

## La maturation des ovocytes et la fécondation *in vitro* chez les animaux domestiques de ferme

Nicole Crozet

Les techniques de maturation (MIV) et de fécondation *in vitro* (FIV) ont été développées au cours de la dernière décennie chez les mammifères d'élevage afin de pouvoir produire, de façon régulière et à faible coût, des œufs destinés à la recherche et à des applications d'intérêt agronomique. Ces techniques sont notamment indispensables pour le développement des biotechnologiques appliquées à l'embryon. Ainsi, la multiplication *in vitro* d'embryons identiques, par clonage, nécessite l'obtention d'un grand nombre d'ovocytes matures, qui, après énucléation, servent de cytoplasmes receveurs pour des noyaux de blastomères. La production d'animaux transgéniques requiert des œufs fécondés contenant deux pronoyaux pour l'injection de gènes dans l'un deux. Or, chez les mammifères de ferme, il est difficile d'obtenir *in vivo*, par les méthodes classiques (superovulation et insémination), un grand nombre d'ovocytes matures et d'œufs fécondés à un stade précis de développement. En effet, la réponse aux traitements de superovulation est très variable d'une femelle à l'autre (vache, brebis) et pour un même animal, d'un traitement à l'autre en cas de stimulations répétées. En outre, lors d'ovulations multiples, celles-ci peuvent s'étaler sur plusieurs heures, ce qui rend impossible la collecte de populations d'œufs se trouvant à un stade précis.

Les techniques de MIV et de FIV, par contre, permettent une production massive à faible prix de revient (en récupérant, par exemple, des ovaires dans un abattoir, on peut disposer d'un grand nombre d'ovocytes immatures qui pourront être maturés et fécondés *in vitro*), ainsi qu'une sélection de populations d'œufs aux stades requis pour des applications ultérieures.

La FIV, à partir d'ovocytes ovulés, a été réalisée chez le bovin en 1982 [1], la chèvre en 1985 [2], le mouton et le porc en 1986 [3] et le cheval en 1990 [4]. La FIV d'ovocytes maturés *in vitro* a été obtenue chez le mouton et le bovin en 1986 [3,5], le porc en 1989 [6] et la chèvre en 1991 [7]. La mise au point de ces techniques a largement bénéficié des connaissances acquises ces dernières années dans le domaine de la maturation finale des gamètes et la fécondation.

### Maturation de l'ovocyte

Tout au long de sa croissance à l'intérieur du follicule, l'ovocyte est arrêté en prophase de la première division méiotique. En réponse à la décharge préovulatoire d'hormones gonadotropes, l'ovocyte reprend sa méiose caractérisée par : la rupture du noyau (vésicule germinative), la condensation des chromosomes et leur alignement sur le fuseau de Métaphase de première division méiotique (MI), leur migration aux pôles du fuseau (Anaphase I, Télophase I), l'expulsion du premier

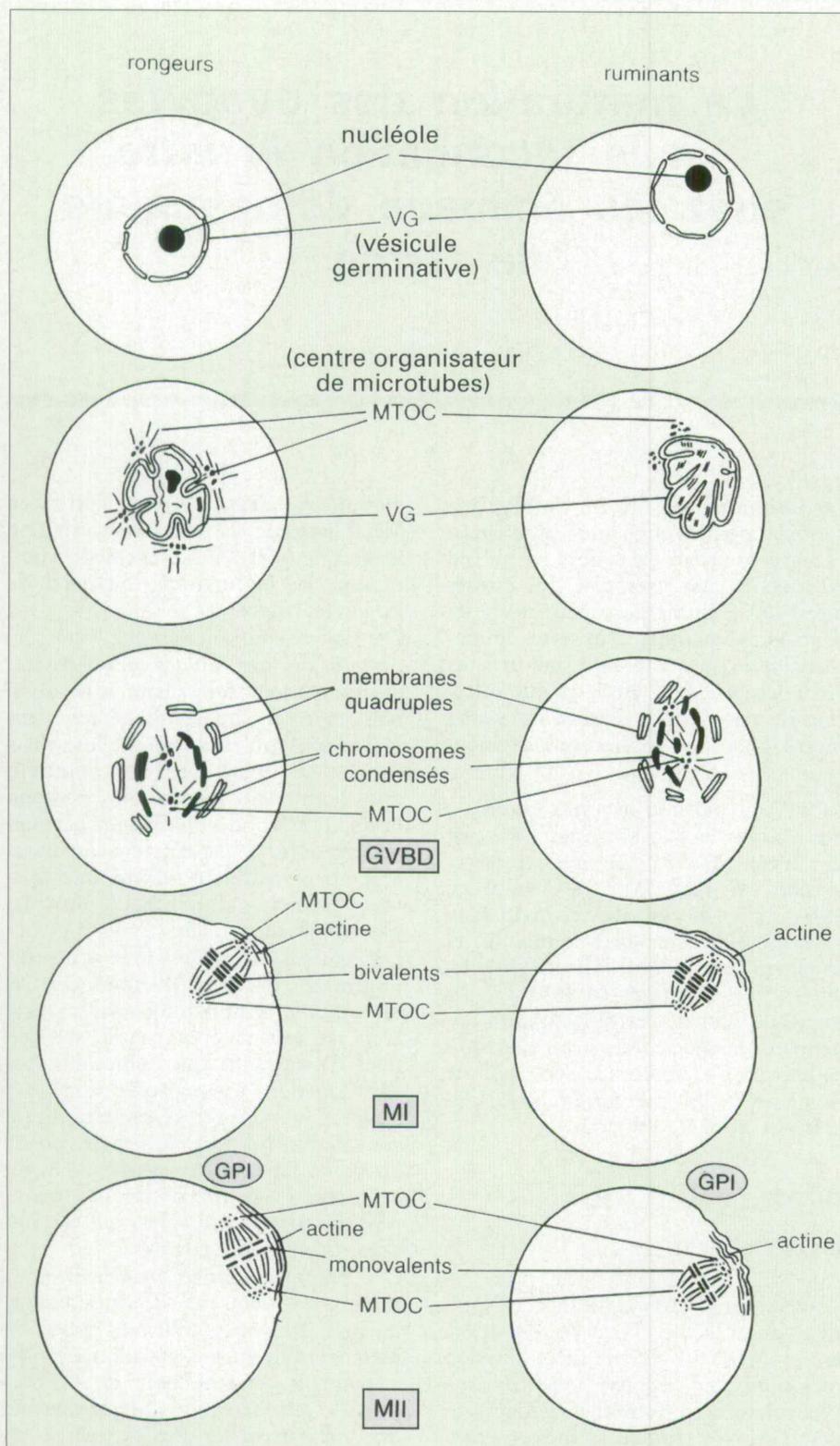
globule polaire (GPI) et l'arrêt en Métaphase de la deuxième division méiotique (MII). Ces événements constituent la maturation nucléaire de l'ovocyte (*figure 1*).

