

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|--|-----|
| LISTE DES FIGURES..... | p05 |
| LISTE DES TABLEAUX..... | p06 |
| GLOSSAIRE..... | p07 |
| INTRODUCTION..... | p09 |
| 1. ANATOMIE DU TRACTUS GÉNITAL ET PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION..... | p11 |
| 1.1. Anatomie de l'appareil reproduction mâle..... | p11 |
| 1.2. Anatomie de l'appareil reproducteur femelle..... | p14 |
| 1.3. Anatomie du cloaque..... | p17 |
| 1.4. Physiologie de la reproduction..... | p18 |
| 1.4.1. Les signaux environnementaux..... | p19 |
| 1.4.2. Le rôle du système hypothalamo-hypophysaire dans l'ovulation..... | p21 |
| 2. MÉTHODES DE CONTRÔLE DES CYCLES DE REPRODUCTION..... | p25 |
| 2.1. Rôle de la photopériode..... | p25 |
| 2.1.1. Action de la photopériode selon les espèces..... | p25 |
| 2.1.2. Perception de la lumière..... | p26 |
| 2.1.3. Influence de la photopériode sur la fonction reproductrice..... | p26 |
| 2.1.3.1. Photosensibilité..... | p26 |
| 2.1.3.2. Phase photoréfractaire..... | p27 |
| 2.1.3.3. Notion de jour subjectif..... | p28 |
| 2.1.3.4. Intensité et longueur d'onde..... | p28 |
| 2.2. Utilisation des programmes lumineux..... | p29 |
| 2.2.1. Application chez les femelles..... | p29 |
| 2.2.1.1. Femelles immatures..... | p29 |
| 2.2.1.2. Femelles à maturité sexuelle..... | p30 |
| 2.2.2. Application chez les mâles..... | p31 |
| 2.3. Niveau de contrôle endocrinien : GnRH..... | p31 |

| | |
|---|-----|
| 3. PRÉLÈVEMENT DE LA SEMENCE..... | p33 |
| 3.1. Périodicité des prélèvements..... | p33 |
| 3.1.1. Moment du prélèvement..... | p33 |
| 3.1.2. Détermination du statut reproducteur..... | p34 |
| 3.1.2.1. Examen macroscopique, histologique et cytologique..... | p34 |
| 3.1.2.2. Dosages hormonaux..... | p38 |
| 3.1.3. Réalisation d'une endoscopie..... | p40 |
| 3.1.4. Fréquence des prélèvements..... | p41 |
| 3.2. Méthodes de collecte..... | p42 |
| 3.2.1. Massage abdominal..... | p42 |
| 3.2.1.1. Espèces domestiques..... | p42 |
| 3.2.1.2. Espèces non domestiques..... | p44 |
| 3.2.1.2.1. Petits formats..... | p44 |
| 3.2.1.2.2. Grands formats..... | p44 |
| 3.2.1.3. Résultats..... | p47 |
| 3.2.2. Copulation sur boute-en train..... | p48 |
| 3.2.2.1. Espèces non domestiques..... | p48 |
| 3.2.2.2. Espèces domestiques..... | p49 |
| 3.2.3. Electro-éjaculation..... | p49 |
| 3.3. Conservation, transport et quantité à inséminer..... | p51 |
| 4. LES DIFFÉRENTES TECHNIQUES D'INSÉMINATION ARTIFICIELLE..... | p53 |
| 4.1. Périodicité des inséminations..... | p53 |
| 4.1.1. Espèces non domestiques..... | p53 |
| 4.1.2. Espèces domestiques..... | p54 |
| 4.2. Position requise..... | p55 |
| 4.2.1. Espèces non domestiques..... | p55 |
| 4.2.2. Espèces domestiques..... | p56 |
| 4.3. Les sites d'insémination..... | p57 |
| 4.3.1. Cloacal..... | p57 |
| 4.3.2. Intravaginal..... | p57 |
| 4.3.3. Intramagnal..... | p59 |

| | |
|--|-----|
| 4.4. Taux de réussite en fonction du site..... | p61 |
| 4.5. Injection de la semence..... | p62 |
| 4.6. Cas particulier des oiseaux conditionnés..... | p63 |
| 4.6.1. Description de la technique..... | p63 |
| 4.6.2. Impact sur la reproduction..... | p65 |
| | |
| CONCLUSION..... | p67 |
| | |
| ANNEXES..... | p69 |
| | |
| BIBLIOGRAPHIE..... | p77 |

TABLE DES ILLUSTRATIONS

FIGURES

| | |
|---|-----|
| <u>Figure 1.</u> Anatomie du tractus génital mâle au repos et en période de reproduction..... | p12 |
| <u>Figure 2.</u> Anatomie du tractus génital et urinaire chez la femelle en période de reproduction..... | p16 |
| <u>Figure 3.</u> Anatomie du cloaque..... | p18 |
| <u>Figure 4.</u> Contrôle de l'axe de reproduction par la GnRH-I et la GnIH durant la maturation sexuelle chez la poule..... | p23 |
| <u>Figure 5.</u> Aspect des biopsies testiculaires au microscope électronique (x 400) après coloration à l'hématoxyline et à l'éosine..... | p38 |
| <u>Figure 6.</u> Illustration d'un banc de récolte utilisé en industrie volaille..... | p44 |
| <u>Figure 7.</u> Technique de maintien des petites espèces non domestiques pour le prélèvement de semence par massage abdominale, exemple de <i>Melopsittacus undulatus</i> | p45 |
| <u>Figure 8.</u> Station de collection utilisée dans le cadre d'un programme de récolte de semence par massage abdominal d'Amazones à front bleu (<i>Amazona aestiva aestiva</i>) | p47 |
| <u>Figure 9.</u> Exemple de stimulateur électrique utilisé pour le prélèvement de la semence par électro-éjaculation..... | p50 |
| <u>Figure 10.</u> Technique de maintien et position d'une femelle <i>Aquila</i> spp. au cours de l'IA..... | p56 |
| <u>Figure 11 :</u> Positionnement de <i>Gallus gallus</i> sur un pupitre d'insémination en vue de l'IA..... | p57 |
| <u>Figure 12.</u> Technique de visualisation du site d'insémination vaginale sans éversion du cloaque chez <i>Aquila chrysaetos</i> | p59 |
| <u>Figure 13.</u> Illustration de la technique de l'insémination par voie intramagnale..... | p60 |
| <u>Figure 14.</u> Posture volontaire d'insémination d'une femelle conditionnée <i>Buteo jamaicensis</i> en réponse à une pression dans le bas du dos..... | p64 |
| <u>Figure 15.</u> Copulation volontaire d'un mâle <i>Aquila chrysaetos</i> sur le bras du soigneur..... | p65 |

TABLEAUX

| | |
|--|-----|
| <u>Tableau 1.</u> Phases du cycle du testicule selon l'activité et la structure des cellules germinales et l'architecture des cellules tubulaires et interstitielles pour la détermination du statut reproducteur..... | p36 |
| <u>Tableau 2.</u> Valeurs usuelles de testostérone au pic d'activité sexuelle et en dehors de la période de reproduction chez différentes espèces d'oiseaux..... | p39 |
| <u>Tableau 3.</u> Caractéristiques quantitatives des éjaculats en fonction du temps de repos entre collectes chez la pintade (<i>Numida meleagris</i>)..... | p41 |
| <u>Tableau 4.</u> Fréquence des inséminations chez les volailles domestiques..... | p54 |
| <u>Tableau 5.</u> Évolution de la fertilité selon différents sites d'insémination..... | p62 |

GLOSSAIRE

Jabot : Diverticule de l'œsophage, plus ou moins développé selon les espèces, ayant une fonction de stockage des aliments avant leur arrivée dans l'estomac, associée à une fonction glandulaire sécrétoire.

Mue : Phénomène coûteux en énergie, qui correspond à un renouvellement du plumage, dont le mécanisme et la durée varie d'une espèce à l'autre. Au sein d'une espèce, la mue varie selon l'âge de l'oiseau et de son état général.

Nyctémère : Cycle de 24 heures constitué d'une alternance jour-nuit.

Oviposition : Extériorisation du vagin au moment de la ponte.

Photopériode : Durée quotidienne d'éclairement.

Psittacidés : Famille d'oiseaux comprenant les perroquets et les perruches.

Rapace : Ce terme regroupe l'ordre des falconiformes (rapaces diurnes) qui se décline en 5 familles (Falconidés, Cathartidés, Pandionidés, Accipitridés, Sagittariidés) et l'ordre des Strigiformes (rapaces nocturnes) qui se divise en 2 familles (Tytonidés et Strigidés).

Rectrice : Terme usuel pour désigner les plumes de la queue.

Sac aérien : Organes du système respiratoire qui n'interviennent pas directement dans l'absorption du dioxygène dans le sang mais qui jouent un rôle essentiel dans la circulation de l'air et aident à refroidir le corps. On distingue les sacs aériens antérieurs (cervical, claviculaire, thoracique crânial), et les sacs aériens postérieurs (thoracique caudal et abdominal).

Scotopériode : Phase obscure du nyctémère.

Urodeum : Compartiment central du cloaque où se terminent les conduits urinaires (uretères) et génitaux (canaux déférents chez le mâle, vagin chez la femelle).

Vitellus : Ensemble des réserves énergétiques de l'ovocyte utilisées par l'embryon au cours du développement embryonnaire.

Volaille : Oiseau domestique, appartenant généralement aux galliformes ou aux ansériformes, élevé pour sa chair et ses œufs, soit en basse-cour traditionnelle, soit en élevage industriel. Les espèces les plus courantes sont : l'oie, la dinde, la poule, le canard, la pintade, le chapon, la caille, le faisan et le pigeon.

INTRODUCTION

L'insémination artificielle est mise en œuvre communément chez certaines espèces d'oiseaux d'élevage. En France, c'est le mode de reproduction principal utilisé chez la dinde (*Meleagris gallopavo*), la pintade (*Numida meleagris*) et pour obtenir le canard mulard issu d'un croisement intergénérique (*Cairina moschata x Anas platyrhynchos*) à l'origine de la production du foie gras. Chez d'autres espèces comme la poule domestique (*Gallus gallus*), l'accouplement naturel ou cochage est privilégié par rapport à l'insémination artificielle qui est principalement utilisée par les sélectionneurs [33].

L'insémination artificielle est aussi une méthode importante de reproduction pour l'avifaune sauvage captive. Elle est notamment développée aujourd'hui dans le cadre de programmes de sauvegarde d'espèces menacées. En effet, chez certaines espèces comme l'aigle ibérique (*Aquila adalberti*), la reproduction naturelle en captivité est souvent un échec. Des comportements anormaux et des facteurs de stress seraient impliqués, sans être clairement identifiés [2].

Parallèlement, l'élevage de certaines espèces communes, appartenant à la famille des psittacidés notamment, peut s'avérer difficile car ces oiseaux sont d'une part saisonniers, et d'autre part monogames [21]. Ces caractéristiques rendent difficile toute tentative de reproduction naturelle en élevage.

La reproduction assistée permet également de préserver la diversité génétique et donc participe à la conservation de l'espèce [3]. Elle évite également les éventuelles blessures pouvant survenir au cours de l'accouplement, peut réduire le stress, diminue le risque sanitaire *via* les semences contrôlées (transmission de certaines maladies sexuellement transmissibles ou maladies contagieuses) et facilite la reproduction lors de dimorphisme sexuel important comme chez la dinde d'élevage. Enfin, elle peut accroître considérablement la fertilité, parfois mauvaise chez certaines espèces [18].

Il y a plusieurs points critiques dans la pratique de l'insémination. Il faut connaître la période de fertilité de la femelle pour l'espèce choisie, récolter une quantité suffisante de semence au moment où le mâle est à un état actif de reproduction et choisir la méthode adéquate d'insémination [3].

La qualité de la semence et sa conservation doivent également être maîtrisés. Ces critères ne seront pas développés dans cette thèse puisqu'ils font l'objet de deux autres thèses : « Les caractéristiques physico-chimiques de la semence des oiseaux » et « Cryoconservation de la semence des oiseaux : étude bibliographique ».

Cet ensemble de trois thèses a été rédigé à la demande du Dr Minh Huynh, consultant Nouveaux Animaux de Compagnie au Centre Hospitalier Vétérinaire de Frégis. Il s'inscrit dans la mise œuvre d'un programme d'inséminations artificielles chez le faisan d'Edwards

(*Lophura edwardsi*) ou le tragopan satyres (*Tragopan satyra*) du parc de Clères situé dans le département Seine-Maritime (76) en France.

Cette thèse a pour objectif de présenter les techniques utilisées pour établir le statut reproducteur des mâles dans le but de réaliser un prélèvement de semence ; de connaître, voire de maîtriser la période de fertilité des femelles ; et de mettre en œuvre une méthode appropriée lors de la réalisation de l'insémination artificielle proprement dite.

Il n'est pas possible de définir des méthodes applicables à toutes les espèces d'oiseaux. En effet, la diversité des espèces d'un point de vue morphologique, biologique et comportementale rend impossible d'élargir les études à leur ensemble. Dans chaque partie, l'étude s'appuiera sur des exemples disponibles dans la littérature sur certaines espèces d'oiseaux, en essayant au maximum de présenter des études à la fois sur des espèces domestiques et des espèces non domestiques.

Pour plus de clarté, l'ensemble des espèces citées sont classées par famille et illustrées dans l'annexe 1.

Une première partie sera consacrée aux rappels anatomiques relatifs à l'appareil reproducteur des oiseaux ainsi qu'à la physiologie de la reproduction dont les caractéristiques sont indispensables à connaître pour maîtriser l'insémination.

Une deuxième partie abordera les techniques de contrôle du cycle sexuel de la femelle et du mâle dans le but d'optimiser le cycle de reproduction.

Une troisième partie décrira les techniques de prélèvements de la semence et les méthodes de détermination du statut reproducteur des mâles.

