



342THV-2

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

Université "SAAD DAHLEB" BLIDA

Faculté des sciences agro-vétérinaires et biologiques

Département des sciences vétérinaires

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

**Thème :**

EFFET DE LA DOSE DE FSH<sub>p</sub> ET D'UN PRETRAITEMENT PAR UN AGONISTE  
DE GnRH SUR LA PRODUCTION D'EMBRYONS CHEZ LA BREBIS DE RACE  
OULED DJELLAL

Réalisé par :

Mr. BELLAHOUES Mouloud

Mr. HARRAOUNINE Nacim

Jury :

Président : D. ADEL

(M.A.A) U.S.D.Blida

Examineur 1 : M. AMMI

(M.A.B) U.S.D.Blida

Examineur 2 : A. YAHIA

(M.A.A) U.S.D.Blida

Promoteur : I. GHARBI

(M.A.A) U.S.D.Blida

Promotion 2009/2010

# Remerciements

A Mr GHARBI I. : qui nous a proposé ce sujet et qui nous a aidé tout au long de la réalisation de ce travail par ses conseils précieux, son soutien et sa disponibilité.

Qu'il trouve ici la marque de notre reconnaissance et de notre profond respect.

A Mr FERROUK M. et Mme GHARBI A. : pour leur aide à la réalisation de notre partie expérimentale.

Nos remerciements les plus attentionnés s'adressent :

A Mr YAHIA A. qui nous a fait l'honneur et l'amabilité de participer à notre jury de thèse. Sincères remerciements.

A Mr ADEL D. qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse. Hommage respectueux.

A tout le personnel du département vétérinaire de l'U.S.D. Blida surtout SAMIR et sa femme AMINA.

Que ce soit au cours de nos études vétérinaires ou pour cette thèse, nous remercions nos amis(es) les plus chers : SALEM, TARIK, BARAKOUDA, FLAWRA, DJAFER, NAWEL, HAMIMI, SAIDA, YAZID, FAHIM, SALIM, MEBROUK, AMINE, ZAHIA, WAHIBA, KELTOUMA, ABD-ERRAHIM et SAMIR (LNI)

## *Dédicaces*

*A mes chers parents qui m'ont éclairé le chemin et qui ont toujours cru en moi, sans eux je ne serai jamais là.*

*A mes frères : Sofiane, Boudjemaa, Naim, Samir et ma sœur Nassima, pour votre gentillesse et votre encouragement.*

*A mes deux adorables et charmants neveux Zakia et Amine.*

*A toute ma famille.*

*A tous mes amis en particulier Elvaz, Redha, Meziane, Rabah, Saïd, Hani et Warda, avec qui j'ai partagé les meilleurs moments de mon existence et pour leur fidélité.*

*En fin, à mon binôme mouloud et toute sa famille.*

*Nassim*

## DEDICACES

*Je dédie ce modeste travail :*

*A Mes très chers parents pour leur confiance et le soutien qu'ils m'ont toujours apporté durant toutes ses années. Sans lesquels je n'arriverai jamais là. Que dieu vous garde pour toujours ! Vous méritez tout, tout simplement !*

*A Mes frères et mes sœurs pour leurs encouragements et leur présence de tous les instants ( passés, présents et futures !) Qu'ils trouvent ici mes sincères remerciements.*

*A toute la famille BELLAHOUES, grands et petits.*

*Au Docteur TOUAT R. pour son aide et ses conseils que je n'oublierai à jamais !*

*A tous mes amis(es) et plus spécialement à : KHALED, BILLEL, SMAIL, MOUMOUH, RABAH et LILIA.*

*A toute la promotion de 5ème année vétérinaire 2010.*

*A mon binôme NASSIM et toute sa famille et ses amis.*

**MOULOUD**

# TABLES DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX.....	I
LISTE DES FIGURES.....	II
LISTE DES PHOTOS.....	III
LISTE DES ABREVIATIONS.....	IV
RESUME.....	V
INTRODUCTION.....	1

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

### CHAPITRE I : LES TECHNIQUES DE PRODUCTION ET DE TRANSFERT D'EMBRYONS CHEZ LES OVINS

I-Introduction.....	2
II-Production in vivo d'embryons.....	2
II-1. Synchronisation des chaleurs.....	2
II-1.1. Les Progestagènes.....	2
II-1.2. Les prostaglandines.....	4
II-2. Superovulation.....	4
II-2.1. Nature des traitements.....	4
II-2.1.1. PMSG.....	4
II-2.1.2. FSH.....	5
II-2.1.3. HAP.....	5
II-2.1.4. HMG.....	5
II-3. La fécondation.....	6
II-3.1. Saillie naturelle.....	6
II-3.2. Insémination artificielle.....	6
II-3.2.1. Semence fraîche.....	7
II-3.2.2. Semence congelée.....	7
II-4. La collecte d'embryons.....	7
II-4.1. Technique chirurgicale.....	8
II-4.2. Technique laparoscopique.....	8

<b>II-5. Examen et classement des embryons.....</b>	<b>8</b>
<b>II-6. Conservation des embryons.....</b>	<b>10</b>
<b>II-6.1 Technique de congélation lente.....</b>	<b>10</b>
<b>II-6.2 Technique de Vitrification.....</b>	<b>10</b>

**CHAPITRE II. FACTEURS DE VARIATION ET D'AMELIORATION DE LA  
PRODUCTION IN VIVO D'EMBRYONS**

<b>II-1. Facteurs de variation de la production in vivo d'embryons.....</b>	<b>12</b>
<b>A) Les facteurs intrinsèques.....</b>	<b>12</b>
a) L'individu.....	12
b) La race.....	12
c) L'âge.....	13
d) Etat des ovaires.....	13
<b>B) Les facteurs extrinsèques.....</b>	<b>14</b>
a) La saison.....	14
b) Facteurs nutritionnels.....	14
c) Le choix de l'hormone du traitement.....	15
d) Doses utilisées.....	15
e) Répartition des doses et rapport FSH/LH.....	16
f) La technique d'insémination utilisée.....	16
g) La technique de la récolte utilisée.....	17
<b>II-2. Facteurs d'amélioration de la production in vivo d'embryons.....</b>	<b>17</b>
<b>II-2.1. Augmentation de l'efficacité du traitement de superovulation par l'utilisation d'un agoniste ou un antagoniste à la GnRH.....</b>	<b>17</b>
<b>II-2.2. GnRH.....</b>	<b>18</b>
<b>II-2.3. Rôle et Mode de sécrétion de GnRH.....</b>	<b>18</b>
<b>II-2.4. Catabolisme de GnRH.....</b>	<b>18</b>
<b>II-2.5. Désensibilisation de l'hypophyse par l'administration chronique des agonistes et l'antagoniste à la GnRH.....</b>	<b>19</b>
<b>II-2.5.1. Les agonistes.....</b>	<b>19</b>
<b>II-2.5.2. les antagonistes.....</b>	<b>19</b>
<b>II-2.6. Protocoles utilisés dans les traitements de superovulation chez la brebis.....</b>	<b>20</b>

II-2.6.1. Agonistes de la GnRH.....	20
II-2.6.1. Anti GnRH.....	20

## PARTIE EXPERIMENTALE

OBJECTIFS.....	22
----------------	----

### CHAPITRE I : EFFET DE LA DOSE DE FSH<sub>p</sub> ET DU PRETRAITEMENT PAR UN AGONISTE DE LA GnRH SUR LE COMPORTEMENT D'OESTRUS ET LA REPOSE OVARIENNE.

I- LIEU ET PERIODE DE L'EXPERIMENTATION.....	23
--	----

II- MATERIEL ET METHODES.....	23
-------------------------------	----

II.1. Matériel.....	23
---------------------	----

II.1.1. Animaux.....	23
----------------------	----

II.1.2. Appareillages, instruments et produits.....	25
---	----

II.2. Méthodes.....	26
---------------------	----

II.2.1. Echographie.....	27
--------------------------	----

II.2.2. Traitement de synchronisation et de super ovulation .....	27
---	----

II.2.3. Détection d'oestrus.....	29
----------------------------------	----

II.2.4. Récolte et conditionnement du sperme.....	29
---	----

II.2.5. Fécondation.....	29
--------------------------	----

II.2.6. Endoscopie.....	29
-------------------------	----

III. ANALYSE DES DONNEES.....	30
-------------------------------	----

IV. RESULTATS.....	30
--------------------	----

IV.1. Comportement d'oestrus chez les brebis du lot 1 et 2.....	30
---	----

IV.2. Comportement d'oestrus chez les brebis du lot 3 et 4.....	31
---	----

IV.3. Réponse ovarienne après traitement de superovulation.....	32
---	----

IV.3.1. Réponse ovulatoire chez les brebis du lot 1 et 2.....	32
---	----

IV.3.1. Réponse ovulatoire chez les brebis du lot 3 et 4.....	33
---	----

### CHAPITRE II : EFFET DE LA DOSE DE FSH<sub>p</sub> ET DU PRETRAITEMENT AVEC DE LA GnRH SUR LE TAUX DE RECOLTE ET LA QUALITE DES EMBRYONS

I-MATERIEL ET METHODES.....	35
-----------------------------	----

I-A- Matériel.....	35
--------------------	----

I-A- 1. Animaux.....	35
----------------------	----

I-A- 2. Instruments et produits.....	35
--------------------------------------	----

I.B. Méthodes.....	36
I-B-1. Préparation des animaux.....	36
I-B-2. Récolte des embryons.....	36
I-B-3. Tri et sélection des embryons.....	36
I.B.4. Soins post-opératoires.....	38
II. ANALYSES STATISTIQUES.....	38
III – RESULTATS.....	39
III -1. Dénombrement des corps jaunes.....	39
III -2. Résultat de la récolte.....	39
III.2.A. Structures récoltées.....	39
III.2.B. Taux de récupération.....	40
IV. Classification des embryons.....	41
IV.1. Qualité des structures récoltées.....	41
IV.2. Détermination du taux de fécondité.....	43
IV.3. Détermination du taux d'embryons transférables.....	43
DISCUSSION.....	44
CONCLUSION.....	49



## LISTE DES TABLEAUX

### Partie bibliographique

<b>Tableau 1 :</b> Classification des embryons selon leur qualité.....	9
<b>Tableau 2 :</b> Effet de la race sur la réponse ovulatoire au traitement de stimulation ovarienne.....	13
<b>Tableau 3 :</b> Variation du taux d'ovulation selon l'âge.....	13
<b>Tableau 4 :</b> Effet du type de traitement de stimulation ovarienne sur la réponse ovarienne et le nombre d'embryons transférables par femelle traitée.....	15
<b>Tableau 5 :</b> Production d'embryons chez la brebis en fonction du prétraitement utilisé.....	21

### Partie expérimentale

<b>Tableau 1 :</b> Poids, âge et note d'état corporel (NEC) des brebis donneuses.....	23
<b>Tableau 2 :</b> Race, âge, poids et note d'état corporel (NEC) des béliers.....	24
<b>Tableau 3 :</b> Début, fin et durée des signes d'œstrus chez les brebis du lot 1 et 2.....	30
<b>Tableau 4 :</b> Début, fin et durée des signes d'œstrus chez les brebis du lot 3 et 4.....	31
<b>Tableau 5 :</b> Réponse ovulatoire après traitement de superovulation chez les brebis du lot 1 et 2.....	33
<b>Tableau 6 :</b> Réponse ovulatoire après traitement de superovulation chez les brebis du lot 3 et 4.....	34
<b>Tableau 7 :</b> structures récoltées chez les brebis du lot 1 et 2.....	39
<b>Tableau 8 :</b> structures récoltées chez les brebis du lot 3 et 4.....	40
<b>Tableau 9 :</b> Taux de récolte des embryons chez les brebis du lot 1 et 2.....	40
<b>Tableau 10 :</b> Taux de récolte des embryons chez les brebis du lot 3.....	41
<b>Tableau 11 :</b> Qualité des structures récoltées.....	41
<b>Tableau 12 :</b> Taux de fécondité.....	43
<b>Tableau 13 :</b> Taux des embryons transférables.....	43

## **LISTE DES FIGURES**

### **Partie expérimentale**

<b>Figure 1:</b> Protocole de synchronisation et de superovulation du lot 1 (A) et 2 (B).....	<b>28</b>
<b>Figure 2:</b> Protocole de synchronisation et de superovulation du lot 3 et 4.....	<b>29</b>
<b>Figure 3:</b> Distribution des débuts d'œstrus chez les brebis du lot 1 et 2.....	<b>31</b>
<b>Figure 4:</b> Distribution des débuts d'œstrus chez les brebis du lot 3 et 4.....	<b>32</b>
<b>Figure 5:</b> Schéma de montage des embryons en paillette pour une congélation.....	<b>37</b>

## **LISTE DES PHOTOS**

### **Partie bibliographique**

<b>Photo 1 :</b> Eponges intravaginales.....	<b>3</b>
<b>Photo 2 :</b> CIDR pour l'induction des chaleurs chez la brebis.....	<b>3</b>

### **Partie expérimentale**

<b>Photo 1 :</b> Dénombrement sous endoscopie des corps jaunes chez les brebis du lot 1 et 2.....	<b>33</b>
<b>Photo 2 :</b> Dénombrement sous endoscopie des corps jaunes chez les brebis du lot 3 et 4.....	<b>34</b>
<b>Photo 3 :</b> Recherche des embryons sous une loupe binoculaire.....	<b>37</b>
<b>Photo 4 :</b> Congélation des embryons : opération de seeding.....	<b>38</b>
<b>Photo 5 :</b> Dénombrement des corps jaunes après extériorisation des ovaires.....	<b>39</b>
<b>Photos 6 :</b> Ovocyte non fécondé de classe 4.....	<b>42</b>
<b>Photos 7 :</b> Embryons dégénérés de classe 4.....	<b>42</b>
<b>Photos 8 :</b> Blastocyste en expansion.....	<b>42</b>
<b>Photos 9 :</b> Blastocystes de classe 1.....	<b>42</b>

## TABLE DES ABREVIATIONS

C° : Degré Celsius.

CJ : Corps Jaune.

eCG : équine Chorionic Gonadotropin.

FGA : Acétate de Fluorogestone.

FSH : Follicule Stimulating Hormone.

FSHo: Follicule Stimulating Hormone ovine.

FSHp : Follicule Stimulating Hormone porcine.

GnRH : Gonadotrophine Releasing Hormone.

h : heure.

HAP : Horse Anterior Pituitary.

hCG: human Chorionic Gonadotropine.

hMG: human Menauposal Gonadotropine.

IA : Insémination Artificielle.

IETS : International Embryo Transfer Society.

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique.

J : jours.

LH : Luteinizing Hormone.

LHp : Luteinizing Hormone porcine.

MAP : Medroxyprogesterone.

mg : milligramme.

ml : millilitre.

MOET : Multiple Ovulation and Embryon Transfer.

ND : Nom Déposé.

NEC : Note d'Etat Corporel.

PBS : Phosphate Buffered Saline.

PGF<sub>2</sub> $\alpha$  : Prostaglandine F2.

PMSG : Prénant Mare SÉRum Gonadotrophine.

UA : Unité Armour.

UI : Unité Internationale.

Chez la brebis, le problème majeur en ce qui concerne la superovulation est l'extrême variabilité de la réponse ovulatoire. Celle-ci est attribuable d'une part à la dose du traitement gonadotrope utilisée et l'état ovarien au moment où débute le traitement superovulatoire. Cependant, l'amélioration du rendement de la production d'embryons peut être obtenue par l'usage d'un agoniste ou antagoniste de la GnRH. L'objectif de notre étude est d'évaluer l'effet de la dose de FSHp et d'un prétraitement par un agoniste de GnRH sur la production *in vivo* d'embryons chez les brebis de race Ouled Djellal.

Dix sept (17) brebis de race Ouled Djellal ont été synchronisées par la pose d'éponges vaginales imprégnées de 40mg de FGA, pendant 14 jours. Les brebis ont été réparties en quatre lots : les lots 1 (n=4) et 2 (n=4) n'ont pas reçu de GnRH. Les lots 3 (n=6) et 4 (n=3) ont reçu de la GnRH, pendant 14 jours, comme premier et deuxième prétraitement, respectivement. La superovulation a été induite durant les derniers jours du traitement progestagène, chez les lots 1 et 2, avec 16UA et 20UA de FSHp, respectivement, tandis que les lots 3 et 4 avec 32UA de FSHp. Les brebis superovulées ont reçues de la FSHp enrichie de LHp lors des deux dernières injections. L'ovulation a été induite par injection en IV de LHp chez les brebis des lots 3 et 4. La fécondation a été obtenue par l'utilisation de la saillie et l'insémination intra utérine, et la récolte des embryons a été effectuée par la voie chirurgicale.

