

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
**Université Blida 1**  
**Institut des Sciences Vétérinaires**



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du  
**Diplôme de Docteur Vétérinaire**

**L'insémination artificielle chez la dinde et l'analyse de semence de dindon.**

Présenté par

**LERARI Kamel Walid**

Devant le jury :

|                       |                   |     |      |
|-----------------------|-------------------|-----|------|
| <b>Président(e) :</b> | AIT BELKACEM AMAR | MAB | USDB |
| <b>Examineur :</b>    | HAMMAMI NABILA    | MAT | USDB |
| <b>Promoteur</b>      | SAHRAOUI NAIMA    | MAB | USDB |

**2015/2016**

# DÉDICACE :

*Je dédis ce modeste travail :*

❖ *Aux deux grands héros de ma vie : **Ma mère** et **Mon père** sans lesquels je ne serai pas sur terre.*

*Vous vous êtes dépensés pour moi sans compter. En reconnaissance de tous les sacrifices consentis par tous et chacun pour me permettre d'atteindre cette étape de ma vie.*

*Si je vais consacrer toute ma vie pour eux je ne peux pas rendre ce qu'ils m'ont fait.*

*« Que dieu me les garde inshallah »*

❖ *A MA CHÈRE PROMOTRICE MADAM SAHRAOUI NAIMA POUR SA PASCIENSE ET SES CONSEILLES. .*

❖ *A ma sœur : **Manel**.*

❖ *Mes frères: **Riadh, Yazid***

*A tous mes enseignants de l'école à l'université.*

*A TOUS MES COUSINS ET COUSINES.*

*ET TOUS QUI PORTE LE NOM LERARI. .*

*A TOUS MES AMIS : **ABDERZAK, KARIM, SALEM**.*

*A TOUTE LA PROMOTION VÉTÉRINAIRE 2016.*

## RESUMIE

La dinde est un oiseau originaire de sud de l'Amérique du Nord, domestiquée par les Indiens. Elle produit de la chair qui a de grande valeur nutritive.

Notre étude a été réalisée sur deux volets, la pratique de l'insémination artificielle en appréciant en premier lieu le taux de fertilité en fonction du site intra vaginal de l'insémination, dont nous avons enregistré un taux de 95,16% de fertilité des œufs pondus entre le 2<sup>ème</sup> et le 8<sup>ème</sup> jour, et 95,02% de fertilité des œufs pondus entre le 9<sup>ème</sup> et le 15<sup>ème</sup> jour, et 94,89% des œufs pondus entre le 16<sup>ème</sup> et le 22<sup>ème</sup> jour. Le pourcentage de la fertilité était plus élevé après la première semaine post- insematoire ensuite une diminution du pourcentage de la fertilité et en deuxième lieu l'analyse de la semence des principales paramètres, à savoir la motilité massale et la vitalité des spermatozoïdes de dinde de la même bande dont nous avons noté une motilité de 18-26% et une vitalité de 87-85% en utilisant deux dilueurs différents à savoir IMV et FECONDIL+, notant que FECONDIL+ donne des résultats plus importants en matière de vitesse, tandis que IMV possède une vitalité élevée .

**Mots clés :** dinde, Insémination artificielle, Semence, motilité, vitalité.

## ABSTARCT

Turkey is a bird native to southern North America, domesticated by Indians. It produces meat that has high nutritional value.

Our study was conducted in two areas, the practice of artificial insemination and evaluate the percentage of fertility depending on the site of intra vaginal insemination; we noted a fertility of 95.16% between the 2<sup>nd</sup> and the 8<sup>th</sup> day, and 95.02% of fertility between the 9<sup>th</sup> and 15<sup>th</sup> day, and 94.89% between the 16<sup>th</sup> and the 22<sup>nd</sup> day. The percentage of fertility was higher after the first week after insemination then it decreases. The studies of the sperm motion parameters, the motility and viability of turkey, we noted a motility of 18-26% and viability of 87-85% using two different extenders IMV and FECONDIL +, noting that FECONDIL + gives more significant results in sperm motion and sperm velocity while IMV has the high viability.

**Keywords:** turkey, artificial insemination, semen, motility, viability.

## Sommaire

Pages

Résumé

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste d'abréviation

INTRODUCTION.....1

### PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

#### CHAPITRE I: BASES ANATOMIQUES

1. ANATOMIE DU TRACTUS GENITAL ET PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION ..... 2

1.1. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle ..... 2

1.2. Anatomie de l'appareil reproducteur femelle ..... 2

#### CHAPITRE II: PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION

2. Physiologie de la reproduction ..... 6

2.1. Signaux environnementaux..... 6

2.2. Rôle du système hypothalamo-hypophysaire dans l'ovulation ..... 7

2.3. Méthodes de contrôle de cycle de reproduction chez la volaille ..... 8

2.4. Rôle de la photopériode ..... 8

Action de la photopériode selon les espèces .....8

### CHAPITRE III : *PRÉLÈVEMENT DE LA SEMENCE*

|                                                     |    |
|-----------------------------------------------------|----|
| 3. <i>PRÉLÈVEMENT DE LA SEMENCE</i> .....           | 9  |
| a) Périodicité des prélèvements .....               | 9  |
| b) Moment du prélèvement .....                      | 9  |
| c) Fréquence des prélèvements .....                 | 10 |
| <i>Méthodes de collecte</i> .....                   | 11 |
| a) Le massage abdominal : .....                     | 11 |
| b) Copulation sur bête de train : .....             | 13 |
| c) <i>Electro-éjaculation</i> : .....               | 13 |
| <i>Conservation de quantité à inséminer</i> : ..... | 15 |

### CHAPITRE IV: TECHNIQUES D'INSÉMINATION ARTIFICIELLE

|                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------|----|
| 4, <i>LES DIFFERENTES TECHNIQUES D'INSÉMINATION ARTIFICIELLE</i> ..... | 15 |
| 4.1. Périodicité des insémination .....                                | 15 |
| 4.2 Position requise .....                                             | 16 |
| 4.3. Sites d'insémination : .....                                      | 18 |
| 4.3.1. Cloacal : .....                                                 | 18 |
| 4.3.2. Intra vaginal .....                                             | 18 |
| 4.3.3 .Intramagnal .....                                               | 19 |
| 4.4. <i>Taux de réussite en fonction du site</i> : .....               | 20 |

## CHAPITRE V : Etude des paramètres spermatiques

|                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------|----|
| 1. La motilité des spermatozoïdes .....                       | 24 |
| 2. Vitalité (intégrité des membranes des spermatozoïdes ..... | 24 |
| 3. Morphologie des spermatozoïdes .....                       | 25 |
| 4. Méthodes avancées d'évaluation de sperme .....             | 25 |
| Computer analyse de sperme assistée (CASA) .....              | 25 |

### PARTIE EXPERIMENTALE :

|                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Objectif : .....                                                              | 30 |
| 2. Cadre de l'étude : .....                                                      | 30 |
| 3. Animaux : .....                                                               | 32 |
| 4. Prophylaxie de la reproduction dinde : .....                                  | 32 |
| Matériel et méthode : .....                                                      | 33 |
| 1. Technique d'insémination artificielle : .....                                 | 33 |
| 1.1. Prélèvement du sperme : .....                                               | 33 |
| 1.2. Dilution de la semence : .....                                              | 34 |
| 1.3. Injection de la semence et l'insémination artificielle proprement dit ..... | 35 |
| 1.3.1. Préparation des femelles : .....                                          | 35 |
| 1.3.2. La technique d'insémination : .....                                       | 36 |
| *Insémination.....                                                               | 37 |
| Résultats.....                                                                   | 39 |

|                                                                                          |                                    |
|------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| 2. Analyse de semence.....                                                               | 40                                 |
| 2.1. la motilité .....                                                                   | 43                                 |
| 2.2 la vitalité .....                                                                    | 44                                 |
| 2.3. la morphologie .....                                                                | 45                                 |
| 3.Résultats de l'Analyse de la semence : .....                                           | 49                                 |
| 3.1.Motilité.....                                                                        | 49                                 |
| 3.2 Vitesse et progressivité .....                                                       | 49                                 |
| 3.3. Vitesse du spermatozoïde.....                                                       | 50                                 |
| 3.4. Comparaison entre les vitesses VCL, VAP et VSL en utilisant les deux dilueurs ..... | 50                                 |
| Discussion .....                                                                         | 52                                 |
| 3.5.Vitalité : .....                                                                     | 53                                 |
| Discussion :.....                                                                        | 54                                 |
| 3.6. Morphologie .....                                                                   | 54                                 |
| Conclusion : .....                                                                       | <b>Erreur ! Signet non défini.</b> |
| Recommandations .....                                                                    | 55                                 |

## **ANNEXES**

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHQUES**

## LISTE DES TABLEAUX

### Pages

|                                                                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tableau 1 : Caractéristiques quantitatives des éjaculats en fonction du temps de repos entre collectes chez la pintade ( <i>Numida meleagris</i> ) ..... | 10 |
| Tableau 2 : Fréquence des inséminations chez les volailles domestiques .....                                                                             | 16 |
| Tableau 3 : Évolution de la fertilité chez des poules blanches selon différents sites .....                                                              | 22 |
| d'insémination.....                                                                                                                                      | 22 |
| Tableau 4 : Paramètres de motilité des spermatozoïdes musclés par le système CASA.....                                                                   | 28 |
| Tableau 5: Prophylaxie de reproduction dinde.....                                                                                                        | 32 |
| Tableau 6 : Fertilité obtenue en fonction du site de l'insémination intra vaginale.....                                                                  | 39 |
| Tableau1 : La motilité et la concentration .....                                                                                                         | 49 |
| Tableau2 : Vitesse et progressivité du spermatozoïde. ....                                                                                               | 49 |
| Tableau 3 : vitesse des spermatozoïdes.....                                                                                                              | 50 |
| Tableau4 : comparaison des vitesses des spermatozoïdes.....                                                                                              | 51 |
| Tableau 5: Vitalité avec les deux dilueurs .....                                                                                                         | 53 |

## LISTE DES FIGURES

## Pages

|                                                                                                                                    |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <i>Figure 1: Anatomies du tractus génital mâle au repos et en période de reproduction.....</i>                                     | <i>3</i>  |
| <i>Figure 2 : tractus génital et urinaire de la femelle en période de reproduction .....</i>                                       | <i>5</i>  |
| <i>Figure 3 : Illustration d'un banc de récolte utilisé en industrie volaille . ....</i>                                           | <i>12</i> |
| <i>Figure 4 : Stimulateur électrique utilisé pour le prélèvement de la semence .....</i>                                           | <i>14</i> |
| <i>Figure 5 :Positionnement de Gallus gallus sur un pupitre d'insémination en vue de l'IA .....</i>                                | <i>17</i> |
| <i>Figure 6 :Technique de visualisation du site d'insémination vaginale sans éversion du cloaque chez Aquila chrysaetos . ....</i> | <i>19</i> |
| <i>Figure 07. : Illustration de la technique de l'insémination par voie intramagnale .....</i>                                     | <i>20</i> |
| <i>Figure8 : spermatozoïde vivant .....</i>                                                                                        | <i>26</i> |
| <i>Figure 9 : spermatozoïde mort. ....</i>                                                                                         | <i>26</i> |
| <i>Figure 10 : schéma de différent vitesse et paramètre de mouvement de spermatozoïde muserez par le système CASA.....</i>         | <i>28</i> |
| <i>Figure11: Bâtiment de production.....</i>                                                                                       | <i>31</i> |
| <i>Figure12 : Bâtiment des mâles. ....</i>                                                                                         | <i>31</i> |
| <i>Figure 13 : Bâtiment des femelles. ....</i>                                                                                     | <i>32</i> |
| <i>Figure 14 : Technique de prélèvement de sperme chez le mâle.....</i>                                                            | <i>34</i> |
| <i>Figure 15 : Tube de 6cc semence et 4cc diluer. ....</i>                                                                         | <i>35</i> |
| <i>Figure16 : la femelle s'écrase .....</i>                                                                                        | <i>36</i> |
| <i>Figure17 : Insémination par l'éversion de l'oviducte intra vaginal. ....</i>                                                    | <i>37</i> |
| <i>Figure 18 : Le modèle de distributeur automatique utilisé. ....</i>                                                             | <i>38</i> |
| <i>Figure19 : Le type des paillettes utilisé pour l'insémination. ....</i>                                                         | <i>39</i> |
| <i>Figure20: L'inséminateur fixe une paillette. ....</i>                                                                           | <i>39</i> |

|                                                                           |                                    |
|---------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| Figure21 : Les deux dileurs FECONDIL+ et l'IMV.....                       | 41                                 |
| Figure22 : Matériel utilisé pour l'analyse de semence CASA .....          | 41                                 |
| Figure23 : transport de la semence vers le laboratoire.....               | 42                                 |
| Figure 24: Réchauffement progressif de la semence par le bain marie. .... | 43                                 |
| Figure 25 : préparation de la paillasse .....                             | 43                                 |
| Figure26 : Mise en point au microscope optique .....                      | 44                                 |
| Figure 27: Lanancement de l'analyse par logiciel .....                    | 44                                 |
| Figure 28 : l'éosine 1% et nigrosine10%. ....                             | 44                                 |
| Figure 29: Dépôt des réactifs.....                                        | 45                                 |
| Figure 30 : L'étalement par une lame 45C°. ....                           | 45                                 |
| Figure 31 : Le lancement de logiciel de comptage. ....                    | 45                                 |
| Figure 32 : dépôts de la semence .....                                    | 46                                 |
| Figure 33 : Le fixateur et le colorant sperme bleu utilisé .....          | 47                                 |
| Figure 34: dépôts de fixateur sur toute la lame .....                     | 47                                 |
| Figure 35 : laissé la lame sèche pendant 15 minutes .....                 | 47                                 |
| Figure 36: rince doucement avec l'eau.....                                | 48                                 |
| Figure 37 : dépôts de sperme bleu sur toute la lame .....                 | <b>Erreur ! Signet non défini.</b> |
| Figure 38 : lancement de logiciel de morphologie .....                    | 48                                 |
| Figure38 : Vitesse obtenue avec les deux dileurs. ....                    | 52                                 |
| Figure39 : Vitalité avec l'IMV.....                                       | 54                                 |
| Figure 40: Morphologie des spermatozoïdes de la dinde.....                | 54                                 |

## *LISTE DES ABREVIATION*

BUT : British Unit Turkey.

IA : Insémination Artificielle

ITELV : Institut Technique D'élevage

Sem : semaine

Spz : spermatozoïdes

ABP : Androgène buindig protein

ATP :Adénine Tri-Phosphate

m : mètre

cm :centi+mètre

min : minute

mm :milimètre

× :multiple

FSH :Folliculo stimuling hormone

GnRH : Gonadotrophic releasing hormone

LH:Luteinising

*PARTIE*  
*EXPERIMENTALE*

## INTRODUCTION

La production et la consommation de viande de volailles ont connu ces dernières années, un prodigieux développement en Algérie. Ceci est dû surtout à l'amélioration des performances de croissance, de reproduction et à l'insémination artificielle pratiquée sur les principales espèces concernées, en particulier la dinde domestique.

L'insémination artificielle (IA) en aviculture s'est développée à partir de 1968. Cette technique concerne surtout les dindes et les pintades, ensuite les canards (production de mulards), moins les poules, et beaucoup moins les oies.

Les raisons principales de ces emplois sont chez les dindes, le dimorphisme sexuel en poids corporel, chez la pintade, c'est l'optimisation du sex-ratio, et chez le canard, la faible fertilité de la saillie naturelle. Pour ces raisons, l'IA est utilisée actuellement comme technique de reproduction. La sélection génétique est une autre raison d'utilisation de l'IA (1, 2).

Cependant, l'IA possède plusieurs avantages comparée à la saillie naturelle, à savoir :

- L'amélioration de la fécondité, surtout chez la dinde permettant ainsi d'éviter le gaspillage du sperme de dindon et permet de régulariser les femelles servies.
- La sélection des reproducteurs pour répondre aux exigences du marché.
- La diminution du prix de revient des poussins produits, cela étant dû à un taux de fécondation plus élevé, à la réduction du nombre de males et à la diminution de la consommation alimentaire des animaux reproducteurs.

L'analyse de la semence de point de vue motilité, concentration et vitalité sont des paramètres importants pour évaluer la qualité de la semence.

En effet, l'étude de l'influence des différents dilueurs sur la conservation de la semence et le maintien des vitesses des spermatozoïdes est un élément important pour assurer la bonne réussite de l'insémination artificielle.

Pour cette étude, nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- 1) décrire la technique de l'insémination artificielle chez la dinde avec évaluation du taux de fertilité après la première semaine d'insémination en fonction du site d'insémination (intra vaginale).
- 2) Etudier l'influence de la conservation de la semence sur les paramètres spermatiques pendant 6 heures à +4c° en utilisant deux dilueurs déférents, en l'occurrence l'IMV et FECONDIL+.

# **1. ANATOMIE DU TRACTUS GENITAL ET PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION :**

Les organes sexuels des volailles ont un volume réduit en dehors de la saison de Reproduction en raison d'une adaptation au vol. Leur poids peut cependant être multiplié par cinq cents au cours de la saison de reproduction(4)

## **1.1. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle(figure1) :**

Chez les mâles, l'ensemble des organes sexuels sont internes et, contrairement à ce que l'on observe chez la plupart des mammifères, les testicules ne migrent pas et donc demeurent sur leur site d'origine embryologique (5). L'appareil génital des mâles (figure 9), consiste en deux tractus droit et gauche constitués chacun d'un testicule, d'un épидидyme et d'un conduit déférent sinueux qui chemine le long de l'uretère (6).

