées par Ramon-Ugalde et al (2008) [52], qui rapportent que suite à l'utilisation d'une dose de 18 mg de FSHp chez les Brebis de race Aragonesa, le début d'œstrus survenait dans les 20 heures qui suivent le retrait du dispositif intravaginal. Aussi, nos résultats sont semblables à ceux obtenus par Torrès et Sevellec (1987) [43], Chagase Silva et al (2003) [101] qui ont constaté un début d'œstrus à 24 h et  $25,3 \pm 0,5$  h après l'utilisation d'une dose de 16 mg de FSHp chez des brebis de race Préalpes et Saloia respectivement. Aussi, selon José et al. (2008) [102], l'apparition des chaleurs, chez les brebis Pelibuey, a été observée en moyenne 24h après le retrait de l'éponge vaginale, lors d'utilisation d'une dose de 20mg de FSHp.

Il est à noter que, la variabilité intrinsèque observée dans l'apparition des chaleurs entre individus est l'une des causes principales affectant le succès des biotechnologies d'embryons chez les moutons [103] et [104]. Une telle variabilité peut être augmentée par des facteurs extrinsèques comme l'origine de l'hormone (FSHp ou FSHo), le protocole d'administration des hormones, la race utilisée, la gestion des animaux et même le caractère saisonnier de la race [72].

## I.2 Réponse ovarienne :

Dans la présente étude, nous avons constaté un effet dose sur la réponse ovarienne. Le nombre moyen de corps jaunes obtenu chez l'ensemble des brebis de race OD est de  $6 \pm 4.14$ , néanmoins, la réponse ovarienne chez les brebis traitées avec 20 UA est plus élevée par rapport à celle traitées avec 16 UA ( $8.33 \pm 5.03$  vs  $3.66 \pm 1.15$ ). En revanche, la réponse ovarienne chez les brebis de race H est de  $8.37 \pm 5.34$  corps jaunes et il apparaît que le lot de brebis traité avec 16 UA a présenté une meilleure réponse ovarienne par rapport à celui traité avec 20 UA (lot 3:  $9.75 \pm 5.37$  vs lot 4 :  $7 \pm 5.71$ ).

La réponse ovarienne obtenue dans notre étude, après utilisation d'une dose de 20 mg de FSHp, est considérablement inférieure à celle obtenue avec la même dose par Brebion et al, (1992) [7] (chez la race Lacaune) qui rapportent une réponse de  $12 \pm 1.5$  CJ.

D'après Ricardo et al, (2003) [65], le facteur le plus important qui pourrait avoir une influence sur la réponse ovarienne est la dose de FSHp, en effet ces derniers ont constaté une diminution significative de la réponse ovarienne suite à l'utilisation de doses très importantes de FSHp .

Selon Brebion et al, (1992) [7]; Tervit et al, (1984) [8] et Gonzalez et al, (1991) [105] les doses totales de FSHp ,les plus souvent préconisées chez la brebis, sont comprises entre 16 et 20 UA, mais ces doses peuvent s'avérer soit insuffisantes, soit au contraire excessives pour un génotype particulier.

De plus nos résultats montrent que la réponse ovarienne est significativement plus élevée chez les brebis de race H par rapport à celle de la race OD après induction de la superovulation avec 16 UA ( $9.75 \pm 5.37$  vs  $3.66 \pm 1.15$ ). Cependant, notre réponse ovarienne est nettement inférieure à celle obtenue avec la même dose par Armstrong et Evans, (1983) [32]; Cordeiro et al., (2002) [50]; Torres et al, (1984) [49], qui rapportent des réponses respectives de  $8.05 \pm 3.8$  ,  $16.6 \pm 3.7$  ,  $10.6 \pm 1.0$  ,  $12 \pm 15$  et  $19.5 \pm 2.6$  ,chez les races suivantes : Romney Marsh , Mérinos, Santa Inès, Lacaune et Romanov x Préalpes.

La réponse moyenne que nous avons obtenue est placée dans l'intervalle rapporté par les différentes études menées chez l'espèce ovine (4.4 à 20.6 CJ). Toutefois, si l'on compare les résultats des deux races, on constate que les brebis de la race H ont répondu favorablement à la

dose de 16 UA de FSHp qu'à la dose de 20 UA, en revanche, les brebis de la race OD ont répondu favorablement à la dose de 20 UA de FSHp.

Les différences dans les réponses de superovulation entre les races semblent être liées à la fois à la préparation de FSH utilisée, la voie d'administration ou à la forte variabilité d'élimination de FSH décrite chez la brebis [106], [107] et [108]. Ces différences peuvent être aussi dues au fait que la FSH exogène a été administrée avec la même dose à toutes les femelles indépendamment de leurs poids [108].

