



414THV-1

République Algérienne Démocratique et Populaire

**Ministère de L'enseignement Supérieur et de la recherche scientifique
Université SAAD DAHLEB BLIDA
Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires
Département des Sciences Vétérinaires**

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

Thème :

**PRODUCTION, CONGELATION ET TRANSFERT DES
EMBRYONS CHEZ LA RACE HAMRA, ETAT DE LA
POPULATION FOLLICULAIRE ET EFFET DE TROIS DOSES**

Réalisé par :

M^r. GHEZALI Nadjib

M^r. HOUASSINE Arezki

Jury:

Président : ADEL .DJ.

Examineur : FERROUK.M.

Examineur: KALEM.A

Promoteur: GHARBI .I.

M.A.A.USD Blida

M.C.B.USD Blida

M.A.B.USD Blida

M.A.A.USD Blida

Promotion 2009/2010

REMERCIEMENTS

Il nous est très agréable d'ouvrir ce mémoire en remerciant toutes les personnes qui nous ont apporté leurs soutiens pour l'élaboration de ce modeste travail, en particulier.

Monsieur GHARBI Simail

Qui nous a fait l'honneur de diriger ce modeste travail de recherche. Notamment, pour ses encouragements, sa disponibilité, sa gentillesse, son savoir faire et Son savoir être.

Remerciements sincères et profonde gratitude

Monsieur FERROUK M et Mme GHARBI.

Pour leur précieuse assistance dans la réalisation de la partie expérimentale.

Sincères Remerciements

Directeur et le personnel de la station expérimentale de l'université de Blida

Pour nous avoir facilité la tâche dans la réalisation de la partie expérimentale.

Sincères Remerciements

Nos vifs remerciements vont, du président, et membre de jury qui ont accepté de juger ce travail, et tous nos enseignants qui ont contribué à notre formation.

En fin à tous ceux qui nous ont soutenu de près ou de loin on leurs dis merci du profond du cœur.

Nadjib ET Arezki

Dédicace

*À mes parents et mes deux frères et ma sœur pour leur,
Soutien inconditionnel et à toute ma famille,
Qui attend avec impatience le dénouement de cette aventure,
Toute mon affection.*

*À ceux qui ne sont plus et me manquent.....
À ceux qui restent m'entourent, et qui parfois sans le savoir,
M'ont aidé à achever ce travail, qu'ils en soient infiniment remerciés*

*Àu Drs vétérinaires Dahmani, Boughtab et Hassani
Qui ont su avec enthousiasme m'apprendre le passage
De la théorie à la pratique.*

*À tout mes amis pour les moments de bonheur partagé.
À mon amis et partenaire dans ce travail Nadjib.
À tous ceux que je ne peux citer.*

Amezhi

DEDICACES

A mon gentil papa et ma douce maman,

Pour la joie et la confiance qu'ils m'ont procuré. Pour les précieuses valeurs qu'ils m'ont inculqué et pour leur soutien infailible durant tout mon cursus scolaire.

A ma grand mère,

pour votre soutien moral et tout l'amour que vus m'avez donné.

A mes deux freres et ma soeur qui ont été toujours présents pour m'encourager, merci pour votre soutien.

A toute ma famille ,mes cousins mes tentes est mes oncle.

A mes amis,

A tout mes amis sans exception et sur tout avec qui j'ai partagé de bons moments et tous qui m'en aidé a terminé ce travail.

En fin a mon binome AREZKI MERCI merci pour tous.

NADJIB

Sommaire

Remerciement	I
Dédicaces	II
Dédicaces	III
Table des matières	IV
Résumé	VII
المخلص	VIII
Abstract	IX
Liste des figures	X
Liste des tableaux	XI
Liste des photos	XII
Liste des abréviations	XIII
Introduction générale	XV

Partie bibliographique

Chapitre I : LES TECHNIQUES DE PRODUCTION CONGELATION ET TRANSFERT DES EMBRYONS CHEZ LES OVINS

I. Introduction	01
II. Production et transfert d'embryons:	01
II.1. Synchronisation de l'œstrus	01
II.1.1. Progestérone et progestagènes	01
II.1.2. Les prostaglandines	03
II.2. La superovulation	03
II.2.1. Les molécules utilisées dans les traitements de superovulation chez la brebis	03
II.3. La fécondation	05
II.3.1. La saillie naturelle	05
II.3.2. L'insémination artificielle	05
II.4. Collecte d'embryons in vivo	06
II.4.1. Technique chirurgicale	06
II.4.2. Technique non chirurgicale (laparoscopique)	07
II.5. Méthode de tri et sélection des embryons	07
II.6. Conservation des embryons	08
II.7. Transfert d'embryons	09

CHAPITRE II : FACTEURS DE VARIATION ET LIMITES DE LA PRODUCTION ET DU TRANSFERT DES EMBRYONS CHEZ LA BREBIS

I. FACTEURS DE VARIATION ET LIMITES DE LA PRODUCTION ET DU TRANSFERT DES EMBRYONS CHEZ LA BREBIS	11
I.1. Facteurs intrinsèques	11
1. L'âge	11
2. La race	11

3.Le nombre et taille de follicules	12
I. 2. Facteurs extrinsèques.....	13
1.La saison sexuelle	13
2.L'alimentation	13
3.La molécule utilisée	13
4.La dose et régime de traitement.....	14
5. Rapport FSH/LH	15
6.Répétition des traitements de superovulation	16
7.Technique d'insémination et de récolte	16

Partie expérimentale

Objectifs.	17
-----------------	----

CHAPITRE I : TRAITEMENTS DE SYNCHRONISATION ET SUPEROVULATION

II. MATERIEL ET METHODES	18
II.1. Matériel	18
II.1. 1. Animaux	18
II.1. 2.Appareils, instruments et produits	20
II.2. Méthodes.....	21
II.2. 1 .Examen échographique :.....	21
II.2.2 .Examen endoscopique	21
II.2.3. 1. Protocole de synchronisation et de superovulation.....	22
<u>Analyses des données</u>	24
III. Résultats	24
III.1. Etat de la population folliculaire ovarienne	24
III.2.Comportement d'œstrus chez les donneuses.....	26
III.3.Comportement d'œstrus chez les receveuses	26
III.4. La réponse ovulatoire chez les donneuses.....	28
III.5.La réponse ovulatoire chez les receveuses	28

CHAPITRE II : RECOLTE, CONGELATION ET TRANSFERT DES EMBRYONS

I. Matériel et méthodes	30
I.1. Matériel	30
I.1.1. Animaux	30
I.1.2.Instruments et produits	30
I.2. Methodes	32
I.2.1. Préparation des animaux	32
I.2.2. Récolte des embryons	32
I.2.3. Tri et sélection des embryons	33
I.2.4. Transfert des embryons	35
I.2.5. Soins post opératoire	35

I.2.6. Diagnostique de gestation	35
II. Résultats et transfert des embryons	36
II.1. Dénombrement des corps jaunes	36
II.2. Résultat de la récolte	36
II.2.1. Structures collectées	36
II.2.2. Taux de collecte des embryons	36
II.3. Classification des embryons	37
II.4. Détermination du taux de fécondité	39
II.5. Détermination du taux des embryons transférables	40
III. Résultats de transfert des embryons	40
III.1. Détermination du taux de gestation	40
III.2. Taux de viabilité	42
DISCUSSION	43
CONCLUSION	50

RESUME

L'utilisation des techniques de production et du transfert d'embryons permettent la multiplication de la descendance des femelles de haute valeur génétique et la préservation des races en voie de disparition. L'objectif principal de notre étude est de mettre en évidence d'éventuelle relation entre la population folliculaire et la réponse ovarienne suite à l'utilisation de différentes doses de FSHp.

Notre expérience a concerné dix-huit (18) brebis, dont sept (07) donneuses de race Hamra et onze (11) receveuses de race mixte. Les brebis donneuses ont été réparties en trois lots [1(n=2), 2 (n=2) et 3 (n=3)] et la population folliculaire de celles-ci a été évaluée sous endoscopie juste avant le début de traitement de superovulation. Toutes les brebis ont été synchronisées avec des éponges intravaginales contenant 40mg de FGA. Pendant les trois derniers jours du traitement progestatif, les lots 1 et 2 ont reçues respectivement des doses décroissantes de 20 UA et 16 UA de FSHp, tandis que le lot 3 a reçu une dose totale de 20UA avec un rapport FSHp/LHp constant de 40%. La fécondation a été réalisée par une double saillie en main à 12 h d'intervalle. Les brebis receveuses ont reçues 500UI d'eCG le jour du retrait de l'éponge vaginale.

Nos résultats montrent que le nombre moyen de follicule (<4mm de diamètre) est de $7,2 \pm 2,12$, $8 \pm 2,83$ et $4 \pm 4,24$ pour les lots 1, 2 et 3 respectivement. La réponse ovarienne en moyenne pour les lots 1, 2 et 3 est respectivement de $2,5 \pm 2,12$, $13 \pm 1,41$ et $4,33 \pm 3,21$. Une corrélation positive ($r=0.63$) a été observée entre la population folliculaire présente sur l'ovaire avant le traitement de superovulation et la réponse ovarienne. Chez l'ensemble des brebis, la récolte chirurgicale a permis d'obtenir un taux de collecte de 52,63 % et un taux moyen d'embryons transférables de 90 %.

L'examen échographique chez les receveuses ayant reçu des embryons frais a révélé un taux de gestation de 40% et un taux de viabilité de 33.33%. Cependant un résultat négatif a été enregistré lors d'un transfert des embryons congelés.

Il en ressort que l'utilisation des doses 20UA et 16UA de pFSH chez les brebis race Hamra permet d'obtenir des résultats satisfaisants en revanche l'administration d'un rapport FSHp/LHp constant de (40%), ne permet pas d'améliorer les résultats de la superovulation.

Mots-clés :

Brebis, Hamra, Follicules, Superovulation, FSHp/LHp, Transfert embryonnaire.

المخلص

استخدام تقنيات نقل و انتاج الأجنة تسمح بتكاثر الإناث ذات القيمة الوراثية العالية والحفاظ على السلالات المهددة بالانقراض. الهدف الرئيسي من دراستنا هو تقييم الاستجابة المبيضية بعد استعمال علاج هرموني pFSH .

تجربتنا شملت 18 نعجة 07ماتحة من سلالة حمر و 11 مستقبلة من سلاسة مختلطة. النعاج الماتحة قُسمت على 03 مجموعات [1 (ن=2) 2 (ن=2) و 3 (ن=3)]. التعداد الجربي لهذه النعاج كان مقبما بواسطة التنظر الباطني قبل العلاج الهرموني.

تمت عمليات التزامن بواسطة انسجة مهبلية مشبعة 40مغ من FGA. في الثلاث ايام الاخيرة من التزامن المجموعتين 1 و 2 تحصلوا على 3 جرع متناقصة من 16 و 20 مغ من pFSH في حين المجموعة 3 تحصلت على جرعة 20مغ بنسبة 40% pFSH /pLH .

التلقيح تم عن طريق عمليتي تزاوج بينهما 12 سا. النعاج المستقبلة تحصلت على 500 و.د. من eCG يوم نزع الانسجة المهبلية.

النتائج توضح ان عدد الجراب المتوسط (أقل من 4 ملم قطرا) هو 2.12 ± 7.2 ، و 2.83 ± 8 .4.24±4. للمجموعات 1, 2, و 3 على التوالي و الاستجابة المبيضية كانت على التوالي 2.12 ± 2.5 , 1.41 ± 13 و 3.21 ± 4.33 . وقد لوحظ ارتباط إيجابي ($r = 0.63$) على عدد الجراب المتواجد على المبيض قبل العلاج الهرموني و الاستجابة المبيضية .

عند النعاج الماتحة تحصيل الاجنة تم بواسطة عملية جراحية تمكن من الحصول على 52.63% كقدرة تحصيل و معدل 90% من الاجنة الصالحة للتحويل.

تشخيص الحمل عن طريق جهاز التصوير فوق الصوتي بعد تحويل الاجنة الحديثة تكشف عن وجود نسبة الحمل تقدر 40% و نسبة حياة مقدر 33.33%. في حين حصلنا على نتيجة سلبية في عملية تحويل الاجنة المجمدة.

نستنتج من هذه التجربة ان الجرعات 20 و 16 مغ يحقق نتائج مرضية لدى النعاج الحمراء في حين استعمال جرعة ذات 40% pFSH /pLH لا تمكن من تحسين الاستجابة.

الكلمات المفتاح :

نعاج, سلاسة, حمرة, جراب, تحويل الاجنة, pFSH /pLH

ABSTRACT

The use of reproductive biotechnology, in particular the production and transfer of embryos allow the multiplication of the female offspring of high genetic value and the preservation of race. our primary objective aims at determining a relationship between the follicular population and the ovarian response after using a different doses of FSHp.

Our experience has involved eighteen (18) ewes, of which (07) donors of Hamra race and (11) recipients of mixed race. The donors ewes were divided into three groups [1(n=2) ,2 (n=2) et 3 (n=3)] and the follicular population was evaluated trough endoscopic examination just before starting the superovulatory treatment. All the ewes were synsynchronised with intravaginal pessaries containing 40 mg FGA for 14 days.

groups1(n=2), 2 (n=2) received decreasing doses of 20 UA and 16 UA OF pFSH enriched with LHp during the last two injections. While group 03 (n=3) of received a total dose of 20 UA and a constant FSH/LH ratio (40%) during the last three days of the progestagen treatment. Receptors ewes received 500UI of PMSG the day of sponge withdrawal.

Our results show that the mean number of follicules (<4mm diameter) was $7,2\pm 2,12$; $8\pm 2,83$ and $4\pm 4,24$ for rams 1,2 et 3 respectively. the ovarian response for rams 1,2 and 3 was respectively $2,5\pm 2,12$, $13\pm 1,41$ and $4,33\pm 3,21$.A positive correlation($r=0.63$) has been found between the follicular population present on the ovaries before the superovulatory treatment and the ovarian response. The recovery rate obtained after surgical recovery was 52.63% for the whole donors. We obtained an average of 90% of transferable embryos.

The ultrasound exam carried out after embryo transfer; reveal a pregnancy rate of 40% and a survaval rate of 33.33%. However a negative result has been registered in the freezed embryo transfer.

We conclude that using 20UA and 16 UA of FSHp in Hamra ewe allow achieving satisfactory results. Furthermore, the administration of a constant FSHp/LHp ratio (40%) didn't allow improving the results of superovulatory treatment.

keywords :Ewe, Hamra, follicular, superovulation, FSHp/LHp, embryo transplantation.

Liste des figures

Partie expérimentale

Figure N°01: Protocole de synchronisation des chaleurs chez les receveuses.....	22
Figure N°02: Protocole de synchronisation/superovulation et collecte des embryons chez les donneuses du lot de 20 mg.....	23
Figure N°03: Représentation graphique Début, fin et durée des signes l'oestrus chez les receveuses.....	27
Figure N°04 : Schéma de montage des embryons en paillette pour une congélation	34

Liste des tableaux

Partie bibliographique

Tableau I : Efficacité comparée de l'IA intra-utérine et exocervicale pour la production d'embryons chez la brebis.....	06
Tableau II : Fertilité et taux de mise bas après un transfert laparoscopique ou chirurgical chez la brebis selon le type d'embryons utilisé.....	10
Tableau III: Variabilité de la réponse au traitement selon la race après un traitement de superovulation.....	12
Tableau IV: Effet de la dose de pFSH utilisée sur la réponse ovulatoire.....	15

Partie expérimentale

Tableau V : Poids, âge et note d'état corporel (NEC) des donneuses.	18
Tableau VI : Poids, âge et note d'état corporel des receveuses.....	19
Tableau VII: Etat de la population folliculaire chez les brebis donneuses.....	25
Tableau VIII: Début, fin et durée des signes d'oestrus chez les donneuses.....	26
Tableau IX: Début, fin et durée des signes l'oestrus chez les receveuses.....	27
Tableau X: Réponse ovulatoire chez les brebis donneuses.....	28
Tableau XI: Réponse ovulatoire chez les receveuses.....	29
Tableau XII : structures collectées chez les brebis donneuses.....	36
Tableau XIII : Taux de collecte d'embryon.....	37
Tableau XIV: Qualité des structures récoltées. Morula , Blastocyste , œuf non fécondé , embryon dégénéré	38
Tableau XV: Taux de fécondité	39
Tableau XVI: Taux des embryons transférables.....	40
Tableau XVII : Taux de gestation.....	40
Tableau XVIII: Taux de viabilité des embryons transférés	42

Liste des photos

Partie bibliographique

Photo 01: Implant sous-cutané.....	02
Photo 02: CIDR®.....	02
Photo 03: Eponge vaginale.....	02

Partie expérimentale

Photo 04: Incisions de la peau.....	22
Photo 04 : Examen endoscopique d'un ovaire de brebis receveuse.....	29
Photo 05: instruments et produits utilisés pour la récolte des embryons.....	31
Photo 06: Montage des embryons en pipette en verre pour un transfert.....	33
Photo 07: dénombrement des corps jaunes après extériorisation de l'ovaire.....	36
Photo 08: Vue d'ensemble de quelques embryons (X 40).....	39
Photo 09: Blastocyste (classe1).....	39
Photo 10: Morula(classe 1).....	39
Photo 11: Œuf non fécondé(classe 4).....	39
Photo 12: image échographique d'une gestation à 40 jours.....	41

Liste des Abréviations

ACTH	: Andreno-Corticotrophine Hormone
ARN	: Acide rébonucléique
CJ	: Corps Jaune
Cm	: Centimètre
eCG:	: equine Chronin Gonadotropin
FGA	: Acétate de fluorogestone
FSH	: Follicule Stimulating Hormon
GMQ	: Gain quotidien moyen
GnRH	: Gonadotrophin Releasing Hormone
HAP	: Horse Anterior Pituitary
HCG	: Human Chorionic Gonadotrophine
IA	: Insémination Artificielle.
IAIU	: Insémination Artificielle Intra-utérine
IETS	: International Embryo Transfer Society
IM	: Intramusculaire
INRA	: Institut Nationale des Recherches Agronomique
IRE	: Intervalle retrait d'éponge
Jrs	: Jours
Kg	: Kilogramme
LH	:Luteinizing Hormon
MAP	: Medroxyprogesterone
Mg	:Milligramme
MHZ	: Mégahertz
MI	: Millilitre
Mm	: Millimètre
Nbre	: Nombre
NEC	: Note d'état corporel
NIH	: National Institute of Health
oFSH	: ovine Follicule Stimulating Hormone
P.B.S	: Phosphate Buffered Saline
pFSH	: porcine Follicule stimulating hormone
PGF2 α	: Prostaglandin F2alpha
pLH	: porcine Luteinizing Hormon
PMSG	: Pregnant Mare Serum Gonadotrophine
UA	: Unité Armor
UI	: Unité Internationale
ZP	: Zone pellucide

Introduction

Le cheptel ovin occupe une place importante dans l'économie nationale, son effectif est estimé à 18,5 millions têtes dont près des 2/3 sont des femelles (MADAR, 2005).

