



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



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

Récolte et analyse de la semence de coq

Présenté par :

- **AMIS Karim**
- **KARRICHE Célia**

Soutenu le 27/06/2016

Devant le jury :

Président :	KAIDI R	Professeur	ISV.BLIDA
Examineur :	ADEL Dj	MAA	ISV.BLIDA
Examineur :	YAHIA A	MCB	ISV.BLIDA
Promoteur :	BELABDI I	MAA	ISV.BLIDA
Co-promoteur :	MSELA A	MAB	ISV.BLIDA

Année universitaire : 2015/2016

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir aidé et de nous donner la foi et la force d'achever ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance à notre promoteur Mr BELABDI I maître-assistant à l'institut des sciences vétérinaires de Blida 1 pour l'encadrement, l'encouragement, sa patience et sa disponibilité afin de nous guider durant tout notre travail à travers la porte qui nous a ouvert de son expérience et savoir-faire, qu'il trouve ici notre profonde gratitude.

A notre Co promoteur Mr MSEL A pour sa générosité et de nous avoir conseillé et aidé énormément, pour la réalisation de ce travail, Dieu le bénisse.

nous remercions chaleureusement Mr KAIDI R professeur à l'institut des science vétérinaire de Blida 1 d'avoir présider le jury ainsi que Mr YAHIA A maître-assistant à l'institut des science vétérinaire de Blida 1 et Mr ADEL Dj maître-assistant à l'institut des sciences vétérinaire de Blida 1 d'avoir examiné notre travail.

Un grand merci est adressé également aux enseignants de l'institut vétérinaire de Blida pour tout ce qu'ils nous ont donné comme savoir et savoir-faire.

Nous remercions aussi Melle CHEMLALE J, Mr BRIDJ, Dr ABDELLI A et Mr MEDROUH B, pour leur générosité et l'aide précieuse qui nous ont offert, et tous ceux qui ont contribué pour la réalisation de ce travail.

DEDICACE

Je dédie mon travail :

*A ma providence pour sa
miséricorde infinie.*

A mes parents pour leurs sacrifices.

*A mes frères et sœurs pour leur
soutien.*

A mes amis qui m'ont prêté aide.

*A tous les enseignants et personnes
qui m'ont appris durant toute ma
vie.*

*A tous ceux qui pensent et prennent
soins des animaux.*

AMIS Karim

DEDICACE

A mes chers parents vous m'avez donnée la vie, l'amour, et la joie de vivre

A mon père je le vois comme père parfait, pour le dévoué à sa famille. Sa présence en toute circonstance me rappelle sans cesse le sens de la responsabilité, il est la lumière qui nous guide dans le bon sens.

A ma mère je la vois la Maman parfaite toujours prête à se sacrifier pour le bonheur de ses enfants, elle est la lune de notre vie. Que dieu me les garde inshallah

A mes chers frères Amine et Massi ainsi mes chères sœurs Sarah, Lisa, Flora je leurs souhaite la réussite dans leurs vie

A mes ; grands-pères ; Azezi pour qui je souhaite une longue vie et Mouhend qu'il repose en paix, ainsi mes grandes mères Aldjia et Fatma que j'aime bien et je leurs souhaite une longue vie

A mes cousins Moukrane et sa famille, Moustapha et sa famille ainsi mes tantes ; Zahia et son marie Mouhend et leurs filles et ma ; chère tante Faiza et son fiancé Karim

A mes oncles ; Mouhakti et sa famille ; Brahim, Souhil et mes tantes Tacos, Fatma, Aldjia et leurs familles es surtout ma chère tante Nabila.

A mes meilleurs copines Hiba, Thiziri, Fasmine, Safa, Lydia, avec lesquelles j'ai passé des moments inoubliables et pour qui je souhaite la réussite et la prospérité .

Ainsi à mes meilleurs amis : Nassim, Azem, Phaban, Hidouche Aissa, Marzouk je leur remercie pour leurs soutient et leurs amitié.

A monsieur Boudaoud Pousef qui était un grand aide de me former et qui ma donner beaucoup de connaissance, Merci.

A mon binôme Karim qui a était à la hauteur dans notre travail je le remercie du fond du cœur.

A tous mes collègues de promo de cinquième année 2010/2011

A mes professeurs et maitres, merci pour votre enseignement et votre confiance.

Felia.

RESUME

L'objectif de notre étude était de maîtriser la collecte de la semence chez le coq, ainsi que son analyse par le système CASA. Pour cela nous avons pratiqué la technique de massage abdominale sur plusieurs coqs avant leur abatage une fois par semaine durant trois mois à partir de décembre 2015. Une fois la technique est maîtrisée, 3 coqs de 48 semaines d'âge ont été utilisés à partir du 07 Mars 2016 jusqu'au 21 Mars 2016, dont deux étaient de race ISA classique, l'autre était de race ARBOR ACRES. Auxquels nous avons adapté la technique du massage abdominal puis une analyse de la semence récoltée. Nous avons déterminé. Le volume de l'éjaculat qui varie entre 0,08-0,5 ml de couleur blanche jaunâtre. La motilité massale entre 23,05% et 27,24%. Ainsi que la progressivité des spermatozoïdes dont la majorité des spermatozoïdes sont immobiles avec un taux qui varie entre 72,77 % et 76,95 %, ensuite les paramètres de vitesse des spermatozoïdes : VCL (38,13 $\mu\text{m/s}$ -39,54 $\mu\text{m/s}$) supérieur à VSL (11,68 $\mu\text{m/s}$ -11,98 $\mu\text{m/s}$). La concentration de 985,78 à 1933,185 millions/ml et en fin. La vitalité avec un taux de 47,38% à 58,5 %.

La technique de massage est efficace pour récolter de la semence chez le coq mais son analyse reste à maîtriser.

Mots clés : coq, semence, massage abdominal, analyse, motilité, vitalité.

ملخص

الهدف من دراستنا هو اتقان تقنية التدليك البطني على الديوك, و كذلك تحليل السائل المنوي باستخدام نظام CASA . و لهذا قمنا بممارسة تقنية التدليك البطني على العديد من الديوك قبل القيام بذبحهم مرة واحدة في الاسبوع خلال ثلاثة اشهر. حيث استخدمنا ثلاثة ديوك بعمر 48 اسبوع انطلاقا من ديسمبر 2015. عند اتقاننا هذه التقنية ,أحضرننا ثلاثة ديوك بعمر 48 أسبوع حيث قمنا باستخدامهم في مدة تتراوح ما بين 7 مارس 2015 الى 21 مارس 2016.

اثنان من سلالة ISA الكلاسيكية و الاخر من سلالة ARBOR-ACRE اللذين مارسنا عليهم التدليك البطني ثم قمنا بتحليل السائل المنوي الذي تحصلنا عليه , حيث حددنا حجمه الذي يتراوح ما بين 0.08 الى 0.5 ملل ذو اللون الابيض المصفر. حيث لاحظنا ان الحركة الكلية كانت ما بين 23.5% و 27.24 % , ايضا حركة التقدم التي تميزت بسكون أغلبية النطفات التي تقدر ب % 72.77 الى % 76.95 إضافة إلى معلم السرعة حيث كانت السرعة : VCL التي تقدر ب $38.13\mu\text{m/s}$ - $39.54\mu\text{m/s}$ أكبر من السرعة VSL التي تقدر من $11.68\mu\text{m/s}$ - $11.98\mu\text{m/s}$. التركيز المقدر ما بين 985,78 الى 1933,185 مليون في الملييلتر و في الاخير الحيوية بنسبة % 47.38 الى % 58.5

تقنية التدليك البطني فعالة للحصول على السائل المنوي عند الديك لكن يبقى تحليلها يحتاج الى التطور.
الكلمات الرئيسية : التدليك البطني، التحليل ، سائل منوي ، الحركة ، الحيوية.

Abstract

Our aim in this study was to control semen collection in rooster. And his analysis with CASA system. For that we practiced an abdominal massage technique on several cock before their killing for once a week during three months starting on December 2015. 3 cocks 48 weeks of age two were classic ISA race the other was ARBOR ARCES race had been used from Mars 07 to Mars 21 2016. For which we adapt the technique of abdominal massage followed by an analysis of the collected semen. We determined; the volume of ejaculate which varies between 0.08 to 0.5 ml of yellowish white color. Massale motility between 23.05 and 27.24 and progressive sperm which the majority of sperm are immobile with a rate which varies between 72.77 and 76.95, adding sperm speed parameter; VCL (38.13 to 39.54) is greater than the VSL (11.68 to 11.98). The concentration of 985,78 to 1933,185 millions / ml and at the end the vitality that ranges from 47.38% to 58.5%.

The massage technique is effective to harvest seed for the cock but his analysis remains unproven.

Keywords: rooster, semen, abdominal massage, analysis motility, vitality.

Liste des abréviations

ARB : ARBORAC-ACRES.

CASA : computer assisted sperm analyser

FSH : Folliculo stimulating hormone.

GnRH : Gonadotropin releasing hormone.

IA : insémination artificielle.

IM : immobile.

ISA : souche légère de reproducteur.

LH : luteinising hormone.

Lux: unité de l'intensité lumineuse.

MST : Maladies sexuellement transmissibles

Na CL : Chlorure de sodium.

NP : non progressif.

Osm : Osmotique

RAS : rien a signalé.

pH : Potentiel d'hydrogène.

PR : progressif.

PRR : progressif rapide.

PRM : progressif moyenne.

UV : Ultraviolet.

Liste de figures

	Page
Figure 1: situation des testicules.....	3
Figure 2: vascularisation des testicules.....	4
Figure 3: schéma qui représente les vois déférentes.....	5
Figure 4 : présentation schématique d'une coupe transversale du tube séminifère.....	6
Figure 5 : diagramme de la spermatogenèse.....	7
Figure 6 : schéma d'un spermatozoïde de coq.....	8
Figure 7: réponse de la croissance testiculaire à la durée d'une photopériode constante.....	10
Figure 8 : schématisation de reflexe photo sexuelle chez les oiseaux,.....	11
Figure 9 : emplacement de la phase quotidienne de photosensibilité des oiseux.....	12
Figure 10 : contention du coq durant le massage.....	15
Figure 11 : planche de contention.....	16
Figure 12 :stimulateur électrique.	16
Figure 13 : schéma de différentes villosités et paramètres de mouvement de spermatozoïdes analysé par le CASA.	21
Figure 14: relation entre motilité massale et fécondance des spermatozoïdes.....	21
Figure 15 :coloration éosine-nigrosin des spermatozoïdes.	23
Figure 16: station expérimental	24
Figure 17 : position des deux manipulateurs	26
Figure 18 : lame leja	27
Figure 19 : étape de préparation de la lame pour le test de viabilité et lancement du logicielle de comptage	27
Figure 20 : flèche bleu - spermatozoïde vivant ; flèche rouge - spermatozoïde mort	28
Figure 21 : étapes de" coloration par sperme bleu	28
Figure 22 : 1)analyse des parties de la tête de spermatozoïde.	28
Figure 23 : Histogramme de progressivité chez les deux coqs, DT= coq A, ALB= COQ C.....	34
Figure 24 : Flèche bleu) spermatozoïde vivant, Flèche rouge) spermatozoïde mort..	36
Figure 25 : Flèche bleu) spermatozoïde vivant, Flèche rouge) spermatozoïde mort..	36
Figure 26 : Flèche bleu) spermatozoïde vivant, Flèche rouge) spermatozoïde mort.....	36

Liste des tableaux

Tableau 1: âge au premier éjaculat selon deux températures.....	09
Tableau 2: programme lumineux des reproducteurs mâles	13
Tableau 3: production testiculaire de semence chez le coq.....	17
Tableau 4: volume et concentration des éjaculat de différentes espèces avicoles.....	17
Tableau 5: composition des dilueurs utilisés	19
Tableau 6 : les paramètres sélectionnés de la motilité des spermatozoïdes mesurés par le système casa.....	21
Tableau 7 : les paramètres de la collecte	30
Tableau 8 : Caractéristiques des mouvements des spermatozoïdes chez le coq A dans deux analyses.	32
Tableau 9 : progressivité des spermatozoïdes de coq A	32
Tableau 10 : caractéristiques de concentration et mouvements des spermatozoïdes chez le coq C.....	33
Tableau 11 : comparatif de progressivité chez les deux coqs.....	35
Tableau 12 : pourcentage des spermatozoïdes morts et vivants du coq A	36
Tableau 13 : pourcentage de spermatozoïdes vivant et morts	35
Tableau 14 : récapitulatif de concentration et mouvement des spermatozoïdes et leur vitalité	36
Tableau 15 : Analysé la semence de coq.....	39

Sommaire

Remerciement	
Dédicaces	
Résumé en Français	
Résumé en Arabe	
Résumé en Anglais	
Liste de figures	
Liste de tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1

Première partie : bibliographie

	Page
Chapitre I : bases anatomiques.....	2
I. 1 : Appareil génital de coq.....	2
I. 1. A : Testicules.....	2
I. 1. B : Voies déférentes.....	3
I. 1. C : Appareil copulateur.....	5
 Chapitre II : la physiologie.....	 6
II. 1 : La spermatogenèse.....	6
II. 2 : Développement testiculaire.....	09
II. 2. A : Phase pré pubère.....	09
II. 2. B : Phase pubère.....	09
II. 3 : Le contrôle hormonal.....	09
II. 3. A : Hormone hypotalamo-hypophysaire.....	10
II. 3. A. 1 : Stimulation par la lumière.....	11
II. 4 : La photopériode.....	12