D'après Torres et al, 1984 [49], la réponse à la superovulation par la FSHp est plus élevée chez les races naturellement prolifiques telles que les brebis Romanov-Préalpes, Mérinos et Ile de France comparativement aux brebis Préalpes et les brebis Romney Marsh.

Toute fois il faut signaler que, les travaux réalisés chez les ovins ont mis en évidence une étroite relation entre l'état ovarien avant traitement et la réponse à l'induction de la superovulation. Selon Cognié et al., (2003) [103]; Veiga Lopez et al. ; (2005) [109] il y a une corrélation positive entre la population folliculaire (2-3mm) avant la superovulation et le nombre des structures lutéales dénombrées après le traitement de superovulation et en revanche la réponse ovarienne est corrélée négativement avec la présence de gros follicules.

## II. EFFET DE LA DOSE DE FSHp ET DE LA RACE SUR LE TAUX DE RECOLTE, LA QUALITE DES EMBRYONS ET LE TAUX DE FECONDITE.

### II.1. Taux de récolte :

Nos résultats montrent que chez la race OD, le nombre moyen de structures récoltées tend être significativement plus élevé chez le lot traité avec 20 UA de FSHp par rapport à celui traité avec 16 UA ( $6 \pm 4$  vs  $2 \pm 1$ ,  $p=0.1$ ). Tandis que pour la race H, en utilisant les doses 16 UA et 20 UA, nous avons constaté une baisse du nombre moyen de structures récoltées ( $6.50 \pm 4.43$  vs  $3.25 \pm 2.63$ ). En effet, l'efficacité de la dose totale varie selon la préparation hormonale qui pourrait être déterminée à l'aide d'une courbe dose - réponse [9].

Nous avons constaté que lors d'utilisation d'une dose 16 UA de FSHp chez la race OD et H, le nombre moyen de structures récoltées est significativement plus élevé chez la race H par rapport

à celui de la race OD (H :6.5 ±4.43 vs. OD: 2±1, p=0.1); par contre lorsque nous avons utilisé une dose de 20 UA , le nombre moyen de structures récoltées chez la race OD a été plus élevé que celui de la race H (OD : 6±4 vs H : 3.25±2.63). Nos résultats sont comparables à ceux de Simonetti et al, (2007) [57] et Forcada et al,(2000) [60], qui en utilisant une même dose de FSHp chez différentes races ont trouvé un taux de récolte plus important chez les brebis de la race Rasa-Aragonesa par rapport à celui de la race Corriedale (5.3 vs 1.4±0.4). Selon, Torres et al (1984) [49]; Diancourt et Fry (1992) [48] l'hétérogénéité entre les races des brebis semble être due à la prolificité de ces races.

Ces résultats confirment ce qui a été décrit par Chemineau et al,(1996) [10], Aguer et al,(1981) [110] et Grimard et al,(1995) [111] qui rapportent que la très grande variabilité individuelle de la réponse à la superovulation, est étroitement liée au facteur race et qu'il ne faut pas le dissocié des autres facteurs de variation.

## II.2. Les embryons transférables :

Dans la présente étude, nous avons observé un effet dose sur le nombre moyen d'embryons transférables chez la race OD (lot 2 : 5±4 vs lot 1:1.66±0.57). Tandis que pour la race H, nous avons noté une légère différence entre les lots 3 et 4 (5.75±4 vs 3±2.16).

Il apparaît que les résultats obtenus dans notre étude sont meilleurs par rapport à ceux décrits par Cognie (1984) [80] et Simonetti et al (2007) [57] qui rapportent une moyenne de 1.9 et 1,4 respectivement après utilisation d'un traitement de PMSG et de FSH ovine. Par contre, nos résultats sont comparables à ceux cités par Giovanie et al (2001) [35] et Gonzalez et al (2003) [56] qui sont respectivement de 4,9±1,03 et 4,3±1,4.

Les résultats obtenus chez la race H corroborent avec les résultats de Torres et al, (1984) [49] qui ont rapporté que les brebis Romanov Préalpes présentent une meilleure réponse avec une dose de 16 mg de FSHp, et des réponses médiocres avec des doses excessives de 20 mg. En revanche chez la race OD, l'administration de 16 mg de FSHp semble être insuffisante. En effet, le nombre d'embryons transférables obtenus chez des brebis françaises de race Lacaune est inférieur à celui des brebis Romanov x Préalpes [49]. Et les mêmes constatations ont été révélées par Armstrong et Evans (1983) [32] qui ont constaté que la réponse a été faible chez les brebis Romney Marsh par rapport à celle des brebis Mérinos.

En effet, la différence de réponse entre les races ovines semble être en relation avec le génotype et la prolificité de la race [49] et [71]. Ces différences peuvent être aussi dues au fait que la FSH exogène a été administrée avec la même dose à toutes les femelles indépendamment de leur poids [108].