Nos résultats montrent que seuls les lots 1, 2 et 3 ont répondu favorablement au traitement superovulatoire. Comparativement aux lots 1 et 2, la réponse ovarienne a été significativement plus élevée chez les brebis du lot 3 ( $16,55 \pm 4,55$ CJ vs  $7,5 \pm 4,50$ CJ,  $p < 0,01$ ). De plus, la durée des chaleurs a été significativement plus longue chez les brebis du lot 3 ( $46,4 \pm 8,29$ h vs  $37,60 \pm 6,06$ h,  $p < 0,1$ ). Le nombre moyen de structures récoltées et le nombre moyen d'embryons transférables ont été nettement supérieurs chez les brebis du lot 3 (nombre moyen de structures récoltées :  $9,83 \pm 3,97$  vs  $4,5 \pm 2,34$ ,  $p < 0,01$ ), (nombre moyen d'embryons transférables :  $3,66$  vs  $9,33$ ,  $p < 0,001$ ).

Chez les brebis Ouled-Djellal, l'administration d'un agoniste de GnRH comme premier prétraitement a permis d'augmenter la réponse ovulatoire et le nombre moyen d'embryons transférables. Cependant, aucune amélioration de la production *in vivo* d'embryons n'a été obtenue lors de la répétition du prétraitement de GnRH.

**Mots clés:** Agoniste de GnRH, brebis, Ouled Djellal, superovulation, embryons.

# *INTRODUCTION*

En Algérie, le cheptel ovin représente la plus grande ressource animale du pays. Son effectif varie entre 17 et 18,5 millions de têtes dont près des 2/3 sont des femelles (O.N.S, 2004). Ainsi, de par son importance, il joue un rôle prépondérant dans l'économie et participe activement à la production des viandes rouges (Si Ziani, 2009).

La race Ouled Djellal est la plus importante en terme d'effectif, elle constitue environ 58% du cheptel national. Ce type d'ovin aux membres forts est actuellement en pleine expansion, il est le plus intéressant par ses aptitudes tant physiques que productives (FAO, 2007). Cependant, le mode d'élevage traditionnel, basé sur un savoir faire limité et les croisements anarchiques entre les races favorisent la disparition progressive du pure noyau Ouled Djellal.

Les biotechnologies de la reproduction, en particulier la production *in vivo* d'embryons est le moyen le plus efficace pour préserver les races qui sont en voie de disparition. L'étape principale influençant la réussite de la production d'embryons est la superovulation, c'est une méthode d'induction d'une poly-ovulation qui se pratique par un traitement classique de synchronisation des chaleurs et de stimulation des fonctions ovarienne par une variété de préparation hormonale à activité gonadotrope. La FSH semble la préparation la plus utilisée car elle permet d'obtenir un taux élevé d'ovulation et des embryons de très bonne qualité (Brebion et *al.*, 1991). La dose totale de FSH administrée varie de 16 à 21UA (Brebion et *al.*, 1992 ; Tervit et *al.*, 1984). Cette variation de dose dépend du type de préparation commerciale de FSH et de la race (Baril et *al.*, 1993).

De plus, chez les brebis superovulées avec FSH, le taux d'ovulations est positivement corrélé au nombre de petits follicules et négativement affecté par la présence de gros follicules présents sur les ovaires au début de la stimulation gonadotrope (Brebion et *al.*, 1992 ; Gonzalez-Bulnes, 2002). La possibilité d'accroître le nombre de follicules recrutables avant le traitement de superovulation peut être obtenu par inhibition temporaire de la croissance folliculaire terminale (cogné et *al.*, 2003).

En effet, l'inhibition des sécrétions endogènes de LH et FSH par administration d'un analogue de GnRH (Baril et *al.*, 2004) ou d'antagoniste de GnRH (Baril et *al.*, 2004; Lopez-alonso et *al.*, 2005) permet d'augmenter de 50% la réponse ovulatoire et de doubler le nombre d'embryons transférables par brebis traitée (Brebion et Cognié, 1989 ; Cognié et *al.*, 2003).

L'objectif de la présente étude est d'évaluer l'effet de deux doses de FSHp et du prétraitement par un agoniste de la GnRH sur la production *in vivo* d'embryons chez la brebis de race Ouled Djellal.

*PARTIE*  
*BIBLIOGRAPHIQUE*



## *CHAPITRE I*

### *Les Techniques De Production Et De Transfert D'embryons Chez Les Ovins*

## I- INTRODUCTION:

La production et le transfert d'embryons sont des techniques qui permettent d'obtenir des embryons dans leurs premiers états de développement, d'une femelle donneuse de haute valeur génétique et qui a été préalablement superovulée, et les transférer à une ou plusieurs receveuses de plus petite valeur zootechnique, où ils se développeront jusqu'à la mise bas.

Le transfert embryonnaire permet la multiplication du nombre de descendants des femelles d'élites, contribue aux progrès génétiques par l'augmentation de l'intensité de sélection, la réduction de l'intervalle entre générations, en fin la conservation des races en danger d'extinction (Fernandez et Ruiz Matas, 2003).

## II- Production in vivo d'embryons :

Les techniques de production et de transfert d'embryons *in vivo* comportent les étapes suivantes :

- Synchronisation des chaleurs.
- Induction de la superovulation.
- Fécondation (insémination artificielle et/ou saillie naturelle).
- Collecte, recherche et tri des embryons.
- Transfert et/ou conservation des embryons.

### II-1. Synchronisation des chaleurs :

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

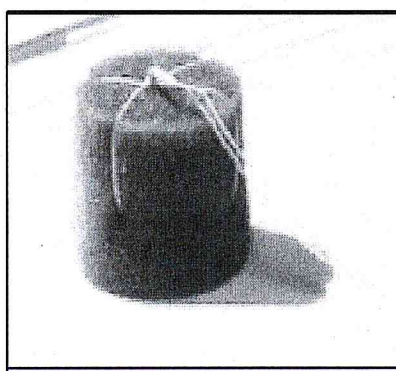
#### II-1.1. Les Progestagènes :

La progestérone ou ces analogues, dits, progestagènes (Gordon, 1975). Ces derniers, sont administrés soit oralement, ou bien sous forme d'implants sous-cutanés, ou par moyens des éponges intravaginales (Cf. photo 1) et des CIDR® (Controlled Internal Drug-Releasing device) (Cf. photo 2) (Hansel et Convey, 1983), d'autres voies sont possibles tel que l'injection ou encore addition dans l'aliment (Courot et Volland-Nail, 1991)

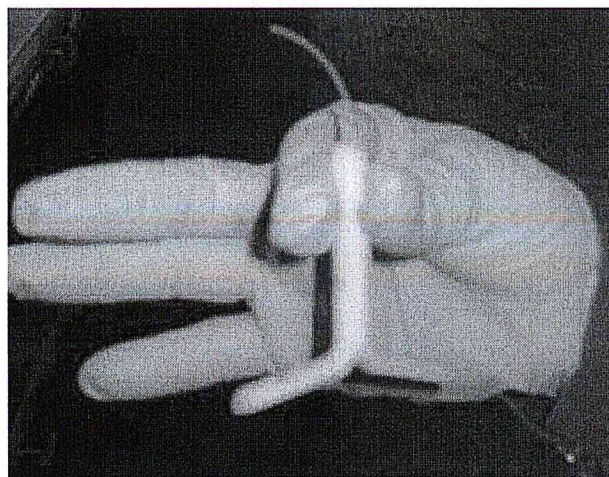
De plus, différents principes actifs sont retrouvés selon les spécialités : les CIDR® contiennent de la progestérone pure sous forme d'un sel de silicate, les implants sous-cutanés

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 54h après la fin du traitement (Walker et *al*, 1986) et l'œstrus apparait dans les 48h qui suivent le retrait (Casamitjana, 2006).



**Photo 1: Eponge intravaginale  
( Bister J.L, 2002)**



**Photo 2: CIDR<sup>ND</sup> pour l'induction des chaleurs chez la brebis.  
(Wheaton J.E.1993)**

## II-1.2. Les prostaglandines :

La maîtrise de la phase lutéale peut chez les femelles cyclées être obtenue en faisant appel à la prostaglandine F2 $\alpha$  seule (Hanzen, 2009). Si les PGF2 $\alpha$  agissent sur la durée de vie du corps jaune, elles n'ont pas d'effet direct sur la croissance folliculaire. Au moment de la lutéolyse, le follicule dominant présent sur l'ovaire n'est pas à un stade précis de développement, ce qui explique l'étalement des chaleurs après traitement (Mialot et *al.*, 1999, Driancourt, 2001).

Chez les petits ruminants, la prostaglandine n'induit la lutéolyse qu'entre le 5<sup>ème</sup> et le 14<sup>ème</sup> jour du cycle. La progestéronémie diminue au cours des 24 heures suivant l'injection, l'oestrus apparaissant chez la brebis dans un délai de 38 heures en moyenne, l'ovulation survenant 93 $\pm$ 8 heures après l'injection de la prostaglandine (Hanzen, 2009).

Chez la brebis cyclée, l'induction et/ou la synchronisation de l'oestrus peut être obtenue par un traitement combinant progestagène et prostaglandine avec ou sans PMSG ou par une injection unique ou double de prostaglandine à 11 jours d'intervalle (Hanzen, 2009).

## II-2. 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. Nature des traitements :

Différentes molécules sont utilisables pour la stimulation folliculaire :

#### II-2.1.1. PMSG :

La première gonadotrophine utilisée pour obtenir une superovulation a été la PMSG (maintenant nommée eCG pour equine Chorionic Gonadotropin) (Cognié et Baril, 2002), administrée par voie intramusculaire en une seule injection de 1000 à 2000UI, un ou deux jours avant le retrait de l'éponge (Baril et *al.*, 1993). Cependant, cette gonadotrophine présente deux inconvénients : d'une part, la forte activité LH de eCG peut induire une

activation prématurée de la méiose ovocytaire, et d'autre part, l'action prolongée de eCG due à sa longue demi-vie (plusieurs jours) provoque des modifications des événements endocriniens défavorables au transport des gamètes dans les voies génitales. Ces effets conjugués peuvent expliquer les faibles performances obtenues avec eCG (2 à 3 embryons transférables en moyenne par donneuse) (Baril *et al.*, 1993).

#### II-2.1.2. FSH :

Elle est obtenue à partir d'extraits hypophysaires. Des études comparatives ont montré la supériorité de ces extraits hypophysaires porcins (FSHp) ou ovins (FSHo) en terme de production d'embryons aptes au transfert, mais aussi la nécessité de les administrer de façon séquentielle de 6 à 8 injections à 12h d'intervalle dans les 3 ou 4 derniers jours du traitement progestagène, la dernière injection ayant lieu 12h après le retrait du progestagène étant donné leur courte demi-vie (quelques heures).

En ce qui concerne la FSHp, elle peut être administrée en doses décroissantes et est enrichie en LHp (rapport FSH/LH de 0,3 à 0,4) lors des deux dernières injections réalisées à l'arrêt du traitement progestagène et 12h plus tard (Baril *et al.*, 1993).

#### II-2.1.3. HAP :

C'est un extrait pituitaire équin qui a reçu des résultats intéressants en superovulation caprine ; cependant ceux-ci ne sont pas meilleurs qu'avec la PMSG, sa difficulté d'obtention est responsable de sa moindre compétitivité par rapport à la PMSG ou la FSH (Boris, 1999).

#### II-2.1.4. HMG :

Elle est extraite de l'urine de femmes ménopausées et est usitée en médecine humaine aux Etats Unis sous le nom de PERGONAL<sup>ND</sup>. L'hMG (humen ménopausal gonadotrophine) fournit des résultats comparables à ceux de la PMSG mais son coût est plus élevé (Hanzen, 2000).

### **II-3. La fécondation :**

Après synchronisation et superovulation, succède la méthode de lutte. Deux méthodes peuvent être appliquées, l'insémination artificielle et la saillie naturelle (Baril et *al.*, 1993). L'insémination artificielle permet de valoriser la semence des mâles de haute valeur génétique, la saillie naturelle ne permet pas une utilisation rationnelle des mâles.

#### **II-3.1. Saillie naturelle :**

Au cours de la saison sexuelle, elle est utilisée avec succès, la technique généralement employée est la monte en main. Elle débute dès l'apparition des chaleurs et consiste à appliquer deux à trois saillie de 12 heures d'intervalle (Boukhlique, 2002). Mais cette technique n'est pas dénuée d'inconvénients :

- Il a été démontré que le transport et la survie des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles peuvent être perturbés après traitement progestatif associés à l'induction de la superovulation (Evans et Armstrong, 1984).
- En contre saison la faiblesse et l'absence de libido chez les mâles ne permet pas d'être sûr 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. Insémination artificielle :**

L'insémination artificielle présente chez les petits ruminants quelques particularités anatomiques. Chez la brebis, l'endocol dessine de nombreux replis qui rendent le canal cervical très sinueux et empêche une insémination intra-utérine. L'insémination par laparoscopie constitue une méthode alternative mais elle est peu employée (Hanzen, 2009).

L'insémination artificielle ovine repose principalement sur l'utilisation de la semence fraîche en raison de la faible fertilité de la semence congelée après IA cervicale. De plus, l'insémination avec la semence fraîche doit être réalisée dans les 10h qui suivent la collecte pour obtenir une fertilité maximale (Baril et Vallet, 1990).

**II-3.2.1. Semence fraîche :**

Les spermatozoïdes du bélier peuvent être conservés dans le lait à une température de 4°C ou 15°C jusqu'à une durée de 10h sans perte du pouvoir fécondant. Cependant, la fertilité de la semence est meilleure après conservation à 15°C par rapport à 4°C (Colas, 1984).

**II-3.2.2. Semence congelée :**

L'utilisation du sperme congelé est couramment pratiquée chez les bovins dans les pays où l'azote liquide est facilement disponible ; elle se développe chez les caprins pour lesquels une technique efficace de congélation de la semence a été mise au point (Corteel et al 1988), mais elle reste encore assez limitée chez les ovins et les porcins où le sperme est plus difficile à congeler (Bélier : Colas 1975 ; Verrat : Paquignon et *al.*, 1980).

En dépit des taux corrects de survie des spermatozoïdes à la décongélation (de l'ordre de 50%), la fertilité obtenue après IA cervicale avec de la semence congelée reste faible (10-20%). Seule la réalisation d'IA intra-utérine sous contrôle endoscopique permet d'obtenir des résultats permettant l'utilisation de la semence congelée (50-70%). Il apparaît donc que la congélation, en plus d'induire une mortalité cellulaire, elle diminue fortement l'aptitude des spermatozoïdes mobiles à traverser le col de l'utérus.

**II-4. La collecte d'embryons:**

La collecte des embryons est effectuée 6 à 7 jours (brebis) ou 7 à 8 jours (chèvre) après l'oestrus par perfusion des cornes utérines avec un milieu tamponné (PBS). A cette période ils sont au stade morula compactée ou jeune blastocyste. Ils présentent une épaisse zone pellucide (Vanderwall, 2000).

Six à huit jours après le début de l'oestrus, les embryons sont collectés dans un tampon phosphate PBS (Vallet et *al.*, 1991). La plus part des équipes de transfert d'embryon dans l'espèce ovine préfèrent travailler entre J6 et J7, période correspondant au stade embryonnaire morula ou blastocyste et à localisation utérine (Vallet et *al.*, 1991, Cognié, 1999, Chemineau et *al.*, 1999).

Il existe deux techniques différentes de récolte des embryons chez les ovins : chirurgicale et laparoscopique.

#### **II-4.1. Technique chirurgicale :**

La laparotomie médioventrale permet de collecter aisément 72% d'embryons (taux de collecte à J6) par rapport aux CJ. Elle est aussi très accessible étant donné le peu de matériel qu'elle nécessite (Youngquist, 1997).

Les brebis sont mises en diète hydrique minimum de 18 à 24 h précédant la collecte. Pour la réalisation de cet acte chirurgical, la tranquillisation de l'animal est nécessaire. L'animal une fois tranquilisé est tondu au niveau de la paroi abdominale ventrale, cranialement à la mamelle. On le place alors en décubitus dorsal avant de le préparer de façon aseptique. L'incision de laparotomie se fait au niveau de la ligne blanche juste en avant de la mamelle. Cette incision doit être d'une longueur suffisante pour extérioriser les 2 cornes utérines. Chaque corne utérine est perfusée avec 40 ml de milieu PBS dans le sens antégrade ou rétrograde. Après suture en deux plans par des points simples de la ligne blanche et de la peau, une antibioprophyllaxie est mise en place (Youngquist, 1997).

#### **II-4.2. Technique 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.

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 chirurgical. Toutefois, l'avantage principal de ce procédé est sa répétitivité 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. Examen et classement des embryons :**

La recherche et l'examen des embryons dans le liquide de récolte doivent être effectués dans de bonnes conditions sanitaires, avec du matériel stérilisé et à température



constante (20-25°C). Après décantation du liquide de récolte ou bien après filtration, le décantât (ou filtrat) est examiné à la loupe binoculaire.

Les critères d'appréciation de la viabilité des embryons sont exclusivement morphologiques. A J6, l'embryon est au stade morula compactée, à J7 au stade blastocyste. La sortie de la zone pellucide se fait à J9. Les ovulations n'étant pas toutes synchrones, plusieurs stades embryonnaires peuvent être observés au cours d'une même récolte.

L'observation de l'intégrité de la zone pellucide, la taille et l'homogénéité de la masse cellulaire incluse dans celle-ci, la formation du blastocoele, du bouton embryonnaire et du trophoblaste permet de juger de la viabilité de l'embryon. Tous ces critères figurent dans la blastographie publiée par l'INRA-UNCEIA (1990) (Cf. tableau 1). Certaines équipes rajoutent une classe 5 qui correspond aux ovocytes non fécondés.