II. 4. A : La photosensibilité.....	12
II. 4. B : Perception de l'information photopériodique.....	12
II. 5 : La période photo réfractaire.....	13
II. 6 : Le programme lumineux pour les males.....	13
 Chapitre III : récolte et analyse de la semence	 14
 III. 1 : Définition :.....	 14
III. 1. A : Composition du plasma séminal :.....	15
III. 1. B : Température ambiante	15
III. 2 : La récolte :	15
III. 2. A : La récolte par massage.....	15
III. 2. B : Copulation sur bote en train	17
III. 2. C : Collecte par stimulation électrique	17
III. 3 : Fréquence de récolte des coqs.....	18
III. 4 : Dilution de la semence	19
III. 5 : L'insémination artificielle	20
III. 6 : L'analyse de la semence	21
III. 6. A : Le système CASA	22
III. 6. B : La motilité.....	22
III. 6. C : La concentration :	23
III. 6. D : L'intégrité des membranes des spermatozoïdes	23
III. 6. E : La morphologie	23

Deuxième partie : expérimentale

I : Matériels et méthodes	24
Introduction.....	25
I.1 : Matériel de boxe :	25

I. 2 : Matériel de laboratoire :	25
II : Méthodes.....	25
II. 1 : La récolte :	25
II. 2 : La dilution :	26
II. 3 : Paramètres évalués.	26
II. 3. A : La motilité :.....	26
II. 3. B : La viabilité :.....	27
II. 3. C : La morphologie :.....	28
III : Résultats	29
III.1 : Récolte :.....	30
III. 2 : Évaluation de la qualité de la semence.	31
III. 2. A : Motilité :.....	32
III.2. A. 1. : Le coq A :.....	32
III. 2. A. 2 : Le coq C:.....	33
III. 2. B : La vitalité :.....	36
III. 2. B. 1 : Le coq A :.....	36
III. 2. B .2 : Le coq C :.....	36
III. 3 : Discussion.....	36
III. 3. A : Récolte :.....	38
III. 3. B : Evaluation de la semence	39
III. 3. B. 1 : Mobilité.....	39
III. 3. B. 2 : La vitalité :.....	40
Conclusion.....	41
Références bibliographiques	
Annexes	

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Partie bibliographique

Introduction :

La maîtrise de la reproduction de la volaille est la conséquence d'une stratégie de recherche impliquant plusieurs facteurs, dans lesquels la maîtrise des techniques de sélections est primordiale, cette stratégie est orientée selon 2 axes :

- Le contrôle de la production des gamètes des deux sexes pour une meilleure gestion de la reproduction.
- Chez le coq, la sélection des mâles se base sur leur capacité de reproduction (**Brillard, 1992**).

L'insémination artificielle est utilisée dans l'ensemble des espèces pour la sélection, chez certaines espèces comme technique de reproduction (la dinde) (**Blesbois, 2006, Blanco et al., 2009**).

La récolte de sperme et sa mise en place chez la poule est facile à réaliser. Des travaux expérimentaux permettent d'envisager la conservation longue de la semence ou bien de remplacer la vente des reproducteurs par la vente de des doses de sperme (**Brillard., 1992; Brillard et al 1989**).

Par conséquent la maîtrise de l'insémination artificielle passera par le contrôle de ses différentes étapes, sachant que ces derniers commencent toujours par la récolte.

C'est pour cela qu'on a fixé deux objectifs, le premier est de maîtriser la technique de récolte de sperme chez le coq, le deuxième est d'effectuer l'analyse de la semence récolté afin de contrôler sa qualité.

CHAPITRE I : BASES ANATOMIQUES

I. 1 : Appareil génital de coq

L'appareil génital mâle des oiseaux est organisé en trois unités morphologiques et fonctionnelles qui sont les testicules, les voies déférentes et l'appareil copulateur (**Sauveur, 1988**).

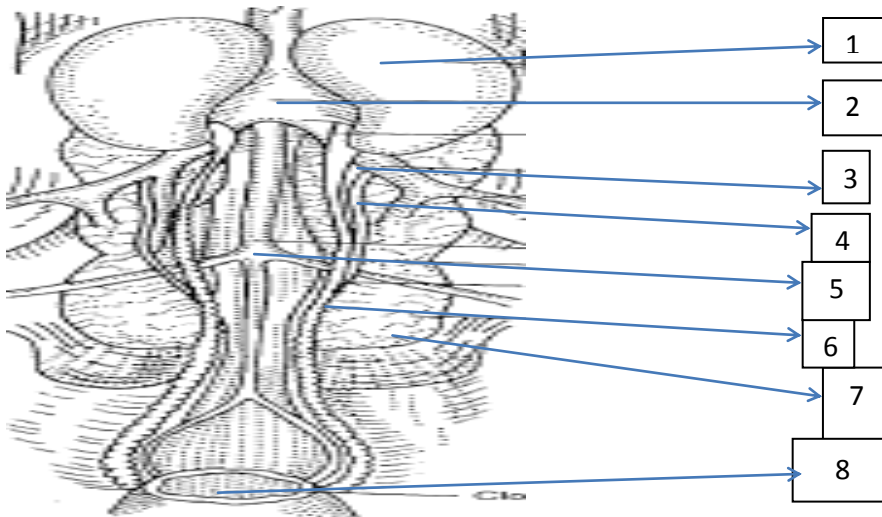
I. 1. A : Testicules

L'ensemble des organes sexuels sont internes et, les testicules ne migrent pas et donc demeurent sur leur site d'origine embryologique (**Walter, 2007**), leur température est la même que la température centrale de l'animal (41-43°C). (**Sauveur, 1988**)

Les testicules des oiseaux ont à peu près la forme d'un haricot, ils sont suspendus à la paroi abdominale par un court mésorchium. Voir figure (1) (**Doneley, 2011**).

Le poids testiculaire subit des variations saisonnières très importantes dues à l'augmentation de la longueur et du diamètre des tubes séminifères ainsi que du nombre de cellules de Leydig et de cellules interstitielles (**Braun, 2004**)

Partie bibliographique



1	Testicule gauche
2	Mésorchium
3	Epididyme
4	Veine iliaque
5	Aorte
6	Canal défèrent
7	Rein gauche
8	Cloaque

FIGURE 1: SITUATION DES TESTICULES (SAUVEUR, 1988)

Le **parenchyme testiculaire** n'est pas cloisonné, contrairement à ce que l'on observe chez bien des espèces de mammifères. Il se compose :

- ✚ **d'un compartiment tubulaire** : leur longueur totale est de 100 à 300 m et leur diamètre moyen de 250 à 300 μm . Les tubes séminifères des oiseaux sont interconnectés et non complètement individualisés
- ✚ **d'un compartiment inter tubulaire** comprenant un peu de tissu conjonctif, Il contient en plus des **cellules glandulaires**, dites **cellules de Leydig** qui sécrètent la testostérone (Walter, 2007).

Partie bibliographique

La **vascularisation** du testicule est bien décrite dans la figure 2, Le sang efférent est drainé par une artère testiculaire très courte, issue directement de l'aorte, Les veinules allant de l'intérieur du testicule vers la périphérie s'y rassemblent en plusieurs veines testiculaires sous-albuginéennes qui débouchent dans la veine cave par un collecteur très court. Voir figure (2) (Sauveur, 1988).

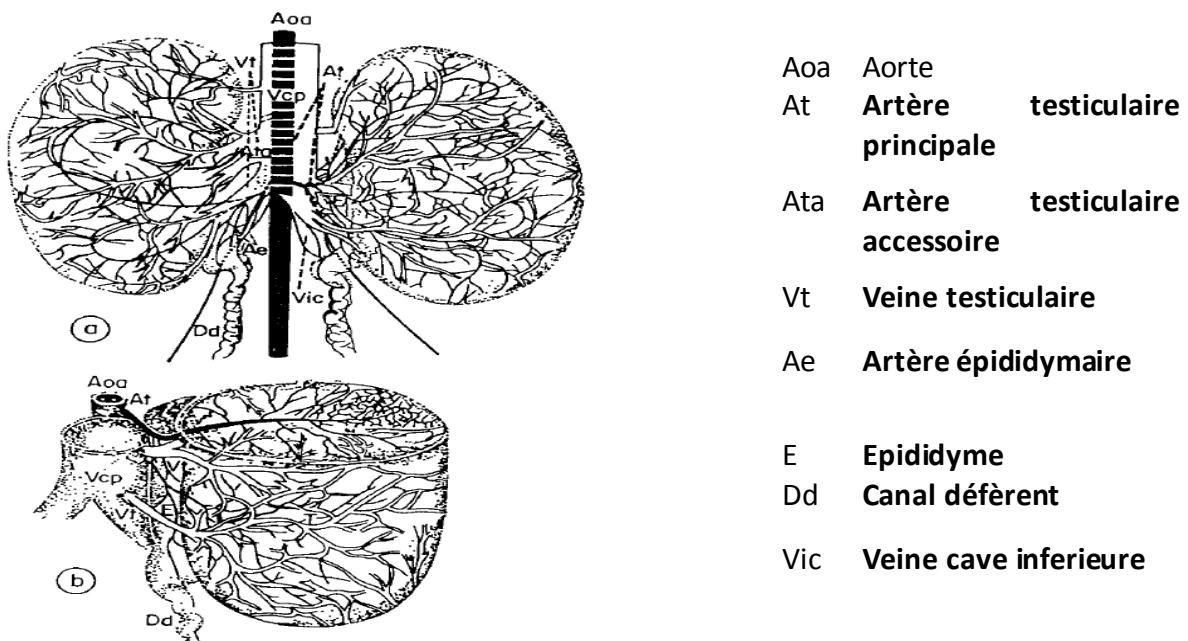
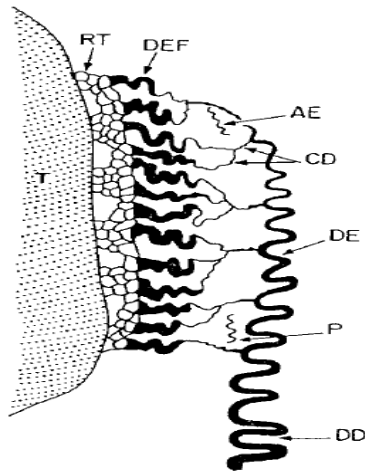


Figure 2: vascularisation des testicules (sauveur, 1988)

I. 1. B : Vois déférentes

Les tubes séminifères se terminent à proximité du hile testiculaire, où ils se connectent avec le rete-testis, eux-mêmes reliés aux canaux efférents, qui débouchent latéralement dans le canal épидидymaire qui se prolonge par le canal déférent, et se jette dans l'*urodeum* en formant une ampoule séminale ou *glomus* séminal (Braun, 2004) et aboutit par une vésicule spermatique.

Le **canal déférent**. Voir figure (3), où transitent les spermatozoïdes ont une longueur de 30 cm. Il est comparable de l'épididyme des mammifères (Sauveur 1988)



RT	Rete-testis
DEF	Canaux efférents
AE	Epididyme accessoire
CD	Fins canalicules
DE	Canal épидидymaire
P	Paradidyme
DD	Canal déférent

Figure 3: schéma qui représente les vois déférentes (sauveur, 1988)

I. 1. C : Appareil copulateur

Cette dénomination regroupe l'ensemble des **replis arrondis et lymphatiques** du cloaque, le **phallus** et les **corps vasculaires paracloacaux** (Sauveur, 1988).

Le *phallus* s'éverse partiellement, durant la miction et la défécation (Braun, 2004), le redressement normal a lieu au temps de copulation et persiste pour seulement un ou deux secondes (Burrows et Quinn, 1936).

Le **phallus**, vestigial chez le coq. Le dindon et la pintade, est au contraire largement développé (12 à 15 cm en érection) (Sauveur 1988).

II. 1 : La spermatogenèse

La **spermatogenèse** a lieu dans l'épithélium séminifère. Elle est par définition, l'ensemble des transformations subies par les cellules germinales, depuis les spermatogonies-souches jusqu'aux spermatozoïdes (**Sauveur, 1988**).

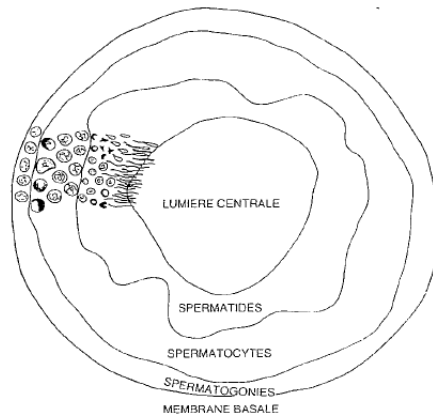


Figure 4 : présentation schématique d'une coupe transversale du tube séminifère (Sauveur, 1988)

L'ensemble des processus spermato-génétiques doit être envisagé sous plusieurs points de vue :

- la **différenciation des cellules germinales**, se traduit par d'importantes **transformations morphologiques, biochimiques et fonctionnelles**. On passe, en effet, de spermatogonies souches, à des spermatozoïdes très allongés, haploïdes. (**Sauveur, 1988**).
- la **prolifération des cellules germinales** est assurée par les divisions spermatogoniales et les divisions méiotiques qui sont toujours au nombre de 2.
- La **prolifération** des cellules germinales est donc caractéristique du **début** de la spermatogenèse (**Sauveur, 1988**).

Spermatozoïde. (Figure 6)

Les principaux caractères des spermatozoïdes des oiseaux sont :

- ✓ l'aspect filiforme des noyaux.
- ✓ la taille réduite de l'acrosome à l'extrême bout du noyau.
- ✓ la présence d'un « **perforatorium** » nettement différencié.
- ✓ pièce intermédiaire et du flagelle ; la pièce intermédiaire des spermatozoïdes de coq ne contient que peu de mitochondries (environ 30).