### II.3. Le taux de fécondité :

Dans notre étude nous n'avons pas noté un effet dose et de race sur le taux de fécondité (OD :(100% vs 94.44%); H :(96.15% vs 100%)). Nos résultats sont semblables à ceux décrits par Baril et *al.*, 2004 [112] et Yamada et *al.*, 1996 [113] qui ont obtenu des taux de fécondité de 90%, 92.9% respectivement.

Le taux de fécondation élevé obtenu chez les brebis superovulées, pourrait être lié à l'utilisation combinée, au moment optimal, de la saillie et de l'insémination intra-utérine avec de la semence fraîche [94]. En effet, le dépôt de la semence directement dans les cornes utérines réduit les altérations massives des conditions de survie des spermatozoïdes lors de leur passage à travers le cervix [36]. Et qui peut être expliqué par le fait que, l'ensemble des brebis ont été soumises aux mêmes conditions environnementales, et ont reçu le même régime alimentaire [114].

# ***CONCLUSION***

Les méthodes de biotechnologie de la reproduction en particulier la superovulation et le transfert embryonnaire (MOET), sont des techniques qui permettent une accélération des progrès génétiques, l'augmentation des effectifs de haute valeur génétique et la préservation des races. Chez les ovins, la variabilité de la réponse ovulatoire des donneuses limite le développement du programme de production d'embryon in vivo.

En effet, les résultats obtenus dans la présente étude montrent que :

- ❖ La réponse ovarienne des brebis de race OD traitées avec 20 UA, a été plus élevée par rapport à celles traitées avec 16 UA ( $8.33 \pm 5.03$  vs  $3.66 \pm 1.15$ ). En revanche, les brebis de race H traitées avec 16 UA ont présenté une réponse ovarienne meilleure par rapport à celles traitées avec 20 UA (lot 3:  $9.75 \pm 5.37$  vs lot 4 :  $7 \pm 5.71$ ).
- ❖ De plus, la réponse ovarienne a été significativement plus élevée chez les brebis de race H par rapport à celle de la race OD après induction de la superovulation avec 16 UA ( $9.75 \pm 5.37$  vs  $3.66 \pm 1.15$ )
- ❖ Le nombre moyen de structures récoltées tend être significativement plus élevé chez le lot traité avec 20 UA de FSHp par rapport à celui traité avec 16 UA ( $6 \pm 4$  vs  $2 \pm 1$ ,  $p=0.1$ ). Tandis que pour la race H, en utilisant les doses 16 UA et 20 UA, une baisse du nombre moyen de structures récoltées a été constaté ( $6.50 \pm 4.43$  vs  $3.25 \pm 2.63$ ).
- ❖ Il semble qu'il y'a un effet dose sur le nombre moyen d'embryons transférables chez la race OD (lot 2 :  $5 \pm 4$  vs lot 1:  $1.66 \pm 0.57$ ).

A la lumière des résultats obtenus, il en ressort que le rendement de superovulation chez les deux races est tout à fait comparable avec ceux rapportés dans la littérature chez les différentes races existantes dans le monde. Le rendement de la production d'embryons in vivo chez les brebis de race Hamra a été très satisfaisant lors d'utilisation d'une dose de 16UA ; en revanche, ce rendement a été satisfaisant lors d'utilisation d'une dose de 20UA de FSHp chez la race Ouled Djellal.

Enfin, d'autres travaux devront être réalisés afin de déterminer les doses optimales à utiliser chez les deux races Ouled Djellal et Hamra.