Enfin, une dernière partie présentera les différentes techniques d'insémination et développera leur utilisation chez des oiseaux dits conditionnés.

1. ANATOMIE DU TRACTUS GENITAL ET PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION CHEZ LES OISEAUX

Les organes sexuels des oiseaux 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 [40]. C'est le cas par exemple chez la dinde et le coq domestique [41].

1.1. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle

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 [41]. L'appareil génital des mâles (figure 1), 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 [22].

Les testicules sont suspendus à la paroi abdominale par un court mésorchium [12]. Ce dernier sert d'attache au testicule mais c'est aussi le support des vaisseaux et des nerfs qui le desservent [22]. Les gonades sont localisées au niveau du pôle crânial des reins, caudalement aux glandes surrénales, en rapport avec le foie et le proventricule [4]. La couleur des testicules est normalement blanchâtre même si elle peut devenir grise ou noire en liaison avec la présence de pigments de mélanine dans les mélanocytes du tissu conjonctif de chaque testicule [41].

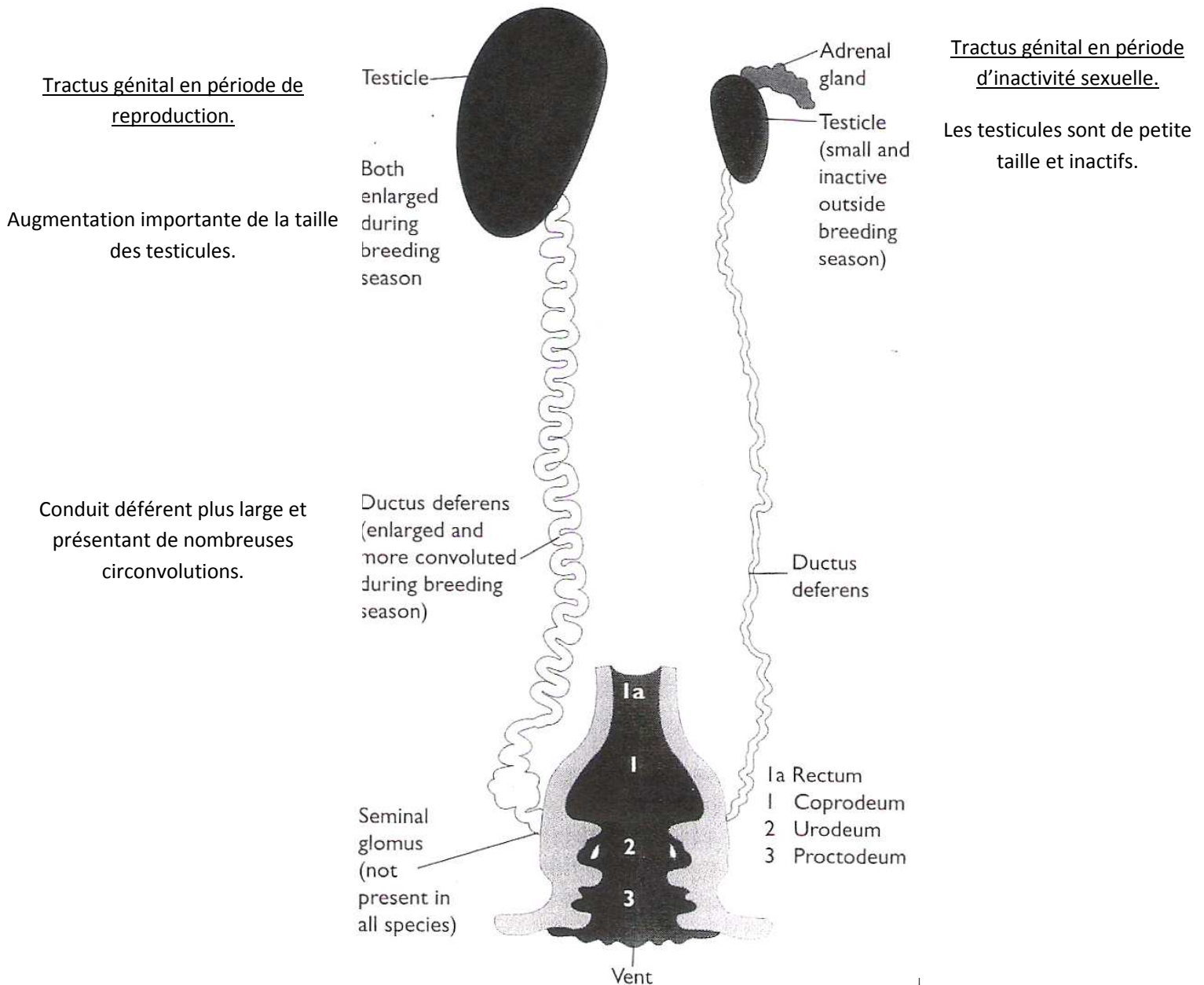
Bien que les deux testicules soient positionnés de manière symétrique par rapport au plan médian, ils sont souvent de taille asymétrique. Le testicule gauche est généralement plus grand que le droit chez de nombreuses espèces d'oiseaux, comme par exemple dans environ 60% des individus chez le coq domestique. Cependant chez certaines espèces, c'est le testicule droit qui est plus souvent de taille supérieure au gauche, comme chez la tourterelle rieuse (*Streptopelia risoria*) [41]. 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 [4].

Chaque testicule est entouré d'une fine capsule d'environ 80-90 μm d'épaisseur selon les espèces, ce qui en fait une structure relativement fragile. Une exception concerne l'autruche d'Afrique (*Struthio camelo*) chez qui la capsule est plus ferme et atteint une épaisseur moyenne de 578 μm . La capsule est constituée de la *tunica serosa*, de la *tunica adventitia* et de la *tunica vasculosa* [41].

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 [22].

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 [4, 34]. Les muscles bulbocaverneux compriment cette ampoule pendant l'accouplement, faisant jaillir le sperme dans le cloaque ou le vagin de la femelle [40]. 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 [4].

Figure 1. Anatomie du tractus génital mâle au repos et en période de reproduction [22]



Légende : Testicle = testicule ; Adrenal gland = glande surrénale ; *Ductus deferens* = conduit déférent ; Seminal *glomus* = *glomus* séminal.

Au niveau du cloaque, un *phallus* peut être présent. Il n'existe que chez les struthioniformes (émeu, kiwi, autruche, nandou, casoar), les tinamiformes (tinamou), les ansériformes (canard, oie, cygne, canarioie, kamichi) et les galliformes (dinde, poule, pintade, caille, faisan) [41]. Ce *phallus* est selon les espèces protusible (struthioniformes), ou présent mais non protrusible (galliformes). Il est absent chez la majorité des oiseaux dont les psittacidés. Le *phallus* est situé sur le plancher du *proctodeum* et il s'éverse partiellement durant la miction et la défécation [4].

Il n'y a pas d'organes ou de glandes accessoires de la reproduction connus chez les oiseaux [41].

L'irrigation des testicules est permise par une courte artère testiculaire qui provient de l'artère rénale crâniale et par une, voire deux courtes artères testiculaires accessoires qui prennent leur origine directement au niveau de l'aorte. La partie crâniale du conduit déférent est également irriguée par l'artère rénale crâniale, la partie moyenne par les artères rénales médianes et caudales, et la partie caudale par l'artère honteuse dont certaines branches vont également irriguer le cloaque et le *phallus*. Le drainage veineux des testicules est assuré par de grosses et courtes veines qui se terminent dans la veine cave caudale. Le conduit déférent est drainé par les veines satellites des artères qui irriguent cette région [41].

Contrairement aux mammifères, la spermatogénèse chez les oiseaux a lieu à température corporelle, c'est à dire entre 40 et 41°C [41]. 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. Les températures extrêmes (excessive lorsqu'elle est supérieure à 32°C ; ou trop faible soit inférieure à -5°C) inhibent la fonction sexuelle. L'état de santé est également important car tous les états pathologiques influent négativement sur la sexualité. L'alimentation doit être saine, équilibrée et en rapport avec les besoins de l'espèce. Elle doit notamment éviter un engraissement excessif [40].

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 d'un pénis pour les mâles qui en sont dotés. 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 [40].

1.2. Anatomie de l'appareil reproducteur femelle

L'ovaire et l'oviducte droits et gauches sont présents au stade embryonnaire chez les oiseaux. Cependant la répartition des cellules souches germinales devient asymétrique dès le 4^{ème} jour d'incubation : ovaire et oviducte droits régressent dès le dixième jour d'incubation. Sauf dans de rares exceptions, seuls l'ovaire et l'oviducte gauches sont donc fonctionnels dans l'appareil reproducteur des galliformes. En revanche, chez les falconiformes et les kiwis bruns (aptérygiformes), l'ensemble de l'appareil génital initial reste le plus souvent fonctionnel, même si l'on peut observer une asymétrie de taille entre les deux ovaires [22].

L'ovaire gauche est appendu à la voûte lombaire gauche par le ligament mésovarien. 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 [40]. L'ovaire pèse alors jusqu'à trente grammes chez la poule [22].

L'irrigation se fait par l'artère ovarienne qui dérive de l'artère rénale crâniale gauche ou moins fréquemment de l'aorte dorsale [22]. L'artère est toujours relativement courte, ce qui rend l'ovariectomie très délicate [4]. L'ensemble des veines ovariennes se regroupent pour former deux veines principales, une crâniale et l'autre caudale à l'ovaire, qui rejoignent la veine cave caudale. L'ovaire est innervé par des fibres adrénérgiques et cholinérgiques, et de nombreux neurones sont présents dans la thèque [22].

L'oviducte (figure 2), est un tube flexueux d'aspect homogène extérieurement. Il est suspendu à l'intérieur de la cavité péritonéale par un ligament ventral et un ligament dorsal [22]. On distingue d'un point de vue histologique et physiologique différents segments [40] :

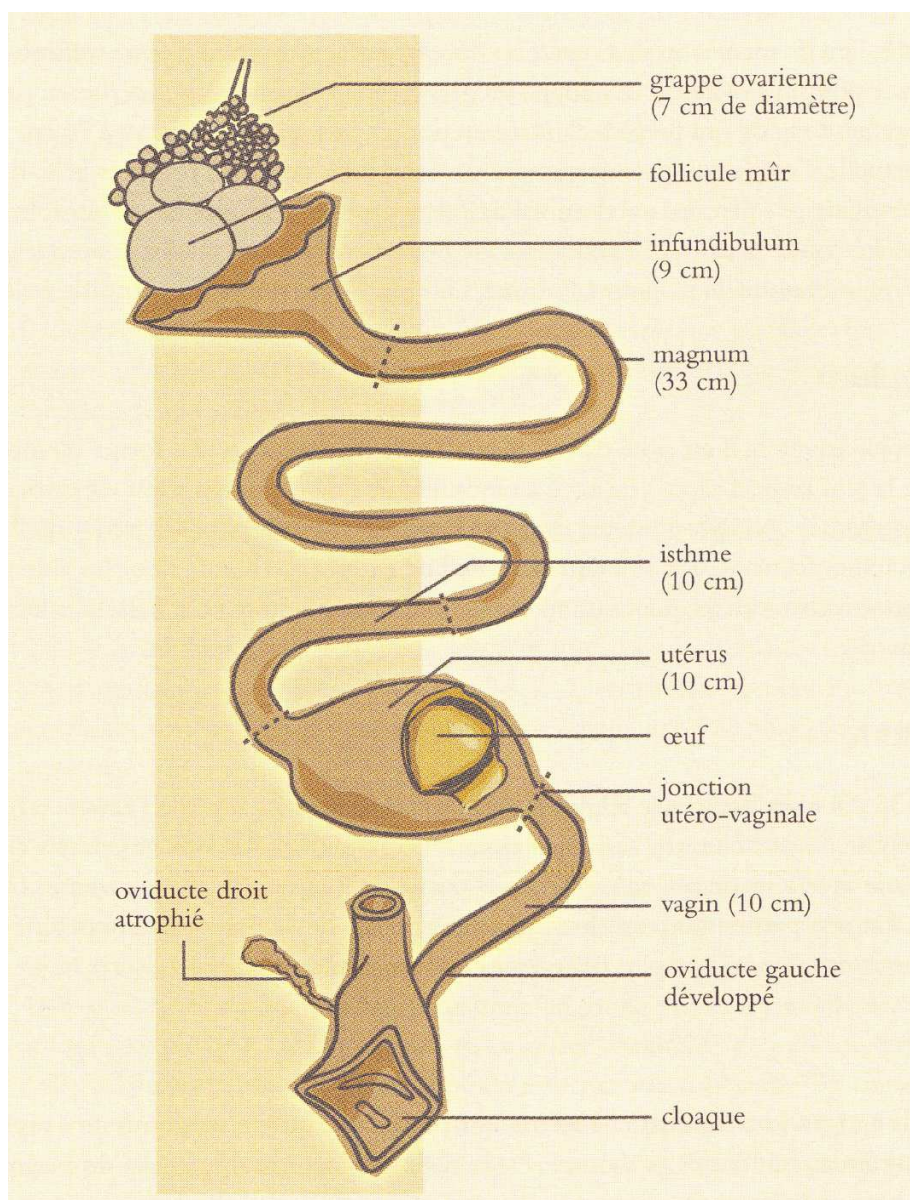
- L'*ostium* abdominal : c'est une fente de six centimètres sur trois chez la poule, située entre l'ovaire et le pavillon ;
- L'*infundibulum* : c'est le pavillon en forme d'entonnoir. Par des mouvements péristaltiques propres, il vient happer l'ovule mûr, lequel le traverse en une vingtaine de minutes. 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 [22]. 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 [22]. 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 [40].

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 [37].

Figure 2. Anatomie du tractus génital et urinaire chez la femelle en période de reproduction [27]



L'innervation est à la fois sympathique et parasympathique. Pour l'*infundibulum*, elle provient du plexus aortique et pour le *magnum*, des plexus aortiques et rénaux [22].