Parmi les principales races locales à standard défini, La race Hamra est connue par sa bonne conformation bouchère (gigot petit est arrondi, côtelette fine) et sa viande d'excellente qualité (Chellig, 1992). Cette race est bien adaptée aux plateaux steppiques, souvent très froids ou excessivement chaud, elle est résistante mais exigeante en qualité de pâturage. Selon un rapport réalisé sur les ressources génétiques animales (MADAR, 2003), l'effectif de cette race ne cesse de régresser. En effet, celui-ci qui était évalué à plus de 2.500.000 têtes dans les années 80, n'est actuellement que d'environ 55.800 têtes. Cette régression de l'effectif Hamra serait due à la productivité numérique moyenne et la productivité pondérale faible par rapport aux autres races locales (Chellig, 1992).

Les méthodes de biotechnologie de la reproduction en particulier la superovulation et le transfert embryonnaire, sont des outils indispensables pour la mise en œuvre des programmes de conservation des espèces qui sont en voie de disparition.

La super ovulation est une méthode d'induction d'une poly-ovulation chez la brebis pour produire plusieurs embryons de haute valeur génétique, elle se pratique par un traitement classique de synchronisation des chaleurs et de stimulation des fonctions ovariennes par une variété de préparation hormonale à activité gonadotrope (Baril., 1993). Les plus appropriées sont les extraits hypophysaires dits « FSH porcine, FSH ovine » car elles permettent d'avoir un taux élevé d'ovulation et des embryons de très bonne qualité (Brebion et al, 1991). En effet, la dose totale de FSH administré varie de 16 à 20 mg Armour. Cette variation de dose dépend du type de préparation commerciale de FSH utilisé et des caractères génétiques de la race (Baril et al, 1993).

Cependant, la réponse au traitement de super ovulation reste le facteur limitant essentiel du transfert embryonnaire surtout en termes de nombre d'embryons produits par brebis traitée. Le principal facteur limitant cette réponse est l'état de la population folliculaire ovarienne au moment où débute la stimulation gonadotrope (Gonzalez-Bulnes et al., 2000).

Afin que la superovulation se fasse avec le maximum d'efficacité et qu'elle soit bien maîtrisée chez les différentes races locales, nous avons voulu par le biais de ce modeste travail mettre en évidence d'éventuelle relation entre la population folliculaire présente sur l'ovaire avant le traitement superovulatoire et la réponse ovarienne après utilisation de différentes doses de FSHp.

Partie
Bibliographique

Chapitre I

*Les techniques de production,
congélation et transfert des
embryons chez les ovins*

I. INTRODUCTION:

Ces dernières décennies ont été les témoins de l'industrialisation de quatre générations de biotechnologies de la reproduction. La première a été l'insémination artificielle, puis un second niveau a été franchi avec la production et les transferts d'embryons produits *in vivo*. Cette dernière a représenté une étape essentielle pour faciliter la propagation du matériel génétique possédant des caractéristiques recherchées. La troisième génération, nous avons connu les embryons fécondés *in vitro*, le sexage de la semence, le prélèvement d'ovocytes *in vivo* par ponction folliculaire (OPU) et le clonage. Au stade actuel, il est devenu possible de supprimer ou d'ajouter certains gènes fonctionnels spécifiques dans le génome de la descendance, en recourant à la transgénèse combinée aux puissantes techniques de biologie moléculaire utilisant les ARN interférents et celle-ci présente la quatrième génération de la biotechnologie (Mackenzie, 2005).

Dans ce chapitre nous n'aborderons que les techniques de productions, congélation et transfert des embryons *in vivo*.

II. Production et transfert d'embryons *in vivo* :

Ces techniques comportent les étapes suivantes :

- Synchronisation des chaleurs.
- Induction de la superovulation.
- Récolte d'embryons.
- Tri et sélection d'embryons.
- Conservation et congélation des embryons.
- Transfert d'embryons.

II.1. Synchronisation de l'œstrus :

La synchronisation des chaleurs est la maîtrise du cycle sexuel ou déclenchement du cycle œstral à un moment désiré chez une femelle cyclique ou non (Chemineau et al., 1991). Deux agents sont fréquemment utilisés pour synchroniser l'œstrus dans le protocole de superovulation chez les petits ruminants, ce sont les progestagènes et les prostaglandines.

II.1.1. Progestérone et progestagènes :

La progestérone ou ces analogues, dits, progestagènes sont administrés oralement, sous forme d'implants sous-cutanés (Cf. photo 01), par moyens des CIDR® (Controlled Internal Drug-Releasing Device) (Cf. photo 02) et des éponges intravaginales (Cf. photo 03) (Hansel et

Convey, 1983), d'autres voies sont possibles comme l'injection ou encore l'addition dans l'aliment (Courot et Volland-Nail, 1991).

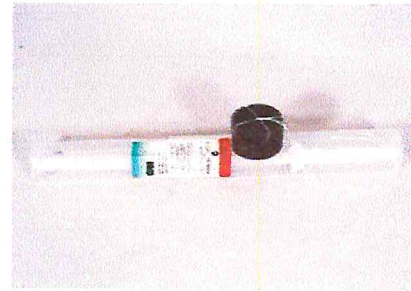


Photo 01: Implants sous-cutanés.

Photo 02: CIDR®.

Photo 03: Eponge vaginale.

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) (Whitley et Jackson, 2004).

Ces produits exercent un feed-back négatif sur la sécrétion de LH et donc l'ovulation est inhibée (Hansel et Convey, 1983). Cependant, au retrait du traitement de progestérone ou de ses analogues, la croissance folliculaire, l'œstrus et l'ovulation sont obtenus au bout de 2 à 8 jours (Gordon, 1975; Hansel et Convey, 1983). L'ovulation est normalement déclenchée 54 h après la fin du traitement (Walker et al, 1986) et l'apparition de l'œstrus se fait dans les 48 h qui suivent le retrait (Casamitjana, 2006).

- **FGA seules :**

La synchronisation des chaleurs et des ovulations en élevage ovin se pratique habituellement avec deux types d'éponges: des dispositifs imprégnés de 30 mg d'Acétate de fluorogestone (FGA) pour une utilisation en contre-saison sexuelles et des éponges dosées à 40 mg de FGA en saison sexuelle (Ninot et al., 2007). Environ 36 heures après le retrait de l'éponge, 14 jours après son insertion, les brebis viennent en chaleurs (Castonguay, 1996).

- **ASSOCIATION FGA, PMSG:**

Au retrait de l'éponge, on pratique une injection de PMSG. L'arrêt du traitement de PMSG provoque 24 à 48 h plus tard l'apparition des chaleurs, accompagnées de l'ovulation Chez la

femelles traitée, l'injection de PMSG permet le groupage plus précis des ovulations et, selon la dose, l'augmentation du nombre d'ovules pondus (Gilbert et al., 2005).

Dans le cas de brebis en anoestrus saisonnier, l'éponge vaginale joue le rôle d'un corps jaune artificiel. Au retrait de l'éponge, l'injection de la PMSG complète la faible décharge des hormones hypophysaires. Un cycle nouveau débute alors il est rarement suivi d'un deuxième cycle si les animaux sont en état d'anoestrus profond (Gilbert et al., 2005).

II.1.2. Les prostaglandines :

1. PGF₂ α :

L'utilisation des prostaglandines pour la synchronisation des chaleurs se fait à travers 2 injections espacées de 9 j à 11 j chez les femelles cyclées mais la réponse à ce traitement est assez variable. Au Maroc, l'utilisation des PGF₂ α chez des brebis D'man et Timahdite donne un pourcentage de réponse (œstrus) de 65 % et 47 % (Tibary et Manar, 1998).

2. PGF₂ α +GnRH:

Chez les brebis dans un traitement de synchronisation des chaleurs avec PGF₂ α , le meilleur moment pour injecter la GnRH se situe vers 48 h après la 2ème injection de PGF₂ α , de façon à éviter une ovulation précipitée et ainsi permettre une pleine maturation des follicules ovulatoires (Castonguay et al., 1996).

II.2. La superovulation :

Le taux d'ovulation des femelles peut être légèrement augmenté pour améliorer leur prolificité naturelle, ou fortement stimulé (c'est la superovulation) 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 (Courot et Volland-Nail, 1991).

II.2.1. Les molécules utilisées dans les traitements de superovulation chez la brebis :

Différentes molécules sont utilisables pour la stimulation folliculaire :

II.2.1.1. PMSG:

Elle a été la première hormone gonadotrope utilisée pour la superovulation, elle s'appelle aussi eCG (equine chorionic gonadotropine) c'est une gonadotropine sécrétée par les cupules endométriales de la jument gravide à partir du 35ème jour de gestation, sa demi vie est de quelques heures chez la brebis (Lyngset, 1964). L'activité de cette molécule est à la fois FSH et LH (Mori et kano, 1984). Son administration se fait par voie intramusculaire en une seule

injection de 1000 à 2000 UI ,1 ou 2 jours avant le retrait de l'éponge vaginale(Cognie., 1984). Mais son utilisation se heurte à plusieurs inconvénients :

- Une grande variabilité individuelle dans les réponses ovariennes.
- Une perturbation dans les mécanismes physiologiques de la reproduction après l'utilisation de doses élevées.

II.2.1.2. FSH(follicule stimulating hormone) :

Est l'hormone de croissance folliculaire d'origine hypophysaire, c'est une glycoprotéine de taille moyenne (30 000 Daltons) pauvre en acide sialique (5%) sa demie vie et donc courte par rapport a la PMSG ,4 à 6 heures chez la vache (Del compo et al., 1985) et seulement 20' à 70' chez la brebis (Akbar et al ; 1974).

Leurs concentration atteint une valeur maximale 3 heures après leur injection et ne sont plus décelables 12 heures après l'injection .Leur utilisation répété n'entraîne pas la formation d'anticorps contrairement à la PMSG .La dose recommandable chez les ovins et les caprins varie entre 16 et 20 mg Armour (Brebion et al 1992) ,l'expression des chaleurs aura lieu 16 à 48 heures après le retrait de l'éponge (Gibbons et Cueto., 1995)et les premières ovulations sont observées 58.4 ± 5.6 heures après retrait de l'éponge et environ 6 heures s'écoulent entre la première et la dernière ovulation (Evans et Armstrong ,1984).

Les préparations utilisées dans les protocoles de superovulation sont:

II.2.1.2. 1/pFSH:Extraites de broyats d'hypophyses de porcs. Ce dernier étant l'espèce la plus intéressante pour la préparation d'extraits pituitaires du fait de la grande disponibilité en hypophyse et surtout leurs teneurs élevées en hormones. Les différentes FSHp varient en fonction de leurs procédés d'extraction et surtout de leurs degrés de purification, c'est à dire leurs rapports FSH/LH (Lefeuvre, 1992).

Elle se présente sous différentes formes commerciales :

- **FSH "INRA"** : caractérisé par une méthode de purification qui permet l'obtention d'un produit dont le rapport FSH/LH peut être modulé et fixé.Cette préparation est commercialisée sous forme de 3 flacons le premier contenant 32 UA de FSH en poudre, le second de la LH pour faire FSH/LH =1, et le troisième contenant le solvant(Driancourt et al.,1988).
- **FSH "STIMUFOL"**: elle présente la particularité d'être très purifiée contenant moins de 0.5% de LH.Elle est prête à l'emploi, c'est à dire dans les flacons contenant différents rapport FSH/LH nécessaire aux besoins de l'expérience(Beckers et al., 1977).

- **Follitropin**: commercialisée au Canada et contient moins de 5% de LH (Armstrong et Opawsky, 1986) .Elle se présente sous la forme d'un flacon de 20mg de poudre lyophilisée accompagné de 20ml de solvant.

II.2.1.2. 2/oFSH : ce sont des extraits de broyats d'hypophyses d'ovins, la réponse ovulatoire peut varier avec les préparations. Cette molécule présente l'avantage que les traitements répétés ne sont pas associés avec diminution significative de la réponse ovulatoire (Baril et al., 1993).

II.2.3. HAP: (Horse anteriorpituitary) c'est un extrait pituitaire équin qui a reçu des résultats importantes en superovulationcaprine, ceux-ci ne sont pas meilleurs qu'avec la PMSG ,sa difficulté d'obtention est responsable de sa moindre compétitivité par rapport a la PMSG et la FSH (Boris ,1999).

II.3.La fécondation :

Après la synchronisation et lasuperovulation, succèdent les méthodes de lutte. Deux méthodes peuvent être appliquées: l'insémination artificielle et/ou la saillie naturelle. Selon(Baril et al., 1993), La fécondation des donneuses fait le plus souvent appel aux techniques de l'insémination artificielle, permettant de valoriser la semence des mâles dont la valeur génétique est élevée. La saillie naturelle présente des avantages mais ne permet pas une diffusion et une utilisation rationnelle des mâles de haut niveau génétique.

Il est clairement démontré que le transport et la survie des spermatozoïdes dans les voies femelles peuvent être perturbés après traitement progestatif associé à l'induction de la superovulation(Evans et Armstrong, 1984).

II.3.1. La saillie naturelle :

Au cours de la saison sexuelle, la saillie naturelle est utilisée avec succès chez les ovins, 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.Mais cette technique n'est pas dénuée d'inconvénient tel l'entretien des béliers, qui doivent être très nombreux dans l'élevage.En contre saison, la faiblesse ou l'absence de libido des mâles ne permet pas d'être assurer de leurs aptitudes à la saillie et du pouvoir fécondant de la semence qui est plus faible durant cette période (Baril et Vallet,1990).

II.3.2. L'insémination artificielle:A causes de ses caractéristiques anatomiques, le col utérin de la brebis ne peut pas être franchi à l'aide du pistolet d'insémination. Il est donc nécessaire

de déposer la semence à l'entrée du col « insémination cervical », ou au fond du vagin « insémination vaginale » c'est se qu'on appel « insémination exocervicale ». Une solution alternative existe avec l'insémination intra-utérine. Ce type d'insémination est réalisé à l'aide d'un endoscope « insémination intra-utérine (IAIU) ». De faibles quantités de semence sont mises en place directement dans chaque corne utérine à l'aide d'un matériel spécifique. Cela nécessite la mise en œuvre d'une technique de type chirurgicale avec le matériel adéquat ; les animaux doivent être mis à la diète totale pendant au moins douze heures avant l'insémination artificielle (Evans et Armstrang., 1984). L'IAIU a lieu 48 à 60 heures après la fin du traitement progestatif (Baril et al., 1993). Cette méthode permet d'obtenir des taux de fécondation élevés chez les donneuses ayant moins de 30 ovulations (Cf ; Tableau I) (Congnie et Baril, 2002).

Tableau I: Efficacité comparée de l'IA intra-utérine et exocervicale pour la production d'embryons chez la brebis.

	IA exo cervicale	IA intra-utérine
Heures d'IA post retrait	48+60	48
Embryons fécondés (%)	77	93
Nbr de femelles collectées	3.5	6.7
Nbr de femelles traitées	3.2	5.7

II.4. Collecte d'embryons in vivo:

La récolte des embryons est réalisée entre le 06 et le 08^{ème} jour après le début de l'œstrus (Vallet et al., 1991). La congélation des embryons n'est bien maîtrisée que pour les embryons des stades morula compacté et blastocyste, soit le 06^{ème} et le 07^{ème} jour après l'ovulation (Chemineau et al., 1999).

En raison de la difficulté de franchir le col de l'utérus et de l'impossibilité de manipuler les cornes par palpation rectale, la récolte ne peut se faire que par laparotomie abdominale (collecte chirurgicale) ou sous contrôle endoscopique (collecte par laparoscopie) (Brebion et al, 1991).

II.4.1. Technique chirurgicale :

Cette technique permet de collecter des embryons au niveau des oviductes ou au niveau des cornes utérines. Les embryons encore en migration dans l'oviducte peuvent être collecté en injectant le milieu de collecte (PBS) au niveau de la jonction utéro-tubaire. Ce procédé permet de flasher les cornes utérines (Vallet et al., 1991).

Cette méthode de récolte est la plus utilisée en raison du taux de collecte élevé observé ; néanmoins, ce taux diminue après répétition de la manipulation sur le même sujet. En effet, on voit apparaître, suite à l'opération, des adhérences sur l'utérus, les oviductes et les ovaires. Le taux d'embryons collecté est de 70 à 90% (Torres et Sevellec, 1987).

II.4.2. Technique non chirurgicale (laparoscopique):

Cette technique fut développée afin d'améliorer les possibilités de répétition de la collecte chez les femelles donneuses permanentes (Baril et al., 1993). 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 dans l'abdomen du sujet (Vallet et al., 1991).

Il a été observé que le taux de collecte obtenu par cette technique (endoscopie) est 10 à 15 % inférieur à celui obtenu par la technique chirurgicale. Toutefois, l'avantage principal de ce procédé est répétitive sur le même sujet sans diminuer le taux de collecte d'embryons (Vallet et al., 1991). De plus, les brebis récupèrent rapidement après l'intervention (Youngquist, 1997).

II.5. Méthode de tri et de sélection des embryons:

Une fois les embryons récoltés dans leur milieu, il est important de les observer à la loupe binoculaire afin de vérifier leurs qualités et l'adéquation entre leur stade de développement et la date de récolte.

