

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET  
POPULAIRE**

**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'ALGER**

**Magister**

**En Médecine Vétérinaire**

**Option : Nutrition et Reproduction des Bovins**

*Thème*

**Utilisation du sperme du coq comme modèle  
d'étude pour l'espèce bovine**

**Préparé par: TOUAZI Leg-hel**

Membres du jury :

Présidente: Mme **TEMIM-KESSACI S**

Professeur (ENSV Alger)

Examineurs : Mr **BENBAREK H**  
Mme **AIN BAZIZ H**  
Mr **LAMARA A**

Professeur (Université de Mascara)  
Professeur (ENSV Alger)  
MCB (ENSV Alger)

Promoteur: Mr **IGUER-OUADA M**

Professeur (UAMB)

**Année 2009-2010**

---

## Remerciements

*Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde reconnaissance au Professeur Mokrane IGUER-OUADA pour m'avoir accordé sa confiance et m'avoir guidée dans mes réflexions scientifiques tout au long de ce travail. Il m'a initié à la biologie à la biologie de la reproduction et a su me faire partager son enthousiasme pour ce domaine. Que ce mémoire soit le témoignage de toute ma gratitude pour ses précieux conseils, pour son soutien ainsi que pour les nombreuses discussions que nous avons eues, si riches en enseignements tant sur le plan scientifique qu'humain.*

*Je remercie le Professeur S. TEMIM-KESSACI de m'avoir fait l'honneur d'être la présidente du jury de ce travail.*

*Mes remerciements s'adressent également à Monsieur le Professeur BENBAREK, au Dr Ain BAAZIZ et Dr Lamara d'avoir accepté d'être les examinateurs de ce travail.*

*Mes plus chaleureux remerciements s'adressent à Mr H. Benbarek, Professeur à l'université de Mascara qui par ses conseils a fortement enrichi ma formation. J'ai beaucoup appris à son contact et je voudrais lui témoigner toute ma reconnaissance pour ces commentaires, son aide et son soutien.*

*Je voudrais vivement remercier Mr CHELLALI Mustapha le propriétaire de l'exploitation avicole d'Oran pour m'avoir accueillie si chaleureusement chez lui, et m'a accordé tous les moyens pour la bonne réussite de l'expérimentation. Je tiens également à remercier l'ensemble du personnel de la ferme pour leurs gentillesse et leurs disponibilités, et particulièrement les Vétérinaires et le technicien.*

*Enfin, je voudrais remercier tous mes amis qui ont participé à la réalisation de ce travail, je pense particulièrement au Dr YAHI Krimou et Mr ABERKANE Boubakeur.*

---

# Table des matières

<b>I. Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>II. Revue de la littératurei.....</b>	<b>4</b>
<b>II.1. Introduction à la reproduction des oiseauxdomestiques.....</b>	<b>4</b>
II. 1. 1. Lesparticularitésgénétiques.....	4
II. 1. 3. Les cycles de reproduction des oiseaux.....	5
II. 1. 3. 1. L'influence de la lumière dans les cycles de reproduction des oiseaux.....	5
II. 1. 3.2. Le déclenchement saisonnier.....	5
II. 1. 3.3. Le déclenchement journalier de la ponte.....	6
II. 1. 3.4. Le cycle de reproduction de la poule.....	6
<b>II.2. L'anatomie de l'Appareil génital femelle.....</b>	<b>6</b>
II. 2. 1. L'ovaire.....	7
II.2.2. L'oviducte.....	8
II.2.2.1. L'infundibulum.....	8
II.2.2.2. Le magnum.....	8
II.2.2.3. L'isthme.....	8
II.2.2.4. L'utérus.....	8
II.2.2.5. Lajonction utéro-vaginale.....	9
II.2.2.6. Le vagin.....	9
II. 2.2.7. Le stockage des spermatozoïdes dans l'oviduct.....	9
<b>II.3. L'anatomie de l'appareil génital mâle.....</b>	<b>9</b>
II. 3. 1. Les testicules.....	10
II.3.2. Voies déférentes.....	10

---

II.3.3. L'appareil copulateur.....	10
II.3.4. La spermatogenèse.....	11
II.3.4.1. Les spermatozoïdes.....	13
II. 3.4.2. Le plasmaséminal.....	13
<b>II.4. Le contrôle du développement testiculaire dans les espèces avicoles.....</b>	<b>13</b>
II.4. 1. Rôle de la photopériode.....	13
<b>II.5. Reproduction naturelle, choix des mâles et insémination artificielle.....</b>	<b>14</b>
II.5.1. La reproduction naturelle.....	14
II.5.2. Choix des mâles futurs reproducteurs.....	14
II.5.2.1. Critères d'élimination des mâles reproducteurs.....	15
II.5.3. L'insémination artificielle.....	16
II.5.3.1. Pourquoi l'insémination artificielle.....	16
II.5.3.2. Quelle dose de sperme inséminer.....	17
II. 5.3.3. Lieu et moment idéal d'insémination.....	17
II. 5.3.4. Faut-il ou non utiliser un dilueur.....	18
II. 5.3.5. La collecte de la semence.....	19
II. 5.4. Caractéristiques de la production spermatique du coq.....	19
<b>II.6. Méthodes d'évaluation du sperme aviaire.....</b>	<b>20</b>
II.6.1. Les Méthodes traditionnelles.....	20
II.6.1.1. Mesure de la concentration spermatique.....	20
II. 6.1.2. Evaluation de la morphologie spermatique.....	21
II. 6.1.3. Evaluation de la viabilité des spermatozoïdes.....	21
II. 6.1.4. Evaluation de la mobilité spermatique.....	22

---

II. 6.2. Les nouvelles méthodes d'évaluation du sperme aviaire.....	22
II. 6.2. 1. Mesure de la concentration.....	23
II. 6.2.1.1. Le spectrophotomètre.....	23
II.6.2.1.2. Analyse semi-quantitative.....	23
II.6.2.1.3. Cryométrie de flux.....	23
II. 6.3. Evaluation de la mobilité des spermatozoïdes.....	24
II. 6.3. 1. L'analyse informatique de la mobilité spermatique.....	24
II.6.4. Test de fonctionnalité du sperme aviaire.....	25
II. 6.4. 1. Activité métabolique du sperme.....	25
II.6.4.2. Interaction sperme ovule.....	25
II. 6.4.3. Intégrité de la membrane plasmatique.....	26
II.6.4.4. Intégrité génétique du sperme.....	26
III. Matériels et méthodes.....	28
<b>III.1. Animaux.....</b>	<b>28</b>
<b>III.2. Récolte et analyse de la semence.....</b>	<b>29</b>
III. 2. 1. Récolte de la semence.....	29
III.2.2. Stockage de la semence.....	29
III.2.3. Analyse de la semence.....	30
III. 2.3. 1. Volume de l'éjaculat.....	30
III.2.3.2. Motilité massale.....	30
III.2.3.3. Motilité progressive.....	30
III. 2.3.4. Concentration (nombre de spermatozoïdes/ ml).....	31
<b>III.3. L'insémination artificielle.....</b>	<b>31</b>

---

III.3.1. Choix des mâles.....	32
III.3.2. Matériels d'insémination artificielle.....	32
III.3.3. Dose de sperme inséminé et intervalle d'IA.....	32
III.3.4. Incubation des œufs.....	32
III. 3.5. Evaluation de la fertilité.....	33
<b>III.4. Analyses statistiques.....</b>	<b>33</b>
IV. Résultats et Discussion.....	34
<b>IV.1. Evaluation des paramètres spermatique aviaire.....</b>	<b>34</b>
IV. 1.1. Introduction.....	34
IV. 1.2. Concentration spermatique.....	34
IV. 1.3. Motilité massale.....	37
IV. 1.4. Mobilité progressive.....	39
IV. 1.5. Variations de la concentration spermatique en fonction dupoids.....	41
<b>IV.2. Insémination artificielle et évaluation de la fertilité.....</b>	<b>42</b>
IV. 2.1. Durée de la période fertile chez la poule.....	42
IV. 2.2. Intervalle IA – IA.....	43
IV.2.3. Doses de sperme inséminées et fertilité.....	46
IV.2.5. Taux d'éclosions.....	48
IV.2.6. Taux d'éclosions pendant la période d'inséminationartificielle.....	49
<b>V. Conclusion.....</b>	<b>50</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>52</b>

---

## *Abréviations*

**AQS** : Analyseur de la qualité du sperme).

**CA**: Comet assay

**DF**: durée de fertilité

**GUV** : glandes utéro-vaginales

**IA** : Insémination artificielle

**IMS** : Index de mobilité du sperme

**IPVL** : Couche périvitelline interne

**MM**: Motilité massale

**MP** : Motilité progressive

**PI** : Propidium iodide

**SCSA** : Sperm chromatin structure assay

**SPZ** : Spermatozoïde

---

## *Figures*

**Figure 1:** Appareil génital femelle

**Figure 2:** Diagramme de la spermatogenèse

**Figure 3:** Graphe en point représentant les variations de concentrations spermatiques individuelles des coqs de deux souches (Hubbard et Arbor Acres) en fonction du numéro d'éjaculats.

**Figure 4 :** Graphe en boîte, représentant les concentrations spermatiques des mâles de deux souches Hubbard et Arbor acres (concentration en  $10^9$  spz/ml). La ligne du milieu représente la médiane.

**Figure 5:** graphe de cellules montrant les variations des concentrations spermatiques individuelles de trois éjaculats des coqs de deux souches Hubbard et Arbor acres.

**Figure 6:** Graphe en point, présentant les variations de la mobilité massale des coqs de deux souches (Hubbard et Arbor Acres) en fonction du numéro d'éjaculats.

**Figure 7:** graphe des cellules montrant la mobilité massale des spermatozoïdes des coqs de deux souches Hubbard et Arbor acres en fonction des coqs.

**Figure 8:** Graphe en boîte montrant la motilité massale du sperme des coqs de deux souches Hubbard et Arbor acres. La ligne du milieu représente la médiane.

**Figure 9:** Graphe en point, montrant les variations de la motilité progressive du sperme des coqs de deux souches Hubbard et Arbor acres en fonction du numéro d'éjaculats.

**Figure 10:** Graphe en boîte montrant la motilité progressive du sperme des coqs de deux souches Hubbard et Arbor acres. La ligne du milieu représente la médiane.

**Figure 11:** graphe de cellules montrant les mobilités progressives individuelles du sperme des coqs de deux souches Hubbard et Arbor acres.

**Figure 12:** Courbe montrant les variations des concentrations spermatiques en fonction du poids des coqs des deux souches Hubbard et Arbor acres.

**Figure 13:** Courbe de la durée de fertilité en reproduction naturelle des neufs issus de poules (Hubbard Classic) isolées de tout contact avec les coqs sur une durée de 20 jours.

---

**Figure 14:** Figure montrant la fréquence des intervalles ( en jours) entre deux inséminations pratiquées sur des poules (Hubbard Classic) à partir de 51 semaines d'âges.

**Figure 15:** Graphe représentant les variations de doses de semence utilisées en IA (A), et les taux d'éclosions correspondant pour chaque dose (B).

**Figure 16:** taux de ponte hebdomadaire. Chaque point représente la production moyenne d'œufs, du guide, du groupe témoin et du groupe de femelles inséminées artificiellement.

**Figure 17:** Taux d'éclosion hebdomadaire. Chaque point représente le taux moyen d'éclosion du guide, du groupe témoin et du groupe de femelles inséminées.

**Figure 18:** Taux d'éclosion hebdomadaire pendant la durée de l'expérimentation. Chaque point représente le taux moyen d'éclosion du guide, du groupe témoin et du groupe de femelles inséminées.

# *Introduction*

## **I. Introduction**

Chez l'espèce bovine, les biotechnologies de la reproduction ont permis des avancées considérables sur les niveaux de la production, tant qualitatives que quantitatives. L'insémination artificielle (IA) est la biotechnologie de reproduction la plus utilisée dans le monde, elle consiste à déposer le sperme dans l'endroit le plus convenable des voies génitales femelles, et au moment le plus opportun sans qu'il y ait acte sexuel. L'IA a été utilisée au 14<sup>ème</sup> siècle chez la jument par les arabes et ce grâce à **ABOU BAKR ENNACIRI**. Elle s'est développée depuis 1950 chez les bovins et depuis les années 1970 et 1980 chez les autres espèces domestiques, avec la mise au point des techniques de récolte, de conditionnement et de conservation de la semence. Dans les années 1960, la mise au point de la technique de congélation de la semence (conservée à -196°C dans l'azote liquide) a permis d'augmenter la durée de conservation ce qui a facilité la mise en place des programmes de sélection (**Ponsart et al, 2004**).

Chez les espèces avicoles, l'IA n'a connu une véritable explosion qu'à partir des années 1965-1975. Au niveau mondial, il se fait actuellement environ 100 millions d'inséminations par an pour les bovins, et plus de 300 millions pour les espèces avicoles. La technique est également utilisée en aquaculture (poissons et crustacés) et en apiculture. L'IA est un moyen de diffusion dans les élevages du progrès génétique par la "voie mâle". Elle s'inscrit dans un programme global de maîtrise de la reproduction et d'amélioration génétique des cheptels.

Si le principe de l'IA est simple, sa mise en œuvre et son développement à grande échelle dans les élevages exigent la mise au point de nombreuses techniques, concernant tant les mâles que les femelles, et l'ajustement des modalités pratiques à chaque espèce animale. Malgré l'utilisation de l'IA à grande échelle dans le monde pour féconder les femelles d'oiseaux (dindes et pintades), cette méthode de reproduction a toutefois eu quelques peines à s'établir dans l'industrie faute sans doute d'explications suffisantes pour la justifier. Aujourd'hui pourtant, les avantages de son

utilisation ne sont plus contestés car ils surpassent largement les inconvénients qu'elle entraîne (**Brillard, 1985**).

Aujourd'hui chez l'espèce bovine, les biotechnologies de la reproduction ont permis des avancées considérables sur différents plans, et cela en partie grâce aux recherches menées sur les gamètes mâles et femelles. Cependant, le besoin de développer des techniques et des milieux de conservation de la semence avec des approches intégrées se fait sentir. Cette approche intégrée consiste en plusieurs étapes qui sont: la collecte, l'analyse, la conservation et l'insémination de la semence avec l'évaluation de sa fertilité. L'espèce bovine en elle-même et sa physiologie de reproduction sont des facteurs limitant pour réaliser ces étapes dans des temps raisonnables et avec un nombre de répétitions suffisant. Pour pallier à cet inconvénient majeur, on a proposé l'espèce aviaire comme modèle d'étude pour l'espèce bovine afin de développer des techniques et des milieux de conservations de la semence. Toutefois, cette partie du travail qui consistait en la mise en place de nouveaux milieux de conservations de la semence bovine à partir du modèle aviaire, n'a pas pu être réalisée faute de disponibilité de la semence bovine fraîche.

Pour apporter des réponses aux différents problèmes rencontrés dans les élevages de reproducteurs qu'ils soient de type chair ou ponte, il serait intéressant de valider des seuils d'élimination des reproducteurs après analyse de la qualité de la semence de mâles reproducteurs (estimation du volume, de la concentration et de la mobilité). **Gill et Amann 2002 ; Parker et McDaniel 2002**, recommandent l'élimination de 20% de mâles ayant les plus faibles concentrations spermatiques après l'analyse de trois éjaculats successifs. Cette recommandation revêt une importance capitale en reproduction naturelle, mais encore plus quand il s'agit de l'IA, car un coq ayant une bonne semence n'implique pas forcément un bon cochage, alors qu'en IA, une bonne semence garde tous ses avantages, puisqu'elle sera déposée artificiellement dans les voies génitales femelles.

Dans le cadre de notre travail nous nous sommes intéressés à l'espèce aviaire avec comme objectifs principaux:

- Etudier les variations des paramètres spermatiques de deux souches de type chair (Arbor Acres et Hubbard F15) en fonction de l'âge 24 et 48 semaines respectivement.
- Mise en place de l'insémination artificielle dans les conditions mêmes de l'élevage algérien.
- Evaluer la fertilité tous les 21 jours (durée d'incubation chez la poule) avec un nombre de répétitions significatif.

*Revue de la littérature*

## **II. Revue de la littérature**

### **II.1. Introduction à la reproduction des oiseaux domestiques**

Les oiseaux sont des ovipares homéothermes à fécondation interne. Cette oviparité s'accompagne de nombreuses spécificités qui placent la reproduction des oiseaux dans une classe à part au sein des vertébrés.

#### **II.1.1. Les particularités génétiques**

La reproduction des oiseaux est de façon générale sexuée, bien que quelques exemples de parthénogenèse existent de façon marginale. Chez les oiseaux, la détermination sexuelle repose sur le système ZZ : ZW. Le chromosome W est porté par la femelle, ce sont donc elles qui sont hétérogamétiques tandis que les mâles sont homogamétiques. C'est donc une situation inverse à celle rencontrée chez les mammifères (**Gilgenkrantz, 2004**).

#### **II.1.2. Les particularités des appareils reproducteurs mâle et femelle**

Chez la femelle, il existe une asymétrie dans le développement gonadique. L'ovaire droit régresse au cours de la vie embryonnaire, pour laisser s'épanouir une grappe ovarienne gauche et un oviducte gauche qui, chez l'adulte, prendront l'essentiel de la place dans la cavité abdominale (**Smith et Sinclair, 2004**). Cette asymétrie n'existe pas chez le mâle où les deux testicules sont fonctionnels. Cependant, les testicules sont internes et la spermatogenèse se produit à 41 °C, ce qui est bien plus élevé que les températures acceptables pour la spermatogenèse des mammifères (environ 35°C). Il n'y a souvent pas de pénis chez les oiseaux, l'accouplement se faisant par évagination suivie du contact des cloaques des deux sexes. Une fois parvenus au tractus génital femelle, les spermatozoïdes peuvent être conservés plusieurs mois dans les glandes utéro-vaginales (**GUV**) avant de remonter vers le site de fécondation (**Bakst et al, 1994**).

### **II.1.3. Les cycles de reproduction des oiseaux**

Les oiseaux, comme beaucoup de vertébrés, possèdent des cycles de reproduction. Ces cycles sont déclenchés à la fois par une horloge interne à l'animal et par des stimuli externes. Le principal stimulus externe de la fonction de reproduction est la durée du jour ou photopériode. Elle agit sur le déclenchement saisonnier du cycle, mais aussi sur le déclenchement journalier de la ponte. D'autres facteurs de l'environnement comme la quantité de nourriture disponible et les qualités nutritionnelles de l'aliment agissent comme stimuli secondaires.

#### **II.1.3.1. L'influence de la lumière dans les cycles de reproduction des oiseaux**

Principale stimulus externe de la fonction de reproduction chez les oiseaux, la lumière exerce une double action de synchronisation:

- sur le déclenchement saisonnier du cycle de reproduction ;
- sur le déclenchement journalier de la ponte.