---

***REFERENCES***  
***BIBLIOGRAPHIQUES***

- 01- **Boughanem Karim.** [2010]. Directeur de la santé animal au ministère de l'agriculture et du développement rural. Octobre 2010.
- 02- **MAP.** [2004]. Ministère de l'agriculture et de la pêche (direction des statistiques agricoles et des systèmes d'information).
- 03- **Atchemdi K.A.** [2008]. Impact des variations climatiques sur les prix des moutons sur le marché de gros de Djelfa (Algérie). *Cahiers Agricultures*, 17, 29-37.
- 04- **Mohammedi H., Labani A., Benabdeli K.** [2006]. Essai sur le rôle d'une espèce végétale rustique pour un développement durable de la steppe algérienne.
- 05- **Ayachi A., Nastasi A., Bayard J.** [2002]. Laboratory of Microbiology (LESPA), Veterinary Department, University of Batna, Algeria.
- 06- **Brebion P., Bekers., Guerrin Y., Boomarov.** [1991]. High performane of boorola ×Romano ewes as permanent embryo donors. In colloque INRA, major genes for reproduction in sheep. Colloque INRA n°57171-174, Paris.
- 07- **Brebion P., Baril G., Cognie Y., Vallet J.C.** [1992]. embryo transfer in sheep and goats. *Ann. Zootech.*, 41, 331-339.
- 08- **Tervit H.R., Gloud P.G.** [1984]. Deep-freezing sheep embryos. *Theriogenology*, 21: 268 abstr.
- 09- **Baril G., Brebion P., Chensé P.** [1993]. Manuel de formation pour le transfert embryonnaire chez la brebis et la chèvre. FAO, 115, ISSN 1014-1099.
- 10- **Chemineau P et al.** [1996]. Emploi des implants de mélatonine et des traitements photopériodiques pour maîtriser la reproduction saisonnière chez les ovins et les caprins INRA p45-60.
- 11- **Cognie Y., Baril.** [2002]. Le point sur la production et le transfert d'embryons obtenus in vivo et in vitro chez la brebis et la chèvre. *INRA Prod.Anim.*, 15, 199-207.
- 12- **Christian D.** [1997]. La reproduction du mouton (Edition France agricole).
- 13- **Labussier J.** [1990]. Physiologie de la reproduction [des mammifères domestiques et application zootechniques, E.N.S.A Renne.
- 14- **Courot M. Volland-Nail P.** [1991]. Productions animales. INRA Février 1991 volume 4 N° 1. Pages : 22, 23.
- 15- **Whitley N.C., Jackson D.J.** [2004]. An update on estrus synchronization in goats: a minor species. *Journal of Animal Science*, 82: 270-276.
- 16- **Kruip TH.A.M; Dieleman S.J.** [1982]: Macroscopic classification of ovine follicles' a ditz validation by micromorphological steroid biochemical procedures. *Reprod. Nutr. Develop.*, 22, 3, 465-473.  
179.

- 17- **Montgomery G.W; Scott I.C. [1985].** An interaction between season of calving and nutrition on the resumption of ovarian cycles in postpartum beef cattle. *J. Reprod. Fert*; 73, 45-50.
- 18- **Walker S.K., Smith D.H., Seamark R.F. [1986].** Timing of multiple ovulation in the ewe after treatment with FSH or eCG with or without GnRH, *J. Reprod. Fertil.* 77: 135-142.
- 19- **Casamitjana P. [2006].** Synchronisation de la reproduction chez les ovins. Société Nationale Des Groupements Techniques vétérinaires, Fiche n°22.
- 20- **Hanzen C. [2009].** Maitrise du cycle des petits ruminants. Université de Liège, Belgique.
- 21- **Evans G, Maxwell WMC. [1987].** Salamon's artificial insemination of sheep and goats Sydney Butterworths. FAO, Rome.
- 22- **Henderson D.C. [1991].** The reproductive cycle and its manipulation.
- 23- **Nibart M. [1991].** « Le transfert embryonnaire et les biotechnologies appliquées : bissection et sexage », *Rec. Med. Vet* , 167, pp.261-290.
- 24- **Saumande J. [1996].** La production d'embryons chez les bovins : quelles voies de recherches pour augmenter l'efficacité des traitements de superovulation ? *INRA, pro. Anim.* 8: 275-283.
- 25- **Chupin D. [1988].** Superovulation par PMSG ou FSH pour le transfert embryonnaire. *Coli Soc Fr Etudes fertiles* 26, 213-232.
- 26- **Drion P.V, et al. [1998].** Connaissances actualisées des régulations de la croissance folliculaire chez les ovins. *GTV. La reproduction.*
- 27- **Lefeuvre A. [1992].** Synchronisation des chaleurs et de superovulation chez la chèvre. Comparaison de 2 prostaglandines, l'etiproston et le cloprostenol. *Th. Méd. Vet, Nantes,* n°67.
- 28- **Schaetz F. [1977].** Encyclopédie vétérinaire ; les hormones sexuelles. Ed. Vigot, Berlin. *Med Vet,* 143, 5,427-433.
- 29- **D'Alessandro A.G, Martemucci G, and Taibi L. [2005].** How the FSH/LH ratio and dose numbers in the pFSH administration treatment regimen, and insemination schedule affect superovulatory response in ewes. *Theriogenology*, volume 63, Issue 6, 1764-1774.
- 30- **Armstrong D.T., Evans G. [1983].** Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats, *Theriogenology.* 19.p31-42.
- 31- **Naqvi S.M.K et Gulyani R. [1999].** Ovarian response and embryo recovery to different superovulatory regimens in Rambouillet ewes under semi-arid conditions. Division of physiology, Central sheep & Wool Research institute, Avicanagar, Jaipur, Rajasthan ; 304-501, India.

