

ÉTUDE DU MAINTIEN DE LA GESTATION ET DE LA SURVIE EMBRYONNAIRE CHEZ LA VACHE APRÈS SUPEROVULATION, OVARIECTOMIE ET APPORT EXOGENE DE PROGESTÉRONE

M.-J. BOSC et F. DU MESNIL DU BUISSON
avec la collaboration technique d'Y. DE FONTAUBERT,
A. LOCATELLI et Agnès VADON

*Institut national de la Recherche agronomique
Laboratoire de Physiologie de la Reproduction, 37 - Nouzilly, France*

Après superovulation, chez la Vache, on observe une mortalité embryonnaire importante. Elle peut être due à des facteurs qui interfèrent avec la fécondation des œufs pondus ou avec le développement normal de l'œuf fécondé. Or, THIBAUT (1967), étudiant le développement de l'œuf de vache, a montré qu'il demeure fécondable même 24 h après l'ovulation, sans anomalie apparente. On peut donc penser qu'après saillie, il y a peu de pertes d'œufs au moment de la fécondation. Quant au développement normal de l'œuf fécondé, il met en jeu un certain nombre de facteurs qui peuvent être liés aux conditions hormonales créées par le fonctionnement des ovaires en réponse à un traitement de superovulation. En effet, les travaux de WINTENBERGER-TORRES (1967) et WINTENBERGER-TORRES et ROMBAUTS (1968) sur la Brebis, ont montré qu'il y avait une relation entre le développement des embryons, et la teneur en progestérone des corps jaunes. Après le onzième jour de la gestation, on observe un effet nocif des hauts niveaux de progestérone sur la survie embryonnaire, soit après superovulation, soit avec apport exogène de progestérone. Cette relation a été mise en évidence après transplantation d'œufs témoins sur brebis superovulées.

Donc on pouvait supposer que la formation de nombreux corps jaunes affecte la survie des embryons chez la vache comme chez la Brebis. Afin d'éliminer les causes possibles de mortalité dues au fonctionnement anormal de l'ovaire après superovulation, nous avons étudié les possibilités de maintien de la gestation sur vaches superovulées castrées peu de jours après la saillie, et supplémentées en progestérone.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Cinquant-huit vaches, de race *Frisonne Pie-Noire*, primipares, ont été mises en expérience après tarissement et observation d'au moins deux cycles réguliers. Quatre lots ont été constitués (tabl. 1).

TABLEAU I

Répartition des animaux suivant leur traitement

Lot	Nombre vaches	Traitement de superovulation	Progestérone exogène/100 kg P.V.	G 60 (\pm 2 j)
T	9		60 mg/j	Hystérectomie (5) Abattage (4)
A	17	FGA + PMSG	60 mg/j	Abattage
B	17	PMSG + HCG	60 mg/j	Abattage
C	15	PMSG + HCG	120 mg/j	Hystérectomie (10) Abattage (5)

(G₀ jour de saillie).

a) Traitements de superovulation.

Les vaches du lot A ont reçu une éponge vaginale imprégnée de 200 mg d'acétate de fluorogestone (FGA-SC. 9 880). Cette éponge, placée le 15^e jour du cycle (15 ± 1) fut maintenue en place pendant 21 jours. Deux jours avant son retrait, 2 000 UI de PMSG (Organon) ont été injectés par voie intramusculaire.

Les vaches des lots B et C ont reçu 2 400 UI de PMSG (Organon) par voie intramusculaire, 4 jours avant la date présumée des chaleurs et 1 500 UI d'HCG en injection intraveineuse le jour de l'œstrus induit.

b) Saillie.

Toutes les vaches ont été saillies (jour de saillie G₀), le jour de l'œstrus induit pour celles des lots A, B et C, à un œstrus naturel pour celles du lot T. Cinq vaches des lots A, B et C revinrent en chaleur (split-œstrus) soit 1 jour (2) soit 3 jours plus tard (4) : elles furent alors saillies à nouveau.

c) Ovariectomie.