Dans les deux cas, c'est la durée de l'éclairement qui compte. L'intensité lumineuse à une importance moindre (quelques lux sont photostimulants). Les récepteurs hypothalamiques une fois stimulés vont entraîner l'activation neuronale de l'axe hypothalamo-hypophysaire pour la production de GnRH, puis de LH et de FSH, conduisant à la stimulation de la croissance gonadique accompagnée de sécrétion des stéroïdes sexuels (**Blesbois, 2005**).

#### **II.1.3.2. Le déclenchement saisonnier**

C'est généralement l'allongement de la durée du jour qui induit le déclenchement du cycle de reproduction annuel. Pour que l'augmentation de la durée du jour soit stimulante pour la reproduction, il faut qu'elle ait été précédée d'une période de plusieurs semaines ou l'animal est maintenu en jours courts. Ce n'est qu'après plusieurs mois d'exposition à des jours longs que les oiseaux deviennent insensibles à la stimulation lumineuse et les gonades régressent, accompagnant ainsi la fin de la période de reproduction. Ces évolutions traduisent l'existence chez les oiseaux d'une phase photosensible qui permet le déclenchement du cycle annuel de reproduction, et d'une phase photoréfractaire qui conduit à son arrêt. (**Batellier et al, 2005**).

### **II.1.3.3. Le déclenchement journalier de la ponte**

Chez la poule, l'ovulation (ponte de l'ovocyte dans le haut de l'oviducte), suivie environ 24h plus tard de l'oviposition (ponte de l'œuf coquillé), est déclenchée par un pic de LH hypophysaire préovulatoire. Ce pic de LH hypophysaire a lieu 4 à 7 h avant l'ovulation et provient d'une succession de stimulations hormonales. Il a été préalablement activé à la fin d'un pic de progestérone ovarienne, lui-même induit par un premier pic de LH produit au moment de la tombée du jour précédent. Ce premier pic de LH est directement sous le contrôle de l'alternance jour/nuit et entraîne toute la cascade menant à la ponte (**Etches, 1995**).

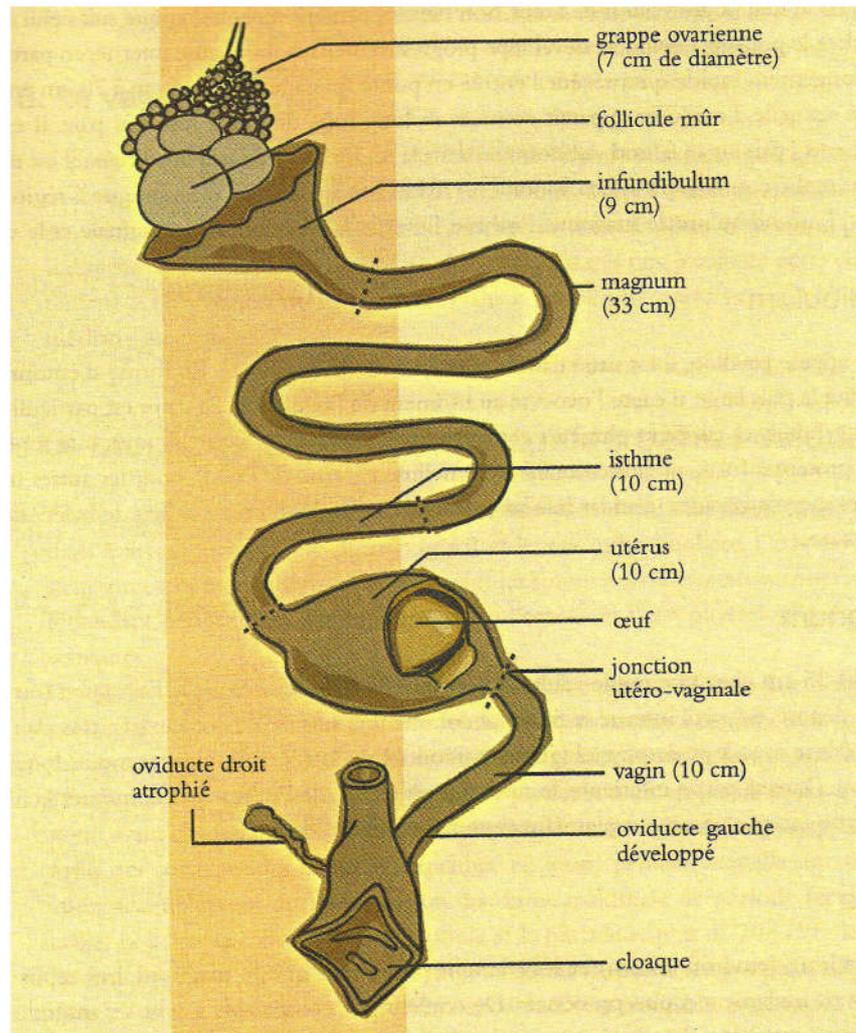
### **II.1.3.4. Le cycle de reproduction de la poule**

La poule rentre en ponte pour la première fois vers 20 semaines d'âge. Une poule pondeuse peut produire jusqu'à 300 œufs dans son premier cycle de reproduction. L'industrialisation de la poule a engendrée la sélection de deux types d'animaux différents, ceux destinés à la production d'œufs de consommation et donc de type ponte ou encore appelé légère, et ceux destinés à la production de la viande et donc de type chair ou encore lourde. Les animaux chair présentent des performances de reproduction bien moindres que les pontes car l'effort de sélection est alors porté sur la croissance et la conformation des carcasses. (**Batellier et al, 2005**).

## **II.2. L'anatomie de l'Appareil génital femelle**

La reproduction des femelles d'oiseaux est, sous certains aspects, plus proche de celle des reptiles que de celle des mammifères : oviparité, stockage prolongé de spermatozoïdes etc. Elle se caractérise aussi par des particularités anatomiques et fonctionnelles telles que l'existence d'un seul ovaire et d'un seul oviducte fonctionnels, la production d'œufs à coquille dure ou encore l'apparition d'un comportement de couvaion.

Chez la plupart des espèces, l'appareil génital femelle est composé d'un seul ovaire et d'un seul oviducte (**Figure 1**). L'ovaire et l'oviducte droits, présents chez le jeune embryon, régressent en effet bien avant l'éclosion sauf chez certains rapaces qui conservent deux ovaires et deux oviductes fonctionnels (**Smith et Sinclair, 2004**).



**Figure 1:** Anatomie de l'appareil génital femelle (Batellier et al. 2005)

### II.2.1. L'ovaire

L'ovaire est situé dans la partie médio-ventrale de l'abdomen. A l'éclosion, l'ovaire gauche pèse environ 300 mg. Il n'évolue que lentement pendant les premières semaines de vie, mesurant environ 1,5 cm de long à 12 semaines d'âge. Durant les trois semaines qui précèdent la maturité sexuelle (ponte du premier neuf), le poids de l'ovaire passe de 5 à 60 gr environ avec début de la synthèse des hormones stéroïdiennes (Sauveur, 1989). En période de ponte, l'ovaire contient de gros follicules hiérarchisés (F1, F2, F3, F4, F5 et F6) et quelques milliers de petits follicules qui sont classés selon leurs diamètres. La rupture folliculaire et la libération de l'ovocyte vers l'infundibulum se fait au niveau du stigma (zone non vascularisée). La

population de follicules initiale est, comme chez les mammifères, établie avant la naissance (Etches, 1995).

## **II.2.2. L'oviducte**

L'oviducte est le lieu de formation de l'œuf. Il se présente comme un tube étroit de couleur rose pâle s'étendant de la région de l'ovaire au cloaque. Sa longueur total est, chez la poule, voisine de 70 cm et son poids à vide proche de 40 g (Sauveur, 1989). De l'ovaire au cloaque, on distingue 6 régions anatomiques successives qui sont dans le sens antéro-postérieur :

### **II.2.2.1. L'infundibulum**

Egalement appelé pavillon, il est situé dans la partie haute de l'oviducte. En forme d'entonnoir, il capte l'ovocyte au moment de l'ovulation. L'infundibulum est le lieu de la fécondation de l'œuf chez les oiseaux, et également site de stockage secondaire de spermatozoïdes.

### **II.2.2.2. Le magnum**

Il mesure 30-35 cm chez une poule adulte. Il constitue la zone dans laquelle l'albumen (ou blanc) est synthétisé puis déposé. La durée du transit dans ce segment est de 3h environ.

### **II.2.2.3. L'isthme**

Il est moins long (environ 15cm) et légèrement plus étroit que le magnum. C'est dans ce segment que sont déposées les deux membranes coquillières.

### **II.2.2.4. L'utérus**

Zone de séjour le plus long de l'œuf au cours de sa formation (environ 18-19 h chez la poule). C'est la zone de sécrétion de la coquille, sa muqueuse se distingue nettement de la muqueuse utéro-vaginale par l'absence d'orientation des replis.

### **II.2.2.5. La jonction utéro-vaginale**

Elle mérite d'être considérée comme une région entière de l'oviducte, car elle joue un rôle essentiel dans le stockage prolongé des spermatozoïdes. Leur population est de l'ordre de 2000-3000 chez la poule mais varie en fonction de l'origine génétique des femelles (**Brillard, 1990**).

### **II.2.2.6. Le vagin**

Il prolonge la jonction utéro-vaginale dont il ne peut être distingué qu'après excision longitudinal. Dans sa partie inférieure, le vagin aboutit dans l'urodeum, partie médiane du cloaque.

### **II.2.2.7. Le stockage des spermatozoïdes dans l'oviducte**

Les femelles d'oiseaux disposent de deux sites de stockage prolongé des spermatozoïdes, le site utéro-vaginal et le site infundibulaire. Chacune de ces régions contient des structures très particulières dans lesquelles les spermatozoïdes peuvent survivre et conserver leur pouvoir fécondant pendant des durées allant, selon l'espèce et l'état physiologique, de plusieurs jours à plusieurs semaines. Grâce à l'existence de ces glandes, la fécondation de plusieurs œufs est possible sans qu'il y ait nécessité d'accouplement avant chaque ovulation. La durée maximale de période fertile peut atteindre 10 j chez la caille, 12 j chez la cane, 21 j chez la poule et la pintade et plus de 70 j chez la dinde (**Bakst et al, 1994**).

## **II.3. L'anatomie de l'appareil génital mâle**

L'appareil génital mâle des oiseaux présente quelques particularités anatomiques et physiologiques, comparé à celui des mammifères. La reproduction des espèces avicoles est soumise aux variations saisonnières, et donc principalement à la photopériode. Celle-ci influence le développement des gonades et la maturation des gamètes. L'appareil génital mâle est organisé en trois unités morphologiques et fonctionnelles qui sont les testicules, les voies déférentes et l'appareil copulateur. La fonction principale du mâle reproducteur est donc la production de la semence, et dans le cas de la reproduction naturelle, le coït de la femelle. Un mâle sexuellement

actif peut produire jusqu'à  $3 \times 10^9$  SPZ par jour, ceci équivaut à 35000 SPZ/seconde. Cette production intense est assurée par le testicule qui assure la fonction de spermatogénèse mais aussi la fonction endocrine (**Etches, 1995**).

### **II.3.1. Les testicules**

Les testicules des oiseaux sont situés dans la cavité abdominale, en position cranio-ventrale par rapport aux reins. La spermatogénèse se déroule à la température centrale de l'animal (41-43°C) (**Etches, 1995**). Chaque testicule est enveloppé par une tunique protectrice, l'albuginée, et relié à l'appareil copulateur par un épидидyme peu différencié et prolongé par un canal déférent, le mâle est dépourvu de glandes annexes (prostate, vésicules séminales, etc.). Le parenchyme testiculaire est constitué de deux parties bien distinctes : les tubes séminifères qui produisent les spermatozoïdes et le tissu intertubulaire (interstitiel), qui est en partie responsable de la fonction endocrine des testicules.

### **II.3.2. Voies déférentes**

Les tubes séminifères, chez les oiseaux, sont arrangés en réseaux de conduits interconnectés se déversant dans les tubules du rete-testis. Le canal déférent prolonge le canal epididymaire et bien développé, il s'étend sur 12 à 15 cm. Il peut être comparé par ses fonctions, à l'épididyme des mammifères, car il est le lieu de maturation et de stockage des spermatozoïdes (**Sauveur, 1989**).

### **II.3.3. L'appareil copulateur**

L'organe copulateur est, chez les oiseaux, de forme extrêmement variable selon les espèces : très développé chez les anatidés (canards, oies) chez lesquels il peut mesurer jusqu'à 15-20 cm, il se réduit à une simple gouttière d'environ 2 cm chez la pintade et est pratiquement inexistant chez le coq ou le dindon. La région de dépôt du sperme dans les voies génitales femelles est de ce fait variable d'une espèce à l'autre (**Blesbois et Brillard, 2005**).

### II.3.4. La spermatogenèse

La spermatogenèse (**Figure 2**) est l'ensemble des processus de multiplication et différenciation cellulaires des cellules de la lignée germinale mâle. A partir des spermatogonies, elle aboutit à la production des spermatozoïdes. Au cours de la spermatogenèse, deux évolutions essentielles se produisent :

- la réduction du nombre de chromosomes de  $2n$  à  $n$ , au cours d'une méiose, division propre aux cellules de la lignée germinale.
- La maturation des cellules germinales aboutissant, à partir de spermatides, à des cellules très hautement différenciées, les spermatozoïdes.

La spermatogenèse se déroule en quatre phases : la multiplication des spermatogonies, l'accroissement des spermatocytes I, la réduction chromatique et la différenciation des spermatides (la spermiogenèse). La durée de la spermatogenèse des oiseaux domestiques est de 20-21 jours, alors qu'elle est de 64 jours chez l'homme et de 49 jours chez le bélier (**Thibault et Levasseur, 2001**).

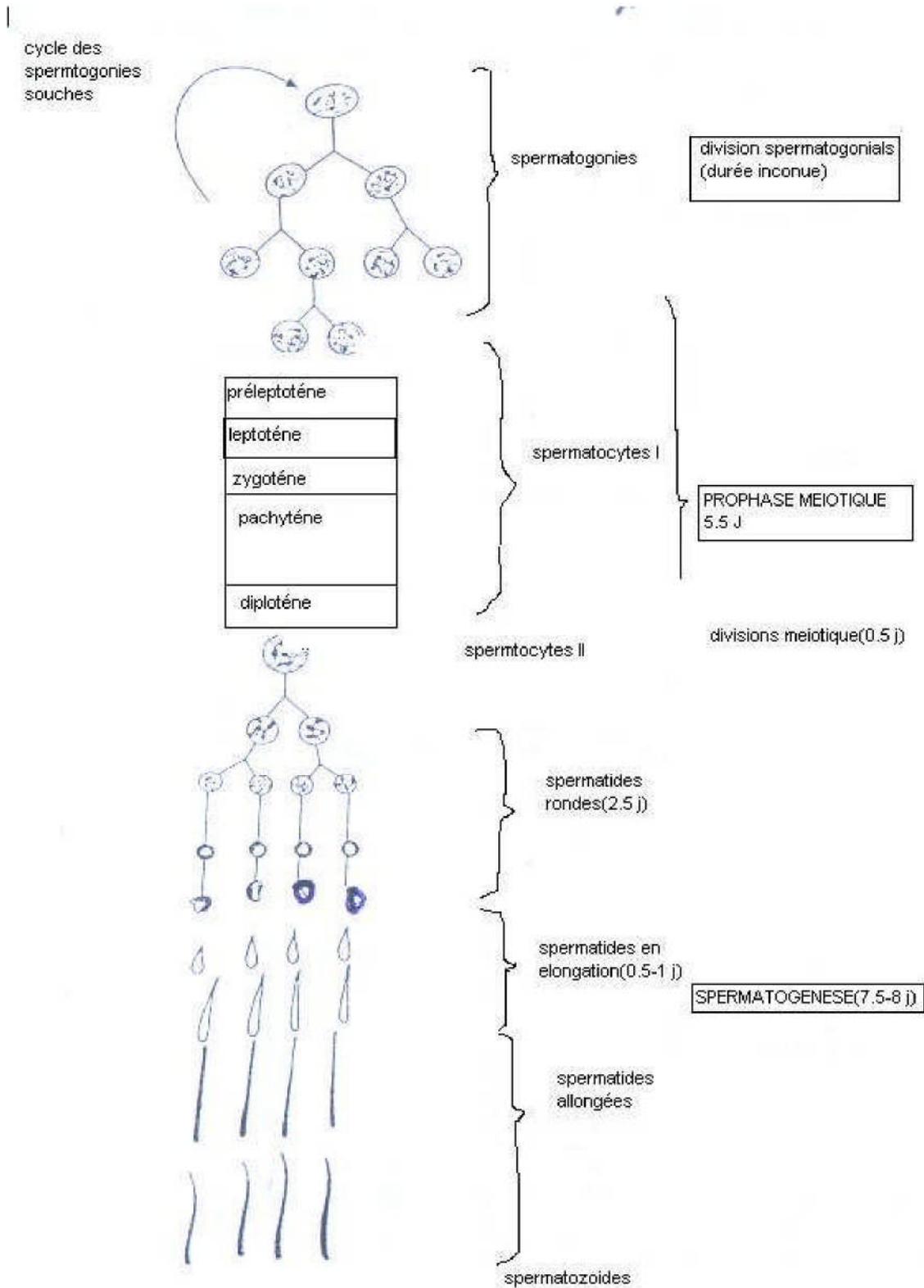


Figure 2: Diagramme de la spermatogénèse chez le coq (Sauveur, 1989).

### **II.3.4.1. Les spermatozoïdes**

Les spermatozoïdes des espèces avicoles ont un morphotype assez proche les uns des autres. Chez le coq, le dindon, la pintade ou encore le canard, les spermatozoïdes ont un noyau filiforme (longueur de 10-15  $\mu\text{m}$ , diamètre de 0,5-0,7  $\mu\text{m}$  selon l'espèce) et mesurent au total de 75 à 90  $\mu\text{m}$  (**Blesbois et Brillard, 2005**).

### **II.3.4.2. Le plasma séminal**

Les spermatozoïdes éjaculés baignent dans un plasma séminal issu des sécrétions des cellules du tractus génital mâle. Ce plasma séminal est un milieu biologique complexe, riches en sels (140 mmol de  $\text{Na}^+$ , 20-50 mmol de  $\text{Cl}^-$ ) et en glutamate (80 mmol), dix fois moins concentré en protéines que le sang et avec comme protéine majeure le sérum albumine. Il contient aussi de nombreuses vésicules lipidiques et lipoprotéines (HDL, VHDL) mais il est par contre très pauvre en glucose. Ce milieu biologique stimule la mobilité des gamètes et est efficace pour assurer le transit des spermatozoïdes depuis les voies génitales mâles jusqu'aux voies génitales femelles en cas d'accouplements naturel. Il est cependant très vite éliminé par la suite et ce n'est pas du tout un bon milieu de conservation in vitro des spermatozoïdes (**Blesbois et Brillard, 2005**).