**Tableau 1 :** Classification des embryons selon leur qualité (d'après l'INRA-UNCEIA, 1990)

Classification	Qualité	Description
1	Excellent	-Embryon idéal pour son jour de collecte, sphérique, symétrique, avec des cellules de couleur et texture comparables. -Blastomères polygonaux au stade morula aspect compact.
	Bon	-Embryon un peu en retard de développement par rapport à son jour de collecte. -Ou embryon semblable à l'embryon excellent mais asymétrique. -Ou exclusion de quelques blastomères dans l'espace périvitellin.
2	Moyen	-Embryon en retard de développement de 1 à 2 jours (blastomères sphériques au stade morula) ou des défauts bien précis comme : -nombreuses cellules échappées dans l'espace périvitellin, des vésicules, des cellules dégénérées, blastomères de taille variable. -Aspect plus clair ou plus sombre que normal.
3	Médiocre	-Nombreux défauts comme de nombreuses cellules échappées, dégénérées, de tailles différentes, des vésicules grosses et nombreuses ; Mais présence d'une masse cellulaire homogène qui apparait viable.
4	Mort ou dégénéré	-Arrêt de développement à un stade précoce. -Cellules dégénérées.

## **II-6. Conservation des embryons :**

La conservation des embryons récoltés sur un animal donneur ou obtenus par fécondation in vitro constitue une étape essentielle du transfert d'embryons. Cette conservation peut s'envisager à court ou long terme (Hanzen, 2009).

La cryoconservation permet la création de banques d'embryons au même titre que les banques de sperme utilisées en insémination artificielle. Elle facilite la mise en œuvre sur le terrain de la transplantation embryonnaire et permet un commerce d'embryons à l'échelle internationale, diminuant ainsi considérablement les frais de transport et de quarantaine par rapport à l'exportation des animaux adultes ( Guérin et al, 1996).

### **II-6.1. Technique de congélation lente :**

La congélation lente, comme son nom l'indique, est une technique « lente » de cryoconservation dont le principe est l'équilibration progressive entre les cryoprotecteurs et le compartiment aqueux de l'embryon. Elle est d'ailleurs aussi appelée congélation « à l'équilibre » (Guignot, 2005).

C'est la technique classiquement utilisée sur le terrain pour des collectes et transferts d'embryons bovins, ovins et caprins produits in vivo. Elles donnent des résultats très reproductibles et qui sont à peine inférieurs à ceux obtenus après transfert des embryons frais, environ 10 à 15% de moins (Hasler, 2001). Beaucoup de travaux d'optimisation de ces techniques de congélation lente ayant été publiés, il semble que peu d'améliorations supplémentaires puissent être attendues dans le futur (Guignot, 2005).

### **II-6.2. Technique de Vitrification :**

La vitrification est une technique de « non équilibre » à la différence de la congélation lente ; elle permet d'éviter au maximum la formation des cristaux de glace au cours du refroidissement en transformant la phase liquide du cytoplasme cellulaire en phase solide amorphe, encore appelée « état vitreux » (Guignot, 2005).

La solution de vitrification renferme de très fortes concentrations d'un ou de plusieurs agents cryoprotecteurs de type pénétrant (25% de glycérol et 25% de propanediol). La vitesse de congélation est extrêmement élevée et obtenue par immersion directe dans de l'azote liquide (250°C par minute). Enfin, l'état vitreux étant instable à des températures supérieures

à -100°C, la vitesse de décongélation doit être très rapide (250°C /min) pour minimiser les risques de lésions cellulaires due à la réformation de cristaux lors de la décongélation (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, également pour des embryons issus de clonage (Peura et al. ,2001).

*CHAPITRE II*

*FACTEURS DE VARIATION ET  
D'AMELIORATION DE LA  
PRODUCTION IN VIVO D'EMBRYONS*

## **II-1. FACTEURS DE VARIATION DE LA PRODUCTION IN VIVO D'EMBRYONS:**

La grande variabilité dans la réponse aux traitements de superovulation continue à être le principal facteur limitant dans les programmes de transfert embryonnaire chez les ovins. La variabilité de la réponse ovulatoire des donneuses rend difficile la planification rigoureuse du nombre de femelles receveuses et limite le développement du transfert embryonnaire. En effet, 20% des brebis Lacaune et 10% des chèvres Alpine et Saanen ont moins de 5 ovulations après le traitement pFSH et par conséquent sont éliminées de la collecte d'embryons tandis que 17 à 20% des femelles traitées ont plus de 20 ovulations (Brebion et *al.*, 1992).

Cette variabilité est liée à des facteurs intrinsèques de l'animal donneur tels que la race, l'âge, statut reproducteur, aussi bien qu'extrinsèques comme la nature des gonadotropines, leur pureté et leur programme d'utilisation (Baril et *al.*, 1993).

### **A) Les facteurs intrinsèques :**

#### **a) L'individu :**

La distribution des donneuses en fonction du nombre d'ovulation montre une importante variabilité de la réponse au traitement selon les individus (Brebion et *al.*, 1992).

#### **b) La race :**

Plusieurs études ont montré pour les caprins et les ovins, des différences de réponses au traitement de superovulation en fonction de la race (Cf. Tableau 2). Les données disponibles sur le taux d'ovulation montrent que ce caractère est variable selon les races (Gouhis, 1989). Pour la brebis Romney Marsh, Armstrong et Evans (1983) constatent une plus faible réponse au traitement FSHp que pour la brebis Mérinos. Suite à l'administration de 16mg de FSHp, la réponse ovulatoire des brebis de race Lacaune est inférieure à celle des brebis prolifiques Romanov x Préalpes (Cf. Tableau 2) (Torres et *al.*, 1984).

**Tableau 2: Effet de la race sur la réponse ovulatoire au traitement de stimulation ovarienne.**

Race	Traitement	Nombre d'ovulations	Nombre d'embryons	Références
Sarda	FSH	8.05±3.8	4,9±1,03	Giovanni et <i>al.</i> , 2001
Santa Inês	pFSH	10.6±1.0	5,2±0,8	Cordeiro et <i>al.</i> , 2002
Rambouillet	pFSH	9.4 ±2.4	5	Nakvi et gulyani, 1999
Merino Espagnol	pFSH	9.5±0.6	/	Gonzalez et <i>al.</i> , 2000
Manchega	FSH	11.1 ± 1.1	4,3±1,4	Gonzalez et <i>al.</i> , 2003
Corriedale	oFSH	6.2±1.1	1,4±0,4	Simonetti et <i>al.</i> , 2007
Romney Marsh	pFSH	8.2 ±2,0	/	Armstrong et Evans, 1983
Mérinos		16,6±3,7		
Lacaune	pFSH	12±1,5	/	Torres et <i>al.</i> , 1984
Romanov x Préalpes	pFSH	19,5±2,6	/	Torres et <i>al.</i> , 1984

**c) L'âge :**

L'âge de l'animal peut également constituer un facteur limitant compte tenu du fait que le nombre de follicules qui quittent la réserve diminue avec celui-ci (Cf. Tableau 3) (Hanzen, 2000).

**Tableau 3 : Variation du taux d'ovulation selon l'âge.**

Race	Age	Traitement	Nombre d'ovulations	Nombre d'embryons	Références
Corriedale	3 à 6 ans	pFSH	6.2 ±1.1	1,4±0,4	Simonetti et <i>al.</i> , 2007
Sarda	2 à 6 ans	FSH	8.05±3.8	4,9±1,03	Giovanni et <i>al.</i> , 2001
Santa Inês	2 à 4 ans	oFSH	10.6 ±1.0	5,2±0,8	Cordeiro et <i>al.</i> , 2002

**d) Etat des ovaires:**

Chez la brebis, une part importante de la variabilité individuelle à la réponse ovulatoire après traitement gonadotrope est attribuable à l'état ovarien au début du traitement à la FSH (Baril et *al.*, 1993) ; et la qualité de la réponse va dépendre de l'importance de la réserve des follicules préantraux (Hanzen, 2000).

Selon Driancourt (1987) il existe une étroite corrélation, avec un coefficient de l'ordre de (+0,7), entre le nombre de follicules (de 0,8 à 2mm de diamètre) présent le premier jour du traitement et le taux d'ovulation, ceci suggérant que les follicules recrutés par les hormones gonadotropes appartiennent à cette classe. Il est donc intéressant de tenter d'enrichir cette classe de follicules cibles préalablement à la stimulation.

Il est à noter que la présence d'un follicule dominant, par ses sécrétions d'œstradiol et d'inhibin A, est délétère pour le recrutement d'un nombre conséquent d'autres follicules (Rubianes et Menchaca, 2003). En effet, le seul moment du cycle ovarien où il n'existe pas de follicule dominant correspond aux 24 heures suivant l'ovulation, d'où l'idée d'une équipe Uruguayenne du « Day 0 Protocol ». Dans ce protocole, la première administration des hormones gonadotropes se fait juste après l'ovulation déterminée par échographie, soit environ 36 heures après le début des chaleurs. Les résultats sont encourageants puisque le rendement d'ovulation est de  $13,6 \pm 1,9$  avec le « Day 0 Protocol », contre  $10,4 \pm 1,9$  avec un protocole commencé plus tard lors du cycle (Rubianes et Menchaca, 2003).

## **B) Les facteurs extrinsèques :**

### **a) La saison :**

Chez les brebis de race Lacaune traitées avec FSHp en période d'œstrus saisonnier, le nombre moyen d'ovulation par femelle est inférieur à celui obtenu pendant la saison de reproduction (Torres et *al.*, 1984). Le stade sexuel influe également le nombre moyen d'œufs par brebis, ce nombre a été plus élevé dans la saison de reproduction par rapport à la période d'œstrus (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).

### **b) Facteurs nutritionnels :**

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 (Coop, 1966 ; Khaldi, 1984).

Il a été démontré aussi que la supplémentation énergétique et protéique des brebis en bonne conditions corporelles et/ou bien alimentées n'a pas d'effet sur le taux d'ovulation (Morlev et *al.*, 1978). L'augmentation du taux est variable au cours de l'année. Les valeurs les plus faibles sont observées au printemps, et les plus élevées vers le milieu de la saison sexuelle (Khaldi, 1984). L'administration d'un traitement de superovulation à des brebis recevant une ration alimentaire insuffisante peut conduire à la lutéolyse prématurée des corps jaunes chez près de la moitié des animaux (Jabbour et *al.*, 1991) et la production d'embryons dans ce cas est très faible. Bien que ce phénomène soit plus fréquemment observé chez les caprins, il est décrit pour plusieurs races ovines, tant durant la saison qu'en dehors de la saison de reproduction (Baril et *al.*, 1989).

Toutefois, ce phénomène n'est sans doute pas seulement assimilable à une mauvaise alimentation, la régression prématurée des corps jaunes implique sans doute une sécrétion prématurée de PGF2 $\alpha$ .

#### c) Le choix de l'hormone du traitement:

Selon les études d'Armstrong et *al.*, (1983) ou de Tsunoda et Sugie (1989), le choix de l'hormone gonadotrope pour le protocole de superovulation est essentiel. Les résultats obtenus avec la pFSH sont supérieurs à ceux obtenus avec l'eCG (Cf. tableau 4). Le rendement d'ovulation est de 16 corps jaunes par donneuse avec la pFSH contre 10 corps jaunes par donneuse pour l'eCG.

Des études comparatives ont montré la supériorité de ces extraits hypophysaires porcins (pFSH) ou ovins (oFSH) en termes de production d'embryons aptes au transfert (Cognié et Baril, 2002).

**Tableau 4 : Effet du type de traitement de stimulation ovarienne sur la réponse ovarienne et le nombre d'embryons transférables par femelle traitée (Cognié, 1984)**

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

#### d) Doses utilisées :

Les quantités de FSH à administrer pour obtenir la superovulation sont souvent exprimées en mg du standard Armour. La dose totale efficace varie largement selon la



préparation hormonale et le génotype de la donneuse, et devrait être déterminée probablement au moyen d'une courbe dose réponse. Les doses totales de FSHp les plus souvent préconisées chez la brebis sont comprises entre 16 et 21mg Armour (Brebion et *al.*, 1992 ; Tervit et *al.*, 1984), mais ces doses peuvent s'avérer soit insuffisantes, soit au contraire excessives pour certains génotypes particuliers.

#### **e) Répartition des doses et rapport FSH/LH :**

Les protocoles à doses décroissantes ont prouvé leur supériorité en termes d'ovulations produites, ceci pouvant s'expliquer par la similitude avec la physiologie endocrinienne durant la phase folliculaire où la sécrétion de FSH est réduite suite à l'augmentation de la concentration en œstradiol et inhibin A (Gonzales- Bulnes et *al.*, 2004).

Un excès comme une insuffisance de LH diminuent la stimulation ovarienne. La mise au point d'une préparation hormonale extraite d'hypophyses de porcins, présentant FSH et LH en conditionnement séparé est devenue encore plus intéressante depuis qu'il a été montré qu'il est possible d'améliorer l'efficacité des traitements chez la brebis et la chèvre en administrant de façon séquentielle FSH en doses décroissantes et LH en doses croissantes (Thibault et Levasseur, 2001).

#### **f) La technique d'insémination utilisée :**

La technique d'insémination, naturelle ou artificielle, joue un rôle important sur le taux de fécondation des ovocytes et donc sur le rendement d'embryons transférables. La saillie naturelle apporte les meilleurs résultats, avec 75% de taux de fécondation, contre 55 à 60% pour l'insémination artificielle cervicale ou intra-utérine.

Dans le cas d'une insémination artificielle programmée à un moment déterminé après l'arrêt du traitement, 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 (Cognié et Baril, 2002).

Le passage des spermatozoïdes à travers le cervix est perturbé chez la brebis superovulée (Evans et Armstrong, 1984) et le taux de fécondation après une insémination artificielle cervicale est corrélé négativement au taux d'ovulation. Cependant, le dépôt de la semence 48-50 heures après le retrait de l'éponge, directement dans les cornes utérines ( $80 \times 10^6$  spermatozoïdes) sous contrôle laparoscopique, permet d'avoir des taux de fécondation élevés chez les donneuses ayant moins de 30 ovulations (Cognié et Baril, 2002).

**g) La technique de la récolte utilisée :**

Les deux méthodes de collecte, chirurgicale et laparoscopique ont été comparées dans différentes études. La première comparaison se fit entre la technique chirurgicale et la technique laparoscopique par Baril et al dans les années 80. Ainsi le taux de récupération des embryons par laparoscopie atteint 62% contre 85% par technique chirurgicale, mais la formation d'adhérences est bien plus importante lors d'une laparotomie que par laparoscopie (Baril et *al.*, 1989).

**II-2 FACTEURS D'AMELIORATION DE LA PRODUCTION IN VIVO D'EMBRYONS :****II-2.1. Augmentation de l'efficacité du traitement de superovulation par l'utilisation d'un agoniste ou un antagoniste à la GnRH :**

Les faibles réponses au traitement FSH chez les femelles superovulées (femelles ayant moins de 5 ovulations : 20 % chez les brebis Lacaune ; 10% chez les chèvres Alpine et Saanen) constituent un facteur limitant de la transplantation embryonnaire (Cognié et Baril, 2002). Chez la brebis superovulée avec FSH, le nombre d'ovulations est positivement corrélé au nombre de petits follicules de 1-2 mm et négativement affecté par la présence de gros follicules présents sur les ovaires au début de la stimulation gonadotrope (Brebion et *al.*, 1992 ; Gonzalez- Bulnes, 2002).

Comme la fin de la croissance des follicules est strictement dépendante de l'activité hypophysaire, il a été fait l'hypothèse qu'en inhibant les sécrétions endogènes de LH et FSH l'on devrait enrichir la classe de taille (1-2 mm) qui précède la dépendance vis à vis des gonadotrophines. Cette hypothèse a été vérifiée en utilisant un prétraitement anti-GnRH ou un agoniste de la GnRH. Appliqué chez la brebis laitière de race Lacaune, ce prétraitement permet d'éliminer les faibles réponses (moins de 5 ovulations), assure en moyenne la production de 10 embryons transférables et la naissance de 6 à 7 agneaux par donneuse traitée (Cognié, 1999).

**II-2.2.GnRH :**

L'identification du facteur hypothalamique stimulant la sécrétion de FSH et de LH par l'hypophyse a été menée par deux équipes scientifiques différentes, d'une part celle de Schally (USA) d'autre part par celle de Guillemin (France) en 1971. Ils mirent en évidence un décapeptide de faible poids moléculaire, peu antigénique, commun à différentes espèces, de demi-vie courte : environ quatre minutes. Sa synthèse était plus aisée que celle des gonadotrophines. Cette molécule a été identifiée dans tout le règne animal (Pelletier, 1971).

La GnRH des mammifères est identique chez les bovins, ovins, porcins, primates, chien, homme (Beattie, 1982) ainsi que chez les amphibiens (King et Millar, 1980).

