

Institut d'Elevage et de Médecine
Vétérinaire des Pays Tropicaux
10, rue Pierre Curie
94704 MAISONS-ALFORT Cedex

MP 8900 84 9360
Ecole Nationale Vétérinaire
d'Alfort
7, avenue du Général-de-Gaulle
94704 MAISONS-ALFORT Cedex

Institut National Agronomique
Paris-Grignon
16, rue Claude Bernard
75005 PARIS

Muséum National d'Histoire Naturelle
57, rue Cuvier
75005 PARIS

DIPLOME D'ETUDES SUPERIEURES SPECIALISEES
PRODUCTIONS ANIMALES EN REGIONS CHAUDES

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE



LE TRANSFERT EMBRYONNAIRE
APPLIQUE A LA FAUNE SAUVAGE :
réalisations actuelles

par

Marie STEINER

SOMMAIRE

Introduction.....p. 1

Première partie:

La technicité du transfert embryonnaire: exemple chez les
bovins domestiques

Rappels physiologiques.....p. 2

Technique.....p. 2

Préparation de la donneuse.....p. 4

Hormones utilisées.....p. 4

Collecte.....p. 5

Préparation des receveuses.....p. 6

Transfert.....p. 6

Manipulation des embryons.....p. 6

Deuxième partie:

Intérêts et contraintes du transfert embryonnaire
appliqué à la faune sauvage

Intérêts et applications.....p.10

Gestion de la reproduction

Législation

Aspect économique

Zootecnie

Intérêt scientifique

Génétique

Les contraintes.....p.13

Troisième partie:

Le transfert embryonnaire chez la faune sauvage:
réalisations actuelles.....p.14

Ordre des Primates.....	p.15
Ordre des Périssodactyles	
F/ Equidés.....	p.18
Ordre des Artiodactyles	
F/ Camélidés.....	p.20
F/ Cervidés.....	p.21
F/ Bovidés.....	p.23
Ovinés.....	p.23
Bovinés.....	p.24
Buffle d'eau	
Gaur	
Banteng	
Tragélaphinés.....	p.26
Eland du cap	
Bongo	
Autres ss familles de Bovidés.....	p.28
Conclusion.....	p.29
Références.....	p.30

INTRODUCTION

Des centaines d'espèces disparaissent peu à peu de leur habitat d'origine et sont au bord de l'extinction. Préserver cette richesse est un travail indispensable, ceci non pas pour conserver ni exhiber les espèces les plus menacées, mais pour favoriser leur perpétuation. Les techniques de reproduction artificielle modernes s'inscrivent dans le cadre d'un tel programme.

Le transfert embryonnaire est aujourd'hui une technique bien établie pour les animaux domestiques, particulièrement pour les bovins laitiers et à viande, chez lesquels il est possible d'augmenter rapidement le nombre de descendants d'individus de fort potentiel génétique.

L'objet de cette étude est de dresser le bilan de l'application possible de cette technique à la faune sauvage et en particulier aux espèces menacées, soulignant ses contraintes et rappelant les résultats déjà obtenus.

**LA TECHNICITE DU TRANSFERT EMBRYONNAIRE:
- EXEMPLE CHEZ LES BOVINS DOMESTIQUES**

Dans un premier temps nous dégagerons les principes de base du transfert embryonnaire, en étudiant son application dans le cas précis des bovins domestiques.

Les techniques de transfert embryonnaire faisant appel à des protocoles de traitements hormonaux, il est intéressant de rappeler brièvement le déterminisme hormonal du cycle sexuel de la vache, avant d'énoncer les grandes lignes de ces procédés.

RAPPELS PHYSIOLOGIQUES :

Les transformations cellulaires au niveau de l'ovaire sont sous la dépendance d'hormones hypophysaires FSH (Follicule Stimulating Hormone ou hormone de croissance folliculaire) et LH (Luteinizing Hormone ou hormone responsable de l'ovulation et de la lutéinisation du follicule). Leur sécrétion est elle-même contrôlée par l'hypothalamus qui transmet ses informations à l'hypophyse par le GnRH messenger hormonal (Gonadotropine Relaying Hormone). Corrélativement, FSH et LH sont responsables de la production des hormones ovariennes oestrogènes et progestérone qui influent sur le centre hypothalamique et exercent un rétrocontrôle sur ces structures.

L'interaction entre les différentes hormones est représentée sur le schéma n°1 et peut se résumer de la façon suivante. On observe tout d'abord le rôle moteur donné par le niveau tonique de FSH et de LH, essentiel pour assurer la croissance folliculaire. Les oestrogènes sont alors sécrétés en quantité importante par la thèque folliculaire et stimulent par rétrocontrôle positif le centre hypothalamique de la cyclicité. Le GnRH favorise la libération massive de LH par l'hypophyse et permet l'ovulation. Le corps jaune se développe et produit de la progestérone, qui, par rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus, inhibe les sécrétions hypothalamiques. Ceci jusqu'à ce que la lyse du corps jaune par la PGF2 α , d'origine utérine, supprime l'inhibition progestéronique et relance un nouveau cycle.

TECHNIQUE:

La technique de transfert embryonnaire repose sur une succession d'étapes que l'on peut énoncer ainsi: polyovulation d'une femelle donneuse, insémination, collecte des embryons, transferts de ceux-ci sur des femelles

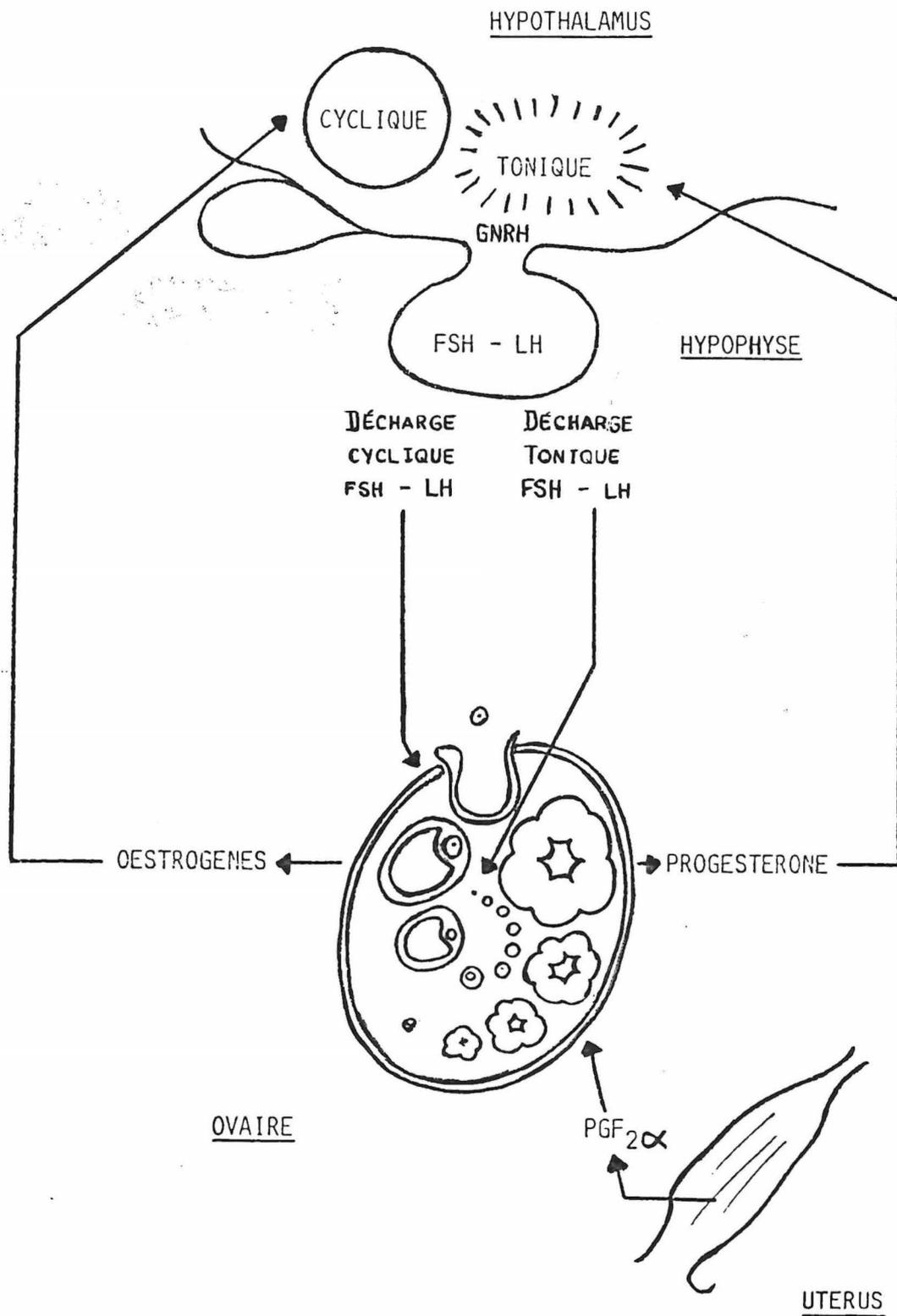


Schéma n° 1 - DETERMINISME HORMONAL DU CYCLE SEXUEL DE LA VACHE

receveuses -préalablement synchronisées avec la donneuse. Nous envisagerons donc successivement ces différentes étapes.