- 32- **Hanzen C. [2000].** «Propédeutique et pathologie de la reproduction male et femelle» 2eme doctorat en médecine vétérinaire.
- 33- **Giovanni et Lioni., Luisa B., Pierpaolo P., Sergio L., Salvatore Naitana. [2001]:** Sheep embryos derived from FSH/eCG treatment have a lower in vitro viability after vitrification than those derived from FSH treatment, Departement of animal biology, University of Sassari, 07100 Sassari.Italy.
- 34- **Evans G., Armstrong D.T. [1984].** Reduction of sperm transport in ewes by superovulation treatments. *J. Reprod. Fertil*, 70 :47-53.
- 35- **Baril G., Vallet J.C. [1990].** Time of ovulation in dairy goats induced to superovulate with pFSH during and out of the breeding season. *Theriogenology*, 34 : 303-311.
- 36- **Boukhliq R. [2002].** Cours en ligne sur la reproduction ovine. Institut Agronomique et Vétérinaires Hassen II, département de la reproduction animale.
- 37- **Vallet J.C., Casamijana P., Brebion., Perrin J. [1991].** Techniques de production, de conservation et de transfert d'embryon chez les petits ruminants. *Recueil de médecine vétérinaire*, 167 :293-301.
- 38- **Cognie Y. [1999].** State of the art in sheep-goat embryo transfer. *Theriogenology*, 51 :105-116.
- 39- **Chemineau P., Blanc M., Caraty A., Bruneau G., Mmonget P. [1999].** Productions animales. INRA juillet 1999, volume 12 N°3. P: 219.
- 40- **Yougquist R.S. [1997].** *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. 1st edition. Philadelphia: WB Saunders Company; 898p.
- 41- **Torres S, Sevellec C. [1987].** Repeated superovulation and surgical recovery of embryos in the ewes. *Reprod. Nurt. Develop.* 27 : 859-863.
- 42- **Lindner G.M, Wright R.W.J. [1983].** Bovin embryo morphology and evaluation *Theriogenology*. 20: 407-416.
- 43- **Do-Brinsky J.R. [2002].** Advancements in cryoconservation of domestic animal embryos. *Theriogenology*, vol, 57, 285-302.
- 44- **Charles Thibalut, Marie-Claire Levasseur. [2001].** La fonction ovarienne chez les mammifères. Edition MASSON, Paris.
- 45- **Guérin et al. [1996].** MULTIPLE OVULATION AND EMBRYO TRANSFER IN GOATS ; BY KHOBOSO CHRISTINA LEHLOENYA ; A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree ; PHILOSOPHAE DOCTOR ; In The Faculty of Natural And Agricultural Sciences ; Departement of Animal, Wildlife And Grassland Sciences ; University of The Free State Bloemfontein ; February 2008.
- 46- **Driancourt M.A, Fry R.C. [1992].** Effect of superovulation with pFSH or PMSG on growth and maturation of the ovulatory follicles in sheep. *Anim. Repro. Sci.* 27, 279-292.

- 47- **Torres S., Cognie Y., Colas G. [1984].** Transfer of des embryons chez les ovins, IX journées de la recherche ovine et caprine, Edition INRA-Tovic-Spec, paris.215-239.
- 48- **Cordiero MF., Lima-Verde JB., Lopes-Junior ES., Teixeira IA. [2002].** Embryo recovery rate in Santa ewes subjected to successive superovulatory treatments with FSHp. Laboratory of physiologie and control of reproduction, Faculty of veterinary, State Université of Ceara, Avenue Paranjana 1700, Fortaleza CE 60740-000.
- 49- **Suzanne Torres et Claude Sevellec. [1987].** Repeated superovulation and surgical recovery of embryos in the ewe, Station de physiologie animale I.N.R.A, France.
- 50- **Ramon-Ugalde JP, Folch J, Cocero MJ, Pina-Aguilar RE, Alabart JL. [2008].** Centre of ovine selection and reproduction, technical institute of Conkal, Yucatan, Mexico.
- 51- **Ritar A.J ., Ball P D . O, May p. J, Black T.M., Jackson R.B., Murray N. [1988].**
- 52- **Gouhis. [1989].** Influence d'une injection de PMSG et de la race sur les performances de reproduction de la brebis ; Mémoire de fin de cycle de zootechnie, option : Reproduction ovine, institut national agronomique de Tunisie.
- 53- **Gonzalez-Bulnes., A J Santiago-Moreno., M J Cocero and A Lopez-Sebastien. [2000].** Effects of FSH comercial preparation and follicular status on follicular growth and superovulatory reponse in spanish Merino ewes. Theriogenology ,54 1055-1064.
- 54- **Gonzalez-Bulnes A., Souza CJH., Campbell BK., Scaramuzzi RJ., Baird DT. [2003].** The effect of a single long-acting injection of GnRH antagonist on ovarian follicular development in sheep. *Reprod Abstr Ser* 2003; 30:65[abstract].
- 55- **Simonetti L., Forcada F., Rivera E.A., Carou N., Alberio R.H., Abecia J.A., Palacine. [2007].**Simplified superovulatory treatments in corriedale ewes. Animal production school of agrarian science, National Univercity of Lomas de Zamora. Buenos Aires, Argentine.
- 56- **Anna T, Grazul-Bilska, James, kirsch, Jerzy, Bilski, Kim, Kraft. [2007].** Superovulation in sheep: number and weight of corpora lutea and serum progesterone. Department of animal science, North Dakota state university, USA.
- 57- **Bartelwski PM, Alexander BD, King WA. [2007].** Ovarien and endocrine determinants of superovulatory responses in anoestrus ewes, department of biomedical sciences, university of de Guelph, Canada.
- 58- **Forcada F, Abercia JA, Lozano JM. [2000].** Repeated superovulation of height prolificacy Rasa Aragonesa ewes before culling as an inexpensive way to obtain high quality embryos. *Departemento de production animal y ciencia de los alimentos Universidad de Zaragoza Spain. Livestock production science* 66. 263-269.
- 59- **Chemineau P, Cognié Y, Thimonier J. [2001].** La maîtrise de la reproduction des mammifères domestiques. *In : THIBAUT C, LEVASSEUR MC. La reproduction chez les mammifères et l'homme. Paris, Ellipses, 792-815.*