On sait depuis longtemps que les ovocytes de mammifères retirés de leur environnement folliculaire sont capables de reprendre spontanément leur méiose *in vitro*. Cependant, les ovocytes qui mûrissent dans des conditions non optimales, même s'ils évoluent jusqu'en MII, ne se fécondent pas normalement et n'assurent pas un développement ultérieur. Cette incompetence provient d'une maturation cytoplasmique incomplète.

Les cellules folliculaires jouent un rôle important dans l'acquisition de la maturation cytoplasmique ovocytaire. L'ovocyte est en effet couplé aux cellules du cumulus qui l'entourent par des jonctions perméables ; celles-ci assurent le transport de molécules provenant du follicule à l'intérieur de l'ovocyte. Ce couplage persiste pendant les premières heures de la maturation, puis disparaît ensuite lors de l'expansion du cumulus (*figure 2*).

Les premiers systèmes utilisés pour maturer *in vitro* les ovocytes consistaient à cultiver les follicules entiers en présence d'hormones gonadotropes [8]. Cependant, compte tenu de la lourdeur de cette technique, des recherches ont été entreprises afin de mettre au point des systèmes efficaces pour maturer les ovocytes en dehors de leur follicule. Une technique de co-culture des ovocytes entourés de leur cumulus (COCs) avec des cellules folliculaires (granulosa), en présence de FSH, LH, d'œstradiol 17 $\beta$  et de sérum de veau

N. Crozet : Unité de biologie de la fécondation, Station de physiologie animale, INRA 78352 Jouy-en-Josas Cedex, France.



▲ **Figure 1.** Différentes étapes de la maturation méiotique de l'ovocyte [30]. GVBD : rupture de la VG ; MI : métaphase de la première division ; MII : métaphase de la deuxième division ; GPI : premier globule polaire

**Figure 1.** Stages of oocyte meiotic maturation. GVBD: germinal vesicle breakdown (VG) ; MI: metaphase of the first division ; MII: metaphase of the second division ; GPI: first polar body.

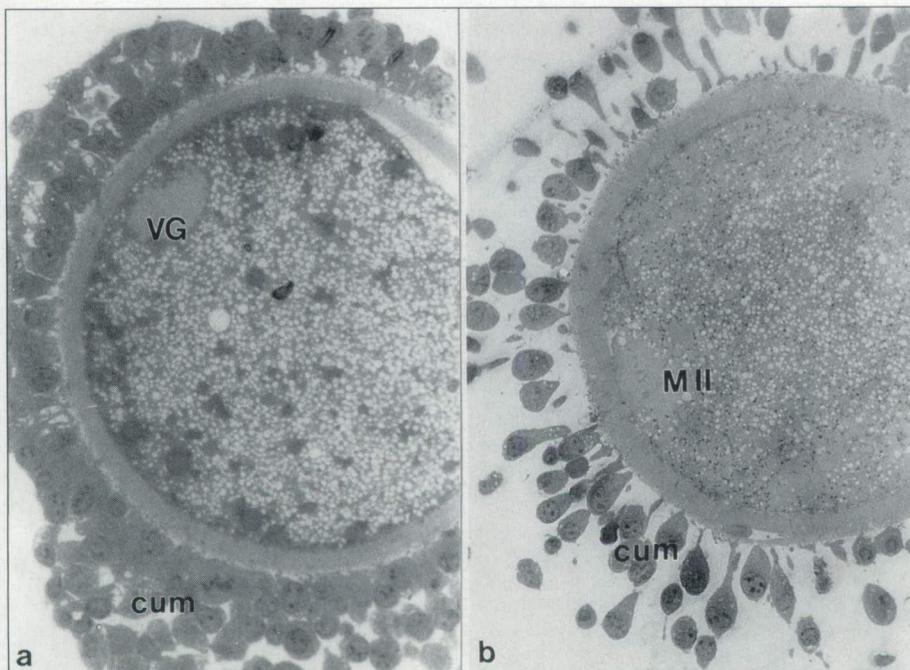
foetal a été mise au point chez la brebis [9], puis adaptée à la vache [5] et à la chèvre [10]. Grâce à cette technique, 55 % des ovocytes de brebis se développent après fécondation jusqu'au stade blastocyste, alors que seulement 1,8 % des ovocytes maturés en l'absence de cellules de granuloza mais en présence d'hormones atteignent ce stade [9] ; ce qui montre l'effet bénéfique de la co-culture avec les cellules de la granuloza.