Une photopériode adéquate déclenche chez la femelle le comportement d'acceptation sexuelle du mâle, de construction éventuelle du nid, de ponte, puis de couvain des œufs et enfin d'élevage des poussins. L'augmentation de la durée du jour est à l'origine du déclenchement du cycle de la ponte, sa diminution va au contraire ralentir la production d'œufs, qui est interrompue par la mue. L'ovaire et l'oviducte gauches sont donc soumis à un rythme saisonnier important et leur poids varie dans un rapport de un à cinq-cents. La longueur totale de l'oviducte est ainsi chez la poule en période de repos de dix à vingt centimètres contre cinquante à soixante-dix centimètres en période de ponte [40].

1.3. Anatomie du cloaque

Le cloaque (figure 3) a une importance particulière dans la reproduction assistée car il intervient dans le prélèvement de la semence et dans l'insémination.

C'est la terminaison commune aux tractus gastro-intestinal, urinaire et génital. Il s'apparente à une chambre ouverte sur l'extérieur par un orifice. Il est divisé par l'intermédiaire de deux plis muqueux en trois compartiments : le *coprodeum*, l'*urodeum* et le *proctodeum*. La structure est similaire chez l'ensemble des oiseaux, avec pour variation principale l'absence ou la présence de structures phalliques dans le *proctodeum* [12].

Le *coprodeum* est le compartiment le plus large et le plus crânial. Il n'y a pas de distinction entre le *rectum* et le *coprodeum*, à l'exception des autruches (genre *Struthio*) qui possèdent un pli rectoprodéal et des anatidés, où il y a au contraire une modification brutale de l'apparence de la muqueuse. De nombreuses espèces présentent des plis et des villosités au niveau de la muqueuse, alors que d'autres n'en ont pas. Il reçoit et stocke les fèces provenant du côlon [12].

L'*urodeum*, central, est le plus réduit des 3 compartiments. Il est séparé des deux autres par deux plis muqueux circulaires : le pli copro-urodéal crânialement, qui peut s'étirer pour former un mince diaphragme évitant la sortie des fèces (au cours de la ponte par exemple) ; le pli uroproctodéal caudalement, semi-circulaire et dorso-latéral, absent ventralement. Les conduits urinaires s'y insèrent dorsalement et les conduits génitaux latéralement au niveau de la muqueuse de l'*urodeum*. Le conduit déférent se termine par une papille conique [12].

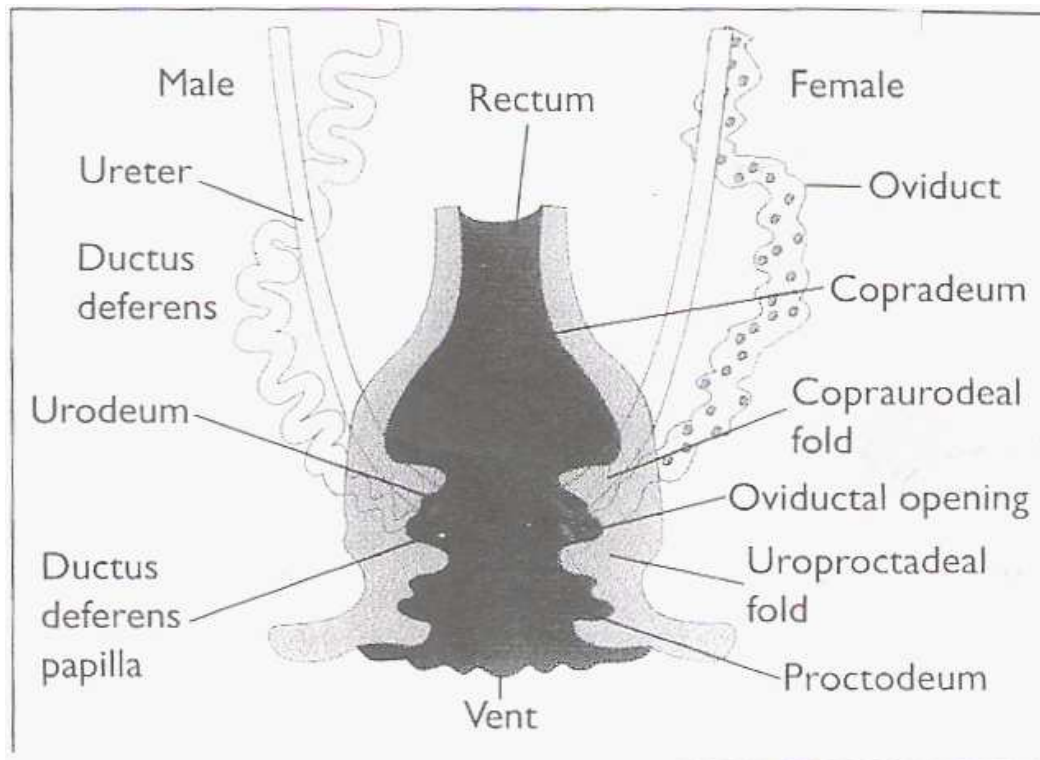
Le *proctodeum* est le plus court des compartiments situé entre les lèvres de l'orifice de sortie et le pli uroproctodéal [12].

L'orifice est une fente transverse protégée par deux lèvres ventrale et dorsale [12].

Figure 3. Anatomie du cloaque [12]

Mâle

Femelle



Légende : Ureter = urètre ; *Ductus deferens* = conduit déférent ; *Ductus deferens papilla* = papille ; Oviduct = oviducte ; Copraurideum = *coprodeum* ; Copraurideal fold = pli copro-urodéal ; Oviductal opening = ouverture de l'oviducte ; Uroproctodeal fold = pli uroproctodéal ; Vent = orifice.

1.4. 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 le biais de sécrétions neuroendocriniennes contrôle différents aspects de la reproduction. Ensuite vient l'hypophyse qui traduit l'information en sécrétions endocrines et enfin, le rôle des gonades elles-mêmes (ovaire et testicule) [41].

1.4.1. Les 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 [41].

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 [41].

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 [41].

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 [41].

Il est possible de classer les signaux environnementaux en trois types principaux.

L'information initiale correspond à la modification de la longueur du jour qui entraîne chronologiquement le développement de l'appareil reproducteur, maintient ses capacités de reproduction et régule l'arrêt des sécrétions à la fin de la saison de reproduction. L'information locale inclut la température ambiante, les réserves de nourriture et la pluviosité, qui peuvent inhiber ou stimuler les effets de l'information initiale. Enfin les interactions sociales interviennent dans la synchronisation et l'intégration de l'information [41].

Une cascade d'événements complexes intervient dans la perception, l'intégration et la transduction des signaux environnementaux en signaux chimiques (hormones, neurotransmetteurs). Les signaux chimiques initient alors les modifications morphologiques, physiologiques et comportementales [41].

Il y a différents processus impliqués. Les récepteurs spécialisés pour les signaux environnementaux extérieurs transforment ces derniers en informations nerveuses qui sont ensuite transmises au cerveau. Ce dernier intègre ces informations en fonction du statut

physiologique interne (horloge biologique, état nutritionnel, maladie...) et les renvoie vers l'hypothalamus, lequel, *via* des neurosécrétions, initie une cascade hormonale responsable des adaptations morphologiques, physiologiques et comportementales [41].

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 [41].

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 [41].

L'influence de l'alimentation, et plus particulièrement du métabolisme énergétique, sur les cycles de reproduction, a été étudié par BRIERE et *al.* [5]. Chez les espèces domestiques sélectionnées pour la production de viande, des modèles d'oiseaux hyperphagiques entraînant une croissance rapide des individus présentent quasi-systématiquement une altération des capacités de reproduction dans chacun des deux sexes.

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 [28]) 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. De plus, une proportion de plus en plus élevée de ces coqs (de l'ordre de 40 à 60% des effectifs) présente une saison de reproduction de moins en moins longue [5].

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 [5].

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 [5].

1.4.2. Le rôle du système hypothalamo-hypophysaire dans l'ovulation

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

L'hypothalamus est situé dans le plancher du 3^{ème} 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 [41].

Ce système porte est constitué d'afférences artérielles qui donnent un premier réseau de capillaires situé dans l'éminence médiane, dans lesquels les axones des neurones hypothalamiques excrètent leur neurohormone. Ces capillaires sont drainés par la veine porte hypophysaire qui chemine le long de la tige pituitaire et donne naissance à un deuxième réseau capillaire situé dans l'adénohypophyse. A ce niveau, les neurohormones sont libérées pour agir sur les cellules endocrines situées dans la *pars distalis* de l'adénohypophyse. Les hormones libérées repassent dans le réseau de capillaires et rejoignent la veine jugulaire interne [41].

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 [41].

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*

[41]. 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 [34].

Trois isomères différents de la GnRH ont été isolés chez les oiseaux : la cGnRH-I (chicken GnRH) ou GnRH-I, la cGnRH-II ou GnRH-II, et plus récemment la ir-I-GnRH-III (lamprey GnRH). La stimulation lumineuse, *via* une voie neuro-hypothalamique induit une augmentation de la sécrétion de cGnRH-I [1] qui stimule la sécrétion de LH en fonction du taux d'hormones stéroïdes circulantes, du stade de maturation de l'appareil reproducteur et du moment du cycle. Chez les femelles, le rétrocontrôle positif de la progestérone sur le pic de LH pré-ovulatoire semble être médié par une augmentation de la sécrétion de cGnRH-I. La sécrétion de FSH est moins dépendante de cette sécrétion spécifique [9].

De même la cGnRH-II aurait un effet potentiel sur la sécrétion de LH chez les mâles et les femelles. Cependant, seul le rôle de la cGnRH-I a été démontré et mis en évidence dans le système porte hypophysaire des oiseaux. La cGnRH-II aurait un rôle de neurotransmetteur qui influencerait les comportements sexuels [41].

La ir-I-GnRH-III stimulerait également la sécrétion de LH et a été mise en évidence dans l'hypothalamus et le prosencéphale du moineau domestique (*Passer domesticus*) et du bruant à couronne blanche (*Zonotrichia leucophrys gambelii*) [9].

Une autre particularité des oiseaux concernant un peptide hypothalamique inhibiteur récemment découvert, capable de réduire la sécrétion de LH : la GnIH (hormone gonadotrope inhibitrice) [1]. Durant la maturation sexuelle, le *ratio* des récepteurs cGnRH-II / GnIH change en faveur des récepteurs à la cGnRH-II et l'activité des neurones hypothalamiques devient alors stimulatrice. A l'inverse après une exposition aux jours courts une augmentation de sécrétion en GnIH est observée, laquelle apparaît comme dépendante de la sécrétion de mélatonine [1].

Ces observations suggèrent un modèle, présenté en figure 4, capable d'expliquer comment la GnIH et la GnRH interagissent en fonction de la photopériode pour contrôler la reproduction.

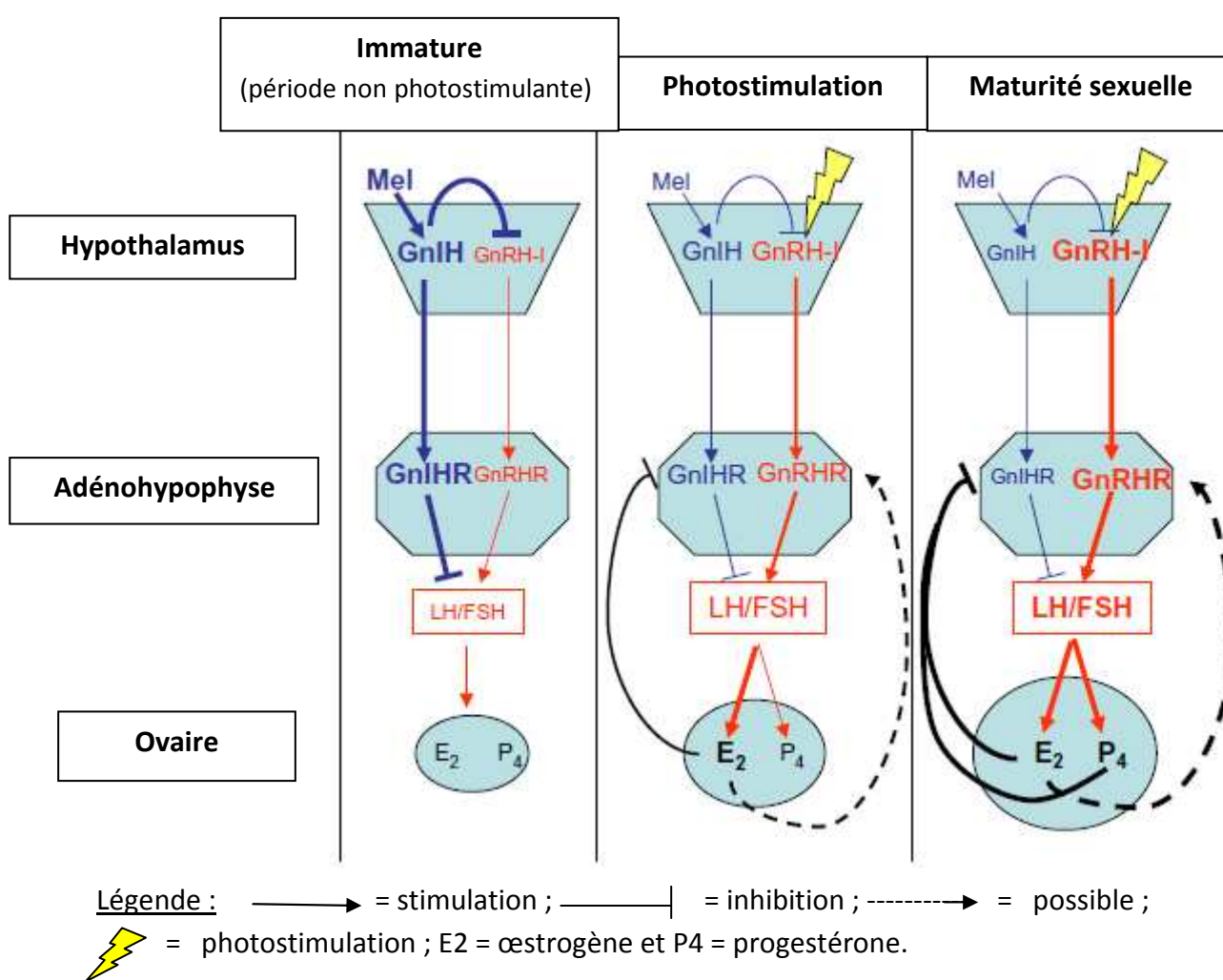
Chez les oiseaux immatures exposés à des jours courts, une augmentation du taux de mélatonine stimule la production de GnIH qui, en parallèle à l'exposition à une lumière de faible intensité, réduit la sécrétion de GnRH-I ce qui entraîne une faible sécrétion de gonadotropines (LH, FSH) [1].

