

# Maturation ovocytaire et développement embryonnaire *in vitro* chez des génisses Prim'Holstein sélectionnées pour un QTL de fertilité femelle situé sur le chromosome 3

## Oocyte maturation and *in vitro* embryo development in heifers selected for a QTL of female fertility located on the chromosome 3

COYRAL-CASTEL S. (1,2), UZBEKOVA S. (1), TOUZE J-L. (1), DUPONT M. (3), RAME C. (1), DUPONT J. (1)

(1) INRA, UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, F-37380 Nouzilly

(2) Institut de l'élevage, Département GIPSIE, 149 rue de Bercy, F-75595 Paris cedex 12

(3) INRA, Unité Expérimentale de Physiologie Animale de l'Orfrasière, F-37380 Nouzilly

### INTRODUCTION

Des vaches Prim'Holstein ont été sélectionnées pour leur haplotype homozygote « fertil+ » ou « fertil- » pour un QTL de fertilité femelle situé sur le chromosome *Bos Taurus* 3 (QTL-Fert-F-BTA3). Ce QTL est impliqué dans les échecs précoces de gestation (Guillaume *et al.*, 2007). Plusieurs paramètres liés à la fertilité de ces femelles ont été étudiés à l'état de génisse mais aussi au cours de la première lactation. Il ressort de cette caractérisation phénotypique que les primipares « fertil+ » présentent un meilleur taux de réussite après la 1<sup>ère</sup> IA (70% vs 39% d'échographies positives 35 jours après la première IA,  $p=0,05$ ) (Coyral-Castel *et al.*, 2011). Les vaches ne présentant pas de différence du nombre de follicules, du nombre de vagues folliculaires ni de durée du cycle, et les échecs de gestation étant précoces, nous avons supposé une différence de qualité ovocytaire ou embryonnaire entre les deux haplotypes. Pour tester cette hypothèse nous avons analysé des ovocytes prélevés par ovum pick-up (OPU) sur des génisses « fertil+ » et « fertil- ».

### 1. MATERIEL ET METHODES

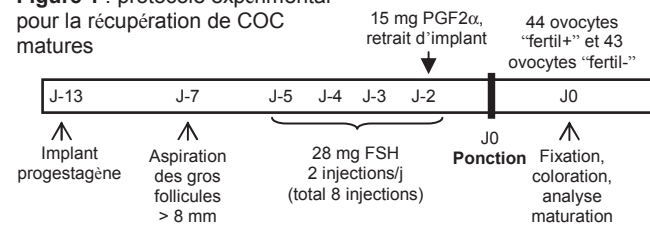
#### 1.1. ANIMAUX

Huit génisses Prim'Holstein, âgées de 16 à 20 mois, quatre portant l'haplotype favorable « fertil+ » et quatre portant l'haplotype défavorable « fertil- » au QTL-Fert-F-BTA3, ont été soumises à 2 reprises à 2 sessions d'OPU après stimulation ovarienne.

#### 1.2. PREMIERE SESSION D'OPU

La première session d'OPU permet de récupérer des complexes ovocyte-cumulus (COC) maturés *in vivo* (matCOC). Le protocole expérimental est détaillé dans la figure 1. Le jour de la ponction, les ovocytes sont séparés des cellules du cumulus qui les entourent, fixés sur lame puis la chromatine est colorée au Hoechst. Le stade de maturation nucléaire de ces ovocytes est alors déterminé.

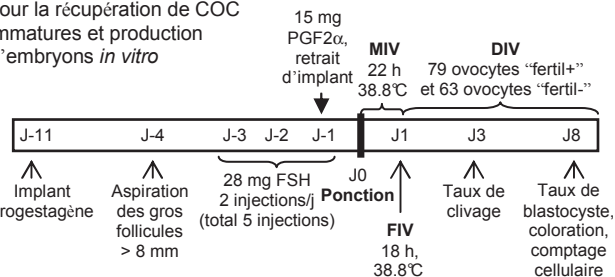
**Figure 1 :** protocole expérimental pour la récupération de COC matures



#### 1.3. DEUXIEME SESSION D'OPU

Cette deuxième session d'OPU a pour but de récupérer des COC immatures (immCOC). Le protocole expérimental est détaillé dans la figure 2. Après la ponction, les immCOC sont mis en maturation *in vitro* (MIV) puis en fécondation *in vitro* (FIV). Les zygotes sont alors placés en développement *in vitro* (DIV). Le taux de clivage (embryons clivés/ovocytes en DIV) est relevé deux jours après la FIV et le taux de blastocystes (blastocystes/embryons clivés) à sept jours après la FIV. Les blastocystes sont colorés au Hoechst et le nombre de cellules est compté dans chaque embryon.

**Figure 2 :** protocole expérimental pour la récupération de COC immatures et production d'embryons *in vitro*



### 2. RESULTATS

#### 2.1. MATURATION *IN VIVO* DES OVOCYTES

Les ovocytes des matCOC des génisses « fertil+ » et « fertil- » ont été classés selon leur état de maturation. Le pourcentage d'ovocytes atrétiques et matures est similaire entre les femelles des deux groupes. En revanche, chez les génisses « fertil- », le pourcentage d'ovocytes immatures est plus élevé (34,9 % vs 18,2 %, chi deux  $p=0,077$ ) et le pourcentage d'ovocytes en transition métaphase I/ métaphase II est significativement inférieur (13,9 % vs 38,6 %, chi deux  $p=0,009$ ) à ceux des « fertil+ ».

#### 2.2. TAUX DE DEVELOPPEMENT *IN VITRO*

Après fécondation des ovocytes des immCOC des génisses « fertil+ » et « fertil- », aucune différence du taux de clivage ni du taux de blastocystes (54,4 % vs 47,6 % et 44,2 % vs 36,7 %, chi deux, respectivement) n'est constatée. Cependant, le nombre moyen de cellules par blastocyste est significativement plus élevé ( $105,9 \pm 5,8$  vs  $67,9 \pm 6$ , test  $t$   $p=0,0002$ ) dans les embryons des femelles « fertil+ » ( $n=19$ ) que dans ceux des femelles « fertil- » ( $n=11$ ).

### 3. DISCUSSION

Notre étude a mis en évidence une maturation ovocytaire *in vivo* plus lente chez les génisses « fertil- » comparées aux génisses « fertil+ », ce qui peut refléter le moindre potentiel au développement des femelles « fertil- ». De plus, le nombre de cellule par blastocyste plus élevé chez les génisses « fertil+ » reflète la meilleure qualité des embryons après production *in vitro* de ces dernières, ce qui confirme la meilleure compétence au développement de leurs ovocytes.

### CONCLUSION

La qualité de l'ovocyte des génisses « fertil- » est moins bonne que celle des génisses « fertil+ », ce qui pourrait expliquer leur moins bon taux de réussite après la 1<sup>ère</sup> IA.

Les auteurs remercient l'ANR Genanimal et Apis-Gene pour le financement du projet, l'équipe ruminant de l'INRA de Nouzilly et C. Guyader-Joly pour le protocole d'OPU.

Guillaume, F., Gauthier, M., Ben Jemaa, S., Fritz, S., Eggen, A., Boichard, D., Druet, T., 2007. Anim. Genet., 38, 72-74  
Coyral-Castel S., Ramé C, Monniaux D, Fréret S, Fabre-Nys C, Fritz S, Monget P, Dupont F, Dupont J., 2011. Theriogenology, 75:1239-1250.