Différents facteurs peuvent influencer les résultats de la MIV et notamment la qualité des COCs mis en culture. Les ovocytes folliculaires sont souvent obtenus à partir d'ovaires prélevés à l'abattoir sur des femelles qui se trouvent à un stade quelconque du cycle œstrien. Les populations folliculaires de ces ovaires sont hétérogènes et une sélection sévère s'impose pour n'utiliser que les follicules de taille moyenne (généralement 3-6 mm), non atreétiques. La sélection des COCs isolés des follicules s'effectue également, sur la base de critères morphologiques ; les meilleurs taux de maturation et de développement précoce sont obtenus avec des ovocytes entourés d'un cumulus compact (figure 2). D'autres facteurs, comme la température d'incubation, jouent également un rôle important dans la maturation de l'ovocyte. Une température voisine de la température corporelle basale (39°C) est optimale pour les espèces domestiques.

La maturation des ovocytes s'obtient *in vitro* en 18 à 21 h chez les bovins, 24 h chez les ovins, 27h chez les caprins et 44 h chez les porcins.

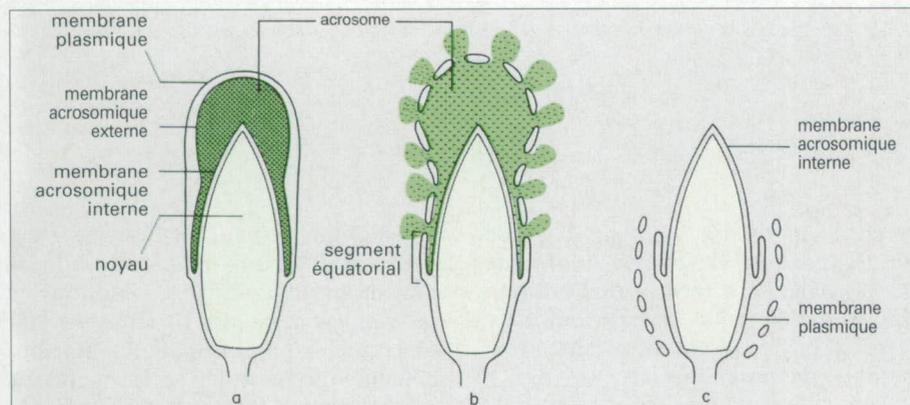
## Capacitation des spermatozoïdes et fécondation

Les spermatozoïdes éjaculés de mammifères ne sont pas directement aptes à féconder. Ils le deviennent après passage dans les voies génitales femelles, où ils subissent des modifications membranaires qui constituent la capacitation. Les mécanismes de la capacitation ne sont pas complètement élucidés, mais on sait que ce processus fait intervenir des modifications des protéines de surface, ainsi qu'une diminution du cholestérol membranaire.



**Figure 2.** Coupes d'ovocytes de Brebis.  
 (a) immature : vésicule germinative (VG) intacte, cumulus (cum) compact ;  
 (b) mature : fuseau de métaphase de deuxième division (MII), cumulus (cum) expansé.

**Figure 2.** Sheep oocyte sections.  
 (a) immature: intact germinal vesicle (VG), compact cumulus (cum) ;  
 (b) mature: second-division metaphase spindle (MII), expanded cumulus (cum).



**Figure 3.** Représentation schématique de la réaction acrosomique [31].  
 (a) avant réaction, le spermatozoïde avec son acrosome intact ;  
 (b) au cours de la réaction, la fusion des membranes plasmique et acrosomique externe entraîne la formation de vésicules membranaires et de trous par lesquels le contenu acrosomique est libéré ;  
 (c) lorsque la réaction acrosomique est achevée, le spermatozoïde abandonne les vésicules membranaires et sa membrane acrosomique interne se trouve exposée ; le segment équatorial reste intact.

**Figure 3.** Diagram of the acrosome reaction.  
 (a) prior to the reaction, spermatozoon with intact acrosome ;  
 (b) during reaction, fusion of plasma membrane and outer acrosomal membrane results in the formation of membrane vesicles and pores through which the acrosomal content is released ;  
 (c) once the acrosomic reaction is completed, the spermatozoon abandons the membrane vesicles and its inner acrosomal membrane is exposed ; the equatorial segment remains intact.