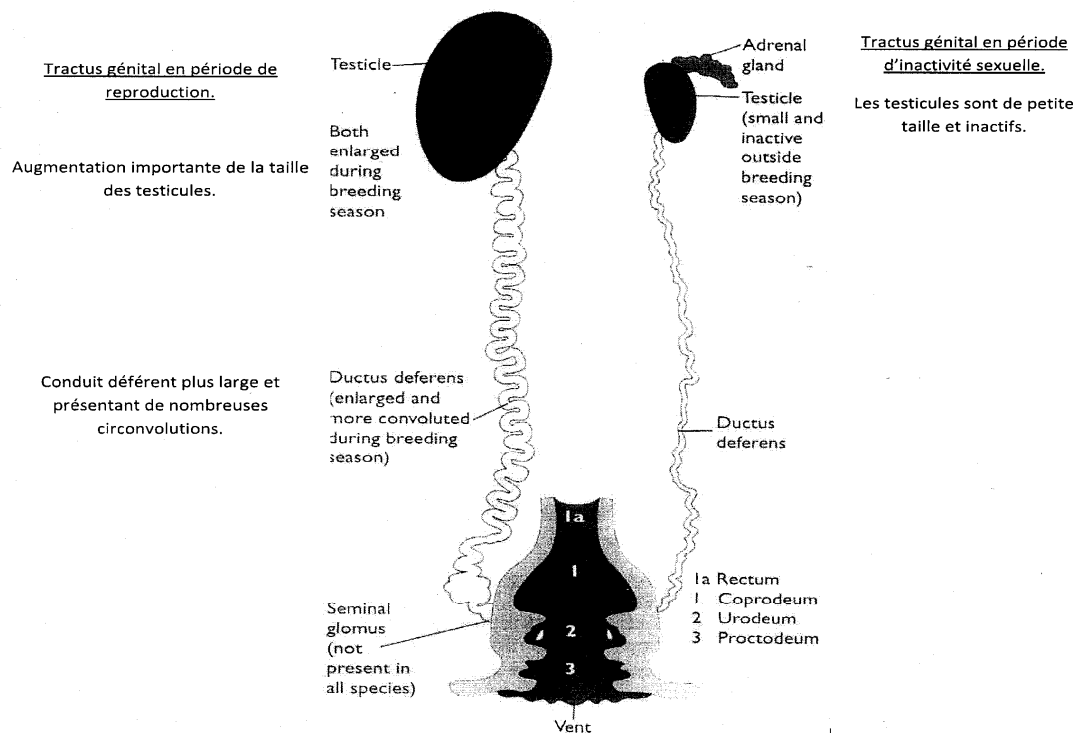
Les testicules sont suspendus à la paroi abdominale par un court mésorchium(7). Ce dernier sert d'attache au testicule mais c'est aussi le support des vaisseaux et des nerfs qui le desservent (6).

Les gonades sont localisées au niveau du pôle crânial des reins, caudalement aux glandes surrénales, en rapport avec le foie et le proventricule (8).

Bien que les deux testicules soient positionnés de manière symétrique par rapport au plan médian, ils sont souvent de taille asymétrique. Le testicule gauche est généralement plus grand que le droit, le poids testiculaire subit des variations saisonnières très importantes. Cette croissance est due à l'augmentation de la longueur et du diamètre des tubes séminifères ainsi que du nombre de cellules de Leydig et de cellules interstitielles (8).

L'épididyme est localisé au bord dorso-médial du testicule, au niveau du hile. Il est constitué du rete testis, des canaux efférents, des canaux de connexion et du canal épидидymaire. L'ensemble de ces canaux se déversent dans le canal déférent (6).

Les canaux déférents longent les uretères en formant de plus en plus de replis au fur et à mesure que l'on approche du cloaque et se jettent dans l'urodeum en formant une ampoule séminale ou glomus séminal (8,9). Les muscles bulbo caverneux compriment cette ampoule pendant l'accouplement, faisant jaillir le sperme dans le cloaque ou le vagin de la femelle (4). Ce glomus séminal est également parfois visible, faisant protrusion sous la paroi abdominale, c'est un élément de la diagnose du sexe en période d'activité reproductrice (8).



*Figure 1: Anatomie du tractus génital mâle au repos et en période de reproduction(6).*

Testicule = testicule; Adrenal gland = glande surrénale; Ductus deferens = conduit déférent; Séminal glomus = glomus séminal.

Au niveau du cloaque, un phallus peut être présent(5). Le phallus est situé sur le plancher du proctodeum et il s'éverse partiellement durant la miction et la défécation(8).

Il n'y a pas d'organes ou de glandes accessoires de la reproduction connus chez les volailles (5).

Contrairement aux mammifères, la spermatogénèse chez les volailles a lieu à température corporelle, c'est à dire entre 40 et 41°C (5). Elle est sous la dépendance de la stimulation hormonale par la lumière. Il en est de même pour la sécrétion de testostérone par les cellules de Leydig.C'est la testostérone qui induit le comportement sexuel et agressif du mâle. L'état de santé est également important car tous les états pathologiques influent négativement sur la sexualité (4).

Après la parade nuptiale (comportement de cour plus ou moins complexe développée par le mâle), l'accouplement a lieu. Il est le plus souvent bref et se fait par simple contact après éversion des cloaques ou pénétration d'une papille cloacale plus développée en période de reproduction, ou enfin, pénétration du pénis pour les mâles qui en sont dotés(4).

L'éjaculation est intravaginale et la fécondation se fait au niveau du pavillon. Les accouplements se font tant qu'il n'y a pas d'œuf dans les voies génitales basses **(4)**.

## 1.2. Anatomie de l'appareil reproducteur femelle :

L'ovaire et les oviductes sont présents au stade embryonnaire chez les oiseaux, L'ovaire gauche est appendu à la voûte lombaire gauche par le ligament mésovarique. Il est alors situé entre le lobe crânial du rein, les vertèbres et le bord dorsal des poumons. En période de ponte, il forme une grappe ovarienne et devient énorme en raison des follicules qui y sont présents à divers degrés de maturité **(4)**. L'ovaire pèse alors jusqu'à trente grammes chez la poule. **(6)**.

L'oviducte **(figure 2)**, Il est suspendu à l'intérieur de la cavité péritonéale par un ligament ventral et un ligament dorsal**(6)**. On distingue d'un point de vue histologique et physiologique différents segments**(4)** :

- **L'ostium abdominal**: c'est une fente de six centimètres sur trois chez la poule, située entre l'ovaire et le pavillon;
- **L'infundibulum**: c'est le pavillon en forme d'entonnoir. Par des mouvements péristaltiques propres, il vient happer l'ovule mûr, lequel le traverse en une vingtaine de minutes. C'est à cet endroit qu'a lieu la fécondation et que sont stockés une partie des spermatozoïdes;
- **Le magnum**: il a une longueur totale de trente à cinquante centimètres chez la poule et constitue ainsi la partie la plus longue de l'oviducte. L'ovule y transite pendant trois heures environ. Il s'entoure alors de 40 à 50% de l'albumen total, sécrété par les glandes albuminipares;
- **L'isthme**: sa longueur n'est que de 4 à 6 centimètres et la durée du transit y est d'une heure chez la poule. C'est à ce niveau que sont déposées les membranes coquillères qui forment deux enveloppes de kératine autour de l'albumen;
- **L'utérus**: il a une longueur totale de dix à douze centimètres et la durée de passage de l'œuf y est de vingt heures. C'est là que la formation de l'albumen s'achève par imbibition ou « plumping » correspondant à une hydratation et un dépôt de sels minéraux par osmose (sa taille est multipliée par deux), que les membranes coquillères sont mises sous tension et que la coquille minéralisée se dépose à une vitesse de trois cents milligrammes par heure**(6)** Cette coquille est constituée majoritairement de sels de calcium d'où les besoins importants en calcium des femelles en ponte;

**Le vagin**: il est séparé de l'utérus par le sphincter utéro-vaginal et se termine au niveau du cloaque. Il n'a aucun rôle dans la formation de l'œuf mais il participe à l'expulsion de ce dernier **(6)**.

Il débouche latéralement à l'uretère gauche dans l'urodeum. L'œuf n'y transite qu'un quart d'heure environ. Au moment de la ponte, le vagin s'extériorise et dépose l'œuf à l'extérieur ce qui évite le contact avec les matières fécales et urinaires. C'est le mécanisme d'oviposition(4)

Au niveau de l'infundibulum et surtout de la jonction utéro-vaginale sont présentes des glandes tubulaires permettant le stockage du sperme. Après accouplement ou insémination artificielle, environ 1 % du sperme total est transporté jusqu'à ces glandes, où les spermatozoïdes resteront stockés pendant une période plus ou moins prolongée selon les espèces d'oiseaux(10).

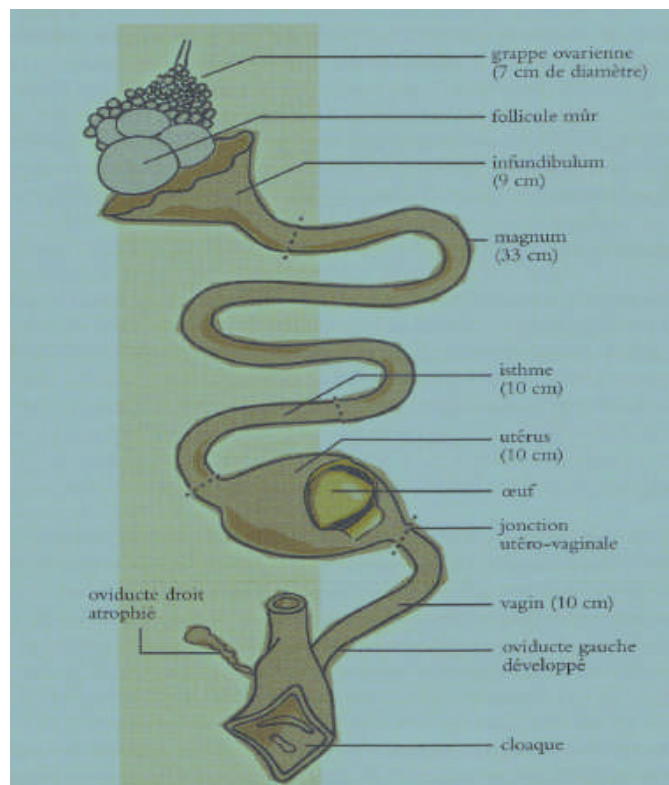


Figure 2 : tractus génital et urinaire de la femelle en période de reproduction(11).

### 2. Physiologie de la reproduction :

Le contrôle hormonal de la reproduction chez les oiseaux est complexe et peut être décomposé en 4 parties principales. La première concerne les différents signaux environnementaux, leur influence sur la reproduction et la façon dont ils sont perçus. Puis intervient l'hypothalamus, structure neuro-endocrinienne ayant un rôle majeur dans la perception de l'information environnementale, qui par biais de sécrétions neuroendocriniennes contrôle les différents aspects de la reproduction. Ensuite l'hypophyse traduit l'information en sécrétions endocrines et enfin, le rôle des gonades elles-mêmes (ovaire et testicule) (5).

#### 2.1. Signaux environnementaux :

A chaque saison de reproduction, il y a trois phases majeures permettant le passage d'un tractus génital au repos à un état actif de reproduction. .

- La phase de développement consiste en l'initiation de la maturation des gonades et en la mise en place du comportement sexuel incluant par exemple l'attractivité du mâle pour la femelle, la délimitation de territoires de ponte et la formation de couple (5).
- La phase de capacité correspond au moment où la nidification peut commencer. A ce stade, les gonades sont matures et les femelles engagent la phase finale de maturation des follicules en synthétisant le vitellus et en ovulant. Au cours de cette phase se succèdent l'accouplement, l'ovulation, l'oviposition, l'incubation puis le nourrissage des oisillons (5).
- Enfin, la phase terminale correspond à la fin de la période de reproduction caractérisée par la régression de l'appareil reproducteur et la diminution des comportements sexuels, jusqu'à la prochaine saison de reproduction (5).

Des signaux environnementaux adéquats peuvent alors être utilisés pour réguler le développement, le maintien ou la régression des caractères morphologiques, physiologiques et comportementaux impliqués lors de la saison de reproduction .Ils interviennent également dans les interactions sociales pour augmenter les capacités d'un individu à trouver un refuge, de la nourriture, un territoire ou un partenaire(5).

Les signaux extérieurs peuvent être perçus par différentes voies sensorielles: visuelle, tactile, auditive, chimique (goût, odeur), électrique, ou par l'intermédiaire de photorécepteurs et barorécepteurs. De nombreux autres récepteurs ont pu être identifiés tels que ceux qui sont sensibles à la température ambiante ou l'humidité relative (5).

En complément des *stimuli* extérieurs, les signaux internes ont aussi leur importance et agissent sur les systèmes neuroendocriniens et endocriniens. Par exemple, interviennent le taux de glucose, d'acides aminés ou de vitamines présents dans le sang, de même que le système immunitaire, les rythmes endogènes (horloge interne) et le vieillissement (5).

L'influence de l'alimentation, et plus particulièrement du métabolisme énergétique, sur les cycles de reproduction, a été étudié par BRIERE et *al.* **(12)**.

Une telle augmentation des performances de croissance s'est accompagnée, chez les mâles de ces lignées, d'une très grande précocité sexuelle. Elle se traduit par l'apparition de spermatozoïdes dès l'âge de 11-12 semaines chez le coq (au lieu de 16 semaines **(13)**), alors que l'entrée en ponte des poules est décalée car elle n'apparaît qu'à 24-25 semaines. Elle se traduit aussi par un développement testiculaire maximal relativement faible et par une régression testiculaire dès l'âge de 43-45 semaines alors que la saison de ponte se termine à 64-65 semaines **(12)**

Concernant les femelles, l'augmentation du poids lié à un régime *ad libitum* génère un développement anarchique des follicules pouvant conduire à la coexistence de plusieurs hiérarchies folliculaires qui perturbent les ovulations **(12)**.

Il a été démontré que pour les deux sexes, le maintien de performances de reproduction (taux de ponte et fertilité) conformes au standard de la souche ne peut être assuré qu'à condition d'appliquer dès le très jeune âge (2-3 semaines après l'éclosion) un rationnement alimentaire strict. Il s'avère cependant que l'application d'un rationnement aura des effets secondaires sur le comportement, comme celui du picage **(12)**.

### 2.2. Le rôle du système hypothalamo-hypophysaire dans l'ovulation :

Le système hypothalamo-hypophysaire présente de nombreuses homologies avec celui des autres vertébrés.

L'hypothalamus est situé dans le plancher du 3ème ventricule et est rattaché à l'hypophyse par l'éminence médiane et la tige pituitaire. L'hypophyse est divisée en neurohypophyse et adénohypophyse. Cette dernière est constituée de cellules endocrines qui sécrètent les hormones hypophysaires. L'hypothalamus est constitué dans sa partie latérale de neurones neurosécrétoires produisant les neurohormones directement sécrétées dans le système porte-hypophysaire**(5)**.

Chez les oiseaux, c'est au niveau de l'hypothalamus que les signaux environnementaux sont perçus par les récepteurs sensoriels. Ces signaux sont convertis en sécrétions neuroendocrines qui vont ensuite influencer la morphologie, la physiologie et le comportement. Le système hypothalamo-hypophysaire est ainsi impliqué dans la perception de nombreux signaux environnementaux provenant de l'extérieur, de signaux internes ou d'interactions entre les deux. Par exemple, le changement de la photopériode va directement influencer la sécrétion de GnRH (Gonadotropine Releasing Hormone) qui joue un rôle direct dans la régulation de la fonction gonadique. A noter que d'autres signaux sont directement intégrés par le système nerveux central ou le système nerveux autonome comme les réponses comportementales aux interactions sociales **(5)**.

Stimulées par la GnRH, les cellules endocrines de la *pars distalis* vont sécréter à leur tour deux glycoprotéines, la LH (hormone lutéinisante) et la FSH (hormone folliculo-stimulante). La LH régule la production des hormones stéroïdes sexuelles au niveau des gonades ainsi que l'ovulation alors que la FSH permet la maturation des follicules ovariens et joue un rôle dans la spermatogénèse. Tout comme chez les mammifères, les hormones stéroïdes sexuelles ont pour précurseur le cholestérol, qui par une cascade de réactions enzymatiques

sous le contrôle de la LH donne les androgènes, la progestérone et les œstrogènes. Les androgènes et les œstrogènes exercent alors un rétrocontrôle négatif en inhibant la sécrétion de GnRH au niveau de l'hypothalamus et de LH et FSH au niveau de la *pars distalis* (5). La progestérone, quant à elle, est responsable d'un rétrocontrôle positif stimulant la sécrétion de GnRH, provoquant par la suite un pic de LH responsable de l'ovulation (9).

### 2.3. Méthodes de contrôle de cycle de reproduction chez la volaille :

La manipulation de la photopériode permet de contrôler le cycle sexuel des oiseaux, d'avancer ou de retarder le début de la ponte, d'agir sur le taux de ponte, la durée du cycle de ponte, la taille des œufs... Cependant un programme lumineux optimal et universel ne peut exister, étant donné que de nombreux paramètres de production influencés par la photopériode sont corrélés négativement (13).

### 2.4. Rôle de la photopériode :

#### ➤ Action de la photopériode selon les espèces :

Chez les oiseaux originaires des zones tempérées, Le développement gonadique et la ponte sont stimulés par l'augmentation de la photopériode, qui a lieu durant le printemps dans l'hémisphère nord. Cette adaptation permet aux oiseaux de faire coïncider les éclosions avec des périodes où les conditions environnementales sont optimales pour la croissance des jeunes (nourriture abondante, conditions climatiques favorables). Une exception concerne le manchot empereur (*Aptenodytes forsteri*) qui se reproduit pendant la courte période hivernale antarctique (6).

Tous les oiseaux ne sont pas des espèces à jours longs, certaines espèces sont dites à jours courts et leur activité sexuelle est alors stimulée par une diminution de la photopériode (14). C'est le cas par exemple de la paddy de Java (*Lonchura oryzivora*) et de l'émeu d'Australie (*Dromaius novaehollandiae*).

De même, les espèces tropicales sont considérées comme non photopériodiques en raison des faibles variations de la photopériode au cours de l'année. La stratégie adoptée par ces oiseaux tropicaux est qu'ils semblent demeurer dans un état « prêt à la reproduction » une majeure partie de l'année et sont sous l'influence de facteurs tels que la pluviosité ou l'abondance des ressources pour déterminer le moment exact de leur reproduction (5),

Une dernière exception concerne de nombreuses espèces domestiques chez lesquelles le rôle de la photopériode est moins marqué. La stimulation photopériodique induit une modification de l'âge de la maturité sexuelle ou de la persistance de ponte mais n'a pas un effet de déclencheur du cycle sexuel (15).

### 3. PRÉLÈVEMENT DE LA SEMENCE

Trois méthodes de prélèvement de la semence peuvent être utilisées chez les oiseaux. Dans tous les cas, le statut sanitaire des oiseaux devra être vérifié préalablement par différents examens : coprologie, écouvillon cloacal, écouvillon du jabot et du pharynx, radiographie et éventuellement endoscopie coelomique. Ces examens seront répétés régulièrement. Ils sont par exemple réalisés mensuellement chez l'amazone à front bleu (*Amazona aestiva aestiva*). En cas de présence d'une pathologie, l'animal devra être écarté. De même, avant chaque prélèvement, un examen visuel devra permettre de s'assurer du bon état général de l'animal **(16)**.