Une fois le stade de développement identifié, il faut estimer la qualité de cet embryon (Robertson et Nelson, 1998). Ceci permet de fournir un pronostic sur sa viabilité. La qualité est estimée en observant la forme globale de l'embryon (sphérique), s'il est symétrique, si l'ensemble des cellules le composant sont de taille uniforme, la couleur de l'embryon, et finalement sa texture (Lindner et Wright, 1983). L'IETS (International Embryo Transfer Society) a donnée 4 niveaux de qualité possibles (Robertson et Nelson, 1998):

- **Qualité 1 : (Excellent ou bon):**

L'embryon est symétrique et sphérique, ses blastomères sont uniformes en taille, couleur est dense. Le stade de développement et en adéquation avec la date de récolte. Au moins 85% des cellules le composant doivent être intactes, et rattachées à la masse cellulaire (on estime le nombre de cellules extrudées dans l'espace péri vitellin). La zone pellucide doit être lisse et sphérique.

- **Qualité 2 : (Satisfaisant):**

Irrégularités modérées concernant la forme globale de l'embryon, la taille, couleur ou densité de ses cellules. Au moins 50% de sa masse cellulaire doit être intacte.

▪ Qualité 3 : (Insuffisant):

Irrégularités majeures concernant la forme de l'embryon, la taille, couleur ou densité de cellules. Au moins 25% de sa masse cellulaire doit être intacte.

▪ Qualité 4 : (Mort ou dégénéré):

Embryon dégénéré (développement arrêté), ovocytes non fécondés ou embryon non segmenté.

II.6. Conservation des embryons :

Il existe un délai plus ou moins long entre la récolte d'un embryon et son transfert chez une receveuse. La conservation des embryons durant cette période peut se faire soit à température ambiante (conservation au frais), soit à +4°C (conservation réfrigérée), soit à une température stoppant toute réaction chimique : -196°C (conservation par congélation) après cryoconservation (congélation lente) ou vitrification des embryons.

II.6.1. Technique de congélation lente :

La congélation lente, est une technique de cryoconservation dont le principe est l'équilibration progressive entre les cryoprotecteurs et le compartiment aqueux de l'embryon (Guignot, 2005). Elles donnent des résultats très reproductibles et qui sont à peine inférieures à ceux obtenus après transfert des embryons frais environ 10 à 15% de moins (Hasler, 2001). Elle se déroule selon les étapes suivantes :

- Équilibrer l'embryon dans sa solution de PBS.
- Conditionner la solution PBS-glycérol renfermant l'embryon dans une paillette de 0.25 ml.
- Transférer la paillette dans le biocongelateur, où elle va refroidir jusqu'à -7°C à la vitesse de 1 à 3°C par minute et maintenue pendant 5 à 7 minutes à cette température pour la stabiliser.
- Cristallisation par seeding. Pour ce fait on heurtera la ou les paillettes ou le liquide de refroidissement au moyen d'une pince.
- La paillette est refroidie de -7°C à -35°C à raison de 0.3 à 0.6°C par minute. la paillette est plongée dans l'azote liquide à -196°C (Hanzen, 2009).

II.6.2. Technique de vitrification :

Technique de non équilibre à la différence de la congélation lente ; elle permet d'éviter au maximum la formation des cristaux de la glace au cours du refroidissement en transformant la

phase liquide du cytoplasme cellulaire en phase solide encore appelée «état vitreux» (Guignot, 2005).

Ces techniques sont loin d'être utilisées sur le terrain. Par contre elles sont pratiquées en laboratoire en routine, sur des embryons bovins et ovins, notamment, afin de tester différentes conditions de production in vitro d'embryons (Rizos et al., 2001), également pour des embryons issus de clonage (Peura et al, 2001).

II.7. Transfert des embryons :

Le transfert d'embryons au stade morula ou blastocyte est effectué dans l'utérus d'une femelle receveuse dont l'utérus a été préalablement synchronisé par traitement hormonal, avec celui de la donneuse. Cette opération est réalisée très rapidement (3 minutes par receveuse) par laparoscopie.

II.7.1. Transfert chirurgical

La préparation de l'animal et son anesthésie /tranquillisation sont les mêmes que celles de la collecte chirurgicale. L'abord utérin se fait par une laparotomie au niveau de ligne blanche. Une fois repéré, l'utérus est manipulé de sorte à pouvoir observer les deux ovaires et déterminer celui qui porte un corps jaune (Youngquist, 1997). On placera les embryons dans le dernier tiers de la corne ipsilatérale au corps jaune. Une fois les embryons transférés, l'utérus est remis en position physiologique et la paroi abdominale est suturée (Vallet et al., 1991).

II.7. 2. Transfert laparoscopique

Selon (Youngquist, 1997) cette technique se résume à :

- ❖ Mettre l'animal en décubitus dorsal la tête placée vers le bas, puis création d'un pneumopéritoine en insufflant du CO₂.
- ❖ Incision de la peau 2 à 3 cm de part et d'autre de la ligne blanche cranialement à la mamelle ; une incision servira à l'introduction de l'optique et l'autre à la pince atraumatique qui permet de saisir la corne ipsilatérale au corps jaune fonctionnel repéré.
- ❖ Ponctionner la paroi utérine à l'aide d'une aiguille de 14 gauge juste cranialement à la pince atraumatique
- ❖ Dépôt des embryons dans la lumière utérine à l'aide d'une pipette en verre reliée à une seringue à insuline

- ❖ A la fin de l'intervention ; on procède à la suture des deux incisions de la paroi abdominale.

A la suite du transfert de 2 embryons frais par receveuse synchronisée la fertilité est comprise entre 70 et 80%, la survie des embryons chez les receveuses fertiles étant de 80%, la survie moyenne de l'embryon frais est de 65% (Cf ;Tableau II). Pour un embryon décongelé et jugé viable, la survie globale est de 50-55% (Vallet et al, 1991).

Tableau II : Fertilité et taux de mise bas après un transfert laparoscopique ou chirurgical chez la brebis selon le type d'embryons utilisé.

Taux	Embryons	Transfert		Auteurs
		Laparoscopique	Chirurgical	
Gestation	Frais	80%	88%	Brebion et al, 1991
	Congelés	90%	45%	
	Frais	38.9%	/	Naohisa et al, 1997
	Congelés	26.3%	/	
Mise bas	Frais	33.3%	/	1997
	Congelés	26.3%	/	

Chapitre II

*Facteurs de variations et limites
de la production et du transfert
des embryons chez la brebis*

I. FACTEURS DE VARIATION ET LIMITES DE LA PRODUCTION ET DU TRANSFERT DES EMBRYONS CHEZ LA BREBIS:

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 provoquer une variabilité de la réponse au traitement hormonal (Cognié, 1999). En effet, Les faibles réponses au traitement FSH chez les femelles superovulées (20 % de brebis présentent <5ovulations) constituent un facteur limitant du transfert embryonnaire (Cognié et Baril, 2002). La variabilité est liée à des facteurs intrinsèques de l'animale aussi bien qu'extrinsèques (Baril et al, 1993 ; Cognié ,1999).

I.1. Facteurs intrinsèques:

Le facteur intrinsèque de chaque animal joue un rôle primordial dans la réponse au traitement de superovulation (Donaldson ,1984).

1. L'âge :

L'âge de l'animal peut constituer un facteur limitant compte tenu du fait que le nombre de follicules qui quittent la réserve diminue avec celui-ci (Hanzen , 2008).En revanche, les résultats rapportés par (Forcada et al., 2000 ; Simmoneti et al., 2008 ; Bartlewski et al., 2008) montrent que la réponse ovulatoire est plus importante chez les brebis adultes par rapport a celles des plus jeunes.

L'âge peut influencer aussi sur la qualité et la survie des embryons. En effet, selon Dingwall et al, 1993, la qualité et la survie des embryons étaient inférieurs chez les brebis plus jeunes. Wolf et Mylne ,1994, n'ont trouvés aucune différences dans les taux d'ovulations et de récolte d'embryons pour les brebis Texel âgées et celles d'un an, mais la qualité d'embryons et leur survie ont tendance a être inférieures chez les donneuses plus jeunes.

2. La race :

Il apparaît que l'on n'obtient pas les mêmes résultats de superovulation chez toutes les races (Cf ;tableau III), cela a été montré par Armstrong et Evans (1983) qui ont constatés que les brebis Romney Marsh présentent une plus faible réponse au traitement pFSH, par rapport aux brebis de race Mérinos. De plus, l'administration de 16 mg de FSH porcine, la réponse ovulatoire des brebis de race Lacaune est inférieure à celle des brebis prolifiques Romanov x Préalpe (Torres et al., 1984). L'effet de race peut s'expliquer par le fait que les follicules des brebis prolifiques atteignent leur maturité à un diamètre inférieur à ceux des brebis non-prolifiques (Castonguay et al, 1996).

Tableau III: Variabilité de la réponse au traitement selon la race après un traitement de superovulation.

Race	Type de traitement	Nbre d'ovulation	Nbre d'embryons	Auteurs
Rombouillet	FSH/LH	27	/	Sam et al., 2008
Rombouillet	pFSH	9,4 ±2,4	05	Naqvi et Gulyani .,1999
Santa Inês	pFSH	10,6± 1,0	5,2 ±08	Cordeiro et al., 2002
Mérino espagnol	pFSH	9,5± 06	/	Gonzalez et al ., 2000
Sarda	pFSH	8,05 ±3,8	4,9 ±1,03	Giovanni et al., 2001
Targhée X Rombouillet	FSH/LH (10%)	16±0,5	/	Anna et al., 2007
Manchega	pFSH	11,1± 1,1	4,3± 1,4	Gonzalez et al.,2003
Corriedale	oFSH	6,2 ±1,1	1,4 ±0,4	Simonetti et al .,2008
Manchega	FSH /anti GnRH	9,6±0,9	/	Lopez Alonso et al ., 2005
Lacaune	pFSH	12 ±1,5	/	Torres et al ., 1984

3. Le nombre et taille de follicules :

Chez la brebis, le problème majeur en ce qui concerne la superovulation est l'extrême variabilité de la réponse ovulatoire, qui est évidente au sein d'animaux tous traités par les mêmes produits (Brebion et al ., 1992). Mais une part importante de la variabilité individuelle à la réponse ovulatoire après traitement gonadotrope est attribuable à l'état ovarien au début de traitement à la FSH (Baril et al ., 1993).

Chez la brebis superovulée, le nombre d'ovulations est positivement corrélé ($r=0,7$) au nombre de petits follicules (1-2 mm) (Gibbons et Cueto, 1995) et négativement affecté par la présence de gros follicules (> 6 mm) présents sur les ovaires au début de la stimulation gonadotrope (Brebion et al., 1992 ; Gonzalez-Bulnes et al ., 2002; Bartlewski et al., 2008) ou par la présence/absence de corps jaunes au début et/ou pendant le traitement de superovulation (Gonzalez-Bulnes et al., 2002).

Les mêmes constatations ont été signalées par (Gonzalez-Bulnes et al ., 2003) qui rapportent que le nombre total de follicules (2 à 4 mm de diamètre) dans l'ovaire au début du traitement (9.1 ± 0.7) a été positivement corrélé avec le taux d'ovulation ($P < 0.05$, $r = 0.591$), avec le taux de récolte et le nombre d'embryons viables.

Selon Gibbons et Cueto, 1995, la possibilité d'effectuer une préobservation laparoscopique permet de refuser le traitement des femelles ayant un petit nombre de follicules.

1. 2. Facteurs extrinsèques:

1. La saison sexuelle :

La saison sexuelle influe également sur le nombre moyen d'œufs par brebis, ce nombre a été plus élevé dans la saison de reproduction par rapport à la période d'anoestrus (Torres et al., 1984). 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 (Baril et Vallet, 1990).

2. L'alimentation :

Il est connu que l'incidence des ovulations multiples et des naissances multiples chez les ovins pourrait être augmentée par l'amélioration du niveau nutritionnel avant et durant la lutte ; ceci constitue le flushing. Deux effets indépendants sont impliqués : premièrement, l'incidence des ovulations multiples est positivement associée au poids vif à la lutte. C'est l'effet statique du poids vif. Deuxièmement, cette incidence est améliorée par l'augmentation du poids vif avant la lutte. C'est l'effet dynamique du poids vif (Khaldi, 1984).

Il est constaté que les brebis souffrant de sous alimentation durant le traitement de superovulation pourraient présenter un effet de lutéolyse prématuré du corps jaune (Jabbour et al., 1991).

3. La molécule utilisée :

Selon Driancourt et Fry, 1992, le facteur de variation le plus important est le traitement hormonal lui-même et les résultats obtenus dépendront du type d'hormone utilisée. Comparativement à l'eCG, l'utilisation de la FSHp permet l'obtention d'un grand nombre d'ovulations et d'embryons transférables (Cognie, 1984), probablement à cause de la forte activité LH de l'eCG (Cognie et Baril, 2002). Aussi, le traitement superovulatoire avec un cocktail eCG/FSH augmente la réponse ovarienne par rapport au traitement avec la FSH seule (Leoni et al., 2001).

La différence dans la réponse ovarienne entre ces deux gonadotrophines peut en grande partie être attribuée à la différence dans l'activité et demi-vie biologique (approximativement 5h pour FSH, par opposition 20h pour eCG). Ceci signifie que FSH peut être dégagé de la circulation plus rapidement comparé à l'eCG. (Ishwar et Memon, 1996 ; Holtz, 2005).

4. La dose et régime de traitement:

L'induction de la superovulation est tributaire de la dose de FSH administrée (Chupin, 1988). L'efficacité de la dose totale varie selon la préparation hormonale qui pourrait être déterminé à l'aide d'une courbe doses et réponse. Selon Baril et al (1993) la dose optimale semble comprise entre 12 et 20 mg de pFSH. Torres et al., 1984, rapportent que les brebis prolifiques Romanov, Préalpes présentent une meilleure réponse avec une dose de 16mg de pFSH, et des réponses médiocres avec des doses de 20mg. Selon Lopez et al (1990) de meilleurs résultats sont obtenus chez des brebis de race Manchega avec une dose de 16mg en 6 injections qu'avec 4 injections. En revanche, Rexroad et al (1991) rapportent que pour une dose de 20mg le meilleur rythme d'administration est 5 injections avec retrait des implants de synchronisation à la 3^{ème} injection. D'autres auteurs avec d'autres protocoles rapportent de très bons résultats avec une dose 18mg répartie sur 4 jours, c'est le cas d'Armstrong et al (1983) et avec une même dose répartie sur 3 jours (Nuti et al., 1984).

Et selon Torres et al (1984) l'administration de 4 injections constantes et décroissantes affecte la réponse ovulatoire, les 2 traitements ont donné 6.7 ± 3.6 et 10.1 ± 6.4 ovulations respectivement.

Les résultats obtenus (en termes de taux de production d'embryons) en utilisant les doses précédemment citées sont étroitement lie au génotype de la brebis donneuse. Ces mêmes doses peuvent être insuffisantes pour certaines races, et excessives pour d'autres (Cf ;tableau IV).

Tableau IV: Effet de la dose de pFSH utilisée sur la réponse ovulatoire.

Doses de FSH (mg)	durée de mise de l'éponge (jrs)	Nombre de corps jaune	Auteurs
10	14	11,5	Gonzalez et al 2002
10	14	9,6 ±0,9	Lopez Alonso et al ; 2005
15	14	8.3 ± 12.5	H. N. Jabbour et al; 2006
16	14	9±1,5	Torres et al ; 1987 ;(a)
16	14	12±1,5	Torres et al ; 1987 ;(b)
16	14	19±1,5	Torres et al ; 1984 ;(c)
20	12	6±4,5	Hiroko et al ; 1998
20	14	11	Brebion et al ;(1990)
20	16	11,5± 1,6	Rexroad et powell (1991)
20	16	12,1±2,3	Rexroad et Powell (1991)
24	12	8,9 ±5,8	Anna et al ; 2007(d)
24	15	1,6 ±0,5	Anna et al ; 2007(e)

5. Rapport FSH/LH :

Dans les conditions physiologiques le rapport FSH/LH évolue au cours du cycle avec une diminution à l'approche de l'ovulation (Bono et al., 1983). Par ailleurs, si le rapport FSH/LH est trop faible par excès de LH, l'ovulation se trouve prématuré et les résultats sont moins bon (Murphy et al., 1983). Inversement si le rapport FSH/LH est trop faible par manque de FSH, l'œstrus est retardé et les résultats baissent (Gonzalez- Bulnes ,1984), l'activité FSH doit nettement prédominer sur celle de LH en début du traitement . Un enrichissement en LH semble en revanche nécessaire en fin de traitement (FSH/LH inférieur a 0.4) conditionnant l'induction des ovulations (Cognié et al., 1986). Il convient donc pour avoir les meilleurs résultats possibles de bien contrôler l'évolution de ce rapport jusqu'à l'ovulation (Cognié et al., 2003).

Certains travaux ont montrés que l'utilisation de pFSH avec des doses décroissantes enrichies en pLH lors des deux dernières injections du traitement permettait d'obtenir une meilleure stimulation ovarienne qu'avec des rapports constants (Baril et al., 1988 ; Cognié et al., 1986) Cependant, l'utilisation d'un rapport constant de FSHp/LHp (40% pLH) permet l'obtention d'un grand nombre d'ovulations et d'embryons transférables (Nowshari et al., 1993; Giovanni et al ., 2001)

6. Répétition des traitements de superovulation :

Chez la brebis ,avec un intervalle de 2 mois entre traitement pFSH successifs ,une diminution significative de la réponse n'est observée qu'à partir du quatrième traitement (Brebion et al ;1991).Bien que non clairement identifiée chez les ovins ,l'apparition d'anticorps anti-FSH pourrait être la cause de cette diminution de la réponse comme cela à été montré chez la brebis traité de façon répétitive avec pFSH ,chez la quelle une forte corrélation négative existe entre le titre d'anticorps et le nombre d'ovulation (Remy et al ;1992) .En revanche , Forcada et al, (2000) rapportent qu'aucune diminution significative de la réponse n'a été observée chez la brebis de génotype croisé hyperprolifique Boorola×Romanov traitée 6-7 fois a intervalles de 60 j par 20 mg pFSH, .

7. Technique d'insémination et de récolte :

La technique d'insémination, naturelle ou artificielle joue un rôle important sur le taux de fécondation des ovocytes, donc sur le rendement d'embryon transférable. Le succès de la fécondation des ovocytes est en partie limité par la variabilité du moment de l'ovulation par rapport à l'insémination artificielle (Cognie et Baril, 2002).