Lorsqu'il est capacité, le spermatozoïde peut effectuer sa réaction acrosomique et développer un mouvement d'hyperactivation. Ces deux étapes sont indispensables pour que le spermatozoïde puisse pénétrer l'ovocyte. La réaction acrosomique qui est déclenchée par un influx de  $Ca^{++}$  s'apparente à une exocytose. Morphologiquement, elle se caractérise par la fusion progressive de la membrane plasmique et de la membrane acrosomique externe, ce qui conduit à la formation de fenestrations, par lesquelles le contenu de l'acrosome, digéré par les enzymes acrosomiques, est libéré (figure 3). Après avoir effectué sa réaction acrosomique, le spermatozoïde pénètre l'enveloppe extraovulaire, appelée zone pellucide. Il fusionne ensuite avec l'ovocyte. Le noyau et le flagelle du spermatozoïde pénètrent dans le cytoplasme de l'ovocyte. Dès qu'il se trouve dans l'œuf, le noyau du spermatozoïde perd son enveloppe nucléaire et sa chromatine commence à se décondenser. Au moment de la fécondation, l'ovocyte arrêté en MII termine sa deuxième division méiotique, qui aboutit à l'expulsion du deuxième globule polaire (GPII). Les pronoyaux mâle et femelle se forment par adjonction d'une enveloppe nucléaire autour de la chromatine paternelle et maternelle ; ils se développent et migrent au centre de l'œuf où ils se trouvent en apposition avant la première division du zygote. Les pronoyaux éclatent ensuite et les chromosomes paternels et maternels se rassemblent sur le fuseau de première division de segmentation (figure 4).

La capacitation *in vitro* des spermatozoïdes a été obtenue plus tardivement chez les mammifères d'élevage que chez les rongeurs et l'Homme. Cela tient, d'une part, à la nécessité d'utiliser du sperme éjaculé et non du sperme épидидymaire comme chez les rongeurs (le sperme épидидymaire, en effet, se capacite plus facilement, mais oblige à sacrifier le mâle) et, d'autre part, à la durée de la capacitation qui est beaucoup plus longue pour le sperme de taureau, de bélier, de bouc, de verrat et d'étalon que pour le sperme des rongeurs et de l'Homme. Cela pose le problème du maintien *in vitro*, pendant de nombreuses heures, de la motilité des spermatozoïdes. Les mécanismes qui interviennent au