Partie bibliographique

- ✓ un flagelle de grande longueur (90 μ m).
- ✓ La liaison entre le noyau et le centriole proximal est un point fragile du spermatozoïde ce qui explique peut-être qu'une des anomalies les plus fréquemment rencontrées soit la pliure au niveau du col (**Sauveur, 1988**).
- ✓ les gamètes de coq ont un métabolisme aérobie et anaérobie.

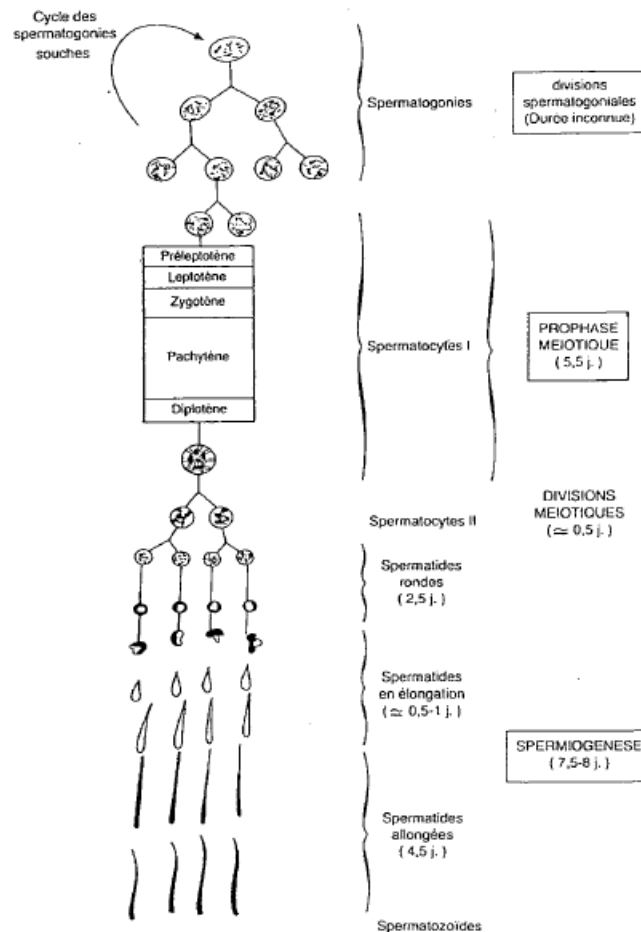


Figure 5 : diagramme de la spermatogenèse (Sauveur., 1988).

Acrosome

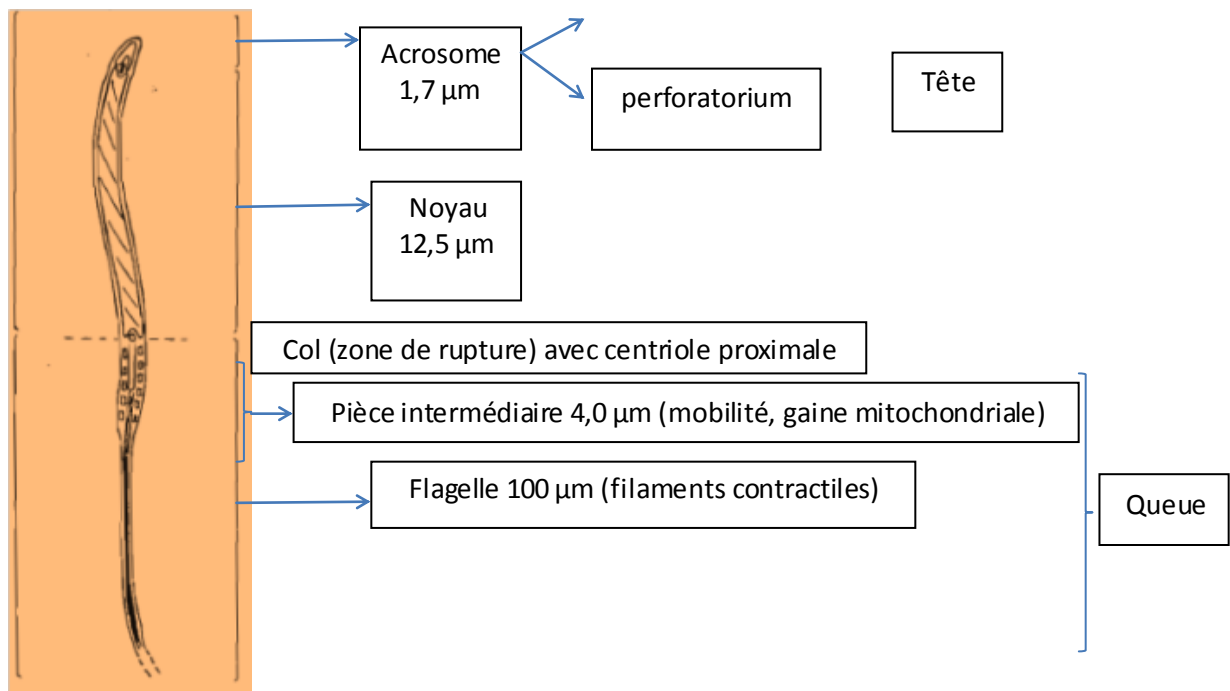


Figure 6 : schéma d'un spermatozoïde de coq (Chérubin, 2002).

1. DUREE DE LA SPERMATOGENESE

Chez le cop, la spermatogénèse dure 7,5 jours (Chérubin, 2002)

2. MATURATION DES SPERMATOZOÏDES

Les spermatozoïdes testiculaires de coq ne sont que peu ou pas mobiles. Ceux prélevés dans le canal déférent le sont aussi (Sauveur, 1988).

- **l'acquisition de la fécondance** à lieu très tôt et très vite au cours du transit des spermatozoïdes (Sauveur, 1988).
- la **maturation** extra-gonadique des spermatozoïdes de coq concerne davantage **l'acquisition de la mobilité** que celle de la fécondance ; (Sauveur, 1988).
- un autre aspect non démontré de la maturation des spermatozoïdes pourrait être l'acquisition de sites de reconnaissance des glandes utéro vaginales d'une part et de l'ovocyte d'autre part (Sauveur, 1988).

3. SURVIE DE SPERMATOZOÏDE APRES MATURATION

Les spermatozoïdes peuvent survivre deux semaines au moins dans des canaux déférents ligaturés, ce qui permet de penser qu'ils sont associées à une sécrétion testiculaire (Sauveur, 1988).

II. 2 : Développement testiculaire

La reproduction de l'espèce des oiseux est soumise à une variation saisonnière en particulier à celle de la photopériode (Marie, 2013).

Le développement testiculaire se fait en deux phases pré pubère et pubère. La durée de ces deux phases varient suivant les conditions du milieu en particulier l'éclairement (Sauveur., 1988).

II. 2. 1 : Phase pré pubère

Le poids testiculaire augmente lentement de 2 à 60 mg (entre l'éclosion et l'âge de six semaines) (Chérubin, 2002).

II. 2. 2 : Phase pubère

La puberté peut être définie par l'apparition des premiers spermatozoïdes (âge correspondant à 10 semaines) et la maturité sexuelle par la fin de croissance pondérale des testicules (âge correspond à 20 semaines) (Sauveur, 187), une température élevée avance la maturité sexuelle du mâle (Hammade et al., 1987)

Tableau 1:âge au premier éjaculat selon deux températures (Hammade et al., 1987)

Température	18 c°	30 c°
Age au premier éjaculat	113 jours	107 jours

Le poids testiculaire augmente rapidement (143 mg par jour environ) jusqu'à 5 g (6 à 15 semaines) (Chérubin, 2002), les jour courts 8h, des jour long 16h, multiplient par 2 la vitesse de croissance des testicules (Pichereau, 2012), les jour long 16h sont les plus favorables au développement testiculaire, mais a l'âge adulte ils provoquent une régression partielle (Riviers, 1974).

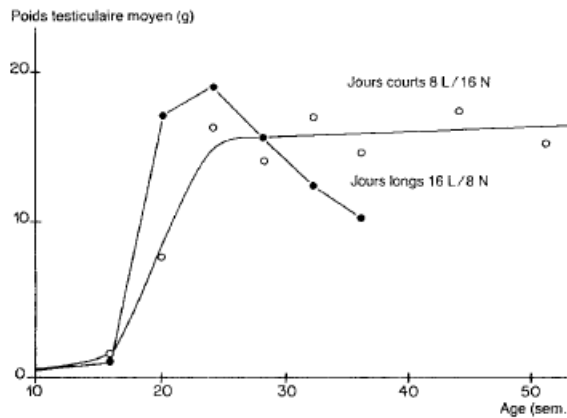


Figure 7: réponse de la croissance testiculaire à la durée d'une photopériode constante (Sauveur, 1988).

La croissance testiculaire est diminuée et la spermatogenèse retardée à des températures très basses (moins de 8 °C) (Hammade *et al.*, 1987).

II. 3 : Le contrôle hormonal

La variation importante de la teneur plasmatique en LH qui caractérise la phase pré pubère mais ne se traduit par aucune variation de la testostéronémie, pendant cette période les cellules de Leydig sont dépourvues, ou bien des enzymes capables de transformer la androstènedione en testostérone, ou bien des récepteurs leur permettant de réagir à l'hormone LH. A partir de deux semaines d'âge, La LH et la FSH agissent en synergie pour induire la croissance des testicules et une augmentation des taux circulants de testostérone (Chérubin, 2002).

II. 3. 1 : Hormone hypothalamo-hypophysaire

La LH agirait sur la formation de ses propres récepteurs et sur la multiplication et la différenciation des cellules de Leydig, en réponse, sécrèteraient de la testostérone. La FSH induirait la différenciation des cellules de Sertoli, la testostérone agit par un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire pour réguler les sécrétions de LH et FSH (Chérubin, 2002).

II. 3. 2 : Stimulation par la lumière

La lumière perçue par un animal agit via des récepteurs photosensibles, l'énergie photonique de la lumière est alors transformée par ces photorécepteurs en signaux

Partie bibliographique

électriques qui induisent une cascade de réactions le long de l'axe hypothalamo-hypophysogonadique (**Riviers, 1974**).

1) La perception de la lumière :

La perception de l'information lumineuse se fait à 2 niveaux.

Elle s'agit sur la rétine par ses radiations orange et rouges (**620 à 750 nm**) et par voie transcrânienne sur des récepteurs hypothalamiques (**Riviers, 1974**).

2) L'intensité lumineuse

Il semble que le seuil de sensibilité se situe entre 0,4 et 20 lux (**Sauveur, 1988**).

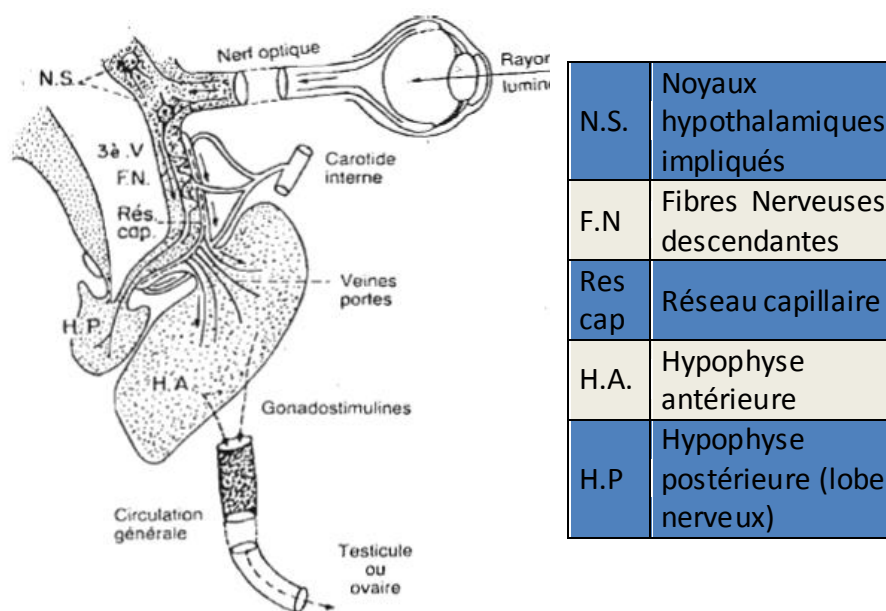


Figure 8 : schématisation de reflexe photo sexuelle chez les oiseaux, (**Benoît et al., 1952**).

II. 4 : La photopériode

Pour la plupart des oiseaux sauvages, la durée de la photopériode (ou période claire du jour) est l'information la plus importante pour le contrôle du cycle sexuel. C'est l'**augmentation** de cette durée après le solstice d'hiver qui constitue « l'information » aboutissant au développement des gonades, à la mue pré-nuptiale et au comportement de migration (**Sauveur, 1988**).

II. 4. 1 : La photosensibilité

Les oiseaux connaissent au cours de 24 heures, une période dite photosensible, qui favorise leur développement gonadique (**Marie, 2013**), elle se situe entre 10 et 15 heures après le réveil chez les oiseaux des latitudes moyennes. (**Pichereau, 2012**).

II. 4. 2 : Perception de l'information photopériodique

Des hypothèses ont été avancées pour expliquer l'ajustement du cycle de reproduction en fonction de la photopériode :

1. La première suppose l'existence d'une « horloge biologique » interne circannuelle, c'est-à-dire dont la période serait proche d'une année. L'augmentation de la photopériode agirait alors comme facteur « d'entraînement » de cette période (**Sauveur, 1988**).
2. Selon une autre hypothèse, il existe un rythme circadien (proche de la journée) de la sensibilité photopériodique, présente un maximum entre 10 et 15 heures après l'allumage du matin, dit de « coïncidence externe », seuls des jours assez longs peuvent dès lors être photostimulants (**Sauveur, 1988**).