Partie
Experimentale

Objectifs

OBJECTIFS

Les méthodes de biotechnologie de la reproduction en particulier la superovulation et le transfert embryonnaire (MOET), sont des outils indispensables pour la mise en œuvre des programmes de conservation des espèces qui sont en voie de disparition, comme elles sont des méthodes de choix qui permettent d'accélérer le progrès génétique. Dans cette optique l'objectif de la présente étude est :

- ❖ D'établir s'il existe une relation entre la population folliculaire et la réponse ovarienne après un traitement de superovulation.
- ❖ D'évaluer la réponse ovarienne et la qualité des embryons produits après utilisation de trois traitements de superovulation à base de FSHp.
- ❖ Maîtrise des techniques de congélation et de transfert des embryons.

Chapitre I :
Traitements de synchronisation
et de superovulation

CHAPITRE I : TRAITEMENTS DE SYNCHRONISATION ET DE SUPEROVULATION

I. Le lieu et la période de l'expérimentation :

Notre expérimentation s'est déroulée au niveau de la station expérimentale de l'université « Saad Dahleb » Blida, pendant la période allant du 11 novembre 2008 jusqu' au 20 mai 2009.

II. MATERIEL ET METHODES :

II.1. Matériel :

II.1. 1. Animaux :

1. Les brebis :

Un échantillon de 18 brebis vides a été sélectionné, dont sept (7) brebis donneuses de race Hamra et onze (11) brebis receveuses de race croisées.

1. Les brebis donneuses:

Les renseignements relatifs à l'identification des brebis donneuses sont reportés dans le tableau ci-dessous.

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

brebis	Poids (Kg)	Age (mois)	NEC
D1	45	42	2,5
D2	45	36	2,5
D3	47	42	2,5
D4	38,5	18	2
D5	35	18	2
D6	51	42	3
D7	45	30	2.5
Moyenne	43,79±5,83	32,57±10,88	2,42±0,38

Les brebis donneuses présentent un poids moyen de $43,79 \pm 5,8$ kg, un âge moyen de $32,57 \pm 10,88$ mois et une note d'état corporel qui varie entre 2 et 3 points.

2. Les brebis receveuses:

Les renseignements relatifs à l'identification des brebis receveuses sont reportés dans le tableau ci-dessous.

Tableau VI : Poids, âge et note d'état corporel des receveuses.

Brebis	Poids (Kg)	Age (mois)	NEC
R1	55,5	36	4
R2	44	30	2,5
R3	51	36	4
R4	34,5	15	1.5
R5	43,5	18	2,5
R6	35	18	2
R7	40	15	2.5
R8	32	15	1.5
R9	38	18	1.5
R10	41	18	2
R11	40	30	2.5
Moyenne	41.32±7.03	30.86±8.52	2.83±0.93

Les brebis receveuses présentent un âge moyen de 30.86 ± 8.52 mois et un poids moyen de 41.32 ± 7.03 Kg et une note d'état corporel qui varie entre 1.5 et 4 points.

2. Les béliers :

Pour la détection des chaleurs et de la saillie naturelle, quatre (04) béliers ont été utilisés :

- Deux béliers (02) de race Ouled Djellal ont été utilisés pour la détection des chaleurs chez les receveuses et les donneuses. Ils présentent un poids moyen de $60,5 \pm 4,95$ Kg, un âge moyen de 3,5 ans et une note d'état corporel de 3,5 et 4 points.
- Deux béliers de race Hamra ont été utilisés pour la saillie naturelle. Ils ont un poids moyen de 62 ± 11.31 Kg et un âge moyen de 5 ± 3.54 ans et une note d'état corporel de 3.5 et 4 points.

L'ensemble des animaux (brebis et béliers), en plus de la mise au pâturage, recevaient du foin d'avoine et du concentré. Un déparasitage avec ValbazenND et IvomecND a été réalisé un

mois avant le début des traitements superovulatoires par le vétérinaire de la station expérimentale.

II.1. 2.Appareils, instruments et produits :

1. Appareils et instruments :

1. Echographe :

Pour la sélection des brebis vides nous avons utilisé :

- un échographe de type pie médicale 100LC équipé d'une sonde bifréquence 6/8 MHz,
- un tube en PVC.
- un gel lubrifiant et des gants.

2. Endoscope :

Le matériel endoscopique comporte :

- Une table de contention inclinable.
- Une optique avec vision directe (0°), diamètre externe 6,5 mm (STORZ)
- Un générateur de lumière froide à intensité variable (STORZ)
- Un câble de fibre optique (STORZ).
- Une canule à piston et orifice pour l'insufflation d'air (trocart de 7mm de diamètre recevant l'endoscope) (STORZ)
- Un trocart avec canule de 5,5 mm recevant la pince à préhension (STORZ)
- Une pompe avec filtre et commande de pompe au pied (STORZ).
- Un tuyau de connexion entre la pompe et le robinet d'arrivée de l'air fixé sur le trocart recevant l'endoscope.
- Un pistolet d'insémination intra-utérine.
- Une pince à préhension atraumatique.

2. Produits :

Les produits utilisés sont les suivants :

1-Eponges vaginales : imprégnées chacune de 40 mg d'acétate de fluorogestone (FGA), commercialisées sous le nom de (CHRONOGESTND).

2-FSHp et LHp : Extraits hypophysaires porcins purifiés (StimufolND).

3-PMSG : (Pregrant Mare Sérum Gonadotrophine) hormone conditionnée dans des boîtes contenant des flacons de lyophilisat (1000 UI) et des flacons de solvant. Ce produit est commercialisé sous le nom de (FOLLIGONND).

4-Antibiotiques et désinfectants :

De la (TerramycineND) sous forme de spray et de la peni-streptomycine injectable ont été utilisés afin d'éviter d'éventuels infections. Pour la désinfection du matériel nous avons utilisé du permanganate de potassium.

II.2. Méthodes :

Les brebis vides ont été sélectionnées par un examen échographique. Tandis que l'évaluation de l'état de la population folliculaire a été effectuée par un examen endoscopique chez toutes les brebis juste avant le début des traitements de superovulation.

II.2. 1.Examen échographique :

Il a été réalisé par deux voies : transrectale et transabdominale, selon les techniques décrites par KAHN (1994). La sonde bi fréquence 6/8 MHz a été fixée sur un tube en (PVC) afin de faciliter la manipulation externe de la sonde.

Pour la voie transrectale, les brebis ont été examinées en position couchée et debout. Une fois que la brebis a été contentionnée, la sonde enduite de gel a été introduite délicatement dans le rectum jusqu'à la visualisation de la vessie, puis la matrice.

Pour la voie transabdominale, les brebis ont été examinées en position dorsale. La sonde enduite de gel est appliquée sur la paroi abdominale en avant du quartier droit de la mamelle, puis orientée dorso-caudalement en direction de la vessie. L'utérus non gravide, a été visualisé en avant de l'apex de la vessie.

Dans le cas où l'animal était gestant, il était possible de voir la vésicule embryonnaire (zone anéchogène). Les embryons et les placentomes apparaissaient comme de zones échogène.

II.2.2 .Examen endoscopique :

L'examen endoscopique a été réalisé avant le début du traitement de superovulation et avait comme but la détermination de l'état de la population folliculaire ovarienne.

La technique endoscopique consiste à faire deux incisions de la peau abdominale ventrale, 5 à 7 cm cranialement à la mamelle et 3 à 4 cm latéralement de la ligne blanche pour insérer.

- Un premier trocart qui reçoit l'optique de l'endoscope et permet la création d'un pneumopéritoine par insufflation de l'air stérile dans l'abdomen.
- Un deuxième trocart pour y insérer une pince atraumatique .Cette dernière permet la manipulation et la mesure de la taille des follicules grâce a une graduation en millimètre située a son bec.

Une fois les ovaires ont été visualisés, le dénombrement des follicules des différentes catégories de taille (Petits : 2-3 mm et Grands ≥ 4 mm) a été réalisé.

II.2.3- 1. Protocole de synchronisation et de superovulation :

1. Synchronisation des chaleurs :

Après un allotement homogène des brebis selon les traitements [lot 1(20UA), lot 2 (16UA), lot 3 (40%)], une synchronisation des chaleurs a été réalisée par la mise en place d'un traitement progestatif sous forme d'éponges vaginales imprégnées de 40 mg d'acétate de fluorogestone (FGA) chez toutes les brebis (donneuses et receveuses)

Pour les brebis receveuses d'embryons, une injection en IM de PMSG (500UI) a été réalisée le jour du retrait du dispositif vaginal soit à j13, 5. (Figure n°1).

Pose de l'éponge vaginale

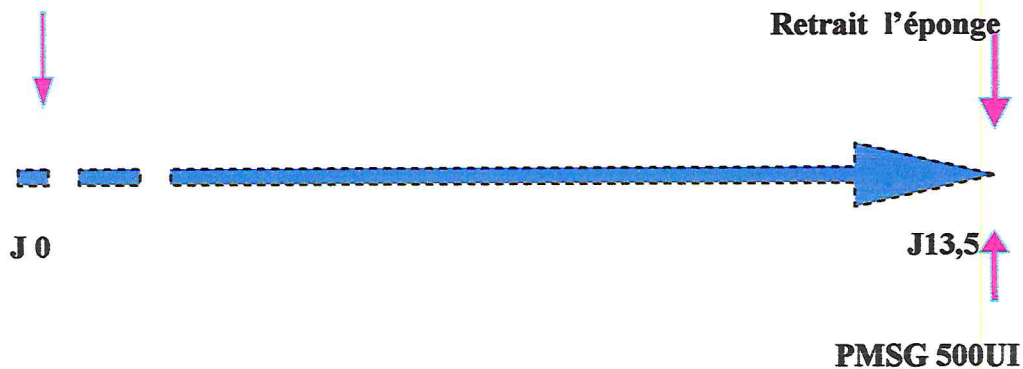


Figure 01 : Protocole de synchronisation des chaleurs chez les receveuses.

2. Traitement de superovulation :

L'administration du traitement superovulatoire a été réalisée par des injections en IM d'un extrait hypophysaire porcine purifié (FSH et LH) pendant les trois derniers jours du traitement progestatif. Ces dernières ont été réparties en 6 injections à doses décroissantes et à un intervalle de 12 heures.

- Les brebis du lot 1 et 2 ont reçus respectivement une dose totale de 20UA et 16UA, les quatre premières injections étaient à base de FSHp pure. Les deux dernières injections étaient à base d'un mélange de FSHp et LHp (l'injection du matin présentait un rapport FSHp/LHp de 0,3 et celle du soir un rapport de 0,22).
- Le lot 3 a reçu une dose totale de 16 UA et un rapport FSHp/LHp constant de (40%).

Les protocoles de synchronisation et de superovulation pour les trois lots sont illustrés dans la figure n° 2.

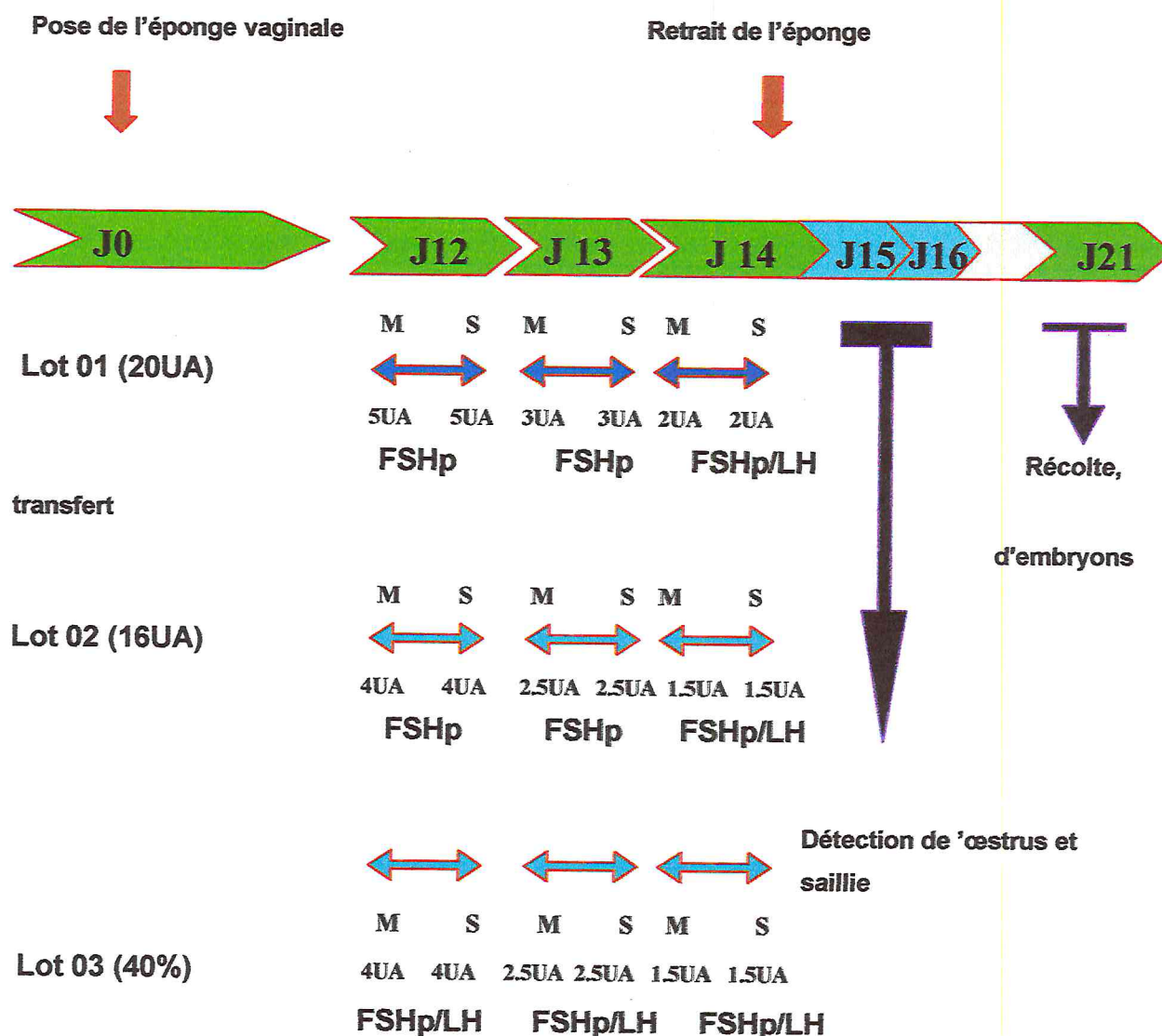


Figure 02 : Protocoles de synchronisation /superovulation et collecte d'embryons chez les brebis donneuses.

3. Détection de l'oestrus et saillie :

La détection de l'oestrus a été effectuée 12h et 24h après le retrait du dispositif intra-vaginal chez les donneuses et les receveuses respectivement, à l'aide de deux béliers entiers munis de tabliers. Toute brebis restant immobile lors du chevauchement était considérée comme étant en oestrus.

Deux saillies en main ont été pratiquées par deux béliers de race Hamra à 12 heures d'intervalle. La première saillie a été réalisée 12 heures après le retrait de dispositif vaginal. Les males ont été reconduits dans leurs groupes de brebis respectifs à fin de saillir les femelles qui manifestaient d'avantage des signes d'oestrus.

Analyses des données :

Un logiciel Systat version 10 a été utilisé pour le calcul de :

- ❖ La moyenne et l'écart type.
- ❖ La comparaison entre les moyennes par le test de kruskal- wallis.
- ❖ Coefficient de corrélation de spearman.

III. RESULTATS :

III.1. Etat de la population folliculaire ovarienne :

Les résultats du dénombrement des follicules chez les donneuses sont rapportés dans le tableau suivant : (Cf ; Tableau VII).

Tableau VII: Etat de la population folliculaire chez les brebis donneuses.

Brebis		Nombre des Pf		Nombre des Gf		Total
		OVD	OVG	OVD	OVG	
Lot 1	D1	02	02	00	00	04
	D2	00	01	03	01	05
Total		02	03	03	01	09
Moyenne		1±1,41	1,5±0,71	1,5±2,12	0,5±0,71	4,5±0,71
Lot 2	D3	09	05	00	02	16
	D4	06	06	01	00	13
Total		15	11	01	02	29
Moyenne		7,5±2,12	5,5±0,71	0,5±0,71	1±1,41	14,5±2,12
Lot 3	D5	00	02	02	00	04
	D6	05	03	00	00	08
	D7	03	00	02	01	06
Total		08	05	04	01	18
Moyenne		2,67±2,52	1,67±1,53	1,33±1,15	0,33±0,58	6±2

OVD: ovaire droit, OVG: ovaire gauche.

L'examen endoscopique nous a révélé que pour le :

Lot 01 :

- Le nombre total de follicules est de **09** soit une moyenne de **4,5± 0,71**. Le nombre total des petits follicules pour les ovaires droit et gauche est respectivement de **02** et **03**

soit une moyenne de $1 \pm 1,41$ et $1,5 \pm 0,71$. Le nombre total des gros follicules pour les ovaires droit et gauche est respectivement de 03 et 01 soit une moyenne de $1,5 \pm 2,12$ et $0,5 \pm 0,71$.

Lot 02 :

- Le nombre total des follicules est de 29 soit une moyenne de $14,5 \pm 2,12$. Le nombre total des petits follicules pour les ovaires droit et gauche est respectivement de 15 et 11 soit une moyenne de $7,5 \pm 2,12$ et $5,5 \pm 0,71$. Le nombre total des gros follicules pour les ovaires droit et gauche est respectivement de 01 et 02 soit des moyennes de $0,5 \pm 0,71$ et $1 \pm 1,41$.

Lot 03 :

- Le nombre total des follicules est de 18 soit une moyenne de 6 ± 2 . Le nombre total des petits follicules pour les ovaires droit et gauche est respectivement de 05 et 08 soit une moyenne de $2,67 \pm 2,52$ et $1,67 \pm 1,53$. Le nombre total des gros follicules pour les ovaires droit et gauche est respectivement de 04 et 01 soit une moyenne de $1,33 \pm 1,15$ et $0,33 \pm 0,58$.