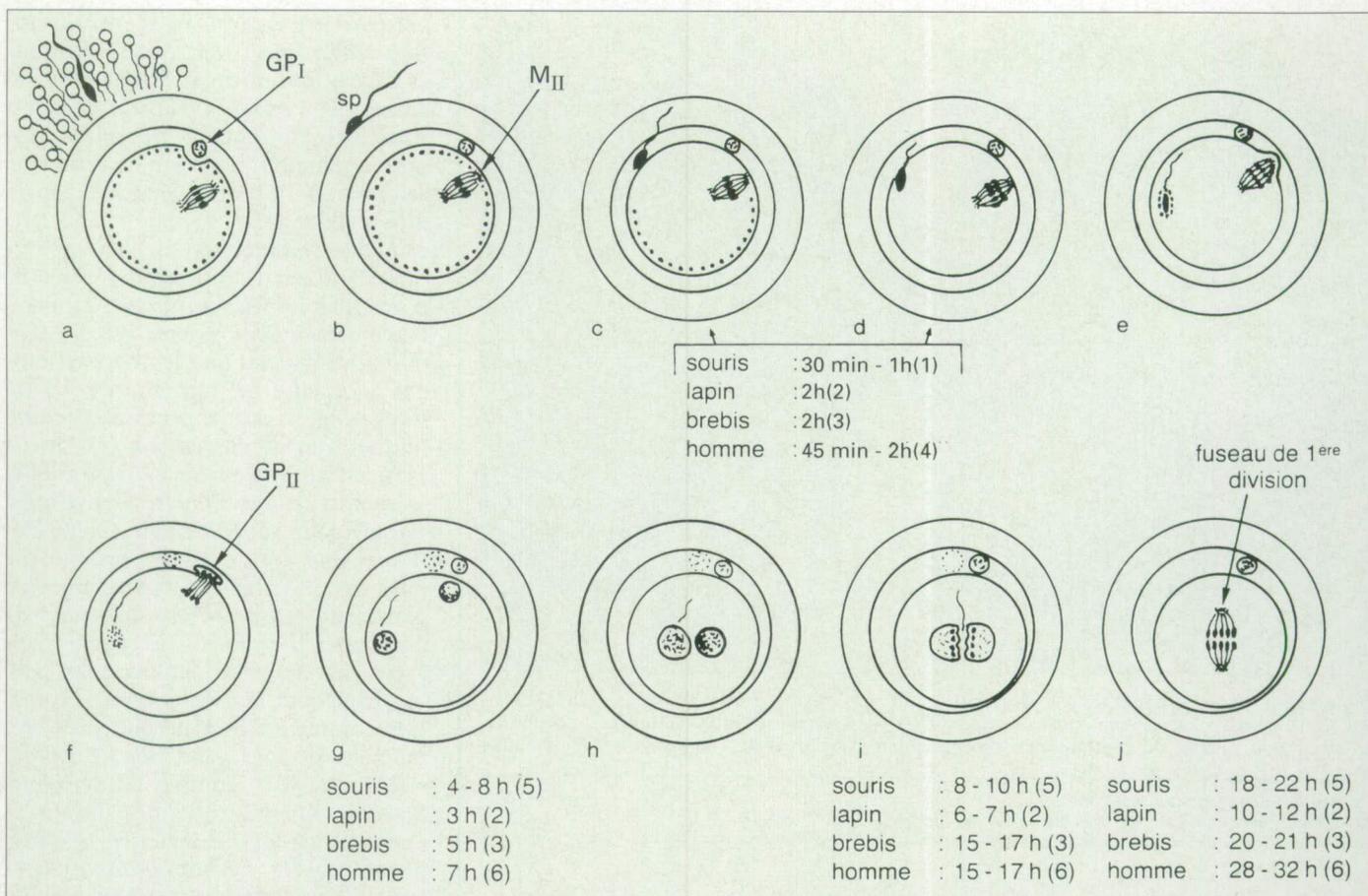


Figure 4. Les différentes étapes de la fécondation chez les mammifères [31]. GPI, GPII : premier et deuxième globules polaires ; sp : spermatozoïde ; MII : fuseau de deuxième division méiotique.

Figure 4. The various stages of mammalian fertilization. GPI, GPII : first and second polar bodies ; sp : spermatozoon ; MII : second-division metaphase spindle.

cours de la capacitation n'étant pas complètement élucidés, diverses techniques de capacitation *in vitro* ont été mises au point de façon semi-empirique. Ainsi, l'addition d'héparine dans le milieu de culture est couramment utilisée pour capaciter les spermatozoïdes de taureau [11], alors que l'addition de sérum de brebis en œstrus s'est révélée efficace pour le bouc et le bélier [10, 12]. Chez le porc, le stockage du sperme non dilué à température ambiante [16 h] ou l'incubation des spermatozoïdes à forte concentration est le plus souvent utilisé [3]. Une incubation courte en présence d'inophore A23187 a également été proposée pour les spermatozoïdes de bouc [2] et d'étalon [4]. Bien que

certaines méthodes donnent des taux de fécondation élevés (de l'ordre de 80 %), elles sont cependant beaucoup moins efficaces que la capacitation *in vivo*, ce qui peut entraîner un certain nombre de problèmes.

Dans une population de spermatozoïdes soumise à un traitement de capacitation, on ignore le pourcentage (probablement faible) de ceux qui sont réellement capités. Cela conduit à inséminer les ovocytes avec un nombre incomparablement plus élevé de spermatozoïdes que celui qui existe *in vivo*. Il en résulte un taux de polyspermie très largement supérieur (ruminants : 10-20 % ; porc 50 %) à celui que l'on observe *in vivo* (1 %). La capacitation incomplète des sperma-

tozoïdes au moment de l'insémination peut entraîner un retard de fécondation de plusieurs heures, conduisant à un vieillissement des ovocytes en culture qui est préjudiciable au développement ultérieur [13]. La meilleure méthode pour évaluer l'efficacité d'un système de capacitation est de contrôler le moment de la fécondation après la mise en contact des gamètes. Cependant, peu de systèmes ont été ainsi testés. Nous avons montré que les spermatozoïdes de bélier capités en présence de sérum de brebis pénètrent le cytoplasme de l'ovocyte environ 2 h après la mise en contact des gamètes [14]. Chez la vache, après capacitation des spermatozoïdes en présence d'héparine, 40 % environ des œufs

sont fécondés dans les 8 h qui suivent l'insémination [15], alors que chez la chèvre, 48 % des ovocytes sont pénétrés 3 h après insémination avec des spermatozoïdes capacités en présence de sérum de brebis (Crozet *et al.*, résultats non publiés).

Les conditions de la fécondation sont aussi très importantes. On sait que la température est un facteur déterminant ; comme pour la MIV, la température optimale pour réaliser la FIV chez les espèces domestiques est de 39°C.

## Summary

### Oocyte maturation and *in vitro* fertilization in farm animals

N. Crozet

*Both research and animal industry require large number of eggs and embryos at specific stages of development. Efficient in vitro methods, as inexpensive source of mature oocytes and fertilized eggs, are important for the development of new biotechnologies. Using ovarian oocytes and fresh or frozen-thawed ejaculated spermatozoa, bovine, sheep, goat and pig fertilized eggs can now be produced in vitro. The success of in vitro fertilization (IVF) is largely dependent on the ability to mature the oocytes and to capacitate the spermatozoa in vitro. Recent advances in the knowledge concerning gamete maturation and fertilization have contributed to the development of IVF technology.*

*In this paper, the biological mechanisms of oocyte maturation, sperm capacitation and fertilization, as well as current knowledge concerning the conditions required to achieve them in vitro, are summarized. The efficiency of in vitro procedures is also discussed in farm species (ruminants and pig).*