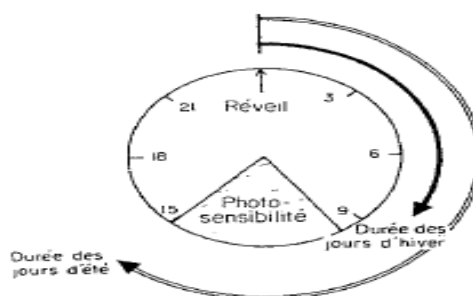


Figure 9 : emplacement de la phase quotidienne de photosensibilité des oiseaux (Sauveur, 1988).

II. 5 : La période photo réfractaire

Après plusieurs mois d'exposition à des jours longs, les oiseaux redeviennent insensibles à la stimulation lumineuse (**Riviers, 1974**), entraîne une diminution progressive et irréversible des taux plasmatiques de LH qui s'accompagne d'une régression testiculaire, cette période n'existe pas chez le coq en raison d'une sélection destinée notamment à la production d'animaux sur toute l'année (**Chérubin, 2002**).

II. 6 : Le programme lumineux pour les males

Dans un bâtiment obscur, l'intensité de la lumière naturelle perceptible est inférieure à 0,5 lux. Ce sont les conditions les plus faciles à maîtriser puisque le programme lumineux peut se concevoir sans tenir compte de la lumière naturelle, comme dans l'exemple suivant :

Tableau 2: programme lumineux des reproducteurs mâles (GERC, NM).

Âge		Durée d'éclairement (h)	Intensité (lux)
Jours	Semaines		
1	-	22	60
2	-	20	60
3-5	-	18	40
6-7	-	16	30
8-9	-	14	20
10-11	-	12	15
12-13	-	10	10
14	-	8	5
15 à 153	-	8	5
154	22	11	40 minimum
161	23	11	40 minimum
168	24	13	40 minimum
175	25	14	40 minimum
182	26	15	40 minimum
189	27	15h30	40 minimum
196 - fin	28 - fin	16	40 minimum

Chapitre III : récolte et analyse de la semence

III. 1 : Définition :

Le sperme est un liquide opaque, blanchâtre produit au cours de l'éjaculation. Il est composé de spermatozoïdes en suspension dans le liquide séminal (**Harouna, 2014**), chez le coq le sperme frais contient un nombre moyen de $6.5 \cdot 10^9$ par ml de spermatozoïdes. (**Blesbois et al., 1993**).

III. 1. 1 : Composition du plasma séminal chez le coq :

Les connaissances acquises sur le coq sont dues principalement à Lake (1966). Les points les plus remarquables de cette composition sont les suivants :

- L'absence du fructose, du citrate, de l'ergothionéine, de l'inositol, du phosphorylcholine et du glycérophosphorylcholine (**Sauveur, 1988**).
- La présence de glucose.
- prédominance de l'anion glutamate (13 mg/ml) (et non pas du chlorure : 1,4 mg/ml) mais l'origine et le rôle de cet anion restent à déterminer. Il pourrait intervenir comme chélateur et être utilisé comme métabolite par les spermatozoïdes (**Sauveur, 1988**).
- Mis à part le pH (normalement neutre) et la pression osmotique (325 m Osm/l) qui sont stables dans le plasma séminal à l'état frais, plusieurs des caractéristiques de ce plasma sont sujettes à une variabilité importante entre éjaculats ou entre coqs (**Sauveur, 1988**).

III. 1. 2 : Température ambiante

Lorsque les coqs sont à l'âge adulte, la température ambiante la plus favorable à la production de spermatozoïdes se situe entre 15 et 25°C. En dessous de 15°C, le nombre de spermatozoïdes récoltés ne diminue que si les coqs ne peuvent pas s'alimenter suffisamment. Le mâle futur reproducteur supporte beaucoup mieux les basses températures que les températures élevées (**Sauveur, 1988**).

III. 2 : LA RECOLTE :

Un certain nombre de méthode pour obtenir la récolte du sperme des oiseaux ont été décrites à cause de la structure anatomique génitale particulière des oiseaux (**Burrows et Quinn, 1936**).

III. 2 1 : La récolte par massage

L'éjaculation du coq peut être obtenue en quelques secondes par massage dorso abdominale (**Brillard et al., 1989**), la récolte de sperme de coq nécessite un travail de deux personnes, le premier opérateur assis tient les pattes du coq, tout en mettant le coq entre ses cuisses, le deuxième opérateur de la main gauche pratique des massages dorsales Voir figure (10), et de la main droite masse l'abdomen (**Meyer et al., 2009**), au bout de deux à trois massages (**sauveur, 1988**), l'organe copulateur se dresse, le sperme est lancé avec une poussée légère (**Burrows et Quinn, 1936**). Certains coqs éjaculent par des jets en saccadés, chez d'autre le sperme s'écoule lentement (**Meyer, 2009**), sinon on doit compresser la région latérale du cloaque sans faire saigner le coq (**Sauveur, 1988**), il convient d'éviter le mélange de l'urine, des fèces ou des sécrétions des annexes au sperme, (**Meyer et al., 2009**). Le volume du sperme obtenu varie de 0.1 ml, jusqu'à 0,4 ml (**Burrows et Quinn, 1936**).



Figure 10 : contention du coq durant le massage (Blanchet al., 2014).

L'utilisation d'une planche de contention est de plus en plus fréquente, voir figure (11)(**Brillard et al., 1989**).

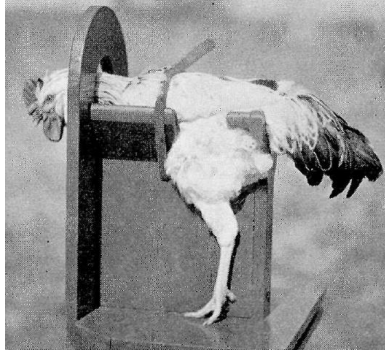


Figure 11 : planche de contention (Burrows et Quinn, 1936)

Des tubes collecteurs sont utilisés communément chez les animaux domestiques tels que la dinde et la poule (Cassou, 1988).

Mais avant tous les males doivent être initiés pendant plusieurs semaines (Mrilande, 1996).

III. 2. 2 : Collecte par stimulation électrique

Cette technique a été utilisée chez les canards, les oies, les pigeons (Blanco *et al.*, 2009 ; Doneley., 2011) Une anesthésie est toujours requise en utilisant la kétamine à raison de 20 à 30 mg/kg (Samour *et al.*, 1985).

L'éjaculat est fréquemment contaminé par l'urine (Blanco *et al.*, 2009), Le but étant de créer une stimulation électrique depuis les testicules jusqu'aux conduits déférents (Forbes, 2002), 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'initiation préalable des oiseaux (Samour *et al.*, 1985).

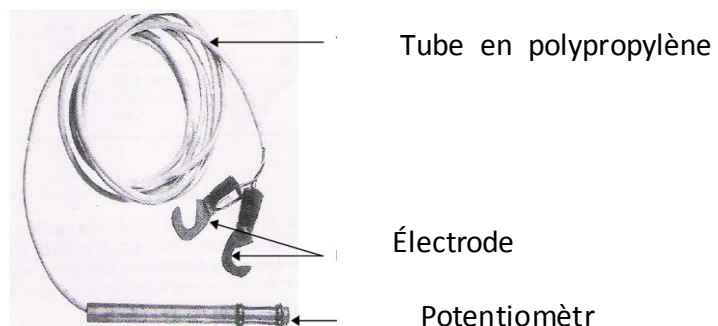


Figure 12 : stimulateur électrique utilisé pour un prélèvement de la semence par un électro-éjaculateur (Samour *et al.*, 1985).

III. 3 : Fréquence de récolte des coqs

La production de spermatozoïdes est continue et ne peut être stockée qu'en quantité limitée dans les canaux déférents (**Reviere, 1975**).

Chez le coq Gallus, la fréquence est d'une récolte par jour, alors qu'il faut espacer les collectes de sperme de 3 à 4 jours si l'on souhaite récolter le plus possible de spermatozoïdes par éjaculat, tableau (1) (**Brillard et al., 1989**).

Tableau 3: production testiculaire de semence chez le coq (Brillard et al., 1989).

Nombre de récoltes	2	3	5
Production testiculaire spermatozoïdes 10^9	21,7	23,5	23,1
Nombre de spermatozoïdes récoltés 10^9	11,2	15,4	23,1

Le nombre de spermatozoïdes produits dépend des facteurs physiologiques et de la techniques (élevage de poule de reproduction) et aussi d'un jour à l'autre (Riviers et al., 1975), mais aussi la température élevée à un effet dépressif sur la concentration de spermatozoïdes, en cas de choc thermique (**Hammade al., 1987**).

-Le volume des éjaculats varie considérablement en fonction de l'espèce, de la souche, de l'individu, de son état physiologique et des conditions de collecte tableau (2) (**sauveur, 1988**).

Tableau 4: volume et concentration des éjaculat de différentes espèces avicoles (Mayer et Rouvier, 2009).

Espèce avicole	Volume d'éjaculat (ml)	Teneur du sperme en spermatozoïdes (10^9 /ml)
-coq		
Espèce léger	0.2-0.8	01-4
Espèce lourd	0.3-1.5	03-10
-dindon	0.2-1.0	06-12

III. 4 : DILUTION DE LA SEMENCE

Le sperme du coq peut être employé à l'état pur s'il est destiné à l'insémination artificielle dans la demi-heure qui suit son prélèvement, sinon il doit être dilué, et éventuellement refroidie (**Brillard et al., 1989**).

Le temps de conservation peut être un peu augmenté en diluant et en refroidissant le sperme, souvent entre 2 et 10-15°C. Le rôle de diluer est de préserver la mobilité des spermatozoïdes, de protéger leur fécondité, de tamponner le milieu, d'apporter les nutriments (**Blesbois et Seigneurin, 1997**).

les dilueurs utilisés

1. LPC :(Lake'sprefreezing diluent) est utilisé pour la dilution initiale de l'éjaculat (**Chalah et al., 1999**).
2. BPSE-I :(Beltsvillepoultrysemenextender I) est utilisé pour l'analyse de la semence fraîche (**Sexton et al., 1978**)
3. le LPC ajouté avec le glycérol (24%–12%; v:v) est utilisé comme diluer de congélation (**Blanchet al., 2014**).
4. The Lake Centri : est utilisé après la décongélation pour éliminer le glycérol (**Lake et al., 1978**).
5. Lake 7.1 : est utilisé pour la dilution des paillettes après l'enlèvement de glycérol (**Lake et al., 1979**).
6. NaCl 0,9% : est utilisé pour la dilution de la semence fraîche dans la motilité (**Gliozzi et al, 2011**).

Tableau 5: composition des dilueurs utilisés (Blanch et al., 2014).

INGREDIANT	BPSE-1	LPC	Lake centri	Lake 7.1
Potassium citrate tribasic monohydrate (g)	0,64	-	1,28	1,28
Sodium-L-glutamate (g)	8,07	19,2	19,2	15,2
Magnesiumchlorideanhydrous (g)	0,34	-	-	-
D-(-)-Fructose (g)	5	8	6	6
Potassium phosphate dibasic trihydrate (g)	12,7	-	-	-
Potassium phosphate mono basic (g)	0,65	-	-	-
TES (g)	3,95	-	5	-
Sodium acetate trihydrate (g)	4,3	-	5,1	-
Magnesium acetate tetrahydrate (g)	-	0,7	0,8	0,8
Potassium acetate (g)	--	5	-	-
BES (g)	-	1	-	30,5
Polyvinylpyrrolidone 10 (g)	-	3	-	-
L-glutathione, reduced (g)	--	0,5	-	-
Sodium hydroxide, solution 1.0 N (mL)	-	4	5,2	58
Eau distillée (L)	1	1	1	1
Ph	3,7-7,4	7,0-7,2	7,0-7,2	7,0-7,1
Osmolarité (mOsm/kg)	340-350	340-350	340-350	400-410

III. 5 : L'INSEMINATION ARTIFICIELLE

En France, l'IA des poules reproductrices de type chair permet de diminuer de 8 à 10% le prix de revient des poussins et aussi une amélioration de qualité et l'aptitude à la croissance (**Brillard et al., 1989**).

Les avantages pratique d'IA sont plusieurs :

- Certitude de la fécondation des femelles,
- économie d'aliment et autres charges liées à l'élevage d'un effectif réduit des mâles,

Partie bibliographique

- amélioration génétique par une sélection sévère : ne retenir que les mâles présentant une très bonne conformation,
- éviter la transmission des maladies vénériennes (MST),
- Conservation durable de la semence.
- faciliter le transport de la semence.

Ces différents avantages de l'insémination artificielle peuvent compenser très largement ces inconvénients : **(Brillard et al., 1989)**.

- Un travail répétitif à cadence élevée. Il faut 2 personnes pour la collecte du sperme. Le coût de cette main-d'œuvre rend la méthode moins intéressante pour les poules (sauf pour les souches en sélection) **(Meyer et Rouvier., 2009)**.
- un supplément d'investissement de 10 à 25% sous forme de cages et accessoirement de matériel d'insémination (Brillard et al., 1989).
- Une augmentation du pourcentage d'œufs cassés (Morin, 1976 ; Brillard et Reviere, 1989).

III. 6 : L'ANALYSE DE LA SEMENCE

III. 6 : Le système CASA

Récemment, l'analyse de sperme assistée par ordinateur a été introduite pour l'andrologie vétérinaire **(Rijsselaere et al., 2003, Verstegen et al., 2002)**.

Il permet de calculer plusieurs paramètres de motilité, qui caractérisent le mouvement des spermatozoïdes individuels. Ils comprennent la vitesse moyenne VAP, la vitesse de ligne droite VSL, la vitesse curviligne VCL, ALH amplitude de latéral déplacement de la tête, la fréquence de battement BCF, indice de rectitude STR, indice de linéarité LIN, voir figure (13) **(Nizański et al., 2009)**.