III.2. Comportement d'œstrus chez les donneuses :

Les résultats de la détection des signes d'œstrus chez les donneuses sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau VII: Début, fin et durée des signes d'oestrus chez les donneuses.

Nombre de brebis		IRE- Début d'oestrus	IRE- Fin d'oestrus	Durée d'oestrus
lot 1	D1	24	54	30
	D2	25	63	38
Moyenne		24,5±0,71	58,5±6,36	34±5,66
lot 2	D3	25	64	39
	D4	24	62	38
Moyenne		24,5±0,71	63±1,41	38,5±0,71
lot 3	D6	29	61	32
Moyenne globale		25,4±2,07	60,8±3,96	35,4±4,10

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

Nos résultats montrent que les signes d'oestrus chez les brebis du lot 1 et 2 ont débuté en moyenne 24,5±0,71 après le retrait du dispositif intra-vaginal, alors que la durée moyenne d'oestrus était respectivement de 34±5,66 h et 38,5±0,71h.

Cependant, pour le lot 3, une seule brebis (D6) a présentée des signes d'oestrus 29 h après le retrait du dispositif intra-vaginal, et la durée d'oestrus a été de 32 h.

III.3. Comportement d'oestrus chez les receveuses : Les résultats de la détection des signes d'oestrus chez les receveuses sont rapportés dans le tableau suivant : (Cf ;Tableau IX).

Tableau IX: Début, fin et durée des signes l'oestrus chez les receveuses.

Brebis	IRE- début d'oestrus	IRE- fin d'oestrus	Durée d'oestrus
R1	37	67	30
R2	37	66	29
R3	37	67	30
R4	37	67	30
R5	34	72	35
R7	38	77	39
R9	38	78	40
R10	37	75	38
R11	38	78	40
Moyenne	37±1,22	71,89±5,21	34,56±4,80

0

Nos résultats montrent que les signes d'oestrus ont débutés en moyenne $37 \pm 1,22$ heures après le retrait du dispositif intra vaginal. La durée moyenne de l'oestrus chez les brebis receveuses est de $34,56 \pm 4,80$ heures. Cependant, les brebis R6 et R8 n'ont pas présentait des signes d'oestrus.

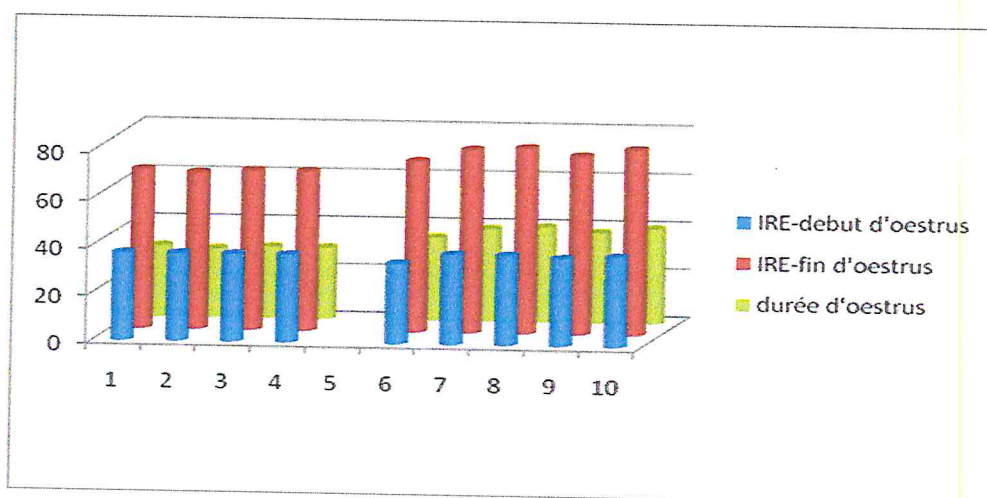


Figure 03: Représentation graphique Début, fin et durée des signes l'oestrus chez les receveuses.

III.4. La réponse ovulatoire chez les donneuses :

La réponse ovulatoire chez les brebis du lot 1, 2 et 3 est rapportée dans le tableau suivant :

Tableau X: Réponse ovulatoire chez les brebis donneuses.

Brebis		Nombre de corps jaunes		Total
		OVG	OVD	
Lot 1	D1	03	03	06
	D2	06	03	09
Moyenne		4,5±2,12	3±0	7,2±2,12
Lot2	D3	05	05	10
	D4	00	06	06
Moyenne		2,5± 3,54	5,5±0,71	8±2,83
Lot3	D6	07	00	07
	D7	00	01	01
Moyenne		3,5±4,95	0,5± 0,71	4±4,24

L'évaluation endoscopique a révélée que la réponse ovarienne moyenne est comparable chez les deux lots traités par 16 et 20 UA (Lot 1 : 7,5±2,12 VS 8±2,83 : Lot 2). Cependant, nous avons noté une différence non significative entre les deux lots et celle des brebis du lot 3 (7,75 ± 2,06 VS 4±4,24).

Chez l'ensemble des brebis, une corrélation ayant tendance à être positif ((r= 0,637, p=0,10), a été trouvée entre le nombre total des follicules présent avant le traitement super ovulatoire et la réponse ovarienne.

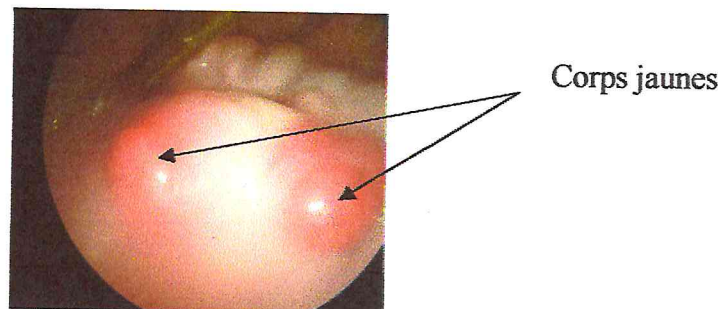
III.5. La réponse ovulatoire chez les receveuses :

Les résultats de l'évaluation de la réponse ovulatoire chez les receveuses sont rapportés dans le tableau ci-dessous :

Tableau XI: Réponse ovulatoire chez les receveuses.

Brebis	Nombre de corps jaunes		
	OVG	OVD	Total
R1	01	01	02
R2	00	02	02
R3	01	00	01
R4	00	03	03
R5	01	01	02
R6	01	00	01
R7	01	01	02
R9	02	02	04
R10	00	01	01
R11	01	01	02
Moyenne	0,8±0,63	1,2±0,92	2±0,90

Nos résultats montrent que mise à part la brebis R8 (qui n'a pas présentée des signes d'oestrus), toutes les brebis ont présenté au moins un corps jaune actif sur l'un des ovaires. Le nombre moyen de corps jaunes est de $2 \pm 0,90$.

**Photo 04 :** Examen endoscopique d'un ovaire de brebis receveuse.

Chapitre II

*Recolte, congélation et transfert
d'embryons*

CHAPITRE II : RECOLTE, CONGELATION ET TRANSFERT DES EMBRYONS

Ce chapitre présente les différentes étapes permettant la récolte des embryons, la congélation et le transfert des embryons.

I. Matériel et méthodes :

I.1. Matériel :

I.1.1. Animaux :

Les brebis utilisées sont les mêmes décrites dans le premier chapitre (07 brebis donneuses de race Hamra et 11 receveuses de race croisée).

I.1.2. Instruments et produits :

1. Préparation du champ opératoire et soins post opératoire: le matériel utilisé pour la préparation du champ est le suivant (cf; photo 06)

- ◆ Savon et éponges.
- ◆ Rasoir et lames de rasoir.
- ◆ Lames de bistouri et portes lame.
- ◆ Porte aiguilles et aiguilles.
- ◆ Champs de tissu.
- ◆ Pincés de fixation des champs.
- ◆ Pincés hémostatiques.
- ◆ Pincés Bulldogs.
- ◆ Ciseaux et forceps.
- ◆ Sonde cannelée.
- ◆ Alcool iodé.
- ◆ Alcool chirurgical.
- ◆ Fil de suture non résorbable n°6, fil de suture résorbable Vicryl® décimale n°2 et n°5.
- ◆ Pré anesthésie (xylazine), anesthésie locale (xylocaine à 2%) et générale (ketamine).
- ◆ Antibiotique injectable (pénicilline-streptomycine) et pour la pulvérisation sur les sites de ponction abdominale.

2. Manipulation d'embryons :

- Microscope inversé (Hund) et loupe binoculaire (Nikon).
- Milieu de conservation F1
- Ethylène glycol (IMV ZA 468 à 1.5 M d'éthylène glycol)
- Bain marie.
- NaCl isotonique.

- Cathéter 16 G.
- Sonde de folley pédiatrique de 30 cm.
- Boîtes de pétrie carrées quadrillées.
- Petites boîtes de pétrie ronde.
- Flacons de récolte stérile.
- Une pipette de verre montée sur une seringue à insuline.
- PBS (Phosphate Beffered Saline).
- Seringues de 50 ml pour injecter le PBS.

3. Matériel d'endoscopique et d'échographie :

C'est le même matériel qui est décrit dans le premier chapitre.

4. Matériel de congélation d'embryons :

- ◆ Paillettes de 0.25 ml et jonc d'identification.
- ◆ Containers d'azote liquide
- ◆ Biocongélateur.



1-aiguilles de sutures, 2-pinces hémostatiques, 3- porte aiguilles, 4-pinces mouchettes, 5- Sonde cannelée, 6-NaCl, 7- Fil de suture non résorbable n°6, 8- fil de suture résorbable, 9- Lames de bistouri, 10-optique de l'endoscope, 11- xylocaine à 2%, 12- Trocart 7mm, 13- canule de 7mm à piston et orifice pour l'insufflation d'air (STORZ), 14- forceps, 15- portes lame, 16-ciseau, 17-18-Trocart avec canule de 5mm recevant la pince à préhension, 19-, 20- pipette en verre

Photo05:instruments et produits utilisés pour la récolte des embryons.

I.2. METHODES :

pour la réalisation de cette partie expérimentale nous avons effectué :

I.2.1. Préparation des animaux :

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

I.2.2. Récolte des embryons :

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

1. Préparation de la brebis :

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

2. Technique de récolte :

Après laparotomie sur la ligne blanche, les cornes utérines sont extériorisées par un forceps et les organites ovariens sont dénombrés. A l'aide de petits ciseaux pointus, la corne est ponctionnée au niveau de la bifurcation, ensuite la sonde à 02 voies munie d'un cathéter de collecte est mise en place; le ballonnet est gonflé pour assurer le maintien de la sonde. 40 ml de PSB à 37 °C sont injectés au sommet de la corne utérine (jonction utero- tubaire) puis récupérés par la voie de retour dans un flacon en plastique stérile. Cette opération doit être effectuée lentement avec un massage pour éviter toute perte de liquide.

Après avoir retiré tout le matériel de collecte, une suture de l'incision qui permet l'insertion de la sonde de foley est réalisée par un point simple avec un fil résorbable (Vicryl® décimale 2), ensuite la suture de la paroi abdominale est effectuée par des points en croix avec le Vicryl® décimale 5, enfin la peau suturée par des points simples avec du fil non résorbable (EP/6).

I.2.3. Tri et sélection des embryons :

1. Recherche d'embryons :

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

2. Examen et conditionnement d'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 sont identifiés et lavés dans un milieu de conservation (milieu de conservation F1). Puis chaque deux embryons transférables (classe I et II) sont mis entre deux bulles d'air soit dans une pipette en verre reliée à une seringue à insuline pour un transfert en frais (Cf ; photo07) soit dans une paillette de 0.25 ml (Cf ; figure 04) pour être congelés et transférés après décongélation.

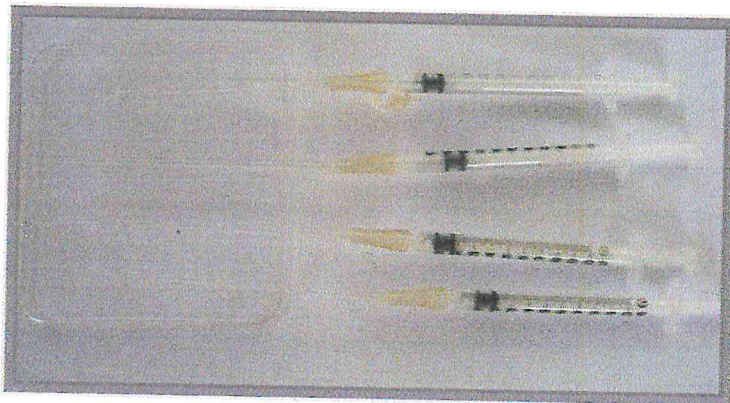


Photo06 : Montage des embryons en pipette en verre pour un transfert.

Les embryons à congeler sont conditionnés en paillette dans le 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.

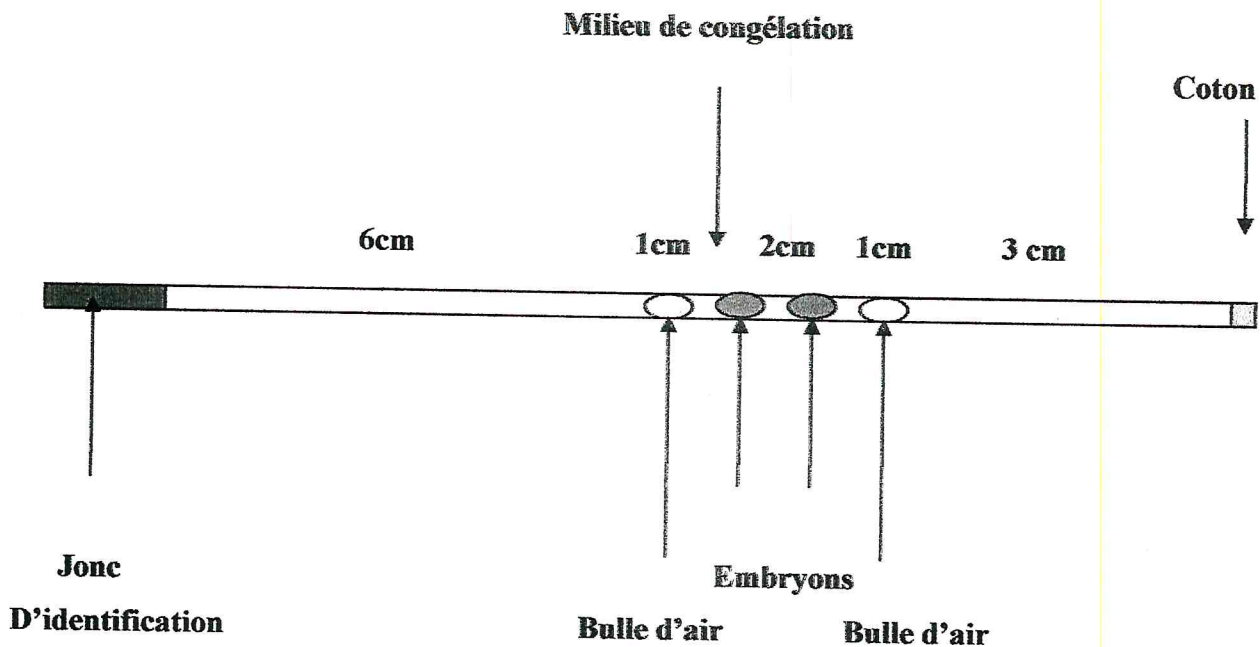


Figure 04 : Schéma de montage des embryons en paillette pour une congélation.

Après un temps d'équilibration de l'embryon en paillette 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 paillette dans le coffret du biocongélateur et le refroidissement de l'embryon commence jusqu'à la température de -7°C à raison 1 à 3°C par minute
- Maintenir l'embryon -7°C pendant 5 à 7 minutes pour stabiliser la paillette
- Après avoir retiré la barre du seeding immergée dans l'azote liquide, procéder au seeding (cristallisation) en appliquant la barre du seeding sur les paillettes des 2 extrémités.
- Passer le commutateur en PS, le refroidissement de l'embryon reprend pour une température de -30°C à raison de 0.3 à 0.6°C par minute
- A -30°C , la paillette est plongée dans la cuve d'azote liquide à -196°C
- Les embryons congelés sont transférés dans un container d'azote liquide.

I.2.4. Transfert des embryons :

Les receveuses ont été soumises aux mêmes étapes de préparation que celles des donneuses : elles étaient mises à une diète totale de 24 heures avant l'opération de transfert. Le jour de l'intervention, elles étaient tranquilisées et la région abdominale ventro-caudale juste cranialement de la mamelle a été rasée, nettoyée et désinfectée avec de l'alcool chirurgical et iodé.

Pour, le transfert des embryons congelés, les paillettes étaient décongelés dans de l'eau tiède ayant une température comprise entre 34°C et 37°C, ce qui correspond à la vitesse de réchauffement requise. Le contenu des paillette est mis dans une petite boîte de pétri, puis monté dans une pipette en verre reliée à une seringue à insuline comme pour le transfert en frais.

Le transfère était précédé d'un examen laparoscopique, afin de repérer l'ovaire porteur du corps jaune fonctionnel. Une fois que l'examen laparoscopique était positif (présence au moins d'un corps jaune fonctionnel dans l'un des ovaires), la deuxième phase débuta avec une incision de 2 à 3 cm au niveau de la ligne blanche. L'extrémité de la corne utérine épsilatéral du corps jaune a été saisie puis extériorisé de l'abdomen à l'aide d'un forceps.

Une ponction a été réalisée au niveau de la paroi utérine à l'aide d'une aiguille de 18 gauge ; afin de permettre l'injection du contenu de la paillette (les deux embryons) (photo 14).

La corne utérine a été par la suite remise dans la cavité abdominale. La paroi abdominale puis la peau a été suturée respectivement par des points simples avec un fil résorbable et non résorbable. La plaie opératoire a été pulvérisée avec de l'alluspray.

I.2.5. Soins post opératoire :

A la fin de la collecte chirurgicale, les point de ponction et la plaie opératoire ont étaient pulvérisés avec un antibiotique (alluspray), puis une administration en IM d'un traitement à base de pénicilline streptomycine (à la dose de 0.05ml/kg) a été réalisée pendant trois jours, afin d'éviter les surinfections.