* Préparation de la donneuse:

Au cours de chaque cycle une vingtaine de follicules commencent leur développement. Mais tous dégènèrent sauf un, qui poursuit sa croissance jusqu'à l'ovulation. Les différents traitements de superovulation empêchent cette dégénérescence et stimulent d'autres follicules.

**** Hormones utilisées:**

- PMSG: Pregnant Mare Serum Gonadotrophin

Extraite du sérum de jument gravide (entre le 42ème et le 100ème jour de gestation), la PMSG a une activité biologique identique à celle d'un mélange 2/3 FSH et 1/3 LH.

Injectée pendant la phase lutéale du cycle, elle stimule l'ovaire. Le moment optimal d'injection se situe entre J8 et J12 (J0 étant le jour de l'ovulation). La dose utilisée est modulée selon l'âge et la race de la femelle traitée, on retiendra pour des femelles Holstein: 2000 UI pour les génisses et 2500 UI pour les vaches.

- FSH: (citée précédemment)

Extraite principalement de l'antéhypophyse de Porc, c'est en fait un mélange de FSH et LH. L'injection doit être réalisée entre J7 et J11 du cycle. La posologie préconisée a varié entre 32 et 50 mg au total. A l'heure actuelle on conseille 32 mg répartis en quatre jours.

-PG: prostaglandines

Les prostaglandines les plus utilisées sont des analogues de synthèse. Utilisées en phase lutéale, elles provoquent la régression du corps jaune et entraînent le début d'un nouveau cycle oestral.

Dans un protocole de superovulation les prostaglandines activent la sécrétion de FSH et LH endogènes et permettent ainsi une synchronisation de l'ovulation des différents follicules en croissance.

Selon le traitement choisi, elles sont administrées:

1°/ 48H après une injection de PMSG
ou encore

2°/ 48H avant la fin des injections de FSH

Dans la pratique on utilise 500µg de cloprosténol (ESTRUMATE_{ND}).

N.B.: Les prostaglandines sont également utilisées à des fins de synchronisation des chaleurs et sont alors administrées deux fois à 11 jours d'intervalle. Elles sont particulièrement employées au cours de la préparation des receveuses, afin de synchroniser leur oestrus avec celui de la donneuse. Les femelles sont ainsi au même stade physiologique utérin lors des interventions ultérieures.

Les schémas de traitements peuvent être les suivants:

```

                PMSG                                IA  IA
                ↑                                //    //
////////_-----J8-J13      ↑      ↑      //    //
oestrus          48H--PG----56-72H
    
```

```

                FSH                                IA  IA
                ↑↑↑↑↑↑↑↑      //    //
////////_-----J8-J13      ↑      ↑      //    //
oestrus          ↑48H-PG----56-72H
    
```

N.B.: Traitement FSH = 2x/jour pendant 4 jours.

Les chaleurs initiales peuvent être observées naturellement ou induites, soit par la pose d'un implant renfermant des progestagènes, soit par deux injections de prostaglandines à onze jours d'intervalles.

**** Collecte:**

Le tableau n°1 nous rapporte la chronologie du développement de l'embryon de Bovin.

Ceci nous permet de comprendre pourquoi la collecte des embryons s'opère généralement entre J6 et J9 du développement embryonnaire. En effet avant cette date l'embryon est toujours dans l'oviducte, d'accès difficile, au delà de celle-ci il sort de la zone pellucide, qui lui assure une protection sanitaire et mécanique, sans laquelle toute manipulation conduit le plus souvent à l'échec. Ainsi classiquement les embryons sont-ils collectés au stade de blastocyste, à savoir après 7 à 8 jours de développement.

La collecte des embryons peut-être réalisée au moyen d'une sonde trois voies (IMV/INRA) qui permet un circuit continu du milieu de collecte. Le schéma n°2 nous rapporte le montage du dispositif. Une première voie débouchant à l'extrémité du corps de sonde permet d'injecter le liquide. Une seconde représentée par un flexible, glissant dans le corps de sonde, assure le retour de ce milieu. Enfin, une troisième voie sert à gonfler le ballonnet, qui bloque la sonde dans une corne utérine et entraîne l'étanchéité de celle-ci. L'opérateur met en place la sonde et guide la collecte par une palpation transrectale.

Le liquide de perfusion le plus utilisé est le PBS (Phosphate Buffered Saline) enrichi avec 2% de sérum de veau foetal décomplémenté, à une température avoisinant 37°C.

* Préparation des receveuses:

Afin que l'embryon implanté puisse poursuivre son développement amorcé, il est nécessaire que les receveuses soient sexuellement synchronisées avec la donneuse, c'est à dire qu'elles soient au même stade d'évolution utérine.

A cette fin on utilisera des receveuses vues en oestrus à la même période que la donneuse, ou bien de nouvelles chaleurs seront induites artificiellement par injection de prostaglandines -cf supra. Selon les auteurs, on tolère un décalage de plus ou moins douze heures entre receveuses et donneuse.

**** Transfert:**

La mise en place des embryons, jugés de bonne qualité après examen de leur morphologie à la loupe binoculaire, peut se faire selon deux voies différentes:

1°/ Après laparotomie du flanc ipsilatéral au corps jaune, l'embryon peut être directement implanté dans l'extrémité de la corne utérine.

2°/ De façon pratique, les embryons sont le plus souvent implantés cervicalement, à savoir selon une technique proche de l'insémination artificielle.

* Manipulation des embryons:

Il est à noter qu'après la collecte, les embryons sont placés dans un milieu enrichi de PBS additionné de 20% de sérum de veau foetal, dans lequel ils sont lavés en plusieurs bains. De plus lorsque le nombre d'embryons de