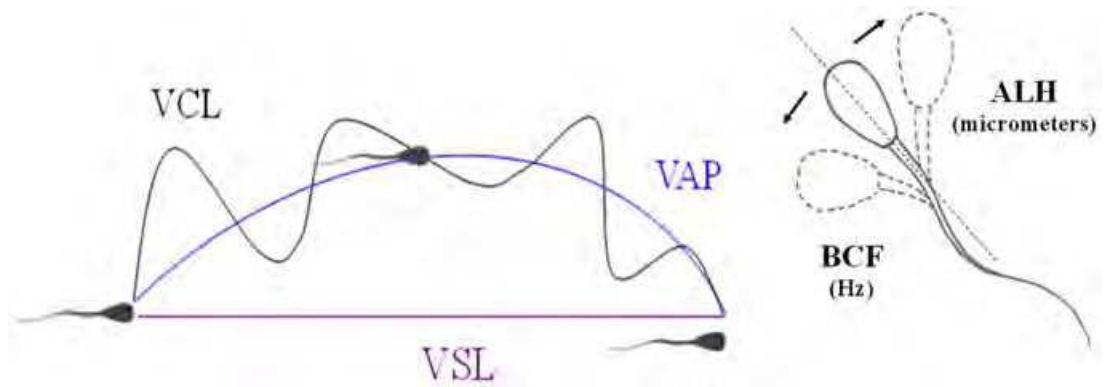


Figure 13 : schéma de différentes villosités et paramètres de mouvement de spermatozoïdes analysé par le CASA (Partyka et al., 2012).

Blesbois et al., (2008) ont montré que certains des paramètres détectée dans le système CASA sont en corrélation avec les résultats de fertilité obtenus avec le processus de congélation-décongélation des spermatozoïdes de coq.

III. 6. 1 : La motilité

Des recherches antérieures ont démontré que la motilité du sperme est un trait phénotype qui n'évolue pas avec l'âge et qui peut être sélectionné génétiquement, figure (14) (**Froman et McLean, 1996, Froman et al., 1997**).

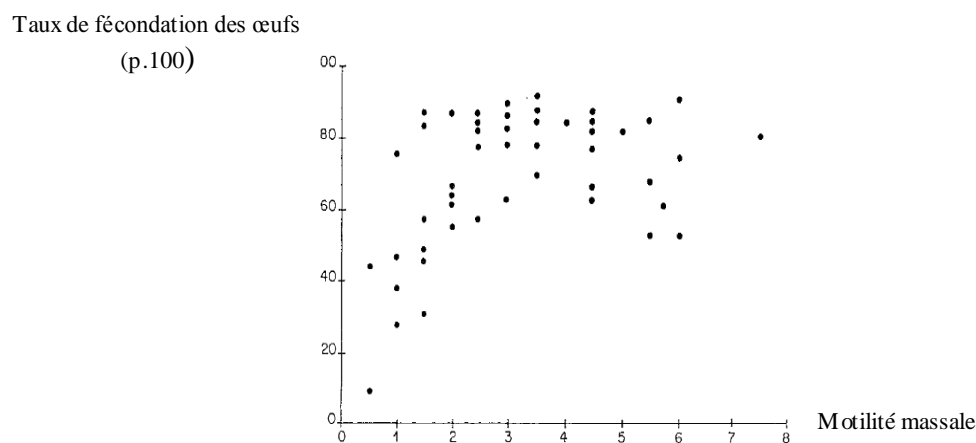


Figure 14: relation entre motilité massale et fécondance des spermatozoïdes (Sauveur., 1988).

In vitro, la motilité massale du sperme est intéressante à apprécier, Il **existe** deux types de mesures de la motilité couramment accessibles ;la motilité totale et la motilité progressive (**Meyer et al., 2009**).

Partie bibliographique

Le pourcentage de tous les spermatozoïdes mobiles (total) le plus couramment utilisé pour évaluer la qualité des spermatozoïdes du coq (**Tarvis, 2013**), Ils peuvent être évalués d'une manière subjective au microscope (**Blesbois, 2006**). Ou d'un système assisté par ordinateur de sperme Analyse CASA qui a la capacité d'évaluer de nombreux paramètres différents (**Tarvis, 2013**).

L'évaluation au microscope optique ne nécessite pas de matériel coûteux, est une méthode simple et rapide pour l'évaluation de la qualité du sperme (**PeñaMartínez, 2004**).

Tableau 6 : les paramètres sélectionnés de la motilité des spermatozoïdes mesurés par le système casa (Partyka et al., 2012):

VCL	Vitesse curviligne de spermatozoïde
VSL	Vitesse rectiligne de spermatozoïde
VAP	Vitesse moyenne de spermatozoïde
STR	Indice de rectitude de spermatozoïde
LIN	Indice de linéarité de spermatozoïde
WOB	Indice d'oscillation de spermatozoïde
ALA	Aptitude de déplacement de la tête de spermatozoïde
BCF	Fréquence de battement de la tête de spermatozoïde

III. 6. 2 : La concentration :

La concentration des spermatozoïdes du sperme varie d'un animal à l'autre (moyen : 4 à 6 milliards par ml) (Brillard, 1989).

L'avantage important de l'analyse assistée par ordinateur des spermatozoïdes est le calcul automatisé, (**Davis et Katz., 1992, Iguer-Ouada et Verstegen., 2002, Rijsselaere et al., 2003, Verstegen et al., 2002**), l'optimisation et la validation des paramètres techniques qui permettraient de comparer intra et les résultats inter-laboratoires, quels que soient les instruments qui ont été utilisés (**Agarwal et al., 1992**).

III. 6. 3 : L'intégrité des membranes des spermatozoïdes

Pour la détermination de la viabilité cellulaire du colorant tel que l'aniline-éosine, éosine-nigrosine et éosine-rapide vert sont largement utilisés, le colorant se diffuse

Partie bibliographique

passivement dans les cellules spermatiques avec des membranes plasmiques endommagées **(Partyka et al., 2012)**.

Les spermatozoïdes vivants apparaissent en blanc, voir figure (15) les spermatozoïdes morts décoloré contre le fond pourpre de nigrosine(a), qui ont une membrane plasmique perméable ment endommagé (b) **(Partyka et al., 2012)**.

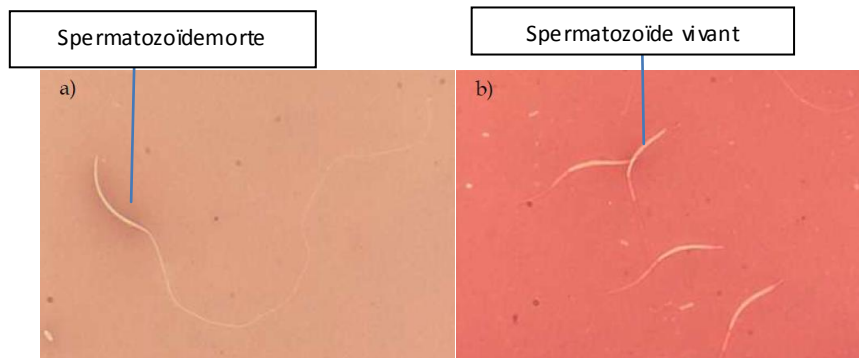


Figure 15 :coloration éosine-nigrosin des spermatozoïdes (Partyka et al., 2012).

III. 6. 4 : La morphologie

Cette évaluation est subjective et les résultats sont largement tributaires de la compétence et l'expérience de l'évaluateur. Le colorant 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. **(Brito et al., 2003; Brito et al., 2011; Didion et al., 1989; Freneau et al., 2010; Łukaszewicz et al., 2008; Partyka et al., 2007; Rodriguez-Gil et al., 1994; Sprecher et Coe, 1996 et Talbot et Chacon, 1981)**.

Les catégories de classification sont différents pour la diverses espèces et l'adoption d'un système uniforme au sein de chaque espèce est nécessaire **(Blom., 1950)**.

PARTIE EXPERIMENTALE

I : MATERIELS ET METHODES

Objectif :

- La maîtrise de la technique de récolte chez le coq décrite par Burrows et *al.*, (1935)
- Essayer de déterminer la qualité de sperme de coq par trois paramètres à savoir la mobilité en premier lieu, la viabilité en second et enfin la morphologie de spermatozoïdes de semence récolté par massage dorso-abdominal.

I.1 : Lieu :

- Lieu : Notre étude a été menée dans la station d'expérimentation et le laboratoire de biotechnologie liée à la reproduction animale (LBRA).



Figure 16: station expérimental.

- La période :

Du 09 décembre 2015 jusqu'à 07 Mars 2016 : nous avons utilisés plusieurs coq pour maîtriser la technique de massage, nous les avons sacrifié à la fin de massage, ce dernier était le premier et le dernier effectué sur ces coq.

A partir de 07 Mars jusqu'à 21 Mars: 3 coqs ont été utilisés pour une analyse de leur semence, nous les avons sacrifié après la dernière récolte qui a été faite voir annexe (3).

- Le logement : une partie de notre expérience a été menée dans un local de 9 m² au niveau de la station d'expérimentation voir annexe (2).
- Facteurs d'ambiances :

1. Température : une source de chaleur réglable (résistance) pour maintenir la température entre 25 et 30°C.
 2. L'humidité : l'humidité n'a pas été mesurée.
 3. La lumière : lampe de 75 W, 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité d'une intensité lumineuse de 58 Lux.
- Les animaux : nous avons utilisé 3 coqs : A, B, C ;
- 1) A de race ISA classique.
 - 2) B de race ISA classique.
 - 3) C de race ARBOR ARCES.
- Alimentation : Nos coqs sont servis de l'aliment non spécifique pour le reproducteur à raison de 150 g pour chacun par jour.
- Etat de santé :
1. A en bonne santé.
 2. B présente de cyanose sur la partie postérieure de la crête.
 3. C en bonne santé.

I. 2 : Matériel de laboratoire :

- Bain mari : réglé à 37 c°, annexe (5(2)).
- Micropipettes annexe (5(1)).
- Colorants : éosine, nigrosine, sperme bleu, annexe (6).
- Dillueur : NaCl 0,9 % (**Giozzi et al.,2011**).
- Système d'analyse de semence : CASA (9).

II : METHODES.

II. 1 : La récolte :

La méthode de récolte était celle décrite par **Burrow et Quinn, (1936)**, avec la présence de deux manipulateurs, l'un des manipulateur est assis sur une chaise tient le coq par son articulation tibiométatarsienne, l'autre fait le massage proprement dit, figure (17).



Figure 17: position des deux manipulateurs.

II. 2 : La dilution :

Nous avons effectué une dilution pour l'ajustement de la concentration à raison de 100 à 150 spermatozoïdes par champ observé sur le CASA en utilisant NaCl 0,9% comme dilueur utilisé par **Giozzi et al, (2011)**.

II. 3 : Paramètres évalués.

II. 3. A : La motilité :

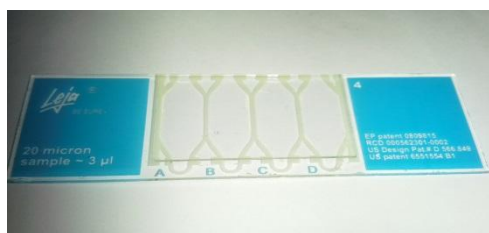


Figure 18 : lame leja

Nous avons utilisé des lames spéciales leja possédant 4 chambres sur lesquelles on peut effectuer plusieurs analyses de motilité. Voir figure (18).

II. 3. B : La viabilité :

Une goutte de semence a été déposée sur une lame identifiée, ensuite rajoute de éosine puis une goutte de nigrosine à l'aide d'une pipette, on fait mélanger. Après une de réaction de 3 minutes, on étalement avec une lame propre, voir figure (19).

Une fois le frotti séché. La mise au point est réalisée avec de l'objectif 60, contraste de phase, filtre vert et chambre claire passant tout la lumière qu'on peut aussi régler après la mise au point, enfin le lancement du logiciel de comptage de système CASA.

- ✓ 1) goutte de semence diluée.
- ✓ 2) goutte de éosine.
- ✓ 3) rajout de nigrosine.
- ✓ 4) étaler.

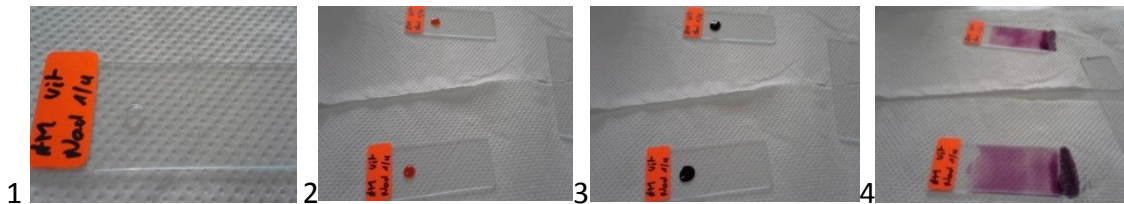


Figure 19 : étape de préparation de la lame pour le teste de viabilité et lancement du logiciel de comptage.

Le comptage se fait sur deux lames ayant deux lamelles chacune sur lesquelles on compte 50 spermatozoïdes dans chaque lamelle puis on fait la moyenne.

Il est préférable que le comptage sur les deux lames se fasse par une seule personne.

Les spermatozoïdes sont considérés comme morts quand ils sont colorés par l'éosine tandis que les spermatozoïdes vivants apparaissent blancs non colorés.