**II-2.3.Rôle et Mode de sécrétion de la GnRH :**

En ce qui concerne les fonctions gonadiques, elles agissent en régulant la sécrétion des organes gonadotropes. Leur influence peut être continue (tonique) ou circonstancielle, discontinue (phasique). Pour le contrôle tonique des hormones gonadotropes, l'activation exercée par les structures hypothalamiques concerne surtout la sécrétion de FSH et secondairement celle de LH. Il s'ensuit une stimulation de la sécrétion d'oestrogènes chez la femelle. Le contrôle phasique des hormones gonadotropes permet la décharge phasique de LH, et à un moindre degré de FSH.

La pulsativité de la sécrétion de GnRH a été mise en évidence dans de nombreuses espèces de mammifères. Voici un ordre de grandeur de la période entre chaque pic de sécrétion dans des espèces différentes :-50 min chez la ratte intacte (Levine et Ramirez, 1980)

-50 min chez la brebis (Caraty et *al.*, 1982)

-120 min chez l'homme (Schaison, 1982).

**II-2.4.Catabolisme de la GnRH :**

Le catabolisme de la GnRH a principalement lieu dans le système porte hypothalamo-hypophysaire (Handelsman et Swerdloff, 1986). La rapidité de ce catabolisme ainsi que l'absence de liaison à des protéines de transport de cette hormone expliquent le fait qu'elle ne soit présente qu'à des concentrations infimes dans la circulation générale.

Le temps de demi-vie est à peu près le même chez tous les mammifères : environ cinq minutes chez le rat, le singe, le chien, le mouton et l'homme (Barron *et al.*, 1982 ; Ory, 1983 ; Redding *et al.*, 1973 ; Schaison, 1982 ; Swift et Crighton, 1979).

### **II-2.5. Désensibilisation de l'hypophyse par l'administration chronique des agonistes et d'antagoniste à la GnRH :**

Les agonistes sont donc caractérisés par leur affinité pour un récepteur et par leur efficacité (capacité d'induire un effet observable suite à l'interaction avec ce récepteur), Les antagonistes sont caractérisés par une affinité pour les récepteurs comme les agonistes mais par une absence d'efficacité.

#### **II-2.5.1. Les agonistes :**

L'existence d'une période réfractaire après une stimulation par un analogue de structure d'une hormone est un phénomène commun en biologie (Catt *et al.*, 1979). Ils ont pour le moment trois explications complémentaires de la désensibilisation (Clayton, 1989 ; Hazum *et al.*, 1988)

- La diminution du nombre de récepteurs à la surface des cellules gonadotropes.
- L'absence de couplage entre les récepteurs et les seconds messagers intracellulaires du fait du phénomène de micro-agrégation et de saturation des seconds messagers.
- L'inhibition de la synthèse des gonadotrophines pendant cette période.

#### **II.2.5.2. les antagonistes :**

Les études de l'équipe de Kovacs *et al.*, (2001) ont montré en comparant l'effet d'une administration ponctuelle de l'antagoniste à celui d'un dépôt de celui-ci sur des rattes stérilisées ou non. Ils ont abouti aux résultats suivants :

- L'administration d'un antagoniste de la GnRH induit un premier effet d'inhibition de la libération de LH par l'hypophyse.
- Puis une diminution de la concentration en LH dans les cellules gonadotropes (après quelques jours de traitement).
- Une diminution de la quantité d'ARNm des récepteurs à la GnRH dans les cellules gonadotropes.

## **II-2.6. Protocoles utilisés dans les traitements de superovulation chez la brebis:**

### **II-2.6.1. Agonistes de la GnRH :**

L'utilisation des agonistes du GnRH permet d'empêcher les ovulations prématurées grâce à une désensibilisation hypophysaire réversible. L'administration d'un agoniste de GnRH induit initialement une libération de LH et FSH ("flare-up") puis l'effondrement de la sécrétion des gonadotrophines (Brebion *et al.*, 1991).

Utilisée seule, une injection de GnRH peut induire l'ovulation dans une population de brebis cyclées, par sécrétion de LH (Ricordeau *et al.*, 1984). Cependant, l'inhibition des sécrétions endogènes de LH et FSH par administration pendant 14 jours d'un analogue de GnRH, permet de doubler le nombre de follicules de 1 à 2 mm avant le traitement FSH, la réponse ovulatoire est augmentée de 50% et le nombre d'embryons transférables par brebis traitée (10 embryons) est doublé par rapport aux donneuses superovulées en l'absence de prétraitement (Cognié *et al.*, 2003).

### **II-2.6.1. Anti GnRH :**

Ces molécules bloquent les récepteurs de GnRH de façon compétitive et n'entraînent pas de relargage initial de gonadotrophines évitant ainsi l'effet « flare up ». Les études chez l'animal et chez l'homme ont montré que l'administration de l'antagoniste entraîne une chute brutale des gonadotrophines et permet de prévenir ou d'interrompre le pic de LH, l'ovulation et la lutéinisation prématurée (Frydman *et al.*, 1991, 1992).

L'utilisation de ces produits se fait par un traitement de 11 jours avant l'administration de FSH (Brebion *et al.*, 1992) (cf. tableau 5). Ils peuvent être également utilisés avec une injection unique 12h après le retrait des éponges (Baril *et al.*, 1996); dans ce cas les anti-GnRH sont chargés de retarder le pic de LH, sans l'inhiber (ce qui permet de prolonger la phase de recrutement et donc d'augmenter le nombre de follicules recrutés), jusqu'à l'injection de LH pour provoquer de façon exogène le pic préovulatoire.

**Tableau 5 : Production d'embryons chez la brebis en fonction du prétraitement utilisé (Baril et al., 2004; Lopez-Alonso et al., 2005 ; Bensaïd et al., 2004).**

GnRH utilisée	Régime d'injection	Production d'embryons				Auteurs
		CJ	Œufs Collectés %	Embryons Transférables %	Embryons Transférables / Brebis	
Anti GnRH	11 inj	20,6±10,2	76	85	12,0±7,8	Baril et al., 2004
Anti GnRH	03 inj	18,4±9,5	68	77	8,3±5,6	
Anti GnRH	01 inj	12,2±1,1	78	70,8	7,3±1,1	Lopez - alonso et al., 2005
Analogue de GnRH	14 inj	15±7,8	64	46	5,7±6,3	Bensaïd et al., 2004
	60 jours	14,4±7,2	68	71	5,7±5,2	

*PARTIE*  
*EXPERIMENTALE*

# *OBJECTIFS*



Chez les ovins, la variabilité de la réponse ovulatoire des donneuses rend difficile la planification rigoureuse du nombre de femelles receveuses et limite le développement du transfert embryonnaire. L'état de la population folliculaire au moment où débute la stimulation ovarienne étant le facteur principal de variation de la réponse à l'administration de FSH, plusieurs approches visant à contrôler cette population folliculaire ont été étudiées. Parmi ces approches, une possibilité largement étudiée chez les ovins, consiste à accroître le nombre de follicules dans la classe de taille qui précède la dépendance de ces follicules vis-à-vis des gonadotrophines (1 à 2mm), en inhibant les sécrétions endogènes de LH et FSH. Il semble qu'il est possible de freiner de façon réversible cette sécrétion des gonadotrophines par une désensibilisation hypophysaire au GnRH avec un agoniste ou plus directement par un antagoniste de GnRH avant le début de la stimulation gonadotrope. Dans cette optique, nous avons visé par le biais de notre travail, évaluer dans le cadre de la production in vivo d'embryons chez les brebis Ouled Djellal :

- 1- L'effet de deux doses de FSHp (16UA, 20UA).
- 2- L'effet d'un prétraitement par un agoniste de GnRH.

*CHAPITRE I :*

*EFFET DE LA DOSE DE FSH<sub>p</sub> ET DU  
PRETRAITEMENT PAR UN AGONISTE  
DE LA GnRH SUR LE COMPORTEMENT  
D'OESTRUS ET LA REPONSE  
OVARIIENNE.*

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

Notre étude expérimentale c'est déroulée au niveau de la station expérimentale de l'université « Saad Dahleb » de Blida durant la période allant du 08 novembre 2009 jusqu'au 27 décembre 2009.

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

Dix-sept (17) brebis donneuses de race Ouled Djellal ont été sélectionnées pour la réalisation de notre travail. Les renseignements relatifs à l'identification des brebis donneuses sont rapportés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 1 : Poids, âge et note d'état corporel (NEC)  
des brebis donneuses.**

	Brebis	Age (mois)	Poids (kg)	NEC
Lot 01	B1	48	41	2,5
	B2	48	46	2,5
	B3	24	27	2
	B4	24	32	2
	Moyenne et écart type	36±13,85	36,5±8,58	2,25±0,28
Lot 02	B5	24	32	2
	B6	36	36	2
	B7	24	42	2,5
	B8	24	39	2,5
	Moyenne et écart type	27±6	37,25±4,27	2,25±0,28
Lot 03	B9	60	52	3
	B10	36	40	2
	B11	24	42	2,5
	B12	30	45	2,5
	B13	36	41	2,5
	B14	24	40	2
	Moyenne et écart type	35±13,37	43,33±4,63	2,41±0,37
Lot 04	B15	36	40	2
	B16	48	40	2,5
	B17	60	53	3
	Moyenne et écart type	48±12	44,33±7,50	2,5±0,5

Les brebis donneuses du :

- **Lot 1** : présentent un âge moyen de  $36 \pm 13,85$  mois, un poids moyen de  $36,5 \pm 8,58$  kg et une note d'état corporel moyenne de  $2,25 \pm 0,28$ .
- **Lot 2** : présentent un âge moyen de  $27 \pm 6$  mois, un poids moyen de  $37,25 \pm 4,27$  kg et une note d'état corporel moyenne de  $2,25 \pm 0,28$ .
- **Lot 3** : présentent un âge moyen de  $35 \pm 13,37$  mois, un poids moyen de  $43,33 \pm 4,63$  kg et une note d'état corporel moyenne de  $2,41 \pm 0,37$ .
- **Lot 4** : présentent un âge moyen de  $48 \pm 12$  mois, un poids moyen de  $44,33 \pm 7,50$  kg et une note d'état corporel moyenne de  $2,5 \pm 0,5$ .

### II.1.1.2. Béliers :

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

**Tableau 2 : Race, âge, poids et note d'état corporel (NEC) des béliers.**

Béliers	Race	Poids (kg)	Age (ans)	NEC
D1	OD	59	7	3
D2	OD	73	5	3,5
D3	OD	81	4	4
D4	OD	50	4	3
D5	OD	61	4	3,5
Moyenne et écart type		64,8±12,21	4,8±1,30	3,4±0,41
D4	H	70	8	3,5
D5	H	62	3	3,5
Moyenne et écart type		66±5,65	5,5±3,53	3,5±0,0

OD: Ouled Djellal, H : Hamra

Les béliers de la race Ouled Djellal présentent un poids moyen de  $64,8 \pm 12,21$  kg, un âge moyen de  $4,8 \pm 1,30$  ans et une note d'état corporel moyenne de  $3,4 \pm 0,41$ . Tandis que, les béliers de la race Hamra présentent un poids moyen de  $66 \pm 5,65$  et un âge moyen de  $5,5 \pm 3,53$  ans et une note d'état corporel moyenne de  $3,5 \pm 0,0$ .

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

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

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

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

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

**b. Endoscope :**

Le matériel endoscopique utilisé comporte :

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

**c. Instruments :**

- Balance Marchal.
- Applicateur d'éponges vaginales.

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

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

- Vagin artificiel.
- Plaque chauffante.
- Lame, lamelle.
- Lame de NEBAUER.
- Pipette Pasteur.
- Micropipette.
- Microscope optique.
- Bain-marie.

- Etuve.
- Lame, porte lame et rasoir.
- Tubes à essai.
- Pipettes graduées.
- Pistolet d'insémination artificielle.
- Paillettes d'insémination.

### II.1.2.2. Produits :

#### a. Hormones :

- **Eponge vaginale** : nous avons utilisé des éponges imprégnées de 40mg d'acétate de fluorogestone (FGA), ce produit est commercialisé sous le nom de (Chronogest<sup>ND</sup>).
- **FSHp et LHp** : extrait hypophysaire porcine purifié (hormones produites par l'équipe du Pr BECKERS .FMV Liège Belgique) (Stimufol<sup>ND</sup>).
- **GnRH** : agoniste de la GnRH (Buséreline) commercialisée sous le nom de (Suprefact<sup>ND</sup>).

#### b. Antibiotiques et autres produits :

- Pénicilline/streptomycine injectable et terramycine spray ont été utilisés pour éviter les surinfections et complications.
- Biocide, alcool chirurgical, alcool iodé, Bétadine, savon de Marseille, désinfectants du matériel endoscopique.
- Eau distillée, Ovixcell, NaCl 0,9 %, alcool polyvinylique.
- Vaseline et gel à échographe.
- Aluspray<sup>ND</sup>.
- Xylazine, Xylocaine.

### II.2. Méthodes :

Notre protocole expérimental comporte les étapes suivantes :

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

### **II.2.1. Echographie :**

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

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

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

### **II.2.2. Traitement de synchronisation et de superovulation :**

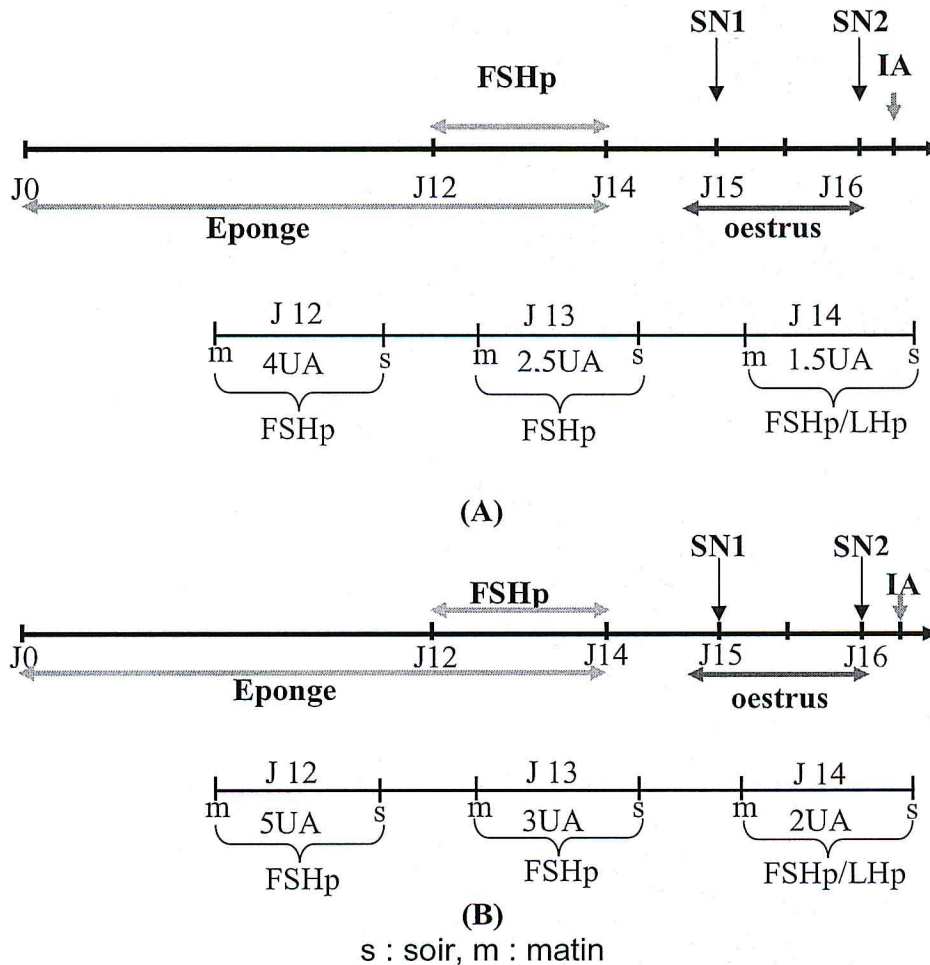
#### **II.2.2.1. Synchronisation des chaleurs :**

La synchronisation de l'oestrus a été obtenue chez l'ensemble des brebis par la mise en place d'éponges vaginales imprégnées de 40mg d'Acétate de Fluorogestone (FGA) durant 14 jours.