Elle a été pratiquée sur toutes les vaches après 2 jours de jeûne, sous anesthésie générale, 6,7 ou 8 jours après la saillie. Les ovaires ont été prélevés par laparotomie, après incision ventrale médiane transmammarie ; le nombre et le poids des corps jaunes ont été relevés immédiatement.

d) Supplémentation hormonale.

La progestérone en solution huileuse (20 g/litre d'huile d'olive neutralisée et stérilisée) fut injectée quotidiennement en 2 sites opposés, dans le collier des animaux chaque matin entre 8 et 9 heures. Débutant la veille de l'ovariectomie, ce traitement fut poursuivi jusqu'à G₆₀, jour d'abattage ou d'hystérectomie. Les doses utilisées, 60 mg (lots T, A et B) et 120 mg (lot C) par 100 kg de poids vif, ont été ajustées au poids des animaux ; pour 44 d'entre eux, la dose fut réajustée 30 jours après castration.

e) *Recueil des données.*

A G₆₀ (± 2), le tractus génital fut récupéré de façon à relever :

— l'état, le poids, les mensurations, les battements cardiaques (test de survie) du ou des fœtus;

— l'état des annexes fœtales, leur poids et le volume des liquides fœtaux;

— l'état de l'utérus, le poids de chaque corne, le nombre et le poids des cotylédons maternels, le nombre des caroncules.

Lorsque les embryons ont été retrouvés morts, leurs caractéristiques ont été comparées aux données de WINTERS *et al.* (1953), d'HAFEZ et RAJAKOSKY (1966), afin d'estimer la date de leur mort.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

A. — *Taux de gestation*

A la suite des travaux de MAC DONALD *et al.* (1952-1953), de RAESIDE et TURNER (1950) d'ESTERGREEN *et al.* (1967), on sait que le corps jaune est nécessaire au maintien de la gestation chez la Vache. Or, dans notre expérience, 66,6 p. 100 des vaches du lot T ont été gestantes avec la dose journalière de 60 mg de progestérone par 100 kg de poids vif. On peut penser que cet apport exogène de progestérone est suffisant pour maintenir une gestation normale. Ce résultat est d'ailleurs comparable à celui qu'a rapporté HAWK *et al.* (1963) dans des conditions expérimentales similaires, sur vaches non superovulées.

TABLEAU 2

Survie embryonnaire et maintien de la gestation chez la Vache après superovulation, ovariectomie et apport exogène de progestérone

Lots	Nombre de vaches	Vaches gestantes à 60 jours (%)	CJ/vache (1)	P. 100 embryons vivants par rapport au nombre de CJ	
				Vivants à 20 j	Vivants à 60 j
T	9	66,6 (6)	1 ± 0,0	66,6 (6)	55,5 (5)
A	17	64,7 (14)	3,8 ± 0,7	43,9 (29)	22,7 (15)
B	17	70,5 (12)	8,5 ± 1,9	31,0 (45)	10,3 (15)
C	15	60,0 (9)	6,4 ± 0,9	35,4 (34)	9,3 (9)

() Nombre.

(1) Moyenne ± erreur standard.

Avec le même niveau de supplémentation hormonale, mais après induction de superovulation, les taux de gestation ne sont pas significativement différents de celui des témoins ; 64,7 p. 100 des vaches ont été gestantes dans le lot A, 70,5 p. 100 dans le lot B ; ces deux résultats non différents (P > 0,05) montrent que la technique

de superovulation n'a pas d'influence sur la proportion de vaches gestantes, 60 jours après la saillie, dans nos conditions expérimentales.