#### a) Périodicité des prélèvements

Les prélèvements doivent être effectués lorsque l'appareil reproducteur est actif, c'est-à-dire lorsque la spermatogénèse a redémarré.

#### b) Moment du prélèvement

Les prélèvements doivent être réalisés en tenant compte du cycle testiculaire annuel, qui diffère selon les espèces et selon les latitudes sous lesquelles elles vivent. En effet, la production de sperme n'a lieu que sous des conditions particulières à certaines périodes de l'année **(17)**.

Les périodes productives sont caractérisées par une augmentation du volume du liquide séminal parallèlement à une augmentation de la concentration en spermatozoïdes ainsi que par une prise de poids. Le début de la période de production est caractérisé par une phase d'accélération puis la production atteint un point culminant de fertilité appelé également phase nuptiale **(17)**.

#### c) Fréquence des prélèvements :

Le rythme de collecte influence le volume et la concentration des éjaculats chez le coq, le dindon et le pigeon biset (*Columbia livia*) (18, 19).

Les effets de la fréquence des prélèvements sur le volume de sperme récolté, sa concentration et le nombre total de spermatozoïdes par éjaculat ont été évalués par SEIGNEURIN (16) chez la pintade. Les prélèvements ont été effectués selon 8 fréquences de collectes différentes avec les temps de repos suivants : 12 heures, 1 jour, 2 jours, 3 jours, 4 jours, 5 jours, 7 jours et 10 jours. Pour chaque temps de repos, entre 5 et 9 répétitions ont été effectuées. Un mâle est considéré comme donneur lorsque la concentration de l'éjaculat est mesurable, c'est-à-dire que le volume est supérieur à 10 microlitres.

À partir de 3 jours de repos entre 2 collectes, plus de 90 % des mâles sont donneurs, mais ce pourcentage chute à 23 à 59 % si on augmente la fréquence des collectes jusqu'à effectuer des prélèvements toutes les 12 heures. Quand la fréquence des collectes est intensive (moins de 3 jours de repos entre 2 collectes), on remarque une grande variabilité individuelle de la réponse des animaux.

En ce qui concerne l'évolution du volume et de la concentration des éjaculats (tableau 3), on remarque que ces 2 paramètres ont des valeurs très basses lorsque les temps de repos sont très courts, puis chaque paramètre augmente rapidement lorsque le temps de repos s'accroît. De même, la variabilité augmente lorsque le temps de repos entre les collectes diminue. La variabilité individuelle du volume est plus importante (entre 35 et 43 %) que celle de la concentration (entre 26 et 35 %) (18).

Tableau 1 : Caractéristiques quantitatives des éjaculats en fonction du temps de repos entre collectes chez la pintade (*Numida meleagris*) (18).

| Temps de repos entre collectes (jours)                           | 0,5   | 1    | 2   | 3    | 4   | 5   | 7   | 10    |
|------------------------------------------------------------------|-------|------|-----|------|-----|-----|-----|-------|
| Volume par éjaculat (μL)                                         | 31,4  | 52,7 | 76  | 92,3 | 130 | 118 | 130 | 150,8 |
| Concentration (x 10 <sup>9</sup> spz/ml)                         | 3,0   | 3,3  | 4,5 | 5,6  | 6,0 | 5,3 | 6,5 | 7,2   |
| Nombre total de spermatozoïdes par éjaculat (x 10 <sup>6</sup> ) | 125,6 | 201  | 372 | 543  | 805 | 656 | 878 | 1115  |

Un temps long de repos entre 2 collectes, tel que 10 jours, permet d'estimer les capacités de stockage du sperme dans les voies déférentes du mâle. Avec ce rythme de Prélèvement, les éjaculats représentent 5 à 6 fois la production quotidienne de spermatozoïdes mesurée lorsque la fréquence de collecte est journalière. Contrairement au coq, chez lequel les réserves spermatiques représentent 3 à 4 jours de production testiculaire, il semble que chez la pintade les capacités de stockage de spermatozoïdes dans les voies déférentes soient supérieures **(18)**.

La fréquence des collectes est donc à adapter selon les individus (variabilité individuelle des caractères de production spermatique) et selon les capacités de stockage propre à l'espèce considérée.

En pratique, la collecte de semence est effectuée 3 fois par semaine chez le coq et 2 fois par semaine chez la pintade, la dinde et le canard de Barbarie [27]. Des études similaires menées chez le pigeon démontrent qu'une fréquence de collection de 3 fois par semaine permet la collecte d'échantillons de meilleure qualité (en termes de volume et de concentration en spermatozoïdes) **(19)**.

### **1. Méthodes de collecte :**

#### **a)Le massage abdominal :**

Cette technique a été décrite chez la dinde, pour la première fois en 1935 par Quinn et Burrows **(20)** et est encore utilisée aujourd'hui.

Elle apparaît comme la technique la plus facile et la plus pratiquée dans le prélèvement de semence **(21)**.

Elle est couramment utilisée chez le coq, le dindon, le faisan et la pintade. L'absence de pénis développé dans ces espèces rend en effet difficile, voire impossible, la récolte de semence par vagin artificiel **(9)**.

Les mâles doivent être entraînés pendant plusieurs semaines avant de répondre correctement à la technique de massage. Cette période permet également de diminuer le stress de l'animal en l'accoutumant à la manœuvre pour limiter la contamination de la semence par les fientes **(22)**.

A l'origine cette technique est décrite avec deux manipulateurs. Le premier effectue à l'aide de sa main gauche un massage dorso-lombaire en maintenant l'oiseau en travers de sa cuisse **(9)**. Le geste consiste en un massage doux mais rapide de la région qui va de l'arrière des ailes à la queue. La plupart des mâles y répondent par une tumescence du phallus **(21)**. Le mâle redresse la queue et présente son cloaque semi-éversé.

### CHAPITRE III : PRÉLÈVEMENT DE LA SEMENCE

A ce moment le premier manipulateur utilise sa main droite pour presser doucement la région latérale du cloaque où sont situées les ampoules séminales, et continue ce mouvement de pression jusqu'aux replis du cloaque. Le deuxième manipulateur maintient l'animal par les pattes au niveau de la jonction tibio-métatarsienne et récolte le sperme par aspiration dans un tube. Il doit alors veiller à ne pas souiller le prélèvement par de l'urine, des fèces ou par le fluide sécrété par les replis lymphatiques du cloaque (9).

Cette technique peut être pratiquée par une seule personne en utilisant un banc de récolte (figure3) mais la quantité de sperme récoltée est souvent moindre(23). Des bancs de ce type sont utilisés communément pour la reproduction des espèces domestiques telles que la dinde et la poule(23).



Banc de récolte

Figure 3 : Illustration d'un banc de récolte utilisé en industrie volaille (23).

### b) Copulation sur bote de train :

Une autre application de cette technique a été mise en œuvre chez le canard de Barbarie (*Cairina rnoschata*). Dans ce cas, c'est une véritable femelle qui est utilisée. La technique consiste à la maintenir sur une plate-forme élevée de 10 centimètres en la tenant par les pattes dans la posture habituellement observée lors de l'accouplement. Si nécessaire, ses pattes pourront être liées pour maintenir la position.

Comme précédemment, le mâle en parade est alors amené en présence de la femelle. La récolte de la semence s'effectue ici par l'intermédiaire d'un vagin artificiel. Celui-ci fait 15 centimètres de long, est en verre, contient une pipette graduée à son extrémité distale et une ouverture de 5 centimètres de diamètre à son bord proximal. Une fois que le mâle est sur la femelle, il est alors possible de relâcher cette dernière. A cette étape de la copulation, la femelle accepte l'accouplement en relevant la queue à 90 degrés. Dès que le *phallus* du mâle est en érection, il faut alors directement le diriger vers le vagin artificiel pour récolter la semence.

Cette technique efficace est encore utilisée aujourd'hui chez le canard de Barbarie et le canard commun (9).

### c) Electro-éjaculation :

Cette technique a été appliquée chez les canards, les oies (*Anser spp.*), les pigeons (*Columba spp.*), les rapaces et chez une variété de psittacidés (21,7). Une anesthésie est toujours requise et l'éjaculat est fréquemment contaminé par l'urine (21).

Le stimulateur électrique est constitué de deux électrodes qui doivent être préalablement lubrifiées avec un gel stérile. La première est placée dans le *coprodeum* et l'autre à l'extérieur contre la peau dorsalement au rein. Le but étant de créer une stimulation électrique depuis les testicules jusqu'aux conduits déférents. Le voltage utilisé varie de 3 à 5 volts et de 3 à 10 milliampères pour un oiseau de 200 grammes, jusqu'à 15 à 20 volts et 10 à 20 milliampères pour un oiseau de 1,5 kilogramme(24).

L'anesthésie est effectuée par voie intra-musculaire avec de la kétamine à la dose de 20 à 30 mg/kg ou une association de kétamine (25 mg/kg) et de xylazine (5 mg/kg). Les oiseaux sont enveloppés dans une serviette et l'appareil d'électrostimulation est lubrifié avant son insertion dans le cloaque. Le stimulateur (figure 12) est constitué d'un tube en polypropylène avec, attachés à son extrémité, deux anneaux qui jouent le rôle d'électrode. Le stimulateur est également connecté à son autre extrémité à un potentiomètre et un voltmètre avec une capacité de 30 volts (25).

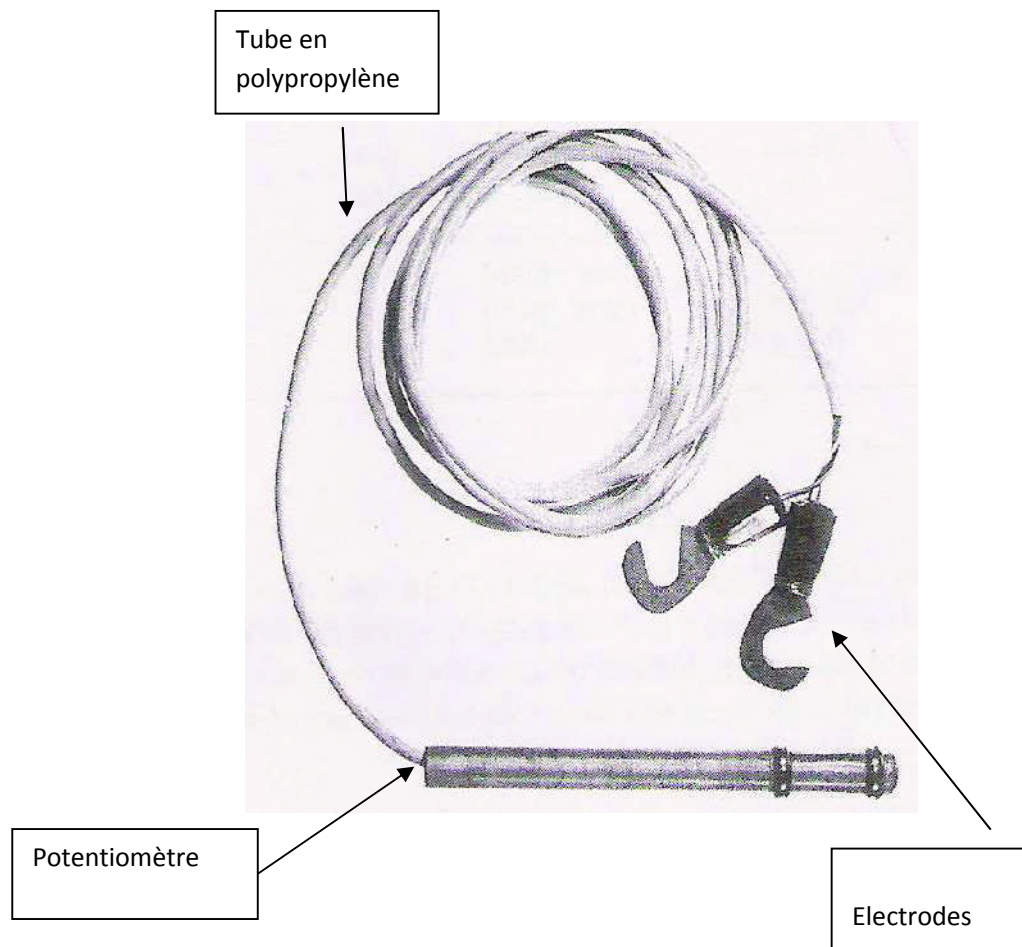


Figure 4 : Stimulateur électrique utilisé pour le prélèvement de la semence par  
Électro-éjaculation(25).

Le stimulateur est alors inséré à une profondeur de 3 à 5 centimètres à partir de la jonction utéro-vaginale, en fonction de la taille de l'oiseau. La stimulation commence par une série de 5 à 8 impulsions de 5 volts pendant 3 secondes toutes les 5 secondes. Ensuite le voltage est augmenté par paliers de 5 volts jusqu'à atteindre 30 volts (25).

Dans 60 % des cas, l'extériorisation du pénis se produit après une stimulation de 15 volts. Dans tous les cas observés, l'éjaculation commence à une intensité de 20 à 25 volts. La semence est récoltée dans des seringues de 1 millilitre. Si des urates apparaissent au niveau du cloaque lors de la stimulation, un rinçage est effectué avec du sérum physiologique avant de poursuivre (25).

Selon Samour *et al.* (25), l'avantage de cette technique par rapport au massage abdominal est que la stimulation électrique pour la récolte de la semence ne nécessite pas une période d'entraînement préalable des oiseaux.

#### **Conservation de quantité à inséminer :**

Tous les ustensiles utilisés pour la manipulation de la semence doivent être stériles et à température ambiante. Une fois la semence récoltée, elle est diluée dans un volume équivalent à l'aide d'un dilueur pour semence. Le plus souvent une solution commerciale à base de D-fructose, de potassium, de sodium, de magnésium et de gentamycine est utilisée (Beltsville Semer Extender ND) (24) .

La qualité de la semence doit être vérifiée au microscope directement après la dilution du prélèvement. Au grossissement x 400, les mouvements des spermatozoïdes doivent être clairement visibles et chaque champ doit contenir approximativement 100 spermatozoïdes. La vitalité et la morphologie des spermatozoïdes sont objectivées par une coloration à l'éosine-nigrosine (24).

On limitera la dégradation de la qualité de la semence en l'inséminant rapidement après la récolte' bien qu'un échantillon de bonne qualité (par exemple récolté par copulation volontaire) puisse être encore utilisable (c'est-à-dire contenir des spermatozoïdes vivants et dont la mobilité n'est pas affectée) après 60 à 72 heures s'il est conservé à 4°C. Il devra alors être réchauffé progressivement à température ambiante avant son utilisation (24).

Dans la cadre d'une conservation de la semence à plus long terme, la méthode largement utilisée est la cryogénisation. .

### 4. DIFFERENTES TECHNIQUES D'INSÉMINATION ARTIFICIELLE :

Il est important d'entraîner les femelles à accepter l'insémination. Le stress peut être réduit en conservant toujours la même équipe, pour éviter les blessures au cours de la manipulation et en habituant l'animal aux gestes de la procédure. En cas de stress trop important au cours de l'entraînement, il est préférable de le stopper et de ne commencer l'insémination qu'après la ponte du premier œuf. Il est possible, pour stimuler l'activité reproductrice de placer la femelle à inséminer à proximité d'oiseaux en activité pour qu'elle bénéficie des *stimuli* visuels et auditifs de la parade **(22)**.

Dans les programmes d'élevage en captivité concernant les espèces sauvages, quelques oiseaux arrivent à être conditionnés pour accepter volontairement l'insémination après plusieurs saisons de reproduction, mais la plupart des oiseaux ne l'acceptent pas **(21)**.

#### 4.1. Périodicité des insémination :

Les femelles des oiseaux domestiques ont la particularité de pondre des œufs féconds pendant une durée qui varie de quelques jours (caille) à quelques semaines (dinde). Elle peut atteindre trois semaines chez la poule. Chez cette dernière espèce, le taux de fécondation des œufs n'est vraiment élevé que dans les 6 à 10 jours qui suivent l'insémination, soit 7 jours en moyenne. Ce taux s'accroît avec le nombre de spermatozoïdes inséminés**(26)**

Pour les espèces domestiques l'insémination est réalisée une première fois deux jours consécutifs**(26)**, pour être sûr de remplir les glandes tubulaires, zones de stockage des spermatozoïdes situées au niveau de la jonction utéro vaginale **(27)**.

L'intervalle à respecter entre deux inséminations consécutives doit être d'une semaine, de manière à inséminer un nombre minimum de spermatozoïdes sans perte de fertilité. En fait, cet intervalle est fonction de l'âge des poules car la durée de leur période fertile diminue avec l'âge, ce que l'on peut corriger en partie en augmentant la dose de spermatozoïdes plutôt que la fréquence des inséminations **(26)**.

## Chapitre IV: Technique d'insémination artificielle

La fréquence d'insémination de différentes espèces domestiques est présentée dans le **tableau 2**.

Tableau 2 : Fréquence des inséminations chez les volailles domestiques(11)

| Espèce             | Fréquence de l'IA  | Dose utilisée (x $10^6$ spermatozoïdes) |
|--------------------|--------------------|-----------------------------------------|
| Poule              | 1 fois par semaine | 150-250                                 |
| 'Dinde             | 1 fois par semaine | 200-300                                 |
| Pintade            | Tout les 1,5 jours | 90-120                                  |
| Canard de barbarie | 2 fois par semaine | 90-120                                  |

L'insémination artificielle des femelles dans les 3-4 heures qui précèdent ou suivent l'ovipositeur donne généralement de médiocres résultats de fertilité : ceci a été confirmé chez plusieurs espèces telles que la poule domestique, la dinde ou la pintade. En effet, les contractions utérines au cours de cette période limitent la remontée et le stockage des spermatozoïdes dans l'oviducte (26).

Pour les animaux facilement stressés, il est conseillé de ne pas pratiquer plus d'une insémination, le jour qui précède la première oviposition, au risque d'obtenir un premier œuf infertile pour garantir la fertilité pour les œufs suivants. Les femelles les plus sensibles peuvent de même retarder ou interrompre leur ponte. En revanche, une fois la ponte enclenchée, la production d'œuf est rarement interrompue par les inséminations (20).