Les brebis donneuses ont reçues, le jour et le lendemain de l'intervention, une injection de PGF2 α à la dose de 0.01ml/kg pour éviter une éventuelle gestation et induire aussi rapidement que possible le retour à une cyclicité normale. L'exérèse des fils était effectuée 8 jours après l'opération.

I.2.6. Diagnostique de gestation : Quarante jours après le transfert des embryons, un examen échographique était effectué chez les brebis receveuses pour déceler d'éventuelles gestations (selon la même technique décrite dans le chapitre 01).

II. RESULTATS ET TRANSFERT DES EMBRYONS :

II.1. Dénombrement des corps jaunes :

Le dénombrement direct des corps jaunes effectué sous endoscopie a été confirmé par extériorisation et examen des ovaires (**photo08**).

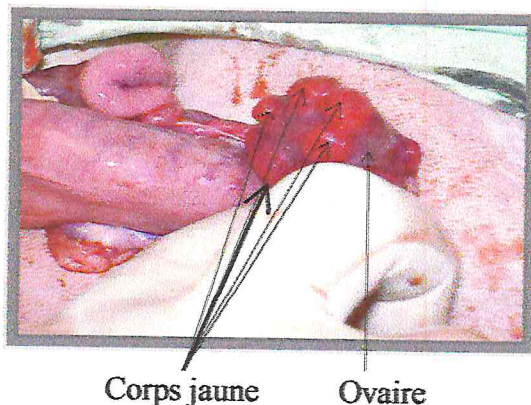


Photo 07: dénombrement des corps jaunes après extériorisation de l'ovaire.

II.2. Résultat de la récolte :

L'examen microscopique des liquides de récolte a révélé les résultats suivants :

II.2.1. Structures collectées:

Les résultats de la collecte sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau XII : structures collectées chez les brebis donneuses.

Brebis		Nombre de structures récoltées		
		Corne gauche	Corne droite	Total
Lot1	D1	02	00	02
	D2	00	01	01
	Total	02	01	03
	Moyenne	1,00±0,41	0,50±0,71	1,5±0,71
Lot2	D3	00	04	04
	D4	03	04	07
	Total	03	08	11
	Moyenne	1,5±2,12	4±0	5,5±2,12
Lot3	D6	06	00	06
Moyenne globale		2,2±2,49	1,8±2,04	4±2,55

Nos résultats montrent que le nombre moyen de structures récoltées chez les brebis du lot 2 est supérieur à celui du lot 1 est de (5,5±2,12 vs 1,5±0,71). Tandis que chez les brebis du lot 3, le nombre total des structures récoltées est de 06.

II.2.2. Taux de collecte des embryons:

Les résultats relatifs aux taux de collecte d'embryons sont rapportés dans le tableau ci-dessous :

Tableau XIII : Taux de collecte d'embryons.

Lot de Brebis	Nombre de CJ	Nombre de structures récoltées	Taux de collecte (%)	
Lot 1	D1	06	02	33,33
	D2	09	01	11,11
	Taux Moyen			20
Lot 2	D3	06	04	66,67
	D4	10	07	70,00
	Taux Moyen			68,75
Lot 3	D6	07	06	85,71
Taux Moyen global				52,63

Nb : les brebis D7, D5 n'ont pas été récoltées car la (D7) a présentée une luteolyse précoce alors que la (D5) n'a pas présentée de réponse ovarienne.

Nos résultats montrent que chez l'ensemble des brebis, le taux de collecte d'embryons est de 52,63 %.

Le taux de collecte chez les brebis du lot 1 a été très faible par rapport à celui du lot 2 (20% vs 66,67%). Tandis que une seule une brebis du lot 03 a été collectée (85,71%).

II.3. Classification des embryons :

II.3.1. Qualité des structures récoltées :

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

Tableau XIV: Qualité des structures récoltées. Morula (M), Blastocyste (B), œuf non fécondé (NF), embryon dégénéré (D).

Brebis		Embryons				
		Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4	
					D	NF
Lot 1	D1	02(M)	00	00	00	00
	D2	01(M)	00	00	00	00
Total		03	00	00	00	
Taux moyen (%)		100	00	00	00	
Lot 2	D3	04(M)	02(B)	01(B)	00	00
	D4	02(B)	02(B)	00	00	00
Total		06	04	01	00	
Taux moyen (%)		54,54	36,36	9,09	00	
Lot 3	D6	02(M)	02(B)	00	00	02
Taux moyen (%)		33,33	33,33	00	33,33	

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

Lot 1:

- Que l'ensemble des embryons récoltés sont de classe 1 soit un taux de 100%.

Lot 2:

- Le taux moyen d'embryons de classe 1 (54,54 %) est plus élevé par rapport à celui de la classe 2,3 (36,36%, 9,09 % respectivement).

Lot 3:

- Le taux moyen d'embryons de classe 1 (33,33 %) est comparable à celui des classe 2 et 4.

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



Photo 08 : Vue d'ensemble de quelques embryons (X 40) .

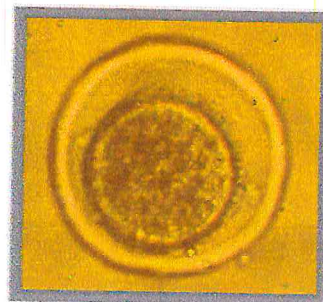
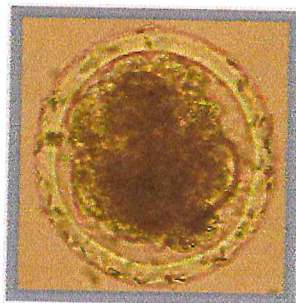
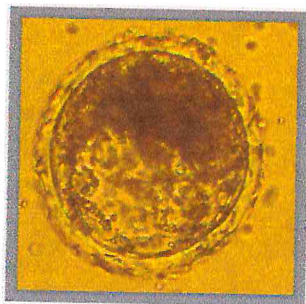


Photo09 : Blastocyste (classel) **Photo10:** Morula(classel) **Photo11:** Œuf non fécondé(classel 4)

II.4. Détermination du taux de fécondité :

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

Tableau XV: Taux de fécondité

Lots	Structures récoltées		Taux de fécondité (%)
	Embryons	Ovocytes	
1	03	00	100
2	11	00	100
3	04	02	66,66
Total	18	02	90

Nos résultats montrent que le taux de fécondité est de :

- ❖ 100 % pour le lot 1 et 2.
- ❖ 66,66 % pour le lot 3
- ❖ 90 % pour l'ensemble des brebis.

II.5. Détermination du taux des embryons transférables:

Le tableau ci-dessous présente le taux d'embryons transférables.

Tableau XVI: Taux des embryons transférables

Lots	Embryons (%)							
	Classe 1		Classe 2		Classe 3		Transférables	
	Nb	Taux (%)	Nb	Taux (%)	Nb	Taux (%)	Nb	Taux (%)
1	03	100	00	00	00	00	03	100
2	06	54,54	04	36,36	01	9,1	11	100
3	02	50	02	50	00	00	04	66,66
Taux moyen	11	61,12	06	33,33	01	5,55	18	90

Nous avons constaté que le nombre d'embryons transférables est élevé chez les brebis du lot 2 par rapport à celui des brebis du lot 1 (11 vs 03) et 3 (11 vs 04).

III. Résultats de transfert des embryons :**III.1. Détermination du taux de gestation :**

Les résultats du diagnostic de gestation sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau XVII : Taux de gestation.

Brebis	Nombre d'embryons transférés	Diagnostic de Gestation
R1	02	+
R2	02	-
R3	01	-
R4	02	-
R5	02	+
Total	09	02
Taux de gestation		40,00%

Le diagnostic de gestation chez les cinq brebis receveuses a révélé que :

- Trois brebis (03) étaient négatives soit un taux de 60.00%.
- Deux brebis (02) étaient positives soit un taux de 40.00%.

Cependant aucune gestation n'a été obtenue chez les brebis ayant reçu des embryons congelés.

La photo ci-dessous représente une image échographique d'une brebis gestante à 40 jours.

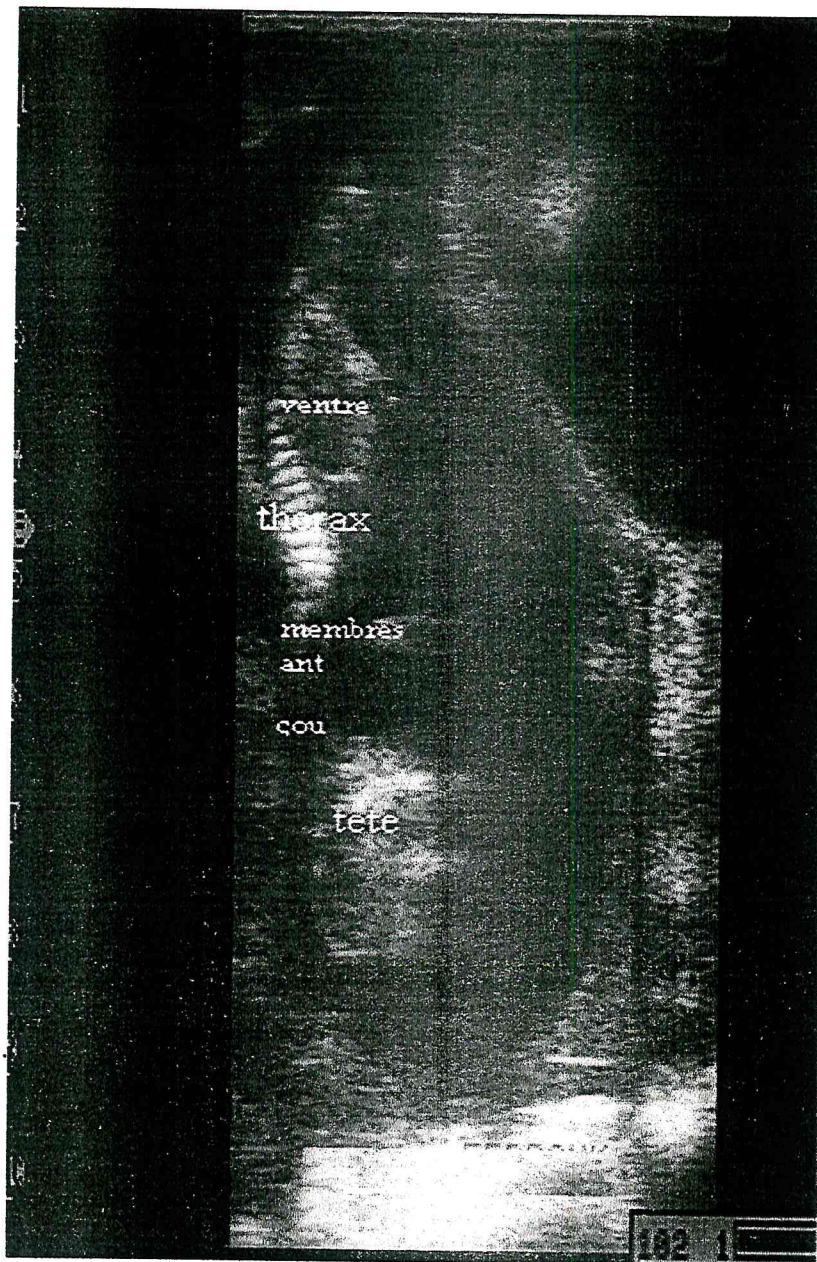


Photo12: image échographique d'une gestation à 40 jours.

III.2. Taux de viabilité :

Les résultats de dénombrement des fœtus sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau XVIII: Taux de viabilité des embryons transférés.

Brebis	Nombre d'embryons transférés	Nombre de fœtus	Nombre d'agneaux nés et sexe
R1	02	02	02 (m) et (f)
R2	02	00	00
R3	01	00	00
R4	02	00	00
R5	02	01	01(f)
Total	09	03	03
Taux de viabilité et naissance		33.33%	100

(m) : male (f) : femelle

Les résultats montrent que sur les (09) embryons transférés, trois (03) embryons sont viables, ce qui représente un taux de viabilité de 33,33%. Le taux de naissance et la durée moyenne de gestation sont respectivement de 100% et 153 jours.

Discussion

I.1.Comportement d'œstrus :

I.1.1 les donneuses :

Nos résultats montrent que chez l'ensemble des brebis donneuses, les signes d'œstrus ont été observés 24 heures après le retrait d'éponge vaginale, soit une moyenne de $25,4 \pm 2,07$ h.

En effet ; nos résultats sont comparables a ceux obtenus par Cognié et al ., (1996) qui après utilisation d'une dose de 16 mg et un rapport FSH/LH décroissant ont constatés un début d'œstrus 24h après le retrait d'éponge . Les mêmes observations ont été rapportées par Torres et Sevellec., (1987) ; José et al.,(2008) ou les signes d'œstrus ont été détectés en moyenne 24h après utilisation d'une dose de 16mg et 20mg de FSHp, chez des brebis Préalpes et Pelybuey respectivement. Selon Brebion et al, (1992), environ 85% des brebis de race Lacaune traitées avec un rapport décroissant de 20mg de FSHp, viennent en œstrus entre 16 et 28h après le retrait d'éponge vaginale.

Comparativement a d'autres races, le début d'œstrus chez les brebis Hamra a été tardif par rapport à celui décrit par Okada et al., (2000) qui après administration chez les brebis de race Southdown d'une dose de 20mg FSHp, rapportent un début de $18,9 \pm 0,96$ h .

En revanche, Simonetti et al ., (2008) ; Raymond et al., (1981) rapportent que le début d'œstrus a été observé respectivement $30,4 \pm 1,7$ h et $34 \pm 8,4$ h après le retrait de l'éponge vaginale , lors d'utilisation de la «FSHo».

Aussi, nos résultats révèlent que la durée d'œstrus a été en moyenne de $34 \pm 5,66$ h et $38,5 \pm 0,71$ h, respectivement chez les brebis du lot 1et 2. Chez l'ensemble des brebis des 03 lots, la durée moyenne d'œstrus a été de $35,4 \pm 4,10$ h.

La durée d'œstrus obtenue dans la présente étude a été comparable a celle obtenue par Naqvi et al., (1999) qui est de $37,90 \pm 1,79$, par contre cette dernière a été courte par rapport a celle observée par Cordeiro et al., (2002) qui rapportent une durée de $43 \pm 3,77$ h.

I.1.2. les receveuses :

Le taux de synchronisation obtenu chez les receveuses après induction de l'œstrus en utilisant 500UI de PMSG a été de 82% et le début d'œstrus a été observé en moyenne $37 \pm 1,22$ h après le retrait de l'éponge vaginale.

Nous avons obtenus des résultats comparables à ceux rapportés par Cognié et al., (1976) et Brice et al.,(1984) qui ont observés des débuts d'œstrus respectifs de 36h et 35h après le retrait d l'éponge vaginale. Comparativement aux résultats de Riesenbergr et al., (2000) et Lamrani et al., (2008) qui sont de 40h et 48h, les signes d'œstrus de nos brebis ont débutés précocement .

En effet, les femelles ayant reçues une injection de PMSG au retrait de l'éponge vaginale viennent en chaleur au moins de 36h. Selon Cognié,(1984) l'injection de la PMSG réduit l'intervalle fin de traitement, apparition des chaleurs, cette réduction varie de 5 à 14h selon la saison et la dose de PMSG utilisée.

Nous avons noté qu'il y a un écart d'environ 12h entre le début d'œstrus des donneuses et celui des receveuses ($25,4 \pm 2,07$ h Vs $37 \pm 1,22$ h) ce qui est tolérable pour un transfert des embryons. En effet, selon Baril., (1993) l'écart de synchronisation toléré est de (± 24) pour un transfert d'embryons âgés de 6 à 8 jours.

I.2. Evaluation de la reponse ovarienne:

I.2.1. Les donneuses :

Le nombre moyen de corps jaune a été comparable chez les brebis du lot 1 et 2 (lot 1, $7,2 \pm 2,12$ vs $8 \pm 2,83$ lot 2). Cependant, la réponse ovarienne du lot 3 a été très faible par rapport aux deux premiers lots (lot 1, 2 : $7,75 \pm 2,06$ vs $4 \pm 4,24$ CJ, lot : 3).

Les résultats lors d'utilisation d'un rapport FSH /LH constant sont semblables a ceux de:

- Raymond et al., (1981) qui chez la race Colombia, trouvent une moyenne de ($8,9 \pm 5,8$ CJ) .
- Ramon et al., (2008) , Aké-lopez et al ., (2003) qui après une stimulation avec une dose de 25mg et 18mg pFSH, rapportent respectivement ,une moyenne de $8,28 \pm 7,78$ et $9,76 \pm 0,79$ chez des brebis de race Aragonesa et Pelibuey .

Par contre nos résultats son nettement faible par rapport à ceux de:

- Gonzales-Bulnes et al., (2003) et Simontti et al., (2008) qui après une stimulation avec un traitement associant l'eCG/FSH, constatent des réponses de $12 \pm 1,1$ CJ et $13,8 \pm 1,9$ CJ, chez la race Manchega et Corriedale respectivement.
- Forcada et al., (2000) qui rapportent une réponse ovarienne de $11,4 \pm 0,8$ CJ après traitement à base d'oFSH chez la race Rasa Aragonesa.
- José et al., (2008); D'Alessandro et al., (2005); Aké-lopez et al., (2003) qui après utilisation d'un rapport FSH/LH décroissant et une dose de 20mg pFSH rapportent des réponses respectives de $10,73 \pm 1,42$ CJ, $11,9 \pm 1,6$ CJ et $12,41 \pm 8,10$ CJ.

Il est à signaler que la différence de réponse entre les races ovines semble être en relation avec la prolificité de la race (Torres et Cognie., 1984; Cognie, 1984). Ces différences peuvent aussi être liées au fait que la FSH exogène a été administrée avec la même dose à toutes les femelles indépendamment de leur poids (Ammoun et al., 2006).

En effet, selon Brebion et al., (1992); Tervit et al., (1984); Gonzalez et al., (1991) les doses totales de pFSH, les plus souvent préconisées chez la brebis, sont comprises entre 16 et 20UA, mais ces doses peuvent s'avérer soit insuffisantes soit au contraire excessives pour un génotype particulier. Si l'on compare les résultats des 3 lots, on constate que les brebis de race Hamra ont répondu favorablement à la dose de 16 UA de pFSH qu'à la dose de 20UA et encore mieux avec des rapports FSH/LH décroissant qu'avec un rapport constant de (40%).