De plus, le niveau de supplémentation hormonale ne semble pas intervenir. En effet, 70,5 p. 100 des vaches sont gestantes dans le lot B avec 60 mg de progestérone/jour par 100 kg de poids vif, et 60,0 p. 100 dans le lot C avec 120 mg/jour par 100 kg de poids vif, ce qui n'est pas significativement différent ($P > 0,05$). Ceci est dû vraisemblablement aux conditions de supplémentation choisies ; le site d'injection, le solvant employé, le taux de résorption lié à chaque animal, ne permettent pas de mettre en évidence des différences pour les quantités de progestérone utilisées. En effet, une étude récente sur vaches castrées (IMORI, 1967) montre qu'il existe des différences importantes des taux plasmatiques en progestérone après une injection sous-cutanée de ce stéroïde, en solution huileuse.

Il est difficile de comparer ces résultats à ceux qui ont été rapportés dans un article précédent (TESTART *et al.*, 1969) et qui concernaient des vaches non castrées recevant des doses de PMSG plus faibles. Cependant on peut remarquer que les résultats sont peu différents chez les vaches ayant subi un traitement de superovulation ne comportant pas l'emploi de progestagène (86,2 p. 100 de gestantes pour TESTART *et al.*, contre 70,5 p. 100 pour le lot B). Au contraire, après le traitement progestagène PMSG, les différences sont nettes et en faveur des vaches castrées et supplémentées. En effet, 64,7 p. 100 des vaches du lot A sont gestantes alors qu'il n'y en avait que 42,0 p. 100 chez les vaches non castrées, dans les mêmes conditions d'injection de PMSG. Le fait de contrôler peu de temps après la saillie un facteur hormonal par apport exogène de progestérone et castration, a augmenté le nombre de vaches gestantes après traitement progestagène-PMSG.

B. — Taux de survie embryonnaire

Supposant que le nombre de corps jaunes représente le nombre d'œufs pondus, nous avons exprimé globalement le nombre d'embryons vivants en fonction de ceux-là (tabl. 2).

Au vingtième jour de gestation, les survies embryonnaires ainsi obtenues sont faibles et peu différentes entre les lots A, B et C. Pour le lot A, avec traitement FGA-PMSG, ce taux égal à 43,9 p. 100 est supérieur de 9 p. 100 à celui que nous avons observé (TESTART *et al.*, 1969) après un traitement de superovulation identique, mais sans castration ni apport exogène de progestérone.

Au soixantième jour de gestation, ces taux de survie embryonnaire sont plus faibles qu'au vingtième jour, quel que soit le mode de superovulation envisagé, ils sont peu différents suivant le niveau de supplémentation hormonale (lots B et C). Par contre, il est plus élevé ($P < 0,05$) pour le lot A que pour le lot B.

Pour étudier l'influence du nombre d'ovulations sur la survie embryonnaire, nous avons regroupé les lots A, B et C et nous avons exprimé les taux de survie par unité, ovaire-corne utérine ipsilatérale (tabl. 3) il apparaît alors que le taux de survie, au vingtième jour de gestation, n'est pas lié, dans nos conditions expérimentales, au nombre d'œufs pondus ($P > 0,05$). Par contre, au soixantième jour, il subit une chute d'autant plus importante que le nombre d'ovulations par ovaire est plus élevé. On observe donc, une mortalité embryonnaire tardive qui est due à une surpopulation utérine. Ainsi lorsque le nombre des embryons excède quatre par utérus, ils sont

pratiquement tous morts au soixantième jour de gestation (tabl. 4). Lorsqu'ils sont 3 ou 4, cet effet de surpopulation se manifeste déjà. Notons que dans les treize cas ainsi définis, nous avons observé seulement 3 fois la présence simultanée d'embryons morts ou vivants.

TABLEAU 3

Survie embryonnaire dans une corne utérine suivant le nombre d'ovulation sur l'ovaire ipsilatéral
(Lots A + B + C)

Corps jaunes par ovaires	Nombre de cas	P. 100 d'embryons vivants dans la corne utérine ipsilatérale	
		à 20 jours	à 60 jours
1	22	45,4 (10)	36,3 (8)
2 ⁽¹⁾	14	35,7 (10)	21,4 (6)
3	13	41,0 (16)	20,5 (8)
4 ⁽¹⁾	8	56,2 (18)	18,7 (6)
5	13	29,2 (19)	9,2 (6)
≥ 6	8	41,8 (23)	3,6 (2)

⁽¹⁾ 1 cas de migration utérine.