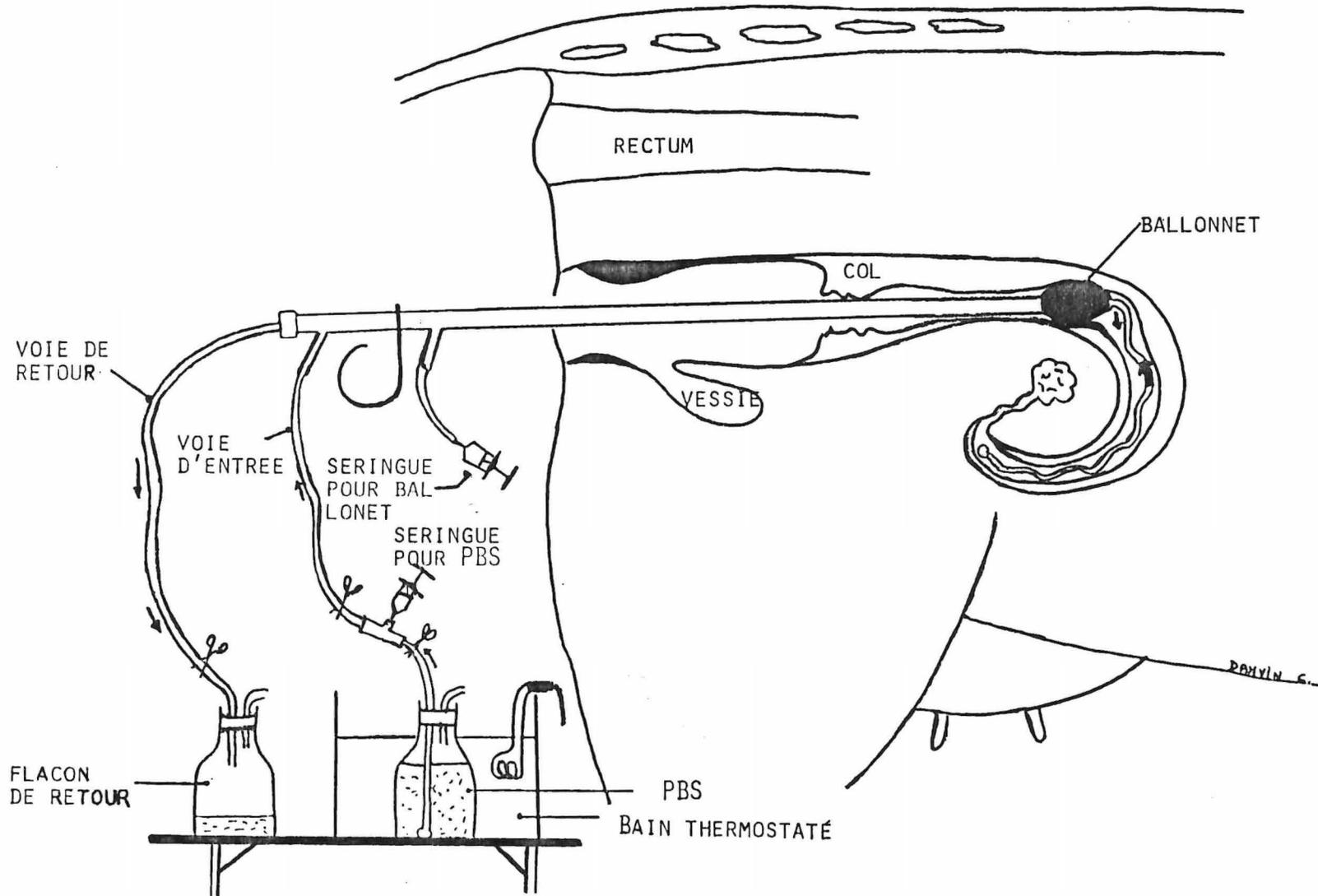
bonne qualité excède le nombre de receveuses disponibles, ou par raisons commerciales, on pratique de façon courante une congélation. Celle-ci est le plus souvent réalisée à l'aide d'un congélateur programmable qui assure une vitesse de refroidissement et une induction de la cristallisation adéquates. Les phénomènes de cryopréservation, énoncés dans une étude préliminaire (Steiner, 1988) et dépassant notre propos, ne seront pas repris dans cet exposé.

Tableau n° 1 - CHRONOLOGIE DU DEVELOPPEMENT DE L'EMBRYON BOVIN
 CHRONOLOGY OF BOVINE EMBRYO DEVELOPMENT

PRINCIPAUX EVENEMENTS MAIN EVENTS	TEMPS EN HEURE APRES LE DEBUT DES CHALEURS TIME (IN HOURS) AFTER THE COMING ON HEAT	JOUR DAY
DEBUT DES CHALEURS Coming on heat DECHARGE DE LH Discharge of L.H.	0 H ≈ 7 H (DUREE 8 A 12 H) ≈ 7 H (Duration 8 to 12 H)	J 0
OVULATION Ovulation	INSEMINATION 30 - 32 H	J 1
FECONDATION Fertilization - ACCOLEMENT DES SPERMA- TOZOIDES A LA MEMBRANE DE L'OEUF- ACTIVATION - Gathering around the zona - Activation - FUSION DES PRONUCLEI - Fusion of pronuclei STADE 2 c/ 2 Cell-Stage STADE 4 c/ 4 Cell-stage STADE 8 c/ 8 Cell-stage STADE 16-32 c/ 16-32 Cell-stage	OVIDUCTE OVIDUCT 33 H 45 H 46 - 56 H 50 - 66 H 60 - 90 H 90 -125 H	J 2 J 3 J 4
MORULA (30-64 c/) Morula (30-64 cells) JEUNE BLASTOCYSTE Early blastocyst BLASTOCYST Blastocyst BLASTOCYST SORTI DE LA Z.P. Hatching blastocyst DEBUT DE L'ELONGATION DU BLASTOCYSTE Stretching blastocyst 1er ACCOLEMENT ENTRE L'EMBRYON ET L'ENDOMETRE UTERIN 1st implantation of the embryo against the uterine endometritis IMPLANTATION Implantation	UTERUS 120 -145 H 140 -175 H 160 -210 H	J 5 J 6 J 7 J 8- J 9 J 10 J 11 J 23 ≈ J 35

SCHEMA N° 2 : DISPOSITIF PERMETTANT LA COLLECTE DES EMBRYONS AVEC LA SONDRE IMV-INRA 3 VOIES

6



INTERETS ET CONTRAINTES DU TRANSFERT EMBRYONNAIRE APPLIQUE A LA FAUNE SAUVAGE

INTERETS ET APPLICATIONS:

Les techniques de reproduction artificielle, tel le transfert embryonnaire, appliquées à la faune sauvage et particulièrement aux espèces menacées d'extinction, sont intéressantes à plusieurs niveaux:

* Gestion de la reproduction:

En premier lieu rappelons que le nombre de reproducteurs en captivité est souvent limité. C'est pourquoi les techniques artificielles de reproduction deviennent intéressantes, puisqu'elles permettent d'augmenter plus vite le nombre de produits que la reproduction naturelle. Ainsi nous pouvons d'ores et déjà citer l'exemple des trois femelles Bongo nées en 1984 à Cincinnati, des mêmes géniteurs (Dresser et al, 1984c); cet exemple sera repris plus amplement ultérieurement .

D'autre part ajoutons que les traitements hormonaux utilisés provoquent l'ovulation chez la femelle ainsi traitée. Ceci pourra donc s'appliquer sur des femelles en fin de carrière de reproduction, ayant un dysfonctionnement ovarien, ou incapables pour des raisons anatomiques, par exemple, de conduire une gestation à terme. On bénéficiera alors du potentiel de reproduction (ovocytes) de la femelle, sans pour autant lui faire porter de gestation supplémentaire, qui pourrait lui être fatale.

Enfin le fort taux de rejet maternel néonatal chez les espèces sauvages en captivité, pourrait être pallié par l'utilisation de receveuses d'espèces domestiques. Ceci fut réalisé avec succès pour quelques espèces: gaur, banteng, cheval de Przewalski, zèbre de Grant ... nous reprendrons plus en détail chacun de ces exemples dans la suite de notre exposé.

* Législation:

La Convention de Washington, du 3 mars 1973, fixe les limites d'importation des espèces sauvages, mais ne prévoit aucun alinéa particulier concernant l'importation éventuelle d'embryons. Il semble qu'il y ait là un vide juridique.

S'appuyant sur ce fait, certains auteurs envisageraient de collecter prochainement des embryons de Bongo dans leur milieu naturel (de Boer, 1986).

* Aspect économique:

L'importation d'embryons limiterait également les frais de transport, douane, acclimatation et quarantaine, occasionnés jusqu'ici par les échanges de reproducteurs qui sont régulièrement réalisés entre différents parcs zoologiques internationaux.

Enfin la congélation des embryons permet de différer le transfert dans le temps et dans l'espace, ceci favorisant une meilleure gestion des programmes de mise en place des embryons et par là même une réduction des frais engagés.

* Zootechnie:

La faune sauvage étant bien adaptée à certaines conditions écologiques difficiles et utilisée comme source de protéines dans de nombreux pays, elle peut à cet égard être gérée comme les animaux de rente. L'élevage des Cervidés en Nouvelle Zélande illustre ce propos. Dans ce cas précis, la maîtrise des performances est liée aux techniques de reproduction artificielle et le transfert embryonnaire fait partie intégrante des programmes de gestion et d'amélioration génétique.

* Intérêt scientifique:

Nous devons signaler ici l'intérêt particulier de l'Ordre des Primates et l'utilisation des singes en tant que modèle scientifique pour la médecine humaine. Les progrès réalisés en embryologie chez les singes peuvent être appliqués plus ou moins directement à l'embryon humain. Nous faisons référence ici à la détection précoce d'une anomalie génétique, exemple qui sera repris ultérieurement au cours de notre exposé.

Le transfert embryonnaire permet également une meilleure compréhension des structures et physiologie des relations foeto-maternelles. En effet, bien que tous les Bovidés, par exemple, aient une placentation épithélio-choriale, il est vraisemblable que le nombre des caroncules et cotylédons ainsi que leurs tailles, disposition et fonctionnement diffèrent d'une espèce à l'autre. Citons le buffle du Congo dont le placenta comporte à terme 30 cotylédons de 70 x 50 mm et l'Hippotrague noire 185 cotylédons de 30x20mm (Durrant et Benirschke, 1981).