Après photostimulation, le taux de mélatonine diminue ce qui entraîne une diminution de l'activité des neurones à GnIH. Simultanément, une augmentation de la durée d'exposition à la lumière entraîne une augmentation de la sécrétion de GnRH-I. Ceci entraîne une première augmentation de la sécrétion de gonadotropines par l'hypophyse qui vont être

responsables de la folliculogénèse et de la production d'œstradiol (E2). Cet œstrogène est responsable d'un rétrocontrôle négatif sur la synthèse des récepteurs à la GnIH au niveau hypophysaire [1].

Une fois à maturité sexuelle, la sécrétion de GnRH-I domine celle de GnIH ; il y a une inversion du *ratio* des récepteurs à la GnIH / GnRH-II en faveur des GnRHR-II et l'axe devient complètement fonctionnel. Un taux élevé d'œstradiol et de progestérone chez les oiseaux à maturité maintient l'inhibition des récepteurs à la GnIH. De plus l'œstradiol contribue à maintenir un taux élevé de GnRH-II [1].

Figure 4. Contrôle de l'axe de reproduction par la GnRH-I et la GnIH durant la maturation sexuelle chez la poule [1]



2. MÉTHODES DE CONTRÔLE DES CYCLES DE REPRODUCTION

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 [14].

2.1. Rôle de la photopériode

2.1.1. 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 [22].

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 [9]. 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. Néanmoins il a été démontré que certaines espèces tropicales, telles que le tarier pâle africain (*Saxicola torquata*), peuvent exprimer un photopériodisme si elles sont soumises à une variation expérimentale de la photopériode. 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 [41].

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. Des poules ou des canards maintenus à l'obscurité complète peuvent même présenter des cycles de reproduction [33].

2.1.2. Perception de la lumière

Chez les oiseaux, la perception de l'information lumineuse s'exerce à 2 niveaux. Elle agit sur la rétine par ses radiations orange et rouges (620 à 750 nm) et par voie transcrânienne sur des récepteurs essentiellement hypothalamiques. Ces derniers sont sensibles à toutes les longueurs d'onde visibles avec une pénétration maximale à 640 nm (radiations rouge-orange). Contrairement aux mammifères, la perception de la lumière est, chez les oiseaux, plus importante par voie transcrânienne que par voie oculaire, voire serait la seule voie impliquée chez certaines espèces (*Gallus gallus* notamment) [34]. La lumière transmise par voie transcrânienne est perçue grâce à un pigment photorécepteur, la rhodopsine, et ceci à la fois par l'hypothalamus lui-même et *via* la glande pinéale [33].

Cependant la pinéalectomie ne semble pas modifier la photosensibilité chez les oiseaux. Le rôle de la mélatonine serait donc, chez ces espèces, loin d'être aussi important et aussi bien démontré que chez les mammifères [33].

Ce sont donc les récepteurs hypothalamiques qui sont directement stimulés par les photons et qui transforment leur énergie en un signal chimique. La stimulation par la lumière de ces photorécepteurs entraîne alors la sécrétion de GnRH dans les heures qui suivent et ceci proportionnellement avec le flux lumineux reçu par unité de surface (en lux). De même les concentrations plasmatiques en LH et FSH augmentent durant la nuit du premier jour long [14].

2.1.3. Influence de la photopériode sur la fonction reproductrice

La lumière exerce sur la fonction reproductrice des oiseaux une double action. D'une part, elle stimule la fonction sexuelle et permet la mise en place du cycle reproducteur. D'autre part, elle permet, par le biais des alternances jour-nuit de synchroniser quotidiennement la ponte (réponse relevant du domaine des rythmes dits circadiens) [34].

2.1.3.1. Photosensibilité

Chez la plupart des oiseaux, la durée de la photopériode (c'est-à-dire de la phase claire du jour) est l'information la plus significative pour le contrôle du cycle sexuel. C'est l'augmentation de cette durée qui constitue le mécanisme déclenchant du développement des gonades, de la mue pré-nuptiale et du comportement de migration [34].

L'influence de la durée du jour sur le cycle sexuel a été démontrée chez le junco ardoisé (*Junco hyemalis*) par Rowan (1925). L'exposition pendant une durée suffisante de lumière induit une réponse du système neuroendocrine aboutissant à une augmentation importante de la sécrétion des gonadotropines (LH et FSH), de la croissance des gonades (testicule ou ovaire) et le développement des états hormonaux-dépendants incluant la modification du

comportement. Ces réponses physiologiques à l'augmentation de la durée du jour sont permises chez les oiseaux grâce à leur photosensibilité [41].

La période durant laquelle un oiseau est sensible à la lumière est appelée phase photosensible. Cette phase de photosensibilité varie selon l'espèce et la latitude sous laquelle elle vit. Dans la majorité des cas, elle se situe entre 10 et 15 heures après le réveil chez les oiseaux des latitudes moyennes ; elle se manifeste plus tôt dans la journée chez les oiseaux tropicaux et plus tard chez ceux vivant sous les latitudes les plus élevées. Par exemple elle est située environ 18 heures après le lever du jour chez le lagopède des saules (*Lagopus lagopus*) vivant à 70° de latitude nord [33]. En revanche, elle démarre environ onze heures après le début d'une phase d'éclairement et se termine environ deux heures après chez le bruant à couronne blanche (*Zonotrichia leucophrys*) vivant à 45° de latitude nord [14].

Pour que l'augmentation de la durée du jour soit stimulante pour la reproduction, il faut qu'elle ait été précédée d'une période de plusieurs semaines durant laquelle l'animal est soumis à des jours courts [27].

Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer la perception de l'information périodique. La plus largement validée est dite de coïncidence externe et suppose chez l'animal la présence d'un rythme circadien de sensibilité à la lumière. L'ampleur de la réponse sexuelle est fonction de la durée de coïncidence entre la phase claire externe et la phase de photosensibilité interne [33]. Ceci explique qu'en période de jours courts, la sécrétion de GnRH ne soit pas initiée, car la phase photosensible se situe alors pendant la scotopériode [14].

Dans les conditions habituelles d'alternance jour-nuit (cycle nyctéméral), la première augmentation de la sécrétion de LH et de FSH est d'origine uniquement nyctémérale et intervient durant la nuit qui suit le premier jour long. À la condition *sine qua non* qu'un follicule mûr soit présent, cette augmentation de LH entraînera la sécrétion de progestérone par ce follicule. Par l'intermédiaire d'un rétrocontrôle positif, la progestérone va stimuler la sécrétion de GnRH qui provoquera alors le pic de LH responsable de l'ovulation [34].

2.1.3.2. Phase photoréfractaire

Par la suite, après plusieurs mois d'exposition à des jours longs, les oiseaux redeviennent insensibles à la stimulation lumineuse et les gonades régressent, marquant la fin de la période de reproduction. Il y a donc une durée maximale d'éclairement à ne pas dépasser, au-delà de laquelle les oiseaux deviennent réfractaires à la stimulation lumineuse. Cette sensibilité ne sera alors récupérée qu'après une durée assez longue d'exposition à des jours courts [27].

Ceci s'explique par le fait que, au fur et à mesure du temps, la transduction de l'énergie photonique en signal chimique faiblit. Les oiseaux ne peuvent alors maintenir leur taux de sécrétion maximal en gonadotropines. Pendant la phase lumineuse, la sécrétion de GnRH et donc de LH et de FSH est stimulée. La LH stimule quant à elle la sécrétion des hormones stéroïdes responsables d'un rétrocontrôle négatif dit long sur l'hypothalamus et dit court sur l'hypophyse. Plus la stimulation lumineuse sera longue, plus ce feedback négatif sera important. L'adénohypophyse devient alors moins sensible à la GnRH [14].

De même, l'hypothalamus deviendrait de moins en moins sensible au rétrocontrôle positif de la progestérone [34]. Lorsque la sécrétion en gonadotropines devient trop faible, les ovaires régressent et on entre en phase photoréfractaire. Une exposition à des jours courts pendant 8 à 12 semaines est alors nécessaire pour que *Gallus gallus* soit à nouveau photosensible. Cependant, la durée de jour nécessaire à l'initiation de la phase photoréfractaire est supérieure à celle nécessaire à la photostimulation. Avec des programmes lumineux de 11 heures de lumière contre 13 heures de nuit, la fonction reproductrice est stimulée lentement sans risquer d'initier la phase photoréfractaire [14].

2.1.3.3. Notion de jour subjectif

Le passage des jours courts aux jours longs déclenche le signal photopériodique qui initie la sécrétion des gonadotropines et le développement du tractus génital nécessaire à la production des œufs. Comme nous l'avons vu précédemment, les yeux (*via* la rétine) ne sont pas indispensables à la stimulation lumineuse de la reproduction, ils jouent cependant un rôle dans la fonction synchronisatrice des rythmes lumineux circadiens [33].

Les oiseaux sont sensibles à la lumière pendant la phase photosensible qui se situe entre 10 et 15 heures après le début la journée chez les espèces des zones tempérées. Ceci ne signifie pas que la durée totale d'éclairement quotidien doive atteindre 15 heures. Dès lors qu'une phase claire du nyctémère est située entre 10 et 15 heures après l'allumage du matin, l'animal semble ignorer la ou les périodes sombres qui précèdent et présente la même réponse sexuelle qu'avec le jour long correspondant. On désigne ainsi par jour subjectif la période pendant laquelle l'animal reste éveillé et qui recouvre à la fois des périodes claires et des périodes sombres [33].

2.1.3.4. Intensité et longueur d'onde

La photosensibilité des oiseaux est dite relative. En effet ils ne réagissent qu'à partir d'un seuil d'intensité lumineuse. Il a été montré chez les dindes que le seuil d'intensité lumineuse perçue était de 0,4 lux et que l'intensité lumineuse devait être dix fois supérieure le « jour » comparée à la « nuit » pour être perçue par la dinde comme une alternance jour nuit. Ces deux critères sont nécessaires pour initier une réponse photopériodique. De même, l'importance de leur réponse à la stimulation lumineuse est fonction de cette intensité [14].

Chez la poule adulte, la production d'œufs est accrue lorsque l'intensité lumineuse augmente de 0,1 à 5 ou 7 lux mais ne varie plus pour des intensités plus élevées [33].

En ce qui concerne la longueur d'onde, il est établi que la lumière bleue est peu active à la fois sur les récepteurs oculaires et hypothalamiques des oiseaux. Les photons de longueur d'onde élevée (dans le rouge, > 700 nm) ont un pouvoir de pénétration transcrânienne 1 000 fois plus élevé que ceux des longueurs d'onde courtes (400 nm) et exercent donc, dans les conditions usuelles, un pouvoir stimulant plus élevé. Aux intensités très faibles (0,015 lux) seules les radiations rouges sont donc efficaces par voie transcrânienne mais si l'intensité augmente suffisamment, les rayonnements jaunes puis verts le deviennent également [33].

2.2. Utilisation des programmes lumineux : exemple de la poule et la dinde

2.2.1. Application chez les femelles

2.2.1.1. Femelles immatures

Une première application des programmes lumineux chez la femelle concerne la femelle immature. Le but est alors de modifier l'âge à la maturité sexuelle des individus. Une maturité sexuelle trop précoce induit la ponte d'œufs trop petits, difficilement incubables, une plus grande fragilité des coquilles (y compris en fin de ponte), des troubles de l'oviposition tels que le *prolapsus* de l'oviducte et l'apparition de doubles ovulations [33]. L'utilisation des programmes lumineux va donc avoir pour but de retarder l'entrée en ponte de la femelle [34].

Trois types principaux de programmes d'éclairage sont utilisés en bâtiments obscurs : les programmes plats dans lesquels la durée d'éclairage demeure constante toute la vie de l'animal ; les programmes de King dans lequel l'éclairage quotidien est constant (6-8 heures par jour) pendant 18-19 semaines puis augmente de 20 minutes par semaine ; et les programmes décroissants puis croissants qui consistent en une photopériode quotidienne décroissante de 15 à 30 minutes par semaine pendant 22 semaines environ, puis croissante de 20 minutes par semaines [34].

Les programmes plats ne sont pas utilisés aujourd'hui car ils affectent peu la précocité sexuelle. Les programmes décroissants retardent plus la maturité sexuelle que les programmes de King et favorise un poids d'œuf élevé alors que la méthode de King permet une production d'œufs plus importante mais avec un poids moyen plus faible. En pratique, les programmes utilisés sont intermédiaires entre ces 2 méthodes [34].

2.2.1.2. Femelles à maturité sexuelle

Pour la synchronisation d'un élevage, l'ensemble des oiseaux à maturité sexuelle doit être soumis au même cycle lumineux.