*Cahiers Agricultures 1992 ; 1 : 301-7.*

L'exploitation de la FIV dans l'expérimentation et dans la pratique était, jusqu'à ces dernières années, rendue difficile du fait que les œufs fécondés ne se divisaient que 2 ou 3 fois en culture et qu'il était donc impossible d'obtenir des morulae ou des blastocystes transférables directement dans l'utérus. Chez la vache, par exemple, on sait que le transfert utérin se fait par voie transcervicale et donc sans intervention chirurgicale. C'est pourquoi des recherches ont été entreprises afin de mettre au point des systèmes permettant la culture *in vitro* des embryons précoces. La culture des œufs sur tapis de cellules tubaires s'est révélée relativement efficace : elle permet d'obtenir 45 % de développement jusqu'au stade blastocyste chez la brebis [16], 43 % chez la vache [17] et 70 % chez la chèvre [18] et le porc [19]. L'addition de TGF $\beta$  (*Transforming Growth Factor*) en début de formation des blastocystes a même permis l'obtention de 87 % de blastocystes éclos chez la vache [20] ; ceci lorsqu'on utilise, au départ, des œufs maturés et fécondés *in vivo*. En revanche, lorsque des œufs provenant de MIV et de FIV sont cultivés sur tapis de cellules tubaires, les résultats de développement sont très inférieurs : 35 % de morulae non compactées et 0 % de blastocystes chez la brebis [21], 20-30 % de blastocystes chez la vache et 36 % d'embryons au stade 8-16 cellules chez la chèvre [7]. Des systèmes de co-culture avec différents types cellulaires ont été également utilisés, mais sans améliorer les taux de développement. Les recherches s'orientent maintenant vers l'emploi de milieux de culture synthétiques.

## Efficacité des techniques de MIV et de FIV

Étant donné le très grand nombre de résultats publiés par les équipes qui travaillent dans le domaine de la MIV et de la FIV, nous dégagerons les données permettant au lecteur de se faire une idée de l'efficacité de ces techniques et de leurs limites actuelles, les détails pouvant être trouvés dans différentes revues traitant de la MIV et

de la FIV chez les mammifères d'élevages [22-24].

## Chez les bovins

Des taux de MIV de l'ordre de 90 % sont obtenus en routine, à partir d'ovocytes provenant d'ovaires récupérés à l'abattoir. Les pourcentages de FIV de ces ovocytes varient de 50 à 90 %, aussi bien avec du sperme frais qu'avec du sperme décongelé, capacité en présence d'héparine. Cette variabilité indique que la maturation complète de l'ovocyte et sa fécondation *in vitro* sont encore imparfaitement maîtrisées. De plus, les taux de développement jusqu'au stade morula-blastocyste des œufs provenant de MIV et FIV, qui varient de 40 à 60 % lorsque le développement a lieu *in vivo* (oviducte) et se situent aux alentours de 30 % dans le cas de culture *in vitro* montrent que la MIV et la FIV n'assurent pas une compétence au développement équivalente à celle des œufs produits *in vivo*. Il faut néanmoins tenir compte du facteur mâle qui influence le taux de développement [25].

Depuis la naissance du premier veau issu de la FIV d'un ovocyte ovulé en 1981 [1], des veaux provenant d'œufs maturés et fécondés *in vitro* ont vu le jour. Dans une expérience récente réalisée à grande échelle, des embryons obtenus à partir d'ovocytes maturés, fécondés et cultivés jusqu'au stade blastocyste *in vitro* ont été transférés dans des génisses receveuses ; 65 receveuses ont reçu 2 blastocystes chacune ; 50,8 % d'entre elles ont été diagnostiquées gestantes à J35, avec une proportion de gestations gemellaires de 39,4 % [26].

## Chez les ovins

La maturation *in vitro* des ovocytes en co-culture avec des cellules de la granulosa permet d'obtenir en routine 90 à 100 % de MII. Les taux de FIV (sperme frais capacité en présence de sérum de brebis) obtenus avec ces ovocytes et avec des œufs ovulés sont tout à fait comparables (83-88 %). De même, le pourcentage de développement *in vivo* jusqu'au stade morula-blastocyste (53 %) est identique pour les ovocytes MIV et ovulés, fécondés *in vitro*. Ces résultats indiquent que la MIV est assez bien maîtrisée dans l'espèce ovine.

Par ailleurs, après transfert d'œufs ovulés fécondés *in vitro*, dans les oviductes de 38 brebis receveuses (3 œufs par receveuse), 16 brebis (42 %) ont mené une gestation jusqu'à terme ; la taille moyenne des portées à la naissance était de 1,6 [27]. Des agneaux sont également nés après le transfert d'œufs maturés et fécondés *in vitro*, mais ces expériences ont été réalisées à une moins large échelle.

### Chez les caprins

Les techniques de MIV et de FIV ont été mises au point plus tardivement chez la chèvre que chez les autres ruminants domestiques. On obtient maintenant, chez cette espèce, des taux de MIV de 90 à 100 %. De plus, les taux de FIV des ovocytes ovulés ou maturés *in vitro* (sperme frais capacité en présence de sérum de brebis) sont tout à fait comparables et atteignent les 85 % ; avec du sperme décongelé, les taux de FIV sont légèrement inférieurs (70 %). Par contre, l'aptitude au développement précoce des œufs provenant de MIV et de FIV, évaluée *in vivo* (oviducte), montre que seulement 25,5 % de ces œufs parviennent au stade morula-blastocyste ; ces résultats cependant portent sur un petit nombre d'œufs. A l'heure actuelle, seulement 3 chevreaux sont nés à partir d'ovocytes ovulés fécondés *in vitro* : en 1985, Hanada [2], après transfert de 12 embryons dans 5 chèvres, a obtenu 1 gestation suivie d'une naissance ; en 1991-1992, Cognié *et al* [28], en transférant 41 œufs dans 14 receveuses, ont obtenu 9 gestations dont 2 seulement se sont maintenues jusqu'à terme. Par ailleurs après transfert, dans 3 receveuses, de 6 embryons provenant d'ovocytes maturés et fécondés *in vitro*, 3 gestations ont été établies ; 1 seule de ces chèvres a mis bas en donnant naissance à 1 chevreau [29].