## **II.4. Le contrôle du développement testiculaire dans les espèces avicoles**

La reproduction des espèces avicoles est soumise aux variations saisonnières de l'environnement et en particulier à celles de la photopériode, qui agit via la stimulation du système nerveux central en induisant la production de GnRH (*gonadotrophin releasing hormone*), capable de stimuler la production d'hormones gonadotropes (LH, FSH) au niveau hypophysaire. Ces dernières, secrétées d'une manière pulsatile, régulent le développement gonadique en particulier celui des testicules (**Blesbois et Brillard, 2005**).

### **II.4.1. Rôle de la photopériode**

La lumière agit sur la fonction de reproduction selon deux voies d'actions complémentaires : La synchronisation et l'induction. Les facteurs principaux pouvant

modulés l'efficacité d'un programme lumineux sont, la durée de la photopériode, la nature de la lumière reçue par l'animal et la quantité de la lumière perçue à chaque instant (**Blesbois et Brillard, 2005**).

## **II.5. Reproduction naturelle, choix des mâles et insémination artificielle**

### **II.5.1. La reproduction naturelle**

L'accouplement naturel reste le mode privilégié de reproduction, en particulier chez la poule domestique. Dans cette espèce, l'IA n'est utilisée, en Europe et en Amérique du nord, que par les sélectionneurs. La pratique de l'accouplement naturel nécessite l'élevage conjoint des mâles et des femelles adultes. Chez la poule, la mise en place de 10% de mâles dans les troupeaux est en générale la règle. Dans les souches chair arrivant à la seconde moitié de la saison de reproduction, il faut cependant prévoir des recharges de jeunes mâles, afin de pallier à la déficience de production spermatique et de libido des coqs plus âgés (**Etches, 1995**).

### **II.5.2. Choix des mâles futurs reproducteurs**

Dans les élevages de reproducteurs, le choix des mâles sur des critères de production, spermatiques notamment, n'est pas utilisé comme moyen de sélection dans les élevages. Même chez la dinde où l'insémination artificielle est généralisée, le seul critère d'élimination des mâles est morphologique, puisque seuls les sujets qui sont difficilement collectés et présentant une semence diluée sont éliminés de l'élevage. Ainsi, en absence de sélection sur les capacités de fertilisation du sperme, la qualité gamétique de la progéniture produite va présenter une variabilité importante (**Aman RP, 1999**). La forte pression de sélection dans les espèces avicoles notamment pour les souches chair (basé sur une croissance musculaire rapide, des indices de consommations faibles et un meilleur rendement) est l'une des causes du déclin de la fertilité qui est dû en partie à la présence de mâles infertiles au sein des élevages. Cette infertilité influe négativement sur le rendement de l'industrie avicole qui peine à maintenir au plus haut les performances de reproduction en reproduction naturelle (**Barbato GF, 1999 ; Pollock DL, 1999 ; McGary et al, 2003a**).

Les femelles d'oiseaux préfèrent l'accouplement avec les mâles ayant des crêtes bien développées avec une bonne initiative au cochage. Les caractères secondaires ainsi que le potentiel de cochage des reproducteurs sont de bon indicateurs du succès de reproduction et d'une bonne fertilité de l'élevage (**Johnston et Parker, 1969 ; Leonard et Zanette, 1998**). Un mâle reproducteur doit avoir une bonne conformation afin de pouvoir cocher la femelle et déposer la semence au contact du cloaque. Cependant, un excès du poids (**Hocking et Bernard, 1997**), une malconformation musculo-squelettique (**McGary et al, 2003b ; Zhang et al, 1999**) peuvent empêcher la fécondation naturelle au moment du cochage. Le statut social de l'individu (dominance ou subordination) au sein du groupe (**Jones et Mench, 1991**), les facteurs environnementaux comme la variation inter-individuelle de cochage peuvent être des causes importantes de variations de la fertilité (**McGary et al, 2003a**).

#### **II.5.2.1. Critères d'élimination des mâles reproducteurs**

En industrie avicole, la baisse des performances de reproduction n'est pas nouvelle, puisque la tendance est à la baisse depuis des décennies. Les conséquences sont donc une baisse des capacités de reproduction avec un nombre d'œufs fertiles réduits. La cause de cette infertilité n'est pas toujours évidente, elle peut être due aux mâles (mâles avec peu ou pas de sperme, faible cochage des femelles), aux femelles ou bien en relation avec la gestion même de l'élevage. Cependant, il n'existe pas d'approche retenue pour le retrait et l'élimination de sujets infertiles dans un élevage. A présent, les nouvelles biotechnologies fournissent sinon améliorent les méthodes d'évaluation et d'analyse de la semence. En pratique, il est admis l'élimination des 15 à 20% derniers mâles reproducteurs présentant les plus faibles critères spermatiques avant leur utilisation en IA ou leur mélange avec les femelles en reproduction naturelle (**Gill et Amann 2002 ; Parker et McDaniel 2002**). En pratique, évaluer un minimum d'éjaculats est essentiel afin de pouvoir prendre la meilleure décision. En effet, depuis déjà plusieurs décennies, il a été connu que la qualité et la quantité de la semence des éjaculats d'un même individu varie considérablement avec les jours de collectes (**Freund 1962 ; Gill et Amann 2002**). Pour un diagnostic correct et fiable, il est préférable d'évaluer au moins deux, voir trois éjaculats pour chaque individu à 25

semaines d'âge pour les coqs et 30 semaines d'âge pour la dinde avant de prendre une décision d'éliminer un reproducteur utilisé soit en reproduction naturelle soit en insémination artificielle (**Gill et Amann 2002**).

### **II.5.3. L'insémination artificielle**

L'insémination artificielle est généralisée dans l'industrie de la dinde, de la pintade et dans la production du croisement interspécifique canard mulard, utilisé dans la production du foie gras. Chez ces espèces ou croisements, l'IA a considérablement amélioré les performances de reproduction. Chez la poule, le recours à l'IA pour la sélection permet le suivi individuel des performances des animaux. Pour une optimisation des performances, il est nécessaire de maîtriser les facteurs liés à l'état physiologique des animaux, la collecte de la semence, son traitement et sa conservation et la technique d'IA elle-même (**Etches 1995**).

#### **II.5.3.1. Pourquoi l'insémination artificielle**

Depuis plusieurs années, on observe de manière très générale une baisse de la fertilité des troupeaux mis en reproduction naturelle à partir de 40-45 semaines d'âge. Ce phénomène coûteux pour les producteurs de poussins a deux causes essentielles. La première est en relation avec le mâle, puisque il ne peut produire du sperme plus de 15 à 20 semaines de suite alors que la saison de ponte des femelles s'étend sur 40 semaines environ. La seconde cause de baisse de fertilité trouve son origine chez la femelle. De manière générale, le nombre de spermatozoïdes nécessaires pour obtenir une fertilité élevée et durable augmente avec l'âge des poules. Or, la production moyenne de spermatozoïdes diminue avec l'âge. Dans ce contexte, la reproduction naturelle est un compromis entre deux phénomènes qui s'opposent: une mauvaise persistance du développement testiculaire d'une part, et d'autre part l'augmentation du nombre moyen de spermatozoïdes que chaque femelle doit recevoir pour être fécondée efficacement (**Bilgili, 1985 ; Brillard, 1985**).

### II.5.3.2. Quelle dose de sperme inséminer

L'un des principaux intérêts de l'insémination artificielle est de diminuer le nombre de reproducteurs nécessaires à la fécondation des femelles sans nuire aux résultats de fertilité. Sur la dose optimale d'insémination, deux grandes tendances se dégagent aujourd'hui: la première appliquée plus particulièrement par les américains, consiste à inséminer une dose élevée de spermatozoïdes (250-300 millions par femelle) dépassant de beaucoup les besoins. Cette application a pour principal avantage d'assurer une grande marge de sécurité, son inconvénient majeur et d'être dispendieuse en coqs. La seconde, appliquée surtout en Europe, est plus économique notamment quand elle est pratiquée de façon convenable. Elle consiste à inséminer des doses de 100 à 150 millions par femelle. Dans ce cas, la marge de sécurité est plus faible, mais le nombre de coqs nécessaires est largement réduit (**Brillard, 1995**). Chez les oiseaux, comme chez les mammifères, un seul spermatozoïde suffit pour féconder chaque ovocyte. Mais il faut introduire un grand nombre de spermatozoïdes dans les voies génitales femelles pour que le taux de fécondation soit optimum. En outre, la qualité des spermatozoïdes inséminés intervient à la fois sur leur pouvoir fécondant et sur le taux de mortalité embryonnaire précoce. Il est donc important de pouvoir maîtriser la production de spermatozoïdes chez le coq et ceci aussi bien sous l'aspect quantitatif que sous l'aspect qualitatif (**De Reviere 1975**).

### II.5.3.3. Lieu et moment idéal d'insémination

Il est désormais bien connu que les heures auxquelles sont pratiquées les inséminations peuvent avoir des conséquences importantes sur les niveaux de fertilité observés ultérieurement. C'est ainsi que les femelles inséminées au voisinage de l'heure de ponte ne sont que peu ou pas fertiles (**Brillard, 1985; Johnston et Parker, 1969; Klein-Hessling, 2006**). Les mécanismes responsables sont complexes mais quelques causes principales peuvent être dégagées :

- Evacuation des spermatozoïdes par l'œuf si l'insémination précède l'oviposition
- Modifications chimique du milieu utérin, liées à la proximité de l'heure d'oviposition

- Mouvements contractiles de l'utérus et du vagin qui favorisent la progression de l'œuf, mais défavorisent celle des spermatozoïdes puisque ces mouvements se font vers l'extérieur

Toutes ces raisons contribuent bien sûr aussi à empêcher le stockage des spermatozoïdes dans les glandes utéro-vaginales ou infundibulaires et diminuent donc les chances de fécondation. Le lieu de l'insémination aussi joue un rôle important puisque des inséminations pratiquées à 2-4 cm à l'intérieur du vagin paraissent utiles pour éviter les rejets d'une partie de la dose de sperme, surtout chez les vieilles poules. A l'inverse, des inséminations pratiquées à plus de 5-6 cm pourraient être dangereuse en entraînant des lésions de l'appareil génital femelle ainsi que des arrêts de ponte (**Brillard, 1985 ; Donoghue et Wishart, 2000**). Pour une meilleure fertilité chez la poule, l'IA doit débiter quand 15 à 20% des poules sont en ponte. Chez la dinde, le nombre de spermatozoïdes stockés chez des femelles inséminées avant l'entrée en ponte est deux fois plus important que chez les femelles inséminées au début de ponte. Pour cela, les femelles dinde sont généralement inséminées avant le début de ponte, souvent 14 à 17 jours après la stimulation lumineuse pour l'entrée en ponte (**Bakst et Brillard 1995**)

#### **II.5.3.4. Faut-il ou non utiliser un dilueur**

Considéré par les uns comme indispensable, mais contesté par les autres, l'emploi d'un dilueur de sperme se justifie chaque fois qu'il faut conserver la semence au-delà d'une certaine durée qui varie selon les espèces d'oiseaux, de 10 à 30 minutes. Chez la poule, le sperme des mâles peut être utilisé sans perte de fécondance tant que le délai de récolte insémination ne dépasse pas une demi-heure. Mais il est vivement conseillé d'utiliser un dilueur de sperme chaque fois que les délais ne pourront être respectés de façon rigoureuse. Dans ce cas, la présence d'un dilueur est indispensable pour le maintien de la viabilité des spermatozoïdes et ainsi augmenter le délai de conservation. Pour des conservations plus longues (jusqu'à 24 heures), l'usage d'un dilueur de sperme (ainsi que le refroidissement du mélange sperme + dilueur) sont absolument nécessaires (**Christensen, 1995**). L'autre intérêt de l'usage du dilueur de sperme réside en la nature même du sperme aviaire. Concentré 6 (coq) et 9 (dinde)

milliards de spermatozoïdes/ml, et de nature visqueuse et, sa dilution pour un usage optimal (insémination d'un nombre important de poule) s'avère donc indispensable. Les différents dilueurs utilisés sont de la même composition biochimique avec celle du sperme du aviaire (**Lake, 1995**).

#### **II.5.3.5. La collecte de la semence**

Dans la plupart des espèces aviaires domestiques, des adaptations par espèce de la méthode de massage décrite chez le coq par **Burrows et Quinn (1937)** sont employées. Il s'agit, d'un massage dorso-abdominal du mâle pour stimuler l'éjaculation spontanée. Cette technique permet à deux personnes de récolter 80 à 120 coqs à l'heure. Tous les coqs capables de produire du sperme peuvent ainsi être récoltés après 3 à 5 séances d'entraînement aux massages. Le nombre et la qualité des spermatozoïdes récoltés par ce moyen dépendent du mode opératoire, du savoir faire des personnes chargées de la récolte, du comportement des coqs et de la fréquence des récoltes. Ce qui est important est de réaliser des conditions de récolte du sperme qui valorisent au mieux la récolte d'un maximum de spermatozoïdes de bonne qualité. Le plus important des facteurs est de bien standardiser la fréquence de collecte du sperme, elle agit à la fois sur le nombre de spermatozoïdes récoltés et sur leurs qualités (**De Reviers et Brillard, 1982**).

#### **II.5.4. Caractéristiques de la production spermatique du coq**

La fonction du coq reproducteur est la production de la semence, et dans le cas de l'accouplement naturel, cocher et déposer l'éjaculat dans le tractus génital de la femelle comme nous l'avons cité ci-dessus. Durant la période sexuelle, un coq mature peut produire environ 3 milliard de spermatozoïdes par jour, et par conséquent produit autour de 35000 spermatozoïdes par secondes. Ce niveau très important de production est obtenu grâce au testicule, qui assure les deux fonctions qui sont, la spermatogenèse, via la différenciation des précurseurs spermatiques diploïdes en spermatozoïdes haploïdes capables de féconder les gamètes femelles, mais aussi par la fonction endocrine en maintenant la spermatogenèse, les caractères sexuels secondaires ainsi que le comportement sexuel (**Etches, 1995**).

## **II.6. Méthodes d'évaluation du sperme aviaire**

L'évaluation de la semence dans le cadre d'un programme d'IA est primordiale à plusieurs titres. Elle permet d'avoir des informations sur la qualité de la semence afin de pouvoir sélectionner et ne garder que les meilleurs mâles, et aussi pouvoir déterminer les taux de dilution de la semence afin d'adapter les quantités à inséminer. L'analyse de la semence permet de déterminer le potentiel du sperme à fertiliser l'ovule qu'il soit frais, réfrigéré ou congelé, en utilisant des méthodes rapides et pas coûteuses et qui soient les plus objectives possibles. L'évaluation du sperme aviaire peut être réalisée soit par les techniques microscopiques traditionnelles soit par d'autres nouvelles techniques.

### **II.6.1. Les Méthodes traditionnelles**

La méthode traditionnelle permet l'analyse de certains paramètres qui sont la concentration de l'éjaculat en spermatozoïdes, la mobilité des gamètes et le pourcentage d'anomalies morphologiques ainsi que la viabilité des spermatozoïdes. L'inconvénient majeur de cette technique est la subjectivité des résultats générés surtout pour l'évaluation de la mobilité. C'est donc l'examineur qui estime la qualité de la mobilité des spermatozoïdes, et qui reste une appréciation personnelle conditionnée par l'expérience de ce dernier.

#### **II.6.1.1. Mesure de la concentration spermatique**

L'objectif de la mesure de la concentration, est de pouvoir déterminer le nombre de spermatozoïdes par millilitre de semence pure en utilisant le minimum de semence possible. Elle doit être connue avant l'insémination afin de déterminer le taux de dilution nécessaire avant insémination. Plusieurs cellules de comptages sont disponibles sur le marché, les plus couramment utilisés sont : Makler, Neubauer et l'hémocytomètre. Ces différentes cellules donnent des résultats assez fiables si la technique est effectuée soigneusement (**Mahmoud et al, 1997**). L'hémocytomètre la cellule la plus utilisée est composée de deux grilles, où chacune d'elle est divisée en 20 grands carreaux, eux-mêmes divisés en 16 petits carreaux. Chez le coq, la mesure est réalisée après 10 à 15 minutes de décantation afin que les spermatozoïdes puissent se

déposer sur le fond de la lame. Malgré sa facilité d'utilisation, elle présente l'inconvénient d'être consommatrice de temps (Sauveur, 1989 ; Trippel EA, 2003)

### **II.6.1.2. Evaluation de la morphologie spermatique**

L'évaluation de la morphologie du spermatozoïde peut servir comme indicateur de certains désordres de la spermatogenèse. Une meilleure estimation de la morphologie dépendrait donc du type de coloration utilisée, du colorant lui-même et de la préparation (Bilgili et al, 1985). Plusieurs techniques de coloration sont utilisées pour mettre en évidence des anomalies morphologiques. Les colorations les plus communément utilisées en laboratoire sont la coloration à l'éosine-nigrosine et l'aniline bleu-éosine. Les spermatozoïdes normaux et vivants possèdent une membrane plasmique intacte empêchant l'entrée de l'éosine. Les spermatozoïdes endommagés vont concentrer l'éosine puisque leur membrane plasmique est perméable et prendront une couleur rouge au microscope (Lake, 1978 ; Lukaszewicz et al, 2008). Dans l'espèce aviaire (coq et dinde), le colorant le plus utilisé est composé de : 17.35 g de glutamate de sodium, de 1.28 g de citrate de potassium, de 8.51 g d'acétate de sodium, 0.68 g de chlorure de magnésium dilué dans un litre d'eau distillée, et enfin 5 g de nigrosine et 1 g d'éosine qui seront dissout dans 100 ml du mélange précédent (Bakst et Cecil 1997).

### **II.6.1.3. Evaluation de la viabilité des spermatozoïdes**

L'évaluation de la viabilité des spermatozoïdes est un des critères indispensables dans l'évaluation spermatique surtout pour la détermination des doses adéquates pour l'IA. Il existe plusieurs techniques de colorations pour l'évaluation de la viabilité des spermatozoïdes, la plus couramment utilisée est la coloration à l'éosine-nigrosine, elle présente l'avantage de permettre simultanément l'évaluation de la morphologie et de la viabilité des spermatozoïdes (Bakst et Cecil 1997). Récemment, de nouvelles méthodes utilisant des molécules fluorescentes ont vu le jour. Deux grandes catégories de molécules peuvent être distinguées, celles diffusant dans les cellules mortes et celles diffusant dans les cellules vivantes. Les colorations les plus couramment utilisées pour identifier les cellules mortes sont : les colorations au bisbenzimidazole

comme l'Hoechst 33258 (**Hamori, 1980**), et le Propidium iodide (**Garner et al, 1995**). Pour ce qui est des molécules diffusant les cellules vivantes, on retrouve le SYBER-14 (**Garner et al, 1995**), sinon l'association SYBER-14 et Propidium iodide (**Chalah et Brillard, 1998**). Cependant ces techniques nécessitent la disponibilité d'un microscope à fluorescence, chose difficile à assurer dans les conditions d'élevage notamment ici en Algérie.