Plusieurs programmes sont aujourd'hui utilisés pour la poule ou la dinde. Ces schémas contiennent au moins une phase lumineuse (photophase) associée à une phase sombre (scotophase) sur un cycle de 24 heures [14]. Chez les poules pondeuses soumises à une photopériode quotidienne constante, la longueur de cette photopériode n'a que peu ou pas d'influence sur l'intensité de la ponte à partir d'un seuil voisin de 9 heures. À l'opposé des variations de la photopériode affectent fortement la ponte [34]. Des cycles d'éclairage fractionnés sont alors fréquemment utilisés pour modifier les rythmes d'ovulations et les caractéristiques de l'œuf [33].

Deux types de fractionnement sont utilisables : les fractionnements dits symétriques ou de type 1 dans lesquels le nyctémère de 24 heures est découpé en blocs réguliers (de 12, 8, 6, 4 ou 3 heures) ; et les fractionnements dits dissymétriques ou de type 2 dans lesquels subsiste une nuit principale de 8 ou 10 heures, seule la partie du jour restante est interrompue par des périodes sombres selon des schémas variés [33, 34].

Dans les fractionnements de type 1, aucune nuit principale n'existe plus alors et les poules sont désynchronisées au sein d'un troupeau (des œufs sont pondus tout au long des 24 heures). Ils entraînent également une légère diminution de l'intensité de ponte (entre 2 et 4 %) s'ils sont appliqués en début de période de reproduction, une augmentation du poids de l'œuf et un accroissement important du dépôt de coquille [33].

Les fractionnements de type 2, pourvu qu'ils offrent à la poule une possibilité de jour subjectif de 15 heures, ne modifient pas la répartition journalière des ovipositions (et permettent donc la synchronisation des ovipositions contrairement au fractionnement de type 1), n'affectent ni l'oviposition, ni le poids de l'œuf. Ils aident à la mise en place d'un rationnement alimentaire et permettent une économie d'énergie électrique [34].

Les oiseaux domestiques (poule, pintade, cane, dinde...) pondent leurs œufs selon des séquences régulières constituées par exemple d'une série de 5 jours consécutifs avec oviposition suivie d'un jour sans oviposition dit jour de pause. L'heure d'oviposition se décale chaque jour un peu vers le soir. Cette répartition dans le temps des ovipositions résulte de l'interférence entre le cycle endogène de maturation folliculaire (proche de 26 heures chez la poule) et un cycle externe de 24 heures. L'utilisation de cycles d'éclairage ahéméraux (différents de 24 heures mais avec une alternance jour-nuit non modifiée) avec un nyctémère artificiel de 26 heures entraîne la ponte d'un œuf par « jour de 26 heures » et supprime le jour de pause [33].

2.2.2. Application chez les mâles

Des études ont montrées que le développement testiculaire ne peut se produire qu'à partir de journées de 9 heures ou plus chez le moineau couronné (*Zonotrichia leucophrys gambelii*) et le junco ardoisé (*Junco hyemalis*) [28].

De même, chez le junco ardoisé et l'étourneau sansonnet (*Sturnus vulgaris*), le maintien d'un développement testiculaire maximum est possible pendant près d'un an voire plus en les maintenant sous 12 heures d'éclairément quotidien [28].

L'influence de la photopériode sur le développement testiculaire et la spermatogénèse a été étudié par de REVIERS [28] chez des coqs de type ponte (M 519) ou de type chair (I 99 et I 77). Il y est démontré que par rapport à des jours courts (8 heures), des jours longs (16 heures) multiplient par 2 la vitesse de croissance des testicules et avancent la maturité sexuelle d'environ 4 semaines. Mais le poids final du testicule est plus faible (en moyenne 16 grammes au lieu de 20). Chez les individus à maturité sexuelle et à poids testiculaire égal, la spermatogénèse est entre 15 à 25 % plus élevée s'ils sont maintenus sous jours longs par rapport à des jours courts, avec un nombre total de spermatozoïdes produits par testicule supérieure de 40 %. Cependant, le poids testiculaire régresse en quelques semaines sous des jours longs (dès 12 heures d'éclairément) alors qu'il reste stable en moyenne pendant plusieurs mois en jours courts.

Au contraire des oiseaux sauvages, le développement testiculaire du cop est alors possible en jours de moins de 9 heures. Il est conseillé de les maintenir sous jours de 8 heures pour maintenir leur poids testiculaire [28].

Chez la pintade mâle, les jours longs (entre 14 heures et 20 heures) accélèrent la croissance testiculaire mais le poids testiculaire atteint est plus faible (18 grammes au lieu de 28) qu'en jours courts (7 heures). En revanche, le poids testiculaire demeure plus stable en jours longs alors qu'il régresse rapidement en jours courts [28].

2.3. Niveau de contrôle endocrinien

L'administration exogène de GnRH durant la phase photoréfractaire induit une augmentation de la production de la LH donc l'hypophyse est capable de répondre à un stimulus durant cette phase [29].

La léciréline, un analogue de synthèse de la GnRH a été utilisé chez des canaris (*Serinus canaria*) [29] pour évaluer ses effets sur la reproduction. Dans cette étude, les animaux sont séparés en 4 groupes : 2 groupes de 20 couples traités avec une crème contenant des concentrations croissantes en léciréline, et 2 groupes de 10 couples témoins. Dans chaque cas, un groupe est placé sous photopériode artificielle (> 14 h) et l'autre maintenu sous

photopériode naturelle (< 9 h). Une application de crème concentrée de 1 à 4 µg/mL est effectuée chaque jour dans la région de l'aptérium (zone sans plume située dans la région droite du cou) avec des doses variant de 5 à 20 µg/kg/j pendant 4 jours.

L'intervalle de temps entre le début du traitement à base de léciréline et le début de la ponte est significativement plus court chez les animaux exposés à une lumière artificielle dans l'ensemble des groupes. De même cet intervalle est réduit chez les animaux traités par rapport aux groupes témoins, quelle que soit la photopériode [29].

Une autre étude a été réalisée chez la perruche ondulée (*Melopsittacus undulatus*) pour évaluer l'influence d'une injection d'acétate de buséréline, un analogue de la GnRH, sur l'activité reproductrice. La totalité des oiseaux traités à J0 (à la dose de 0,3 µg par voie sous-cutanée) présentaient leur 1^{ère} oviposition à J5 contre 25 % chez les individus non traités, soumis à une photopériode identique (16 heures de jour). De même, une proportion plus importante d'œufs fertiles était observée chez les oiseaux traités [9].

Ces données suggèrent que le développement folliculaire pourrait être stimulé par une injection de GnRH ce qui augmenterait la sensibilité des follicules à la LH et donc avancerait le moment de la 1^{ère} ovulation.

L'utilisation de la GnRH semble donc apporter de bons résultats pour avancer le moment de la première oviposition et améliorer la fertilité des oiseaux. Des études restent nécessaires pour déterminer la dose optimale à utiliser [9].

3. PRÉLÈVEMENT DE LA SEMENCE

Contrairement aux oiseaux d'élevage qui sont maintenus sous des conditions environnementales contrôlées et qui peuvent maximiser leur production pendant 30 à 60 semaines, les oiseaux sauvages n'ont qu'une courte saison d'activité sexuelle couvrant 30 à 120 jours. Cette contrainte majeure, associée aux comportements naturels exprimés par les oiseaux sauvages, requiert que ces derniers soient conditionnés pour le maintien et la collecte de semence avant de démarrer le prélèvement pour l'insémination artificielle [3].

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 [11].

3.1. Périodicité des prélèvements

Les prélèvements doivent être effectués lorsque l'appareil reproducteur est actif, c'est-à-dire lorsque la spermatogénèse a redémarré. En conséquence, il est nécessaire de pouvoir déterminer le statut physiologique de l'animal à un instant donné.

3.1.1. 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 [32].

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 [32].

Le cycle testiculaire annuel a été étudié chez la perruche ondulée. Quatre phases successives peuvent être mises en évidence : de début mars à fin avril, de début juin à mi-septembre, durant le mois d'octobre, de fin novembre à mi-février. Ces périodes correspondent à des phases où la durée du jour passe de 8 heures à 16 heures entre le 21 décembre et le 21 juin (jour du solstice d'été dans l'hémisphère nord), puis de 16 heures à 8

heures entre le 21 juin et le 21 décembre (jour du solstice d'hiver dans l'hémisphère nord). Chez cette espèce, le gain de poids peut être de 45 % au moment du pic de fertilité [32]. Cette augmentation s'explique par un poids testiculaire variant de 1,7 à 34,3 mg pendant la période d'inactivité sexuelle contre 173,2 à 315,4 mg au moment de la phase nuptiale [26].

De même, des recherches ont démontré que la réalisation de la parade pendant les périodes de reproduction peut être un moyen d'évaluer la qualité de la semence des oiseaux [8]. En effet, la parade constituerait l'expression d'un bon état de santé dont dépendent directement la production d'une semence de bonne qualité et la réussite de la reproduction. Cette étude a été menée avec des outardes houbara (*Chlamydotis undulata*) chez qui la parade est caractérisée par une course en cercle avec la tête maintenue très droite et les plumes blanches du cou relevées. Pendant la saison de reproduction, les mâles consacrent plusieurs heures par jour à la parade. Des injections de lipopolysaccharide (LPS) d'*Escherichia coli* à la dose de 1 mg/kg ont stimulé une réponse inflammatoire mimant une infection bactérienne.

L'état inflammatoire entraîne une réduction de la réalisation de la parade chez les mâles et impacte négativement la qualité de la semence. De même, les mâles dont la parade étaient la moins affectée par l'injection de LPS, donnait aussi de meilleurs résultats quant à la qualité de leur semence. Ces 2 paramètres semblent donc liés [8].

Les prélèvements ne sont donc à effectuer que chez des animaux en bonne santé, chez qui la parade n'est pas modifiée, et au cours de la période d'activité sexuelle. En conséquence, il s'avère nécessaire de connaître le cycle d'activité sexuelle de l'espèce considérée. La détection de cette phase au cours du cycle passe alors par la détermination du statut reproducteur de l'animal à un instant donné.

3.1.2. Détermination du statut reproducteur

3.1.2.1. Examen macroscopique, histologique et cytologique

Trois techniques sont utilisables et se réalisent sous endoscopie : une observation macroscopique du tractus génital, un examen histologique par l'intermédiaire d'une biopsie testiculaire et un examen cytologique par l'intermédiaire d'une cytoponction.

Les résultats de ces techniques ont été comparés dans une étude effectuée par HANSE et *al.* [21] chez la perruche ondulée.

Les trois procédures ont été effectuées une seule fois lors de l'examen nécropsique chez 14 mâles morts et répétées au cours de l'année chez 16 mâles vivants. Pour ce dernier groupe, entre une et cinq endoscopies sous anesthésie générale ont été réalisées sur une période d'un an, le plus souvent directement après le prélèvement de la semence, les animaux ayant été maintenus dans des conditions environnementales maîtrisées (lumière artificielle, contrôle de la température, de la disponibilité des ressources...). La biopsie

utilisée pour l'examen histologique et cytologique a été réalisé avec un trocart de 1,7 mm de diamètre.

Pour l'examen macroscopique, les testicules sont décrits en se basant sur leur couleur, leur consistance et leur taille (longueur et largeur). Le poids testiculaire peut être déduit de ces mesures en utilisant la formule P (poids testiculaire en mg) = $d \times \frac{4}{3} \pi a^2 b$ avec d correspondant à la densité du testicule ($1,087 \text{ mg/mm}^{-3}$), a correspondant à la moitié de la largeur exprimée en millimètre et b à la moitié de la longueur du testicule exprimée en millimètre. Il est alors attribué un grade au statut reproducteur [26].

Un échantillon de testicule est prélevé à partir duquel un calque par impression sur lame est réalisé puis coloré par la coloration de May-Grünwald-Giemsa. Un grade relatif au statut reproducteur est attribué selon l'activité et la structure des cellules germinales observées au microscope électronique : inactif (cellules germinales quiescentes), intermédiaire (multiplication des spermatogonies), actif (division et élongation des spermatocytes) et de nouveau intermédiaire (régression) [21].

Le reste de l'échantillon est placé dans du formol à 4,5 %. Des coupes sont réalisées puis colorées à l'hématoxyline et à l'éosine. Elles sont ensuite observées sous microscope électronique pour mesurer le *ratio* du diamètre des tubes séminifères par rapport au diamètre du tissu interstitiel périphérique, le nombre de couches de cellules germinales, la morphologie des cellules germinales et l'existence d'une lumière tubulaire. Ces critères sont utilisés pour « grader » le statut reproducteur de la même façon que pour l'examen histologique [21].

Les critères de « grading » sont récapitulés dans le tableau 1.

Tableau 1. Phases du cycle du testicule selon l'activité et la structure des cellules germinales et l'architecture des cellules tubulaires et interstitielles pour la détermination du statut reproducteur [21, 26]

| Phase du cycle testiculaire | Activité et structure des cellules germinales | Dimensions tubule et <i>interstitium</i> en μm | Nombre de couches de cellules germinales | Grade du statut reproducteur |
|--|--|---|--|------------------------------|
| Quiescence | Spermatogonies, gros noyau sphérique, peu de cytoplasme, pas de mitoses. | $T < I$ [21] $T = 30-75$ et $I > 8$ [26] | 1-2 [21] 1-4 [26] | Inactif |
| Multiplication spermatogonale | Spermatogonies et spermatocytes, augmentation du volume cytoplasmique, mitoses | $T \geq I$ $T = 75-125$ $I = 5-8$ | 2-6 4-10 | Intermédiaire |
| Division des spermatocytes et élongation | Spermiogénèse, présence de spermatides allongées, mitoses | $T > I$ $T > 125$ $I = 2-5$ | 6-10 7-12 | Actif |
| Régression | Petites cellules spermatiques, cytoplasme réduit, pas de mitoses, spermatocytes dégénérés. | $T \geq I$ | 2-6 | Intermédiaire |

Légende : T = diamètre du tube séminifère ; I = diamètre du tissu interstitiel.