### 4.2 Position requise

Les manipulateurs. Le premier maintient la femelle en mettant sa tête entre ses jambes, ventre vers le haut. Il tient dans une de ses mains les 2 pattes de l'animal et avec l'autre met en évidence le cloaque en écartant les plumes pour faciliter l'accès à l'inséminateur. La technique est réalisable par une seule personne en maintenant l'animal sur son bras, la tête de la femelle étant coincée sous son aisselle (23).

Chez la poule, un pupitre d'insémination (figure5) permet de recevoir un toboggan qui comprend 1 à 4 pince-pattes destinés à la contention des femelles d'une même cage. L'ouverture des pince-pattes est automatique et s'effectue par une légère pression sur une gâchette qui libère ceux-ci. La pente du toboggan est alors suffisante pour que les poules retournent par elles-mêmes dans leur cage.

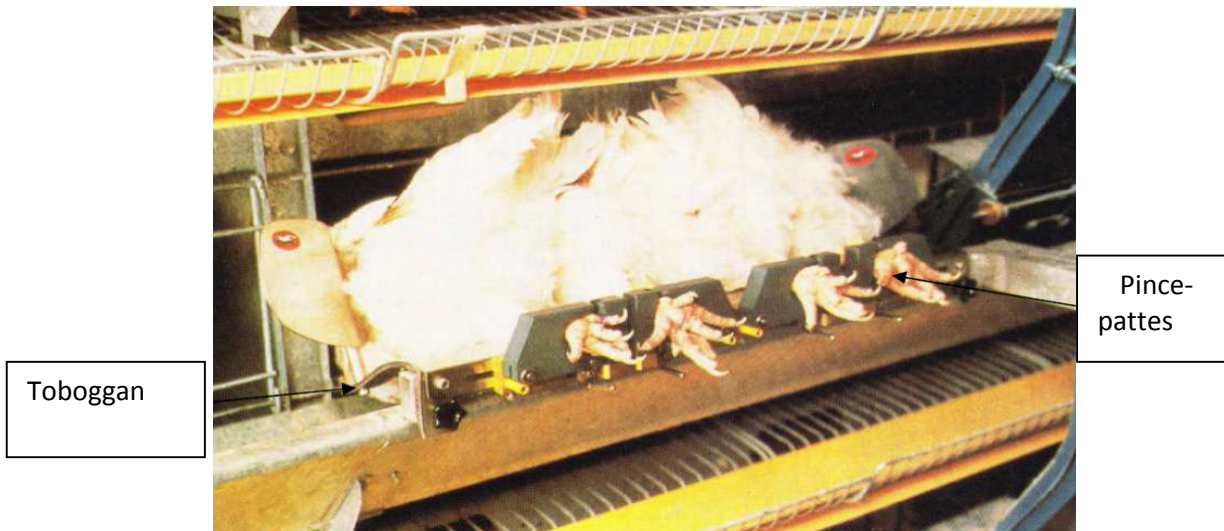


Figure 5 : Positionnement de *Gallus gallus* sur un pupitre d'insémination en vue de l'IA (23).

### 4.3. Sites d'insémination :

**4.3.1. Cloacal :** C'est le site d'insémination le plus facilement accessible ce qui en fait la technique la plus rapide, la plus facile et la moins stressante pour l'animal en comparaison avec les deux autres techniques (21).

### 4.3.2 Intra vaginal :

Ce site est fréquemment utilisé. Il y a deux moyens d'identifier l'oviducte, par simple visualisation ou par éversion manuelle. Cette dernière technique présente l'avantage de fournir un abord permettant de déposer des quantités plus importantes de semence. Il rend également possible d'empêcher le péristaltisme du tractus génital responsable de l'évacuation de la semence inséminée (21).

L'éversion de l'oviducte n'est pas réalisable chez toutes les espèces. Elle est employée chez la poule ou la dinde mais est impossible chez les canards et les oies (28).

L'oviducte s'éverse grâce à un massage similaire à celui pratiqué pour le prélèvement de la semence. L'éversion est complétée manuellement en manipulant la région paracloacale.

## Chapitre IV: Technique d'insémination artificielle

Cette procédure est facilement mise en œuvre chez les passériformes comme le moineau domestique (*Passer domesticus*) ou la pie bavarde (*Pica pica*), mais est trop stressante chez de nombreuses espèces sauvages, et est donc peu utilisée.

Les femelles qui réagissent au massage relèvent la queue en écartant les rectrices et exposent leur cloaque. L'éversion complète peut être difficile à obtenir et il est possible de rencontrer une résistance à la fin de réversion quand la zone paracloacale est manipulée. Cette résistance peut être levée par la force selon l'espèce et l'individu. Une personne rétracte alors la peau en plaçant ses doigts dorsalement et latéralement à gauche du cloaque. Son autre main applique une pression continue sur le bas de l'abdomen pour exposer l'oviducte. Une deuxième personne est alors nécessaire pour réaliser l'insémination(25).

Pour les femelles chez qui réversion du cloaque est impossible, l'alternative consiste à utiliser un *spéculum* vaginal dont la taille varie en fonction de l'espèce cible. Il est introduit en exerçant une pression concomitante au niveau de la région paracloacale. Cette technique, présentée en (figure6), présente l'avantage d'être plus simple, plus rapide et moins stressante que réversion manuelle et est à privilégier chez certaines espèces telles que le faucon pèlerin (*Falco peregrinus*) ou chez les aigles (*Aquila spp.*). Le *spéculum* est introduit dans le cloaque en étant dirigé légèrement vers la gauche pour identifier plus facilement l'orifice du vagin qui peut être visualisé à l'aide d'une source de lumière froide (21).

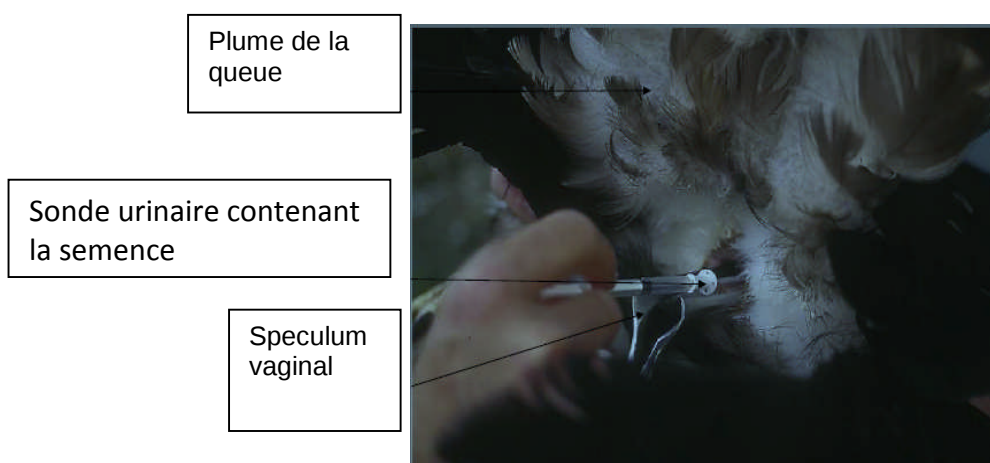


Figure 6 : Technique de visualisation du site d'insémination vaginale sans éversion du cloaque chez *Aquila chrysaetos* (21).

## Chapitre IV: Technique d'insémination artificielle

### 4.3.3. Intramagnal :

Cette technique a été expérimentée par Blanco et al. (29) chez 4 aigles royaux et 5 faucons pèlerins. Le but de l'étude était de réduire autant que faire se peut le nombre nécessaire de spermatozoïdes inséminés permettant de produire des œufs fertilisés. En effet, les espèces sauvages en captivité produisent souvent une semence de faible qualité et plus fréquemment contaminée par l'urine.

Une anesthésie a été effectuée à l'aide d'un masque avec de l'isoflurane à 4 % pour l'induction et à 3 % pour le maintien. Les femelles ont ensuite été placées en décubitus ventro-dorsal (**figure 7**) et le cloaque exposé en remontant les plumes de la queue. L'oviducte n'est pas exposé mais simplement visualisé à l'aide d'un spéculum vaginal, à adapter à la taille de l'espèce. Un endoscope flexible de 2 millimètres de diamètre est utilisé pour visualiser la lumière utérine. Une sonde urinaire contenant la semence est alors insérée, jusqu'à atteindre le *magnum*, respectivement à 1 et 2 centimètres après l'utérus chez le faucon pèlerin et l'aigle royal. A ce moment l'endoscope est retiré et la queue de l'animal est soulevée encore plus loin jusqu'à former un angle de 75° avec le corps. La semence est alors injectée à l'aide d'une seringue stérile de 1 millilitre (29).

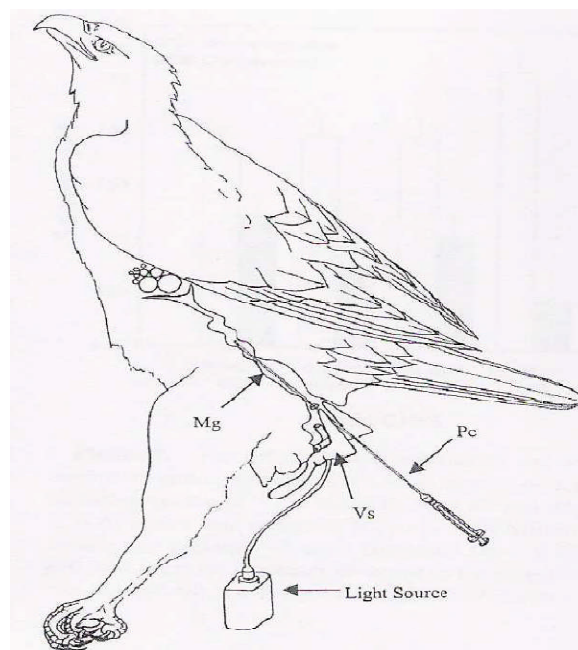


Figure 07. : Illustration de la technique de l'insémination par voie intramagnale (29)

Légende : Mg = *magnum* ; Vs = *speculum vaginal* ; Pc = sonde urinaire ; Light source = source de lumière.

### 4.4. Taux de réussite en fonction du site :

En cas d'insémination intravaginale, la fertilité est approximativement quatre fois plus élevée que pour une insémination cloacale en utilisant le même nombre de spermatozoïdes viables. Cette baisse de la fertilité peut être contournée en augmentant la quantité de spermatozoïdes inséminés (en général plus de  $15.10^6$  cellules motiles) ainsi que la fréquence des inséminations à au moins trois fois par semaine (21).

La fertilité après insémination cloacale a été étudiée chez la grue du Canada (*Crus canadensis*) chez qui elle peut atteindre 80 % (21). Le programme d'insémination débutait deux à trois semaines avant la première oviposition puis se poursuivait jusqu'à la fin de la saison de reproduction avec au moins deux inséminations par semaine dans les heures qui suivaient une oviposition. Chaque inséminât contenait  $16.10^6$  spermatozoïdes. Cependant avec le même programme d'insémination la fertilité était meilleure si la semence était déposée par voie intravaginale.

Dans l'expérience de Blanco et al. (30), l'insémination intramagnate a permis d'obtenir 2 œufs embryonnés sur 12 œufs pondus par les aigles royaux testés (16 % de fertilité) et 1 œuf embryonné sur 9 œufs pondus par les faucons pèlerins (11 % de fertilité). Chez ces 2 espèces, le premier œuf pondu a été infertile ce qui laisse supposer que la première insémination a été réalisée trop tard. Les résultats de fertilité sont inférieurs à la technique intravaginale utilisée traditionnellement chez les rapaces : environ 57 % de fertilité chez le crécerelle d'Amérique (*Falco sparverius*) et 52 % chez le faucon des prairies (*Falco mexicanus*). Cette technique présente un intérêt à être développée chez des espèces à éjaculat de mauvaise qualité et il faut également mettre en rapport le faible résultat de la fertilité avec le peu d'inséminations réalisées.

La fertilité obtenue en fonction des différents sites d'insémination a été comparée par Van Krey et al. [39] chez des poules Leghorn blanches. Ils ont pratiqué une insémination chez 20 à 30 poules avec le même volume de semence non diluée (0,05 mL) déposé en intravaginale, en intra-utérine ou en intramagnale. Les œufs ont été récoltés entre le 2<sup>ème</sup> jour et le 22<sup>ème</sup> jour en post-insémination et la fertilité a été étudiée après 24 heures d'incubation par examen macroscopique des blastocoeles sur les œufs ouverts. La fertilité a été étudiée sur 3 périodes : entre J2 et J8 après l'IA puis entre J9 et J15, et enfin entre J16 et J22. Les résultats sont présentés dans le **tableau 3**.

## Chapitre IV: Technique d'insémination artificielle

Tableau 3 : Évolution de la fertilité chez des poules blanches selon différents sites d'insémination (30).

| Site de l'IA  | Nombre de poule | Moyenne d'œufs pondus par poule entre J2 et J22 | Fertilité des œufs pondus entre J2 et J8 (%) | Fertilité des œufs pondus entre J9 et J15 (%) | Fertilité des œufs pondus entre J16 et J22 (%) | Durée moyenne de la fertilité (en jours) |
|---------------|-----------------|-------------------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------|
| Intravaginale | 20              | 13,4                                            | 91,6                                         | 60,2                                          | 4,7                                            | 13,1                                     |
| Intra-utérine | 20              | 12,6                                            | 89,4                                         | 67,5                                          | 5,7                                            | 13                                       |
| Intramagnale  | 30              | 7,2                                             | 47,7                                         | 68,1                                          | 41,7                                           | 18,8                                     |

Le nombre d'œufs obtenus est en moyenne 1,8 fois plus élevé pour les techniques intravaginale et intra-utérine en comparaison avec la technique intramagnale. Les deux premiers sites d'insémination présentent l'avantage d'atteindre une fertilité importante dès la première semaine mais qui décline rapidement. L'insémination intramagnale présente une fertilité moyenne moins élevée mais la fertilité décroît moins rapidement et se maintient jusqu'à la 3<sup>ème</sup> semaine post-insémination (30).

**4.5. Injection de la semence :** La dernière étape de l'insémination artificielle est le dépôt de la semence dans le tractus génital. Il faut choisir un cathéter intraveineux en plastique de diamètre et de longueur adaptés. Les cathéters à pointe émoussée sont idéals car ils offrent l'avantage de laisser un volume résiduel de semence minimum dans la seringue une fois l'insémination effectuée. Les kits d'insémination en verre sont à éviter. Les cathéters d'insémination produits pour l'industrie de la dinde n'ont que peu d'applications pour la reproduction des oiseaux sauvages et ne sont donc pas recommandés (21).

## Chapitre IV: Technique d'insémination artificielle

---

Le cathéter est inséré à une profondeur dépendante de l'espèce. Pour la voie intravaginale, une insémination profonde offrira de meilleurs résultats en diminuant la quantité de semence perdue directement après l'injection. Il faut donc chercher à atteindre la profondeur la plus proche de la jonction utéro-vaginale. Cette profondeur dépend alors de la taille de l'espèce et de la présence ou absence d'œufs formés dans le tractus génital. Par exemple chez l'aigle royal ou l'aigle de Bonelli, l'insertion du cathéter est réduite (par rapport à celle utilisée habituellement) de 35 à 25 millimètres si un œuf formé est déjà présent. De même, au moment qui précède la ponte, le statut hormonal et la réceptivité de la femelle influencent significativement la profondeur à laquelle doit être inséré le cathéter. Enfin, s'il n'y a pas eu éversion du cloaque la profondeur doit être augmentée **(21)**.

Les profondeurs d'insertion compatibles avec une insémination intramagnale sont à réserver à des circonstances particulières où les échantillons de semence récoltés sont de moindre qualité (peu de spermatozoïdes, mobilité réduite) et où le cycle reproducteur de la femelle est maîtrisé de manière à connaître le moment précis de l'ovulation**(21)**.

Une fois le cathéter en place, la semence est injectée à l'aide d'une seringue en plastique stérile de 1 millilitre. Elle doit être remplie d'air pour expulser le sperme hors du cathéter et l'injection doit se faire progressivement au fur et à mesure qu'est effectué un mouvement de retrait du cathéter **(21)**.

### 1. Motilité des spermatozoïdes :

La motilité est l'une des caractéristiques les plus importantes d'un spermatozoïde fertile. Il a été le premier, et continue d'être l'indicateur le plus largement utilisé de la fonction des spermatozoïdes. La motilité des spermatozoïdes est un attribut important, car il est facilement identifiable et reflète plusieurs structures, et compétence fonctionnelle, ainsi que les aspects essentiels du métabolisme du spermatozoïde(31)

Le sperme motilité est exprimé par le pourcentage de spermatozoïdes mobiles progressivement motiles ou totaux. Ce paramètre est généralement évalué par l'examen visuel subjectif dans une phase microscope à contraste à 37 ° C en utilisant de faibles objectifs (10 ou 20x)(31).

L'évaluation au microscope optique des spermatozoïdes mobiles ne nécessite pas de matériel coûteux. De plus, c'est une méthode simple et rapide (32).

### 1. Vitalité (intégrité des membranes des spermatozoïdes):

La méthode traditionnelle pour déterminer si la membrane des spermatozoïdes est Intacte ou perturbée implique l'examen d'un pourcentage de spermatozoïdes viables pour la détermination de la viabilité cellulaire les colorant telle que l'aniline-éosine, éosine-nigrosine et éosine-rapide vert sont largement utilisés(31).

L'intégrité de la membrane plasmique est représentée par la capacité d'une cellule viable pour exclure le colorant, alors que le colorant se diffuse passivement dans la cellule du sperme avec des membranes plasmiques endommagée (31), Lorsque les frottis colorés sont vus sous l'huile d'immersion avec un Objectif du microscope optique, le pourcentage de cellules viable, vivant, spermatozoïde bien formé, non viable et aussi spermatozoïde partiellement endommagée peut être déterminée(31).

Dans la coloration éosine-nigrosine sous le microscope, les spermatozoïdes vivants apparaissent en blanc, décoloré contre le fond pourpre (couleur rouge violacé intense) de nigrosine figure(8). Les spermatozoïdes morts et endommagé qui ont une membrane plasmique perméable sont roses figure(9) (31).