#### **II.6.1.4. Evaluation de la mobilité spermatique**

L'évaluation visuelle du pourcentage de spermatozoïdes mobiles par microscope est l'essai le plus utilisé en laboratoire. Toutefois, cet examen reste complexe à réaliser en raison de l'absence de critères objectifs d'analyse. L'examineur donne un jugement sur la qualité de mobilité de plusieurs millions de spermatozoïdes en mouvement. L'examen de la mobilité consiste en deux types d'évaluation, une estimation de la mobilité massale qui analyse la qualité générale de la mobilité avec une graduation allant de **0** (absence totale de mouvement) à **5** (mobilité vigoureuse). L'évaluation individuelle des spermatozoïdes s'opère sous lamelle, elle consiste à déterminer le pourcentage des spermatozoïdes mobiles ainsi que leur type de progression. A présent d'autres techniques d'évaluation objectives ont vu le jour dont la plus récente reste l'analyse informatisée après enregistrement préalable de vidéos de spermatozoïdes en mouvement.

#### **II.6.2. Les nouvelles méthodes d'évaluation du sperme aviaire**

Devant les nombreux problèmes rencontrés en utilisant les méthodes traditionnelles, plusieurs approches sont actuellement proposées pour mieux objectiver l'analyse spermatique. Les nouvelles méthodes visent à mieux évaluer la concentration, la morphologie et la viabilité des spermatozoïdes. En plus de ces paramètres, l'exploration des capacités fonctionnelles des gamètes est à présent possible.

## **II.6.2.1. Mesure de la concentration**

### **II.6.2.1.1. Le spectrophotomètre**

La motilité peut être estimée avec un spectrophotomètre en utilisant une solution Accudenz 6% (**Froman et McLean, 1996**). La semence doit être diluée à la concentration de  $5 \times 10^8$  spermatozoïdes/ml, puis diluée dans une solution tampon (120 mM de NaCl, 10 mM de glucose et 2 mM  $\text{CaCl}_2$  ; le tout dans 50 mM de TES, pH 7.4). Un volume de 60  $\mu\text{l}$  de semence diluée est déposé sur 600  $\mu\text{l}$  de solution Accudenz 6% dans une cuvette d'eau incubé à 41°C pendant 5 minutes. L'absorbance notée à 550 nm est directement liée aux mouvements de la population spermatique dans une direction spécifique.

### **II.6.2.1.2. Analyse semi-quantitative**

L'analyse semi-quantitative du sperme représente une des alternatives pour l'estimation parallèle de la concentration et de la mobilité spermatiques. Parmi ces méthodes, on retrouve l'AQS (analyseur de la qualité du sperme). Cet appareil permet de générer un index de mobilité du sperme (IMS) qui prend en considération la concentration et la qualité de la mobilité des spermatozoïdes. L'avantage que représente l'AQS est de permettre d'apporter, en plus des examens traditionnels une valeur quantitative qui permet de juger d'une manière fiable la qualité générale du sperme. L'AQS présente plusieurs avantages, les plus importants sont la rapidité de l'analyse (moins de 40 secondes par échantillons) et la simplicité de son utilisation. Le principe de l'AQS consiste à mettre du sperme dilué dans un capillaire en verre, une cellule photoélectrique examine un champ précis pendant 40 secondes afin de détecter les variations de la densité optique causées par la mobilité du sperme. L'AQS affiche ensuite une valeur prédictive de la qualité de l'échantillon analysé (**McDaniel et al, 1997 ; McDaniel et al, 1998**).

### **II.6.2.1.3. Cryométrie de flux**

La cytométrie de flux peut être un moyen très intéressant pour l'estimation du pouvoir fertilisant des spermatozoïdes et offre l'avantage d'être une technique rapide et précise. Le principe de la cytométrie de flux est d'analyser, et de trier les cellules

mises en suspension dans un liquide. Dans une population de cellules spermatiques, cette technique permet l'estimation de plusieurs caractères incluant, la viabilité cellulaire, l'intégrité de l'acrosome et la fonction mitochondriale. La viabilité cellulaire est estimée par le marquage du sperme au propidium iodide (PI), sonde fluorescente au contact de l'ADN. Les cellules avec des dommages de la membrane cytoplasmique vont laisser passer le PI qui se fixe à l'ADN et émet une fluorescence rouge (**Wilhelm et al, 1996 ; Graham JK (2001)**).

### **II.6.3. Evaluation de la mobilité des spermatozoïdes**

L'analyse de la mobilité spermatique représente l'évaluation la plus subjective de l'analyse microscopique traditionnelle. Pour pallier à cette subjectivité, plusieurs études ont été consacrées à la proposition de nouveaux systèmes objectifs d'analyse.

#### **II.6.3.1. L'analyse informatique de la mobilité spermatique**

L'analyse informatique du sperme est une évolution des méthodes microphotographiques. Elle consiste en un dispositif incluant un matériel d'enregistrement microphotographique et en un support informatique pour la reconstitution et l'analyse des trajets. C'est une technique qui permet de générer un nombre considérable de paramètres, obtenu grâce à l'analyse individuelle de chaque spermatozoïde, reflétant en somme la qualité globale des éjaculats. Cette technique a été rapportée pour la première fois par **Dott et Foster (1979)** ; aujourd'hui, elle est largement utilisée aussi bien en médecine humaine (**Larsen et al, 2000**), qu'en médecine vétérinaire (**Brinsco et al, 2000 ; Eriksson et al, 2000**). Les résultats générés par l'analyse informatique sont plus fiables en terme de répétabilité et de précision que ceux obtenus par toutes les autres méthodes d'analyse (**Krause et Viethen, 1999**).

L'analyse informatique du sperme permet de générer avec précision un nombre important de paramètres qui étaient difficilement accessibles par l'analyse microscopique traditionnelle. Parmi ces paramètres, on retrouve le pourcentage des spermatozoïdes mobiles et statiques, les vitesses de progression des gamètes, la fréquence de battements et les distances balayées par les têtes des spermatozoïdes en

mouvement. L'analyse informatique permet aussi de caractériser l'ensemble des spermatozoïdes en fonction et leur vitesse de déplacements et de déterminer leur aptitude à progresser d'une manière linéaire. Dans de nombreuses espèces, plusieurs de ces paramètres sont corrélés à la fertilité des individus (**McDaniel et al, 1998 ; Paston et al, 1994**).

#### **II.6.4. Test de fonctionnalité du sperme aviaire**

##### **II.6.4.1. Activité métabolique du sperme**

L'activité métabolique du sperme est mesurée à l'aide de sels de tetrazolium. Cette activité est mesurée par la capacité de réduction de l'enzyme oxydoréductase du sperme des volailles qui réduit le sel de tetrazolium en formazan coloré en rouge. Les échantillons sont ensuite centrifugés à 700 g pendant 10 minutes, et l'absorbance du surnageant est ensuite mesurée par spectrophotométrie à 520 nm, plus les valeurs d'absorbance seront élevées plus la qualité du sperme est meilleure (**Chaudhuri et al, 1988**).

##### **II.6.4.2. Interaction sperme ovule**

La rencontre sperme ovule au niveau infundibulaire à lieu approximativement 15 minutes après l'ovulation. A ce moment, les spermatozoïdes interagissent avec la couche périvitelline interne (IPVL) qui est la couche la plus externe à ce stade-là, ensuite il y'a libération des enzymes acrosomiales avec hydrolyse et formation de pores au niveau de la couche IPVL dans lesquelles les spermatozoïdes avancent pour aller au contact de l'ovule. La majorité de ces pores se retrouvent autour du disque germinal, où leur nombre est 20 fois plus fréquent que dans d'autres régions de la couche périvitelline chez la poule (**Bramwell et al, 1995**), et chez la dinde (**Wishart, 1997**). Cette particularité physiologique est exploitée dans l'évaluation de la qualité de la semence. Le principe de la technique consiste à mettre dans une solution de NaCl 1% pour quelques secondes l'ovule d'un neuf fraîchement pondu afin de retirer l'albumen. Le réactif de Schiff est déposé sur la membrane après une brève suspension avec de la formaline 20%. Les spermatozoïdes sont comptés par observation au

microscope (grossissement 100x). Une autre technique plus performante est décrite par **Barbato et al, (1998)**. Le principe de cette technique est le suivant: isoler une partie de la couche périvitelline du jaune d'œuf qui va être lavée au PBS. La membrane est fixée à température ambiante en y ajoutant une solution de 1 lig de 4,6 diamino-2 phénylindole / ml de PBSE. Une lamelle est ensuite appliquée et l'excès d'eau enlevé. Un photomicroscope est utilisé pour observer les spermatozoïdes à fluorescence bleue en utilisant une longueur d'onde de 350 nm. Cette technique présente un inconvénient par rapport à la précédente qui est le coût très élevé de l'équipement nécessaire.

#### **II.6.4.3. Intégrité de la membrane plasmique**

Le principe de ce test est basé sur l'estimation de l'intégrité de la membrane plasmique des différents compartiments cellulaires. Des colorations classiques, comme l'eosine-négrosine ou des colorations à fluorescence comme l'iodure de propidium, le bromide d'ethidium, 4'-6-diamidino-2-phénylindole (DAPI) et le bisbenzimidazole peuvent être utilisées (**Colenbrander et al, 2003 ; Neild et al, 2000**).

#### **II.6.4.4. Intégrité génétique du sperme**

Bien que l'intégrité génétique du sperme n'affecte pas la capacité à féconder l'ovule, il peut cependant empêcher le développement normal du zygote. Il existe in vitro, plusieurs tests d'évaluation de la capacité du génome paternel à assurer le maintien du développement embryonnaire (**Eid et al, 1994**). En pratique, les tests les plus utilisés sont le Comet assay (CA) et le sperm chromatin structure assay (SCSA). Le CA est un essai microscopique où le sperme est fixé sur un gel d'agarose, lysé, soumis à une électrophorèse puis par épifluorescence après coloration au bromide d'ethidium, une distinction facile peut se faire entre l'ADN simple brin et l'ADN double brin présentant des dommages. Le sperme avec des dommages d'ADN plus importants présente de larges zones de migration par rapport au sperme avec peu de dommage (**Evenson et Wixon, 2006; Fraser et Strzezek, 2005**). L'essai SCSA, évalue le niveau du dommage de l'ADN après dénaturation de celui-ci à un pH basique. Après une coloration avec de l'acridine orange, l'ADN endommagé prend la

couleur orange alors que l'ADN non endommagé prend la couleur verte. Le ratio orange sur le vert de chaque spermatozoïde est calculé par cytométrie de flux (**Evenson et Wixon, 2006**). L'avantage que présente le SCSA par rapport à d'autres essais, réside en la facilité et la rapidité de sa réalisation, et permet aussi une évaluation objective de centaines d'individus.

# *Matériels et méthodes*

### **III. Matériels et méthodes**

Le présent travail a été réalisé au niveau d'une exploitation avicole privée sise à Oran. La ferme comporte un élevage de reproducteurs chair de 10000 sujets, plusieurs élevages de poulets de chair, une fabrique d'aliment de bétail et un abattoir.

L'objectif que nous nous sommes fixés est de mettre en place à titre expérimentale l'insémination artificielle.

#### **III.1. Animaux**

Durant notre étude, nous avons travaillé sur deux souches de type chair. La première est Hubbard Classique et la deuxième Arbor acres. Les animaux ont été élevés au sol selon les recommandations du guide d'élevage de chaque firme pour les deux périodes d'élevage (poussinière et reproduction). Pour les deux souches, les coqs sont élevés séparément des femelles jusqu'à l'âge de 22 semaines. Un rationnement alimentaire strict est pratiqué à partir de la 3<sup>ème</sup> semaine pour les mâles comme pour les femelles. A l'entrée en production vers 25 semaines, la densité était de 5/m<sup>2</sup> avec 20 cm d'accès à la mangeoire pour les mâles et 14 pour les femelles. Le régime alimentaire est composé de 17% de protéine pour les femelles comme pour les mâles. A notre arrivée dans l'exploitation les souches Hubbard et Arbor étaient âgées respectivement de 48 et 25 semaines. Durant notre expérimentation les températures ambiantes au niveau des bâtiments d'élevages variaient considérablement allant de 14 à 22°C, avec une humidité relative qui variait elle aussi de 50 à 70%. En période de production les deux souches sont soumises à un régime photopériodique de 16 h de lumière par jour (6h – 22h).

La souche Hubbard Classic est une reproductrice de type chair, avec de hautes performances reproductrices. Elle présente une capacité d'adaptation remarquable dans les zones tropicales comme dans les zones plus tempérées. La souche Arbor acres plus est une reproductrice chair de type rendement. C'est une souche auto-sexable à l'aile.

Ces deux souches ont été utilisées simultanément aux début de notre travail pour étudier la variabilité du sperme aussi bien en relation avec les paramètres liés

l'individu qu'à la souche, nous avons utilisé 30 et 28 coqs pour les souches Hubbard et Arbor respectivement. Dans un deuxième temps, la souche Hubbard est utilisée pour la mise en place de l'insémination artificielle.

## **III.2. Récolte et analyse de la semence**

### **III.2.1. Récolte de la semence**

La technique la plus utilisée pour la récolte de la semence du coq reste celle décrite par **Burros et Quinn (1937)**. L'opération se pratique à deux personnes. La première personne prend l'animal et le place ventralement sur un genou. Ensuite, il masse le bas du dos de l'animal d'une main et relève la queue de l'autre, ce qui provoque l'éversion du cloaque et des papilles génitales. La seconde personne tient les pattes d'une main et le récipient de collecte de l'autre afin d'aspirer le sperme émis en faisant très attention de ne pas récolter de fèces, urine, urate ou du sang. Le sperme doit être indemne de toute souillure. La semence est collectée individuellement dans un tube en plastique. Par ailleurs, faute d'indisponibilité de boxes individuels pour chaque coq, on n'a pas pu éviter les conditions de stress de manipulation puisque l'ensemble des mâles se retrouvait dans le même box.

### **III.2.2. Stockage de la semence**

La semence est diluée au moment même de la récolte avec un dilueur commercialisé par IMV (Aigle, France), qui est un tampon salé permettant la dilution de la semence et le maintien de la viabilité des spermatozoïdes *in vitro* afin de pouvoir maximiser le nombre de poules inséminées. La dilution de la semence est primordiale puisque le sperme aviaire est très concentré (entre 3 et 6 milliards de spermatozoïdes/ml chez le coq). Le sperme ainsi dilué est inséminé dans la demi-heure qui suit sa collecte. Pour chaque opération d'insémination un pool de sperme est constitué à partir des éjaculats individuels.

### III.2.3. Analyse de la semence

L'analyse du sperme consistait en l'analyse du volume, de la motilité (massale et progressive) et la concentration. Pendant toute la période expérimentale, 424 éjaculats ont été analysés.

#### III.2.3.1. Volume de l'éjaculat

La mesure du volume de l'éjaculat s'effectue par lecture directe juste après la récolte à l'aide d'une pipette graduée. La lecture se fait sans tenir compte de la partie mousseuse de l'éjaculat.

#### III.2.3.2. Motilité massale

L'examen de mobilité comporte une évaluation massale des spermatozoïdes. Le principe consiste à diluer une goutte de sperme pur au 50<sup>ème</sup> aussitôt récolté, dans du sérum physiologique, puis déposer une goutte de dilution sur une lame propre au microscope sous grossissement (10). L'évaluation massale consiste à donner une note allant de 0 (absence totale de mouvement) à 5 (mouvement vigoureux).

Note	Aspects du mouvement
0	Immobilité totale
1	Mouvements individualisés
2	Mouvements très lents
3	Motilité massale générale de faible amplitude
4	Motilité massale rapide, sans tourbillons
5	Motilité massale rapide, avec tourbillons

#### III.2.3.3. Motilité progressive

L'évaluation de la mobilité progressive est réalisée au microscope sous grossissement (40), en déposant une goutte de semence diluée entre lame et lamelle. On estime alors le pourcentage de spermatozoïdes mobiles, qui traversent le champ microscopique avec une vitesse plus au moins grande. Après examen de cinq champs

différents, l'estimation de la mobilité progressive en pourcentage de mobiles est établie.

#### **III.2.3.4. Concentration (nombre de spermatozoïdes/ ml)**

L'examen de la concentration spermatique est réalisé avec la cellule de Malassez. La cellule de Malassez est une lame de verre épaisse, sur laquelle est gravée une grille avec des carrés de 50µm de côté. La lamelle plus épaisse qu'une lame classique, est positionnée exactement à 0,2 mm au-dessus d'un creuset de la lame. La cellule de comptage mesure 1 mm<sup>3</sup> et comporte 5 bandes horizontales de 5 lignes et 5 bandes verticales de 6 lignes chacune. On compte le nombre de spermatozoïdes dans les quatre rectangles composés de 20 petits carrés situés aux quatre coins du quadrillage (= N) et on fait la moyenne des quatre valeurs trouvées ( $m = N/4$ ). Etant donné que le volume d'un rectangle = 1/100 mm<sup>3</sup> ; la concentration en spermatozoïdes par ml sera donné par la formule suivante :  $C = m \times 100 \times 10^3$  (dilution)  $\times 10^3$  SPZ / ml. Les différentes étapes à suivre pour un comptage à l'hématimètre sont les suivantes : prélever précisément 0,01 ml de semence pure et diluer dans 10 ml de sérum physiologique formolé (0,9% de chlorure de sodium, 0,1% de formaldéhyde dans de l'eau distillée), puis homogénéiser la solution. Préparer l'hématimètre en pressant fortement la lamelle sur les côtés de la grille, afin de permettre une adhésion de la lamelle à l'hématimètre. Déposer une goutte de solution sans bulle d'air, en bordure de la lamelle. La gouttelette par capillarité, se répartit alors entre lame et lamelle. Laisser reposer quelques minutes afin que les spermatozoïdes se déposent sur le fond de la lame. Enfin, placer la lame sur la platine du microscope avec un grossissement 40. Le champ du microscope couvre la surface d'un grand carreau.