- 60- **Saumande J.** [1995]. La production d'embryons chez les bovins : quelles voies de recherches pour augmenter l'efficacité des traitements de superovulation ? – *INRA Prod.Anim.*, 8 (4) : 275-283.
- 61- **Rubianes E., Menchaca A.** [2003]. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. *Animal Reproduction Science*, 78, 217-287.
- 62- **Chemineau P, Cognie Y, Heyman Y.** [1996]. Emploi des implants de mélatonine et des traitements photopériodiques pour maîtriser la reproduction saisonnière chez les ovins et les caprins INRA p45-60.
- 63- **Ricardo Jesus, Aké Lopez, Manuel Heredia y Aguilar, Militza Alfaro Gamboa, Fernando Centurion Castro, Octavio Rojas Rodriguez.** [2003]. Effect de la hormona en la resquesta superovulatoria y de la sincronia del estro en el porcentaje de gestacion de ovejas pelibuey, Mexico, pp. 225-233.
- 64- **Smith C.L.** [1984]. Dose effect of follicle stimulating hormone for superovulation of crossed Targhee ewes. *Theriogenology*, 21. 262.
- 65- **Steve Lucero et Jack Ruttle.** [1990]. Effect of FSHp dosage and body weight on estrous synchronization and superovulation in fine-wool ewes. *Livestock research briefs and cattle grower's short course*.
- 66- **Ryan J.P, Hunton J.R, Maxwell W.M.** [1991]. Increased production of sheep embryos following superovulation of merino ewes with a combination of pregnant mare serum gonadotropin and follicle stimulating hormone. *Reprod. Fert. Dev.* 3, 551-560.
- 67- **Chupin, D., Cognié, Y., Combarous, Y., Procureur, R., Saumande, J.** [1987]. Effect of purified LH and FSH on ovulation in the cow and ewe. In: J.F. Roche, D.O'Callaghan (Eds.) *Follicular Growth and Ovulation Rate in Farm Animals*. Martinus.
- 68- **Baril G, Cognie Y, Leboeuf B, Orgeur P, Vallet J.P.** [1988]. Embryo production, freezing and transfer in Angora, Alpine and Saanen goats. In 4<sup>e</sup> Colloque Scientifique, AETE, LYON; 67-93.
- 69- **Cognie Y., Chupin D., Saumande J.** [1986]. The effect of modifying the FSH/LH ration during the superovulatory treatment in ewes. *Theriogenology*, 25 (n°1), 186.
- 70- **Gonzalez-Bulnes A, Baird DT, Campbell BK, Cocero MJ, Garcagarciarm, Inskoop EK.** [2004]. Multiple factors affecting the efficiency of multiple ovulation and embryo transfer in sheep and goats. *Reproduction, Fertility and Development*, 16, 421-435.
- 71- **Murphuy B.D.** [1984]. Viability in gonadotrophin preparation as a factor in the superovulatory response. *Theriogenology*, 21 n°1, 117-125.
- 72- **Gonzalez C.** [1984]. Repro des ruminants en zone tropicale. Colloque de l'INRA.
- 73- **Lucas-Hahn et Niemann.** [1991]. Aspects of bovine embryo production in vivo and in vitro. - In : *Proceedings 7<sup>th</sup> AETE meeting, Cambridge, 14-15 septembre 1991* : 63-75.

