

Production *in vitro* d'embryons bovins et taux de gestation après inhibition temporaire de la reprise de méiose

In vitro embryo production and pregnancy outcome after temporary inhibition of meiosis resumption

B. LE GUIENNE (1), L. CLEMENT (1), S. PONCHON (2), C. JOLY (2), C. GONZALEZ (2), P. EDE (3), A. MOREL (3), B. FLORIN (3), P. MERMILLOD (4), P. HUMBLLOT (3)

(1) UNCEIA Dpt R & D 13 rue Jouët 94700 Maisons Alfort

(2) Station UNCEIA - UCEAR Les Vesves 38300 Chateaufvillain

(3) OGER Embryons La Bossière BP 80 44130 Blain (4) INRA PRC, 37380, Nouzilly

INTRODUCTION

L'objectif de ce travail était de produire des ovocytes bovins de haute qualité après collecte par OPU pour augmenter la production d'embryons *in vitro* dans les races à petits effectifs. Le principe du système *in vitro* utilisé dans cet essai était de mimer les conditions rencontrées *in vivo* par une maturation de l'ovocyte en 2 étapes *i.e* blocage de la reprise de méiose puis levée de l'inhibition et maturation concomitante de l'ensemble de la population d'ovocytes afin d'uniformiser leur qualité avant la FIV.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. TRAITEMENT DES DONNEUSES D'OVOCYTES

Les génisses Parthenaises ont reçu 250 µg de FSH (Stimufol 50 % de la dose superovulante) en 5 injections décroissantes. L'OPU a été réalisée 6 h après la dernière injection de FSH et réalisée dans les mêmes conditions pour les vaches Vilard de Lans qui ont reçu 400 µg de FSH (Stimufol 80 % de la dose superovulante) en 5 injections décroissantes. Toutes les femelles ont subi au moins une 1^{ère} session avec maturation témoin suivie d'une session avec inhibition de méiose.

1.2. PRODUCTION D'EMBRYONS IN VITRO

La production d'embryons *in vitro* après maturation en deux étapes a au préalable été testée sur des lots d'ovocytes d'abattoir. Les ovocytes ont été cultivés pendant 5 h dans le milieu d'inhibition constitué de milieu 199 contenant 12,5 µM de roscovitine et 6,25 µM de butyrolactone I, préparé fraîchement ou stocké à -196°C. Les ovocytes ont été ensuite rincés trois fois puis mis en maturation 22h dans du milieu 199 supplémenté de SVF, FSH / LH, œstradiol et EGF. Ils ont ensuite été mis en fécondation suivant la méthode décrite par Parrish *et al.* (1986) pendant 18h avant d'être cultivés pendant 7 jours avant transfert en receveuse ou congélation.

2. RESULTATS

A partir des 194 ovocytes d'abattoirs témoins maturés 24 h

puis inséminés, 73 (37,6 %) se sont développés jusqu'au stade blastocyste. Dans le lot ayant subi une période d'inhibition de 5h (n = 146), les taux de développement embryonnaire ont été de 36 % (milieu frais) et de 37,9 % (milieu congelé).

Les résultats obtenus après collecte d'ovocytes par OPU dans les 2 races concernées sont présentés dans le tableau. Les pourcentages d'ovocytes se développant jusqu'au stade blastocyste ne sont pas différents pour les ovocytes subissant une maturation classique et ceux subissant une période d'inhibition (31,2 % vs 43,9 % pour les femelles Vilard de Lans ; 34,6 % vs 37,5 % pour les femelles Parthenaises respectivement). Le nombre d'embryons produits par session est supérieur après inhibition pour la race Vilard de Lans mais lié au nombre plus élevé d'ovocytes collectés. Pour cette race, le manque de receveuses disponibles a conduit à congeler les embryons surnuméraires (8 embryons dans le lot témoin et 8 dans le lot inhibition). Pour la race Parthenaise, le nombre d'embryons transférés par sessions est équivalent après maturation témoin ou inhibition (2,7 vs 2,8). Le taux de gestation observé n'est pas significativement différent dans le groupe témoin (5 / 8) et dans le groupe après inhibition (7 / 22).

3. DISCUSSION / CONCLUSION

Ces résultats confirment ceux de Ponderato *et al.* (2002) ne montrant pas d'augmentation du taux de développement embryonnaire après inhibition de reprise de la méiose. En revanche, les rendements de production d'embryons et les taux de gestation obtenus permettent d'envisager plus de souplesse dans l'organisation des chantiers d'OPU en ferme.

Ce travail a été réalisé dans le cadre du programme Ex Ovo Omnia n°QLK3-CT1999-00104 supporté par la CEE.

Parrish J.J., Susko-Parrish J.L., Leibfried-Rutledge M.L., Critser E.S., Eyestone W.H., First N.L., 1986. *Theriogenology*, 25, 591-600

Ponderato N., Crotti G., Turini P., Duchi R., Galli C., Lazzari G. 2002 *Mol. Reprod Dev* 62, 513-518

Tableau 1 : Résultats de production d'embryons *in vitro* par femelle et par session OPU-FIV dans les races Vilard de Lans et Parthenaise après maturation en une (témoin) ou deux étapes (inhibition).

Race	Traitement	N sessions	collectés	inséminés	blastocystes	Rendement*	Transférés frais	Gestation
Vilard de Lans	Témoin	4	15,8 ± 5,5	12 ± 5,6	3,8 ± 4,9	31,2 % (15/48)	0	-
	Inhibition	4	24 ± 15,3	20,5 ± 11,8	9 ± 6,8	43,9 % (36/82)	2 ± 2,2	3/8
Parthenaise	Témoin	3	13 ± 4	8,7 ± 5	3 ± 1	34,6 % (8/26)	2,7 ± 0,6	5/8
	Inhibition	5	12,2 ± 5,7	9,7 ± 3,9	3,6 ± 2,1	37,5 % (18/48)	2,8 ± 1,9	4/14

* % blastocystes / ovocytes inséminés