Tenant compte du protocole de traitement hormonal utilisé dans la présente étude, la réponse ovulatoire obtenue est en accord avec les résultats obtenus dans les autres études qui ont montré l'effet positif du traitement décroissant et l'enrichissement des dernières injections par la pLH (Chupin et al., 1988 et D'Alessandro et al., 1997, Cognié et al.; 2003).

Cependant, l'administration d'un apport (FSH/LH) constant de 40% semble perturber extrêmement les fonctions endocrines et ovariennes. En effet, la présence de LH dans les préparations de FSH est la cause majeure de l'anovulation (Murphy et al, 1986) et l'incidence d'échec d'ovulation peut atteindre 60% avec l'usage de FSH non purifié (Gonzalez-Bulnes et al., 2000). Aussi, l'altération de la sécrétion de la LH semble être due aux fortes concentrations de LH pendant les périodes prolongées de traitement avant la décharge de LH et par conséquent altération de la capacité d'ovulation des follicules (Dobson et al., 1997).

Dans les conditions physiologiques, le rapport FSH/LH évolue au cours du cycle, avec une diminution à l'approche de l'ovulation (Bono et al, 1983). Par ailleurs, si le rapport FSH/LH est trop faible par excès de LH, l'ovulation se trouve prématurée et les résultats sont moins bons (Murphy et al, 1984) ; inversement, si le rapport FSH/LH est trop faible par manque de FSH, l'œstrus est retardé et les résultats baissent (Gonzalez, 1984)

Nous avons constaté que le nombre de petits follicules pour le lot 2 est supérieur à ceux des autres lots (lot 2 : $13 \pm 1,41$ vs $2,5 \pm 2,12$; $4,33 \pm 3,21$; lot 1 et 3), tandis que le nombre de gros follicules est comparable pour les trois lots (lot 1 : $2 \pm 2,83$, lot : $2 1,5 \pm 0,71$ et lot3 : $1,67 \pm 1,53$).

Le traitement statistique de nos résultats révèle, qu'il existe une corrélation positive ($r=0,63$) entre le nombre de petit follicule déterminés avant le traitement de superovulation et le nombre de corps jaune après stimulation. En effet, chez les ovins plusieurs travaux en mis en évidence une étroite relation entre l'état ovarien avant le traitement superovulatoire et la réponse ovarienne après l'induction de la superovulation. Selon Cognie et al., (2003) et Viega Lopez et al., (2005) 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. Les mêmes constatations ont été rapportées par Gonzalez-bulnes et al., (2003) qui ont montré que le nombre total de petit follicules (2 à 4mm de diamètre) présent dans l'ovaire au début du traitement a été positivement corrélé avec le taux d'ovulation ($r=0,591$)

I.2.2. les receveuses :

Dans la présente étude, le traitement de synchronisation associer a une injection de 500UI PMSG nous a permet de révéler une réponse ovarienne moyenne de $2 \pm 0,90$ CJ.

Nos résultats sont comparables à ceux de Lunstra et al., (1981) et Laster et al., (1974) qui après administration d'une dose de 750UI de PMSG , rapportent un taux d'ovulation moyen de 2,9 et 2,8 CJ respectivement, chez la race Corriedale .

En effet, l'utilisation de la PMSG a la fin d'un traitement progestatif augmente le taux d'ovulation chez la brebis (Evans et Robinson ., 1980) et la dose de la PMSG utilisée varie, selon la saison, la race des brebis, la parité et le niveau de production laitière (Vallet et al., 1991). Il nous semble que la dose 500UI est la plus adéquate pour ce type de race car les taux d'ovulation et de synchronisation obtenus sont très satisfaisants.

II. Collecte et transfert des embryons :

1. Taux de collecte:

Le taux de collecte moyen chez l'ensemble des brebis superovulées a été de 52,63%. Notre résultat est semblable à ceux rapportés par Simonetti et al., 2008, Rexroad et Powell.,1991, qui ont obtenus des taux de 49.3% et 52.38% respectivement. Par contre notre taux de collecte est nettement inférieur à ceux obtenus par D'Allessandro et al (2005) ; Clément et al (2005) qui rapportent des taux de $87.5\pm 8.5\%$ et 91.30% respectivement.

Chez l'ensemble des brebis collectées nous avons obtenus un nombre de structures moyen de 4 ± 2.55 avec $5,5\pm 2.12$ et 1.5 ± 0.7 structures pour les lots 2 et 1 respectivement. Notre résultat est comparable à ceux rapportés par Giovanni et al (2001), Gonzalez et al (2003) qui sont de 4.9 ± 1.03 et 4.3 ± 1.4 respectivement. Néanmoins, ce nombre est inférieur à ceux obtenus par Forcada et al., 2000 ; Gonzalez-Bulnes et al., 2003 qui trouvent 7.03 ± 0.6 et 8.3 ± 1.1 structures respectivement.

Selon Baril et al (1983) le taux de collecte d'embryons par laparoscopie atteint 62% contre 85 % par la technique chirurgicale. En effet, l'un des problèmes liés aux traitements de synchronisation/superovulation est la variabilité du début des chaleurs après traitement, et par conséquent le temps d'ovulation. La variation entre les individus mène à un taux diminué de fertilisation, et par conséquent peu d'embryons utilisables sont récoltés.

2. Qualité des embryons récoltés :

Nos résultats montrent que le nombre moyen de structures récoltées chez l'ensemble des brebis donneuses est de 3.6 ± 2.30 soit un taux de 90 %. Nos résultats sont satisfaisants car ils appartiennent à la fourchette décrite par les différents Auteurs [Cognie et al., 1996 ; Giovanni et al., 2001 ; Loroleiro et al., 2002 ; Forcada et al., 2000 ; Cordeiro et al., 2002] qui varient de 2.5 à 7.5 embryons par donneuses.

En termes de taux d'embryons transférables, nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Cordeiro et al., 2003 ; Torres et Sevellec (1987) qui rapportent des taux de 67.4% et 78.26% respectivement.

Selon Brebion et al, 1992, la variation de la qualité des embryons peut s'expliquer principalement par le recrutement en début du protocole de superovulation de follicules

datant des vagues précédentes. Ces follicules fourniront, au moment de leur ovulation des ovocytes souvent de mauvaise qualité. En effet, l'utilisation de progestagènes comme traitement de synchronisation des chaleurs accentue ce risque de recrutement de follicules de vagues précédentes.

3. Taux de fécondité :

Nos résultats montrent que le taux de fécondité est de 100 % pour le lot 1 et 2, et 66,66 % pour la brebis du lot 3. Nos résultats sont comparables à celui rapporté par Baril et al (2004) qui est de 90%.

Les résultats obtenus dans la présente étude révèlent que les brebis ont été saillies au bon moment. Selon Baril et al (1993) une saillie réalisée dans de bonnes conditions produit fréquemment 80 % d'œuf fécondés. Toutefois, il est à noter que le taux de fécondité est très dépendant du niveau de la réponse ovulatoire. Chez les chèvres Alpines et Saanen, la fertilité est faible quand la réponse ovulatoire est élevée [(>15 corps jaune) 49% Vs 66% (<15 corps jaune)] (Baril et al., 1988). Cette même observation est notée chez des ovins laitiers et qui pourrait être due à un problème de transport des spermatozoïdes à travers le cervix (Brebionet al., 1992).

II. Résultats du transfert embryonnaire :

Le taux de gestation obtenu dans notre étude a été 40%, un taux équivalent (38.9%) a été décrit par Naohisa et al (1997). En revanche, ce résultat est faible par rapport à ceux cités par Baril et al (2001), Cognié (1999) qui rapportent des taux respectifs de 75%, 70% après un transfert chirurgical.

Le taux de viabilité obtenu dans notre étude est de 33.33% soit 03 embryons viables sur 09. Malgré que ce taux est supérieur à celui obtenu Naohisa et al (1991), Naqvi et al (1999) qui ont rapportés des taux de 24.3% et 28.6% respectivement notre résultat reste insuffisant par rapport à celui obtenu par Bari et al (2003) qui est de 71.7%.

Le transfert des embryons congelés n'a pas satisfait nos espérances, à cause de la négativité du taux de gestation et par conséquent la nullité de viabilité des embryons.

La survie des embryons ne présentant aucun défaut visible est toujours significativement supérieure à celle d'embryons de moindre qualité (Baril et al, 1993). En effet, les embryons de qualité inférieure

verraient leur espérance de survie considérablement réduite après congélation. Toute fois, il faut signaler que le jugement visuel des embryons donne une estimation très imparfaite de leur viabilité réelle (Brebion et al, 1992).

Il semble que le faible taux de survie obtenus pour les deux types de transfert est peut être du au dépassement du temps limite d'attente des embryons .Selon, Baril et al., (1993) il est conseillé de limiter le temps d'attente des embryons devant être congelés ou transférer en frais chez les receveuses à deux ou trois heures.

En fin, d'autres facteurs peuvent réduire le taux de survie des embryons. De faible taux de survie des embryons ont été enregistrés chez les jeunes femelles, comparées à des femelles adultes (Driancourt et Avdi, 1993). Aussi, l'alimentation et le stress thermique n'ont pas seulement un effet sur le nombre et la qualité des ovulations, mais aussi sur la survie des embryons (Bister, 2004).

Références
Bibliographiques

1. **AKBAR A.M, NETT T.M, ET NISWENDER G.D.; 1974.** Metabolic clearance and secretion rates of gonadotrophin at different stage of the oestrus cycle in ewes. *Endocrinology*,94:1318-1324.
2. **AMMOUN.I., ENCINAS.T., VEIGA.LOPEZA., ROS.J.M., CONTRERASI, GONZALEZ-AÑOVER P., COCERO. M. J., MCNEILLY A. S., AND GONZALEZ-BULNESA.; 2006:** Effects of breed on kinetics of ovine FSH and ovarian response in superovulated sheep. *Theriogenology* 66:896-905.
3. **ANNA.T., GRAZUL-BILSKA., JAMES, KIRSCHL, JERZY, BILSKL, KIM., AND KRAFT., 2007.** Superovulation in sheep: number and weight of corpora lutea and serum progesterone. *Sheep & Goat Research Journal*, Volume 22.
4. **ARMSTRONG .DT., EVANS .G.; 1983.**Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. *Theriogenology*.19.p31-42.
5. **ARMSTRONG.DT., OPAWSQUL MA.; 1986.**Biological characterization of a pituitary FSH preparation with reduced LH activity,(1):135
6. **BARIL.F.,KHALID.M.,HARSING.W.,MURRAY.A.,MERRELL.B.;2003.**Effect of mating system,flushing procedure,progesterone dose and donor ewes age on the yield and quality of embryos within a MOET program in sheep. *Theriogenology*,53;727-742.
7. **BARIL.G.,CASAMITJANA.P.,PERRIN.J.,VALLET.JC.;1988.** Embryo production, freezing and transfert in Angora, Alpine and Sanen goat.4e reunion AETE LYON, ;67-93.
8. **BARIL, G. AND VALLET, J.C. 1990.** Time of ovulation in dairy goats induced to superovulated with porcinefollicle stimulating hormone and out ofthe breeding season, *Theriogenology* 34, 303-311.
9. **BARIL .G ., BREBION.P.,CHESNE P .;1993 .** Manuel de formation pratique pour la trasplantation embryonnaire chez la brebis et la chevre. FAO ,115,ISSN 1014-1099.
10. **BARIL G., CHEMINEAU P., COGNIE Y., LEBOEUF B., ORGEUR P., VALLET J.C., 1993 :**Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins par, Station de la physiologie de la reproduction, Institut national de la recherche agronomique (INRA),Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture Rome.
11. **BARIL.G.,COGNIE.Y.,BELLOC.JP.,LEBOEUF.B.,SAUMANDE.J. ;2004 .** Effet de prétraitement agoniste et antagoniste de GnRH sur la production d'embryons chez la brebis et la chèvre. *Renc. Rech. Ruminants*, 11. 373-376.

12. **BARTLEWSKI .P.M.,ALEXENDER B.D.,KING .W.A.;2008.** Ovarian and endocrine determinants of superovulatory responses in anestrous ewes.smallruminant research.75:210-216.
13. **BECKERS.JF., CLOSSET.JF., MAGHIN-ROGISTER .G., HENNEN .G.;** 1977.Bovin follitropin, isolation and characterization of the native hormone and its α and β subunits.biochemie,59:825-831.
14. **BONO.G., CAROLI .F., TAMANINI .C., ABRATEL .L., 1983.** Progesterone, oestrogen, LH, FSH, and PRL concentrations in plasma during the oestrus cycle in goat. *Reprod. Nut. Devel.*, 23, 217-222.
15. **BORIS GRESSIER. ; 1999.**Etude de l'influence du rapport FSH/LH dans le cadre de la superovulation chez la chevre .Faculté de médecine de Nantes.
16. **BREBION.P., BECKERS .JF., GUERIN.Y., BOOMAROV.;** 1991. High performance of Booroola \times Romanov ewes as permanent embryo donors. In colloque INRA, major genes for reproduction in sheep. Colloques de l'INRA n°57,171-174, Edition INRA, Paris.
17. **BREBION .P.,BARIL.G.,COGNIE.Y., VALLET.J.C. ;1992 .**Transfert d'embryons chez les ovins et les caprins .Ann zootech 41 :331-339.
18. **CASAMITJANA .P. ; 2006 ;**Synchronisation de l'œstrus chez la brebis avec un analogue de la GnRH.recherches sur les ruminants ;4-5 decembre paris ,3 ;199.
19. **CASTONGUAY.F.,DUFOUR.J.J.,LAFROSET.J.P.,DEROY.L.M. ;1996.**Synchronisation de l'oestrus chez la brebis avec analogue de GnRH .recherche sur les ruminant,4-5decembre ;Paris,3 :199.
20. **CHELLIG. ;1992 .**Les races ovines algériennes Office des publications universitaires.P : 9 ,48,49,50,53,55,57,60,63,64,65,66.
21. **CHEMINEAU. P., CHUPIN. D., THIMONIER .Y. ;1991.** La maîtrise de la reproduction des mammifères domestiques in : THIBAUT ET LEASSEUR (1991). La production chez les mammifères et l'homme. Paris : Ellipses. Chapitre 34. p.655-676.
22. **CHEMINEAU .P., BARIL .G., LEOEUF .B., MAUREL .MC., ROY .F., PELLICER-RUBIO.M.;** 1999 .Implications of recent advances in reproductive physiology for reproductive management of goats. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, 54,129-142.
23. **CHUPIN D. ; 1988 .** Superovulation par PMSG ou FSH pour le transfert embryonnaire. *Coli Soc Fr Études Fertil* 26, 213-232.

24. **CLEMENT. ; 2005.** Production et transfert d'embryon in vivo chez la chèvre de race Boer, thèse de doctorat vétérinaire, école national vétérinaire d'Alfort.
25. **COGNIE.Y ET PELLETIER J.; 1976.** Preovulatory LH release and ovulation dry and lactating ewes after progestagen and PMSG treatment during the seasonal anoestrus. *Ann.Biol.Bioph.* 16, p529-536.
26. **COGNIE.Y., 1984 :** Comparaison de deux traitements de superovulation chez la brebis síté par J.C Vallet., Casamijana.
27. **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.
28. **COGNIE .Y.,PAULIN.N.,LAMARA.A..1996.**The in vitro production of goatembryos using individual oocytes from diferrente sources.*proc,12th Association Auropéenne de Transfert emnryonnaire.*lyon. 122,1-8
29. **COGNIE. Y.;1999.** State of the art in sheep-goat embryo transfer. *Theriogenology*, 51, 105-116.
30. **COGNIE ET BARIL. ; 2002.**Physiologie de la reproduction et des comportements, 37380 Nouzilly, INRA prod anim,2002,15,(3),199-207.
31. **COGNIE.Y., BARIL.G.,POULIN.N.,MERMILLOD.P.; 2003** .Current status of embryo technologies in sheep and goat . Published in *theriogenology* 59: 171-188.
32. **CORDEIRO.MF., LIMA-VERDE .JB., LOPES-JUNIOR .ES.,TEIXEIRA IA.; 2002.**Embryo recovery rate in Santa ewes subjected to successive superovulatory treatments with pFSH. Laboratory of physiology and control of reproduction, Faculty of veterinary, State University of Leara, Avenue Paranjana 1700, Fortaleza CE 60740-000.
33. **CORDEIRO.MF., LIMA-VERDE .JB., LOPES-JUNIOR .ES.,TEIXEIRA IA.; 2003.** Embryo recovery rate in Santa ewes subjected to successive superovulatory treatments with pFSH. Laboratory of physiology and control of reproduction, Faculty of veterinary, State University of Leara. Fortaleza, Brazil, CE 60740-000.
34. **COURROT.M.,VOLLAND-NAIL.P. ; 1991.**Production animales .INRA Fevrier volume 4 N° 1. pages :22-23.
35. **D'ALSSANDRO.AG. , MARTEMUCCI .G.,COLONNAM.A.,CAFUERI .C.,TODEDA. F. ;1997.**Some affect of adding pLH in defined amounts to purified pFSH
36. to modify FSH/LH ratios during the superovulatory treatment of anoestrus ewes.*Anim.Reprod.Sci.*47:91-98.