() Nombre d'embryons.

TABLEAU 4

Effet du « peuplement » utérin sur la survie embryonnaire, au soixantième jour de la gestation, après superovulation, castration et apport exogène de progestérogène

Lots	Nombre d'embryons par utérus	1 ou 2	3 ou 4	5 et plus
A et B	Nombre de vaches	9	7	7
	Nombre d'embryons morts	0 (0,0)	9 (37,5)	35 (94,5)
C	Nombre de vaches	1	6	2
	Nombre d'embryons morts	0 (0,0)	13 (61,9)	12 (100,0)
Total	Nombre de vaches	10	13	9
	Nombre d'embryons morts	0 (0,0)	22 (48,9)	47 (95,9)

() Pourcentage d'embryons morts par rapport au nombre total d'embryons présents.

Lots A et B 60 mg de progestérogène/jour/100 kg poids vif.

Lot C 120 mg de progestérogène/jour/100 kg poids vif.

Dans nos conditions expérimentales, une dose suffisante de progestérone permet la survie d'un ou plusieurs embryons. Ce résultat peut être rapproché de celui de TANABE (1966) qui observait six cas de maintien de gestation double après énucléation d'un seul corps jaune et cela à différents moments de la gestation.

Après superovulation, la survie embryonnaire est très affectée et le contrôle d'un facteur hormonal par castration peu de jours après saillie et par apport extérieur de progestérone, n'améliore apparemment pas cette survie. On peut supposer que la qualité des œufs pondus, leurs conditions de passage dans l'oviducte et d'accueil dans l'utérus peuvent intervenir sur le développement précoce de l'œuf. De plus, l'existence d'une mortalité embryonnaire, au moment du passage à la placentation cotylédonnaire, liée au nombre d'embryons présents, suggère l'existence d'une compétition aiguë de nutrition ou de place dès le début de la gestation.

RÉSUMÉ

Après superovulation chez la Vache, on observe une mortalité embryonnaire élevée. On peut supposer qu'elle est liée au niveau de production des stéroïdes ovariens comme cela a été montré chez la Brebis. Pour vérifier cette hypothèse, la survie embryonnaire a été étudiée sur 58 vaches *Frisonnes Pie-Noire*, dont 49 ont été superovulées suivant deux techniques : l'une utilisant PMSG + HCG, l'autre couplant l'injection de PMSG avec l'utilisation d'un progestagène (FGA). Tous les animaux ont été castrés 5 à 8 jours après saillie ; ils ont tous reçu un apport journalier de progestérone par voie intramusculaire : 60 ou 120 mg par 100 kg de poids vif selon les lots. Ils ont été abattus au 60^e jour de gestation. Lorsque des embryons ont été retrouvés morts, la date de leur mort a été estimée d'après différentes caractéristiques.

A l'abattage, 60,0 à 70,5 p. 100 des vaches étaient gestantes.

Au 20^e jour de gestation, sur les vaches ayant subi un traitement de superovulation, le nombre d'embryons vivants ne semble pas lié au taux d'ovulation, il représente 30 à 56 p. 100 des corps jaunes.

Par contre, au 60^e jour de gestation, le nombre d'embryons vivants dépend du nombre d'embryons présents dans l'utérus ; lorsque ce nombre excède 4, on ne retrouve que des embryons morts.

Ainsi le contrôle du niveau de progestérone après castration n'améliore pas de façon probante la survie embryonnaire chez la Vache superovulée, bien que ce contrôle permette le développement d'un nombre limité d'embryons.

