

Production d'embryons ovins à partir d'ovocytes d'agnelles pré-pubères mûris, fertilisés et cultivés « in Vitro »

Embryos production from matured, fertilized and cultured oocytes "in Vitro" in prepubertal lambs

A. ECHEGARAY, L. GIL, N. GONZÁLEZ, A. AKOURKI
Facultad Veterinaria, Área Reproducción Animal, 50013 Zaragoza. España

INTRODUCTION

L'objectif de ce travail était de produire des embryons « in Vitro » à partir d'agnelles prépubères non stimulées et âgées de 3 mois.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

On aspirait des follicules supérieurs à 1 mm de diamètre et provenant d'ovaires d'agnelles âgées de 3 mois et sacrifiées à l'abattoir. Les milieux de lavage d'ovocytes étaient M199H (SIGMA, M-7628) et M199H + 12,5 µg d'œstradiol 17-β pour le groupe contrôle (A) et le groupe d'expériences (B, C, D, E) respectivement. Pour la maturation d'ovocytes, les milieux

étaient les suivants : A) M199H (contrôle), B) M199H + 10 % de sérum du fœtus bovin (SFB, SIGMA, F-7524), C) M199H + 10 % SFB + 1 UI gonadotropine chorionique humaine (hCG, CHORULON, Intervet, S.A.), D) M199H + 10 % de Sérum de brebis adulte (SBA, SIGMA, S-2263), E) M199H + 10 % SBA + 1 UI hCG. La capacitation spermatique et la fécondation se réalisèrent dans le milieu M199H enrichi avec 20 % SBA. TALP modifié (Watson et coll., Biology of Reproduction, 1994, 50 : 715-724) + 10 % SBA constituait le milieu de culture « in Vitro ».

RÉSULTATS

Table 1
Résultats d'épreuves de fécondation « in Vitro »

	VG (%)	MI (%)	Anaphase – M II (%)	2 PN (%)	Polyspermie (%)	Dégénérés (%)
A	3 (6,2)	20 (41,6)	24 (52,1)	1 (4,1) ^a	-	-
B	8 (6,9)	39 (33,9)	59 (59,1)	8 (11,7) ^b	1 (1,47)	-
C	6 (5,5)	43 (39,8)	31 (59,7)	26 (45,6) ^c	-	2 (1,8)
D	-	41 (39,8)	41 (58,2)	19 (31,6) ^c	-	2 (1,9)
E	-	39 (37,8)	45 (61,1)	18 (28,5) ^c	-	1 (0,9)

Table 2
Résultats d'épreuves de cultures « in Vitro »

	Total d'ovocytes	Embryons de 2 cellules (%)	Morulas (%)	Blastocystes (%)
A	142	12 (8,4)	3 (2,1)	- ^a
C	240	34 (14,1)	10 (4,1)	8 (3,3) ^b
D	231	47 (20,3)	11 (4,7)	10 (4,3) ^c
E	239	27 (11,3)	10 (4,2)	5 (2,1) ^b

Les lettres différentes (a, b, c) indiquent des différences significatives ($p < 0,05$)

NB : Le traitement B) présentait le plus bas taux de fécondation ; pour cela il a été éliminé d'expériences de cultures « in Vitro ».

DISCUSSION/CONCLUSION

Dans les 2 groupes d'épreuves, on observe que les taux de fertilisations sont en général trop bas n'atteignant pas les 50 % (Table 1). Cela s'explique par l'âge de donneuses (3 mois) et le diamètre de follicules (supérieur à 1 mm) d'où provenaient les ovocytes. On observe aussi que La supplémentation avec uniquement de SBA était beaucoup plus efficace (Table 2 : 20,3 % d'embryons de 2 cellules et 4,3 % de blastocystes)

qu'au reste de supplémentations pour la maturation d'ovocytes.

D'une manière générale, les ovocytes utilisés dans ces expériences sont peu compétents « in vitro ». Le lavage d'ovocytes en présence de grandes concentrations d'œstradiol 17-β avant leur mise en culture améliore leur compétence. Le sérum de brebis adulte est clairement supérieur à celui du fœtus en absence d'une supplémentation hormonale.