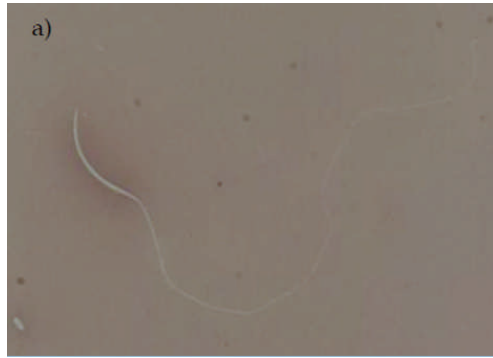


Figure8 : spermatozoïde vivant



Figure 9 : spermatozoïde mort.

### 3 .Morphologie des spermatozoïdes :

En raison du fait que les processus de congélation et de décongélation provoquent des dommages morphologiques ou cryogéniques biochimiques entraînant un dysfonctionnement du sperme et des changements dans la membrane cellulaire, l'évaluation de la morphologie des spermatozoïdes est une composante essentielle d'analyse de sperme et fournit des informations cliniques sur la fécondité potentielle de l'échantillon de sperme(31).

En dépit, il existe de nombreuses nouvelles méthodes différentes, les frottis de sperme sont encore utilisés pour l'évaluation morphologique en microscopie optique de routine(31).

Cependant, cette évaluation est subjective et les résultats sont largement tributaires de la compétence et l'expérience de l'évaluateur. Des colorants Vital en combinaison avec différents colorants pour l'évaluation de l'acrosome sont couramment utilisés pour évaluer la morphologie des spermatozoïdes et la viabilité ensemble. A cet effet, l'encre de Chine, de William, Karras, Spermac, Diff-Quick, Papanicolaou, Fuelgen ou combinaison: bleu Trypan et Giemsa, bleu Trypan, Bismarck Brown et Rose Bengale, et enfin-nigrosine éosine ont été utilisés chez les oiseaux et les mammifères, y compris l'homme (33,34).

### 4 .Méthodes avancées d'évaluation de sperme

#### Computer analyse de sperme assistée (CASA) :

L'appertisation de la mobilité des spermatozoïdes s'avère très subjectif pour toute les espèces animales (35) même si parfois des corrélation avec le nombre des spermatozoïde mobiles (36) ou les spermatozoïde avec des mouvement rapide (37) ont été mise en évidence.

Si l'évaluation traditionnelle peut être suffisante en condition d'élevage, elle ne peut pas être utilisé quand on recherche une plus grande précision des mesure (centre de diffusion de semence, étude sur la biologie de la semence, cryoconservation). C'est pour cela que des systèmes d'analyse de semence assisté par ordinateurs (Computer Assisted Semen Analyse-CASA) ont été mise au point et ont permis de beaucoup améliorer l'estimation(38)

Maintenant de nombreux CASA ont développé ;leur efficacité dépend de leur caractéristique technique (système optique, logiciel),de la définition des seuils de reconnaissance des spermatozoïdes (39). Cependant, les résultats d'analyse dépendent aussi des condition d'analyse (température,dilueur utilisé,etc).L'analyse Assistée par ordinateur analyseurs de sperme permettent de calculer de plusieurs paramètres de motilité, qui caractérisent le mouvement des spermatozoïdes individuels.

Ils comprennent la vitesse moyenne VAP-chemin, la vitesse de ligne VSL-droite, la vitesse VCL-cell, ALH amplitude de latéral déplacement de la tête, la fréquence croisée BCF-beat comme elle montre la (figure10), STR-rectitude de la voie cellulaire, LIN-linéarité de la piste de la cellule, sous- population de cellules rapide, moyenne et lente(40).

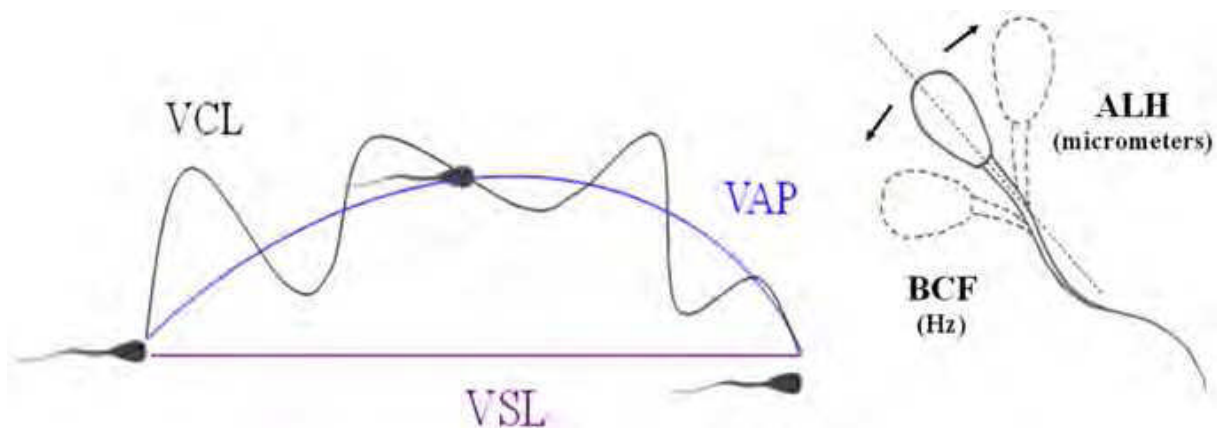


Figure 10 : vitesse et mouvement de spermatozoïde mesurés par le système CASA(40).

Certaines caractéristiques des paramètres mesurés de la motilité des spermatozoïdes par CASA système sont résumés dans le tableau 4 (31).

## Chapitre V : ETUDE DES PARAMETRES SPERMATIQUE

Tableau 4 : Les paramètres de motilité des spermatozoïdes mesurés par le système CASA(31).

| Paramètres |                 | unité                                                                                                                                                         |
|------------|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| MOT        | %               | Motilité - La population de cellules qui se déplacent à ou au-dessus d'une vitesse minimale tel que déterminé par les valeurs définies dans la configuration  |
| POMT       | %               | Motility- progressif de la population de cellules qui se déplacent activement vers l'avant.                                                                   |
| VCL        | $\mu\text{m/s}$ | vitesse de piste - est définie comme la vitesse moyenne sur la réelle point à point la piste suivie par la cellule.                                           |
| VAP        | $\mu\text{m/s}$ | vitesse Path - est défini comme la vitesse moyenne sur la moyenne lissée la position de la cellule.                                                           |
| VSL        | $\mu\text{m/s}$ | vitesse progressive - est mesurée dans la distance en ligne droite entre le début et la fin de la piste                                                       |
| ALH        | $\mu\text{m}$   | Amplitude de Lateral Head Déplacement - est la largeur moyenne de la tête oscillation que la cellule se déplace.                                              |
| BCF        | Hz              | Batte Cross Fréquence - est la fréquence avec laquelle la tête du spermatozoïde se déplace d'avant en arrière dans sa voie à travers le chemin de la cellule. |
| STR        | %               | Rectitude - Une mesure de côté VCL au mouvement latéral déterminé par le rapport VSL / VAP.                                                                   |
| LIN        | %               | Linéarité - Une mesure du départ de la piste de la cellule d'une ligne droite ligne. Il est le rapport VSL / VCL.                                             |
| RAP        | %               | RAP% Rapid - sous-population des cellules rapides.                                                                                                            |
| MED        | %               | Moyen - sous-population des cellules avec une vitesse moyenne                                                                                                 |
| SLOW       | %               | SLOW% - sous-population de cellules lentes.                                                                                                                   |
| STATIC     | %               | STATIC% de cellules statiques.                                                                                                                                |

## Chapitre V : ETUDE DES PARAMETRES SPERMATIQUE

---

L'avantage important de l'analyse assistée par ordinateur des spermatozoïdes est l'immédiat mesure de la concentration du sperme, le nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat et le Calcul automatisé du nombre d'unités d'insémination qui pourrait être préparé à partir d'un Ejacula, De plus, certaines machines sont équipées d'un module d'excitation UV, donne l'occasion d'analyser le pourcentage de spermatozoïdes vivants et morts après coloration avec des sondes fluorescentes vitales, telles que Hoechst 33258(41,42).

*PARTIE*  
*BIBLIOGRAPHIQUE*

### Partie expérimentale :

#### 1 .Objectif :

Pour présente étude, nous nous sommes assigné les objectifs suivants :

- Evaluation des pourcentages de la fertilité en fonction de site d'insémination (intra vaginale).
- Analyse de semence de dindon de point de vue motilité, concentration et morphologie en utilisant deux dilueurs l'IMV et FECONDIL+.

#### 2. Cadre de l'étude :

La présente étude a été réalisée dans un élevage situé à ASSI FEDOLE attaché à la commune d'AIN OUSSARA DE LA WILAYA DJELFA (chez un des plus grands producteurs de poussin dinde chair) pendant 1 mois Ce site d'élevage contient 7 bâtiments de type obscure :

- 2 bâtiments en fian de production et
- 2 bâtiments en début de production
- 2 bâtiments d'élevages
- bâtiment en vide sanitaire.

Cette étude a été menée dans un bâtiment en début de production c'est un bâtiment de type obscure sans fenêtre **figure(11)**.



Figure11: Bâtiment de production.

Ce bâtiment lui-même est divisé en trois sous bâtiments, celui du milieu contient les males repartis avec un système de boxe, chaque boxe contient 25males et entre les boxes, on

## PARTIE EXPERIMENTALE

---

trouve un couloir de service de distribution de l'alimentation. Cette dernière est fournie manuellement par les ouvriers directement dans les mangeoires figure(12).



**Figure 19 Bâtiment des mâles**

Figure12 : Bâtiment des mâles.

Les deux autres bâtiments gauche et droite contient la femelle. chaque batiment est divisé en deux grands boxes. chaque boxe contient 1400 femelle et un couloir de service au tour des boxes pour ramasser les oeufs à travers les pondeiroes. La destribution de l'alimentation dans le batiement des femelles est faite automatiquement par la chaine d'alimentation à travers les silos qui se trouvent à l'extérieur du bâtiment figure(13).



**Figure 13 : Bâtiment des femelles.**

## PARTIE EXPERIMENTALE

### 3. Animaux :

La pratique de l'insémination était réalisée dans le bâtiment des femelles et l'analyse de semence dans le bâtiment des mâles sur une même bonde de souche BIG9.

Les mâles ont reçues une alimentation rationné 500g par jour les femelle reçoivent une alimentation à volonté.

L'eau de boisson est servè à volonté.

### 4. Prophylaxie de la reproduction dinde :

Le protocole vaccinal instauré dans cet élevage est représenté dans le tableau suivant :

Tableau 5: prophylaxie de reproduction dinde

| Age de la dinde (semaine) | Vaccination contre la maladie                            | Voie de vaccination                                                              |
|---------------------------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| 1                         | La Newcastle                                             | Nébulisation                                                                     |
| 2                         | LA RTI et la gosse tête                                  | Eau de Boisson                                                                   |
| 3                         | Rappel Newcastle                                         | Eau de Boisson                                                                   |
| 4                         | Rappel de la RTI et la GROSSE Tête                       | Eau de Boisson                                                                   |
| 5                         | Rappel Newcastle                                         | Eau de Boisson                                                                   |
| 6                         | Rappel RTI                                               | Eau de Boisson                                                                   |
| 10                        | Rappel Newcastle et vaccination contre la variole aviare | Newcastle Eau de Boisson<br>La variole aviare par transfixion de la vine alaire. |
| 14                        | Rappel Newcastle                                         | Injection sous cutané au niveau de la tête.                                      |
| 16                        | Vaccinations contre l'encéphalo-myélite                  | Eau de Boisson                                                                   |
| 19                        | Vaccin pasteurellose                                     | Injection intra musculaire                                                       |
| 23                        | Rappel Newcastle                                         | Injection sous cutané au niveau de la tête                                       |
| 25                        | Rappel encéphalo-myélite                                 | Eau de Boisson                                                                   |
| 27                        | Rappel pasteurellose                                     | Injection intra musculaire                                                       |

### Matériel et méthodes :

#### 1. Technique d'insémination artificielle :

Pour réussir l'insémination artificielle chez cette espèce, plusieurs étapes sont à respecter :

##### 1.1. Prélèvement du sperme :

La toute première semence produite par le male a séjourné longtemps dans l'appareil reproducteur. Au départ de la production de sperme, le testicule a peine développé ne produit pas un sperme de haute qualité.

C'est pour cette raison les deux premières collectes ne sont pas utilisées pour l'insémination c'est-à-dire en fait deux prétraites pour amener les males à un niveau de production acceptable.

La récolte se fait par massage dors- abdominale avec une main et l'avant du croupion avec autre main pour le stimuler. Quand le male répond et relève la queue, amener le pouce et l'index de la main qui massait la queue et serrer vers l'intérieur la base du phallus. Avec

L'index de l'autre main, on presse vers l'intérieur de bas en haut pour expulser le sperme du bulbe déférent. La collecte du sperme se fait à la base du phallus à l'aide d'un récolteur figure(14).



Figure 14 : Technique de prélèvement de sperme chez le mâle.

### 1.2. Dilution de la semence :

Le tube de prélèvement contient 10cc avant de recueillir le sperme, on ajoute toujours 4cc de dilueur spécifique pour l'insémination (**Figure 15**).



Figure 15 : Tube de 6cc semence et 4cc diluer.

Prélever la semence dans le diluer et mélanger en faisant des mouvements de bas en haut tout doucement en évitant la manipulation brusque. Le mélange doit être à température ambiante (de 20 à 21°C). L'exposition du sperme aux variations extrêmes de température est déconseillée.

La distribution de l'alimentation se fait après la récolte pour réduire la contamination fécale du sperme et faciliter le travail des opérateurs.

La période de repos entre la première et la deuxième récolte dans cette exploitation est de 7 jours.

Le temps entre le premier mâle prélevé et la dernière femelle inséminée ne dépasse pas 30 minutes.

Chaque flacon de sperme doit être récolté en 10-15 minutes puis transporté dans le bâtiment des femelles et inséminés en 15-20 minutes.

On doit s'assurer que le flacon de sperme qui arrive dans le bâtiment des femelles soit utilisé dès que le précédent est complètement utilisé.

### 1.3. Injection de la semence et l'insémination artificielle proprement dit :

Déposer une dose de semence dans l'oviducte de la femelle à proximité des glandes de stockage des spermatozoïdes.

Une fois dans l'oviducte, la semence va pénétrer dans les glandes de stockage situées à la jonction utéro-vaginale. De là les Spermatozoïdes vont remonter dans l'oviducte jusqu'à une deuxième réserve située à la jonction du magnum et de l'infundibulum.

Le passage d'un ovule dans l'infundibulum stimule le largage des spermatozoïdes, l'ovule est alors fécondé par l'un d'entre eux.

### 1.3.1. Préparation des femelles :

Les femelles atteignent la maturité sexuelle après 29 semaines d'âge (entrée en ponte) et ont besoin d'un minimum de 14 heures d'éclairement continue par jour à une intensité de 100 lux.

Le moment de la première insémination est primordial pour une bonne fertilité. Celle-ci est habituellement positionnée 14 à 16 jours après l'éclairement. A ce stade, la majorité des femelles s'écrasent, particulièrement si l'on s'en approche. C'est la façon d'indiquer que la femelle est prête à être inséminée figure(16).



Figure16 : la femelle s'écrase

La première insémination artificielle coïncide souvent avec le premier œuf pondu.

Une seule insémination fournit suffisamment de spermatozoïdes pour fertiliser la production d'œufs sur de nombreuses semaines.

Dans cette exploitation pour s'assurer d'une fertilité maximale et d'enlever l'hymen et s'assurer que la dinde est prête à être inséminée :

Planification de 2 inséminations au cours des 7 premiers jours, la seconde insémination devra avoir lieu deux jours après la première insémination avec une dose de semence maximale 0.05ml par femelle inséminée.

### 1.3.2. Technique d'insémination :

Il existe différentes méthodes d'insémination de dindes, la méthode utilisée dans cette exploitation, est la méthode « hors sol » avec un protocole, qui prend en compte le bien être de l'animal, la sécurité de l'opérateur et l'hygiène.

La méthode « hors sol » utilisée dans cette exploitation nécessite quatre personnes. Une personne pour attraper la femelle, deux pour ouvrir l'oviducte et une autre pour inséminer.

Le bâtiment devra pouvoir être compartimenté de façon à séparer les femelles déjà inséminées du reste de troupeau afin de minimiser le stress sur les animaux.

#### Plusieurs étapes sont à respecter dans cette technique :

D'abord, saisir la femelle soit par une aile et la patte opposée soit par les deux pattes dans la main. Le bréchet entre les genoux et l'intérieur de la cuisse. Avec l'autre main retourner l'oviducte et presser légèrement avec les genoux et présenter l'oviducte ouvert vaginal à l'inséminateur figure(17). C'est-à-dire le site de l'insémination, c'est au niveau cloacal par l'éversion de l'oviducte.



Figure17 : Insémination par l'éversion de l'oviducte intra vaginal.

Une femelle « serrée » lors de l'ouverture soit n'est pas prête à être inséminée soit en phase de couvaion. Dans les deux cas, on ne doit pas forcer l'insémination, l'oviducte peut être endommagé.

Lorsque la paillette est insérée dans l'oviducte, l'ouvreur doit relâcher la pression exercée avec les mains et les genoux pour éviter tout rejet de la semence. Une fois la paillette

## PARTIE EXPERIMENTALE

---

enlevée, on repose doucement la femelle sur le sol en direction des femelles déjà inséminées. Si la dinde retombe au sol brutalement, la semence risque d'être expulsée de l'oviducte.

### \*Insémination

Les femelles en début de production sont inséminées l'après-midi à 15heures, les femelles en pic de production sont inséminées la matinée à 6.30heures pour ne pas réduire la ponte et la fertilité.

Dans cette exploitation, nous avons utilisé la dose de 50ul par femelle inséminée dans toute la période de production pour s'assurer une bonne fertilité.

Les paillettes devront être remplies au rythme de l'insémination est de ne pas remplir trop de paillettes à la fois. La (figure18) montre le modèle de distributeur automatique utilisé dans cette exploitation.



Figure 18 : Le modèle de distributeur automatique utilisé.

Un tube de 10cc (de 4cc diluer et de 6cc de semence) qui arrive au bâtiment des femelles placé dans le distributeur automatique, donne 250 paillettes d'insémination (utilisé pour 250 femelles). (figure19) montre le modèle de paillette jetable utilisé pour l'insémination parfois appelée tube à IA.

