

Identification d'un effet femelle independant de l'effet mâle sur le developpement embryonnaire *in vitro* chez les bovins

Identification of a female dependent male ondependent effect on bovine *in vitro* embryo development

TAMASSIA M.(1), RICHARD C.(2), MARCHAL J.(2), LAVERGNE Y.(3), HEYMAN Y.(3),
RENARD JP.3, CHASTANT-MAILLARD S.1

(1) Unité de Biologie de la Reproduction, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 94704 MAISONS-ALFORT, France

(2) UCEA de Bressonvilliers, INRA, 91630 Leudeville, France

(3) Biologie du Développement et Biotechnologies, INRA, 78352 JOUY EN JOSAS, France

INTRODUCTION

Au cours de la folliculogenèse, l'ovocyte augmente de volume et accumule des réserves d'énergie, de protéines et de transcrits qui permettront d'assurer les premiers cycles du développement embryonnaire. Pour l'obtention d'embryons bovins par fécondation *in vitro*, la qualité des ovocytes joue un rôle déterminant mais l'importance de l'origine génétique des ovocytes est encore mal connue. Ce travail a été réalisé afin de comparer la qualité ovocytaire entre des vaches non apparentées.

1. MATERIEL ET METHODES

Des collectes répétées d'ovocytes ont été réalisées par ponction folliculaire échoguidée (OPU) après synchronisation des cycles sur six vaches Prim'Holstein (V1 à V6), de même âge, nées et élevées dans le même troupeau, au même stade de lactation, mais de père, mère, grand-père maternel différents. Les collectes ont été effectuées deux fois par semaine pendant 14 (période A), 12 (période B) et 6 (période C) semaines. Après maturation *in vitro*, la fécondation a été réalisée *in vitro* avec le sperme congelé de trois taureaux différents de très bonne fécondité *in vitro*. Le pouvoir fécondant de la semence a été préalablement testé sur des ovocytes d'abattoir. Un mâle différent a été utilisé par période (de race Prim'Holstein pour A et B, Normande pour C). Les embryons obtenus ont été cultivés *in vitro* pendant 8 jours sous atmosphère contrôlée à 39 °C et 5 % CO₂ dans l'air. Le nombre d'ovocytes récoltés, le taux de clivage à 48 h post FIV, le taux de blastocystes à 8 jours post FIV ont été mesurés. Les résultats des six vaches ont été comparés avec le logiciel SPSS (moyenne, intervalle de confiance, test de Student Neuman-Keuls).

2. RESULTATS

Chaque vache a subi 62 collectes d'ovocytes et a donné en moyenne par séance $4,84 \pm 0,31$ ovocytes (de 0 à 22), soit un total de 1707 ovocytes pour les trois périodes (225^{cd}, 445^a, 165^d, 289^{bc}, 178^d, 375^{ab} ovocytes pour les vaches V1 à V6 respectivement ; les exposants différents correspondent à une différence significative, $p < 0,05$). Le taux moyen de clivage a été de $79,2 \pm 3,0$ % avec une différence significative entre les vaches V4 et V5 ($73,0 \pm 8,0$ % vs $88,1 \pm 6,9$ % respectivement,

$p < 0,05$). Le taux moyen de blastocystes à J8 a été de $28,6 \pm 4$ % par vache, avec des extrêmes de 12,7 % et 50,4 %. Pour chacun des mâles utilisés, les vaches ont été classées selon les taux de blastocystes obtenus. L'analyse de la variance montre une variation significative du taux de blastocyste entre les vaches. Le classement des six vaches (tableau I) semble se maintenir pour les trois mâles utilisés.

Tableau I

Classement des vaches selon le taux de production *in vitro* de blastocystes, par ordre croissant. Les exposants différents au sein d'une même période indiquent des taux de blastocystes statistiquement différents ($p < 0,05$: test de Student Neuman-Keuls)

Période A / mâle 1	V4 ^a - V6 ^a - V3 ^{ab} - V2 ^b - V1 ^b - V5 ^c
Période B / mâle 2	V4 ^a - V3 ^a - V6 ^{ab} - V2 ^{ab} - V1 ^{ab} - V5 ^b
Période C / mâle 3	V4 ^a - V6 ^a - V2 ^{ab} - V1 ^{ab} - V3 ^{ab} - V5 ^b

3. DISCUSSION ET CONCLUSION

Les résultats de cette étude montrent que la «qualité» des ovocytes, mesurée par leur aptitude à assurer le développement embryonnaire *in vitro*, varie selon les vaches. Dans cette étude, nous avons utilisé des semences avec un haut pouvoir fécondant afin que le développement embryonnaire ne soit pas limité par l'aptitude à la fécondation du sperme ; les paillettes utilisées provenaient de la même collecte afin de réduire les variations entre paillettes. Nous avons donc mis en évidence un effet maternel significatif sur le taux de blastocystes produits *in vitro* qui semble indépendant d'une influence paternelle, bien que ces observations restent à confirmer sur des nombres d'animaux plus importants. La distinction de ces deux phénotypes, «bonne» et «mauvaise» productrices de blastocystes *in vitro*, nous permettra ensuite de mieux caractériser les facteurs ovocytaires qui leur sont liés.