Dans cette étude les résultats des examens histologiques et cytologiques ont été équivalents. Cependant, l'examen cytologique permet un traitement plus rapide des prélèvements et demande moins de matériel testiculaire ce qui constitue un avantage très important par rapport à l'analyse histologique [21].

L'évaluation du statut reproducteur par l'examen macroscopique était erronée dans 11 à 22 % des cas tout stade confondu. Cependant ces résultats diffèrent selon le statut reproducteur à déterminer. Pour mettre en évidence un statut actif ou inactif, l'examen macroscopique est suffisant dans 85 à 95 % des cas. Pour des stades intermédiaires, l'examen macroscopique permet un « grading » correct dans seulement 30 % des cas [21, 26].

La localisation des biopsies est importante pour obtenir des résultats de qualité. Trop périphérique, elle risque de fausser la gradation en raison d'un trop faible nombre de tubes séminifères observés.

Une à deux biopsies réalisées sur un testicule, même répétée tous les ans, ne semble pas avoir d'impact sur la quantité ou la qualité de la semence produite. En revanche, au-delà

de 3, elles entraînent, par un phénomène de cicatrisation, un risque d'adhérences entre les gonades et les sacs aériens et peuvent avoir un impact négatif sur la fertilité [21].

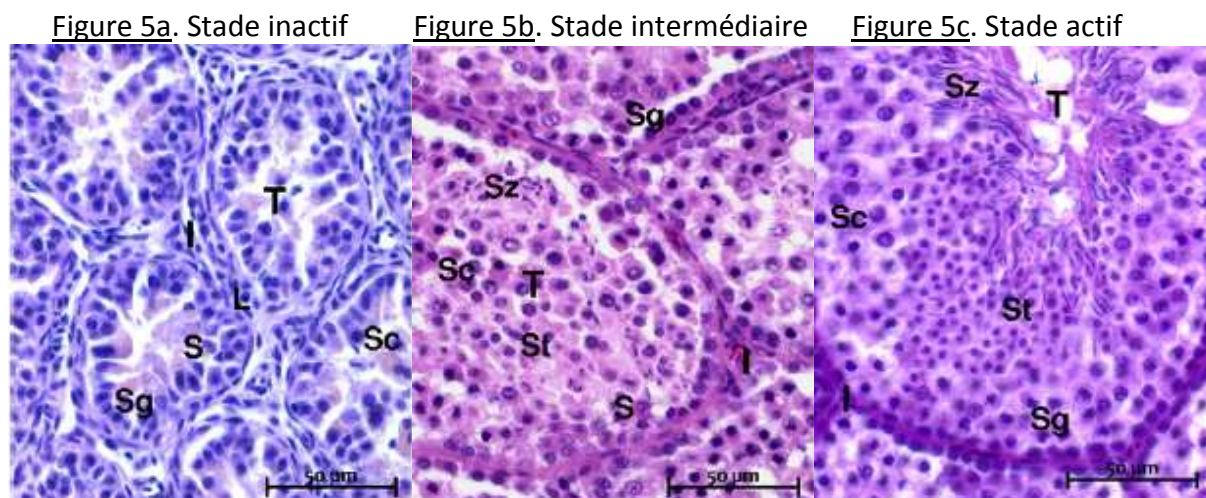
Dans une autre étude menée sur la perruche de Latham ou Swift (*Lathamus discolor*), l'examen cytologique des testicules s'est avéré plus précis pour déterminer le stade de reproduction comparé aux examens histologiques. Cependant de nombreux prélèvements ont été ininterprétables durant la période d'inactivité sexuelle à cause d'une contamination sanguine ou d'une « cellularité » insuffisante liées à la régression testiculaire [17].

La biopsie testiculaire demeure la technique majoritairement utilisée aujourd'hui. Au cours de la période non productive (figure 5a), aucune lumière n'est visible au sein des tubes séminifères, le tissu interstitiel est constitué d'au moins trois couches de cellules et l'épithélium germinale contient des spermatogonies, des cellules de Sertoli et quelques spermatocytes sont visibles.

Puis au cours de la phase d'accélération (figure 5b), quelques tubes séminifères présentent une lumière, le nombre de couches de cellules interstitielles diminuent et la paroi des tubes séminifères s'épaissit. Tous les types de cellules germinales sont représentés dans 80 % des tubules avec des spermatozoïdes épais présentant une morphologie hétérogène.

Au cours de la phase active (figure 5c), le tissu interstitiel entourant les tubules actifs présentent un maximum de deux couches cellulaires alors que 90 % des tubules contiennent jusqu'à 12 couches de cellules. L'ensemble des tubules contient tous les types de cellules germinales avec des spermatozoïdes fins et allongés.

Figure 5. Aspect des biopsies testiculaires au microscope électronique (x 400) après coloration à l'hématoxyline et à l'éosine [26]



Légende: T = tube séminifère ; I = tissu interstitiel ; Sg = spermatogonie ; Sc = spermatocytes ; St = spermatide ; Sz = spermatozoïde ; S = cellule de Sertoli ; L = cellule de Leydig.

3.1.2.2. Dosages hormonaux

Les modifications morphologiques et testiculaires qui ont lieu au cours de la période de reproduction sont principalement régularisées par des variations en concentration de testostérone circulante. L'action de la testostérone se fait *via* des récepteurs aux androgènes. La testostérone permet le développement de caractères sexuels secondaires (tel que le plumage), augmente les comportements de territorialité et d'agression, induit le comportement de cour du mâle et donc contribue au succès de l'accouplement. De même, des concentrations importantes en testostérone sont nécessaires pour initier et maintenir la spermatogénèse, ainsi que pour inhiber l'apoptose des cellules germinales [24, 36].

L'évolution du taux de testostérone au cours d'un cycle de reproduction a été étudié chez 10 oies domestiques (*Anser anser domesticus*) [24]. Chez cette espèce, la période de reproduction se situe en mars, puis une phase de repos sexuel apparaît en juillet et enfin une phase de réactivation sexuelle est observée en novembre. Le dosage de testostérone est effectué sur sang total par le biais d'une méthode radio-immunologique dans laquelle les anticorps anti-testostérone sont marqués par un radioélément et dont le dosage s'effectue en mesurant un nombre de désintégrations par seconde.

Le taux de testostérone atteint 648,2 +/- 84,5 pg/mL en période de reproduction, 53,6 +/- 7,7 pg/mL en période de repos sexuel et 160,3 +/- 43,2 pg/mL en phase de réactivation.

L'augmentation de la testostéronémie semble corrélée à une augmentation de la longueur de la protubérance cloacale [24, 36]. La mesure de cette longueur pourrait donc

servir d'indicateur pour supposer que l'oiseau a été exposé de manière prolongée à des taux élevés de testostérone.

Le dosage de la testostérone par un kit rapide de mesure utilisant une méthode immuno-enzymatique (Cat. #1-1402, Salimetrics LLC, State College, Pennsylvania) a été évalué par WASHBURN et al. [42] sur des échantillons de sang de faible volume (20 µL). Des mesures ont été effectuées chez plusieurs petites espèces d'oiseaux passériformes et columbiformes : la tourterelle triste (*Zenaida macroura*), le viréo aux yeux blancs (*Vireo griseus*), le viréo à œil rouge (*Vireo olivaceus*), et le passerin indigo (*Passerina cyanea*).

Les taux de testostérone mesurés dans cette étude sont similaires aux valeurs habituellement rapportées dans ces espèces et la sensibilité du test permet d'évaluer les fluctuations de testostérone aux différents stades de reproduction. L'utilisation de ce kit de dosage présente donc un intérêt majeur pour la mesure de la testostérone chez les petits oiseaux (< 15 g) chez lesquels seulement une petite quantité de plasma peut être collectée.

Les valeurs usuelles de testostérone chez différentes espèces d'oiseaux sont présentées dans le tableau 2.

Tableau 2. Valeurs usuelles de testostérone au pic d'activité sexuelle et en dehors de la période de reproduction chez différentes espèces d'oiseaux [16]

| Espèce | Téstostéronémie au pic d'activité sexuel (ng/mL) | Valeur basale de testostéronémie en dehors de la période reproductrice (ng/mL) |
|-----------------------------|--|--|
| <i>Gallus gallus</i> | 7,83 | 0,84 |
| <i>Meleagris gallopavo</i> | 5,60 | 0,60 |
| <i>Chlamydotis undulata</i> | 9,06 | 1,20 |
| <i>Junco hyemalis</i> | 6,75 | 1,12 |
| <i>Struthio camelus</i> | 3,63 | 1,35 |
| <i>Lagopus lagopus</i> | 1,91 | 0,17 |
| <i>Anser indicus</i> | 3,21 | 0,19 |
| <i>Anas platyrhynchos</i> | 3,44 | 0,25 |
| <i>Psittacula krameri</i> | 0,93 | * |
| <i>Columba livia</i> | 1,24 | 0,59 |
| <i>Falco tinnunculus</i> | 2,55 | 0,5 |

Légende : * = valeur non indiquée ; *Anser indicus* = oie à tête barrée ; *Psittacula krameri* = perruche à collier ; *Columba livia* = pigeon biset ; *Falco tinnunculus* = faucon crécerelle.

Les valeurs de testostérone basale et au pic d'activité sexuelle varient beaucoup selon les espèces. Il est donc important d'avoir des valeurs de référence pour déterminer le statut reproducteur d'un oiseau en fonction de la testostéronémie mesurée.

3.1.3. Réalisation de l'endoscopie

Pour déterminer le statut reproducteur, la réalisation de l'endoscopie doit être parfaitement maîtrisée. Elle s'effectue sous anesthésie générale gazeuse à l'aide d'un masque à induction. L'intubation n'est généralement pas pratiquée car la procédure est courte, de cinq à dix minutes en général. Les recommandations pour l'induction sont de maintenir l'oiseau sous isoflurane 5 % jusqu'à la perte de conscience de l'animal puis de maintenir l'anesthésie avec une concentration d'isoflurane de 1,8 à 2,5 % selon l'espèce [10].

Une approche unilatérale gauche est le plus souvent effectuée et permet d'accéder facilement au testicule gauche. L'oiseau est alors positionné en décubitus latéral droit, les ailes étendues dorsalement. Le postérieur gauche est maintenu en flexion crânialement alors que le postérieur droit est laissé en position physiologique [10].

Une petite incision est réalisée crânialement au fémur, à l'endroit où le muscle semi-membraneux rejoint la dernière côte. Les muscles abdominaux sont alors disséqués à l'aide d'une pince Adson (dissection mousse). Puis le trocart contenant l'endoscope rigide est inséré dans l'incision pour visualiser le testicule. Le mésorchium doit ensuite être incisé à l'aide de la pince à biopsie pour accéder au testicule. Cette précaution permet de diminuer la tension à exercer pour effectuer la biopsie et diminue le risque de lésions des vaisseaux sanguins testiculaires. Pour faciliter la biopsie et diminuer la tension sur les ligaments du testicule, il est recommandé de maintenir le testicule en place en le poussant légèrement contre la paroi avec l'endoscope. Le site de la biopsie doit être de préférence dans le plan médian, dans la partie crâniale du testicule, le long de sa face ventrale pour éviter toute lésion de l'épididyme ou du conduit déférent [10].

Une biopsie du testicule droit peut également être réalisée par le même abord mais nécessite de disséquer la membrane du sac aérien abdominal, le mésentère dorsal et le feuillet viscéral du péritoine. Cependant cette voie d'abord présente un risque plus important d'hémorragie car de nombreux vaisseaux sont présents dans la zone : l'aorte, l'artère crâniale mésentérique, la veine cave caudale, la veine porte hépatique et les vaisseaux testiculaires [10].

D'autres applications de la biopsie testiculaire sont utilisées couramment chez les oiseaux, lors de la recherche d'une pathologie touchant le testicule (orchite) ou d'infertilité d'origine indéterminée. Dans ce cas, on recommande de réaliser la biopsie à la fin de la saison de reproduction [4, 10].

3.1.4. 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*) [35, 23].

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 [35] 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 sur chaque mâle. Un mâle est considéré comme donneur lorsque la concentration de l'éjaculat est mesurable, c'est-à-dire dont 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 de 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 %) [35].

Tableau 3. Caractéristiques quantitatives des éjaculats en fonction du temps de repos entre collectes chez la pintade (*Numida meleagris*) [35]

| 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 ($\times 10^9$ spz/mL) | 3,0 | 3,3 | 4,5 | 5,6 | 6,0 | 5,3 | 6,5 | 7,2 |
| Nombre total de spermatozoïdes par éjaculat ($\times 10^6$) | 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 [35].

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) [23].

3.2. Les méthodes de collecte

3.2.1. Le massage abdominal

3.2.1.1. Espèces domestiques

Cette technique a été décrite chez la dinde, pour la première fois en 1935 par Quinn et Burrows [25] et est encore utilisée aujourd'hui.

Elle apparaît comme la technique la plus facile et la plus pratiquée dans le prélèvement de semence [3].

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 [34].

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 [18].

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 [34]. 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 [3]. Le mâle redresse la queue et présente son cloaque semi-éversé.

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 [34].

Cette technique peut être pratiquée par une seule personne en utilisant un banc de récolte (figure 6) mais la quantité de sperme récoltée est souvent moindre [34]. Des bancs de ce type sont utilisés communément pour la reproduction des espèces domestiques telles que la dinde et la poule [7].

Figure 6. Illustration d'un banc de récolte utilisé en industrie volaille [7]



Banc de récolte

3.2.1.2. Espèces non domestiques

3.2.1.2.1. Petits formats

Pour les petites espèces (comme la perruche ondulée), il est conseillé d'utiliser un masque à induction de taille adapté à l'espèce concernée (figure 7). Le prélèvement se réalise sans anesthésie. Un massage est appliqué de part et d'autre du cloaque à l'aide du pouce et de l'index jusqu'à récupération de la semence contenue dans les ampoules séminales. L'échantillon de semence prélevé est collecté dans un tube capillaire de 15 μ L [32].