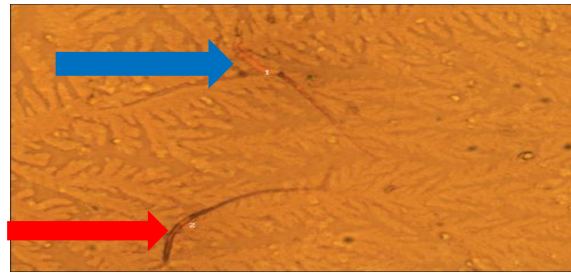


Figure 20 : flèche bleu - spermatozoïde vivant ; flèche rouge - spermatozoïde mort.

II. 3. C : La morphologie :

Une goutte de semence est diluée sur une lame ensuite l'étalement, voir la figure (21).

- ✓ 1) une fois séchée un fixateur est rajouté sur toute la surface de la lame.
- ✓ 2) laisser un temps de réaction de 15 minutes, ensuite rinçage.
- ✓ 3) de sperme bleu comme colorant sur toute la surface de la lame
- ✓ 4) un temps de réaction de 15 minutes aussi puis ensuite rinçage.

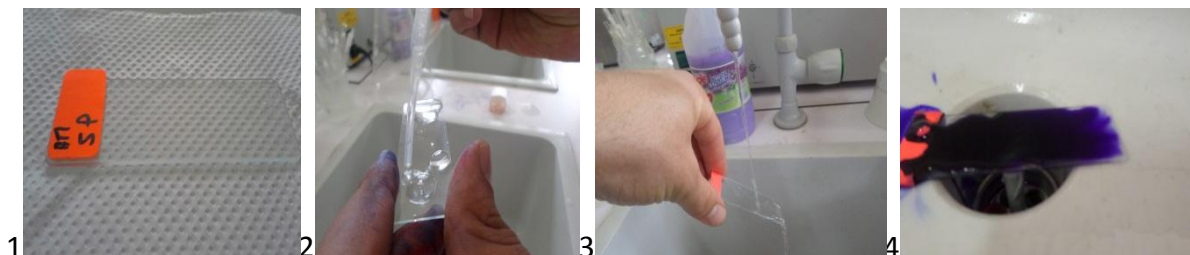


Figure 21 : étapes de" coloration par sperme bleu.

On fait la mise au point avec chambre claire et objectif 100, enfin lancement du logiciel de morphologie du système CASA.

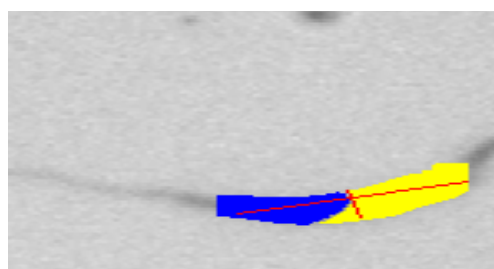


Figure 22 : analyse des parties de la tête de spermatozoïde.

III : RESULTATS

III.1 : Récolte :

La récolte a été faite généralement le matin suivant la méthode de massage abdominale (**Brillard et al, 1989**) décrite en (1936) par **Burrow et Quinn**, avant la distribution de l'aliment.

La récolte était faite sur trois coqs (B, A, C) dont les deux premiers coqs de race ISA classique tandis que le troisième est de race ARBOR ACRES, l'analyse était faite sur la semence obtenu des deux derniers coqs (A, C).

Le temps que nous avons pris pour chaque massage était entre 5 et 15 minutes la plupart des temps durant la matinée dont nous avons remarqué que le coq (B) n'a jamais donné la semence ce qui nous a permis d'arrêter le massage à 15 minutes, à la fin de chaque massage, le 16-03-2016 nous avons un autre coq de race ARBOR ACRES de 50 semaines d'âge, tandis que le coq (B) a été sacrifié.

Le coq (A) a commencé de donner la semence dès le premier massage dont la quantité n'a pas été estimée qu'à partir du troisième massage, durant environ 10 minutes. Ce dernier, à chaque fois il donne entre 0,08 et 0,5 ml de semence de couleur blanc jaunâtre dans la plupart des temps sous forme de gouttes, l'analyse du premier éjaculat a été faite sur la troisième récolte.

Le coq ARBOR ACRES (C) a donné la semence dès le premier massage qui a été fait le jour de remplacement le 16-03-2016 dont un volume est entre 0,1 et 0,3 ml de couleur blanc jaunâtre sous forme de gouttes, l'analyse de la semence a été réalisée à la troisième récolte.

Le volume des premiers éjaculats n'ont pas été estimés car nous n'avons jamais trouvé de spermatozoïdes les premiers éjaculats chez tous les coqs auxquelles nous avons fait les massages chaque mercredi depuis le 09-12-2015 jusqu'au 07-03-2016

Les coqs ont été abattus après la fin de la partie expérimentale.

Les résultats obtenus sont dans le tableau suivant :

TABLEAU 7 : LES PARAMETRES DE LA COLLETE

Date	NA	RA	Ag	ES	HRE	T-Pris	FE	Qu	NEj	Clr
Mars 2016										
07	B	ISA	48	BS	17 :00	15Min	-	-	-	-
09	A	ISA	48	BS	13 :00	10Min	En jet	-	1	Mélange
09	B	ISA	48	BS	13 :12	15Min	Rien	-	-	-
12	A	ISA	49	BS	12 :20	10Min	goutte	N estimé	4	BJ
12	B	ISA	49	BS	12 :40	15Min	-	-	-	-
14	B	ISA	49	BS	8 :44	15Min37s	-	-	-	-
14	A	ISA	49	BS	9 :00	10Min	goutte	0.5ml	Plusieurs	BJ
16	B	ISA	49	BS	8 :20	15Min	Rien	-	-	-
16	C	ARB	49	BS	8 :30	5Min	goutte	0.1ml	Plusieurs	BJ
16	A	ISA	49	BS	9 :00	15Min	goutte	0.5ml	Plusieurs	Mélange
16	A	ISA	49	BS	11 :00	10Min	goutte	0.08ml	Plusieurs	Mélange
19	C	ARB	50	BS	8 :20	10Min	goutte	0.3ml	Plusieurs	BJ
19	A	ISA	50	BS	10 :00	15Min	goutte	0.1ml	Plusieurs	Blanc
20	A	ISA	50	BS	8 :40	7Min	goutte	0.3ml	Plusieurs	BJ
20	C	ARB	50	BS	8 :50	10Min	goutte	0.25ml	Plusieurs	BJ

NA : nom de l'animal, RA :race, AG :âge, ES :etat de santé, HR :heure, T-Pris :temps pris, FE : forme d'éjaculat, QU : quantité, NEj : nombre d'éjaculat, Clr : couleur, BJ : blanc jaunâtre, BS ; Bonne santé.

Dans notre étude nous avons remarqué que le volume des éjaculats présente des variations importantes. Nous avons constaté une variation d'un jour à l'autre ou les deux coqs ont donné un volume important à celui obtenu dans les premiers éjaculats.

Nous avons remarqué aussi que les coqs donnent rapidement de la semence après le troisième massage.

La couleur de l'éjaculat était plus ou moins blanche-jaunâtre.

III. 2 : Évaluation de la qualité de la semence.

III. 2. A : Motilité :

Les résultats de cette partie d'étude sont représentés par le pourcentage et les caractéristiques des mouvements des spermatozoïdes :

III.2. A. 1. : Le coq A :

**TABLEAU 8 : CARACTERISTIQUES DES MOUVEMENTS DES SPERMATOZOÏDES CHEZ LE COQ A
DANS DEUX ANALYSES.**

ANALYSE	1	2	moyenne
Motilité	7,39%	47,08%	27,24%
Concentration million/ml	2 880,59	985,78	1 933,185
VCL	33,32	45,76	39,54
VAP	19,86	27,06	23,46
VSL	7,73	16,23	11,98
STR	26,00%	39,40%	0,327
LIN	42,00%	60,20%	0,511
WOB	60,40%	62,10%	0,6125
ALH	2,17	2,43	2,3
BCF	2,49	5,93	4,21
AIRE	12,16	16,23	14,2

D'après ce tableau (8) nous avons remarqué que la motilité de la deuxième analyse est supérieure à celle enregistré dans la première analyse avec un taux 47%, mais la concentration est diminuée en 985,78 million/ml (près de 1 milliard).

 La motilité progressive
TABLEAU 9 : PROGRESSIVITE DES SPERMATOZOÏDES DE COQ A

		A	A	Moyenne
Analyse		1	2	
P	PR	0,26	0,74	0,5
R	NP	7,12	46,34	26,73
O	IM	92,61	52,92	72,77
V	RAPIDE	0	0	0
I	MOYEN	0,26	3,2	1,73
T	LENT	7,12	43,88	25,5
	IMMOBIL	92,61	52,92	72,77
V	PRR	0	0	0
I	PRM	0,26	0,74	0,5
L	NP	7,12	46,34	26,73
o	IMMOBIL	92,61	52,92	72,77

PRO ; progressivité ; VIT ; vitesse ; VILO ; villosité

Nous avons remarqué d'après le tableau ci-dessus que la plupart des spermatozoïdes ont une progression plus ou moins immobile dans la première analyse effectuée avec un taux de 92,61 % qui diminue vers 52,92 % pendant la seconde analyse.

III. 2. A. 2 : Le coq C:

TABLEAU 10 : CARACTERISTIQUES DE CONCENTRATION ET MOUVEMENTS DES SPERMATOZOÏDES CHEZ LE COQ C.

<i>ANIMAL</i>	<i>C</i>	<i>moyenne</i>
<i>Motilité</i>	23,05	
<i>Concentration million/ml</i>	775,7	
<i>VCL</i>	38,13	19,53
<i>VAP</i>	21,62	11,3
<i>VSL</i>	11,68	8,95
<i>STR</i>	34,80%	24,1
<i>LIN</i>	54%	26,9
<i>WOB</i>	59,90%	17,9
<i>ALH</i>	2,21	1,16
<i>BCE</i>	4,7	2,86
<i>AIRE</i>	12,78	9,54

Nous avons remarqué que la mobilité chez le coq C est de 23,05 %, et qu'elle est inférieure à la valeur de la motilité enregistré dans la deuxième analyse chez le coq A, ainsi la concentration est faible par rapport à celle enregistrée chez le coq A.

Nous avons constaté que la VCL est supérieure à VSL avec une valeur de 39,54 et 38,13 chez le coq A et C respectivement.

 **Progressivité chez le coq C**

TABEAU 11 : COMPARATIF DE PROGRESSIVITE CHEZ LES DEUX COQS.

P	A	C	
R	PR%	0,5	0,44
O	NP%	26,73	22,61
	IM%	72,77	76,95
V	RAPIDE%	0	0
I	MOYEN%	1,73	0,88
T	LENT%	25,5	22,17
	IMMOBIL%	72,77	76,95
V	PRR%	0	0
I	PRM%	0,5	0,44
L	NP%	26,73	22,61
O	IMMOBIL%	72,77	76,95

PRO ; progressivité ; VIT ; vitesse ; VILO ; villosité

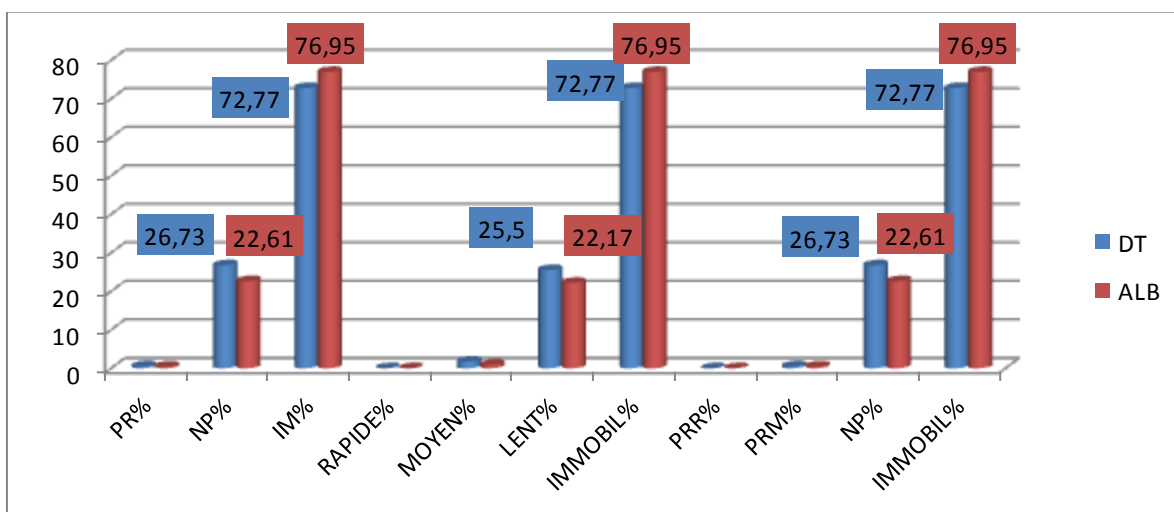


Figure 23: Histogramme de progressivité chez les deux coqs, DT= coq A, ALB= COQ C

Pr : progressif, NP : non progressif, IM : immobile, PRR : progressif rapide, PRM : progressif moyen.

Le tableau 12 et le diagramme 44 montre bien que les spermatozoïdes des deux coqs sont plus ou moins immobiles avec une moyenne de 72,77 et 76,95 chez les A et C respectivement et il n'y a aucun spermatozoïdes rapides.

III. 2. B : La vitalité :

III. 2. B. 1 : Le coq A : la moyenne des deux lames a abouti au pourcentage des spermatozoïdes mort supérieur à celui des spermatozoïdes vivant.