Signalons aussi l'intérêt des micromanipulations embryonnaires, telle la bissection qui, par la réalisation de jumeaux homozygotes, fournit un matériel d'étude comparative privilégié.

Par ailleurs l'importation d'embryons offre une garantie sanitaire supplémentaire. Notons à ce titre les travaux réalisés au Kenya, qui permirent la constitution d'un noyau de bovins N'dama (*Bos taurus*) indemnes de toute maladie, en vue d'y étudier la trypanotolérance. Pour ce faire des embryons N'dama furent importés de Gambie et transférés avec succès sur des receveuses Boran (*Bos indicus*) (Jordt et al, 1986 ; Summers et Hearn, 1988).

* Génétique:

L'extinction d'une espèce représente la perte d'un patrimoine génétique, résultant d'une évolution séculaire. La constitution d'une banque d'embryons aiderait à la sauvegarde de ces populations (Stovers et Evans, 1984). Une telle banque de gènes permettrait d'autre part, le maintien de la diversité génétique des populations captives et préviendrait la consanguinité et les dérives génétiques.

En effet le nombre des reproducteurs en captivité est souvent faible. Ainsi le cheval de Przewalski ou le bison d'Europe se sont-ils très bien reproduits au début en captivité. Mais une trop forte consanguinité, liée à l'absence de renouvellement génétique, fut à l'origine d'une chute brutale du taux de fécondité de ces espèces (Chaduc, 1986).

Il existe deux façons de maintenir la variabilité génétique des espèces. Il faut établir soit une forte population d'animaux hétérozygotes, soit des sous-unités d'animaux d'homozygotie différente. La première hypothèse est difficile à réaliser, étant entendu qu'il est impossible de garder nécessairement tout individu de chaque espèce, pour garantir la diversité génétique. Il est donc important de subdiviser les espèces sauvages en sous-unités dans des environnements différents. Ainsi le maintien d'un grand nombre d'individus d'une espèce menacée dans un seul site, est une mauvaise stratégie en matière de génétique. Sans parler du risque encouru en cas d'accident ou d'épizootie. La gestion actuelle des populations sauvages captives satisfait à ce maintien du polymorphisme: l'échange d'animaux reproducteurs entre sous-unités est génétiquement équivalent à une disparition dans les conditions naturelles (Chesser et Smith, 1979).

Le transfert embryonnaire s'inscrit déjà dans cette recherche du maintien de la variabilité génétique. En effet, dans un premier temps cette technique favorise les échanges entre sous-unités (facilité de transport, diminution des coûts...). L'étape suivante est la collecte en milieu naturel, assurant le renouvellement des populations captives. De plus ceci permettrait la création de groupes génétiquement purs, dans l'optique d'une réintroduction future: augmentation des chances de survie d'animaux ayant un bagage génétique adapté à leur milieu naturel.

LES CONTRAINTES

L'insuffisance de données expérimentales constitue un premier élément limitant tout nouvel essai de ce type. En effet jusqu'à ce jour les tentatives sont trop peu nombreuses pour assurer le succès dans une espèce donnée. Ainsi une telle entreprise nécessite-t-elle un long travail de préparation: nécessité de connaître le cycle de reproduction de l'espèce considérée ou par extrapolation celui d'une espèce étroitement apparentée (chaleurs, ovulation, facteurs hormonaux ...). Au demeurant les protocoles utilisés dérivent de ceux mis au point sur les espèces domestiques. Il semble donc souhaitable d'affiner au préalable la technique sur une espèce sauvage commune.

D'autre part il n'y a aucun intérêt à choisir les receveuses au sein de l'espèce menacée concernée. Il faut donc rechercher une espèce voisine qui servira à cet effet. Une capacité d'hybridation naturelle des deux espèces peut être un critère de choix satisfaisant (Durrant et Benirschke, 1981; Hradecky et al, 1988).

Il semble que la mortalité embryonnaire précoce soit plus forte lors de transfert interspécifique, ceci étant principalement lié à une différence de production hormonale placentaire (Durrant et Benirschke, 1981). Ici se pose le problème des espèces pour lesquelles le corps jaune n'est pas nécessaire au maintien de la gestation, par exemple Ovis sp. ou a contrario nécessairement actif jusqu'à son terme, comme chez Capra sp.. Le transfert d'embryons caprins sur brebis, sans précautions particulières, est un échec assuré. La concordance des profils hormonaux représente donc une limite supplémentaire au transfert embryonnaire interspécifique.

Outre la nécessité d'un personnel qualifié, nous ajouterons les particularités liées aux espèces sauvages. En effet, la détection de leurs chaleurs est souvent un véritable problème: la femelle n'exteriorise pas toujours son oestrus, tandis que le mâle supporte rarement un harnais marqueur. D'autre part, l'immobilisation et la narcose sont indispensables car toute manipulation engendre un phénomène de stress chez l'animal, qui s'accompagne d'un relargage de prostaglandines endogènes et des conséquences énoncées précédemment -régression du corps jaune et avortement- (protocoles d'anesthésie: Chaduc, 1986).

Enfin le transfert embryonnaire interspécifique est limité par l'élevage du jeune. En effet non seulement la receveuse doit accepter le produit à la naissance, le nourrir, mais aussi veiller à son apprentissage comportemental. Un autre problème est de savoir si à l'âge adulte, ce produit sera disposé à se reproduire avec les individus de son espèce (de Boer, 1986).

LE TRANSFERT EMBRYONNAIRE CHEZ LA FAUNE SAUVAGE :
REALISATIONS ACTUELLES

Les documents consultés nous ont permis de faire une mise au point sur les transferts réalisés chez des Mammifères sauvages appartenant aux différents Ordres des Primates, Périssodactyles et Artiodactyles. Pour ces deux derniers nous rapporterons des réalisations effectuées au sein des Familles suivantes: Equidés, Camélidés, Cervidés et Bovidés.

Notons toutefois que le plus grand nombre d'exemples cités concerne la Famille des Bovidés, ce qui justifie le développement précédent relatif à l'énoncé de la technique appliquée aux Bovins domestiques.

ORDRE DES PRIMATES

Les travaux effectués s'inscrivent dans le cadre d'un programme de recherche en embryologie et immunologie du début de la gestation chez les Primates, y compris chez l'homme (Summers et Hearn, 1988).

Classiquement donneuse et receveuses appartiennent à la même espèce. Aucun traitement de polyovulation n'est entrepris, la collecte est effectuée chirurgicalement sur une femelle cyclée et fécondée naturellement. D'ordinaire, les receveuses suivent elles aussi un cycle naturel; toutefois les travaux de Summers et al (1985) montrent qu'il est possible d'induire une lutéolyse prématurée en administrant du cloprosténol, ce qui est sans conséquence sur le cycle suivant et sur la normalité des embryons obtenus ultérieurement. Il est à noter que certains auteurs ont récemment mis au point une technique de collecte cervicale, qui permettra d'alléger les procédés actuels (Goodeaux et al, 1988). Cependant ayant montré l'inefficacité du transfert cervical chez les Primates (Summers et Wenninck, 1984; Summers et al, 1987) les embryons sont toujours transférés chirurgicalement.

Les Primates ont fait l'objet des premiers essais de transplantation embryonnaire en faune sauvage. Ce sont donc pour ces espèces que les publications sont les plus anciennes, la première naissance en résultant datant de 1975.

L'étude a d'abord porté sur les Catarhiniens ou singes de l'ancien monde, en particulier les babouins pour lesquels la naissance d'un Papio cynocephalus issu de transfert embryonnaire eut lieu le 5 septembre 1975 (Kraemer et al, 1975). D'autres auteurs ont alors travaillé sur les macaques indiens ou singes rhésus (Macaca mulatta) en transférant des embryons dans l'utérus ou dans la corne opposée de femelles collectées une demi-heure auparavant. IL s'en suivit par cette technique la naissance d'un mâle en novembre 1975 et de trois femelles ultérieurement (Marston et al, 1977).

Les travaux les plus importants ont été réalisés par Summers et al (1984, 1987b) sur des Platyrrhiniens, ou singes du nouveau monde, appartenant à l'espèce Callithrix jacchus ou Ouistiti. Le transfert a porté sur des embryons aux stades 4-10 cellules et morula à l'état frais et à l'état congelé. Les taux de gestation résultants sont rapportés dans le tableau n°2, auquel nous devons ajouter les résultats de l'étude préliminaire de 1984, faisant état de la naissance de dix produits issus de onze morulae transférées sur neuf receveuses, dont six furent diagnostiquées gestantes à 40 jours, soit un taux de gestation de 66,6% pour cette première expérience.