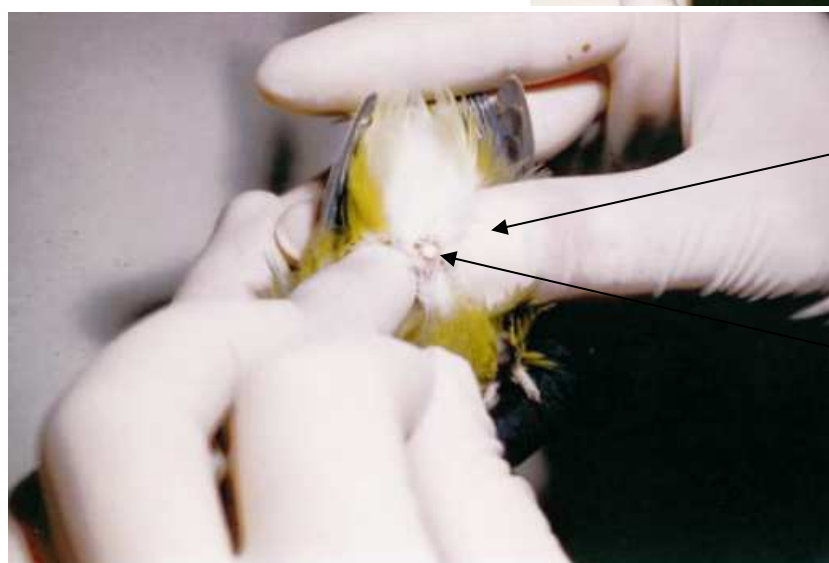
Figure 7. Technique de maintien des petites espèces non domestiques pour le prélèvement de semence par massage abdominale, exemple de *Melospittacus undulatus* [32]

Figure 7a. Maintien de l'animal

Masque à induction



Figure 7b. Technique du massage abdominale



Application du massage autour du cloaque

Goutte de semence au niveau du cloaque

La pression exercée autour du cloaque doit être douce. En cas de pression excessive on peut observer un saignement dû à la rupture de petits capillaires présents à ce niveau. La procédure doit alors être interrompue. Les saignements stoppent en général dans les quinze minutes et n'ont aucune conséquence sur la qualité des futurs prélèvements. Pour limiter les contaminations par l'urine ou les fèces, le prélèvement est effectué le matin, entre huit heures et neuf heures avant que les oiseaux ne soient actifs et n'aient pris leur repas [32].

3.2.1.2.2. Grands formats

Pour les oiseaux de grand format, comme les gruiformes, les ciconiiformes ou les falconiformes, la technique de contention est différente. Le mâle est maintenu entre les jambes du manipulateur en laissant dépasser la tête et le cou à l'arrière. En cas d'agressivité, un tube large en plastique rigide est utilisé pour y enfermer la tête de l'oiseau, rendant le cloaque accessible en toute sécurité [3].

Cette méthode de collecte a été utilisée avec succès chez de nombreuses espèces de psittacidés, même si elle demeure peu satisfaisante chez les grands perroquets [11]. Une étude a été réalisée pour développer une technique utilisable chez des perroquets amazones à front bleu (*Amazona aestiva aestiva*) et réalisable par une seule personne.

Dans un premier temps, les oiseaux sont familiarisés progressivement avec la technique de prélèvement. Ils sont manipulés de 2 fois par mois avant obtention d'une réaction positive de l'animal (début d'inversion du cloaque), jusqu'à 2 fois par semaine en fin d'étude, sur une période totale de 13 mois. La semence est prélevée sur tube à microhématocrite, sec et non hépariné.

Une station de collecte, dont une photographie est présentée en figure 8, a été construite à l'aide d'un tuyau en polychlorure de vinyle (PVC) de diamètre adapté à la taille des animaux. Le tuyau est maintenu fixé sur une poutre en bois. L'animal est inséré en décubitus sternal dans le tuyau en présentant sa tête en premier puis ses jambes sont insérées dans 2 encoches à la base du tuyau et maintenues par des lacets.

Le cloaque est ensuite nettoyé avec de l'eau tiède. Le massage commence à la base de la queue et au niveau des ailes, puis une légère pression rythmique est appliquée autour du cloaque. La manipulation se prolonge jusqu'à l'apparition d'une réaction cloacale, ou pendant environ 5 minutes si aucune réaction n'est observée [11].

Figure 8. Station de collection utilisée dans le cadre d'un programme de récolte de semence d'amazones à front bleu (*Amazona aestiva aestiva*) [11]



3.2.1.3. Résultats

L'efficacité de cette technique a été étudiée chez les rapaces par Blanco et *al.* [2]. La récolte de semence a été un succès, excepté chez certaines espèces d'accipitridés (*Aquila chrysaetos* par exemple) qui présentaient un taux de réussite de 10 %. Les quantités de semence étaient généralement faibles (10-120 μ L) et fréquemment contaminées par de l'urine. Ces deux critères semblent cependant dépendre de l'espèce, de l'individu, du moment de la collecte, de la rapidité de la manœuvre et de l'expérience du manipulateur.

Dans l'étude de Dellavolpe et Krautwad-Junghanns [11], les amazones présentaient le plus souvent une éversion cloacale en réponse au massage mais des sécrétions n'ont été visibles qu'à partir de juin et des éjaculats n'ont été obtenus qu'entre le 10 juillet et le 8 août (expérimentation réalisée dans l'hémisphère Nord) sur 13 mois de collecte. Sur 336 tentatives, au total seuls 19 prélèvements récoltés au cours du dernier mois contenaient des spermatozoïdes. Parmi ces prélèvements, 10 étaient contaminés (5 par du sang et 5 par de l'urine). Des perturbations de leur environnement (bruits, personnes étrangères) diminuent

la réceptivité des animaux au massage. Le maintien des animaux par paire ou séparément ne semble pas avoir d'influence sur les résultats chez cette espèce.

La qualité de la semence obtenue par cette technique est variable en fonction de l'espèce considérée. Par exemple, l'aigle royal et l'aigle impérial ont un *urodeum* particulièrement large avec un pli uroproctodeal moins bien marqué que chez l'aigle de Bonelli (*Aquila fasciata*), ce qui rend la contamination de la semence par l'urine plus fréquente. De plus, les oiseaux de grands formats nécessitent une pression plus importante pour stimuler leur éjaculation ce qui accroît le risque de contamination par l'urine. Les oiseaux de petits formats quant à eux, urinent plus fréquemment ce qui diminue le risque de contamination. Enfin, d'autres facteurs sont impliqués tels que le régime alimentaire, la rapidité d'exécution de la collecte et le niveau d'expérience du manipulateur [2].

3.2.2. Copulation sur boute-en-train

3.2.2.1. Espèces non domestiques

Cette technique a été initiée par des fauconniers qui utilisaient des oiseaux de proie au cours de leur saison de reproduction. Dans ce cas, les oiseaux copulent volontairement sur un dispositif spécial en réponse à un *stimulus* comportemental. Celui-ci peut-être une vocalisation adéquate, un apport de nourriture... Cette méthode ne nécessite pas de manipulateur, ce qui diminue considérablement le stress de l'animal, ainsi que les risques de traumatismes pouvant toucher aussi bien l'oiseau que le manipulateur. Un autre avantage concerne également la qualité de l'éjaculat, qui n'est que très rarement souillé par de l'urine ou des fèces dans ces conditions de collecte [3].

En revanche, le volume séminal recueilli varie significativement selon les individus. De plus, quelques oiseaux développent un comportement sexuel envers le boute-en-train, mais sans parvenir à éjaculer ou ne produisent que peu, voire pas de spermatozoïdes [3].

Cette technique a par exemple été expérimentée sur les outardes houbara entre 1989 et 1992 au Centre de Recherche National de la Faune Sauvage [30].

Les capacités de reproduction naturelle sont limitées dans cette espèce. La reproduction en captivité a en effet été entreprise chez cette espèce dans les années 90 avec un maximum de 30 % d'œufs fertiles obtenus. Ces résultats ont motivé la mise en place de l'insémination artificielle. Chez l'outarde houbara, la période de reproduction s'étend de janvier à juillet. Pendant cette période les mâles sont contrôlés deux fois par jour pour observer leur comportement de parade et les femelles quatre fois par jour pour récolter les œufs. La récolte de semence n'a été possible que pour les mâles élevés à la main après éclosion.

Une femelle factice est présentée à chaque mâle en parade. Le mâle approche, effectue sa parade pré-copulatrice et donne un coup de bec sur la tête de la femelle factice avant de

copuler. Un récipient en verre est utilisé pour récupérer la semence en le maintenant sous le cloaque du mâle durant l'éjaculation. Cette méthode a permis de prélever 489 échantillons provenant de 24 mâles sur une saison de reproduction [30].

3.2.2.2. Espèces domestiques

Une autre application de cette technique a été mise en œuvre chez le canard de Barbarie (*Cairina moschata*). 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.

Chez cette espèce cette technique apparaît comme la plus adaptée car elle est relativement simple, permet de recueillir un volume de sperme plus important comparé aux deux autres méthodes, et la semence recueillie est de meilleure qualité [20].

Cette technique efficace est encore utilisée aujourd'hui chez le canard de Barbarie et le canard commun [34].

3.2.3. Electro-éjaculation

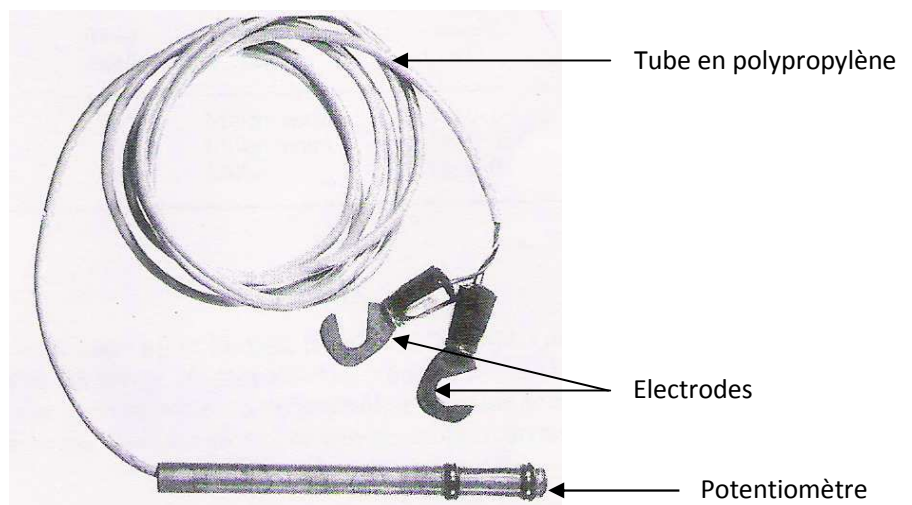
Cette technique a été appliquée chez les canards, les oies (*Anser spp.*), les pigeons (*Columba spp.*), les rapaces et chez une variété de psittacidés [3, 12]. Une anesthésie est toujours requise et l'éjaculat est fréquemment contaminé par l'urine [3].

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 [15].

Le recueil de la semence par stimulation électrique a par exemple été expérimenté par Samour et al. [31] chez trois espèces de palmipèdes : le canard colvert (*Anas platyrhynchos*), le canard de Barbarie (*Cairina moschata*) et la bernache néné (*Branta sandvicensis*).

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 9) 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 [31].

Figure 9. Stimulateur électrique utilisé pour le prélèvement de la semence par électro-éjaculation [31]



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 [31].

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 [31].

Selon Samour *et al.* [31], 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. La qualité du sperme récolté n'est pas développée dans cette étude.

3.3. Conservation et 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 Semen Extender ND) [15].

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 [15].

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 [15].

Dans le cadre d'une conservation de la semence à plus long terme, la méthode largement utilisée est la cryogénéisation. Elle ne sera pas développée ici car elle fait l'objet d'une autre thèse.

La quantité de semence à utiliser pour une insémination dépend de la qualité du sperme et de ses caractéristiques physico-chimiques. Ces critères ne seront pas développés ici car ils font également l'objet d'une thèse.

4. LES DIFFÉRENTES 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 [18].

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 [3].

4.1. Périodicité des inséminations

4.1.1. Espèces non domestiques

En général, chez les grandes espèces (*Aquila spp.*, *Grus spp.*), l'insémination est réalisée deux fois par semaine durant les deux semaines qui précèdent la ponte puis, sont inséminées après chaque oviposition. Les plus petits modèles comme l'aigle botté (*Hieraaetus pennatus*) ou le faucon d'Eléonore (*Falco eleonora*), sont inséminés trois fois durant la semaine qui précède le début de l'oviposition [3].

Les protocoles d'insémination optimaux sont dépendants de l'espèce et varient en fonction de leurs spécificités biologiques [3]. Chez les rapaces par exemple, il est souvent très difficile de réaliser une insémination avec éversion de l'oviducte chez un animal vigile avant la première oviposition. La 1^{ère} insémination est alors réalisée entre 2 et 4 heures après la ponte du 1^{er} œuf, qui est alors infertile. Si elle est au contraire réalisée entre 4 et 12 heures après l'oviposition, les œufs seront fertiles à partir de la 2^{ème} oviposition qui suit l'insémination. En moyenne, un œuf est pondu toutes les 48 heures [15].

La durée de stockage de la semence dans les glandes tubulaires de l'appareil génital femelle est habituellement définie comme l'intervalle entre la dernière insémination et la ponte du dernier œuf fertile. Cette période est un élément important à définir et permet de déterminer en pratique la fréquence des inséminations [30].