#### **III.3. L'insémination artificielle**

L'objectif de l'IA est de pouvoir acheminer le sperme collecté et dilué dans les voies génitales femelles dans des conditions optimales sans le rejet de ce dernier. Les étapes clés de l'IA sont donc : la récolte, l'évaluation, le conditionnement du sperme et sa mise en place au niveau de l'appareil génital de la femelle. Le but de l'utilisation de

l'IA dans l'expérience était de déterminer la dose minimale de sperme efficace, et de déterminer aussi la période fertile après un dernier cochage.

### **III.3.1. Choix des mâles**

L'objectif de l'analyse des mâles est de pouvoir sélectionner les meilleurs coqs en fonction de la qualité de leurs semences, et d'éliminer les sujets stériles et ceux présentant une mauvaise qualité. Pour chaque individu, trois éjaculats sont analysés à quelques jours d'intervalle (la majorité entre deux et quatre jours) comme décrit par **Gill et Amann (2002)**.

### **III.3.2. Matériels d'insémination artificielle**

L'ensemble du matériel utilisé durant l'expérience provenait d'un don de la firme IMV (Aigle, France). Le pistolet d'insémination automatique mis au point par IMV, délivre des doses dont le volume peut être ajusté en fonction des besoins. En moyenne, chaque remplissage des paillettes qui contiennent le sperme (dilué ou non) permet l'insémination de 15 à 20 poules. Le reste du matériel qui consistait en, le dilueur, les tubes de collecte et les autres accessoires provenaient aussi de chez IMV.

### **III.3.3. Dose de sperme inséminé et intervalle d'IA**

Les doses inséminées variaient de 100 à 660 millions de spermatozoïdes par insémination. La fréquence d'IA variait en fonction des semaines de 2 à 10 jours d'intervalles. Cependant, pour la plupart, l'intervalle était de 5 jours. La semence collectée est aussitôt diluée avec le dilueur commercial (IMV France). L'insémination est pratiquée en moyenne 10 heures après l'allumage de la lumière dans le bâtiment.

### **III.3.4. Incubation des neufs**

Les neufs désinfectés sont stockés dans une pièce au niveau du bâtiment d'élevage pour une durée moyenne de 5 jours à une température allant de 14 à 22°C. Les neufs propres sont donc soumis à la fumigation juste après le ramassage. Les neufs sales, cassés, fêlés, avec des fuites ou bosselés sont éliminés. A l'arrivée au couvoir,

un deuxième tri des œufs est réalisé et les œufs sont aussitôt mis en incubation sans préchauffage préalable.

### **III.3.5. Evaluation de la fertilité**

Le développement embryonnaire peut être observé par mirage, examen non invasif et très simple. Faute de matériel adéquat pour les différents types de couvoirs existants dans l'exploitation, le mirage a été réalisé au 13<sup>ème</sup> jour d'incubation seulement sur deux lots d'œufs d'inséminations. Le seul critère de mesure de la fertilité pour l'ensemble de l'expérimentation reste donc le taux d'éclosion, qui est la proportion d'œufs fertiles qui continuent le développement jusqu'à donner des poussins viables. La fertilité est calculée par rapport aux œufs incubés et donc exprimée en pourcentage (nombre de poussins éclos/ nombre d'œufs couvés x 100) (Etches, 1995).

### **III.4. Analyses statistiques**

Les données sont analysées au moyen de logiciels de traitement de données statistique Statview version 4.5 (Abacus). La mise en forme des données brutes a été réalisée sous forme de courbes, d'histogrammes et de graphes en boîtes. Des analyses de variance sont réalisées pour étudier la signification dont le seuil est fixé à  $p < 0,05$ .

## *Résultats et discussion*

## **IV. Résultats et Discussion**

### **IV.1. Evaluation des paramètres spermatique aviaire**

#### **IV.1.1. Introduction**

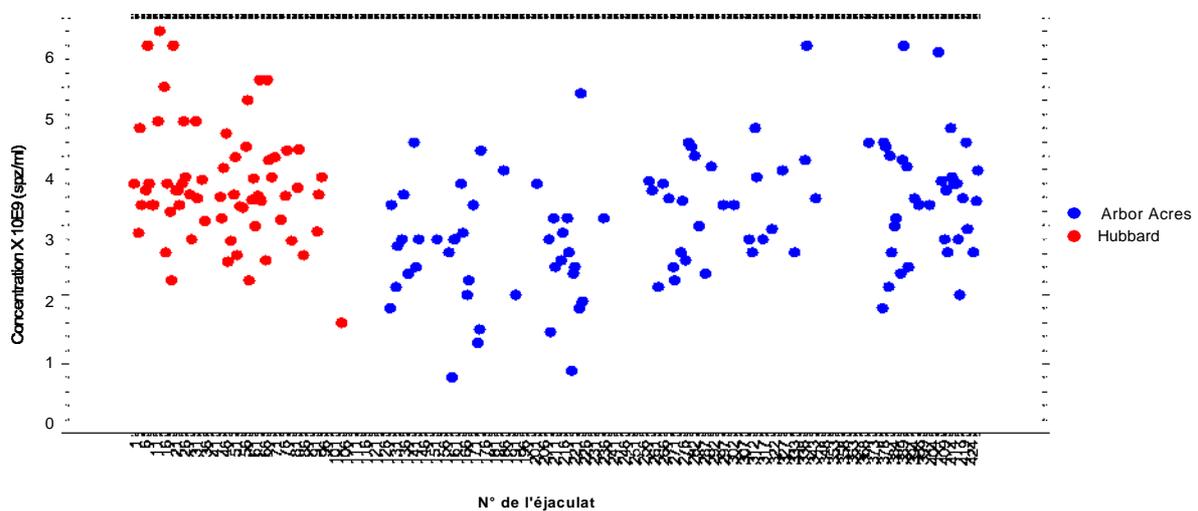
La première partie du travail a été consacrée à l'analyse du sperme du coq de deux souches commerciales (Hubbard et Arbor acres) à différents âges. L'objectif était de pouvoir sélectionner les meilleurs mâles en fonction des paramètres spermatiques qui sont la mobilité et la concentration, et d'éliminer les mâles qui présentent une semence de mauvaise qualité. Cette sélection objective basée sur les paramètres spermatiques contrairement à la sélection morphologique employé jusque là dans les élevages de reproducteurs, va permettre une meilleure sélection des reproducteurs et par conséquent, une élimination d'au moins 20% des mâles inférieurs.

#### **IV.1.2. Concentration spermatique**

La cellule de Mallassez a été choisie pour la mesure de la concentration dans toutes les expérimentations. La **figure 3** représente les variations des concentrations spermatiques individuelles, en fonction de l'éjaculat pour les deux souches étudiées. Les concentrations variaient de 1,6 à 5,8.10<sup>9</sup> SPZ/ml pour Hubbard et de 0,8 à 5,6.10<sup>9</sup> SPZ/ml pour Arbor Acres. La disparité des concentrations est plus prononcée pour les coqs Arbor qu'Hubbard, chose qui pourrait être dû probablement au jeune âge des reproducteurs Arbor. En effet l'âge de cette dernière souche est de 24 semaines alors que celui de la souche Hubbard est de 48 semaines. La littérature rapporte que le plein de production spermatique est observé entre 25 et 30 semaines d'âge (**De Reviere, 1996**). Cependant en analysant le graphe N° 1, nous pouvons voir qu'en termes de concentrations maximales les deux souches se valent et ce n'est que dans les concentrations minimales où il y'a une différence et où certains individus de la souche Arbor présentent des concentrations minimales. Les valeurs de concentrations obtenues dans notre travail restent différentes comparativement à celles rapportées dans la littérature, puisqu'elles varient de ,53.10<sup>9</sup> à 4,68 SPZ/ml chez Arbor acres entres 29 et 60 semaines (**Gumulka et Kapkowska, 2005**) et seulement de 2.10<sup>9</sup>

SPZ/ml à 35 semaines d'âge pour Hubbard avec un intervalle de 48 heures entre deux collectes (Riaz et al, 2004).

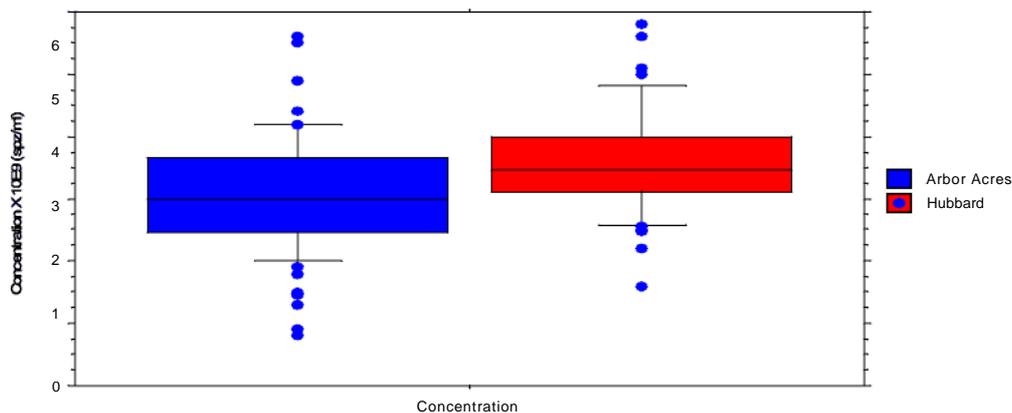
Si l'on considère la concentration spermatique comme le critère de sélection des futurs reproducteurs, il est important de prendre en considération la variabilité de ce paramètre et par conséquent analyser plusieurs mâles et plusieurs éjaculats de suites. L'élimination de 20% de mâles inférieurs pourrait engendrer un bénéfice allant de 1 à 4% d'éclosion dans les meilleurs conditions d'élevage (Gill et Amann, 2002 ; Parker et McDaniel, 2002). Ces taux peuvent être beaucoup plus conséquents dans nos élevages puisque les conditions d'élevage ne sont que peu respectées.



**Figure 3:** Graphe en point représentant les variations de concentrations spermatiques individuelles des coqs de deux souches (Hubbard et Arbor Acres) en fonction du numéro d'éjaculats.

Le graphe en boîte de la **Figure 4**, montre lui aussi la différence de concentrations spermatiques entre les deux souches. Les concentrations moyennes sont de  $3,6 \cdot 10^9$  SPZ/ml pour Hubbard et  $3 \cdot 10^9$  SPZ/ml pour Arbor Acres, cependant malgré ce rapprochement relatif en moyenne nous pouvons voir que plus de 75% des individus Hubbard présentaient des concentrations supérieures à la concentration médiane (trait au milieu de la boîte) de la souche Arbor. A travers ce graphe en boîte nous pouvons déduire tout l'impact économique que revêt l'analyse du sperme chez le coq, en effet nous pouvons tout à fait voir qu'un mâle qui produit 5 milliards de

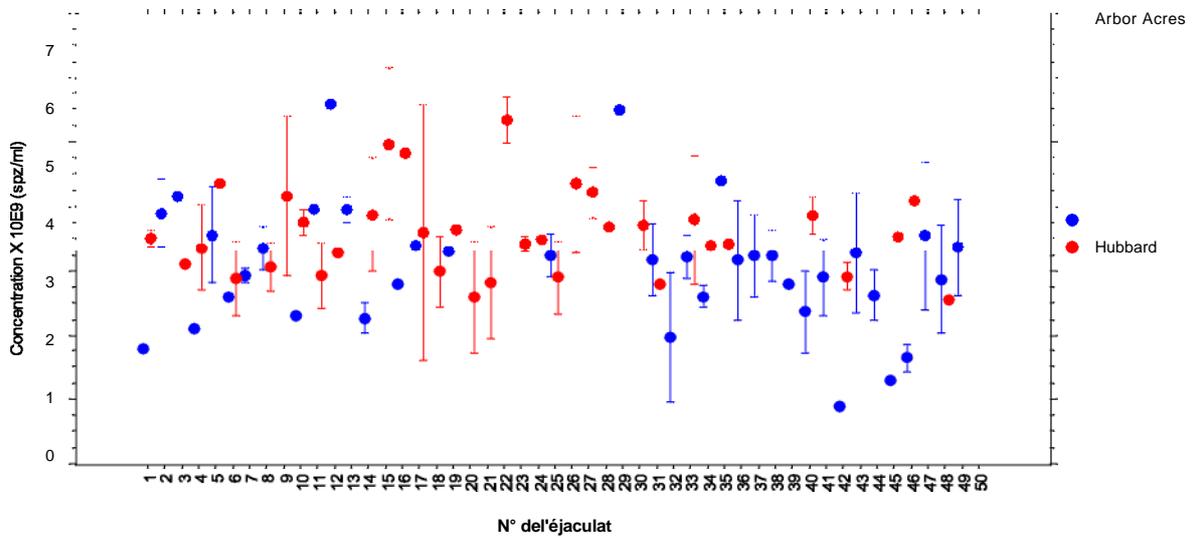
spermatozoïdes/ml équivaut à 5 mâles qui produisent 1 milliard/ml. En somme, nous pouvons retenir sur ce graphe qu'avec 25 des males supérieurs il est possible d'obtenir autant de spermatozoïdes que les 75% restants. Ce fait sera à l'origine d'un gain considérable en alimentation, en frais vétérinaires, en main d'œuvre et autres charges au sein d'une exploitation de reproducteur.



**Figure 4 :** Graphe en boîte, représentant les concentrations spermatiques des mâles de deux souches Hubbard et Arbor acres (concentration en  $10^9$  spz/ml). La ligne du milieu représente la médiane.

Sur la **Figure 5** qui montre les variations des concentrations spermatiques de trois éjaculats de suite du même individu, nous pouvons voir qu'il existe en plus des variabilités individuelles de concentrations, une variabilité au sein du même individu (coq) après plusieurs analyses. Cette dernière reste tout de même constante, puisque suite à l'analyse de trois éjaculats pour chaque individu, la majorité des coqs présentant une bonne semence reste dans cette catégorie alors que les coqs présentant une mauvaise semence eux aussi restent dans la même catégorie et ceci est valable pour les deux souches. On observe toutefois une variabilité moindre chez certains coqs que d'autres. Cependant pour un coq, le numéro17 de la souche Hubbard, nous pouvons voir un écart type important avec des valeurs individuelles s'écartant largement de la moyenne. Ceci signifie que ce coq a présenté une concentration importante à une collecte et une concentration faible à une autre. Pour cela, il serait primordial d'analyser plusieurs fois le même coq avant de se prononcer sur leur statut

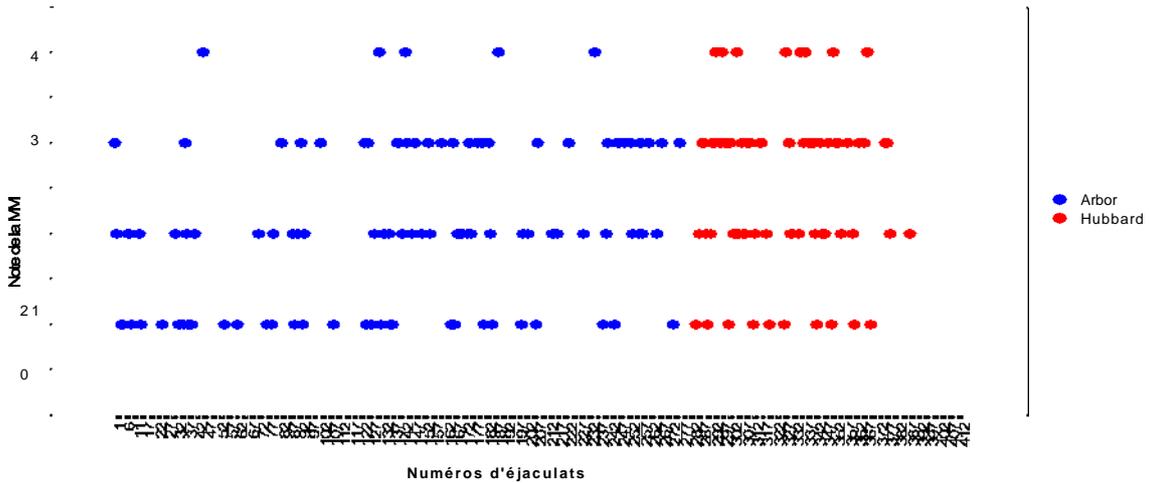
reproducteur. Cette variabilité individuelle est retrouvée aussi dans la littérature (Gill et Amann, 2002).



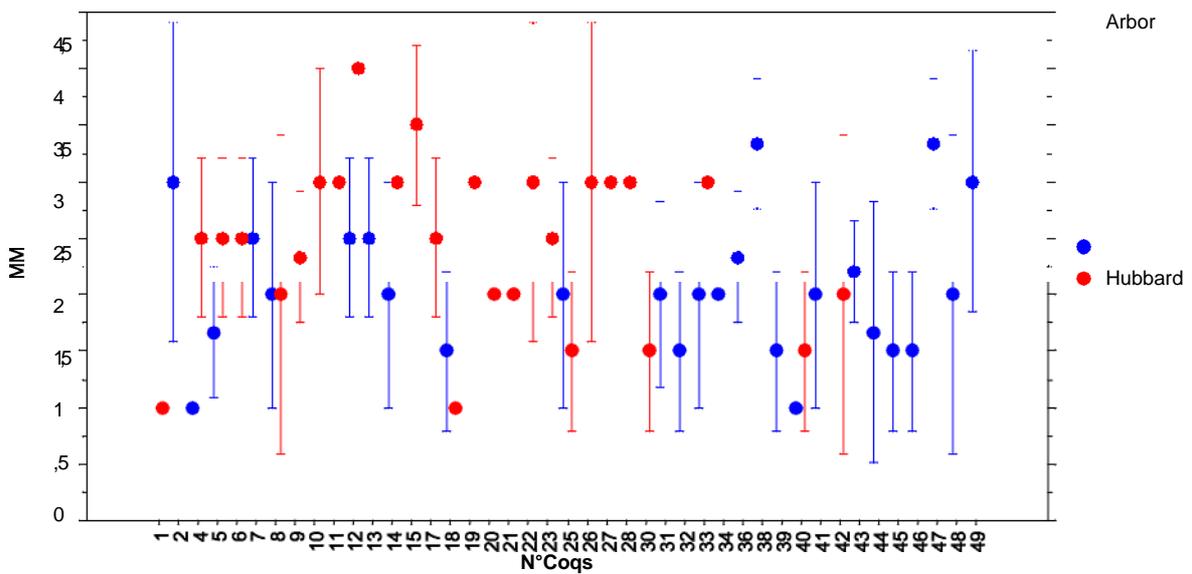
**Figure 5:** graphe de cellules montrant les variations des concentrations spermatisques individuelles de trois éjaculats des coqs de deux souches Hubbard et Arbor acres.