Embryo stage and treatment	No. of embryos transferred	No. of recipients	No. of recipients pregnant				No. of young born
			Day 30	Day 60	Day 90	Term	
Day 4 (4-10 cell)							
Frozen-thawed							
DMSO	16	10	7 (70%)	7	5	5 (50%)	6
Glycerol	12	8	3 (37.5%)	1	1	1	1
Unfrozen controls	10	7	7 (100%)	7	7	7 (100%)	10
Day 7 (morula)							
Frozen-thawed							
DMSO	15	9	5 (55.6%)	5	5	4 (44.4%)	6
Unfrozen controls	10	7	6 (85.7%)	5	3	3 (50%)	5

Taleau n°2: Taux de gestation chez le ouistiti après transfert d'embryons à l'état frais et congelé (Summers et al., 1987b).

Ainsi au total 38 Ouistitis sont-ils nés sur une période de trois années et distribués ainsi:

- 25 issus d'embryons transplantés à l'état frais
- 13 issus d'embryons transplantés après décongélation

ou encore:

- 21 issus d'embryons transplantés au stade morula
- 17 issus d'embryons transplantés au stade 4-10 cellules

Ces résultats satisfaisants nous montre que la transplantation embryonnaire est, à l'heure actuelle, une technique convenablement maîtrisée chez les Primates et peut donner lieu à de futurs développements.

Toutefois la transplantation n'est pas la seule technique nouvelle de reproduction mise au point dans ces espèces. En effet dès 1983, une femelle Babouin est née de fécondation in vitro (Clayton et Kuehl, 1984). D'autre part la biopsie des embryons est elle aussi à l'étude. Elle consiste en un prélèvement de quelques cellules trophoblastiques et permettra d'établir des diagnostics précoces de sexage, d'anomalie génétique ou de maladie par utilisation de sondes ADN spécifiques : ces deux derniers exemples étant du plus haut intérêt dans le cas d'application à l'embryon humain.

Ainsi Summers et al (1988) rapportent la naissance de trois Ouistitis après transfert, à l'état frais, de cinq embryons et une naissance supplémentaire suite aux transferts après décongélation de trois embryons. Précisons que ces embryons avaient subi au préalable une biopsie.

L'avantage de la biopsie par rapport aux techniques de micromanipulation usuelles (bissection..) est l'absence de problème d'éthique, puisque dans ce cas les cellules prélevées n'appartiennent pas au bouton embryonnaire, mais au trophoblaste, qui donnera lieu aux annexes foetales et non à l'embryon.

ORDRE DES PERISSODACTYLES

FAMILLE DES EQUIDES:

Les Equidés sauvages se reproduisent en général bien en captivité. Toutefois du fait de la longueur de la gestation et de l'unicité du produit qui en résulte, le nombre de descendants se trouve limité. Ainsi apparaît le bien fondé de l'application de nouvelles techniques de reproduction.

Nous illustrerons notre propos par les travaux de Kydd et al (1985) et Summers et al (1987a), sur les espèces du cheval de Przewalski et du zèbre de Grant. A noter que cette espèce de zèbre n'est pas menacée, mais que son étude fut choisie comme modèle pour une application future à des espèces en voie de disparition, telle Equus zebra hartmannae ou Equus zebra grevyi.

Les tableaux n^{os} 3 et 4 ci-joints illustrent les taux de gestation après transferts dans chacune des deux espèces. L'étude a porté sur deux saisons complètes de reproduction (1983 et 1984) et chacune des donneuses recevait, après collecte, une injection de prostaglandines, permettant ainsi de recycler la femelle plusieurs fois au cours d'une même saison de monte. Deux juments de Przewalski et deux femelles zèbre de Grant furent choisies comme donneuses, tandis que les receveuses étaient soit des ponettes Welsh et New Forest soit des anesses domestiques.

Dans ces expériences les femelles en oestrus étaient détectées en présence d'un étalon. Notons toutefois les travaux de Durrant et Hoge (1988) sur l'utilisation de l'échographie pour mesurer les diamètres folliculaires afin de déduire le moment de l'ovulation.

Donor genotype	Number of embryo recoveries attempted	Number of embryos recovered	% Recovery rate
<i>E przewalski</i>	18	11	61
<i>E burchelli</i>	25	14	56
Total	43	25	58

Tableau n°3: Taux de collecte cervicale chez les Equidés sauvages (Kydd et al, 1985)

Type of transfer	No. of embryos transferred	Pregnancy established*	Pregnancy lost (days)	Pregnancy to term	Dead foals	Live foals
<i>E. przewalskii</i> in horse						
Surgical	9	7	3 (20-26) (34-40) (85-101)	4	1†	3
Cervical	2	0				
<i>E. hurchelli</i> in horse						
Surgical	5	3	1 (61-70)	2	1‡	1
<i>E. hurchelli</i> in donkey						
Surgical	7	2	2 (51-78) (292)§	0	—	—
Cervical	1	0				

*Recipients in which a conceptus could be detected by ultrasound examination of the uterus on Days 16-20 were classified as having a pregnancy established.

†Unruptured amnion.

‡Toxaemia (Day 350).

§Toxaemia (Day 292).

Tableau n°4: Taux de gestation chez des espèces domestiques après transfert d'embryons de cheval de Przewalski et de zèbre de Grant (Summers et al, 1987a).

La naissance de trois poulains Przewalski - 1 mâle et 2 femelles - et d'un zèbre de Grant, issu de transfert extraspécifique, est fort satisfaisante. A noter de plus, que des transplantations intraspécifiques chez cette espèce de zèbre ont conduit à des gestations à terme (après 364 et 355 jours) et que les donneuses recyclées furent elles-mêmes gestantes en fin de saison 1984.

Il est curieux de noter que le transfert des embryons de zèbre est plus fructueux sur la jument que sur l'anesse, alors que jusqu'ici on pensait le zèbre plus proche de l'âne que du cheval.

Ajoutons que la gestation qui s'allonge chez la jument portant des embryons de zèbre, confirme le contrôle du foetus et de son axe hypothalamo-hypophyso-adrénalien mature sur le déclenchement de la parturition.

En conclusion, chez les Equidés sans traitement de superovulation - incapacité technique à l'heure actuelle -, on peut escompter 6 à 8 embryons par femelle donneuse pour une saison (Kydd et al, 1985) ainsi que 2 à 4 produits, issus de transferts sur des femelles domestiques. En espérant que de telles tentatives se renouvelleront, ces premiers résultats restent au demeurant fort encourageants. Ces publications rapportent de plus une étude immunologique approfondie qui dépasse toutefois les limites de notre propos.

ORDRE DES ARTIODACTYLES

FAMILLES DES CAMELIDES:

Il est à signaler dans cette Famille la naissance d'un lama, Lama pacos, le 8 octobre 1984 issu d'un transfert embryonnaire intraspécifique.

Le problème posé dans cette espèce est la faible efficacité de la reproduction. En effet malgré un taux de fécondation voisin de 80%, on note une viabilité foetale inférieure à 50%. Ainsi près de la moitié des embryons meurent dans les deux premiers mois de la gestation. Ceci semble lié au fait que plus de 95% des gestations menées à terme, le sont dans la corne gauche. De fait même si l'ovulation apparaît sur chacun des deux ovaires avec la même fréquence, les chances de maintien de la gestation dans la corne utérine droite sont inférieures. Il existerait de plus, une fréquente migration des embryons de la corne droite vers la corne gauche et ceci indépendamment du lieu de résidence du corps jaune. Ainsi toute absence de migration pourrait être facteur de mortalité embryonnaire.

Dans ce cas précis le transfert embryonnaire prend un intérêt particulier, puisqu'il permet de placer l'embryon dans la corne utérine intéressante et par là même, d'augmenter le taux de gestation menée à terme.

Nous citerons donc le travail de Wiepz et Chapman (1985). Deux femelles lama ayant reçu 0,1mg de GnRH, 24 heures avant l'accouplement, furent collectées cervicalement 6 à 7 jours après celui-ci. Les receveuses furent aussi synchronisées avec les donneuses par une injection de GnRH. L'une des collectes fut infructueuse, tandis que l'autre livrait deux blastocystes épanouis, sortis de leur zone pellucide: l'un collapsé transféré "sans espoir" et l'autre d'excellente qualité qui devait poursuivre son développement normal.