## PARTIE EXPERIMENTALE



Figure19 : Type des paillettes utilisé pour l'insémination.

L'inséminateur tient le pistolet comme un stylo et y fixe une paillette (figure20).



Figure20: L'inséminateur fixe une paillette.

Insérer la paillette doucement dans l'oviducte sur une profondeur d'environ 2-3cm jusqu'à sentir une résistance puis revenir légèrement en arrière. L'oviducte n'est pas un tube tout droit et une pression trop forte risque de l'endommager lorsque la paillette est insérée. L'ouvreur relâche la pression, ce qui a pour effet de faire pénétrer la paillette un peu plus profondément (environ 3-4cm) dans l'oviducte alors que simultanément l'inséminateur chasse la semence en expulsant de l'air dans le tube et retire la paillette. Les doigts de l'inséminateur ne doivent pas entrer en contact avec l'oviducte afin d'éviter toute contamination.

Si l'on observe que la semence est rejetée, la femelle doit être réinséminée.

## PARTIE EXPERIMENTALE

### Résultats:

Les résultats relatifs à l'évolution de la fertilité en fonction du site de l'insémination sont montrés dans le tableau 7.

Tableau 6 : Fertilité obtenue en fonction du site de l'insémination intra vaginale.

| Site de l'IA       | Fertilité des œufs pondus                             |                                                     |                                                      |
|--------------------|-------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
|                    | Entre le 2 <sup>ème</sup> et le 8 <sup>ème</sup> jour | Entre le 9 <sup>ème</sup> et 15 <sup>ème</sup> jour | Entre le 16 <sup>ème</sup> et 22 <sup>ème</sup> jour |
| Intra vaginale (%) | 95.16                                                 | 95,02                                               | 94,89                                                |

Le taux de la fertilité est meilleur (95,16%) entre le 2<sup>ème</sup> et le 8<sup>ème</sup> jour.

Nos résultats montrent que le taux de la fertilité est meilleurs (95,16%) entre le 2<sup>ème</sup> et le 8<sup>ème</sup> jour, ces résultats sont supérieurs de ceux rapportés par (Van et Krey HP ,1966)(30), qui sont de (91.6% entre J2 et J8), (60,2 entre J9 et J15), et (4,7 entre J16 et J22) réalisés sur la poule blanche.

### 2. Analyse de semence :

La conservation du sperme et l'insémination artificielle (IA) offrent de nombreux avantages Pour l'industrie de la volaille, en particulier en relation avec la production de poulet de chair les dindes et les canards, ainsi que l'évaluation génétique des reproducteurs mâles et les programmes de sélection.

La dilution et la conservation de la semence à base température est un élément important Dans les programmes de volaille inséminées, et il vise à augmenter le volume du sperme, la possibilité de transport d'échantillons du sperme ainsi que le maintien de la haute fertile et La capacité des spermatozoïdes pendant plusieurs heures **(43)**. Trois paramètres du sperme sont le plus souvent évalués lors de la détermination d'un potentiel de fertilisation chez la volaille **(44)**:

- la concentration
- la viabilité
- la mobilité.

Ces paramètres peuvent être évalués par plusieurs méthodes **(45)**. Selon Personne et al. (2007) **(55)** l'analyse de sperme assistée par ordinateur (CASA) est un outil pour identifier les différences dans les paramètres du sperme, liée à la motilité et la morphologie et la caractérisation de la semence, sur la base de ces paramètres, et pourrait améliorer les méthodes d'évaluation de l'objectif fertilité.

Pour la présente étude nous, avons choisi la méthode de CASA (figure22) en étudiant les paramètres suivant :

- L'influence du temps 6heure et de la température (+4C°) et Apprécier l'influence de l'utilisation des deux dilueurs: le tampon IMV(Breveté par IMV - Technologies - France) et créé à partir de Gerzilov (2002)**(47)** et le diluer FECONDIL+ créé résament (figure 21)



Figure(21) : Les deux dilueurs FECONDIL+ et l'IMV.

## PARTIE EXPERIMENTALE

- sur les paramètres suivant mesurés automatiquement par le système CASA.
  - Caractéristiques du mouvement de sperme en% (statique, progressive et non progressive la mobilité des spermatozoïdes)
  - La distribution de vitesse des spermatozoïdes en% (rapide, moyenne, lente, statique)
  - Vitesse curviligne (VCL) en  $\mu\text{m} / \text{s}$  : une mesure de la distance totale parcourue par un spermatozoïde donnée divisé par le temps écoulé.
  - Vitesse linéaire (VSL) en  $\mu\text{m} / \text{s}$  : la distance en ligne droite à partir du début à la fin d'une piste de sperme divisé par le temps nécessaire
  - Vitesse moyenne du trajet (VAP) en  $\mu\text{m} / \text{s}$  : la vitesse tangentielle moyenne de sperme
  - Linéarité (LIN) en% - de la linéarité de la trajectoire curviligne, VSL / VCL.
  - Rectitude (STR) en% - linéarité de la voie moyenne spatiale, VSL / VAP.
  - Wobble (WOB) en% - mesure d'oscillation de la trajectoire réelle de son chemin moyenne spatiale

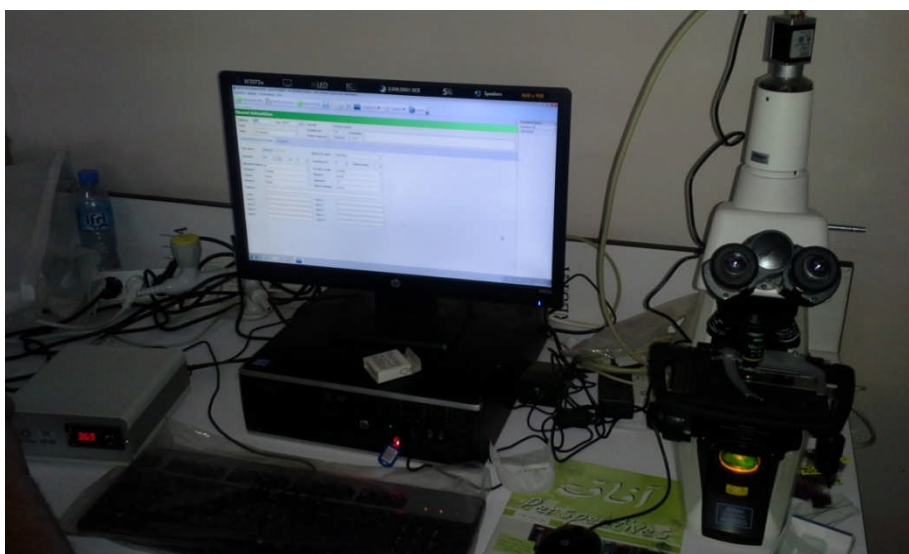


Figure (22) Le matériel utilisé pour l'analyse de semence CASA.

Cette étude a été effectuée au niveau du bâtiment des mâles âgés de 40 semaines.

- Le premier essais a été effectué le 01/03/2016 Pour le diluer l'IMV (**annexe 1**)
- Le deuxième essais effectué le 08/03/2016 pour le diluer FECONDIL+ (**annexe 2**)
- Ces animaux ont reçu une alimentation rationnée de 500g par jour distribué après la récolte de la semence.
- L'eau de boisson est servie à volonté.
- La durée d'éclairage est de 14heures de lumière et 10heures d'obscurité avec une intensité lumineuse de 25lux.
- La récolte se fait le matin (à 6heure) chez une bonde en fin de production.

## PARTIE EXPERIMENTALE

La semence est diluée 1v/1v au niveau de site d'élevage :

- un tube 1v/1v pour le diluer L'IMV.
- et un type dilué 1v/1v pur le diluer FECONDIL +.

Puis transportée dans une glacière figure(23) vers le laboratoire de biotechnologie de reproduction de l'institut vétérinaire de l'université de Blida 1, le temps du transport est de 6heures.



Figure23 : transport de la semence vers le laboratoire.

Pour l'analyse de la semence, on doit la réchauffer progressivement dans un bain marie de 37C° pour ne pas provoquer un choc thermique de la membrane plasmique en passant de 4C° à 37C°( figure 24).

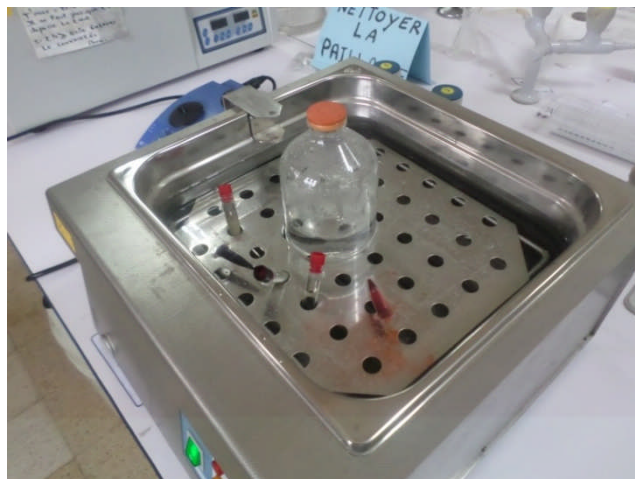


Figure 24: Réchauffement progressif de la semence par le bain marie.

En attendant le réchauffement, on prépare la paille en parallèle figure(25).



Figure 25 : préparation de la paillasse

Une fois la semence est réchauffée, on fait la dilution à raison de 1/199 pour la motilité

### 1. la motilité :

pour évaluer la motilité des spermatozoïdes, une lame doit être préparée en déposant une goutte de semence sur une lame puis une lamelle inclinée au-dessus, ensuite, on la dépose sur le microscope optique (figure26) pour la mise au point et le lancement de l'analyse par le logiciel CASA (figure27).



Figure26 : Mise en point au microscope optique

## PARTIE EXPERIMENTALE

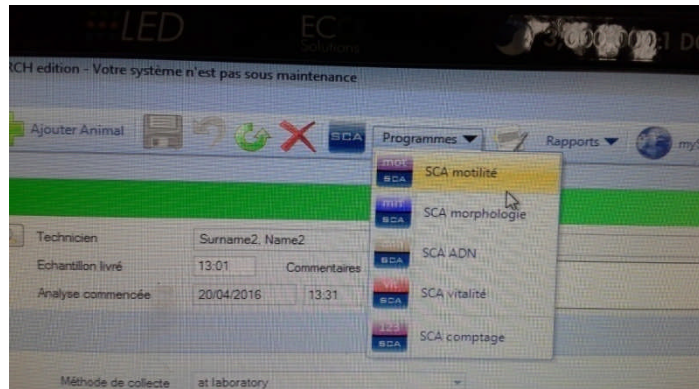


Figure 27: Lanancement de l'analyse par logiciel.

2. **la vitalité** : pour avoir un bon champ de comptage, on doit faire une dilution de 1/19. Ensuite, une lame est préparée, sur la quelle on dépose une goutte de la semence, puis on ajoute une goutte de l'iosine 1%, puis une goutte de nigrosine 10%(figure29).



Figure 28 : l'éosine 1% et nigrosine 10%.



Figure 29: Dépôt des réactifs.

Et après avoir mélangé le tout, on la laisse pendant 3 minutes pour la réaction chimique figure(29).

## PARTIE EXPERIMENTALE

L'étalement se fait sur une lame à 45°, qu'on laisse sécher (figure30).

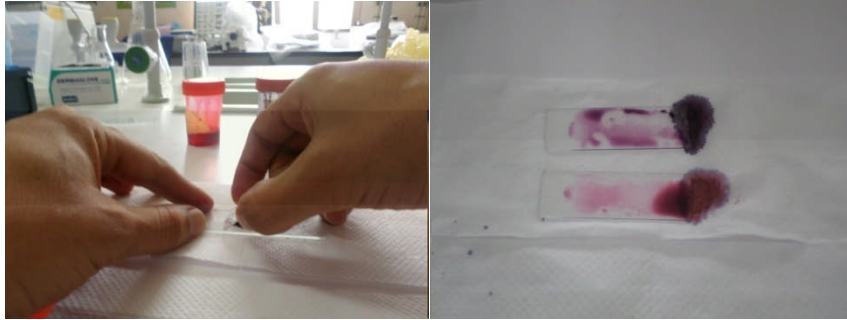


Figure 30 : Etalement par une lame 45C°.

On dépose une lamelle sur la lame, puis on fait la mise au point du microscope optique relié au logiciel, enfin lancement du logiciel de comptage qui se fait manuellement et reste subjectif ( figure31).

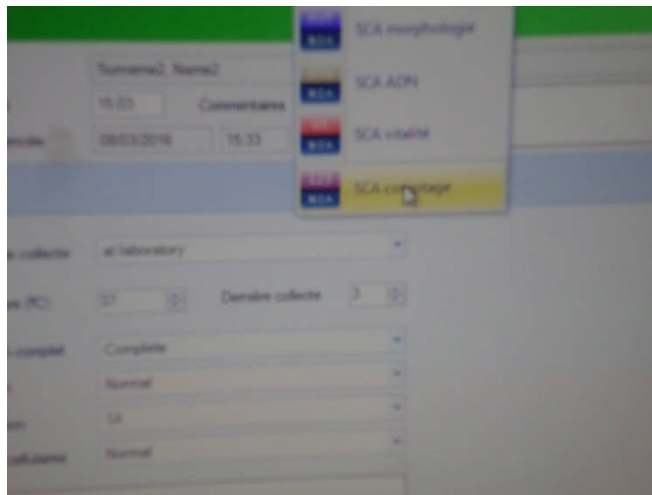


Figure 31 : Le lancement de logiciel de comptage.

**3. Morphologie** : pour voir la morphologie des spermatozoïdes, une dilution de 1//19 doit être réalisée.

Pour la préparation de la lame, on dépose une goutte de la semence puis, on l'étale directement, et on laisse sécher (figure32).

## PARTIE EXPERIMENTALE

---

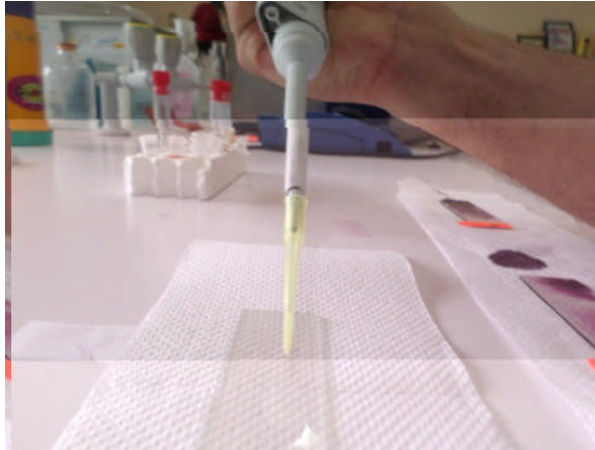


Figure 32 : dépôts de la semence

- on réalise une fixation en déposant le fixateur sur toute la lame



Figure 33 : Le fixateur et le colorant sperme bleu utilisé



Figure 34: dépôts de fixateur sur toute la lame

## PARTIE EXPERIMENTALE

---

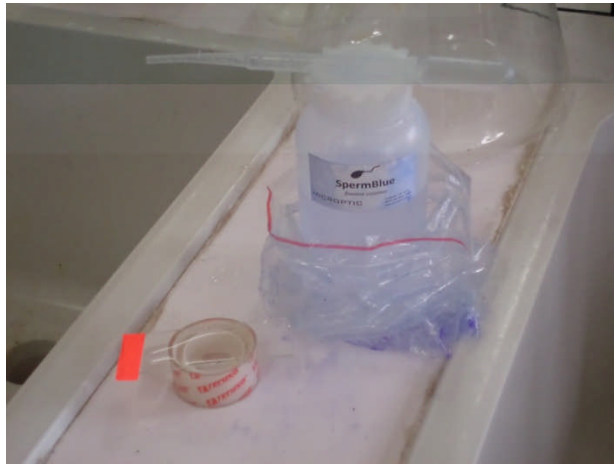


Figure 35 : laisser la lame sèche pendant 15 minutes

- après 15 minutes, on rince puis on ajoute le colorant (sperme bleu) (figure36,37)aussi sur toute la lame.



Figure 36 : rince doucement avec l'eau



Figure 37 : dépôts de sperme bleu sur toute la lame

- après 15 minutes, on rince doucement avec de l'eau et en laisse séché

## PARTIE EXPERIMENTALE

---

- en fin, On dépose une lamelle sur la lame puis on fait la mise au point du microscope optique, enfin le lancement de logiciel de morphologie (figure37)

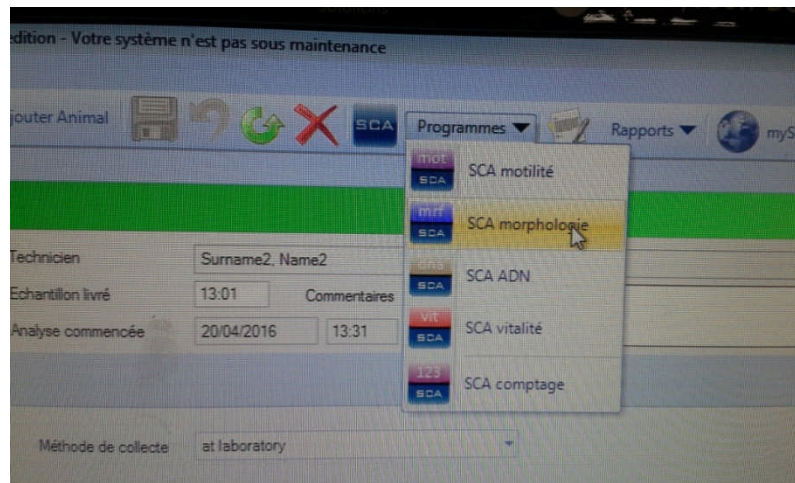


Figure 38 : lancement de logiciel de morphologie

### 1. Résultats de l'Analyse de la semence :

Les résultats d'évaluation des paramètres de la semence en utilisant deux dilueurs l'IMV et FECONDIL+ sont représentés par :

#### 1.1 Motilité:

Les résultats de la motilité sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau1 : motilité et la concentration

| Diluer     | Motilité(%) | Concentration (million/ml) |
|------------|-------------|----------------------------|
| IMV        | 26          | 4 504,64                   |
| FECONDIL + | 18          | 38 034,43                  |

Le taux de motilité est plus important avec le dilueur IMV (26%).