#### IV.1.3. Motilité massale

La **figure 6 et 7** représentent les variations de la mobilité spermatisque en fonction du numéro d'éjaculat pour les deux souches étudiées. Comme pour la concentration spermatisque, les coqs des deux souches présentaient des variations importantes. Cependant, malgré ces variations entre coqs et suite à plusieurs analyses, les meilleurs en motilité restaient toujours dans la gamme supérieure alors que les mauvais restaient dans la gamme inférieure, et on peut même voir que certains individus ne présentent aucun écart type signe qu'à chaque collecte ces coqs avaient la même motilité massale. .



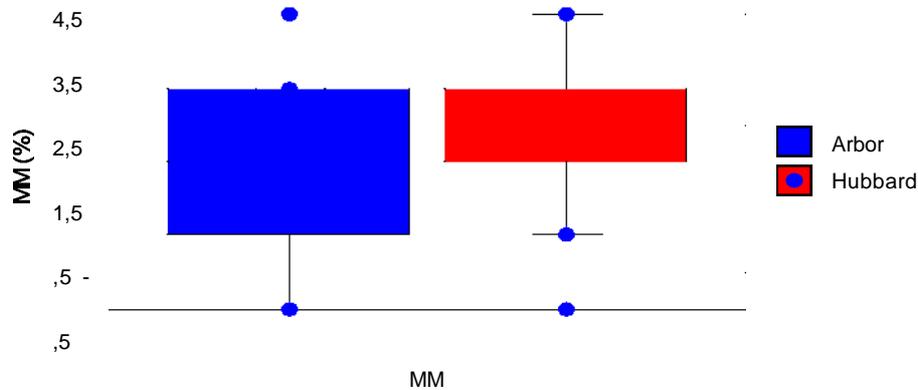
**Figure 6:** Graphe en point, présentant les variations de la mobilité massale des coqs de deux souches (Hubbard et Arbor Acres) en fonction du numéro d'éjaculats.



**Figure 7:** graphe des cellules montrant la mobilité massale des spermatozoïdes des coqs de deux souches Hubbard et Arbor acres en fonction des coqs.

Sur la **Figure 8**, on constate une grande variabilité de la mobilité spermatique entre les deux souches étudiées. Plus de 75% des individus Hubbard présentent des valeurs de mobilité massale supérieures à la médiane de la souche Arbor. Nous constatons donc la même supériorité de la souche Hubbard et ceci aussi bien pour la concentration (**Figure 4**) que pour la mobilité (**Figure 8**). Cependant, il est essentiel de

rappeler que l'évaluation de la mobilité se fait de manière subjective sans aucun outil de quantification à l'exception de l'œil de l'examineur et cela pourrait conduire à des conclusions qui ne reflètent pas la réalité.

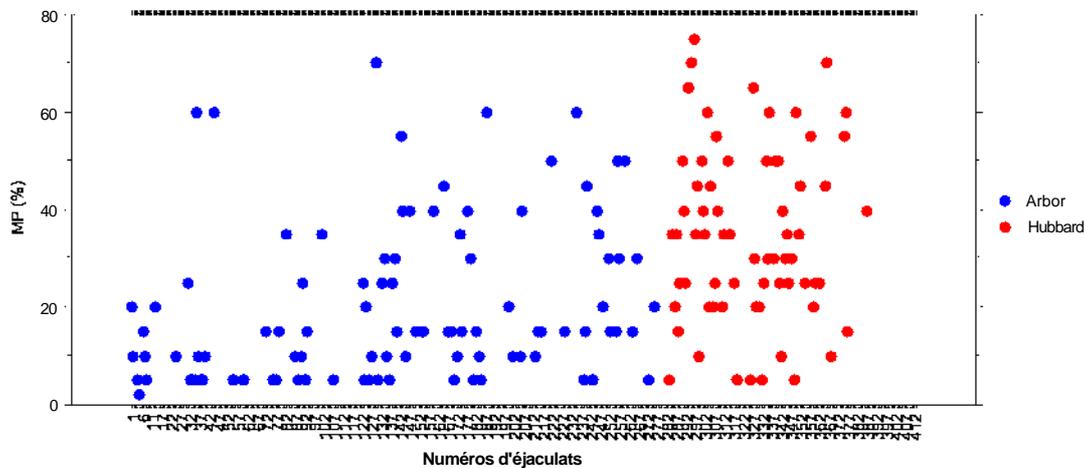


**Figure 8:** Graphe en boîte montrant la motilité massale du sperme des coqs de deux souches Hubbard et Arbor acres. La ligne du milieu représente la médiane.

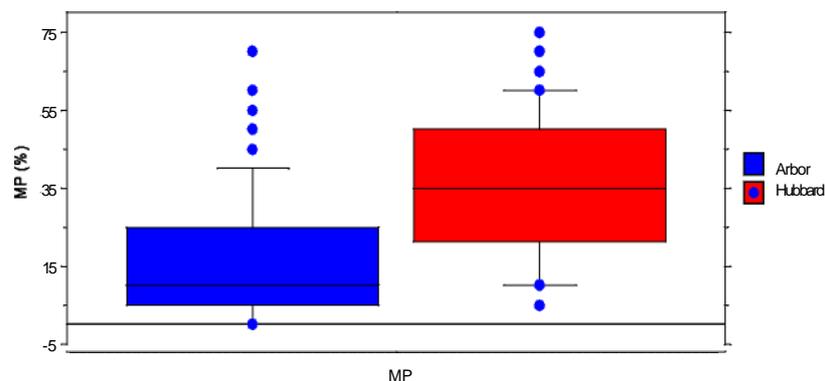
#### IV.1.4. Mobilité progressive

La **figure 9** représente les variations de la mobilité progressive en fonction du numéro d'éjaculat pour les deux souches. L'évolution de ce paramètre reste identique à celle de la mobilité massale, avec une variabilité entre coqs marquée surtout pour Arbor acres. Nous pouvons en effet observer que pour cette souche, un nombre important d'éjaculats présente une mobilité progressive inférieure à 20% alors que pour la souche Hubbard seulement une minorité est en dessous de ce seuil. Cette supériorité est d'ailleurs mieux exprimée sur la **Figure 10**, où nous pouvons voir que plus de 75% des sujets Hubbard présentaient une mobilité supérieure à celle de 75% des sujets Arbor. Cette grande différence en mobilité progressive est probablement liée à l'âge, puisque les coqs Arbor ne sont qu'au début de leur carrière reproductrice. Dans les conditions de reproduction les spermatozoïdes doivent être mobiles pour qu'ils puissent traverser l'appareil génital et être stockés au niveau des sites de stockage au niveau de l'appareil génital femelle et ensuite pouvoir féconder les ovules (**Bakst et al, 1994**). Ainsi, une meilleure attention doit être accordée au choix des males pour ce facteur de mobilité notamment lors du recourt à l'IA, et si un

compromis doit être fait entre concentration et mobilité il se fera en faveur de la dernière.



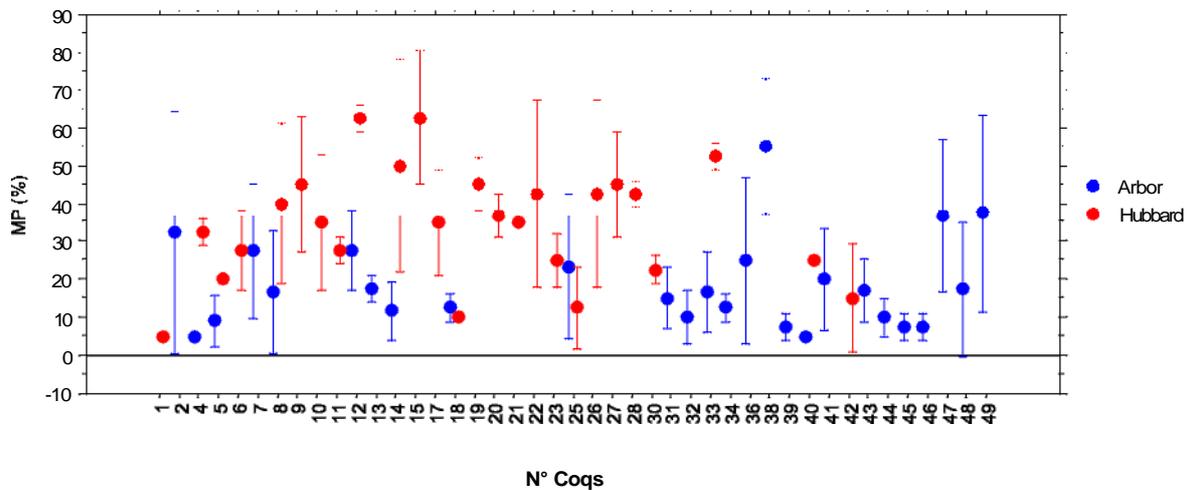
**Figure 9:** Graphe en point, montrant les variations de la motilité progressive du sperme des coqs de deux souches Hubbard et Arbor acres en fonction du numéro d'éjaculats.



**Figure 10:** Graphe en boîte montrant la motilité progressive du sperme des coqs de deux souches Hubbard et Arbor acres. La ligne du milieu représente la médiane.

La **figure 11** représente les variations de la mobilité progressive en fonction des du coqs des deux souches. L'évolution du paramètre de progression a été identique à celle observée pour la mobilité massale et la concentration spermatique, avec toujours une grande variabilité entre individus. Cependant, plusieurs sujets dans les deux souches présentaient une régularité d'une collecte à l'autre exprimée à travers un écart type réduit. Ce qui signifie, de même que ce qui est observé pour la concentration, que

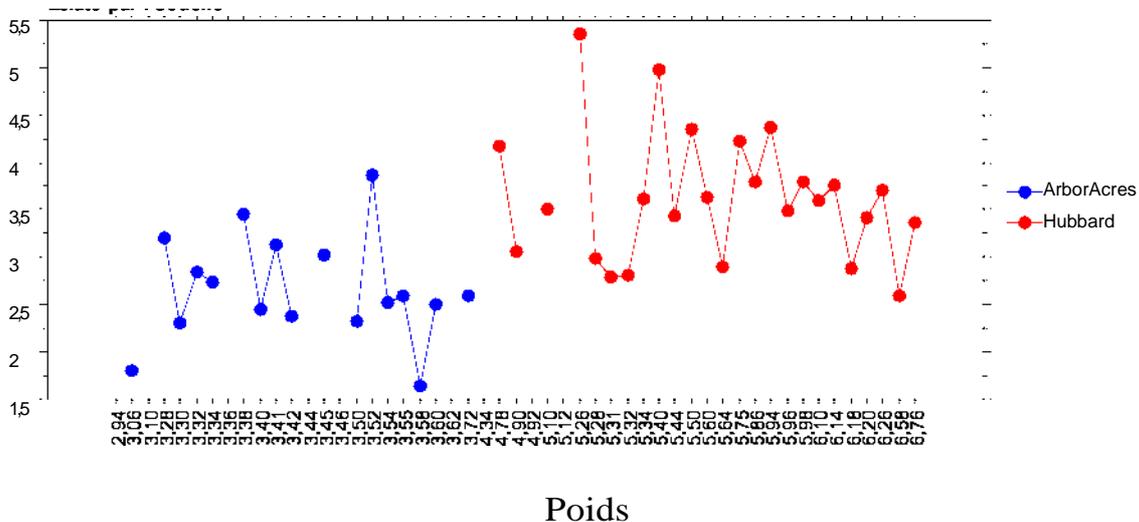
même si la variabilité existe elle reste minime, les bons restent bons et les faibles restent faibles.



**Figure 11:** graphe de cellules montrant les mobilités progressives individuelles du sperme des coqs de deux souches Hubbard et Arbor acres.

#### IV.1.5. Variations de la concentration spermatique en fonction du poids

La **figure 12** représente la concentration spermatique en fonction du poids des coqs des deux souches. On observe clairement une diminution progressive de la concentration spermatique au fur et mesure que le poids des coqs augmente pour la souche Hubbard. En effet, le poids notamment de cette souche Hubbard est nettement supérieur à ce qui recommandé par la firme. Dans notre étude quasiment tous les males ont des poids qui dépassent 5 Kg alors que la valeur recommandée est de l'ordre de 4 Kg. Cette action négative du poids vif sur les paramètres spermatiques est déjà rapportée dans la littérature (**Zhang et al, 1999**). L'excès du poids affecte donc non seulement l'aptitude des coqs à assurer un cochage efficace mais aussi altère significativement les paramètres spermatiques. Ceci reste donc un problème réel dans l'élevage de reproducteurs surtout au-delà de 45 semaines d'âge, où inévitablement les mâles prennent du poids. Dans notre cas, cet effet négatif est exprimé à travers un coefficient de corrélation de  $r = -0,16$ . Pour ce qui est de la souche Arbor, les poids observés restent tout à fait dans la gamme recommandée par la firme avec comme conséquence aucun effet négatif sur la concentration spermatique comme nous pouvons le constater (Figure 10).



**Figure 12:** Courbe montrant les variations des concentrations spermatiques en fonction du poids des coqs des deux souches Hubbard et Arbor acres.

## IV.2. Insémination artificielle et évaluation de la fertilité

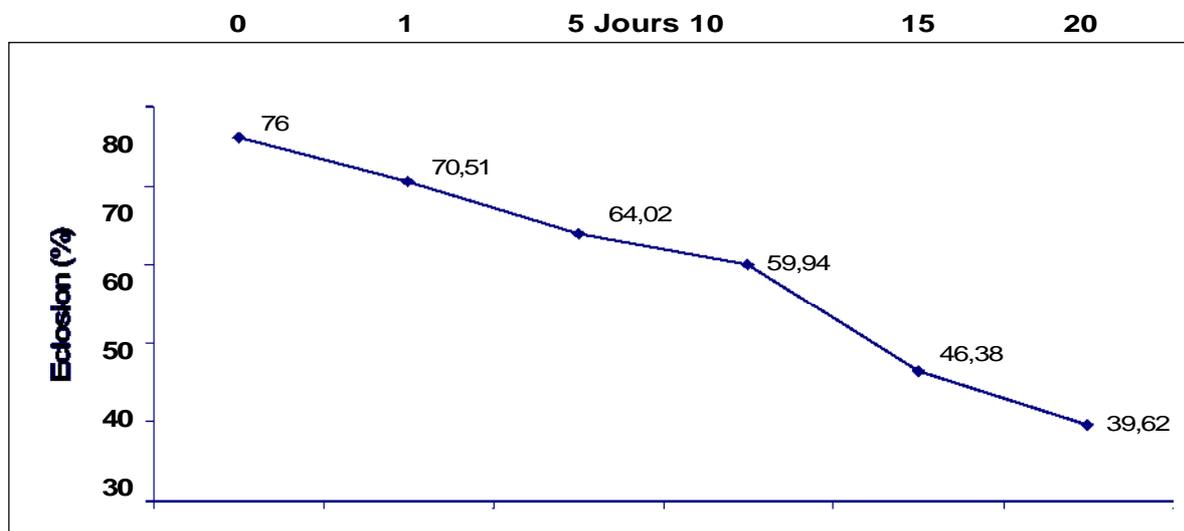
L'un des objectifs principaux du présent travail est de mettre en place l'insémination artificielle dans les conditions d'élevage en Algérie. Ci-dessous nous allons exposer les différents résultats obtenus.

### IV.2.1. Durée de la période fertile chez la poule.

Dans les élevages avicoles, les taux de fertilité varient de 60 à 95 %. La durée de la période fertile, est le nombre de jours durant lesquels une femelle pond des œufs fécondés après une seule insémination ou un seul cochage (**Brillard, 2003a**). L'objectif de la mesure de la période fertile dans un élevage de reproductrices est donc de pouvoir suivre le déclin de la fertilité dans le temps.

La **figure 13** représente les taux de fertilité des œufs de poules isolées de tous contacts avec les coqs sur une durée de 20 jours. Le taux de fertilité était de 76% juste avant l'isolement des femelles, puis décroît pour n'atteindre que 3,9,62% après 20 jours d'isolement ce qui fait une moyenne de chute de fertilité de l'ordre de 5 à 6 % tous les 5 jours. La persistance de la fertilité même en absence de tout contact avec les mâles

peut s'expliquer par la présence des sites de stockages de spermatozoïdes chez la poule. En effet, Les femelles d'oiseaux peuvent stockés les spermatozoïdes et assurer la fertilisation des neufs pendant plusieurs jours à quelques semaines (**Bakst et al, 1994**). La durée de survie des spermatozoïdes dans l'oviducte dépend de plusieurs facteurs liés soit à la femelle soit au mâle. Les résultats obtenus dans notre expérience sont en accord avec ceux décrits en littérature, puisqu'il est rapporté que la fertilité décline considérablement 14 à 18 jours post-insémination (**Beaumont et al, 1992 ; Kirby et al, 1998**). Il est ainsi recommandé compte tenu de cette durée fertilité, de renouveler l'insémination tous les 7 jours voir 5 jours dans la deuxième moitié de production (**De Reviere et Brillard, 1982**).

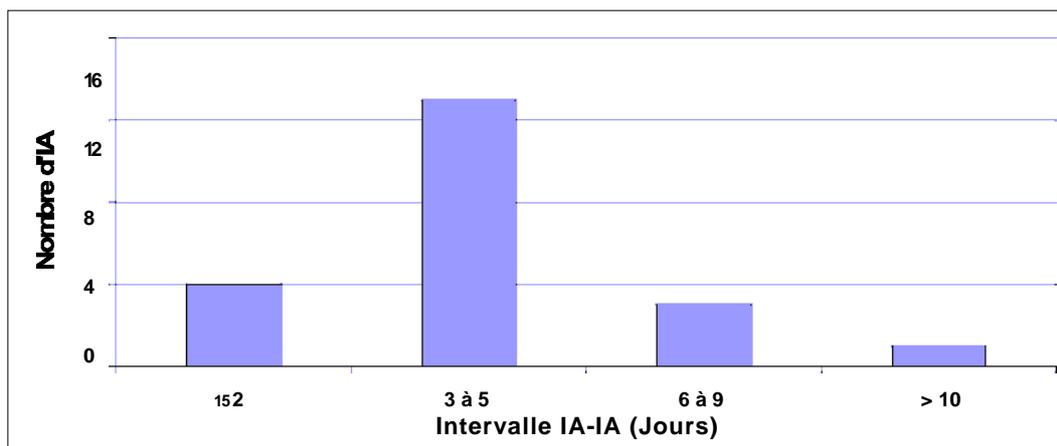


**Figure 13:** Courbe de la durée de fertilité en reproduction naturelle des neufs issus de poules (Hubbard Classic) isolées de tout contact avec les coqs sur une durée de 20 jours.