- 74- **Thibault C., Levasseur M.C. [2001].** La reproduction chez les mammifères domestiques et l'homme.
- 75- **Monniaux D., Chupin D., Saumande J. [1983].** Superovulatory responses of cattle. – *Theriogenology*, 19: 55-81.
- 76- **Goulding D., Williams D.H., Roche J.F., Boland M.P. [1991].** Superovulation in heifers using either PMSG or FSH during the mid-luteal stage of the estrus cycle. – *Theriogenology*, 36: 949-958.
- 77- **Boland M.P, Goulding D., Williams D.H., Roche J.F. [1991].** Superovulation in heifers using either PMSG or FSH during the mid-luteal stage of the estrus cycle. – *Theriogenology*, 36: 949-958.
- 78- **Cognie Y. [1984].** Comparaison de deux traitements de superovulation chez la brebis sité par J.C Vallet, Casamijana.
- 79- **Jabbour., H.N., Evans G. [1991].** Ovarian and endocrine reponse of merinos ewes to treatment with PMSG and/or FSHp. *Anim.Reprod.Sci.*26,93-106.
- 80- **Yaakub, H., Callaghan, D.O. and Boland, M.P. [1999].** Effect of type and quantity of concentrates on superovulation and embryo yield, *Theriogenology* 51, 1259-1266.
- 81- **Malhi PS, Adams GP, Mapletoft RJ, Singh J. [2008].** Superovulatory response in a bovine model of reproductive aging. *Animal Reproduction Science*, **109**, 100–109.
- 82- **Al-Kamali, A.A, Boland, M.P, Crosby, T.F, Gordon, I. [1985].** Reduced superovulatory response in the ewe following repeated gonadotrophin treatment. *Vet. Rec.* 116, 180-181. 131. SAS Institute Inc. SAS/STAT User's Guide, Version 6.03. SAS Institute, Cary, NC, 1028 pp.
- 83- **Fuki Y, Kano H, Kobayashi M, Ono H. [1985].** Response to repeated superovulation treatment in the ewe. *Jpn. J. Anim. Reprod.* 31, 155-157.
- 84- **Mckelvey W.A.C, Robinson J.J, Aitken RP, Robertson I.S. [1986].** Repeated recoveries of embryos from ewes by laparoscopy. *Theriogenology* 25, 855-865.
- 85- **De ruigh L., Pearson R.E., Van Wagtendonk-De Leeuw J.A.M. [1995].** Are “permanent donor cows” permanent donor cows? – In : *Proceedings 11<sup>th</sup> AETE meeting, Hannover, 8-9 septembre 1995* : 158.
- 86- **Baril G, Chemineau P, Cognie Y. [2001].** Successful direct transfer of vitrified sheep embryos. *Theriogenology*, 56, 299-305.
- 87- **Ponsart C., Govignon A., Rohou A., Manciaux L., Delcroix P., Grisouard D., Humblot P. [2001].** Effects of the paternal origin of the donor cow on embryo production after superovulation in the Prim'Holstein and Montbeliarde breeds. *Theriogenology*, 55 : 369.

- 88- Hupka S., Meinecke-Tillmann S., Detterer J., Meinecke B. [2000]. Variables influencing embryo collection results in superovulated German Holstein cattle. – In : *Proceedings 16<sup>th</sup> AETE meeting, Santander, 08-09 septembre 2000* : 166.
- 89- Govignon A., Rohou A., Ponsard C., Delcroix P., Humblot P. [2000]. Sources of variation of embryo production after superovulation in Prim Holstein dairy cows. – In : *Proceedings 16<sup>th</sup> AETE meeting, Santander, 08-09 septembre 2000* : 158.
- 90- Donaldson L.E., Perry B. [1983]. Embryo production by repeated superovulation of commercial donor cows. – *Theriogenology*, 20: 163-168.
- 91- Drion P.V., De Roover R., Houtain J.Y., McNamara E.M., Remy B., Sulon J., Beckers J.F. [2001]. Increase of plasma eCG binding rates after administration of repeated high dose of eCG to cows. – *Reprod.Nutr.Dev.*, 41(3) : 207-215.
- 92- Baril G., Casamitjana P., Perrin J., Vallet J.C. [1989]. Embryo production, freezing and transfer in angora, Alpine and Saanen goats. *Zuchthgenie (berl)*.24,1001-115.
- 93- Brebion P., Bekers JF., Guerrin Y., Boomarov. [1990]. High performane of boorola ×Romano ewes as permanent embryo donors. In colloque INRA, major genes for reproduction in sheep.
- 94- Oussaid B, Cognie Y, Mariana J.C. [1993]. Ovarian stimulation following repeated injections of LH or LH+FSH in Ile de France sheep in early and mid-seasonal anestrus. *Anim. Repro. Sci.* 31, 83-98.
- 95- Fieni F, Buggin, Tainturier, Bach-Lijour, Bruyas, et Daubie. [1992]. Study of the best hour for intra uterine unsemination in young dairy goats after hormonal induction of estrus. *Theriogenology*, 35(1), 200.
- 96- McKelvey WAC, Robinson JJ, Aitken RP, Henderson G. [1985]. The evaluation of a laparoscopic insemination technique in ewes. *Theriogenology*; 24:519–35.
- 97- Bari F, Khalid M, Haresign W, Murray A, Merrell B. [2000]. Effect of mating system, flushing procedure, progesterone dose and donor ewe age on the yield and quality of embryos within a MOET program in sheep. *Theriogenology*; 53:727–42. *Aust. soc. Reprod. Biol.* 20th. Conf. Newcastle Univ., 29-31, 3 (Abstract). Cours de l'année.
- 98- Kraemer DC. [1989]. Embryo collection and transfer in small ruminants.
- 99- Chagas E., Silva J., Lopes da Costa L., Cidado R., Robalo Silva J. [2003]. Plasma progesterone profiles, ovulation rate, donor embryo yield and recipient embryo survival in native saloia sheep in the fall and spring breeding seasons National Station for Animalselection and reproduction, Amadora, Portuga Laboratory of Reproduction, CIISA, Faculty of Veterinary Medicine, Lisbon, Portugal. *Theriogenology* 60,521-532.
- 100- José H.C., J. Ricardo Ake Lopez, Juan Carlos K.V., Gary L.W., Jorge Alfredo Q.F. [2008]. Repuesta ovulatoria, estado de desarrollo y calidad de embriones de ovejas Pelibuey superovuladas suplementadas con acidos grasos poliinsaturados. *Tec Pecu Méx.*, 46 (2) :107-117.