#### 1.2 Vitesse et progressivité :

Les résultats de la vitesse et la progressivité sont représentés dans le tableau 2:

Tableau2 : Vitesse et progressivité du spermatozoïde.

| Critères                               | Semence diluée |            |
|----------------------------------------|----------------|------------|
|                                        | IMV            | Fécond le+ |
| Immobile spermatozoïde (%)             | 73.18          | 81,57      |
| spermatozoïde non progressif (%)       | 26,82          | 17,69      |
| spermatozoïdes progressifs mobiles (%) | 0              | 0,74       |
| total                                  | 100            | 100        |

- Le pourcentage des spermatozoïdes mobiles progressifs est plus important avec la semence diluée avec le Fécond le + (0.74%).

### 1.3. Vitesse du spermatozoïde:

Les résultats relatifs à la vitesse des spermatozoïdes sont rapportés dans le tableau 3.

Tableau 3 : vitesse des spermatozoïdes

| Vitesse(%) | Semence dilué |            |
|------------|---------------|------------|
|            | IMV           | Fécond le+ |
| Rapide     | 0             | 0,42       |
| Moyenne    | 0             | 3,5        |
| Lente      | 26,82         | 14,51      |
| immobile   | 73,18         | 81,57      |
| Total      | 100           | 100        |

- Le nombre de spermatozoïdes statiques (immobile) était plus faible avec la semence diluée avec l'IMV par rapport au Fécond le +.
- L'analyse par le système CASA indique que les spermatozoïdes conservent une vitesse rapide et moyenne avec la semence diluée avec le Fécond le + et une vitesse uniquement lente avec la semence diluée avec l'IMV après 6 h à + 4°C.
- Le Fécond le + avait les meilleures influences sur la vitesse du sperme (le pourcentage des spermatozoïdes rapides (0,42%) et moyenne (3,5%).

## PARTIE EXPERIMENTALE

### 1.5. Comparaison entre les vitesses VCL, VAP et VSL en utilisant les deux dilueurs :

Les valeurs moyennes obtenues à propos de VCL, VSL, VAP, LIN, STR et WOB sont exprimés dans le tableau 4 avec le diluer IMV et le diluer FECONDIL +.

Tableau4 : comparaison des vitesses des spermatozoïdes.

| Critères | Semence diluée (µm/s) |            |
|----------|-----------------------|------------|
|          | Fécond le+            | L'IMV      |
| VCL      | 67,11 ±45,66          | 30,21±9,20 |
| VAP      | 36,62±23,23           | 22,58±8,18 |
| VSL      | 18,56±13,62           | 16,52±8,58 |
| STR      | 35,1±25,3             | 54,2±21,4  |
| LIN      | 54,4±29,4             | 70,6±21,6  |
| WOB      | 58,9±18,9             | 74,6±14,2  |
| ALH      | 3,95±2,39             | 1,32±0,46  |
| BCF      | 2,75±1,96             | 7,10±2,93  |
| Aire     | 20,42±19,99           | 15,20±6,79 |

La valeur moyenne de la VCL, la VAP et la VSL des spermatozoïdes dans le sperme dilué est plus importante avec Fécond le + (67,11±45,66 µm/s ; 36,62), (36,62±23,23), (18,56±13,62) respectivement.

Les résultats relatifs à la comparaison des vitesses en utilisant les deux dilueurs sont apportés dans la( figure 38) :

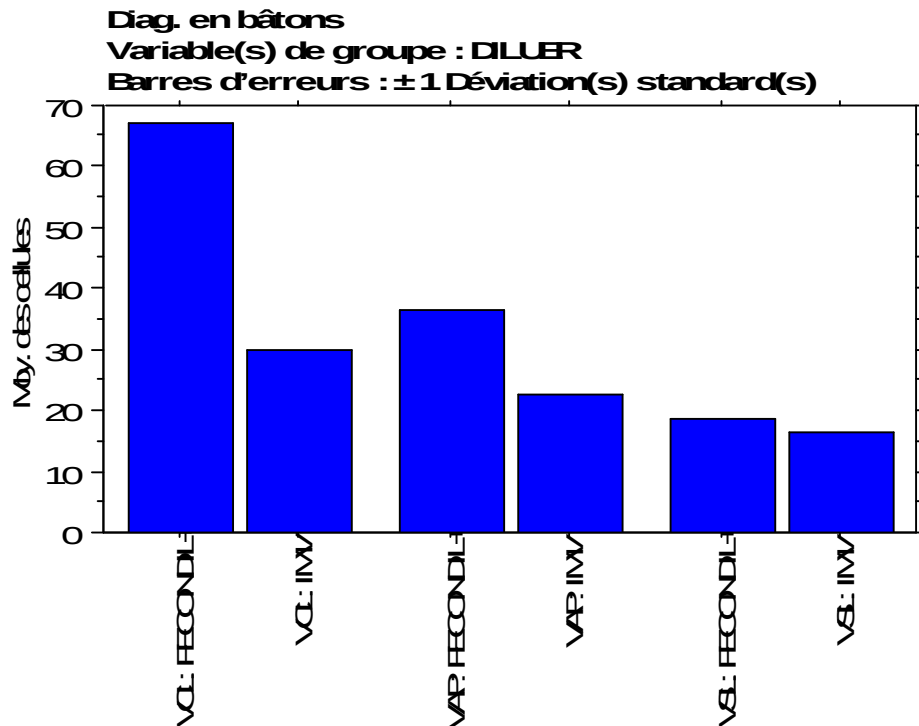


Figure38 : Vitesse obtenue avec les deux dilueurs.

A partir de la figure présentée ci-dessus, on constate que les vitesses VCL et VAP et VSL étaient plus élevées avec le dilueur FEONDIL+.

### Discussion :

Le système CASA est un système très puissant, très rapide, étant considéré comme une méthode objective et sensible dans la détection des caractéristiques de la motilité (36). Selon McDaniel et al. (1998)(44), cet analyseur de qualité du sperme fournit une mesure très rapide et complète de la qualité globale du sperme animal. Cependant, divers dilueurs de sperme aviaire ont été évalués pour leur capacité à soutenir la mobilité des spermatozoïdes. Il est établi que l'utilisation de certains dilueurs chez l'espèce aviaire ne peuvent pas être utilisés chez toutes les espèces animales(45).

Les études sur les paramètres de mouvement des spermatozoïdes (mobile, statique ou autres) dans le sperme aviaire utilisant cette méthode d'analyse sont peu documentés, elles sont parfois utilisées dans les spermatozoïdes du coq. (44,46,47,48,49).

## PARTIE EXPERIMENTALE

Nos résultats montrent que les spermatozoïdes fraîchement dilués et conservés à + 4 ° C pendant 6 heures avaient un mouvement progressif extrêmement actif et un trajectoire linéaire exposé comme a été rapportés par **(Gerzilov et al.,2011)(50)**

Gerzilov et al. (2011)**(50)** ont rapporté que le système CASA indique un pourcentage de spermatozoïdes motiles qui varie de 94 à 99% pour les différents dilueurs .Ces mêmes auteurs notent que l'utilisation de différents dilueurs à savoir, IMV et AU extendeurs étaient meilleurs (le pourcentage des spermatozoïdes motiles au-dessus de 19%) que l'IHA - 1 (13,46%). Nos résultats montrent que les mouvements de sperme progressif avec le diluer le Fécond le+ était plus important (0,74%) qu'avec le diluer IMV (0%).Ces résultats montrent que les différents dilueurs ont une influence différente sur le sperme. La même observation a été rapportée pour différents diluants utilisés pour la dilution du sperme de bœlier**(51)**.

De plus, **(50)** indiquent que le pourcentage le plus élevé de spermatozoïdes mobiles non-progressifs était en raison de leur longue dans le stockage in vitro dans les trois dilueurs.

En outre, il a été constaté que le taux de dilution a une influence notable sur le pourcentage de spermatozoïdes mobiles dans le sperme de pigeon**(52)**.

Nos résultats relatifs aux vitesses VCL, VAP, VSL sont de (30,21 ±9,20),(22,5 ±88,18),(16,52±8,58) respectivement, inférieurs à ceux rapportés par **(50)** qui ont enregistré une VCL, VSL, VAP(94,93±11,10., 27,57±12,74., 51,35±4,98) respectivement avec le diluer IMV.

### 2 .Vitalité :

Les résultats relatifs à la vitalité des spermatozoïdes sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 5: Vitalité avec les deux dilueurs.

| Paramètres | Semence diluée |            |
|------------|----------------|------------|
| vitalité   | IMV            | Fécond le+ |
| vivant (%) | 87             | 83         |
| mort(%)    | 13             | 17         |
| TOTAL(%)   | 100            | 100        |

Le taux de la vitalité était plus élevé avec l'IMV (87%) figure(39).

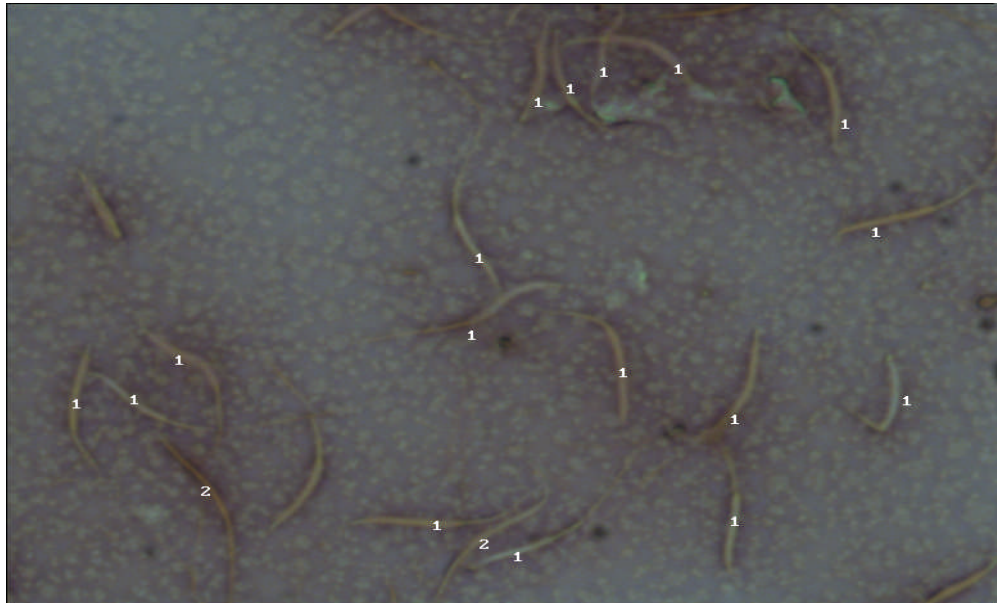


Figure39 : Vitalité avec l'IMV

### Discussion :

Nos résultats relatifs à la vitalité sont de 87% à 83% supérieurs à ceux rapportés par **(53)** qui ont enregistré une vitalité de 69% sur la semence fraîche de dindon.

De plus, **(54)** ont enregistré une vitalité de 93,17% sur les spermatozoïdes de coq.

### 3. Morphologie

A cause du mauvais réglage du logiciel pour la détermination des anomalies de morphologie au système CASA, nous n'avons pas arrivé à déterminer les anomalies des spermatozoïdes, nous avons juste déterminé la morphologie observée après coloration avec le sperme bleu (figure 40).



Figure 40: Morphologie des spermatozoïdes de la dinde

### **Conclusion :**

Pour ce qui est de l'analyse de la semence, nous avons remarqué que le stockage des spermatozoïdes à +4 C pendant 6heures avec le diluer Fécond le+ conserve de bonnes caractéristiques des spermatozoïdes par rapport L'IMV.

Par contre, du point de vue vitalité, la conservation de la semence avec l'IMV donne de bons résultats par rapport au FECODIL+. Ce résultat peut être dû à la composition spécifique de ce dernier.

Pour ce qui est de l'insémination, elle peut être cloacale, intra vaginale ou intramagnale. Ces méthodes diffèrent par leur difficulté de mise en œuvre et leur impact sur la fertilité. Le choix dépend de l'espèce considérée, des objectifs du plan d'insémination et du manipulateur.

Notre étude sur L'évaluation de taux de la fertilité en fonction du site d'insémination intra vaginale montre que le taux de la fertilité était élevé après la première semaine post-inseminatoire après une diminution de la fertilité en deuxième et en troisième semaine d'insémination.

Nous tenons à vous signaler que peu d'études sont disponibles dans la bibliographie et ce domaine reste à investiguer chez de nombreuses espèces d'oiseaux.

### **Recommandations :**

Au terme de cette étude, nous ne pouvons pas juger la qualité des deux dilueurs, c'est pour cette raison, nous recommandons de réaliser de 'autres essaies sur la analyse de semence avec les deux dilueurs IMV et FECODIL+ et faire une étude statistique en comparant les deux dilueurs .

Pour la bonne réussite de l'insémination artificielle,il est important, avant toute tentative d'insémination de laisser un temps d'adaptation aux oiseaux. Les manipulations doivent être faites en douceur pour éviter tout stress et les techniques doivent être adaptées à chaque individu. Enfin, il est nécessaire d'entraîner progressivement les oiseaux à répondre de manière positive aux techniques de prélèvement de semence et d'insémination artificielle.

## BIBLIOGRAPHIE

(1) Blesbois E., Brillard J., Favennec J., Gorvel P., Jamenot P., Seigneurin F., 2006. Artificial Insemination in poultry. *Repro. in Domestic Animals*, **41** (4): 298.

(3) Blanco J. M., Wildt D. E., Höfle U., Voelker W., Donoghue A. M., 2009. Implementing artificial insemination as an effective tool for ex situ conservation of endangered avian species. *Theriogenology*, **71** (1): 200-213.

(3) Rouvier R., Mialon M.-M., Salzmann F., Poujardieu B., 1988. Fertilité et éclosabilité des oeufs d'une souche de canes Pékin (*Anas platyrhynchos*) en croisement interspécifique avec le Barbarie (*Cairina moschata*) par insémination artificielle. *Ann. Zootech.*, **37** (2): 73-86.

(4) VILLATE D. Maladie des volailles. 2ème éd. France Agricole Editions, 2001, 400p.

(5) WALTER JB. Reproductive Biology and Phylogeny of Birds: Phylogeny, Morphology, Hormones, Fertilization, vol. **6A**. Barrie GM. Jamieson edition, Enfield, NH: Science Publishers, 2007, 609 p.

(6) JOHNSON AL. Reproduction in the female. *In* : Sturkie's Avian Physiology. 5ème ed. Academic Press, USA, 2000, 569-600.

(7) DONELEY B. Avian medicine and surgery practice companion and aviary birds. Manson publishing, Londres, 2011, 19-30.

(8) BRAUN L. Physiologie et maîtrise de la reproduction chez les Reptiles et les Oiseaux. Thèse Méd. Vét., Alfort, 2004, 200p.

(9)SAUVEUR B. et DE REVIER M. Reproduction des volailles et production d'oeufs. Editions Quae, 1988, 449 p.

(10)SHUBASH CD, NAOKI I et YUKINORI Y. Changes in the expression of interleukin-1beta and lipopolysaccharide-induced TNF factor in the oviduct of laying hens in response to artificial insemination. Reproduction Cambridge England, 2009, **137**, 527–536.

(11) Reproduction des animaux d'élevage. 2ème éd. Educagri editions, Dijon, 2005, 409 p.

(12) BRIERE S. *et al.* Alimentation, fertilité et bien-être des oiseaux reproducteurs domestiques : des liens complexes. *INRA prod. Anim.*, 2011, **24**(2), 171-180.

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

(14) COSTANTINI V *et al.* Influence of a new slow-release GnRH analogue implant on reproduction in the Budgerigar (*Melopsittacus undulatus*, Shaw 1805). *Anim. Reprod. Sci.*, 2009, **111**(2-4), 289-301.

(15) SAUVEUR B. Photopériodisme et reproduction des oiseaux domestiques femelles. *INRA Prod. Anim.*, 1996, **9**(1), 25-34.

(16) DELLAVOLPE A et KRAUTWALD-JUNGHANNS ME. Attempted semen collection using the massage technique in blue-fronted Amazon parrots (*Amazona aestiva aestiva*). *J. Avian. Med. Surg.*, 2011, **25**(1), 1-7.

(17) SAMOUR JH. The reproductive biology of the budgerigar (*Melopsittacus undulatus*): semen preservation techniques and artificial insemination procedures. *J. Avian Med. Surg.*, 2002, **16**(1), 39-49.

(18) SEIGNEURIN F. Fréquence de collectes de sperme et ses applications à la sélection chez la pintade. *In* : Contrôle of fertility in domestic birds (les colloques de l'INRA n°54), Ed. INRA, Paris, 1990, 185-194.

(19) Klimowicz M *et al.* Effect of collection frequency on quantitative and qualitative characteristics of pigeon (*Columba livia*) semen. *Br. Poult. Sci.*, 2005, **46**(3), 361-365.

(20) QUINN JP et BURROWS WH. Artificial insemination in fowls. *J. Heredity.*, 1936, **27**, 38-37 .

(21) BLANCO JM *et al.* Implementing artificial insemination as an effective tool for ex situ conservation of endangered avian species. *Theriogenology*, **71** , 2009, 200-213.

(22) GEE GF et MIRANDE CM. Artificial insemination. *In* : ELLIS DH, GEE GF, MIRANDE CM. Cranes : their biology, husbandry, and conservation. Washington, 1996, 365-373.

(23) CASSOU B. Généralités sur l'insémination artificielle des oiseaux. *In* : L'aviculture française, R. ROSSET, Paris, 1988, 217-223.

(24) FORBES NA. Captive raptor propagation. *Vet. Clin. North. Am. Exot. Anim. Pract.*, 2002, **5**(3), 649-476.

(25) SAMOUR JH *et al.* Studies on semen collection in waterfowl by electrical stimulation. *Br. Vet. J.*, 1985, 141:265.

(26) BRILLARD JP et de REVIERS M. L'insémination artificielle chez la poule. *INRA prod. Anim.*, 1988, **2**(3), 197-203.

(27) ETCHES R.J. Reproduction in poultry. Editions CAB international, Cambridge, 1996, 318p.

(28) DONOGHUE AM et WISHART GJ. Storage of poultry semen. *Animal. Repro. Sci.*, **66**, 2000, 213-232.

(29) BLANCO JM *et al.* Producing progeny from endangered birds of prey: treatment of urinecontaminatedsemen and a novel intramagnal insemination approach. *J. Zoo. Wildl. Med.*, 2002, **33**, 1-7.