#### IV.2.2. Intervalle IA – IA

Chez la poule, l'éversion du cloaque en vue de l'IA ne peut être pratiquée qu'après la ponte des premiers neufs. Après plusieurs IA en début de ponte, une IA par semaine est généralement la règle chez la plupart des espèces aviaires à l'exception du canard (**Brillard 1985**). Afin d'augmenter les chances de stockage des spermatozoïdes par les poules qui étaient en moitié de la deuxième période de reproduction (51 semaines d'âge), nous avons opté pour deux inséminations à deux jours d'intervalles

la première semaine. A partir de la deuxième semaine, en fonction de la disponibilité du personnel au niveau de la ferme les intervalles d'IA étaient de 3 à 9 jours. Cependant, comme le montre la **Figure 14**, la majorité des intervalles pratiqués entre inséminations se situaient entre 3 à 5 jours, ce qui est en accord avec les recommandations des différents programmes d'IA appliqués en élevage dans les pays industrialisés (**Brillard 1995**).

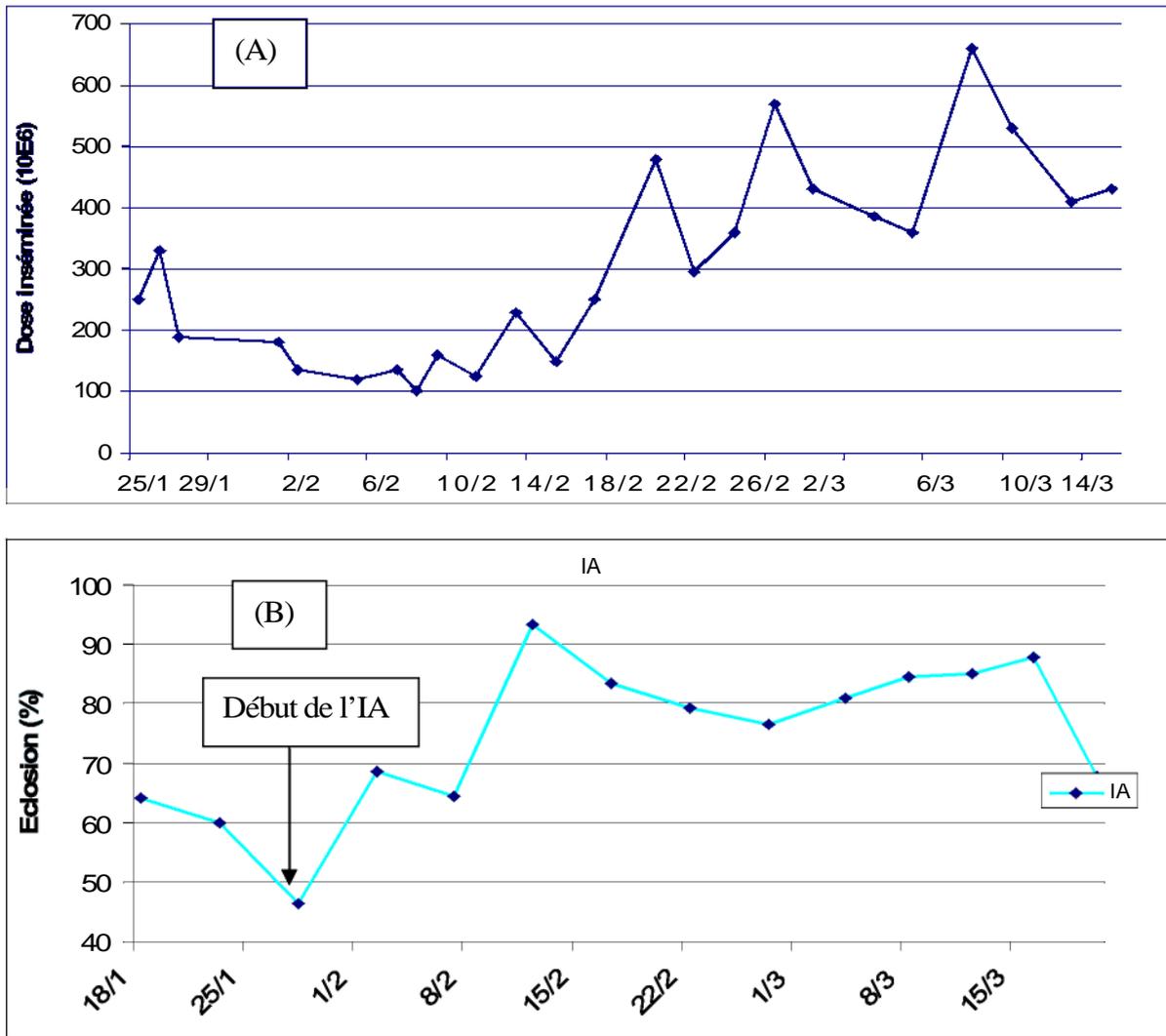


**Figure 14:** Figure montrant la fréquence des intervalles ( en jours) entre deux inséminations pratiquées sur des poules (Hubbard Classic) à partir de 51 semaines d'âges.

#### IV.2.3. Doses de sperme inséminées et fertilité

Le nombre de spermatozoïdes qu'il est nécessaire de mettre en place à chaque insémination est important à plusieurs titres. Le taux de fécondation des œufs en dépend et comme la production de spermatozoïdes d'un coq n'est pas illimitée, et qu'il faut inséminer un maximum de poules, un choix d'une concentration optimale s'impose. La **figure 15 (A)** représente les différentes concentrations utilisées durant l'expérience, elles variaient de 100 à plus de 600 millions de SPZ par insémination. Les taux les plus élevés en fertilités sont obtenus seulement avec des doses allant de 100 à 200 millions de SPZ (**Figure 15 B**). Cet intervalle serait probablement celui à recommander dans nos conditions. D'ailleurs, l'insémination avec de fortes doses (400 voir 600 millions) n'entraîne aucune amélioration des taux d'éclosion. Les différents résultats rapportaient dans la littérature montrant la relation entre fertilité et

dose inséminée paraissent aussi contradictoires, puisque chez la poule domestique, **Taneja et Gowe** (1962), **De reviers et Brillard** (1986) et **Lake et Ravie** (1987) rapportent des taux de fertilités supérieurs à 90% après insémination avec 80 à 120, 25 et 5,5 millions de spermatozoïdes respectivement. Cependant, en condition d'élevage, les recommandations sont de 150 à 250 millions par insémination dans la première moitié de ponte et entre 200 à 250 millions par insémination pour la seconde moitié de ponte (**Brillard 1995**), avec des moments d'inséminations toujours de 6 à 7 heures après allumage de la lumière dans le bâtiment d'élevage (**Brillard et al, 1986**). En comparant les deux courbes (**15 A et 15 B**), il est intéressant de voir que pendant la période allant du 1 au 15 février le taux d'éclosion présente un accroissement régulier malgré que les doses pratiquées restent relativement constantes (entre 100 et 200 millions), ceci pourrait être un signe d'une dynamique de stockage des spermatozoïdes au niveau du tractus femelle, et c'est d'ailleurs pendant cette même période que nous avons inséminé à 2 jours d'intervalle.

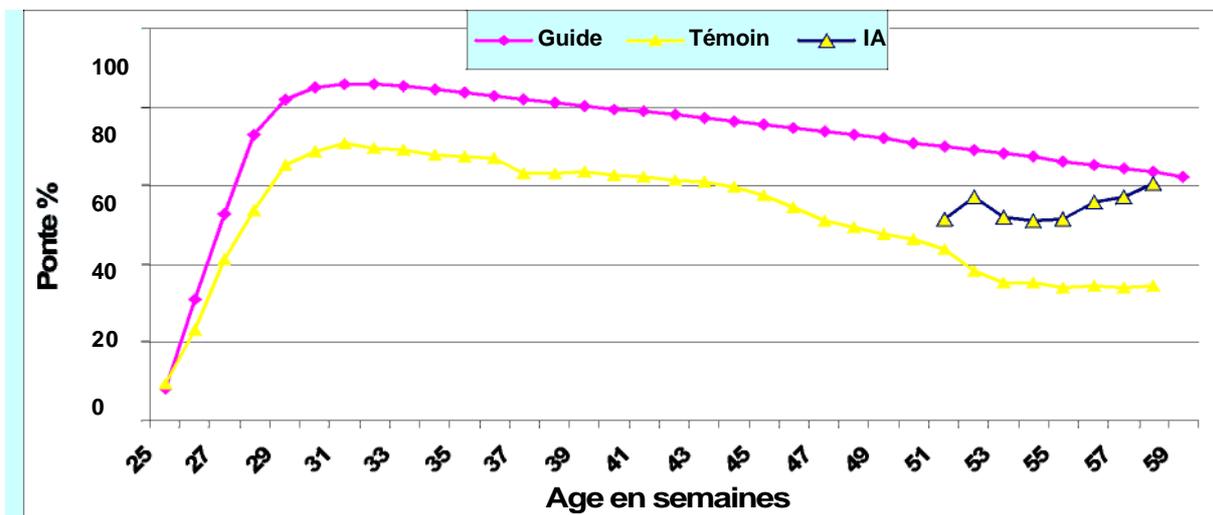


**Figure 15:** Graphe représentant les variations de doses de semence utilisées en IA (A), et les taux d'éclosions correspondant pour chaque dose (B).

#### IV.2.4. Taux de ponte

La **Figure 16**, représente les variations des taux de ponte dans le groupe de femelle isolée pour l'IA, de celles du bâtiment d'élevage (témoin) et du référentiel du guide d'élevage. On peut voir une différence importante dans les taux de pontes du bâtiment d'élevage par rapport aux références du guide d'élevage et ceci durant les trois parties d'élevages (entrée en ponte, pic de ponte et la fin de ponte). Un pic de ponte de 86% est observé entre 30 et 33 semaines dans le guide d'élevage alors que ce dernier est de seulement 70% dans l'ensemble du bâtiment. Juste après le pic, la différence du taux de ponte entre les deux groupes dépassait souvent 15% pour atteindre les 30% à partir de 50 semaines d'âges. Cette différence pourrait être

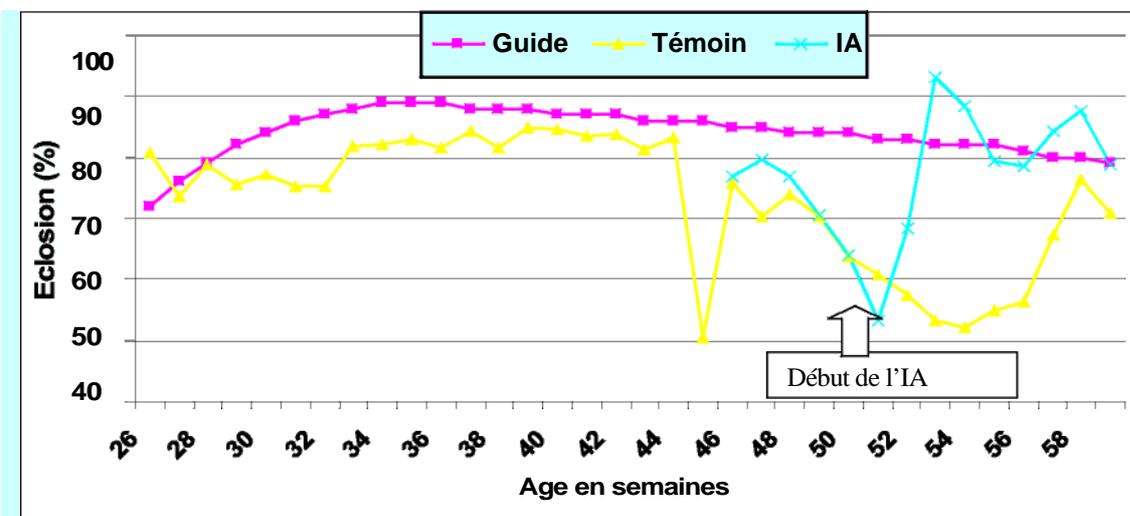
expliquée par la mauvaise gestion technique de l'élevage, à commencer par un décalage de la stimulation lumineuse à l'entrée en ponte et un non respect de la densité dans le bâtiment. Pour le groupe inséminé, la différence avec le guide d'élevage reste raisonnable, surtout vers la fin où les taux de pontes équivalaient ceux du guide et reste nettement supérieure au groupe témoin. La différence de ponte entre les groupes inséminé et témoin, peut s'expliquer par l'élimination des poules infertiles au moment de l'IA, puisque les poules dont le cloaque est impossible à inversé au moment de l'IA sont considérées donc comme infertiles. Ce dernier point est un des avantages de l'utilisation de l'IA et peut avoir un impact réel sur l'économie d'une exploitation avicole.



**Figure 16:** taux de ponte hebdomadaire. Chaque point représente la production moyenne d'œufs, du guide, du groupe témoin et du groupe de femelles inséminées artificiellement.

#### IV.2.5. Taux d'éclosions

La **figure 17** représente les taux d'éclosions durant le cycle de reproduction des lots (témoin, inséminé et de ceux du guide de la souche). Comme pour la ponte, les taux d'éclosions du groupe témoin restent inférieurs tout au long de la période de production comparativement au guide. Cette différence est plus prononcée à partir de la deuxième moitié de reproduction (à partir de 45 semaines d'âge), puisque la différence des taux d'éclosions peut atteindre parfois les 30%. Cet écart important de fertilité peut avoir différentes causes : un mauvais état sanitaire de l'élevage, le mauvais entretien des mâles comme le prouve le poids moyen des coqs dans l'élevage qui est de 5,59 kg au lieu des 4,45 kg et nous avons vu ci-dessus que les paramètres spermatiques sont altérés à ces poids. Cependant, une tendance naturelle à la baisse de la fertilité est observée avec l'âge parmi tous les reproducteurs, puisque la capacité de stockage en spermatozoïdes serait beaucoup moins importante et par conséquent la durée de fertilité serait elle aussi réduite (**Brillard, 2003b**).

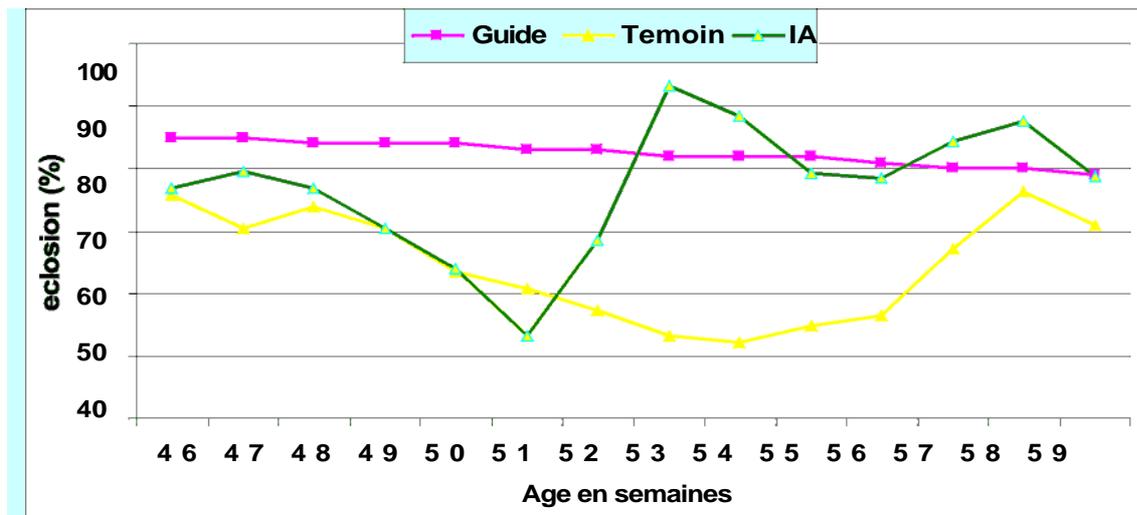


**Figure 17:** Taux d'éclosion hebdomadaire. Chaque point représente le taux moyen d'éclosion du guide, du groupe témoin et du groupe de femelles inséminées.

#### IV.2.6. Taux d'éclosions pendant la période d'insémination artificielle

Sur la **Figure 18**, nous avons représenté ponctuellement les taux d'éclosion, juste avant la mise en place de l'IA et pendant toute la durée de sa mise en application. Nous pouvons observer que les taux d'éclosion du lot inséminé sont identiques voir

majoritairement supérieurs à ceux du guide. Ce résultat met en valeur tout l'impact économique que peut avoir la généralisation de l'IA dans les exploitations de reproducteurs de type chair.



**Figure 18:** Taux d'éclosion hebdomadaire pendant la durée de l'expérimentation. Chaque point représente le taux moyen d'éclosion du guide, du groupe témoin et du groupe de femelles inséminées.

# *Conclusion*

## **V. Conclusion**

La fertilité dans un troupeau de reproducteur est affectée par la forte pression de sélection génétique exercée jusque-là pour un meilleur gain de poids. Il a été établi depuis maintenant plusieurs décennies une relation inverse entre gain de poids et la plupart des caractères de reproduction chez la dinde comme chez le poulet. Notre approche dans ce travail consistait donc à évaluer les paramètres spermatiques des coqs de deux souches commerciales, puis vérifier la fertilité des neufs issus de l'insémination des poules par la semence des coqs sélectionnés.

Les résultats de la première partie sur les paramètres spermatiques des mâles, nous renseigne sur l'importance du choix du mâle reproducteur sur la base de la qualité de sa semence à un moment bien déterminé de sa carrière afin d'optimiser au mieux les éclosions des neufs et par conséquent avoir une rentabilité meilleure. Les paramètres à vérifier sont donc, la concentration, la mobilité, et la morphologie du coq (poids corporel, état général et homogénéité du lot). Compte tenu de l'existence de fortes variations des concentrations individuelles mais aussi au sein même d'un même individu parmi les deux souches étudiées, il serait primordial si l'on considère la concentration comme critère de sélection, d'analyser plusieurs fois le même coq avant de se prononcer sur son statut reproducteur. Cette règle doit être aussi appliquée sur le critère de mobilité surtout dans les programmes d'IA.

L'examen de la semence (concentration et mobilité) serait une réelle opportunité pour la sélection des futurs reproducteurs sur la base de leur performances de reproduction et prédire par là leur capacités de fertilisation. Cet examen de laboratoire prédictif du potentiel de fertilisation du mâle, pourrait être pratiqué en reproduction naturelle comme en insémination artificielle. Cette sélection permettra donc d'éliminer les mâles ayant une mauvaise semence et pouvoir garder les reproducteurs ayant une meilleure semence. L'augmentation du pouvoir fertilisant des mâles va améliorer considérablement l'éclosion, et par conséquent le nombre de poussins produits dans une exploitation avicole. Cette pratique reste tout à fait possible dans les élevages algériens qui connaissent aujourd'hui de grands problèmes d'éclosion notamment durant la deuxième phase de reproduction.