#### **II.2.2.2. Traitements de superovulation :**

Les brebis donneuses ont été réparties en quatre lots :

- Lot 1 : n= 04 recevant 16UA de FSHp.
  - Lot 2 : n= 04 recevant 20UA de FSHp.
  - Lot 3 : Lot prétraité : n=06 recevant de la GnRH et 32UA de FSHp comme premier traitement.
  - Lot 4 : Lot prétraité : n=03 recevant de la GnRH et 32UA de FSHp comme deuxième traitement.
- Le traitement de superovulation consiste à administrer respectivement chez les brebis du Lot 1 et 2, une dose totale de 16 et 20UA de FSH porcine répartie en 6 injections biquotidiennes (12 heures d'intervalle) et décroissantes, durant les trois derniers jours du traitement progestagène (cf. protocole (figure 1))



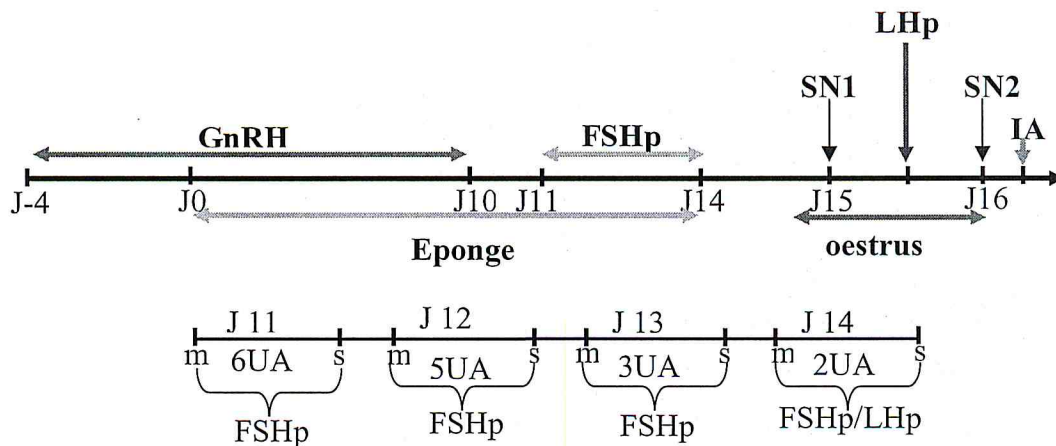
**Figure 1 : protocole de synchronisation et de superovulation du lot 1 (A) et 2 (B).**

☒ Tandis que pour les brebis du lot 3 et 4, une préparation de l'ovaire à l'induction de la superovulation a été réalisée par injection quotidienne (sous cutanée) de 40 $\mu$ g d'agoniste de GnRH, pendant 14 jours. La superovulation a été induite par l'administration d'une dose totale 32UA de FSHp, répartie en 8 injections biquotidiennes (12 h d'intervalle) et décroissantes, durant les quatre derniers jours du traitement progestagène. L'ovulation a été induite par l'injection intraveineuse de 3mg de LHp, 32h après le retrait de l'éponge vaginale.

○ Les brebis du lot 4 ont reçu le même traitement (GnRH/FSHp) 06 mois auparavant.

❖ Le rapport FSH/LH a été modifié par addition de 60 $\mu$ g et 90 $\mu$ g de LHp, lors des deux dernières injections chez l'ensemble des brebis.





**Figure 2 : protocole de synchronisation et de superovulation du lot 3 et 4.**

### II.2.3. Détection d'œstrus :

La détection de l'œstrus, à l'aide de béliers détecteurs entiers munis d'un tablier, toutes les quatre heures, a débuté 12 heures après le retrait de l'éponge vaginale. Chaque brebis restant immobile au chevauchement était considérée comme étant en chaleur.

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

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

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

### II.2.5. Fécondation :

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

### II.2.6. Endoscopie :

L'examen endoscopique réalisé juste avant la récolte des embryons selon la méthode décrite par (Baril et *al.*, 1993). Il avait comme but la détermination du nombre de corps jaunes.

La technique consiste à faire deux incisions de la peau abdominale ventrale 5 à 7cm cranialement à la mamelle et 3 à 4cm latéralement de la ligne blanche, afin de pouvoir insérer deux trocars:

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

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

### **III. ANALYSE DES DONNEES :**

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

### **IV.RESULTATS :**

#### **IV.1.Comportement d'oestrus chez les brebis du lot 1 et 2 :**

Les résultats de la détection des signes d'oestrus chez les brebis du lot 1 et 2 sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 3 : Début, fin et durée des signes d'oestrus chez les brebis du lot 1 et 2.**

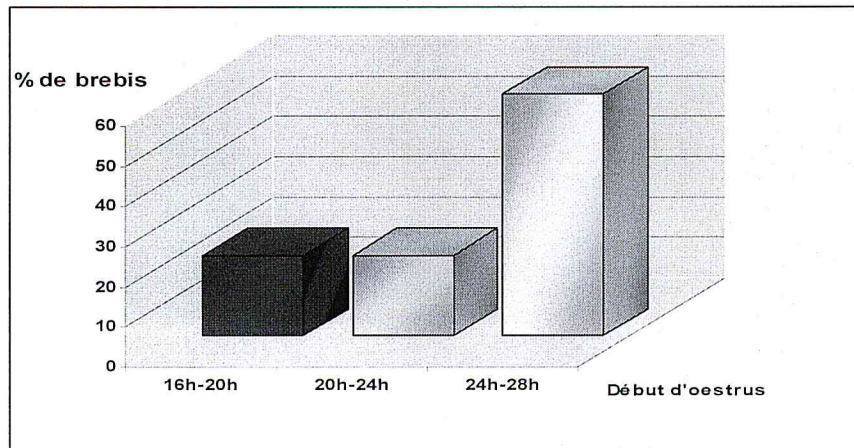
Lots	Brebis	IRE- début d'oestrus	IRE- fin d'oestrus	Durée d'oestrus
Lot 1	B1	16	60	44
	B2	24	64	40
	B3	28	56	28
	B4	-	-	-
	Moyenne et écart type	22,66 $\pm$ 6,11	60 $\pm$ 4	37,33 $\pm$ 8,32
Lot 2	B5	20	60	40
	B6	24	60	36
	B7	-	-	-
	B8	-	-	-
	Moyenne et écart type	22 $\pm$ 2,82	60 $\pm$ 00	38 $\pm$ 2,82
Moyenne et écart type		22.4 $\pm$ 4.56	60 $\pm$ 2.82	37,60 $\pm$ 6,06

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

**NB** : Les brebis B4, B7, B8 n'ont pas présentées des signes d'oestrus.

Nos résultats montrent que le début et la durée des signes d'oestrus ont été comparables chez les brebis du lot 1 et 2 ( $22,66 \pm 6,11h$  vs  $22 \pm 2,82h$  et  $37,33 \pm 8,32h$  vs  $38 \pm 2,82h$ ). Cependant, comparativement au lot 2, le taux de synchronisation a été plus élevé pour le lot 1 (lot 1 : 75% vs 50% : lot 2).

- ☒ La distribution des débuts d'oestrus chez les brebis du lot 1 et 2 est représentée dans la figure ci-dessous:



**Figure 3: Distribution des débuts d'oestrus chez les brebis du lot 1 et 2.**

Nos résultats montrent que le début d'oestrus a été observé chez :

- 20 % des brebis entre 16h et 20h et le même pourcentage entre 20h et 24h.
- 60 % des brebis entre 24h et 28h.

#### IV.1. Comportement d'oestrus chez les brebis du lot 3 et 4 :

Les résultats de la détection des signes d'oestrus chez les brebis du lot 3 et 4 sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 4 : Début, fin et durée des signes d'oestrus chez les brebis du lot 3 et 4.**

Lots	Brebis	IRE- début d'oestrus	IRE- fin d'oestrus	Durée d'oestrus
Lot 3	B9	12	72	60
	B10	16	64	48
	B11	16	60	44
	B12	16	56	40
	B13	20	60	40
	B14	-	-	-
	Moyenne et écart type		$16 \pm 2,82$	$62,4 \pm 6,06$
Lot 4	B15	20	52	32
	B16	-	-	-
	B17	-	-	-
	Moyenne et écart type		20	52

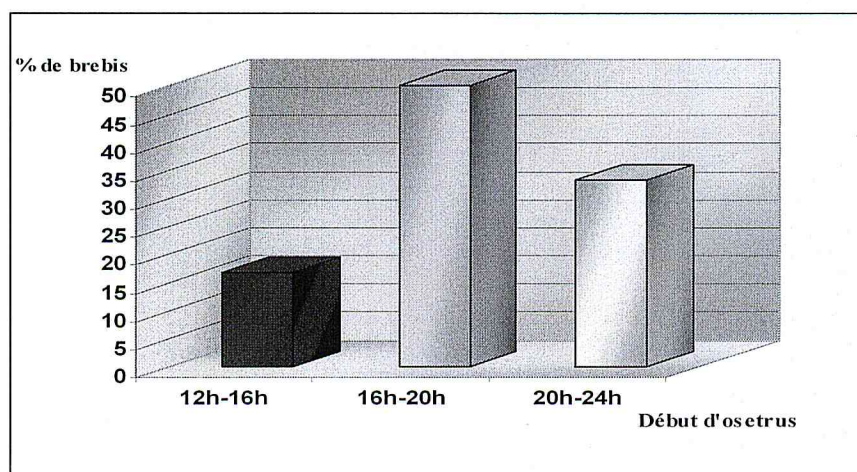
IRE : Intervalle retrait d'éponge vaginale (heures)

NB : Les brebis B14, B16, B17 n'ont pas présentées des signes d'oestrus.

Nos résultats montrent que chez les brebis du lot 3, le début et la durée des signes d'oestrus ont été respectivement de  $16 \pm 2,82$ h et  $46,4 \pm 8,29$ h. Cependant, une seule brebis du lot 4 a exprimée des signes d'oestrus. Le taux de synchronisation d'oestrus pour les brebis du lot 3 et 4 a été respectivement de 83,33% et 33,33%.

Comparativement aux brebis du lot 1 et 2; le début d'oestrus a été significativement plus précoce chez le lot 3 ( $16 \pm 2,82$ h vs  $22,40 \pm 4,56$ h,  $p < 0,05$ ). Tandis que, la durée d'oestrus tend à être significativement plus longue chez le lot 3 ( $46,4 \pm 8,29$ h vs  $37,60 \pm 6,06$ h,  $p < 0,1$ ).

- ☒ La distribution des débuts d'oestrus chez les brebis du lot 3 et 4 est représentée dans la figure ci-dessous:



**Figure 4: Distribution des débuts d'oestrus chez les brebis du lot 3 et 4.**

Nos résultats montrent que le début d'oestrus a été observé chez :

- 16,66 % des brebis entre 12h et 16h.
- 50 % des brebis entre 16h et 20h.
- 33,33 % des brebis entre 20h et 24h.

#### **IV.3. Réponse ovarienne après traitement de superovulation :**

##### **IV.3.1. Réponse ovulatoire chez les brebis du lot 1 et 2 :**

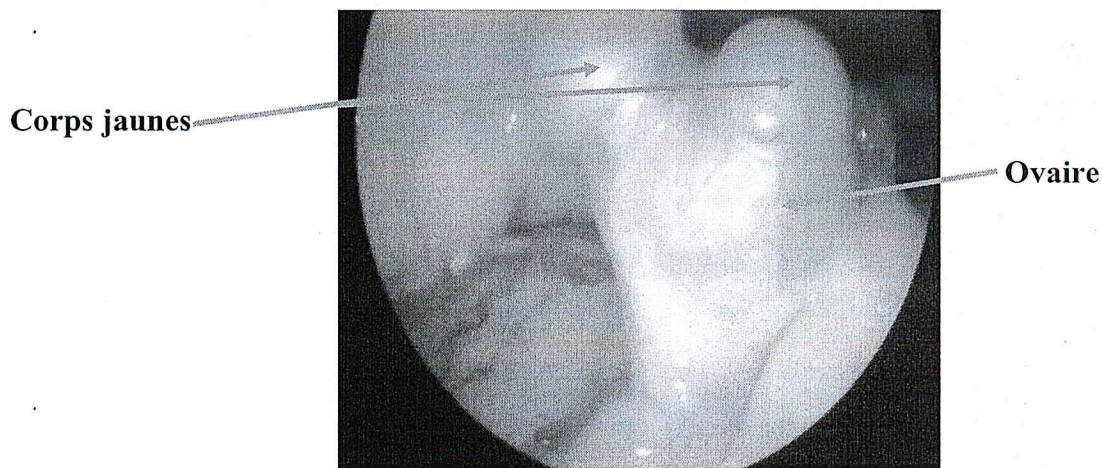
Les résultats du dénombrement des corps jaunes chez les brebis du lot 1 et 2 sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 5 : Réponse ovulatoire après traitement de superovulation chez les brebis du lot 1 et 2.**

Brebis		Nombre de corps jaunes		Total
		OVG	OVD	
Lot 1	B1	5	01	06
	B2	05	00	05
	B3	03	01	04
	B4	-	-	-
	Moyenne et écart type	4,33±1,15	0,66±0,57	05±1
Lot 2	B5	10	05	15
	B6	08	03	11
	B7	02L	02L	04
	B8	-	-	-
	Moyenne et écart type	6,66±4,16	3,33±1,53	10±5,56
Moyenne et écart type		5,5±3,01	2±1,78	7,5±4,50

L : corps jaune lutéinisé

Nos résultats montrent que le nombre moyen de corps jaunes du lot 2 tend être significativement plus élevé par rapport à celui du lot 1 ( $10 \pm 5,56 \text{CJ}$  vs  $05 \pm 1 \text{CJ}$ ,  $p < 0,1$ ).



**Photo 1 : Dénombrement sous endoscopie des corps jaunes chez une brebis du lot 1.**

#### IV.3.1. Réponse ovulatoire chez les brebis du lot 3 et 4 :

Les résultats du dénombrement des corps jaunes chez les brebis du lot 3 et 4 sont présentés dans le tableau suivant :

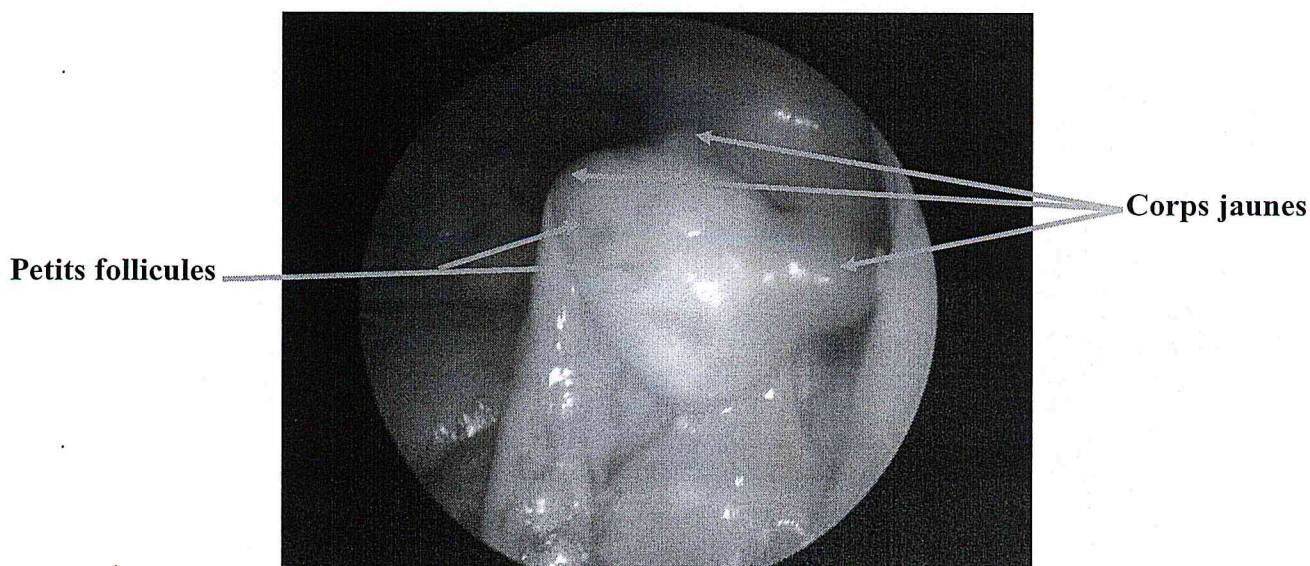
**Tableau 6 : Réponse ovulatoire après traitement de superovulation chez les brebis du lot 3 et 4.**

Lots	Brebis	Nombre de corps jaunes		Total
		OVG	OVG	
Lot 3	B9	07	09	16
	B10	09	15	24
	B11	05	06	11
	B12	06	07	13
	B13	10	14	24
	B14	05 L	10 L	15
	Moyenne et écart type	7±2,09	10,16±3,65	17,16±5,56
Lot 4	B15	08 L	07 L	15
	B16	10 L	07 L	17
	B17	06 L	08 L	14
	Moyenne et écart type	8±2	7,33±0,57	15,33±1,52
Moyenne Et écart type		7,33±2	9,22±3,23	16,55±4,55

L : corps jaune lutéinisé

Les résultats du tableau ci-dessus montrent que le nombre moyen de corps jaunes chez les brebis du lot 3 est légèrement supérieur par rapport à celui du lot 4 ( $17,16 \pm 5,56$  CJ vs  $15,33 \pm 1,52$  CJ,  $p < 0,05$ ).

Cependant, la réponse ovulatoire des brebis du lot 3 et 4 a été significativement très élevée par rapport à celle des brebis du lot 1 et 2 ( $7,5 \pm 4,50$  CJ vs  $16,55 \pm 4,55$  CJ;  $p < 0,01$ ).



**Photo 2 : Dénombrement sous endoscopie des corps jaunes chez une brebis du lot 3.**

*CHAPITRE II :*

*EFFET DE LA DOSE DE FSH<sub>p</sub> ET DU  
PRETRAITEMENT AVEC DE LA GnRH  
SUR LE TAUX DE RECOLTE ET LA  
QUALITE DES EMBRYONS*

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

## **I-MATERIEL ET METHODES :**

### **I-A- Matériel:**

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

Les brebis utilisées sont les mêmes décrites dans le chapitre I (17 brebis donneuses de race Ouled Djellal).