(30) VAN KREY HP, OGASAWARA FX et LORENZ FW. Distribution of spermatozoa in the oviduct and fertility in domestic birds. *J. Reprod. Fert.*, 1966, **11**, 257-262.

(31) Agnieszka Partyka, Wojciech Niżański and Małgorzata Ochota (2012). Methods of Assessment of Cryopreserved Semen, Current Frontiers in Cryobiology, Prof. Igor Katkov (Ed.), ISBN: 978-953-51-0191-8, Wroclaw University of Environmental and Life Sciences Poland.

(32) Peña Martínez, A.I. (2004). Canine fresh and cryopreserved semen evaluation. *Anim Reprod Sci* 82-83, 209-224.

(33) Brito, L.F.; Barth, A.D.; Bilodeau-Goeseels, S.; Panich, P.L. & Kastelic, J.P. (2003). Comparison of methods to evaluate the plasmalemma of bovine sperm and their relationship with in vitro fertilization rate. *Theriogenology* 60, 1539-1551.

(34) Brito, L.F.; Greene, L.M.; Kelleman, A.; Knobbe, M. & Turner, R. (2011). Effect of method and clinician on stallion sperm morphology evaluation. *Theriogenology* 76, 745-750.

(35) TUILI R.K., SCHIDT-BAULAN R., HOLTZ W., 1992. Computer assisted motility assessment of spermatozoa from fresh and frozen-thawed semen of the bull boar and goat. *theriogenology*, 38 (2), 487-490.

(36) THEAU-CLEENT M., LATTAIOLI P., ROUSTAN A., CASTELLINI C., 1996b. Reliability and accuracy of a computerized semen image analyses to evaluate various biological parameters in rabbit semen. *PROC. 6<sup>th</sup> world Rabbit Congress*, July 9-12, 1996, Toulouse, FRANCE, Vol2, 139-143.

(37) BATAILLE B., MAGISTRINI M., PALMER E., 1990. Analyse objective de la mobilité du sperme congelé-décongelé d'étalon. Essai de corrélation avec la fertilité. Actes 16<sup>ème</sup> Journée d'Etude CEREOPA, 96-106.

(38) P. LATTAIOLI, C. CASTELLINI, Istituto di zootecnica General, Agraria, Borgo XX Giugno, 74, 06121 Perugia, Italie, 7<sup>ème</sup> Journ. Rech. Cunicole Fr., Lyon, 1998.

(39) HOLT C., HOLT W.V., MOORE M., 1996. Choice of operating condition to minimize sperm subpopulation sampling bias in the assessment of boar semen by computer assisted semen analysis. *J. Andr.*, 17(5), 587-596.

(40) Niżański, W.; Klimowicz, M.; Partyka, A.; Savić, M. & Dubiel, A. (2009). Effects of the inclusion of Equex STM into Tris-based extender on the motility of dog spermatozoa incubated at 5 degrees C. *Reprod Domest Anim* 44, (Suppl. 2), 363-365.

(41) Verstegen, J.; Iguer-ouada, M. & Onclin K. (2002). Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. *Theriogenology* 57, 149-179.

(42) Davis, R.O. & Katz D.F. (1992). Standardization and comparability of CASA instruments. *J Androl* 13, 81-86.

(43) CRISTENSEN V.L. (1996): Diluents, dilution and storage of poultry semen for six hours. Proceeding First International Symposium on Artificial Insemination in Poultry. Poultry Sci. Asociacion, Savoy, 8, 90-105. DUCCI M., GAZZANO A., SIGHIERI C., DELLA LONGA A., MARZONI.

(44) MCDANIEL C.D., HANNAH J.L., PARKER H.M., SMITH T.W., SCHULTZ C.D., ZUMWALT C.D. (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.

(45) BLANCO J.M, GEE G., WILDT D.E., DONOGHUE A.M. (2000): Species variation in osmotic, cryoprotectants and cooling rate tolerance in poultry, eagle and peregrine falcon spermatozoa. *Biology of Reproduction*, 63, 1164-1171.

(46) FROMANN D.P., FELTMANN A.J. (1998): Sperm mobility: A quantitative trait of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Biology of Reproduction*, 61, 400-405.

(47) FROMANN D.P., FELTMANN A.J. (2000): Sperm mobility: phenotype in roosters (*Gallus domesticus*) determinate by concentration of motile sperm and straight line velocity. *Biology of Reproduction*, 63, 303-309.

(48) FROMANN D.P., WARDELL J.C., FELTMANN A.J. (2006): Sperm mobility: deduction of a model explaining pheotypic variation in roosters (*Gallus domesticus*). *Biology of Reproduction*, 74, 487-491.

(49) BOWLING E.R., FROMAN D.P., DAVIS A.J., WILSON J.L. (2003): Attributes of broiler breeder males characterized by low and high sperm mobility. *Poultry Science*, 82, 1796-1801.

(50) V. Gerzilov<sup>1</sup>, P. Rashev<sup>2</sup>, A. Bochukov<sup>1</sup>, P. Bonchev<sup>1</sup>, *Biotechnology in Animal Husbandry*, Publisher: Institute for Animal Husbandry, Belgrade-Zemun, 27 (3), p 733-740, 2011.

(51) GIL J, SÖDERQUIST L, RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. (2000): Influence of centrifugation and different extenders on post-thaw sperm quality of ram semen, *Theriogenology*, 54, 93-108.

(52) SONTAKKE S.D., UMAPATHY G., SIVARAM V., KHOLKUTE S.D., SHIVAJS. (2004): Semen characteristics, cryopreservation, and successful artificialinsemination in the Blue rock pigeon (*Columba livia*). *Theriogenology*, 62, 139-153

(52) GIL J, SÖDERQUIST L, RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. (2000): Influence of centrifugation and different extenders on post-thaw sperm quality of ram semen, *Theriogenology*, 54, 93-108.

(52) SONTAKKE S.D., UMAPATHY G., SIVARAM V., KHOLKUTE S.D., SHIVAJ S. (2004): Semen characteristics, cryopreservation, and successful artificial insemination in the Blue rock pigeon (*Columba livia*). *Theriogenology*, 62, 139-153.

(53) Blesbois E., Grasseau I., Seigneurin F., Membrane fluidity and the ability to survive cryopreservation in domestic bird spermatozoa. *Reprod.* 129 (2005), 371-378.

(54) S.S.I.Dmejeet B.N Marire1990 ,EVOLUATION OF SPERM CARACTRISITICS OF ADULTE COCKS OF DIFFERRENTE GENITQU BACKGROUNDS,DEPARTEMENTE Of production Anambre state University of technology, Abakaliki, Nigeria, Octobre 22,1989.

Référence: FG75



Date (jour/mois/année): 01/03/2016

Centre: LBRA BLIDA

Code: DINDEBIG 9



Animal: ,

Fraîche (01/03/2016 13:09:55)

### Concentration

16 798,55 Millions / ml

33 597,09 M/Echantillon

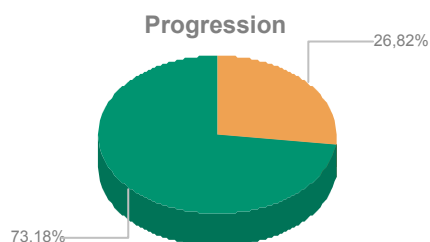
Volume (ml): 2,00

| Progression         | Total | %     | Concentration<br>Millions / ml | M/Echantillon |
|---------------------|-------|-------|--------------------------------|---------------|
| Progressif (PR)     | 0     | 0,00  | 0,00                           | 0,00          |
| Non-progressif (NP) | 192   | 26,82 | 4 504,64                       | 9 009,28      |
| Immobile (IM)       | 524   | 73,18 | 12 293,91                      | 24 587,82     |

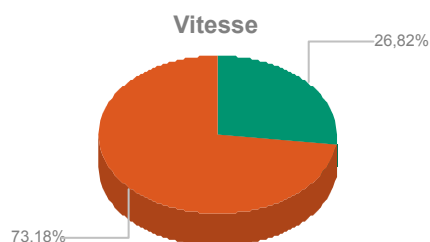
|        | Total | %     | Concentration<br>Millions / ml | M/Echantillon |
|--------|-------|-------|--------------------------------|---------------|
| Motile | 192   | 26,82 | 4 504,64                       | 9 009,28      |

| Vitesse       | Total | %     | Concentration<br>Millions / ml | M/Echantillon |
|---------------|-------|-------|--------------------------------|---------------|
| Rapide        | 0     | 0,00  | 0,00                           | 0,00          |
| Moyen         | 0     | 0,00  | 0,00                           | 0,00          |
| Lent          | 192   | 26,82 | 4 504,64                       | 9 009,28      |
| Immobile (IM) | 524   | 73,18 | 12 293,91                      | 24 587,82     |

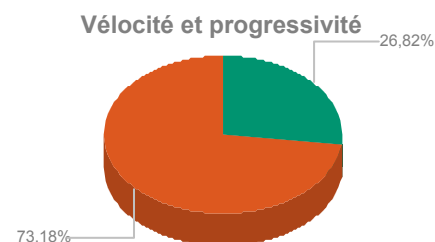
| Vélocité et progressivité | Total | %     | Concentration<br>Millions / ml | M/Echantillon |
|---------------------------|-------|-------|--------------------------------|---------------|
| Progressif rapide         | 0     | 0,00  | 0,00                           | 0,00          |
| Progressive moyen         | 0     | 0,00  | 0,00                           | 0,00          |
| Non progressif            | 192   | 26,82 | 4 504,64                       | 9 009,28      |
| Immobile                  | 524   | 73,18 | 12 293,91                      | 24 587,82     |



Progressif (PR)  
Non-progressif (NP)  
Immobile (IM)



Rapide  
Moyen  
Lent  
Immobile (IM)



Progressif rapide  
Progressive moyen  
Non progressif  
Immobile

|                 | Moyenne | Immobile (IM) | Lent  | Moyen | Rapide | Unités<br>μm <sup>2</sup> |
|-----------------|---------|---------------|-------|-------|--------|---------------------------|
| Aire de la tête | 15,21   | 15,11         | 15,35 | 0,00  | 0,00   |                           |

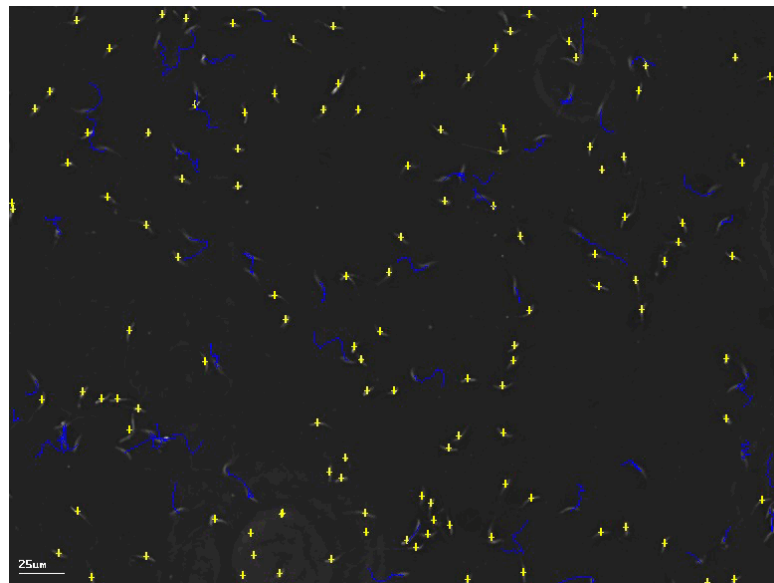


|                 | Concentration |               |                    | Total | %      |
|-----------------|---------------|---------------|--------------------|-------|--------|
| Cellules rondes | 0,00          | Millions / ml | Traces circulaires | 68    | 9,50 % |

| Vitesse moyenne           | Moyenne | Lent  | Moyen | Rapide | Unités |
|---------------------------|---------|-------|-------|--------|--------|
| Vitesse de courbe - VCL   | 30,36   | 30,36 | 0,00  | 0,00   | μm/s   |
| Vitesse linéaire - VSL    | 16,83   | 16,83 | 0,00  | 0,00   | μm/s   |
| Valeur moyenne - VAP      | 22,82   | 22,82 | 0,00  | 0,00   | μm/s   |
| Index de linéarité - LIN  | 55,42   | 55,42 | 0,00  | 0,00   | %      |
| Index de rectitude - STR  | 73,74   | 73,74 | 0,00  | 0,00   | %      |
| Index d'oscillation - WOB | 75,16   | 75,16 | 0,00  | 0,00   | %      |

| Valeurs moyennes des autres paramètres   | Moyenne | Moyen | Progressif rapide | Unités |
|------------------------------------------|---------|-------|-------------------|--------|
| Amplitude moyenne du mouvement latéral c | 0,00    | 0,00  | 0,00              | μm     |
| Fréquence des battements - BCF           | 0,00    | 0,00  | 0,00              | Hz     |

|             | Total | %      | Millions / ml | M/Echantillon |
|-------------|-------|--------|---------------|---------------|
| Hyperactifs | 864   | 120,67 | 20 270,87     | 40 541,74     |



**Commentaires:**

**Technicien:** Surname2, Name2

Référence: FG81



Date (jour/mois/année): 08/03/2016

Centre: IVF Laboratory

Code: DIND



Animal: ,

Fraîche (08/03/2016 14:26:19)

### Concentration

206 347,73 Millions / ml

515 869,34 M/Echantillon

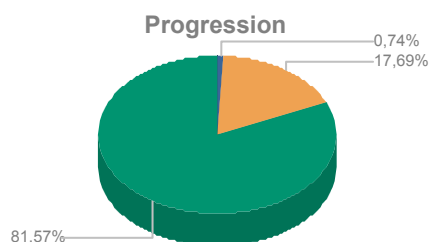
Volume (ml): 2,50

| Progression         | Total | %     | Concentration<br>Millions / ml | M/Echantillon |
|---------------------|-------|-------|--------------------------------|---------------|
| Progressif (PR)     | 7     | 0,74  | 1 530,12                       | 3 825,30      |
| Non-progressif (NP) | 167   | 17,69 | 36 504,31                      | 91 260,78     |
| Immobile (IM)       | 770   | 81,57 | 168 313,30                     | 420 783,25    |

|        | Total | %     | Concentration<br>Millions / ml | M/Echantillon |
|--------|-------|-------|--------------------------------|---------------|
| Motile | 174   | 18,43 | 38 034,43                      | 95 086,09     |

| Vitesse       | Total | %     | Concentration<br>Millions / ml | M/Echantillon |
|---------------|-------|-------|--------------------------------|---------------|
| Rapide        | 4     | 0,42  | 874,35                         | 2 185,89      |
| Moyen         | 33    | 3,50  | 7 213,43                       | 18 033,57     |
| Lent          | 137   | 14,51 | 29 946,65                      | 74 866,63     |
| Immobile (IM) | 770   | 81,57 | 168 313,30                     | 420 783,25    |

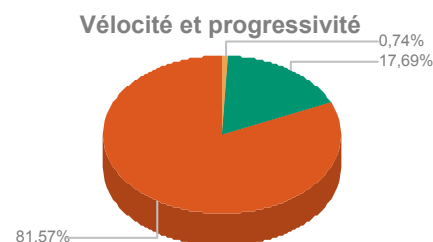
| Vélocité et progressivité | Total | %     | Concentration<br>Millions / ml | M/Echantillon |
|---------------------------|-------|-------|--------------------------------|---------------|
| Progressif rapide         | 0     | 0,00  | 0,00                           | 0,00          |
| Progressive moyen         | 7     | 0,74  | 1 530,12                       | 3 825,30      |
| Non progressif            | 167   | 17,69 | 36 504,31                      | 91 260,78     |
| Immobile                  | 770   | 81,57 | 168 313,30                     | 420 783,25    |



Progressif (PR)  
Non-progressif (NP)  
Immobile (IM)



Rapide  
Moyen  
Lent  
Immobile (IM)



Progressif rapide  
Progressive moyen  
Non progressif  
Immobile

|                 | Moyenne | Immobile (IM) | Lent  | Moyen | Rapide | Unités<br>µm² |
|-----------------|---------|---------------|-------|-------|--------|---------------|
| Aire de la tête | 19,73   | 19,39         | 24,82 | 10,43 | 13,60  |               |



| Concentration   |                        | Total | %       |
|-----------------|------------------------|-------|---------|
| Cellules rondes | 4 036,14 Millions / ml | 124   | 13,14 % |

| Vitesse moyenne           | Moyenne | Lent  | Moyen | Rapide | Unités |
|---------------------------|---------|-------|-------|--------|--------|
| Vitesse de courbe - VCL   | 60,39   | 50,25 | 76,55 | 157,74 | µm/s   |
| Vitesse linéaire - VSL    | 16,44   | 14,13 | 20,06 | 37,10  | µm/s   |
| Valeur moyenne - VAP      | 31,51   | 25,61 | 44,19 | 82,80  | µm/s   |
| Index de linéarité - LIN  | 27,23   | 28,12 | 26,21 | 23,52  | %      |
| Index de rectitude - STR  | 52,18   | 55,17 | 45,39 | 44,81  | %      |
| Index d'oscillation - WOB | 52,18   | 50,96 | 57,73 | 52,49  | %      |

| Valeurs moyennes des autres paramètres   | Moyenne | Moyen | Progressif rapide | Unités |
|------------------------------------------|---------|-------|-------------------|--------|
| Amplitude moyenne du mouvement latéral c | 1,24    | 1,24  | 0,00              | µm     |
| Fréquence des battements - BCF           | 0,45    | 0,45  | 0,00              | Hz     |

|             | Total | %      | Millions / ml | M/Echantillon |
|-------------|-------|--------|---------------|---------------|
| Hyperactifs | 1 434 | 151,91 | 313 456,20    | 783 640,50    |



**Commentaires:**

**Technicien:** Surname2, Name2

## ANNEXE : 3

| Date       | Quantité | Nbr d'OAC clair | % d'OAC clair | %Fertilité | % Eclosion |
|------------|----------|-----------------|---------------|------------|------------|
| 17/11/2015 | 29862    | 1444            | 4,84          | 95,16      | 90,28      |
| 21/11/2015 | 29106    | 1449            | 4,98          | 95,02      | 90,7       |
| 25/11/2015 | 29473    | 1507            | 5,11          | 94,89      | 89,91      |
| 29/11/2015 | 29302    | 1513            | 5,16          | 94,84      | 90,72      |