La deuxième partie du travail consistait en l'utilisation du sperme des coqs sélectionnés pour l'insémination des poules. Les résultats obtenus dans notre expérience montrent que l'insémination artificielle des poules dans les conditions d'élevage en Algérie permet d'obtenir des résultats satisfaisants en se pliant à des normes relativement simple : sperme utilisé à l'état frais, à raison de 150 à 200 millions de spermatozoïdes par dose, inséminations renouvelées tous les 5 à 7 jours et faites à un intervalle de temps suffisant par rapport à l'oviposition (plus de 5 heures). Par ailleurs, en plus des garanties sanitaires et le progrès génétique permis par l'insémination, l'impact économique de sa généralisation en vue de la production de poussins chair est considérable, surtout que l'obstacle principal au développement de l'insémination artificielle de la poule qui consistait en les coûts élevés de la main-d'œuvre dans les pays occidentaux pourrait être surpassé facilement dans notre pays. Ainsi, la généralisation de l'insémination artificielle chez la poule en vue de la production de poussins chair pourrait être une solution dans notre pays compte tenu des résultats dans nos élevages.

Un des objectifs du présent travail qui consistait en la mise en place de nouveaux milieux de conservations de la semence bovine à partir du modèle aviaire n'a pas pu être réalisé faute de disponibilité du sperme frais pour cette espèce. Ainsi, il nous a été impossible de mettre en place ces techniques de conservations qui nécessitent en plus plusieurs mois d'expérimentation. A présent, la technique d'insémination chez la poule est maîtrisée, il ne nous reste qu'à vérifier les différents milieux de conservations pour le sperme bovin déjà existant, mais aussi développer de nouveaux milieux de conservations de la semence aviaire et bovine qui seraient donc les objectifs de la prochaine étape.

Mais il serait aussi intéressant d'étudier nos populations aviaires locales et de proposer des stratégies de développement de nouveaux profils génétiques associant productivité et rusticité, car aujourd'hui encore l'Algérie reste sans aucune souche commerciale locale, une grippe aviaire d'une année, avec ses conséquences sur les échanges d'animaux dans le monde, fera qu'on retrouvera aucun poulet sur le marché locale.

# *Bibliographie*

## *Bibliographies*

**Aman RP (1999):** Lessons for the poultry industry gleaned from experiences with other commodity species. *Poultry Science* 78: 419-427.

**Bakst MR et Brillard JP (1995):** Mating and fertility. *Poultry production*. Hunton P Ed. *World animal science C9- Elsevier* 271-282.

**Bakst MR et Cecil HC (1997):** Techniques for semen evaluation, semen storage, and fertility determination. Sperm viability. I. Nigrosin/ eosin stain for determining live/dead and abnormal sperm counts. *The Poultry Science Association, Inc., Savoy, Illinois*, pp. 29–34.

**Bakst MR, Wishart G et Brillard JP (1994):** Oviductal sperm selection, transport and storage in poultry. *Poultry Science Reviews* 5, 117-143.

**Barbato GF (1999):** Genetic relationships between selection for growth and reproductive effectiveness. *Poultry Science* 78: 444-452.

**Barbato GF, PG crame et RH Hammerstedt (1998):** A practical in vitro Sperm-Egg binding essay that detects subfertile males. *Biology of Reproduction* 58, 686-699.

**Batellier F, JP Brillard et M Govoroun (2005):** Reproduction des animaux d'élevage. *L'Anatomie et la physiologie de l'appareil génital femelle des oiseaux*. Deuxième édition. Chap 14, p342-355.

**Beaumont C, Brillard JP, Millet N et M De Riviers (1992) :** Comparison of various characteristics of duration of fertility in hens. *Br. Poult. Sci.* 33, 649–661.

**Bilgili SF, Renden JA et KJ Sexton (1985):** The influence of staining techniques and examiners on evaluation of the morphology of fowl spermatozoa. *Poultry Science* (64) 2358–2361.

**Blesbois E (2005):** Reproduction des animaux d'élevage. Deuxième édition. Chap 13, p334-341.

**Blesbois E et JP Brillard (2005):** Reproduction des animaux d'élevage. Deuxième édition. Chap 15, p358-369.

**Bramwell RK, Marks HL et B Howarth (1995):** Quantitative determination of spermatozoa penetration of the perivitelline layer of the hen's ovum as assessed on oviposited eggs. *Poultry Sci.* 74:1875–1883.

**Brillard JP (1985):** Insémination artificielle chez la poule. CR colloque sur les productions avicoles. Quebec, CANADA. pp 17-30.

**Brillard JP (1990):** Déplacements des spermatozoïdes dans l'oviducte chez la poule et la dinde. *Reprod Nutr Dev* 30, 175-182.

**Brillard JP (1992):** Factors affecting oviductal sperm storage in domestic fowl following artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 27, 247–256.

**Brillard JP (1995):** Artificial Insemination: How many sperm? How often? In: Bakst MR Wishart GJ Eds, Proc. 1 st International Symposium on the Artificial Insemination of Poultry. Poultry Science Association, Savoy, IL, pp. 176–183.

**Brillard JP et McDaniel, (1986):** Influence of spermatozoa numbers and insemination frequency on fertility in dwarf broiler breeder hens. *Poultry Science* 65: 2330-2334.

**Brillard JP, McDaniel GR, De Reviere M et Drane JW (1989):** Expression of several traits of fertility in young and old dwarf broiler breeder hens inseminated with duplicate doses of semen. *Poultry science* 1989 Apr; 68 (4): 558-63

**Brillard JP (2003a):** Practical aspects of fertility in poultry. *World's Poultry Science Journal*, Vol. 59, 441-446.

**Brillard JP (2003b):** Sperm storage and transport following natural mating and artificial insemination. *Poultry science* 72: 923-928.

**Brinsko SP, Crockett EC et EL Squires (2000):** Effect of centrifugation and partial removal of seminal plasma on equine spermatozoal motility. *Theriogenology*, 54:129-36.

**Burrows WH et JP Quinn (1937):** The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. *Poult. Sci.* 26, 19-24.

**Chalah T et JP Brillard (1998):** Comparison of assessment of fowl sperm viability by Eosin-Nigrosin and dual fluorescence (Syber-14/PI).

**Chaudhuri, D.G., Wishart, G.J., Lake, P.EO Ravie (1988):** Predicting the fertilizing ability of avian semen: a comparison of a simple colorimetric test with other methods for predicting the fertilizing ability of fowl semen. *Br. Poult. Sci.* 29, 847-851.

**Christensen VL (1995) :** Diluents, dilution, and storage of Poultry semen for six hours. In: Bakst MR Wishart GJ Eds, Proc. 1 st International Symposium on the Artificial Insemination of Poultry. Poultry Science Association, Savoy, IL, pp. 176-183.

**Colenbrander B, Gadella BM et TAE Stout (2003):** The predictive value of semen analysis in the evaluation of stallion fertility. *Reprod. Domest. Anim.* 38, 305–311

**De Reviere M (1975) :** Le développement testiculaire du coq. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 15 (4), 633-641.

**De Reviere M (1996):** Photopériodisme, développement testiculaire et production de spermatozoïdes chez les oiseaux domestiques. *INRA Prod. Anim.*, 9 (1), 35-44.

**De Reviere M et JP Brillard (1986):** Variations in the sperm production, the sperm output and in the number of sperms to be inseminated in ageing broiler breeders. *World's Poultry Sci. J.* 42: 98.

**De Reviere M et JP Brillard (1982):** L'insémination artificielle chez les volailles: aspects techniques. XVII Simposio Internazionale di Zootecnia Milano, 15-16-1è Aprile 1982.

**Donoghue AM et GJ Wishart (2000):** Storage of poultry semen. *Animal Reproduction Science* (62) 213–232.

**Dott HM et Foster GC (1979):** The estimation of sperm motility in semen, on a membrane slide, by measuring the area change frequency with an image analysing computer. *J Reprod Fertil* 1979; 55: 161-166.

**Eid LN, SP Lorton et JJ Parrish (1994) :** Paternal influence on S-phase in the first cell cycle of the bovine embryo. *Biol. Reprod.* 51, 1232–1237.

**Eriksson BM et H Rodrigues-Martinez (2000):** effect of freezing and thawing rates on the post-thaw viability of boar spermatozoa frozen in flatPacks and maxi-straws. *Anim Reprod Sci*, 63: 205-20.

**Etches RJ, 1995:** Reproduction in Poultry. Chap 12, 298-307.

**Evenson DP et R Wixon (2006).** Clinical aspects of spermDNAfragmentation detection and male fertility. Theriogenology 65, 979–991.

**Fraser L et J Strzezek (2005).** Effects of freezing-thawing on DNA integrity of boar spermatozoa assessed by the neutral comet assay. Reprod. Domest. Anim. 40, 530–536.

**Freund M (1962):** Interrelationships among the characteristics of human semen and factors affecting semen-specimen quality. J. Repr. Fertil. 4, 143-159.

**Froman DP et DJ McLean (1996):** Objective measurement of sperm motility based upon sperm penetration of Accudenz. Poultry Science 75:776–784.

**Garner DL et LA Johnson (1995):** Viability assessment of mammalian sperm using SYBER-14 and propidium iodide. Biol Reprod 1995; 53: 276-284.

**Gilgenkrantz, (2004):** Le sexe des oiseaux. Médecine/Science 20: 1004-8

**Gill SPS et RP Amann (2002):** Does evaluation of one or two ejaculates of rooster semen provide a valid basis for culling inferior males. J. Appl. Poult. Res. 11:275–281

**Graham JK (2001):** Assessment of sperm quality: a flow cytometric approach. Animal Reproduction Science 68 (2001) 239–247

**Gumulka M et E Kapkowska (2005):** Age effect of broiler breeders on fertility and sperm penetration of the perivitelline layer of the ovum. Animal Reproduction Science 90, 135–148.

**Hamori E (1980):** Selection of viable cells with known DNA content. *Cytometry* 1980; 1:132-135.

**Hocking PM et R Bernard (1997):** Effects of dietary crude protein content and food intake on the production of semen in two lines of broiler breeder males. *Issue (2)*, p 199–202.

**Johnston NP, Parker JE (1969):** The effect of time of oviposition in relation to insemination on fertility of chicken hens. *Poultry science* 49 (1): 325-327.

**Jones ME et JA Mench (1991):** Behavioral correlates of male mating success in a multisire flock as determined by DNA fingerprinting. *Poultry science* 70 (7): 1493-8.

**Kirby JD, Corinna J, Tressler et YK Kirby (1998):** Evaluation of the Duration of Sperm Fertilizing Ability in Five Lines of Commercial Broiler Breeder and Delaware Cross Males. *Poultry science* 77: 1688-1694.

**Klein-Hessling H (2006):** Artificial Insemination. *World Poultry- Turkey special* 2006, pp 21-22.

**Krause W et G Viethen (1999):** Quality assessment of computer-assisted semen analysis (CASA) in the andrology laboratory. *Andrologia*, 31: 125-9.

**Lake PE (1978):** The principles and practice of semen collection and preservation in birds. In: *Symposium of Zoological Society, London*, p. 43.

**Lake PE et O Ravie (1987):** Effect on fertility of low numbers of fowl spermatozoa inseminated in aqueous diluent or semen components of the fowl and Turkey. *British Poultry Science*, Volume 28, Issue 1, pages 75 – 80.

**Lake PE, (1995):** Historical perspective of artificial insemination technology. In: Bakst MR Wishart GJ Eds, Proc. 1 st International Symposium on the Artificial Insemination of Poultry. Poultry Science Association, Savoy, IL, pp. 1–20

**Larsen L, Scheike T, Jensen TK, Bonde JP, Ernst E, Hjollund NH, Zhou Y, Skakkeback NE et A Giwercman (2000):** Computer-assisted semen analysis parameters as predictors of fertility of men from the general population. The Danish First Pregnancy Planner Study team. Hum Reprod. 15: 1562-43.

**Leonard ML et L Zanette (1998):** Female mate choice and male behaviour in domestic fowl. Animal Behaviour. 56, 1099-1105.

**Lukaszewicz E, Jerysz A, Partyka A et A Siudzin´ska (2008):** Efficacy of evaluation of rooster sperm morphology using different staining methods. Res Vet Sci. 85 (3): 583-588.

Female mate choice and male behaviour in domestic fowl

**Mahmoud AM, Deporter B, Piens N et FH Comhaire (1997):** The performance of 10 different methods for the estimation of sperm concentration. Fertil Steril. 68: 340-345.

**McDaniel CD, Hannah JL, Parker HM, Schultz CD et CD Zumwalt (1997):** The relationship of the sperm motility index with rooster sperm quality and fertilizing ability. Poultry Sci. 76 (Suppl. 1):115. (Abstr.)

**McDaniel CD, Hannah JL, Parker HM, Smith TW, Schultz CD et CD Zumwalt (1998):** Use of a Sperm Analyzer for Evaluating Broiler Breeder Males. 1. Effects of Altering Sperm Quality and Quantity on the Sperm Motility Index. Poultry Science 77:888–893

**McGary S, Estevez I, E Russek-Cohen (2003a):** Reproductive and aggressive behavior in male broiler breeders with varying fertility levels. *Applied Animal Behaviour Science*, 82: 29–44.

**McGary S, Estevez I et M. R. Bakst (2003b):** Potential Relationships Between Physical Traits and Male Broiler Breeder Fertility. *Poultry Science* 82:328–337

**Neild DM, MG Chaves, M Flores, MH Miragaya, E Gonzalez et A Agüero (2000):** The HOS test and its relationship to fertility in the stallion. *Andrologia* 32, 351–355.

**Parker HM et CD McDaniel (2002):** Selection of Young Broiler Breeders for Semen Quality Improves Hatchability in an Industry Field Trial. *J. Appl. Poult. Res.* 11:250–259.

**Paston MJ, Sarkar S, Oates RP et SZ Badawy (1994):** Computer-aided semen analysis variables as predictors of male fertility potential. *Arch Androl.* 33: 93-9.

**Pollock DL (1999):** A Geneticist's perspective from within a broiler primary breeder company. *Poultry science* 78, 414-418.

**Ponsart C, Gérard O et Caplin S (2004) :** L'insémination: historique, état des lieux chez l'animal. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 32 (2004) 880–886

**Riaz A, Aleem M, Ijaz A, Saeed MA et A Latif (2004).** Effect of collection frequency on the semen quality of broiler breeder. *Br Poult Sci.* Dec;45(6):823-7.

**Sauveur B (1989):** Reproduction des volailles et production d'oeufs.

**Smith CA et AH Sinclair (2004):** Sex determination: insights from the chicken. *BioEssays* 26: 120-132.

**Taneja CG et RS Gowe (1962):** Effect of varying doses of undiluted semen on fertility and hatchability in the domestic fowl. *J Reprod. Fertil.* 4, 161-174.

**Thibault C et MC Levasseur (2001):** La reproduction chez les mammifères et l'homme. INRA Ellipses 2001.

**Trippel EA, (2003) :** Estimation of male reproductive success of marines fishes. *J Northw. Atl. Fish. Sci.* Vol. 33, 81-113.

**Wilhelm KM, Graham JK et EL Squires (1996):** Comparison of the fertility of cryopreserved stallion spermatozoa with sperm motion analysis, flowcytometric evaluation, and zona-free hamster oocyte penetration. *Theriogenology* 46, 559–578.

**Wishart GJ, (1995):** New approaches to evaluating male and female fertility. In: Bakst, MR et Wishart GJ. Eds, *Proc. 1 st International Symposium on the Artificial Insemination of Poultry.* Poultry Science Association, Savoy, IL, pp. 207–223.

**Wishart GJ, (1997):** Quantitative aspects of sperm: egg interaction in chickens and turkeys. *Anim Reprod Sci.* 48(1):81-92.

**Zhang X, Berry WD, McDaniel GR et DA Roland (1999):** Body Weight and Semen Production of Broiler Breeder Males as Influenced by Crude Protein Levels and Feeding Regimens During Rearing. *Poultry Science* 78:190–196.

## Résumé

Dans l'industrie avicole et essentiellement en élevage chair, le challenge est de proposer sur le marché un poussin de haute qualité avec un meilleur prix, pour atteindre cet objectif la mise en place des biotechnologies de reproduction reste indispensable. Un des objectifs principaux du présent travail est de mettre en place l'insémination artificielle chez la poule dans les conditions d'élevage algériennes. Comme la réussite de l'IA est directement conditionnée par la qualité de la semence utilisée, nous nous sommes particulièrement intéressés à étudier la variabilité des paramètres spermatiques (concentration et mobilité) en relation avec l'âge, le poids, la souche et au sein du même individu. Une fois cette étape achevée nous avons mis en place la technique d'IA. Les résultats obtenus nous ont permis de retenir qu'il existe une grande variabilité dans les paramètres spermatiques. Ainsi, le choix des meilleurs mâles, nous a permis d'avoir des résultats de fertilité largement supérieurs aux témoins (reproduction naturelle) et parfois même aux références du guide d'élevage. Nous pouvons retenir ainsi, que la généralisation de l'IA dans les élevages de reproducteurs aviaires pourrait être une des alternatives pour optimiser les performances des élevages.

## Abstract

In the poultry industry the most important challenge is to supply the market with high quality chicks with a better price, to achieve this objective the establishment of reproductive biotechnology is essential. A primary objective of this work is to set up artificial insemination in avian breeding conditions in Algeria. As the success of AI is directly dependent on the quality of used semen, we were particularly interested in studying the variability of sperm parameters (concentration and mobility) in relation to age, weight, strain and within the same individual. Once this step completed we have introduced the technique of AI. The results allowed us to hold that there is great variability in semen parameters. Thus, the choice of the best males, allowed us to obtain results of fertility significantly higher than controls (naturally reproducing) and sometimes even to references to the breeding guide. It can be concluded in the present work that the spread of AI in poultry farms in Algeria could be an alternative to optimize the performances.

## ملخص

في تربية الدواجن أهم تحدى هو تزويد السوق بكتاكييت ذات جودة عالية بسعر تنافسي لتحقيق هذا الهدف نلجأ إلى استعمال تقنيات التكاثر الاصطناعية يبقى أمر ضروري احد أهداف هذا العمل هو إدخال تقنية اللقاح الاصطناعي عند الدواجن بما أن نجاح هذه التقنية مرتبط بخصائص السائل المنوي المستعمل كنا من الضروري أن نبدأ بدراسة العوامل المؤثرة في خصائص هذا السائل عند الدجاج. نتائج الدراسة اظهرت أن العمر، الوزن، و السلالة هي من بين العوامل الأساسية المؤثرة. استخدام نتائج الجزء الأول من هذا العمل أدى بنا إلى الحصول على نتائج مرضية في ما يخص اللقاح الاصطناعي. النتائج كانت أكثر مما هو عليه في التكاثر الطبيعي هذه التقنية تبقى احد الخيارات التي يمكن اللجوء إليها للوصول إلى نتائج مرضية في الجزائر