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

Les instruments et les produits utilisés sont les suivants :

- ❖ Sonde cannelée.
- ❖ Pince à champs.
- ❖ Bain marie.
- ❖ Tubes gradués (50ml).
- ❖ Champs de tissu.
- ❖ Flacons de récolte stériles.
- ❖ Rasoir et lame de rasoir.
- ❖ Pinces Bulldogs.
- ❖ Ciseaux et Forceps.
- ❖ Bistouri et lame.
- ❖ Seringues de 50ml.
- ❖ Porte-aiguille et aiguille de suture.
- ❖ Fil de suture non résorbable n°6, fil de suture résorbable " Vicryl décimale n°2 et 5 ".
- ❖ Sonde métallique à trois orifices.
- ❖ PBS.
- ❖ PGF2 $\alpha$  (Estrumate<sup>ND</sup>).
- ❖ Alcool iodé.
- ❖ Alcool chirurgical.
- ❖ Alluspray<sup>ND</sup>.
- ❖ Pénicilline streptomycine injectable.
- ❖ Anesthésique local (Lidocaine<sup>ND</sup>) et général (Rompun<sup>ND</sup>).
- ❖ Clamps vasculaires.
- ❖ Boîtes de pétrie carrées quadrillées.
- ❖ Petites boîtes de pétrie rondes.
- ❖ Une pipette en verre montée sur une seringue à insuline.
- ❖ Loupe binoculaire (Nikon) et microscope inversé (Hund).



**I.B. Méthodes :****I-B-1. Préparation des animaux :**

La préparation a commencé la veille du jour de récolte, elle est commune à tous les animaux et consiste à l'isolement et la mise en diète complète des brebis, 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-B-2. Récolte des embryons :**

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

**a) Préparation de la brebis :**

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

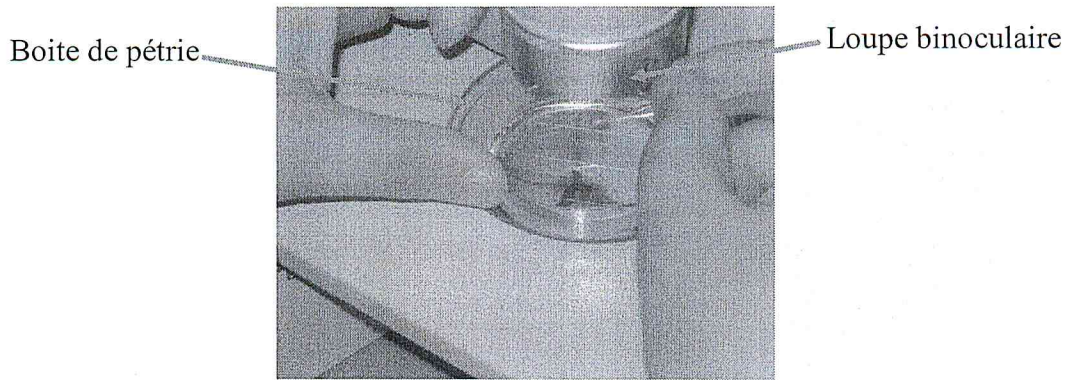
**b) Technique de récolte :**

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

Après avoir retiré tout le matériel de collecte, une suture de la paroi abdominale est effectuée par des points en croix avec le Vicryl<sup>®</sup> décimale 5, enfin la peau est suturée par des points simples avec du fil non résorbable (EP/6).

**I-B-3. Tri et sélection des embryons :****a) Recherche des embryons :**

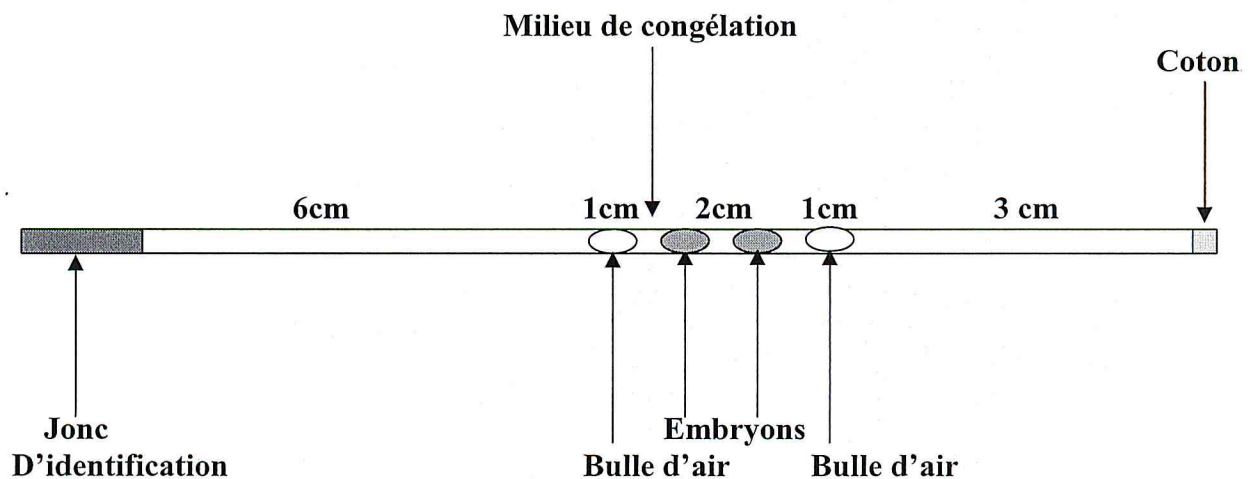
Dès la fin de la récolte, le flacon est mis à décanter sur une surface stable, le surnageant est alors éliminé par siphonage, le reste du liquide est versé dans une boîte de Pétri quadrillée pour procéder à la recherche des embryons, celle-ci est réalisée à l'aide d'une loupe binoculaire (Cf. photo 3),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



**Photo3 : Recherche des embryons sous une loupe binoculaire.**

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

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



**Figure 5 : 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  $-7^{\circ}\text{C}$  à raison de  $1$  à  $3^{\circ}\text{C}$  par minute.
- Maintenir l'embryon à  $-7^{\circ}\text{C}$  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 : Cf. photo 4) 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  $-30^{\circ}\text{C}$  à raison de  $0.3$  à  $0.6^{\circ}\text{C}$  par minute.
- A  $-30^{\circ}\text{C}$ , la paillette est plongée dans la cuve d'azote liquide à  $-196^{\circ}\text{C}$

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



**Photo 4 : Congélation des embryons:  
opération de seeding.**

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

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

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

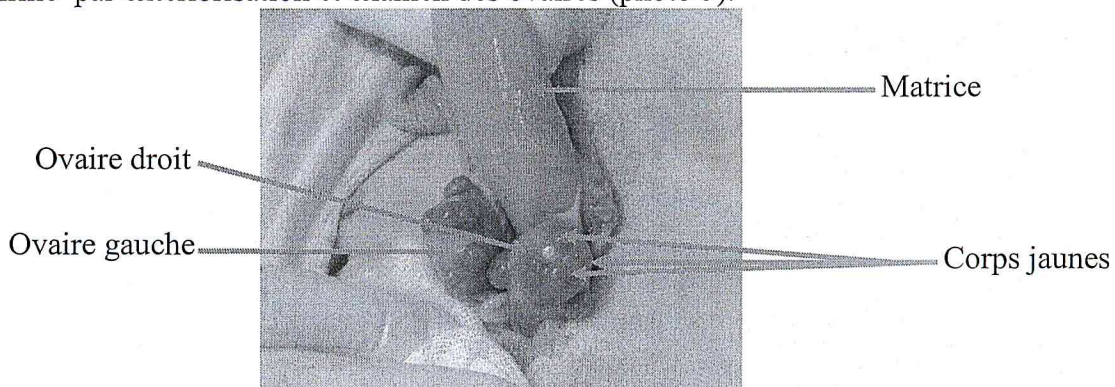
## **II. ANALYSES STATISTIQUES :**

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

### III - RESULTATS :

#### III -1. Dénombrement des corps jaunes :

Le dénombrement des corps jaunes effectué auparavant sous endoscopie a été confirmé par extériorisation et examen des ovaires (photo 5).



**Photo 5 : Dénombrement des corps jaunes après extériorisation des ovaires.**

#### III -2. Résultat de la récolte :

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

##### III.2.A. Structures récoltées:

Les résultats de la récolte sont présentés dans les tableaux ci-dessous :

##### 1- Lots 1 et 2:

**Tableau 7 : Structures récoltées chez les brebis du lot 1 et 2.**

Brebis		Nombre de structures Récoltées		Total
		Corne Gauche	Corne Droite	
Lot 1	B1	04	01	05
	B2	04	00	04
	B3	01	01	02
	Moyenne et écart type	3±1,73	0,66±0,57	3,66±1,52
Lot 2	B5	06	02	08
	B6	04	02	06
	B7	01	01	02
	Moyenne et écart type	3,66±2,51	1,66±0,57	5,33±3,055
Moyenne et écart type		3,33±1,96	1,16±0,75	4,5±2,34

Les résultats montrent que chez les brebis du lot 2, le nombre moyen de structures récoltées est supérieur à celui des brebis du lot 1 (5,33±3,055 vs 3,66±1,52).

**2-Lots 3 et 4:****Tableau 8 : Structures récoltées chez les brebis du lot 3 et 4.**

Lots	Brebis	Nombre de structures Récoltées		Total
		OVG	OVG	
Lot 3	B9	04	05	09
	B10	07	09	16
	B11	02	04	06
	B12	04	05	09
	B13	06	07	13
	B14	02	04	06
	Moyenne et écart type	4,166±2,04	5,66±1,96	9,83±3,97
Lot 4	B15	00	00	00
	B16	00	00	00
	B17	00	00	00
	Moyenne et écart type	00	00	00

Les résultats montrent qu'aucune structure n'a été récoltée chez les brebis du lot 4. Par contre chez les brebis du lot 3, le nombre moyen de structures récoltées est de (9,83±3,97) et il est significativement supérieur à celui des brebis du lot 1 et 2 (9,83±3,97 vs 4,5±2,34,  $p<0,01$ ).

**III.2.B. Taux de récolte :**

Les résultats relatifs aux taux de récolte des embryons sont rapportés dans les tableaux ci-dessous :

**1- Lots 1 et 2:****Tableau 9 : Taux de récolte des embryons chez les brebis du lot 1 et 2.**

Brebis		Nombre de CJ	Nombre de structures récoltées	Taux de récolte (%)
Lot 1	B1	06	05	83,33
	B2	05	04	80
	B3	04	02	50
	Taux moyen			73,33
Lot 2	B5	15	08	53,33
	B6	11	06	54,54
	B7	04	02	50
	Taux moyen			53,33
Taux moyen				60

Nous avons constaté que le taux de récolte des embryons chez les brebis du lot 1 tend à être significativement différent de celui du lot 2 (73,33 % vs 53,33;  $p<0,1$ ).

**2-Lot 3:****Tableau 10 : Taux de récolte d'embryons chez les brebis du lot 3.**

Brebis		Nombre de CJ	Nombre de structures récoltées	Taux de récolte (%)
Lot 3	B9	16	09	56,25
	B10	24	16	66,66
	B11	11	06	54,54
	B12	13	09	69,23
	B13	24	13	54,16
	B14	15	06	40
		Taux moyen		57,28

Nous avons constaté que le taux de récolte des embryons chez les brebis du lot prétraité (3) est comparable à celui du lot 1 et 2 (57,28 % vs 60%).

**IV. Classification des embryons :****IV.1. Qualité des structures récoltées :**

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

**Tableau 11 : 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	B1	03(B)	01(B)	00	00	01
	B2	02(B)	01(B)	00	01(M)	00
	B3	01(B)	00	00	01(M)	00
Total		06	02	00	03	
Taux moyen (%)		54,54	18,18	00	27,27	
Lot 2	B5	05(B)	01(B)	01(B)	01 (M)	00
	B6	03(B)	00	02(B)	00	01
	B7	01(B)	01(B)	00	00	00
Total		09	02	03	02	
Taux moyen (%)		56,25	12,5	18,75	12,5	
Lot 3	B9	04(B)	02(B)	03(B)	00	00
	B10	09(B)	03(B)	03(B)	01(M)	00
	B11	03(B)	01(B)	01(B)	00	01
	B12	04(B)	02(B)	02(B)	01(M)	00
	B13	10(B)	01(B)	02(B)	00	00
	B14	04(B)	02(B)	00(B)	00	00
Total		34	11	11	03	
Taux moyen (%)		57,62	18,64	18,64	5,10	

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

Lot 1:

- Le taux moyen d'embryons de classe 1 (54,54 %) est plus élevé par rapport à celui de la classe 2 (18,18 %) et 4 (27,27%).

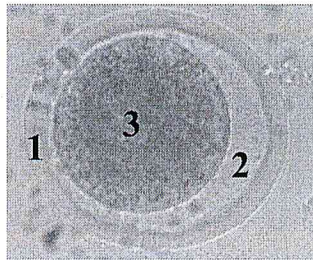
Lot 2:

- Le taux moyen d'embryons de classe 1 (56,25 %) est plus élevé par rapport à celui de la classe 2 (12,5 %) ,3 (18,75 %) et 4 (12,5 %).

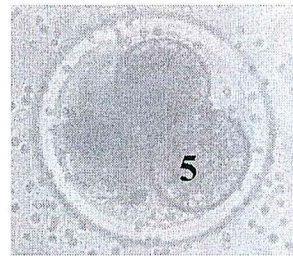
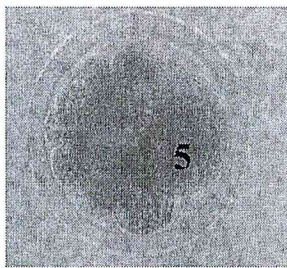
Lot 3:

- Le taux moyen d'embryons de classe 1 (57,62%) est plus élevé par rapport à celui de la classe 2 ,3 (18,64%) et 4(5,10 %).

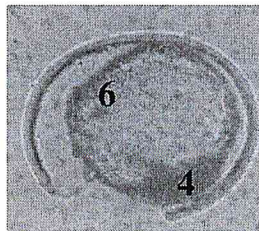
Les photos ci-dessous représentent des embryons de différentes classes :



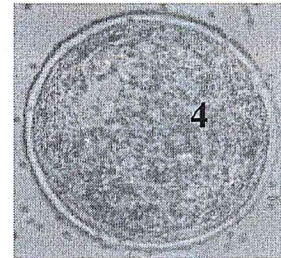
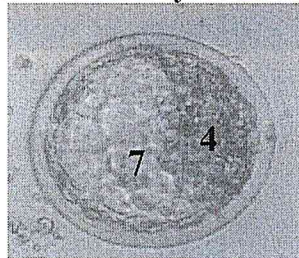
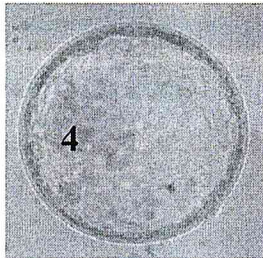
**Photo 6 : Ovocyte non fécondé de classe 4.**



**Photo 7 : Embryons dégénérés de classe 4.**



**Photo 8 : Blastocyste en expansion.**



**Photo 9 : Blastocystes de classe 1.**

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

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

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

**Tableau 12 : Taux de fécondité**

Lots	Structures récoltées		Taux de fécondité (%)
	Embryons	Ovocytes	
1	10	01	90,90
2	15	01	93,75
3	58	01	98,30
Total	83	03	96,51

Nos résultats montrent que le taux de fécondité est de :

- ❖ 90,90 % pour le lot 1.
- ❖ 93,75 % pour le lot 2.
- ❖ 98,30 % pour le lot 3.
- ❖ 96,51 % pour l'ensemble des brebis.

#### IV.3. Détermination du taux d'embryons transférables:

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

**Tableau 13 : Taux des embryons transférables**

Lots	Embryons Transférables	
	Nb	Taux (%)
1	08	80
2	14	93,33
3	56	96,55
Taux moyen	78	93,97

Nous avons constaté que le taux d'embryons transférables est de:

- 80% pour le lot 1.
- 93,33 % pour le lot 2.
- 96,55 % pour le lot 3.
- 93,97 % pour l'ensemble des brebis.

Nous avons constaté que le taux d'embryons transférables chez les brebis du lot 3 tend à être significativement différent de celui des brebis du lot 1 et 2 (96,55 % vs 88%,  $p < 0,1$ ). Et le nombre moyen d'embryons transférables par brebis traitée a été significativement plus élevé chez le lot de brebis prétraitées (3,66 vs 9,33 ;  $p < 0,001$ ).