TABLEAU 62 : POURCENTAGE DES SPERMATOZOÏDES MORTS ET VIVANTS DU COQ A

Animal	Analyse	Vivant	Mort
DT	1	49,25	50,75
	2	45,5	54,5
Moyenne		47,38%	52,63%

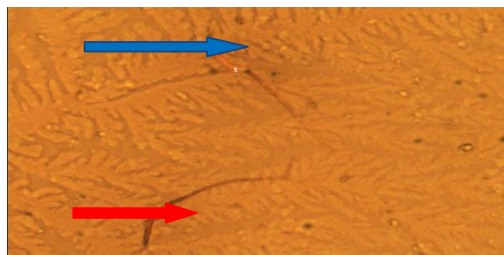


Figure 24 : Flèche bleu) spermatozoïde vivant, Flèche rouge) spermatozoïde mort.

III. 2. B.2 : Le coq C :

La moyenne : la moyenne des deux lames a abouti au pourcentage de vitalité de 58,5% (tableau 15).

TABLEAU 13: POURCENTAGE DE SPERMATOZOÏDES VIVANT ET MORTS

	Pourcentage
Alive	58,5
Dead	41,5

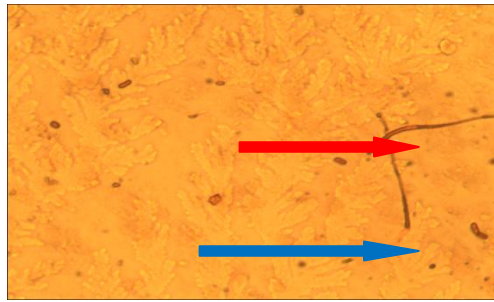


Figure 26 : Flèche bleu) spermatozoïde vivant, Flèche rouge) spermatozoïde mort.

TABLEAU 14 : RECAPITULATIF DE CONCENTRATION ET MOUVEMENT DES SPERMATOZOÏDES ET LEUR VITALITE.

ANIMAL	A	C
Motilité%	27,24	23,05
Concentration million/ml	1933,185	985,78
vivant%	47,38	58,5
mort%	52,63	41,5
VCL	39,54	38,13
VAP	23,46	21,62
VSL	11,98	11,68
STR	0,327	34,8
LIN	0,511	54
WOB	0,6125	59,9
ALH	2,3	2,21
BCF	4,21	4,7
AIRE	14,2	12,78

D'après le tableau récapitulatif nous avons constaté que la viabilité chez le coq A est inférieure à celle enregistrés chez le coq C, néanmoins les deux coqs ont une vitalité inférieure à 60%.

Les deux coqs présentent une motilité entre 24% et 27%.

Egalement une vitalité entre 47% et 59%.

III. 3 : Discussion.

III. 3. A : Récolte :

La technique : nous avons utilisé la méthode de massage dorso-abdominal décrite par **Burrow et Quinn, (1936)**, utilisé par plusieurs auteurs y compris **Omeje et Marire, (1989)** ; **Reviere, (1972)** ; **Blesbois et al, (2006)**; **Reviere et Petitjean, (1973)**

L'augmentation de volume de l'éjaculat dès le troisième massage peut être due à l'adaptation de coq à la technique du massage.

La différence entre les valeurs obtenues chez les deux coqs peut être due à la race de ces derniers (ISA ET ARBOR ACRES) respectivement souche légère et souche lourde, Si on augmente la fréquence de récolte le volume diminue (**Mayer et Rouvier, 2009**).

Nos résultats sont proches des normes définies par **Harouna, (2014)** et **Burrow et Quinn, 1936**), la moyenne du volume est comparable à celle rapportée par **Omeje et Marire (1989)** mais la couleur de l'éjaculat est différente de celle rapportée par ces derniers qui peut être expliquée par la présence de l'urine dans l'éjaculat.

À noter que le volume 0,08 ml obtenu chez le coq A est inférieur à la valeur minimale rapportée par d'autres auteurs notamment **Burrow et Quinn, (1936)** du au deuxième massage effectué sur le même coq après deux heures d'un premier massage réalisé à neuf heures du matin au même jour.

Le volume diminué des dernières collectes notamment chez le coq A peut être due à la diminution de temps de repos qui est de 1 jour dans notre étude.

La différence de résultats peut être due à :

- Changement de climat et du bâtiment.
- Peut être à la présence d'urine dans l'éjaculat ce qui a endommagé les spermatozoïdes
- Le temps de repos est d'un jour au lieu de 3 à 4 jours d'intervalle entre deux collectes.
- Des races différentes des deux coqs utilisés.

III. 3. B : Evaluation de la semence.

III. 3. B. 1 : Mobilité.

A l'œil nu, elle est subjective et très dépendante de l'opérateur et de son expérience. L'utilisation des analyseurs d'image de type CASA (Computer Assisted Sperm Analysis) pourrait permettre de quantifier de manière plus précise la nature de la vitesse des déplacements des spermatozoïdes.

En comparant les paramètres de l'exemple de spermatozoïde qualifié progressif et rapide avec les moyennes obtenues pour chaque animal, on remarque que la semence des coqs testés présente des caractéristiques spermatiques un peu faibles.

On remarque que la VCL est supérieure par rapport la VSL, alors les spermatozoïdes ont un trajet arrondi plutôt qu'une ligne droite. Les mouvements circulaires dominant et que les spermatozoïdes sont plus ou moins immobiles.

Les spermatozoïdes des deux coqs présentent une motilité très faible.

Nos résultats sont différents de ceux obtenus par plusieurs auteurs :

- Inférieur aux résultats rapportés par **Omeje et Marire, (1989)** et **Hammade et al (1987)**, **Blesbois, (2005)**, **Masindi et al, (2012)**.
- **Proche des résultats enregistré par Gliozzi et al, (2011)**.
- Supérieurs à ceux publiés par **Blesbois et al (2006)**.

La différence des résultats que nous avons obtenus par rapport à celles enregistré par ces derniers à propos de mobilité peuvent être expliqués par :

- La durée de cheminement de prélèvement a noté qui il est toujours au moins 10min, plus le temps pris pour la préparation des méthodes d'analyse dans le laboratoire. Par conséquence la viabilité diminue d'où le taux faible de motilité car les spermatozoïdes de volaille meurent rapidement après la collecte 30 minutes environ

- Le dilueur NaCL 0.9% utilisé qui n'est pas spécifique pour la dilution du la semence de coq tandis que les autres auteurs ont utilisé un diluer spécifique notamment BPSE.
- Ajoutant ainsi le manque de l'expérience dans le domaine de l'analyse de semence de volaille.

TABLEAU 15: ANALYSE LA SEMENCE DE COQ.

			Nos résultats	
Auteur	Motilité%	Viabilité%	Motilité%	Viabilité%
(Omeje et Marire, 1989)	47	91,5	23-28	47-59
(Hammade et al, 1987)	41		23-28	47-59
(Blesbois et al, 2006)	7,87	87	23-28	47-59
(Fagbohun, Oluwatosin, 2006)		59,69	23-28	47-59
(Masindi et al, 2012)	92,5	92,4	23-28	47-59
(Chalah et al, 1999)		88	23-28	47-59
(Blesbois, 2005)		72	23-28	47-59
(Gliozzi et al, 2011)	52,10	97,06	23-28	47-59
(Blanch, 2014)		27,8-49,6	23-28	47-59

III. 3. B. 2 : La vitalité :

Le pourcentage de viabilité est mesuré par la technique de coloration éosine-nigrosine (Blom E 1950). A partir des tests de viabilité qui sont réalisés sur les deux coqs, on a déduit que nos résultats sont différents de ceux rapportés par d'autres auteurs.

- ✓ Inférieurs à ceux enregistrés par **(Omeje et Marire, 1989)**, **(Blesbois et al 2006)**, **(Chalah et al 1999)** qui a utilisé l'éosine et nigrosine comme colorant.
- ✓ proches de ce rapporté par **(Fagbohun et Oluwatosin, 2006)**.
- ✓ Dans le même intervalle avec les résultats de **(Blanch, 2014)** qui a utilisé le BPSE comme dilueur

La différence des valeurs pour les paramètres de mobilité ou celle de viabilité qui sont enregistrées dans notre étude par rapport à d'autres travaux antérieurs sont dus à :

- La durée de cheminement de prélèvement a noté qui il est toujours au moins 10min, plus le temps pris pour la préparation des méthodes d'analyse dans le laboratoire. Par conséquent la viabilité diminue d'où le taux faible de motilité car les spermatozoïdes de volaille meurent rapidement après la collecte 30 minutes environ
- Le dilueur NaCL 0.9% utilisé qui n'est pas spécifique pour la dilution du la semence de coq tandis que les autres auteurs ont utilisé un diluer spécifique notamment BPSE.
- Ajoutant ainsi le manque de l'expérience dans le domaine de l'analyse de semence de volaille.
- Comportement animal, changement des conditions d'ambiance.

Conclusion

Conclusion et recommandations :

A la lumière de nos résultats nous avons conclu que :

- La technique de massage dorso-abdominale est une technique pratique facile à réaliser pour avoir de la semence chez le coq, notamment des variations peuvent être constatées.
- Le volume des éjaculats, leur teneur en spermatozoïdes et par conséquent le nombre total de spermatozoïdes par éjaculat, la motilité et la vitalité varient chez les 2 coqs utilisés.
- L'analyse de la semence fraîche de coq reste à développer en améliorant nos expériences pour passer à la congélation de la semence, dans le but de contrôler la fertilité des mâles ainsi la reproduction chez la volaille.
- L'analyse de semence de coq ne peut être faite sur deux ou trois coqs mais plutôt sur un nombre important de coqs pour avoir des résultats fiables avec lesquels nous pouvons juger la qualité de la semence.
- ✚ La récolte et l'analyse de la semence de coq ne sont qu'une initiative pour sélectionner des races de volailles à fin de répondre aux exigences de production locale.

Références bibliographiques

References bibliographies

1. **Agarwal A., Ozturk E., et Loughlin, K.R., 1992.**, comparison of semen analysis between the two Hamilton-Thorn semen analysers. *Andrologia* 24, 327–329C.
2. **Andrology Special Interest Group., 1996.**, Consensus workshop on advanced diagnostic andrology techniques. *Hum Reprod*;11:1463–79.
3. **Benoît J., Assenmacher., Manuel S., 1952.**, Pénétration, variable selon la longueur d'onde des radiations visibles jusqu'à l'hypothalamus et au rhinencéphale, à travers la région orbitaire, chez le canard. *C.R. Acad. Sei.*, 235 : 1695.
4. **Blanch E., C. Tomás., L. Casares., E.A. Gómez., S. Sansano., I. Giménez., E. Mocé., 2014.**, Development of methods for cryopreservation of rooster sperm from the endangered breed “Gallina Valenciana de Chulilla” using low glycerol concentrations, *Theriogenology* 81 (2014) 1174–1180).
5. **Blanco JM, Gee GF, Wildt DE, Donoghue AM., 2002.**, Producing progeny from endangered birds of prey: treatment of urine contaminated semen and a novel intramaginal insemination approach. *J. Zoo. Wildl. Med.*, , 33, 1-7.
6. **Blanco JM, Wildt DE, Höfle U, Voelker W, Donoghue AM., 2009.**, Implementing artificial insemination as an effective tool for ex situ conservation of endangered avian species. *Theriogenology*, 71 , , 200-213.
7. **Blesbois E., I. Grasseau et J.C. Blum., 1993**, effects of vitamin e on fowl semen storage AT 4°C, France, I.N.R.A., Station de Recherches Avicoles, 37380 Nouzilly
8. **Blesbois E., Seigneurin F., 1997.**, Conservation in vitro du sperme chez les oiseaux domestiques. In: 2e journées de la recherche avicole. Tome 2, Centre de congrès de Vinci, Tours, France, 1997/04/08-10, ITAVI / INRA / CNEVA/ WPSA/ WVPA/ Région Centre Paris. 33-36 p.
9. **Blesbois E., 2005.**, mise au point d'une method de congelation de la semence de pintade., mars INRA, ps

Références bibliographiques

10. **Blesbois Elisabeth., 2006.,** Recherche d'indicateurs d'aptitude à la congélation de la semence chez les oiseaux et mise au point de la cryopréservation du sperme de jars landais.
11. **Blesbois E., Brillard J.P., 2007.,** Specific features of in vivo and in vitro sperm storage in birds. *Animal*, 1, 1472-1481
12. **Blesbois E., Grasseau I., Seigneurin, F., Mignon-Grasteau S., Saint Jalme M., et Mialon-Richard M.M., 2008.,** Predictors of success of semen cryopreservation in chickens. *Theriogenology* 69, 252-261.
13. **Blom E., (1950).,** Interpretation of spermatic cytology in bulls. *Fertil Steril* 1, 223-38.
14. **Blom E., (1968).,** A new sperm defect—"Pseudodroplets"—in the middle piece of the bull sperm. *Nord Vet Med* 20, 279–283.
15. **Blom E., (1983).,** Pathological conditions in the genital organs and in the semen as ground for rejection of breeding bulls for import or export to and from Denmark, 1958–1982. *Nord Vet Med* 35, 105–130
16. **Braun 2004.,** L Physiologie et maîtrise de la reproduction chez les Reptiles et les Oiseaux. Thèse Méd. Vét., Alfort, , 200p.
17. **Brillard J.P., M. Reviers, 1989.,** L'insémination matricielle chez la poule : Bases physiologiques et maîtrise du taux de fécondation des œufs. *INRA Productions animales*, , 2 (3), pp.197-203. <hal-00895867>).
18. **Brillard Jp., 1992.,** Maîtrise de la reproduction chez les volailles. *Annales de zootechnie, INRA/EDP Sciences*, , 41 (3-4), pp.297-303. <hal-00888843> HAL
19. **Brito L.F., Barth., A.D., Bilodeau-Goeseels,* S., Panich P.L. et Kastelic., J.P. Brillard., 2003.,** Comparison of methods to evaluate the plasmalemma of bovine sperm and their relationship with in vitro fertilization rate. *Theriogenology* 60, 1539-1551.
20. **Brito L.F., Greene L.M., Kelleman A., Knobbe M. et Turner R., 2011.,** Effect of method and clinician on stallion sperm morphology evaluation. *Theriogenology* 76, 745-750.
21. **Burrows W. H et J. P. Quinn.,1936.,** The Collection of Spermatozoa from the Domestic Fowl and Turkey, National Agricultural Research Center, Beltsville, Maryland.