### Chez les porcins

Des taux de 85 % de MIV sont obtenus lorsque les ovocytes sont cultivés pendant 44-46 h. Une large proportion de ces ovocytes se fécondent *in vitro* (80 %), mais le taux de polyspermie est très élevé, avoisinant les 50 %. Il faut cependant noter, qu'avec des ovocytes ovulés, les taux de FIV et de polyspermie sont identiques, ce qui semblerait indiquer que les techniques

de capacitation des spermatozoïdes et de FIV restent encore mal maîtrisées. Par ailleurs, peu de données existent sur l'aptitude au développement précoce des œufs produits *in vitro* ; des taux variables (10 à 40 %) de blastocystes ont été obtenus à partir d'ovocytes MIV et FIV transférés dans des oviductes de truies. De plus, peu de gestations, après transfert d'œufs résultant de FIV, se sont maintenues jusqu'à terme et la taille des portées, à la mise-bas, était toujours très inférieure à la normale. Ainsi, par exemple, Cheng *et al* [3], après transfert, dans 15 receveuses, de 206 embryons provenant d'ovocytes ovulés ou préovulatoires fécondés *in vitro*, ont obtenu 6 gestations et 19 porcelets.

## Conclusion

Les techniques de MIV et de FIV chez les mammifères d'élevage ont fait des progrès considérables durant ces dernières années et sont, d'ores et déjà, utilisables pour produire des embryons destinés à l'expérimentation et à des applications d'intérêt agronomique. Cependant, les taux de développement obtenus montrent que bon nombre d'œufs provenant de MIV et de FIV sont incapables de se développer. L'amélioration des systèmes *in vitro* déjà existants, grâce aux connaissances qui sont et seront acquises dans le domaine de la maturation de l'ovocyte, de la fécondation et du développement précoce, devrait permettre de surmonter ce problème dans les années à venir ■

## Références

1. Brackett BG, Bousquet D, Boice ML, Donawick WJ, Evans JF, Dressel MA. Normal development following *in vitro* fertilization in the cow. *Biol Reprod* 1982 ; 27 : 147-58.
2. Hanada A. *In vitro* fertilization in goat. *Japan J Anim Reprod* 1985 ; 31 : 21-6.
3. Cheng WTK, Moor RM, Polge C. *In vitro* fertilization of pig and sheep oocytes matured *in vivo* and *in vitro*. *Theriogenology* 1986 ; 25 : 146-9.
4. Palmer E, Magistrini M, Bézard J, Duchamp G. Gestation après fécondation *in vitro* dans l'espèce équine. *CR Acad Sci Paris* 1990 ; 310 : 71-4.
5. Crister ES, Leibfried-Rutledge ML, Eyestone WH, Northey DL, First NL. Acquisition of developmental competence during maturation *in vitro*. *Theriogenology* 1986 ; 25 : 150.

6. Mattioli M, Bacci ML, Galeati G, Seren E. Developmental competence of pig oocytes matured and fertilized *in vitro*. *Theriogenology* 1989 ; 31 : 1201-5.

7. Younis AI, Zuelke KA, Harper KM, Oliveira MAL, Brackett BG. *In vitro* fertilization of goat oocytes. *Biol Reprod* 1991 ; 44 : 1177-82.

8. Moor RM, Trounson AO. Hormonal and follicular factors affecting maturation of sheep oocytes *in vitro* and their subsequent developmental capacity. *J Reprod Fert* 1977 ; 49 : 101-9.

9. Staigmiller RB, Moor RM. Effect of follicle cells on the maturation and developmental competence of ovine oocytes matured outside the follicle. *Gamete Res* 1984 ; 9 : 221-9.

10. De Smedt V, Crozet N, Ahmed-Ali M, Martino A, Cognié Y. *In vitro* maturation and fertilization of goat oocytes. *Theriogenology* 1992 ; sous presse.

11. Parrish JJ, Susko-Parrish JL, First NL. Role of heparin in bovine sperm capacitation. *Biol Reprod* 1985 ; 32 (suppl.1) : 211.

12. Crozet N, Huneau D, De Smedt V, *et al*. *In vitro* fertilization with normal development in the sheep. *Gamete Res* 1987 ; 16 : 159-70.

13. Galli C, Moor RM. Development of immature bovine oocytes into viable embryos *in vitro*. *Bull Ass Anat* 1991 ; 75 : 67-71.

14. Crozet N. Fine structure of sheep fertilization *in vitro*. *Gamete Res* 1988 ; 19 : 291-303.

15. Leibfried-Rutledge ML, Crister ES, Parrish JJ, First NL. *In vitro* maturation and fertilization of bovine oocytes. *Theriogenology* 1989 ; 31 : 61-74.

16. Gandolfi F, Moor RM. Stimulation of early embryonic development in the sheep by co-culture with oviduct epithelial cells. *J Reprod Fert* 1987 ; 81 : 23-8.

17. Eyestone WH, First NL. Co-culture of early cattle embryos to the blastocyst stage with oviductal tissue or in conditioned medium. *J Reprod Fert* 1989 ; 85 : 715-20.