- 101- **Cognie Y., Baril G., Poulin N., Mermillod P. [2003].** Current status of embryo technologies in sheep and goat. Published in *Theriogenology*, 59, 171-188.
- 102- **Kafi et McGowan. [1997].** These 2008, Bacli A, Ferchouli Y, Résultats préliminaires de production et transfert des embryons in vivo chez les brebis de race Hamra (effet d'une dose 16mg de FSHp) ; Département des sciences vétérinaires, Université de Blida, 2008.
- 103- **Gonzalez, Garcia Vinent J.C., Gibbons A., Cueto M.I. [1991].** Laparoscopic embryo transfer in Merino Sheep in Patagonia (Argentina). *XXIV World Vet. Congress, Rio DE Janeiro, Brasil.*
- 104- **Mcneilly AS., Fraser HM. [1987].** Effect of gonadotrophin releasing hormone agonist-induced suppression of LH AND FSH on follicule growth and corpus luteum function in the ewe. *J Endocrinol* 155, 273-282.
- 105- **Fry R.C., Clarke L.J., Cummins J.T., Bindon B.M., Piper L.R., Cahill L.P. [1987].** The half life of follicle stimulating hormone in ovary intact and ovariectomized Boorola and control Merino ewes. *J.Reprod. and Fert*, 82 : 611-615.
- 106- **Ammoun I., T. Encinas., A. Veiga-Lopez., J. M. Ros., I. Contreras., P. Gonzalez-Anover., M. J. Cocero., A. S. Mcneilly., and A. Gonzalez-Bulnes. [2006].** Effects of breed on kinetics of ovine FSH and ovarian response in superovulated sheep. *Theriogenology* 66 :896-905.
- 107- **Veiga-lopez A., Gonzalez-Bulnes A., Garicai-Garcai R.M., Dominguez V., Cocero M.J. [2005].** The effects of previous ovarian status on ovulation rate and early embryo development in reponse to superovulatory FSHp treatments in sheep. *Theriogenology* ,63 1973-1983.
- 108- **Aguer D, Pelot J, Chupin D. [1981].** Reproduction du troupeau à viande et synchronisation de l'oestrus. *Bull. Group. Tech. Vet.*, 1981, 211, 33-57
- 109- **Grimard B, Humblot P, Ponter AA, Mialot JP, Sauvart D, Thibier M. [1995]** Influence of postpartum energy restriction on energy status, plasma LH and oestradiol secretion and follicular development in suckled beef cows. *J Reprod Fertil*, 1995, 104, 173-
- 110- **Baril G., Cognie Y., Belloc J.p., Briois M., Poulin N., Bouttier A., Pougard J.L., Vallet J.C., Leboeuf B., Rémy B., Beckers J.F., Mermillod P. [2004].** Effet de prétraitements agoniste et antagoniste de GnRH sur la production d'embryons chez la brebis et la chèvre. *Renc. Rech. Ruminant*, 11.
- 111- **Aki Yamada, Mayuko K, Yoshio T, Akio M et Yutaka FU. [1996].** Effect of single or multiple injection of follicle stimulating hormone combined with pregnant mare serum gonadotropin on superovulatory response, and normal and freezable embryos in ewes. Laboratory of animal genetics and reproduction, Obihito University of agriculture and veterinary medicine, 080, Japan, *Journal of reproduction and development*, vol. No 2, 1996.
- 112- **Hanzen, CH. [2005].** Faculté de médecine vétérinaire service d'obstétrique et de pathologie de la reproduction des ruminants, des équidés et porcs. Cours de deuxième doctorat en médecine vétérinaire.