Références bibliographiques

22. **Chalah T., Seigneurin F., Blesbois E., Brillard JP., 1999.**, In vitro comparison of fowl sperm viability in ejaculates frozen by three different techniques and relationship with subsequent fertility in vivo. *Cryobiology*;39:185–91)
23. **CHERUBIN Hien Olo 28 juin 2002**, Effet de l'amélioration des condition sanitaire sur le développement testiculaire, la LH et la ponte de la pintade locale de la Burkina Faso, Burkina Faso, l'université de Ouagadougou.
24. **Cooper D.M., et J. G. Rowell., 1957.**, Laboratory prediction of the fertilizing capacity of cock semen. *Poultry Sci.* 36:284-285.
25. **Adavis R.O., et Katz D.F. 1992.**, Standardization and comparability of CASA instruments. *J Androl* 13, 81-86,
26. **Donoghue AM et Wishart GJ., 2000.**, Storage of poultry semen. *Animal. Repro. Sci.*, 66 , , 213-232.
27. **Doneley B., 2011.**, Avian medicine and surgery practice companion and aviary birds. Manson publishing, Londres , , 19-30.
28. **Didion B.A., Dobrinsky J.R., Giles J.R., et Graves C.N., 1989.**, Staining procedure to detect viability and the true acrosome reaction in spermatozoa of various species. *Gamete Res* 22, 51-5
29. **Fagbohun Suliat Oluwatosin.,2011.**, effect of egg yolk extender on cock semen, university of agriculture, abeokuta, in partial fulfilment of the requirement for the award of bachelor of agric (b. agric) degree in animal physiology
30. **Forbes NA., 2002.**, Captive raptor propagation. *Vet. Clin. North. Am. Exot. Anim. Pract.*, , 5(3), 649-476
31. **Freneau G.E., Chenoweth P.J. Ellis., R. et Rupp G., 2010.**, Sperm morphology of beef bulls evaluated by two different methods. *Anim Reprod Sci* 118, 176-181
32. **Froman D. P., et D. J. McLean., 1996.**, Objective measurement of sperm motility based upon sperm penetration of accudenz. *Poult. Sci.* 75:776-784
33. **Froman D.P., A. J. Feltmann., and D. J. McLean., 1997.**, Increased fecundity resulting from semen donor selection based upon In Vitro sperm motility. *Poult. Sci.* 76:73-77.
34. **Gee GF et Mirande CM., 1996.**, Artificial insemination. In : ELLIS DH, GEE GF, MIRANDE CM. : their biology, husbandry, and conservation. Washington , , 365-373.

Références bibliographiques

35. **Gliozzi T.M., L. Zaniboni., S. Cerolini., 2011.**, DNA fragmentation in chicken spermatozoa during cryopreservation, Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria, Consiglio Nazionale delle Ricerche, IBBA-CNR, via Bassini, 15, 20133 Milan, Italy.
36. **Guerin et Cyril Boissieu.**, Protocole d'autopsie et anatomie des volailles., Élevage et Santé Avicoles et Cunicoles – ENV Toulouse.
37. **Hammade H., M Petitjean., madeleine Douaire., J Malard., P Merat., avec la coalboration de G Malineau et P Meto., 1987.**, effet du gène NA (cou nu) chez des coq élevés à deux température, école nationale supérieure d'agronomie, F 35000 Rennes, laboratoire de Spérmiologie, I.N.R.A, le magneraud, F 17700, I.N.R.A, laboratoire de génétique factorielle, centre de recherche de Jouy-enJosas , F 78350 Jouy-enJosas
38. **Harouna Konfe., 2014.**, Etude spermiologique des bovins de races locales de l'Afrique de l'Ouest: cas du Borgou, du taurin Lagunaire, du taurin N'Dama et du Zébu Peulh, BURKINA FASO, universite polytechnique de bobo-dioulasso institut
39. **Iguer-Ouada., M. et Verstegen J. P., 2001.**, Validation of the Sperm Quality Analyzer (SQA) for dog sperm analysis. Theriogenology 55, 1143-1158.
40. **Klimowicz M et al., 2005.**, Effect of collection frequency on quantitative and qualitative characteristics of pigeon (*Columba livia*) semen. Br. Poult. Sci., **46**(3), 361-365.
41. **Lake PE., 1978.**, Stewart JM. Preservation of fowl semen in liquid nitrogenan improved method. Br Poult Sci;19:187–94.)
42. **Lake PE., 1979.**, Ravie O. Effect of storing fowl semen for 24 h at 5 C in fluids of different pH. J Reprod Fert;57:149–55).
43. **Łukaszewicz E., Jerysz A., Partyka A., et Siudzińska A., 2008.**, Efficacy of evaluation of rooster sperm morphology using different staining methods. Res Vet Sci 85, 583- 688.
44. **Marie-Christine.JEAN-Michel.JEAN-Marc Foisseau.Isabelle Selin.Gilles Vergonzanne.Emilie Wimmer 2013**, reproduction des animaux d'elvage, achevé d'imprimer en decembre2013 par Impression design.
45. **MEYER Christian., Roger Rouvier., 2009.**, *L'insémination artificielle des volailles*, Cirad Campus de Baillarguet, 34 398 MONTPELLIER Cedex 5 France

Références bibliographiques

- 46. Masindi L. Mphaphathi, Dibungi Luseba, 2012**, Ben Sutherland Tshimangadzo L. Nedambale, , Comparison of slow freezing and vitrification methods for Venda cockerel's spermatozoa, Agricultural Research Council, Animal Production Institute, Germplasm Conservation & Reproductive Biotechnologies, Irene, RSA; Corresponding Author.
- 47. Morin M., 1976.** Le point sur l'insémination artificielle en aviculture. BTIA.
- 48. Nizański, W.; Klimowicz, M.; Partyka, A.; Saviæ, 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.
- 49. Omeje S.S.I. et B.N. Marire., 1990.,** evaluation of the semen characteristics adult cocks of different genetics backgrounds, department of animal production Anambre state University of technology ABAKALIKI Nigérie.
- 50. Partyka Agnieszka, Wojciech Nizański and Małgorzata Ochota 2012.,** Methods of Assessment of Cryopreserved Semen, *Current Frontiers in Cryobiology*, Prof. Igor Katkov (Ed.), ISBN: 978-953-51-0191-8.
- 51. Peña Martínez, A.I. (2004).** Canine fresh and cryopreserved semen evaluation. *Anim Reprod Sci* 82-83, 209-224.
- 52. Peterson K, Kappen MA, Ursem PJ, Nothling JO, Colenbrander B, Gadella BM, 2007.** Microscopic and flow cytometric semen assessment of Dutch AI-bucks: effects of semen processing procedures and their correlation to fertility. *Theriogenology*;67: 1163–71.
- 53. Pichereau Alexandra., 2012.,** les techniques de prélèvement et d'insémination artificielle chez les oiseaux, école nationale vétérinaire d'Alfort.
- 54. Reviers M et M. J. Petitjean., avec la collaboration technique de J. C. Folmer., Lucette Benard et J.P. Brillard., 1973.,** effets du gène nanisme dw sur la production spermatique chez le coq en croissance, station de recherche avicole, centre de recherche INRA, B,P,1, Nouzilly 37380.
- 55. Reviers M avec collaboration technique de J.P Brillard., 1972.,** (évaluation de la production de spermatozoïdes chez le coq).
- 56. Reviers M., 1975.,** Sperm transport and survival in male birds. in : *The Biology of spermatozoa*, E.S.E. Hafez et C.G. Thibault eds, Karger (Basel) 10-16.)

Références bibliographiques

57. **Reviers M ., 1974.**, le développement testiculaire chez le coq, station de recherche avicole, centre de recherche de Toure, INRA B,P,1, Nouzilly 37380 Monnaie.
58. **Rijsselaere T., van Soom A.,Maes D., et de Kruif A., 2003.**, Effect of technical settings on canine semen motility parameters measured by the Hamilton-Thorne analyzer, *Theriogenology* 60, 1553–1568.
59. **Rodríguez-Gil J.E., Montserrat., A. et Rigau T., 1994.**, Effects of hypoosmotic incubation on acrosome and tail structure on canine spermatozoa. *Theriogenology* 42, 815-829.
60. **Samour JH., 1985.**, D.M.J. Spratt, R.E. Hutton, D.M. Jones., Studies on semen collection in waterfowl by electrical stimulation. *Br.Vet. J.*, , 141:265.
61. **Sauveur Bernard., 1988.**, avec la collaboration de Michel **REVIERS.**, reproduction de la volaille et production d'œufs, Paris : INRA, Station de Recherches avicoles Centre de Tours- Nouzilly.
62. **Seigneurin et blesbois.**, SYSAAF, INRA, Srationd e Recherche Asv icotes,3 7380N ouzilly.
63. **Seigneurin F., 1990.**, Fréquence de collectes de sperme et ses applications à la selection chezla pintade. In : Contrôle of fertility in domestic birds (les colloques de l'INRA n°54), Ed. INRA, Paris, , 185-194
64. **Sexton T. J., 1977.**, A New Poultry Semen Extender, *Poultry Science* 56:1443-1446.
65. **Sexton TJ., Fewlass., 1978.**, TA. A new poultry semen extender 2. Effect of the diluent components on the fertilizing capacity of chicken semen stored at 5 degrees C. *Poult Sci*;57:277–84).
66. **Sprecher D.J., et Coe P.H., 1996.**, Differences in bull spermograms using eosin-nigrosin stain, feulgen stain, and phase contrast microscopy methods. *Theriogenology* 45, 757- 764.
67. **Talbot P., et Chacon R.S., 1981.**, A triple-stain technique for evaluating normal acrosome reactions of human sperm. *J Exp Zool* 215, 201-208.
68. **Tarvis Kimberly Margaret., 2013.**, new methods for cryopreserving rooster spermatozoa, p17.

Références bibliographiques

- 69. Thibier M et B. Guerin.,** b Hygienic aspects of storage and use of semen for artificial insemination a Centre National d'Etudes Ve'te'rinaires et Alimentaires, A'enu'e du Ge'ne'ral de Gaulle BP 19, 94701 Maisons-Alfort France. b Union Nationale des Coope'ratif'es d'Ele'age et d'Inse'mination Artificielle, Laboratoire de Controle desReproducteurs, 13 Rue Joue't, BP 65, 94703 Maisons-Alfort France.
- 70. Verstegen J., Iguer-ouada., M. et Onclin K., 2002.,** Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. Theriogenology 57, 149–179.
- 71. Walter JB., 2007.,** Reproductive Biology and Phylogeny of Birds: Phylogeny, Morphology,Hormones, Fertilization, vol. **6A**. Barrie GM. Jamieson edition, Enfield, NH: Science Publishers, 609 p.
- 72. Anonyme : (www.hubbardbreeders.com), guide d'ele'vage de reproducteurs conventionnel. jeudi 5 novembre 2015 à 23 :37**
- 73. Anonyme : www.avicultureamaroc.com., TECHNIQUES DE CONDUITE DES ELEVAGES. Jeudi 17 septembre 2015 23 :39**

Annexes

Annex 1



Figure 1: horloge



Figure 2: image prise dans le box

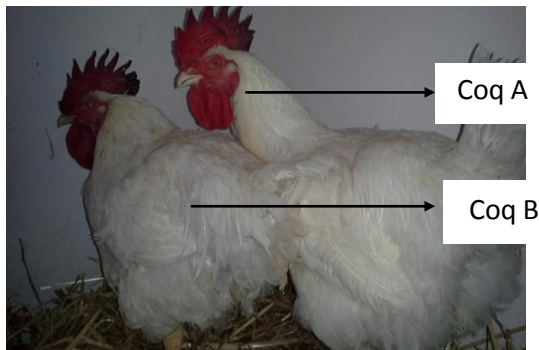


Figure 3: de deux coqs ISA classique



Figure 4: mangeoire et baignoire utilisée

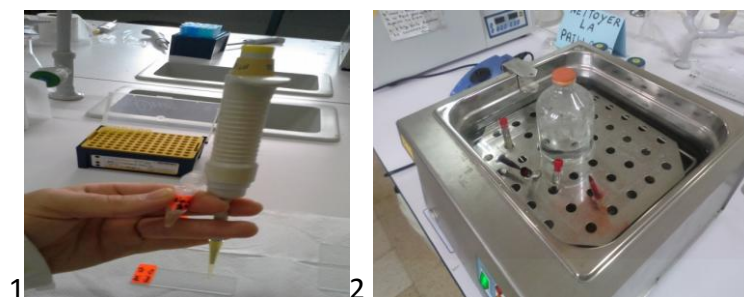


Figure 5 : 1) pipette gradué avec lambeaux identifié, 2) bain mari

Annexes

Annex 2

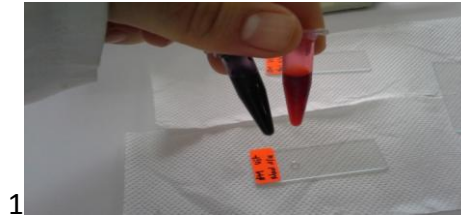


Figure 6 : 1) éosine 1% en rouge et nigrosine 10% en noir.



Figure 7 : sperme bleu et fixateur



Figure 8 : lame identifiée



Figure 9: système CASA



Figure 10: massage abdominal



Figure11: mouvements de pression de la main