SUMMARY

STUDY OF PREGNANCY MAINTENANCE AND EMBRYONIC SURVIVAL, IN THE COW AFTER SUPEROVULATION, OVARIECTOMY AND EXOGENOUS SUPPLY OF PROGESTERONE

In the cow a high embryonic mortality may be observed after superovulation. As has been shown in the ewe, this may be related to the production level of ovarian steroids. In order to check this hypothesis, embryonic survival was studied in 58 *French Friesian* cows, 49 of which were superovulated using two techniques :

— The first technique used an I. M. injection of 1,600 I. U. of PMSG four days before the presumed date of œstrus, followed by an I. V. injection of 1,500 I. U. of HCG.

— The other one employed an I. M. injection of 1,600 I. U. of PMSG twodays before the withdrawal of a vaginal sponge impregnated with 200 mg of fluorogestone acetate (S C 9 880) that is after 21 days of progestin treatment. All the animals were castrated six to eight days after mating. They all received a daily supply of progesterone by the I. M. route which was dosed

at 60 or 120 mg per 100 kg of live body weight according to lots. They were slaughtered on day 60 of pregnancy. The death date of dead embryos was estimated.

At slaughtering, 60-70.5 p. 100 of the cows were pregnant. On day 20 of pregnancy, the number of live embryos did not seem to be related to ovulation rate in cows which received a superovulation treatment. It represented 30-56 p. 100 of the *corpora lutea*. On the other hand, on day 60 of pregnancy, the number of live embryos depended on the number of embryos present in the uterus. When that number was greater than 4, only dead embryos were found.

Thus, the control of progesterone level after castration does not seemingly improve embryonic survival in the superovulated cow, although that control may permit the development of a limited number of embryos.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ESTERGREEN V. L. *et al.*, 1967. Effect of ovariectomy on Pregnancy maintenance and parturition in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **50**, 1293-1295.
- HAFEZ E. S. E., RAJAKOSKI E., 1966. Placental and fetal development during multiple pregnancy. *Anat. Rec.*, **150**, 303-316.
- HAWK H. W. *et al.*, 1963. Embryo survival in first service and repeat breeder cattle after ovariectomy and hormone therapy. *J. Dairy Sci.*, **46**, 1397-1401.
- IMORI T., 1967. The fate of progesterone in the peripheral blood following subcutaneous injection in cows and an ewe. *Jap. J. Vet. Sci.*, **29**, 289-300.
- MAC DONALD L. E., NICHOLS R. E., McNUTT S. H., 1952. Studies on *corpus luteum* ablation and progesterone replacement therapy during pregnancy in the cow. *Am. J. Vet. Res.*, **13**, 446-451.
- MAC DONALD L. E., McNUTT S. H., NICHOLS R. E., 1953. On the essentiality of the bovine *corpus luteum* of pregnancy. *Am. J. Vet. Res.*, **14**, 539-541.
- RAESIDE J. I., TURNER C. W., 1950. Preliminary report on the role of progesterone in the maintenance of pregnancy in the cow. *J. Dairy Sci.*, **33**, 382.
- TANABE T. Y., 1966. Margin of safety of ovarian progesterone in maintenance of single and twin pregnancies in dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, **25**, 931 (Abst.).
- TESTART J., BOSC M. J., du MESNIL du BUISSON F., 1968. Étude de la survie embryonnaire après induction de superovulation chez la Vache. *VI^e Cong. Int. Reprod. anim. Ins. artif.*, **1**, 479-482.
- THIBAUT C., 1967. Analyse comparée de la fécondation et de ses anomalies chez la Brebis, la Vache et la Lapine. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **7**, 5-23.
- WINTENBERGER-TORRES S., 1967. Étude de la migration tubaire des œufs et de leur segmentation chez la Brebis. Thèse Univ. Paris, n° C. N. R. S. A O., 1493.
- WINTENBERGER-TORRES S., ROMBAUTS P., 1968. Relation entre la mortalité embryonnaire et la quantité de progesterone sécrétée chez la Brebis. *VI^e Cong. Int. Reprod. anim. Ins. artif.*, **1**, 491-494.
- WINTERS L. M., GREEN W. W., COMSTOK R. E., 1953. Prenatal development of the bovine. *Minnesota Techn. Bull.*, **151**, 43.