# *DISCUSSION*

## **I – EFFET DE LA DOSE DE FSHp ET DU PRETRAITEMENT PAR UN AGONISTE DE GnRH SUR LE COMPORTEMENT D’OESTRUS :**

### **I.1. Comportement d’œstrus :**

#### **I.1.1. lots non prétraités :**

Nos résultats ont révélés que le taux de synchronisation de l’œstrus a été supérieur chez les brebis du lot 1 par rapport au lot 2 (75% vs 50%), en revanche, le début d’œstrus a été comparable chez les brebis des deux lots (lot 1 :  $22,66 \pm 6,11$ h vs  $22 \pm 2,82$ h : lot 2). Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Torres et Sevellec, 1987 ; Chagas E Silva *et al.*, 2003, qui ont constaté un début d’œstrus 24h et  $25.3 \pm 0.5$ h après utilisation de 16mg de FSHp chez la brebis de race Préalpes et Saloia respectivement. Les mêmes observations ont été rapportées par José *et al.*, 2008, où l’apparition des chaleurs, chez les brebis Pelibuey, a été observée en moyenne 24h après le retrait de l’éponge vaginale, lors d’utilisation d’une dose de 20mg de FSHp. Aussi, selon Brebion, Baril *et al.*, 1992, environ 85% des brebis de race Lacaune, traitées avec 20mg de FSHp, viennent en œstrus entre 16 et 28h après le retrait d’éponge.

Nos résultats révèlent que la durée d’œstrus est comparable chez les brebis des deux lots (lot1 :  $37,33 \pm 8,32$ h vs  $38 \pm 2,82$ h : lot 2). La durée d’œstrus dans la présente étude est longue par rapport à celle décrite par WRIGHT *et al.*, 1976 (34,4h), par contre notre résultat est nettement inférieur à celui obtenu par CORDIERO *et al.*, 2002 ( $43 \pm 3.7$ h).

Dans la présente étude, il apparait que la dose de FSHp (16 et 20mg) n’a pas eu d’effet sur le début et la durée du comportement d’œstrus.

#### **I.1.2. lots prétraités :**

Le taux de synchronisation d’œstrus pour les brebis du lot 3 a été de 83,33% avec un début d’œstrus moyen de  $16 \pm 2,82$ h après le retrait d’éponge vaginale. Cependant, chez les brebis du lot 4, une seule brebis a exprimé des signes d’œstrus 20h après le retrait d’éponge soit un taux de synchronisation de 33,33%.

Il apparait dans la présente étude, que le début d’œstrus chez les brebis du lot 3 est précoce par rapport à celui obtenu par Ben Said *et al.*, 2004 et Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2003, qui ont rapporté un début d’œstrus de  $21.6 \pm 3.5$ h et  $34.0 \pm 1.2$ h après utilisation d’un agoniste et un antagoniste de la GnRH, respectivement.

Nos résultats révèlent que la durée d'œstrus a été en moyenne  $46,4 \pm 8,29$ h. Cette durée est comparable à celle constatée par Lopez-Alonso et *al.*, 2003 qui est de  $42,5 \pm 1,4$ h.

Nous avons constaté dans notre étude que le début d'œstrus chez les brebis prétraitées (lots 3 et 4) est significativement différent de celui des brebis non prétraitées (lots 1 et 2). En effet, de nombreuses études (Torres et *al.*, 1987; Martemucci et *al.*, 1988, Baril et *al.*, 1993) ont rapporté l'existence d'une relation entre le début d'œstrus et le taux d'ovulation, ce qui peut expliquer l'apparition plus précoce du comportement d'œstrus chez les brebis prétraitées.

## **II. EFFET DE LA DOSE DE FSHp ET DU PRETRAITEMENT PAR UN AGONISTE DE GnRH SUR LA REPOSE OVARIENNE :**

### **II.1. Lots non prétraités (lots 1 et 2):**

Nos résultats montrent que le nombre moyen de corps jaune chez les deux lots est de  $7,5 \pm 4,50$ CJ, néanmoins, la réponse ovarienne du lot 2 a été supérieure par rapport à celle des brebis du lot 1 ( $10 \pm 5,56$ CJ vs  $05 \pm 1$ CJ).

Lors de notre expérimentation, la réponse ovarienne obtenue après utilisation d'une dose de 16mg de FSHp est nettement inférieure à celle obtenue avec la même dose par Torres et *al.*, 1984 ;1987 chez les brebis de races Préalpes et Remanov×Préalpes qui rapportent des réponses respectives de  $12 \pm 1,5$ CJ et  $19 \pm 2,6$ CJ. Cependant, la réponse obtenue après utilisation de 20mg de FSHp chez les brebis Ouled Djellal est comparable à celle décrite par D'Alessandro et *al.*, 2005 ; José et *al.*, 2008 , qui rapportent une réponse de  $11,9 \pm 1,6$ CJ et  $10,73 \pm 1,42$ CJ respectivement.

En effet, selon Brebion et *al.*, 1992, les doses totales de FSHp préconisées chez la brebis sont comprises entre 16 et 20UA, mais ces doses peuvent s'avérer soit insuffisantes, soit au contraire excessives pour certains génotypes particuliers.

Les différences dans les réponses de superovulation entre les races semblent être liées à la fois, à la préparation de FSH utilisée, la voie d'administration ou à la forte variabilité d'élimination de FSH décrite chez la brebis (McNeily 1985 ; Fry et *al.*, 1987 ; Ammoun et *al.*, 2006). Ces différences peuvent être aussi dues au fait que la FSH exogène été administrée avec la même dose à toutes les femelles indépendamment de leurs poids (Ammoun et *al.*, 2006)

La différence entre les races ovines peut être aussi en relation avec la prolificité de la race. Il a été constaté qu'après un traitement de superovulation, la réponse ovulatoire est très élevée chez les races suivantes : Romanov-Préalpes, Mérinos et de l'Ile de France que chez les brebis Préalpes et les brebis Romney Marsh (Torres et Cognié, 1984; Cognié *et al.*, 1986).

## II.2. lots prétraités (lots 3 et 4):

Nos résultats montrent que la réponse ovarienne moyenne est de  $16,55 \pm 4,55$  CJ chez les lots prétraités, nous avons constaté que le nombre moyen de corps jaunes chez les brebis du lot 3 est légèrement supérieur par rapport à celui du lot 4 ( $17,16 \pm 5,56$  CJ vs  $15,33 \pm 1,52$  CJ).

Les résultats de la présente étude sont légèrement inférieurs à ceux obtenus par Cognié et Baril., 2002, qui ont obtenu des réponses ovariennes de  $20,6 \pm 10,2$  CJ et  $18,4 \pm 9,5$  CJ en utilisant un antagoniste de GnRH. Par contre, ils sont supérieurs par rapport aux résultats de Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2003, qui ont obtenu en moyenne  $9,6 \pm 0,9$  CJ après utilisation d'une dose unique d'anti-GnRH.

De plus, nous avons constaté que la réponse ovulatoire des brebis prétraitées a été significativement plus élevée par rapport à celle des brebis non prétraitées ( $16,55 \pm 4,55$  CJ vs  $7,5 \pm 4,50$  CJ). Les mêmes constatations ont été signalées par Brebion *et al.*, 1992 ; Cognié *et al.*, 2003, qui rapportent une augmentation de 50% de la réponse ovulatoire après utilisation d'un prétraitement à base d'agoniste ou d'antagoniste de GnRH .

Il est à noter qu'il existe une variabilité de la réponse ovarienne individuelle qui peut être attribuée à l'importance du taux de la réserve ovarienne en follicules primordiaux au moment où commence la stimulation exogène. Selon Monniaux *et al.*, 1983 ; Cognié *et al.*, 2003 ; Veiga – Lopez *et al.*, 2005 , il y a une forte corrélation entre la population folliculaire totale avant la superovulation et le nombre de structures lutéales dénombrées après le traitement de superovulation . En effet, le prétraitement avec de la GnRH modifie l'état de la population folliculaire par inhibition de la croissance folliculaire terminale (réduction du nombre de gros follicules) et augmentation du nombre de petits follicules (Brebion *et al.*, 1992 ; Cognié *et al.*, 2003) ce qui peut expliquer la différence de la réponse entre les lots de brebis prétraitées et non prétraitées dans la présente étude.

### **III. EFFET DE LA DOSE DE FSHp ET DU PRETRAITEMENT PAR UN AGONISTE DE LA GnRH SUR LE TAUX DE RECOLTE, TAUX DE FECONDITE ET LA QUALITE DES EMBRYONS :**

#### **III.1. Taux de récolte :**

##### **a. Taux de récolte chez les lots non prétraités :**

Nos résultats montrent que le taux de récolte moyen chez les brebis non prétraitées est de 60% ce qui est comparable aux résultats de Simonetti *et al.*, 2008 ; Leoni *et al.*, 2001, qui rapportent des taux de 60.6% et 59.9% chez les races Corriedale et Sarda respectivement. Par contre notre résultat est supérieur par rapport à celui rapporté par Rexroad et Powell (1991) qui est de 39.4%. En revanche, ce taux de récolte est nettement inférieur à celui décrit par D'Alessandro *et al.*, 2005, Clément ., 2005, qui rapportent des taux de  $87.5 \pm 8.5\%$  et 91.30% respectivement.

##### **b. Taux de récolte chez les lots prétraités :**

Notre résultat est proche de celui obtenu par Ben Said *et al.*, 2004, qui ont rapporté un taux de 64%. Par contre, le taux obtenu dans la présente étude est inférieur à celui décrit par Cognié et Baril, 2002, qui après utilisation de 11 et 03 injections d'antagoniste de GnRH, rapportent des taux de récupération de 76% et 68% respectivement. De même notre résultat est nettement inférieur par rapport à celui obtenu par Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2003, qui trouvent un taux moyen de  $81.4 \pm 19.3\%$  après utilisation d'une dose unique d'antagoniste de GnRH. Cependant, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre le lot prétraité (3) et les lots 1 et 2 (57,28 % vs 60%).

#### **III.2. Taux de fécondité :**

##### **a. Taux de fécondité chez les lots non prétraités :**

Le taux de fécondité obtenu chez les lots 1 et 2 est de 90,90% et 93,75% respectivement, ces résultats sont semblables à ceux décrits par Baril *et al.*, 2004 et Yamada *et al.*, 1996 qui ont obtenu des taux de fécondité de 90%, 92.9% respectivement.

Cependant, nos résultats sont supérieurs par rapport à ceux obtenus par D'Alessandro et *al.*, 2005 ; Rexroad et Powell, 1991 ; Ramon-Ugald, 2008, qui rapportent des taux de 55.8±10.9%, 64.3% et 64.2% respectivement.

#### **b. Taux de fécondité chez le lot prétraité :**

Le taux de fécondité obtenu dans la présente étude (98.52%) est comparable à celui obtenu par Gonzalez-Bulnes et *al.*, 2003, qui après utilisation d'une dose unique d'antagoniste de GnRH obtiennent 100%. Toutefois, ce taux est supérieur à celui obtenu par Cognié et Baril, 2002, qui ont décrit un taux de 90% en utilisant un traitement de 11 injections d'antagoniste de GnRH.

Le taux de fécondation obtenu chez les brebis superovulées avec ou en absence de prétraitement, pourrait être lié à l'utilisation combinée, au moment optimal, de la saillie et l'insémination intra-utérine (Baril et *al.*, 1999) avec de la semence fraîche diluée dans de l'Ovixcell, qui selon son fabricant permet une conservation de 24h. Dans le cas du prétraitement avec de la GnRH, le taux de fécondation élevé pourrait aussi être lié à la bonne synchronisation des ovulations comme rapporté par les travaux de Cognié et *al.* (1999, 2003)

De plus, le dépôt de la semence directement dans les cornes utérines sous contrôle laparoscopique chez les brebis superovulées, réduit les altérations massives des conditions de survie des spermatozoïdes lors de leur passage à travers le cervix (Evans et Armstrong, 1984)

#### **III.3. Qualité des embryons récoltés :**

Une différence significative a été trouvée entre les lots par rapport à la qualité des embryons récoltés. Comparativement, aux lots non prétraités, le nombre moyen d'embryons transférables par brebis traitée a été significativement plus élevé chez le lot de brebis prétraitées lors du premier traitement avec un agoniste de GnRH (3,66 vs 9,33,  $p < 0,001$ ).

Ces résultats montrent que non seulement, le prétraitement avec de la GnRH augmente le nombre des embryons transférables, il n'affecte pas la qualité des embryons récoltés, ce qui offre une similitude avec les observations décrites dans des études précédentes (Cognié 1999, Ben Said et *al.*, 2004)

# *CONCLUSION*

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. Cependant, chez les ovins la variabilité de la réponse ovulatoire des donneuses limite le développement du transfert embryonnaire. Néanmoins, l'utilisation d'un agoniste de GnRH semble améliorer la production *in vivo* d'embryons.

Les résultats obtenus dans notre étude montrent que la réponse ovulatoire des brebis prétraitées par un agoniste de GnRH est très élevée par rapport à celle des brebis non prétraitées ( $16,55 \pm 4,55$ CJ vs  $7,5 \pm 4,50$ CJ) et au sein des lots non prétraités la réponse ovarienne du lot 2 a été supérieure par rapport à celle des brebis du lot 1 ( $10 \pm 5,56$ CJ vs  $05 \pm 1$ CJ). Concernant le taux de récolte, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre le lot prétraité (3) et les lots 1 et 2 (57,28% vs 60%). Cependant, le nombre moyen d'embryons transférables par brebis traitée a été significativement plus élevé chez le lot de brebis prétraitées par rapport aux lots non prétraités (9,33 vs 3,66).

Il en ressort de la présente étude que les brebis de race Ouled Djellal répondent mieux au traitement de superovulation avec la dose de 20UA et le rendement de la production d'embryons *in vivo* chez les brebis prétraitées avec un agoniste de GnRH est élevé. Il semble que l'usage du prétraitement à base de GnRH inhibe la croissance folliculaire terminale et permet d'accroître le nombre de follicules dans la classe de taille qui précède la dépendance de ces follicules vis-à-vis des gonadotrophines d'où l'augmentation de la réponse ovulatoire au traitement de FSH.

Cependant, une réduction de la réponse ovarienne et un très faible rendement de production d'embryons ont été observés lors de la répétition du prétraitement avec de la GnRH. Il s'avère donc nécessaire de réaliser d'autres travaux afin d'apporter des explications à ce faible rendement obtenu lors de la répétition du prétraitement de GnRH.



*REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES*

- Ammoun I., T. Encinas., A. Veiga-Lopez., J. M. Ros., I. Contreras., P. Gonzalez-Anover., M. J. Cocero., A. S. Mcneilly., and A. Gonzalez-Bulnes. ; 2006.** Effects of breed on kinetics of ovine FSH and ovarian response in superovulated sheep. *Theriogenology* 66 :896-905.
- Armstrong D.T., Evans G. ; 1983.** Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats, *Theriogenology*.*Theriogenology*.19.p31-42.
- Baril G., Casamitjana P., Perrin J., Vallet J.C. ; 1989.** Embryo production, freezing and transfer in angora, Alpine and Saanen goats. *Zuchthgenie (berl)*.24,1001-115.
- Baril G., Vallet J.C. ; 1990.** Time of ovulation in dairy goats induced to superovulate with pFSH during and out of the breeding season. *Theriogenology*, 34 : 303-311.
- Baril G., Brebion P., Chensé P. ; 1993.** Manuel de formation pour le transfert embryonnaire chez la brebis et la chèvre. FAO, 115, ISSN 1014-1099.
- Baril G., Pougard J.L., Freitas V.F.J., Leboeuf B., Saumande J. ; 1996.** A new method for controlling the precise time of occurrence of the preovulatory gonadotrophin surge in superovulated goats. *Therio.*, 45 : 697-706.
- Baril G., Cognie Y., Belloc J.p., Briois M., Poulin N., Bouttier A., Pougard J.L., Vallet J.C., Leboeuf B., Rémy B., Beckers J.F., Mermillod P. ; 2004.** Effet de prétraitements agoniste et antagoniste de GnRH sur la production d'embryons chez la brebis et la chèvre. *Renc. Rech. Ruminant*, 11.
- Beattie J.L. ; 1982.** Hypophysiotropic Releasing-Inhibiting Hormones. In Zaneled (LJD) and coll., *Biochemistry of mammalian reproduction*.1ère Ed., JOHN WILEY and sons, NEW YORK. 287-296.
- Ben Said S, Touze, J.L. Baril, G. Beckers, J.F et Cognié, Y. 2004.** Long-term exposure to GnRH agonist does not modify the sheep ovarian response to a superovulation FSH treatment. *Proceedings of the Symposium on Reproduction in Small Ruminants .Reproduction Fertility and Development*, 16 (4) 510.
- Bister J.L 2002,** FUNDP CRO Laboratoire de physiologie animale.
- Boris. ; 1999.** Etude de l'influence du rapport FSH LH dans le cadre de la superovulation chez la chèvre.1999 ; faculté de médecine Nantes.
- Boukhlique R. ; 2002.** Cours en ligne sur la reproduction ovine. Institut Agronomique et Vétérinaires Hassen II, département de la reproduction animale.
- Brebion P., Baril G., Cognie Y., Vallet J.C. 1992.** embryo transfer in sheep and goats.*Ann. Zootech.*, 41, 331-339.
- Brebion P., Bekers., Guerrin Y., Boomarov. ; 1991.** High performane of boorola ×Romano ees as permanat embryo donors.In colloque INRA, major genes for reproduction in sheep. Colloque INRA n°57171-174, Paris .
- Caraty A., Orgeur P., Thierry J.C. ; 1982.** Mise en évidence d'une sécrétion pulsatile du LHRH dans le sang porte hypophysaire chez les brebis par une technique originale de prélèvements multiples. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 295(III) ,103-110.
- Casamitjana P. ; 2006.** Synchronisation de la reproduction chez les ovins. *Société Nationale Des Groupements Techniques vétérinaires*, Fiche n°22.
- Catt KJ., Harwood JP., Aguilera G., Dufau ML. ; 1979.** Hormonal regulation of peptide receptor and target cell responses. *Nature*, 280, 109-116