FAMILLE DES CERVIDES:

Ces techniques n'ont pas fait l'objet à l'heure actuelle de recherches approfondies. Signalons toutefois la tentative réalisée en Pologne sur le cerf rouge, Cervus elaphus (Krzywinsky, 1987). Dans cette expérimentation, donneuses et receveuses furent synchronisées par l'injection de prostaglandines et la superovulation fut induite par l'administration de PMSG. Selon l'auteur une forte dose de PMSG (1750 UI) ne semble pas convenir aux animaux. Ceci est en accord avec les travaux de l'INRA, qui recommande une dose de 1000 UI 48 heures avant la fin d'un traitement progestérone (1)(Thimonier et Sempere, 1989). Ces derniers auteurs proposent également une induction de la polyovulation par administration de FSH à la fin d'un tel traitement (deux injections quotidiennes pendant quatre jours, à doses décroissantes).

Toutefois, comme pour les autres espèces, les réponses ovulaires sont très variables d'un individu à l'autre et dépendent de l'intensité de l'anoestrus. Comme chez les petits ruminants : ces réponses sont faibles chez les femelles allaitantes ou à une période trop éloignée de la saison de reproduction.

A l'heure actuelle certains s'intéressent par ailleurs à l'utilisation de la mélatonine, afin d'avancer la saison sexuelle, ceci dérivant des connaissances acquises chez les petits ruminants. Ainsi des essais effectués sur les cerfs rouges durant les jours longs de l'été, par injection, ingestion ou par la pose d'implant de mélatonine, ont permis d'avancer la date du premier oestrus de 15 à 40 jours (Barrell, 1987). Toutefois ces traitements "mélatonine" sont à utiliser avec précaution et nécessitent des mises au point importantes.

Il est à noter cependant que ces techniques de reproduction chez les Cervidés s'affirment dans certains pays, tels que la Nouvelle Zélande. A ce niveau, la maîtrise de la reproduction devient plus encore un atout économique et commercial. Le lecteur intéressé pourra se reporter à certains numéros de la revue The deer farmer, où publicité et petites annonces pourront le convaincre de cet état de fait (Novembre 1988, p.9).

La recherche se poursuivant, certains auteurs obtinrent un taux important de jumeaux et de triplets après l'administration d'un "cocktail" progestérone-PMSG à des femelles cerfs rouges, en dehors de leur saison de reproduction normale; ceci prouve par ailleurs que la biche peut allaiter plusieurs faons à la même époque, ce qui n'est pas sans intérêt pour le développement de l'élevage des Cervidés (Moore, 1987).

Signalons enfin que la France n'est pas en retard dans ce domaine, puisque des études de fécondation in vitro chez la biche sont entreprises à l'INRA en collaboration avec le Muséum d'histoire naturelle.

N.B.: (1) Le traitement progestérone consiste à la pose d'une éponge vaginale imprégnée de progestérone ou de progestagènes (FGA:acétate de fluorogestone ou MAP:acétate de médroxyprogestérone)

FAMILLE DES BOVIDES:

Comme nous l'avons signalé précédemment, c'est pour cette famille que les documents consultés nous permettent de relater le plus grand nombre d'essais réalisés. La systématique des espèces étant sujette à discussion, précisons d'emblée que nous avons pris le parti de classer les Ovinés comme sous-famille des Bovidés. Ainsi commencerons nous par les Ovinés avant d'étudier les cas des Bovinés et des Antilopes.

LES OVINES:

Le nombre de publications relatant le succès du transfert embryonnaire extraspécifique appliqué aux Ovinés est faible. Toutefois certains auteurs font état de la naissance de mouflons, *Ovis musimon*, issus de transplantation embryonnaire sur ovins domestiques (Summers, 1986; Durrant et Benirschke, 1981). N'ayant pu obtenir à ce jour le texte original, nous ne sommes pas en mesure de rendre compte du développement de cette expérimentation, il nous a paru toutefois important de mentionner un tel succès dans le présent rapport (Bunch et al, 1977, J. Wildl. Manage. 41:726).

Ajoutons à cette étude l'exemple du transfert embryonnaire intraspécifique réalisé chez le mouton Barbados (Oosterhuis et Durrant, 1981). Des études préliminaires de superovulation avaient permis de collecter sur deux femelles Barbados traitées 12 et 11 embryons au stade 8 cellules. Dans le cas présent la superovulation "attendue" après injection de 750 UI de PMSG à la donneuse n'a pas eu lieu. Ainsi un seul embryon 8 cellules fut-il collecté et transféré chirurgicalement sur une receveuse Barbados synchronisée. Le diagnostic de gestation fut établi par des dosages radio-immunologiques de la progestérone et 151 jours après le transfert, naquit un petit mâle Barbados de 2,5 kg.

LES BOVINES:

Les documents consultés nous ont permis de relater des essais de transfert embryonnaire pour les trois espèces suivantes: Bubalus bubalis, Bos gaurus et Bibos banteng. Nous relatons ici les principales données expérimentales.

Le Buffle d'eau: Bubalus bubalis

Dans cette espèce des transferts embryonnaires intraspécifiques ont été tentés en 1983 par Drost et collaborateurs. Le traitement de superovulation consista en une administration de FSH et prostaglandines et huit receveuses furent synchronisées, selon le protocole décrit précédemment chez les bovins domestiques. La collecte et le transfert furent réalisés par la voie cervicale. Seul un blastocyste épanoui fut collecté et transféré, malgré l'irrégularité de sa zone pellucide; il donna naissance à un petit buffle 300 jours plus tard.

Cette même équipe tenta le transfert de deux morulae de bovin domestique sur deux bufflisses, mais malheureusement ceci ne conduisit qu'à une résorption embryonnaire et un avortement (Drost, 1983).

Enfin signalons les essais de superovulation par injection de PMSG, qui ne semble pas satisfaisante dans cette espèce - aucun embryon collecté malgré la présence de plusieurs corps jaunes - mais qui fait l'objet actuellement d'une étude complémentaire (Sharifuddin et Jainudeen, 1984).

Le Gaur: Bos gaurus

L'hybridation "naturelle" du Gaur avec les bovins domestiques indiens, serait une des raisons de sa disparition de son milieu d'origine sud asiatique; ajoutons à cela la compétition alimentaire et l'introduction des maladies par les troupeaux domestiques.

Connaissant cette hybridation potentielle, certains auteurs ont tenté avec succès de transférer des embryons Gaur sur des femelles Holstein. Ainsi naquit en 1981 le premier

produit exotique issu de mère porteuse domestique (Stover, 1981).

Une femelle Gaur, choisie comme donneuse, fut superovulée par administration de 2000 UI de PMSG et la synchronisation Gaur-Holstein fut assurée par l'injection de prostaglandines. La collecte cervicale, femelle placée en décubitus sternal, permit la récolte de cinq blastocystes, dont quatre furent transférés en frais chirurgicalement.

L'un d'entre eux seulement se développa jusqu'au terme, les autres furent sujets à une résorption embryonnaire et deux avortements à 4 et 9,5 mois de gestation (Stover et al 1981). Dans ce dernier cas une étude histologique du placenta fut entreprise et révéla un défaut de développement des microvillosités cotylédonnaires et par conséquent un fonctionnement insuffisant de l'association cotylédons-caroncules utérins. La cause de cette hypotrophie est, à ce jour, encore indéterminée (Hradecky et al, 1988).

Après cette première collecte la femelle Gaur donna elle-même naissance à deux produits: une femelle en 1981 et un mâle en 1982; elle fut ensuite recollectée en 1983. La superovulation, induite par l'administration de 2500 UI de PMSG, conduisit à la récolte de 12 embryons: 4 dégénérés et 8 viables, aux stades jeune blastocyste à blastocyste épanoui. Ceux-ci furent directement congelés selon la méthode simplifiée de Pettit 1983 (Stover et Evans, 1984). Le transfert des embryons après décongélation eut lieu à différentes dates, mais aucune gestation ne fut enregistrée (Summers, 1986; Dresser, 1986).

Le Banteng: Bibos banteng

Dans cette espèce également un transfert embryonnaire fut réalisé avec succès sur des Pie rouge des Plaines. La superovulation fut réalisée à l'aide de 3000 UI de PMSG et le transfert fut couronné par la naissance de deux Banteng quelques mois plus tard (Wiesner et al, 1984; Dresser, 1986).