37. **D'ALESSANDRO. A.G., MARTEMUCCI .G., AND TAIBI. L.;**2005. How the FSH/LH ratio and dose numbers in the p-FSH administration treatment regimen, and insemination schedule affect superovulatory response in ewes. *Theriogenology*, Volume 63, Issue 6, 1764-1774.
38. **DEL CAMPO .C.H., SALAS .F., GATICA .R., DEL CAMPO. M.R.;** 1985. Different methods of superovulation using Horse Anterior Pituitary Extract (HAP) in goats during breeding season ; *Theriogenology*, , 23, 186.
39. **DINGWALL.W.S.,MCKELVEY.W.A.C.,MYLNE.J.,SIMM.G.;** 1993 . An evaluation of MOET in Suffolk sheep .*Anim.Prod.*56:444.
40. **DOBSON.H.,CAMPBELL.B.K.,SCARAMUZZLR.;**1997.Use of GnRH antagonist in conjunction with low amplitude, high frequency LH pulses to indice follicular growth without an LH surge and ovulation in ewe . *Anim. Reprod. Sci.*, 46:213-222.
41. **DONALSON .L.E. ;** 1984. Embryo production in suoerovulated cows ,transferable embryo correlated with total embryos .*theriogenology*, 21:517-524.
42. **DRIANCOURT.MA., PHILIPON .P., LOCATELLI .A., JAQUES .E. ;** 1988. Are differences in FSH concentrations involved in the control of ovulation rate in Romanov and Ile de France ewes du Quebec, , 14, 55-59.
43. **DRIANCOURT.MA.,FRY.R.C.;**1992. Effect of superovulation with pFSH or PMSG on growth and maturation of the ovulatory follicules in sheep . *Anim. Reprod. Sci.*,27:279-292.
44. **DRIANCOURT.MA ET AVDLM.;** 1993.Reproduction, Fertility and Development 16 : (4) 421-435 .
45. **EVANS. G., ROBINSON. T.J.;**1980. The control of fertility in sheep: endocrine and ovarian responses to progestagene-PMSG treatment in the breeding season and in anoestrus. *J. Agric. Sci.* 94, 69-88.
46. **EVANS.G ET ARMSTRONG..D.T.;**1984. Reduction of sperm transport in ewes by superovulation treatment . *J.Reprod.Fertil.*70:47-53.
47. **FORCADA. F., ABECIA .JA., LOZANO. JM.;**2000 .Repeated superovulation of height prolificacy Rasa Aragonesa ewes before culling as an inexpensive way to obtain

- high quality embryos. Departamento de production animal y ciencia de los alimentos Universidad de Zaragoza Spain. *Livestock Production Science* 66. 263–269.
48. **GIBBONS.A. ET CUETO.M.I. ; 1995.** Transfencia de embryones en ovinos y caprinos. INTA EEA Regionalpatagonianorte .
49. **GILBERTE.B. GEANINE.D. CAROLE.D. RAYMONDE.G. ROLAND.J ANDRE LE LOC'H, LUIS.M. GISELE ROBIN. I. ; 2005.** Reproduction des animaux d'elevage .Deuxiemeedition EDUCARI .2005.
50. **GIOVANNI L., LUISA B., PIERPAOLO P., SERGIO L., SALVATORE N.; 2001.** Sheep embryos derived from FSH/eCG treatment have a lower in vitro viability after verifications than those derived from FSH treatment .*Reprod. Nutr. Dev.* 41 (2001) 239–246.
51. **GILBERT.B., GEANINE.D., CAROLE.D., RAYMONDE.G., ROLAND.J., ANDRE LE LOC'H, LUIS.M., GISELE ROBIN. I. ; 2005 .** Reproduction des animaux d'elevage , Deuxieme edition EDUCARI .2005. .
52. **GONZÁLEZ-BULNES .A., SANTIAGO-MORENO J., COCERO .MJ., AND LÓPEZ-SEBASTIÁN .A.; 2000.** Effects of FSH commercial preparation and follicular status on follicular growth and superovulatory response in Spanish merino ewes, *Theriogenology* 54, 1055–1064.
53. **GONZALEZ STRAGNARO.C. ; 1984.** Reproduction des animaux en zone tropicale . Colloque INRA,20 :1.
54. **GONZALEZ-BULNES.A., GARCIA-GARCIA.R.M., SANTIAGO-MORENO.J., LOPEZ-SEBASTIAN., COCERO MJ.;2002** Effects of follicular status on superovulatory response in ewes is influenced by by presence of corpus luteum at first FSH dose , *Theriogenology* ,58,1607-1614,(2002).
55. **GONZALEZ-BULNES .A., ROSA MARI .GG., VANESA .C., JULIAN .S., CARMEN .A., VERONICA .D., ANTONIO .L., JESUSA .F., TRESGUERRES, MARI .J.; 2003.** Influence of maternal environment on the number of transferable embryos obtained in response to superovulatory FSH treatments in ewes. Dept de reproduction animal, INRA, AVDA. *Reprod. Nutr.Dev.* 43,17–28 17 INRA, EDP Sciences.
56. **GORDON.;1975 .** Hormonal control of reproduction in sheep . *Proc.Br.Soc.Anim.Prod.* 4:79-93.

57. **GUIGNOT.F. ; 2005** .Cryoconservation des embryons des espèces domestiques, INRA unité mixte de recherche physiologie e la reproduction et des comportements ,37380 NouzillyINRA.prod animal.2005 ,18(1) ,27-35.
58. **HANZEN . ;2008** :la maitrise des cycles chez les petits ruminants. université de Liege. Belgique. Cours de l'année.
59. **HANZEN, ;2009** .La production d'embryons in vivo dans l'espece bovine.Prof.ch. Hanzen. unninersité de Liege.
60. **HANSEL.W.,CONVEY.E.M.;1983**. Physiology of the oestrus cycle . J.Anim.Sci. (Suppl.2),57:404-412.
61. **HASLER .,2001**.Multiple ovulation and embryo transfert in Goats: by *KHOBOSO CHRISTINA LEHLOENYA*: This is submitted in partial fulfillement of the requirements for the degree PHD in the faculty of naturel and agricultural science, Department of animal, Wildlife and and grassland science .University of the free state Bloemfontein. February 2008.
62. **HOLTZ,W, ;2005**. Recent developpement in assisted reproduction in goats.Small Rumin.Res.60,95-110.
63. **ISHWAR ET MEMON .;1996** .Miltipleoivulation and embryo transfer in goats ; By *KHOBOSO CHRISTINA LEHLOENYA* : A thesis submitted in partial fulfillement of requirements for the degree of PHD in the faculty of Naturel and agricultuel sciences : departement of animal,Wildlife and Grassland Sviences .Unniversity of the free state of bmoemfontein,February 2008.
64. **JABBOUR.H.N., EVANS. G.; 1991**. Ovarian and endocrine response of Merino ewes to treatment with PMSG and/or FSH-p. Anim. Reprod. Sci. 26, 93–106.
65. **JOSE.H.C.,RICARDO A.L.,JUAN CARLOSE.K.V., GaryL.W., Jorge Alfredo Q.F.;2008**. Respuesta ovulatoria, estado de desarrollo y calidad de embriones de ovejas pelibuey Superovuladas suplementadas con acidos garsos poliinsaturados., Tec Pécu Méx.,
66. 46(2) :107-117
67. **LAMRANLF ., BENYOUNES.J., SULON.G. KHALDLB. ,REKIK.R., BOURAOULJ.F., BECKERS ANS TAHJAR .;2008** .Effects of repeated use of PMSG on reproductive performances of the Ouled Djalel ewes ,research journal of animal science 2 (1) :22-30,2008.

68. **LASTER .D.B ET GLIMP .H.A.;**1974. Influence of breed on response to exogenous hormones in estrus and anestrus ewes. *J. Anim. Sci*, 1129-1135.
69. **LEUFEUVRE.A. ;** 1992 . Synchronisation des chaleurs et superovulation chez la chèvre. Comparaison de 2 prostaglandines, l'etiproston et le cloprostenol. *Th. Méd. Vét., Nantes*, n° 67.
70. **LEONIG.,BOGLIO.L.,PINTUS.P.,LEDDA.S.,NAITANA.S.;**2001. Sheep embryos derived from FSH/eCGtreatment have a lower in vitro viability after virification than those derived from FSH treatment. *Repro.Nutri.Dev.* 41:239-246.
71. **LINDNER G.M., WRIGHT R.W.J.;** 1983. Bovin embryo morphology and evaluation *Theriogenology.* 20: 407-416.
72. **LOPEZ-DIAZ.M.C.,BOSU.W.T.K.;**1990. A review and update of cyclic ovarian degeneration in ruminants . *theriogenology*, 37:1163-1183.
73. **LUNSTRA D.R ET CHRISTENSON R.K. ;** 1981 . Fertilization and embryonic survival in ewes synchronized with exogenous hormones during the anoestrus and estrus seasons. *J. Anim. Sci*, 53: 458-466.
74. **LYNGSET.O.;**1964. Physiology of reproduction in goats . *Nord.Veter.Med.* 16.
75. **MACKENZIE. ;** 2005. Application du génie génétique aux animaux d'élevage et aux produits issus des biotechnologies. Canada Food Inspection Agency (Agence canadienne d'inspection alimentaire), 59 Camelot Drive, Ottawa, Ontario K1A0Y9, Canada.
76. **MORIY.,KANO.Y.;**1984. Changes in plasma of LH, progesterone and oestradiol in relation to the occurrence of luteolysis, oestrus and time of ovulation in Shiba goat. *J.Repro.Fert*, 72.223-230.
77. **MURPHUY B.D.,** 1984: viability in gonadotrophin preparation as a factor in the superovulatory response. *Theriogenology*, 21 n°1, 117-125.
78. **NOAHISA .I.,JUNG YEON- GIL.,ITAGAKI.R., OKADA.M., OGISO.T., ISHIKAWA.D., FUKUY.;**1991.Non surgical transfert of Fresh or Frozen-Thawed Ovine Embryos by Laparoscopy. *j. Reprod.Dev.*45 :289-293.
79. **NAOHISA. I., YEON-GIL JUNG., RYOKO .I., MIDORI .O., TOMOE .O., DAISUKE.I ., YUTAKA. F.;**1997. Non-Surgical Transfer of Fresh or Frozen-Thawed Ovine Embryos by Laparoscopy .Laboratory of Animal Genetics and Reproduction, Obihiro University of Agriculture and Veterinary medicine, Japan. *J. Reprod. Dev.* 45: 289-293.

80. **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, Avikanagar, Jaipur, Rajasthan; 304-501, India.
81. **NINOT.G.,DELETANG.F.,FLOC'H,LOPEZA.,REMMY.D.CEVA. ; Santé Animal,Z.I. 2007.** Performences de fertilité a l'IA,apres synchronisation des ovulations de brebis viandes et de brebis laitiers , avec des eponges vaginales imprégnées de 30mg de FGA . LaBallastiere, 33501 Libourne cedex,France ;2007.
82. **de brebis viandes et de brebis laitiers , avec des eponges vaginales imprégnées de 30mg de FGA . LaBallastiere, 33501 Libourne cedex,France ;2007.**
83. **NOWSHARLMA.,YUSWIATLE.,PULS-KLEINGELD.,M.HOLTZ.W.;1992.** Superovulation in peripubertal and adult goats treated with PMSG or pFSH.:Lokeshwar RR(ed),Recent Advances in Goat Production.Nutan Printers , New Delhi,India;1358-1363.
84. **NOWSHARLMA.,BECKERS.JF.,HOLTZ.W.,1993.** Superovulation of goats with purified pFSH supplemented with defined amounts of pLH .Theriogenology.43,797-802..
85. **NUTI .L.C., MINHA .S., BAKER W.C AND CAPEHART .J.S.; 1984.** Marrack.P: Superovulation and recovery zygotes from Nubian and Alpine dairy goats. Theriogenology, 28, 481-488.
86. **OKADA .A., KAWADA S.J., MIYAMOTO A., FUK Y.; 2000.** Incidence of abnormal corpus in superovulated ewes. J. Reprod. Fertil. Dev. 46, 6. Protocols for superovulation of ewes J Anim Sci. 69:246-251.
87. **PEURA ET AL.; 2001 .**Miltipleoivulation and embryo transfer in goats by **KHOBOSO CHRISTINA LEHLOENYA:** This is submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree PHD in the faculty of naturel and agricultural science, Department of animal, Wildlife and and grassland science .University of the free state Bloemfontein. February 2008.
88. **RAMON-UGALDE.J.P., FOLCH.J. COCERO .M.J., PINA-AGUILAR.R.E., ALBARAT.J.L.;2008.** Embryo recovery from the oviduct in superovulated ewes : a method to improve MOET systems. Czech J. Anim. Sci. 53,2008 (4): 145-151.
89. **RAYMOND.W., WRIGHT.JR., KENNETH BONDIOLL, JEAN GRAMMER., FRANK KUZAN AND ALFRED MENINOJR.;1981.** FSH or FSH plus LH superovulation in ewes following estrus synchronization with medoxyprogesterone acetate pessaries. Washington State Université, Pullman 99164.

90. **REMY.B.,BARIL.G.,VALLET.JC.,CHOUVET.C.,SAUMANDE.J.,CHUPINE.D., BECKERS.;**1992.Are antibodies responsible for a decreased superovulatory response in goats which have been treated repeatedly with the porcine follicle-stimulating hormone? *THERIOGENOLOGY*,36,389-319.
91. **RIESENBERG, S., S. MEINECKE-TILTMANN., AND B. MEINECKE., 2000:** Ultrasonic study of follicular dynamics following superovulation in German Merino ewes. *Theriogenology* 55:847-865.
92. **RIZOS ET AL, 2001 ;MULTIPLE OVULATION AND EMBRYO TRANSFER IN GOATS;BY KHOBOSO CHRISTINA LEHLOENYA;**A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree;PHILOSOPHAEDOCTOR;In the faculty of natural and agricultural sciences;Department of animal,Wildlife and Grassland sciences;university of the free state Bloemfontein;February 2008.
93. **ROBERTSON.I.,NELSONR.E. ;(IETS)1998 .** International embryo transfer society guide. Chapter 9. Certification and identification of the embryo ,3rded. Savoy. II: IETS ,p170.
94. **REXROAD.C.E., POWELL.A.M.;** 1991. FSH injections and intra-uterine insemination in protocols for superovulation of ewes.. *J. ANIM. SCI.* 69, 246–251.
95. **SAM. E., CUR., LYNN NIX et FRANK.A., HUDSON., 1968:** Lambing rate as influenced by hormone-induced superovulation in ewes prior to mating.Texas Technological Lubbock.American society of animal science. *J Anim Sci.* 27:431-433.
96. **SIMONETTI L.F ., FORCARDI . O . E ., RIVERA. N ., CAROU. R. H., ALBERIO .J, A.ABECIA., L.PALACIN.;**2008. Simplified superovulatory treatments in Corriedale ewes; Animal production. School of agrarian sciences, National University of Lomas de Zamora .Buenos Aires, Argentine; *Animal Reproduction Science* 104 227–237.
97. **TERVIT.H.R.,GOULD.P.G ET MCKENZIE.R.D.;** 1984 .Embryo transfer in Angora and Saanen goats.*Theriogenology*, 21.262-269.
98. **TORRES. S., COGNIE .Y. , COLAS. G. ; 1984.:** Transfert des embryons chez les ovins. IX journées de la recherche ovine et caprine, Ed .Inra-Tovic-Spec, Paris, 215-239.
99. **TORRES ET COGNIE. ;1984 .** Transfert des embryons chez les ovins, IX journées de la recherche ovine et caprine Edition INRA-Tovic-Spec , Paris.

100. **TORRES.S., SEVELLEC.C.;1987.**Repeated superovulation and surgical recovery of embryos in the ewes. *Reprod. Nurt. Develop.* 27: 859-863 .
101. **TORRES. S., COGNIE.Y., COLAS. G., 1987.** Transfer of superovulated sheep embryos obtained with different FSH-P. *Theriogenology* 27, 407-419.
102. **TIBARY ET MANAR,;1998.** Factors affecting oestrussynchronisation in two moroccan breeds of sheep. *Proceedings of the 11th international congress on Animal Reproduction and artificiel insemination* 1 :462.
103. **VALLET. J. C., BARIL .G., LEBEOUF. B., J. PERRIN. ; 1991.** Insémination artificielle intra-utérine sous contrôle laparoscopique chez les petits ruminants domestiques, *Ann. zootech*, 41, 305-309.
104. **VEIGA-LOPEZ.A.,GONZALEZ-BULNES.A.,GARICAI-GARCAI.S.R.M., DOMINGUEZ .V., COCERO M.J., 2005:**The effects of previous ovarian status on ovulation rate and early embryo development in response to superovulatory FSH treatments in sheep. *Theriogenology*, 63, 1973-1983.
105. **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.Repro.Fert.* 77:135-142.
106. **WHITELY .NC., JACKSON .DJ.; 2004.** An update on oestrussynchronisation in goats: a minor species. *Journal of animal science*, p270-276.
107. **WOLF.B.T.,MYLNE.M.J.A.,1994.**Influence of age of donor ewe on MOET in Texel Sheep, in *proc.BritishSoc.Anim Prod*,86.
108. **YOUNGQUIST .R.S.;1997.** *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*, 1st edition Philadelphia: WB Saunders Company 898p.



Conclusion

L'application sur le terrain de la production et du transfert d'embryons permet une sélection accrue des individus (male, femelle) génétiquement intéressants. Cependant, la variabilité de la réponse ovarienne au traitement de superovulation reste l'inconvénient majeur qui limite son utilisation. Cette variabilité est influencée par divers facteurs tels que la dose, la race et la population folliculaire présente au moment au débute l'administration du traitement superovulatoire .

Les résultats obtenus dans la présente étude montre que la réponse ovarienne était en moyenne de $7,2 \pm 2,12$ CJ et de $8 \pm 2,83$ CJ respectivement pour les lots 1 et 2. Le taux de récupération des embryons après une laparotomie est de 20% et 68,75 pour les lots 1 et 2 respectivement. Le taux moyen d'embryon transférable est de 90% chez l'ensemble des brebis.

A l'issu de ce travail, il apparaît que l'utilisation chez les brebis Hamra de dose décroissante de 16 et 20 UA de FSHp permet d'obtenir des résultats satisfaisants. La réponse ovarienne après la stimulation de FSH est en corrélation positive ($r=0.63$) avec la population folliculaire présente sur l'ovaire avant le traitement de superovulation .

Cependant, l'utilisation d'un rapport constant FSHp/LHp de 40% n'a permis pas d'améliorer les résultats de superovulation, et semble perturbée les fonctions endocrines .

Le diagnostic de gestation par échographie a révélé un taux de gestation de 40% après transfert d'embryon frais, cependant un résultat négatif a été enregistré lors du transfert des embryons congelés. Il semble que ce faible taux de survie obtenus pour les deux types de transfert est peut être du au dépassement du temps limite d'attente des embryons d'où la nécessité de réaliser d'autres essais afin de limiter le temps d'attente des embryons devant être congelés ou transférer en frais chez les receveuses.