- Chagas E., Silva J., Lopes da Costa L., Cidado R., Robalo Silva J. ; 2003.** Plasma progesterone profiles, ovulation rate, donor embryo yield and recipient embryo survival in native saloia sheep in the fall and spring breeding seasons National Station for Animalselection and reproduction, Amadora, Portuga Laboratory of Reproduction, CIISA, Faculty of Veterinary Medicine, Lisbon, Portugal. *Theriogenology* 60,521-532.
- Chemineau P., Blanc M., Caraty A., Bruneau G., Mmonget P. ; 1999.** Productions animales. INRA juillet 1999, volume 12 N°3. P: 219.
- Clayton RN. ; 1989.** Gonadotrophin-releasing hormone: its actions and receptors. *J. Endocrinology*, 120, 11-19.
- Clement. ; 2006.** Production et transfert d'embryon in vivo chez la chèvre de race Boer, these de doctorat vétérinaire d'alfort.
- 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.
- Cognie Y. ; 1999.**State of the art in scheap-goat embryo transfer. *Theriogenology*, 51 :105-116.
- Cognie Y., Baril. ; 2002.** Le point sur la production et le transfert d'embryons obtenus in vivo et in vitro chez la brebis et la chèvre. *INRA Prod.Anim.*, 15, 199-207.
- Cognie Y., Baril G., Poulin N., Mermillod P. ; 2003.**Current status of embryo technologies in sheep and goat.Published in *Theriogenology*, 59, 171-188.
- Colas G. ; 1975.**Effect of initial freezing temperature, addition of glycerol and dilution on the survival and fertilizing ability of deep-frozen ram semen.*J. Reprod. FERT.* , 42, 277-285.
- Colas g. ; 1984.**Semen technology in the ram. In: *The male in farm animal reproduction.* Courot M. (Ed). Dordrecht, Martinus Nijhoff Publishers, 219-236.
- Conzalez-Bulnes A., Baird DT., Campbell BK., Cocero MJ., GarciaGarciaarm., Inskoop. ; 2004.** Multiple factors affecting the efficiency of multiple ovulation and embryo transfer in sheep and goats.*Reproduction, Fertility AND Development*, 16,421-435.
- Cordiero MF., Lima-Verde JB., Lopes-Junior ES., Teixeira IA. ; 2002.** Embryo recovery rate in Santa ewes subjected to successive superovulatory treatments with FSHp. Laboratory of physiologie and control of reproduction, Faculty of veterinary, State Université of Ceara, Avenue Paranjana 1700, Fortaleza CE 60740-000.
- Coop I.E. ; 1966.** Effet of Flushing on productive performances of ewes .*J. Agri. Camb*, 67 :305-323.Canaria, Spain and *Physiology of Reproduction*, Faculty of veterinary médecine, Liège, Belgique 2001.
- Corteel J.M., Leboeuf B., Baril G. ; 1988.** Artificial breeding of adult goat and kids induced with hormones t ovulate outside the breedng eason.*small ruminant*.
- Courot M. Volland-Nail P. ; 1991.** Productions animales. INRA Février 1991 volume 4 N° 1.Pages : 22, 23.
- D'Alessandro A.G., Martemucci., Taibi. ; 2005** How the FSH-LH ratio and dose number in the pFSH administration treatment regimens and insemination schedule affect superovulatory reponse in ewes. *Istituto sperimental per la zootecnia, via Napoli, Segesia, 71020 Foggia, Italy.*
- Driancourt M.A. ; 1987.** Ovarian foetus contributing to the variability of PMSG-Induced ovulation rate in scheap.*J.reprod.Fert.*80, 207-212.

- Driancourt M.A.; 2001.** Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*, 55, 1211-1239.
- Evans G., Armstrong D.T. ; 1984.**Reduction of sperm transport in ewes by superovulation treatments. *J. Reprod. Fertil*, 70 :47-53.
- FAO; 2007.** <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/Counprof/Algeria/Algerie.htm>
- Fry R.C., Clarke I.J., Cummins J.T. , Bindon B.M. ,Piper L.R. ,Cahill L.P.,1987.**The half life of follicle stimulating hormone in ovary intact and ovariectomized Boorola and control Merino ewes. *J.Reprod. and Fert*, 82 : 611-615.
- Giovanni et Lioni., Luisa B., Pierpaolo P., Sergio L., Salvatore Naitana. ; 2001 :** Sheep embryos derived from FSH/eCG treatment have a lower in vitro viability after vitrification than those derived from FSH treatment, Department of animal biology, University of Sassari, 07100 Sassari.Italy.
- Gonzalez-Bulnes., A J Santiago-Moreno., M J Cocero and A Lopez-Sebastien. ; 2000.** Effects of FSH commercial preparation and follicular status on follicular growth and superovulatory response in spanish Merino ewes. *Theriogenology* ,54 1055-1064.
- Gonzalez-Bulnes A., Souza CJH., Campbell BK., Scaramuzzi RJ., Baird DT. ; 2003.** The effect of a single long-acting injection of GnRH antagonist on ovarian follicular development in sheep. *Reprod Abstr Ser 2003*; 30:65[abstract].
- Gonzalez-bulnes A., Santiago-Moreno J., Cocero M.J., Souza C.J.H., Groome N.P., Garcia-Garcia R.M., Lopez-Sebastian A., Baird D. T. ; 2002.** Patterns of follicular growth in superovulated sheep and influence on endocrine and ovarian response.*Reprod.Domest.Anim.*37: 357-361.
- Gordon I. ; 1975.**Hormonal control of reproduction in the sheep. *Proc. Br. Soc. Anim. Prod.* 4:79-93.
- Guérin et al., 1996.** MULTIPLE OVULATION AND EMBRYO TRANSFER IN IN GOATS ; BY KHOBOSO CHRISTINA LEHLOENYA ; A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree ; PHILOSOPHAE DOCTOR ; In The Faculty of Natural And Agricultural Sciences ; Departement of Animal, Wildlife And Grassland Sciences ; University of The Free State Bloemfontein ; February 2008.
- Guignot F. ; 2005.** Cryoconservation des embryons des espèces domestiques, INRA, unité de Mixte de Recherche Physiologie, de la reproduction et des comportements ,37380 Nouzilly, INRA, *Prod. Anim.* 2005,18 .27-35.
- Gouhis. ; 1989.** Influence d'une injection de PMSG et de la race sur les performances de reproduction de la brebis ; Mémoire de fin de cycle de zootechnie, option : Reproduction ovine, institut national agronomique de Tunisie.
- Handelsman DJ., Swerdloff RS. ; 1986.** Pharmacokinetics of GnRH and its analogs. *Endocrine Rev.*, 7, 95-105.
- Hansel w ., Convey E.M. ; 1983.** Physiology of the estrus cycle.*J.Anim. Sci. Suppl.*2, 5,404-412.
- Hanzen C. ; 2000.** «Propédeutique et pathologie de la reproduction male et femelle» 2eme doctorat en médecine vétérinaire.
- Hanzen C. ; 2009.** Maitrise du cycle des petits ruminants. Université de Liège, Belgique, Cours de l'année.

- Hasler. ; 2001.** Multiple ovulation and embryo transfer in goats ; by KHOBOSO CHRISTINA LEHLOENYA ; A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree ; PHILOSOPHAE DOCTOR ; in the faculty of naturel and agricultural sciences ; Departement of Animal, Wildlife and Grassland Sciences ; University of the Free State Bloemfontein ; february 2008.
- Hazum E., Conn PM. ; 1988.** Molecular mechanism of gonadotrophin releasing hormone (GnRH) action. I.the GnRH receptor. *Endocrine Reviews*, **9**, 379-384.
- Jabbour., H.N., Evans G. ; 1991.** Ovarian and endocrine reponse of merinos ewes to treatment with PMSG and/or FSHp. *Anim.Reprod.Sci.* **26**,93-106.
- José H.C., J. Ricardo Ake Lopez, Juan Carlos K.V., Gary L.W., Jorge Alfredo Q.F. ; 2008.** Repuesta ovulatoria, estado de desarrollo y calidad de embriones de ovejas Pelibuey superovuladas suplementadas con acidos grasos poliinsaturados. *Tec Pecu Méx.*, **46** (2) :107-117.
- Khalidi G. ; 1984.** Variation saisonnière de l'activité ovarienne, du comportement d'œstrus et de la durée de l'anoestrus post-partum des femelles ovines de race Barbarine : influence du niveau alimentaire et de la présence de male. Thèse de doctorat d'état des sciences. Academie de Montpellier.
- King JA., Millar RP. ; 1980.** Comparative aspects of LHRH structure and function in vertebrate phylogeny. *Endocrinology*, **106**, 707-717.
- Kovacs M., Schally AV., Csernus B., Rekasi A. ; 2001.** LHRH antagonist cetrorelix down regulates the mRNA expression of pituitary receptors for LHRH by unteracting the stimulatory effect of endogenous LHRH. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **98**, 1829-1834.
- Levine JE., Ramirez VD. ; 1980.** In vivo release of LHRH with Push pull cannulae from the mediobasal hypothalamus of ovariectomized, steroidprimed Rats. *Endocrinology*, **111**, 1782-1790.
- Leoni G. ; Bogliolo L., Pintus P., Ledda S., Naitana S. ; 2001.** Sheep embryos derived from FSH/eCG treatment have a lower in vitro viability after vitrification than those derived from FSH treatment. *Reprod. Nutr. Dev.* **41** :239-246.
- Lopez -Alonso., T. Encinas., A. Veiga-Lopez., R.M. Garcia-Garcia., M.J. Cocero B., J.M. Ros., A.S. Mcneilly., A. Gonzalez-Bulnes. ; 2005.** Follicular growth, endocrine reponse and embryo in sheep superoulated with à single short-ating dose of GnRH antagonist ; *Theriogenology* **6G** (2005)
- Lopez-Alonso C, Encinas T, Garcia-Garcia RM, Veiga-Lopez A, Ros JM, Gonzalez-Bulnes A.** Modification of follicular status in sheep treated with single short-acting doses of GnRH antagonist. *Reprod Abstr Ser* 2003; **30**:71 [abstract].
- Mcneilly AS., Fraser HM. ;1987 :** Effect of gonadotrophin releasing hormone agonist-induced suppression of LH AND FSH on follicule growth and corpus luteum function in the ewe. *J Endocrinol* **155**, 273-282.
- Mialot J.P., Laumonnier G., Ponsart C., fauxpoint H., barassin E., Ponter A.A., Deletang F. ; 1999.** Postpartum subestrus in dairy cows: comparison of treatment with prostaglandin F2alpha or GnRH + prostaglandins F2 alpha + GnRH. *Theriogenology*, **52**, 901-911.

- Monniaux D., Chpin D., Samand J. ; 1983.** Superovulatory reponse of cattele. *Theriogenology*. 19 : 54-64.
- Morlev F.S.H., white D.H., Kenny I.F. ; 1978.** Predicting ovulation from live weight in ewes. *Anim. Breed*, 46, 437.
- Naqvi S.M.K et Gulyani R. ; 1999.** Ovarian reponse and embryo recovery to different superovulatory regimens in Rambouillet ewes under semi-arid conditions. Division of physiology, Central sheep & Wool Research instutute, Avicanagar, Jaipur, Rajasthan ; 304-501, India.
- ONS 2004.** page 1, Office national des statistiques 2004.
- Ory SJ. ; 1983.** Clinical uses of LHRH. *Fertility and Sterility*, 39, 577-591
- Paquignon M., Bussiere J., Bariteau F., Courot M. ; 1980.** Effet of forzen boar semen under pratical conditions of artificial insemination. *Theriogenology*. 14,217-226.
- Pelletier J. ; 1971.** Le contrôle de la sécrétion et de la décharge de LH chez les mammifères. *In : HERLANT M. Fonctions gonadotropes et rapports hypothalomo-hypophysaires chez les animaux sauvages*. 1ère édition, Paris, Masson, 274p.
- Peura et al. ; 2001.** Multiple ovulation and embryon transfer in goats ; by KHOBOSO CHRISTINA LEHLOENYA ; A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree ; PHILOSOPHAE DOCTOR ; in the faculty of naturel and agricultural sciences ; Departement of Animal, Wildlife and Grassland Sciences ; University of the Free State Bloemfontein ; february 2008.
- Ramon-Ugalde J.P., Folch J., Cocero M.J., Pina-Aguilar R.E., albart J.L. ; 2008.** FSH or FSH plus LH superovulation in ewes following estrus snchronization with map pessaries. *Journal OF Animal Science.*, VOL.52, NO. 1.
- Redding TW., Kastin AJ., Gonzalez-Barcena D., Doy DH., Coy EJ., Schalch DS., Schally AV. ; 1973.** The half life, metabolism, and excretion of tritiated LHRH in man. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 37, 626-631.
- Rexroad., C.E.Jr., Powell A.M. ; 1991.** FSH injections and intruterine insemination in protocols for superovulation of ewes. *J. ANIM. Sci*. 69 :246-251.
- Ricordeau G., Bouillon J., Gaillard A., Lajous A., Lajou D. ; 1984.** Modalité et caractéristiques de la reproduction chez les caprins. Aspect génétique. *B.T.I.*, 391, 367-383.
- Rnbianes E., Menchaca A. ; 2003.** The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in gaots. *Animal Reproduction Science*, 78,217-287.
- Schaison G. ; 1982.** LHRH chez l'homme. Données actuelles. *Ann. Endocrin.*, 43, 247-258
- Simonetti L., Forcada F., Rivera E.A., Carou N., Alberio R.H., Abecia J.A., Palacine. ; 2007.** Simplified superovulatory treatments in corriedale ewes. Animal production school of agrarian science, National Univercity of Lomas de Zamora. Buenos Aires, Argentine.
- Si Ziani Y. ; 2009,** "Situation des fourrages en Algérie", communication au Salon International des Productions et de la Santé Animale, (Mai Alger 2009).
- Sugie T., Soma T., Tsunoda and K.Mizouchi. ; 1989.** Survival rates of the embryon during transfer in farm animals
- Swift AD., Crighton DB. ; 1979.** Relative activity, plasma elimination and tissue degradation of synthetic LHRH and certain of its analogues. *J. Endocr.*, 80, 141-152.

- Tervit H.R., Glood P.G ; 1984.**Deep-freezing sheep embryos. *Theriogenology*, 21 :268 abstr.
- Thibault C., Levasseur M.C. ; 2001.**La reproduction chez les mammifères domestiques et l'homme.
- Torres S., Cognie Y., Colas G. ; 1984.**Transfer of des embryons chez les ovins, IX journées de la recherche ovine et caprine, Edition INRA-Tovic-Spec, paris.215-239.
- Torres S., Cognié Y., and Colas G. ; 1987.** Transfer of superovulated sheep embryos obtained with different FSHp ; Pages 407-419.
- Vallet J.C., Casamijana P., Brebion., Perrin J. ; 1991.** Techniques de production, de conservation et de transfert d'embryon chez les petits ruminants. *Recueil de médecine vétérinaire*, 167 :293-301.
- Vanderwall D.K. ;**(Page consultée le 15 janvier 2005) Current equine embryo transfer techniques. In : Ball B.A. (Ed.). *Recent advances in equine reproduction*, International Veterinary Information Service, Ithaca NY (2000). [en ligne] Adresse URL : [http://www.ivis.org/advances/Reproduction\\_Ball/embryo\\_transfer\\_vanderwall/chapter\\_frm.asp](http://www.ivis.org/advances/Reproduction_Ball/embryo_transfer_vanderwall/chapter_frm.asp)
- Veiga-lopez A., Gonzalez-Bulnes A., Garicai-Garcai R.M., Dominguez V., Cocero M.J. ; 2005.** The effects of previous ovarian status on ovulation rate and early embryo development in response to superovulatory FSHp treatments in sheep. *Theriogenology* ,63 1973-1983.
- Whitley N.C., Jackson D.J. ; 2004.** An update on estrus synchronization in goats : a minor species. *Journal of Animal Science*, 82 : 270-276.
- Walker S.K., Smith D.H., Seamark R.F. ; 1986.** Timing of multiple ovulation in the ewe after treatment with FSH or eCG with or without GnRH, *J. Reprod. Fertil.* 77 : 135-142
- Wheaton J.E., Carlson K.M., Windels H.F. et Johnston L.J., 1993.** CIDR : A new progesterone-releasing intravaginal device for induction of estrus and cycle control in sheep and goats. *Anim. Reprod. Sci.*, 33 : 127-141.
- Youngquist R.S. ; 1997.** *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. 1st edition. Philadelphia : WB Saunders Company ; 898p.