A noter qu'une expérience similaire fut entreprise sans succès au parc zoologique de Rotterdam, sur des receveuses Française Frisonne Pie Noire (Klein, 1985). Selon l'auteur l'expérience devrait être renouvelée: attendons une publication ultérieure...

LES TRAGELAPHINES:

Dans ces espèces les expérimentations ont d'abord porté sur l'Eland du Cap, espèce commune d'antilope qui se reproduit bien en captivité, étroitement apparentée avec certaines espèces plus rares et pouvant servir si possible de receveuse en cas de transfert embryonnaire réalisé sur une espèce d'antilope menacée. Nous illustrerons ceci par l'exemple du Bongo.

L'Eland du cap: *Tragelaphus oryx*

Le premier traitement de superovulation, composé de 1800 UI de PMSG, permit la récolte de huit embryons et deux ovocytes non fécondés. Six embryons furent transférés sur une femelle Eland et cinq receveuses Holstein mais cela ne donna lieu à aucune gestation (Dresser et al, 1982).

Les expériences se multiplièrent et le traitement fut quelque peu modifié: la PMSG fut abandonnée au profit de 50 mg de FSH (5x10 mg) additionnés d'une prostaglandine le quatrième jour du traitement FSH.

Une femelle Eland a ainsi produit jusqu'à 31 embryons mais les tentatives de transfert sur Holstein furent vaines. Des embryons Eland furent aussi transplantés sans succès sur des femelles Holstein inséminées sept jours auparavant, dans l'hypothèse où les embryons Holstein in utero favoriseraient la nidation des embryons exotiques, par un signal embryonnaire supérieur et afin d'obtenir des jumeaux hétérogénériques. Au demeurant cette hypothèse n'a pas encore été ni infirmée, ni confirmée avec exactitude (Durrant et Benirschke, 1981).

Ces échecs répétés permirent de conclure que les bovins domestiques ne semblaient pas être une espèce convenable pour le portage des embryons exotiques d'antilopes.

Les expériences de transfert intraspécifique qui suivirent furent plus fructueuses. Selon le protocole hormonal déterminé précédemment, le taux de collecte moyen était de 8 à 10 embryons par femelle donneuse traitée, collectée. La première naissance survint en juin 1983, suite à un transfert d'embryon fraîchement collecté et la seconde en décembre 1983, relative à un transfert d'embryon après

décongélation. Malheureusement, après 274 jours de gestation, la parturition dystocique entraîna la mort de ce produit (Dresser et al, 1984). Toutefois il semblait que la technique ainsi mise au point, pouvait être appliquée à d'autres espèces d'antilopes.

Le Bongo: Tragelaphus euryceros

Les essais réalisés dans cette espèce démontrent tout l'intérêt de l'embryon, en tant qu'individu à part entière, facilement stockable et transportable. En effet ces expériences ont été réalisées conjointement par les parcs zoologiques de Los Angeles, ayant pour pensionnaires les donneuses et de Cincinnati, hébergeant les receveuses, distants tous deux de 3000 kilomètres; le transport fut assuré par la voie des airs.

Les expériences débutèrent en août 1983, suite aux succès remportés dans l'espèce citée précédemment. Deux femelles Bongo furent superovulées selon le protocole décrit chez l'Eland du Cap, mais une seule fut collectée, la seconde n'étant pas venue en oestrus le jour programmé. Sept embryons furent récoltés dont cinq viables furent transférés sur une femelle Bongo et quatre femelles Eland (Dresser et al, 1984a). Collecte et transferts furent réalisés en moins de douze heures, durant lesquelles les embryons furent maintenus à une température de 35°C. Les résultats furent "fort" satisfaisants puisqu'en juin 1984 naquirent deux femelles Bongo: l'une de la femelle Bongo synchronisée et l'autre d'une mère porteuse Eland (Der Zoofreund, 1985). Après respectivement 285 et 290 jours de gestation. A ce titre, il est intéressant de noter l'allongement de la période de gestation chez l'Eland du Cap, dont la durée usuelle est comprise entre 254 et 277 jours, ce qui confirme ce que nous avons rapporté précédemment à propos des Equidés (Dittrich, 1972).

La donneuse fut recyclée un mois après la collecte et donna naissance elle même à une femelle Bongo en août 1984 (Dresser et al, 1984c).

En 1984 une nouvelle tentative fut réalisée, donnant lieu à la récolte de sept embryons qui furent congelés selon un procédé classique dans l'azote liquide (Dresser et al, 1985). Après décongélation six embryons jugés viables furent transférés sur des receveuses Eland, mais aucun résultat positif ne fut obtenu (Summers et Hearn, 1988).

N.B.: En juin 1984 la femelle Eland a tout de suite accepté "son" produit contrairement à la jeune mère porteuse Bongo, qui ne put allaiter, faute de quoi un lait artificiel fut préparé à partir de lait de vache enrichi en vitamines.

AUTRES SOUS-FAMILLES DE BOVIDES:

A ce jour de nouvelles expérimentations de superovulation et de transplantation embryonnaire ont été tentées chez différentes espèces d'antilopes. A citer d'une part les essais réalisés sur l'Antilope suni, Neotragus moschatus zuluensis (Raphaël et al, 1988). D'autre part la recherche actuelle entreprise en Arabie Saoudite sur l'Oryx d'Arabie, en vue de sa réintroduction dans son milieu d'origine (Darroze, communication personnelle).

CONCLUSION

Le transfert embryonnaire appliqué à la faune sauvage est une technique nouvelle de reproduction, qui contribue à la préservation des espèces. Toutefois la recherche doit être poursuivie, avant que cette technologie ne soit pratiquement appliquée comme elle l'est avec les espèces domestiques.

L'application possible aux espèces menacées est du plus grand intérêt. En effet le transfert embryonnaire permet de multiplier le nombre de ces espèces, en captivité, sans apport supplémentaire de la faune sauvage originelle.

Les résultats déjà obtenus sont encourageants et prometteurs. Ainsi permettront-ils de prendre quelque avance et de ne plus rester face à un quitte ou double pour la reproduction d'une espèce qui s'éteint.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES:

- BARRELL (G.K.) (1987): Melatonin for early fawning. The Deer Farmer, Octobre, 41-42.
- de BOER (L.E.M.) (1986): Reageerbuisdieren en draagmoeders in de dierentuin. Dieren, Septembre-Octobre, 74-81.
- CHADUC (F.) (1986): Techniques artificielles de reproduction appliquées à la Faune Sauvage. Etude de faisabilité sur une antilope africaine: l'Eland de Derby. Thèse med. vét., Lyon 1986.
- CHESSER (R.K.), SMITH (M.H.) et BRISBIN (I.L., Jr) (1979) : Management and maintenance of genetic variability in endangered species. Int. Zoo Yb. 20: 146-154.
- CLAYTON (O.) et KUEHL (T.J.) (1984): The first successful in vitro fertilisation and embryo transfert in a nonhuman Primate. Theriogenology 21:228.(Abstract).
- DER ZOOFREUND (1985): Eland gebar Bongokalb. Der Zoofreund, Zeitschrift der Zoofreunde Hannover e. V., Décembre, 58: p.9.
- DITTRICH (L.) (1972):Gestation periods and age of sexual maturity of some African antelopes. Int. Zoo Yb. 12: 184-187.
- DRESSER (B.L.) (1983): Embryos of the African eland (Tragelaphus oryx).In Proceedins of the owners and managers workshop of the IXth annual meeting of the international embryo transfert society: 9-11. La Porte: International Embryo Transfert Society.
- DRESSER (B.L.) (1986): Embryo transfert in exotic bovids. Int. Zoo Yb. 24/25: 138-142.

DRESSER (B.L.), KRAMER (L.), DAHLAUSEN (R.D.), POPE (C.E.) et BAKER (R.D.) (1984a): Cryopreservation followed by successful transfer of African elan antelope (Tragelaphus oryx) embryos. In Proc. 10th int. Congr. Anim. Reprod. artif. Insem., Urbana-Champaign, 1984: 191-193.

DRESSER (B.L.), KRAMER (L.), DAHLAUSEN (R.D.) et BLAUSER (C.) (1982): Superovulation of African eland (Taurotragus oryx) and interspecies embryo transfer to Holstein cattle. Theriogenology, 17, 86.(Abstract).