18. Prichard JF, Pool SH, Blakewood EG, Ménézo Y, Godke RA. Culture of early-stage caprine embryos using goat oviductal cell monolayers. *Theriogenology* 1991 ; 35 : 259.

19. Reed ML, Illera MJ, Petters RM. *In vitro* culture of pig embryos. *Theriogenology* 1992 ; 37 : 95-109.

20. Marquant-Le Guienne B, Gérard M, Solari A, Thibault C. *In vitro* culture of bovine egg fertilized either *in vivo* or *in vitro*. *Reprod Nutr Dév* 1989 ; 29 : 559-68.

21. Fukui Y, Glew AM, Gandolfi F, Moor RM. *In vitro* culture of sheep oocytes matured and fertilized *in vitro*. *Theriogenology* 1988 ; 29 : 883-91.

22. First NL, Parrish JJ. *In vitro* fertilization in ruminants. *J Reprod Fert* 1987 ; suppl. 34 : 151-65.

23. Hunter RHF. Fertilization of pig eggs *in vivo* and *in vitro*. *J Reprod Fert* 1990 ; suppl. 40 : 211-26.

24. Crozet N. Manipulation of oocytes and *in vitro* fertilization. *J Reprod Fert* 1991 ; suppl. 43 : 235-43.

25. Marquant-Le Guienne B, Humblot P. Tests de fertilité chez l'animal domestique par fécondation *in vitro*. *Annales de Zootechnie* 1992 ; sous presse.

26. Guyader C, Charbonnier G, Durand M, Marquant-Le Guienne B, Thibier M. Taux de gestation après transfert d'embryons bovins produits *in vitro* sur des génisses asynchrones. *Élevage et Insémination* 1992 ; 250 : 1-4.

27. Cognié Y, Guérin Y, Gyader C, Poulin N, Crozet N. *In vitro* fertilization of sheep oocytes matured *in vivo*. *Theriogenology* 1991 ; 35 : 393-400.

28. Cognié Y, Guérin Y, Poulin N, Crozet N. Successful use of frozen goat semen for *in vitro* fertilization of goat oocytes. *Vth Int Conf on Goats* 1992 ; New-delhi, India.

29. Crozet N, De Smedt V, Ahmed-Ali M, Sevellec C. Normal development following *in vitro* oocyte maturation and fertilization in the goat. *Theriogenology* 1993 ; in press.

30. Szöllösi D. Maturation de l'ovocyte. In : Thibault C, Levasseur MC, eds. *La reproduction chez les mammifères et l'homme*. Paris : Ellipses, 1991 : 299-337.

31. Crozet N, Fécondation *in vivo* et *in vitro*. In : Thibault C, Levasseur MC, eds. *La reproduction chez les mammifères et l'homme*. Paris : Ellipses, 1991 : 315-37.

## Résumé

Des techniques efficaces de maturation (MIV) et de fécondation *in vitro* (FIV) des ovocytes sont indispensables pour produire en grand nombre et à faible coût, chez les mammifères de ferme, des œufs destinés au clonage, au transfert de gènes, ainsi qu'à d'autres applications d'intérêt agronomique. A partir d'ovocytes ovariens et d'éjaculats frais ou décongelés, il est maintenant possible d'obtenir *in vitro* des embryons bovins, ovins, caprins et porcins. Le succès de la MIV et de la FIV dépend, pour une large part, des connaissances acquises ces dernières années dans le domaine de la maturation finale des gamètes et de la fécondation.

Dans cet article, les mécanismes biologiques de la maturation de l'ovocyte, de la capacitation des spermatozoïdes et de la fécondation, ainsi que les principales conditions requises pour réaliser ces étapes *in vitro*, sont rappelés. L'efficacité des systèmes de MIV et de FIV, qui conditionne leur exploitation dans la pratique, est ensuite discutée chez les principales espèces domestiques (ruminants et porcins).

## RECHERCHE EN BIOTECHNOLOGIES Le programme d'échange franco-québécois

Dans le cadre des accords de coopération entre le Québec et la France, un programme d'échanges en biotechnologies a été mis sur pied en 1982 pour promouvoir la recherche, aider à la formation des chercheurs et favoriser le développement des bioindustries.

Le programme s'adresse à tous les chercheurs en biotechnologies. Il prend en charge les coûts de déplacement des participants et accorde une aide partielle au financement des recherches.

Les projets présentés doivent démontrer une finalité d'application et, si possible, impliquer déjà une entreprise.

Deux organismes à but non lucratif, liés par une entente, SERIBIO au Québec et ARIBIO en France, ont été mandatés par les deux gouvernements pour assurer la mise en valeur des résultats issus de la réalisation des projets. À cet effet, chaque projet retenu fait l'objet d'un contrat passé avec tous les participants, précisant les apports réciproques de chacun d'eux, le partage de la propriété sur les résultats obtenus et leur disposition éventuelle.

SERIBIO  
Société pour l'exploitation de  
la recherche internationale en  
biotechnologies  
Case postale 343  
Haute-Ville (Québec) G1R 4P8  
Tél. : (418) 649-2330  
Fax : (418) 649-2654  
M. Jacques Amiot  
Président

ARIBIO  
Association pour les relations  
internationales en biotechnologies  
67, boulevard Suchet  
75016 Paris, FRANCE  
Tél. : (1) 45-24-68-54  
Fax : (1) 45-20-60-08  
M. Jean-Pierre Raynaud  
Président