DRESSER (B.L.), POPE (C.E.), KRAMER (L.), KUEHN (G.) DAHLAUSEN (R.D.), MARUSKA (E.J.), REECE (B.) et THOMAS (W.D.) (1984b): Nonsurgical embryo recovery and successful interspecies embryo transfer from Bongo (Tragelaphus euryceros) to Eland (Tragelaphus oryx). A. Proc. Am. Assn. zoo Vet. 1984: 180.(Abstract).

DRESSER (B.L.), POPE (C.E.), KRAMER (L.), KUEHN (G.), DAHLAUSEN (R.D.), MARUSKA (E.J.), REECE (B.) et THOMAS (W.D.) (1984c): Successful transcontinental and interspecies embryo transfer from Bongo antelope (Tragelaphus euryceros) at the Los Angeles Zoo to Eland (Tragelaphus oryx) and Bongo at the Cincinnati Zoo. Proc. AAZPA a. Conf. 1984: 166-168.

DRESSER (B.L.), POPE (C.E.), KRAMER (L.), KUEHN (G.), DAHLAUSEN (R.D.), MARUSKA (E.J.), REECE (B.) et THOMAS (W.D.) (1985): Birth of Bongo antelope (Tragelaphus euryceros) to Eland antelope (Tragelaphus oryx) and cryopreservation of Bongo embryos. Theriogenology 23, 190.(Abstract).

DRESSER (B.L.), POPE (C.E.), KRAMER (L.), KUEHN (G.), DAHLAUSEN (R.D.) et THOMAS (W.D.) (1984): Superovulation of Bongo antelope (Tragelaphus euryceros) and interspecies embryo transfer to African eland (Tragelaphus oryx). Theriogenology 21: 232. (Abstract).

DROST (M.) (1983): Reciprocal embryo transfer between water buffaloes and cattle. In Proceedings of the annual meeting of the Society for Theriogenology, Nashville, Tennessee, 21-23 September 1983. Hastings, NE: Society for Theriogenology.

- DROST (M.), WRIGHT (J.M.), CRIPE (W.S.) et RICHTER (A.R.) (1983): Embryo transfer in water buffalo (Bubalus bubalis). Theriogenology 20 (5): 579-584.
- DURRANT (B.) et BENIRSCHKE (K.) (1981): Embryo transfer in exotic animals. Theriogenology, 15, 77-83.
- DURRANT (B.S.) et HOGE (M.L.) (1988): Ultrasonography in a Przewalski's Horse mare, Equus przewalskii. Theriogenology, 29, 240.(Abstract).
- GOODEAUX (L.L.), ANZALONE (C.A.), GRAVES (K.H.) et VOELKEL (S.A.) (1988): Successful nonsurgical collection of Rhesus monkey embryos. Theriogenology, 29, 249.(Abstract).
- HRADECKY (P.), STOVER (J.) et STOTT (G.G.) (1988): Histology of a heifer placentome after interspecies transfer of a Gaur embryo. Theriogenology, 30 (3): 593-604.
- INRA (1980): Blastographie du développement précoce de l'embryon bovin superovulé. El. et Ins. 178, 27p.
- JORDT (T.), MAHON (G.D.), TOURAY (B.N.), NGULO (W.K.), MORRISON (W.I.), RAWLE (J.) et MURRAY (M.) (1986): Successful transfer of N'dama embryos into Boran recipients. The Veterinary Record, Septembre 6, 246-247.
- KLEIN (S) (1985): Maîtrise de la reproduction artificielle heureux événements au zoo de Rotterdam. Semaine Vétérinaire, 13 avril 1985.
- KRAEMER (D.C.), MOORE (G.T.), KRAMEN (M.A.) (1976): Baboun infant produced by embryo transfer. Science, 192, 1246-1247.
- KRZYWINSKI (A.) (1987): Artificial insemination and embryo transfer in deer: applying these methods for propagating endangered species. In C. M. Wemmer Editor. Biology and management of the Cervidae. Smithsonian Institution Press. Washington DC London. 443-449.

- KYDD (J.), BOYLE (M.S.), ALLEN (W.R.), SHEPHARD (A.) et SUMMERS (P.M.) (1985): Transfer of exotic equine embryos to domestic horses and donkeys. *Equine vet. J. Suppl.* 3: 80-83.
- MARSTON (J.H.), PENN (R.) et SIVELLE (P.C.) (1977): Successful autotransfer of tubal eggs in the rhesus monkey (Macaca mulatta). *J. Reprod. Fert.*, 49, 175-176.
- OOSTERHUIS (J.E.) et DURRANT (B.S.) (1981): Embryo collection and transfer in Barbados sheep. *A. Proc. Am. Assn. zoo Vet.*, Seattle, 1981, 124. (Abstract).
- RAPHAEL (B.L.), LOSKUTOFF (N.M.), NEMEC (L.A.), WOLFE (B.A.), HOWARD (J.G.) et KRAEMER (D.C.) (1988): Hormonal characterization and manipulation of the oestrus cycle and nonsurgical embryo recovery in Suni antelope. *Theriogenology*, 29, 292. (Abstract).
- SHARIFUDDIN (W.) et JAINUDEEN (M.R.) (1984): Superovulation and non-surgical recovery of ova in the Water buffalo (Bubalus bubalis). In *Proc. 10th int. Congr. Anim. Reprod. artif. Insem.*, Urbana-Champaign, IL(2): 240. (Abstract).
- STEINER (M.) (1988): Bissection et congélation des embryons: Principe, méthode et résultats de la cryoconservation et de la bissection des embryons de souris. Congélation du demi-embryon. Etude expérimentale de la survie in vitro du demi-embryon de souris congelé. Mémoire, 54p. UNCEIA, Maisons Alfort.
- STOVER (J.) (1981): Manhar the Magnificent: Born with two mothers. *Animal Kingdom, The Zoological Society Magazine*, oct-nov. 1981.
- STOVER (J.) et EVANS (J.) (1984): Interspecies embryo transfer from Gaur (Bos gaurus) to domestique Holstein cattle (Bos taurus) at the New York zoological park. In *Proc. 10th int. Congr. Anim. Reprod. artif. Insem.*, Urbana-Champaign, 243-244.
- STOVER (J.), EVANS (J.) et DOLENSEK (E.P.) (1981): Inter species embryo transfer from the Gaur to domestic Holstein. *A. Proc. Am. Assn. zoo Vet.*, Seattle, 1981, 122-124.

- SUMMERS (P.M.) (1986): Collection, storage and use of mammalian embryos. *Int. Zoo. Yb.* 24/25: 131-138.
- SUMMERS (P.M.), CAMPBELL (J.M.) et MILLER (M.W.) (1988): Normal in-vivo development of marmoset monkey embryos after trophoctoderm biopsy. *Human reproduction*, 3, (3), 389-393.
- SUMMERS (P.M.) et HEARN (J.P.) (1988): Embryo manipulation for the regulation of reproduction and disease. *Symp. zool. Soc. Lond.* 60: 119-134.
- SUMMERS (P.M.), SHEPHARD (A.M.), HODGES (J.K.), KYDD (J.), BOYLE (M.S.) et ALLEN (W.R.) (1987): Successful transfer of the embryos of Przewalski's horses (*Equus przewalskii*) and Grant's zebra (*E. burchelli*) to domestic mares (*E. caballus*). *J. Reprod. Fert.* 80, 13-20.
- SUMMERS (P.M.), SHEPHARD (A.M.), TAYLOR (C.T.) et HEARN (J.P.) (1987): The effects of cryopreservation and transfer on embryonic development in the common marmoset monkey, *Callithrix jacchus*. *J. Reprod. Fert.* 79, 241-250.
- SUMMERS (P.M.), WENNINK (C.J.) et HODGES (J.K.) (1985): Cloprostenol-induced luteolysis in the marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). *J. Reprod. Fert.* 73, 133-138.
- THIMONNIER (J.) et SEMPERE (A.) (1989): La reproduction chez les Cervidés. *INRA Prod. Anim.* 1989, 2, (1), 5-21.
- WIEPZ (D.W.) et CHAPMAN (R.J.) (1985): Non-surgical embryo transfer and live birth in a Llama. *Theriogenology*, 24, 2, 251-257.
- WIESNER (V.H.), LAMPETER (W.W.) et RIETSCHER (W.) (1984): Erfahrungen beim unblutigen Embryotransfer vom Banteng auf Hausrinder. *Int. Symp. Erkrank. Zootiere* 26.