Des études de l'influence du moment de l'insémination sur la fertilité ont été menées chez l'outarde houbara. Le 1^{er} œuf n'était jamais embryonné si l'insémination avait lieu moins de 3 jours avant la ponte. Le meilleur taux fertilité (nombre d'œufs fertiles divisés par le nombre d'œufs pondus) était obtenu en inséminant entre 3 et 6 jours avant la 1^{ère} oviposition. Au-delà de 10 jours, la fertilité chutait en dessous de 50 %. Dans cette même

étude, la durée moyenne de stockage était de 10 jours avec un maximum atteignant 22 jours [30].

Il faut donc connaître la durée de la phase de fertilité pour les espèces d'intérêt. Pour les très grandes espèces, qui pondent un à deux œufs au cours de la période de reproduction, il est conseillé de démarrer les inséminations entre une et deux semaines avant la première oviposition. Par exemple chez la grue cendrée (*Grus grus*), la période de fertilité optimale se situe entre 10 et 14 jours avant la ponte du premier œuf. La fréquence des inséminations est de deux inséminations par semaine pendant deux à trois semaines avant la première oviposition, puis de quelques heures après chaque oviposition [3]. Une semence de bonne qualité peut survivre jusqu'à 12 jours dans l'oviducte [15].

Pour d'autres espèces, les inséminations peuvent être rapprochées. Par exemple la caille du Japon (*Coturnix japonica*) est inséminée un jour sur deux [3].

4.1.2. Espèces domestiques

Les femelles des oiseaux domestiques ont la particularité de pondre des œufs fécondés 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 [6].

Pour les espèces domestiques l'insémination est réalisée une première fois deux jours consécutifs (voire 3 [6]) pour être sûr de remplir les glandes tubulaires, zones de stockage des spermatozoïdes situées au niveau de la jonction utérovaginale [14].

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 [6]. Une bonne fertilité est observée chez les canards inséminés toutes les 3 semaines [3]. La fréquence d'insémination de différentes espèces domestiques est présentée dans le tableau 4.

Tableau 4. Fréquence des inséminations chez les volailles domestiques [27]

| 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 | Tous les 1,5 jours | 90-120 |
| Canard de barbarie | 2 fois par semaine | 90-120 |

Chez les oiseaux, l'insémination artificielle des femelles dans les 3-4 heures qui précèdent ou suivent l'oviposition 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 [6].

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 [3].

4.2. Position requise

4.2.1. Espèces non domestiques

La première étape consiste à attraper la femelle rapidement et de préférence dans sa cage habituelle pour éviter transport et stress. Le mainteneur approche la femelle par l'arrière et tient une patte avec l'aile du même côté dans chaque main pour mettre la femelle en position d'accouplement naturel. La tête de l'oiseau est couverte immédiatement avec une serviette pour diminuer la peur et prévenir les coups de bec. Pour les oiseaux à long cou (grues, vautours), la tête est dirigée vers le mainteneur [3].

Pour réduire le risque d'accident il est possible d'enfermer les serres des rapaces dans des sacs. Il est conseillé de ne pas permettre à la femelle de se tenir sur un perchoir ou sur le sol durant la procédure. Une exception concerne les grandes espèces (aigles) pour qui laisser les serres libres et utiliser un perchoir permet à la femelle de mieux contracter ses muscles et facilite l'éversion complète de l'oviducte [3].

Pour les espèces chez qui l'éversion complète de l'oviducte n'est pas nécessaire voire impossible, un *speculum* vaginal est utilisé. Il est recommandé de maintenir l'oiseau tête vers le bas avec le corps légèrement incliné sur la droite. L'utilisation d'une petite table pour laisser reposer la cage thoracique de l'oiseau peut améliorer le confort de l'animal. Cette technique, présentée en figure 10, permet de retenir l'urine dans l'*urodeum* et donc limite la contamination de la semence ainsi que les infections du tractus génital [3].

Figure 10. Technique de maintien et position d'une femelle *Aquila spp.* au cours de l'IA [3]



4.2.2. Espèces domestiques

Chez la dinde et la pintade, la technique nécessite le plus souvent deux manipulateurs. Le 1^{er} 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 [7].

Chez la poule, un pupitre d'insémination (figure 11) 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 11. Positionnement de *Gallus gallus* sur un pupitre d'insémination en vue de l'IA [7]



4.3. Les 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 [3].

4.3.2. Intravaginal

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 [3].

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 [13].

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. 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. Chez les grandes espèces comme

l'aigle royal (*Aquila chrysaetos*) ou l'aigle impérial (*Aquila heliaca*), l'éversion de l'oviducte est généralement difficile à partir du moment où un œuf se trouve dans l'utérus en comparaison avec les petites espèces où cette éversion peut se réaliser à tout moment du cycle [3].

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 l'éversion 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 [3].

Pour les femelles chez qui l'éversion du cloaque est impossible, l'alternative consiste à utiliser un *speculum* 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 figure 12, présente l'avantage d'être plus simple, plus rapide et moins stressante que l'éversion manuelle et est à privilégier chez certaines espèces telles que le faucon pèlerin (*Falco peregrinus*) ou chez les aigles (*Aquila spp.*). Le *speculum* 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 [3].

Figure 12. Technique de visualisation du site d'insémination vaginale sans éversion du cloaque chez *Aquila chrysaetos* [3]



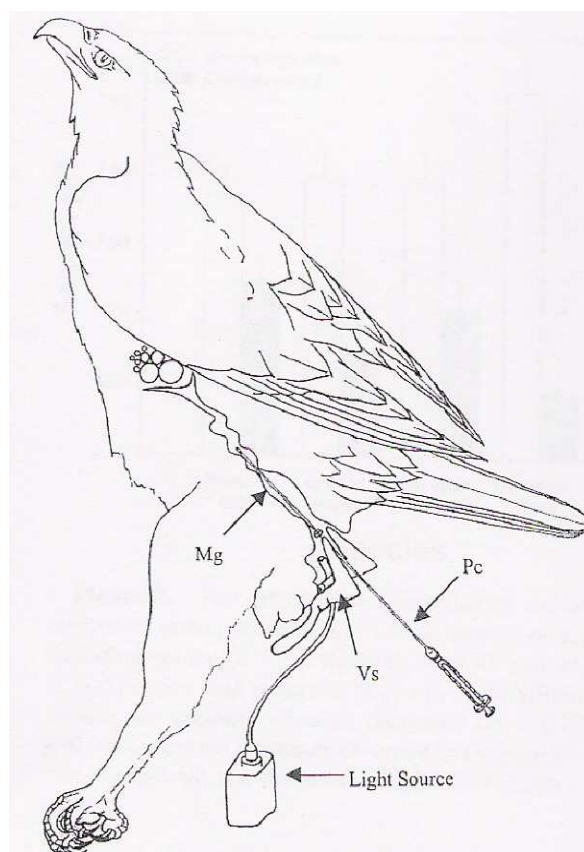
4.3.3. Intramagnal

Cette technique a été expérimentée par Blanco et *al.* [2] 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 13) 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 soulevé 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 [2].



Figure 13. Illustration de la technique de l'insémination par voie intramagnale [2]



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

Après 2 minutes, la sonde urinaire est retirée et la femelle est maintenue dans la même position encore 5 minutes. Pendant le transport de l'animal jusqu'à son enclos sa tête est maintenue vers le bas pour prévenir des reflux de semence. Les inséminations sont réalisées à 4 et 5 jours avant la première oviposition avec 6.10^5 spermatozoïdes viables [2].

La technique a ensuite été reprise par Blanco et *al.* [3] et réalisée chez de nombreux individus (comprenant différentes espèces d'aigles) sans recourir à une anesthésie ou une sédation. Les limites de cette insémination reposent sur les connaissances et la dextérité de l'opérateur, sans quoi la durée de la manipulation peut être fortement prolongée et le stress augmenté.

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 [3].

La fertilité après insémination cloacale a été étudiée chez la grue du Canada (*Grus canadensis*) chez qui elle peut atteindre 80 % [18]. 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 inséminat 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. [2], l'insémination intramagnale 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^{ème} jour et le 22^{ème} 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 5.

Tableau 5. Évolution de la fertilité chez des poules blanches selon différents sites d'insémination [39]

| Site de l'IA | Nombre de poules | 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^{ème} semaine post-insémination [39].

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 [3].

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 [3].

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 [3].

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 [3].

4.6. Cas particulier des oiseaux conditionnés

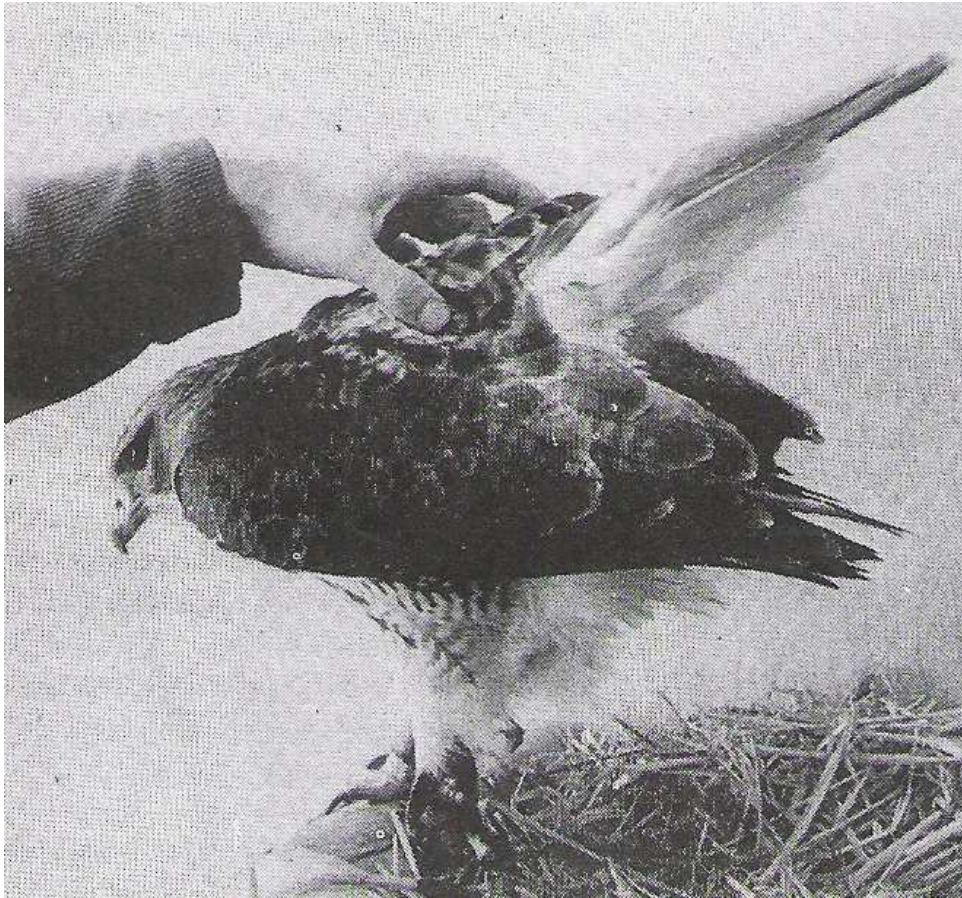
4.6.1. Description de la technique

Le conditionnement est efficace sur des oiseaux isolés de leurs parents dès leur plus jeune âge et nourris à la main [38]. Correctement entraînées, les femelles peuvent, au cours de la période de reproduction, répondre à une simulation de la parade et à des vocalises particulières venant du soigneur, par une posture de copulation et une exposition de l'oviducte. Une simple pression appliquée dans le bas du dos de l'oiseau, provoque souvent à elle seule, un réflexe chez l'oiseau qui se met en position de copulation. Habituellement, l'opérateur utilise une main pour relever les plumes de la queue et l'autre main pour insérer le cathéter dans l'oviducte et injecter la semence [3]. Cette technique est également développée pour le prélèvement de la semence. Le mâle copule alors volontairement sur le bras du soigneur qui récolte la semence avec son autre main [19].

Le conditionnement a été pratiqué par TEMPLE [38] chez la buse à queue rousse (*Buteo jamaicensis*). Un mâle et deux femelles oisillons ont été utilisés et retirés du nid puis nourris à la main et maintenus isolés des autres oiseaux. Une autre femelle adulte et mature sexuellement a également été isolée. Les deux oisillons ont développé des comportements d'imprégnation très tôt en réclamant de la nourriture et en interagissant de différentes façons avec le soigneur, comme ils le feraient avec leurs parents. A maturité sexuelle les deux buses ont développés des comportements sexuels dirigés vers le soigneur. Au contraire, la femelle prélevée de son environnement alors qu'elle était déjà mature sexuellement n'a jamais montré de signes d'activité sexuelle.

Les buses ont été manipulées tous les jours et le soigneur participait à la construction du nid, ce qui lui a permis d'établir une « relation de couple » avec les deux oiseaux imprégnés. Le mâle a été le premier à accepter de copuler et d'éjaculer dans la main à l'âge de 4 ans. À l'âge de 5 ans, la femelle a répondu à des caresses dans le bas du dos par une posture de copulation et une exposition du cloaque comme illustré dans la figure 14. L'activité sexuelle des oiseaux était intense au cours du printemps et faiblissait le reste de l'année. La femelle a pondu son premier œuf à 6 ans [38].

Figure 14. Posture volontaire d'insémination d'une femelle conditionnée *Buteo jamaicensis* en réponse à une pression dans le bas du dos [38]



Légende : le manipulateur exerce une pression dans le bas du dos, la femelle répond par une posture de copulation en relevant les plumes de la queue et en éversant son cloaque.

Grier [19] a également publié en 1975 un article où il décrivait un protocole d'insémination chez 4 aigles royaux conditionnés. Après une période d'imprégnation avec le soigneur, les 2 mâles ont développés des comportements sexuels vis-à-vis du soigneur jusqu'à copuler volontairement sur son bras, comme illustré sur la figure 15.

Les 2 femelles, même si elles ont répondu plus tardivement, ont développé également des postures d'insémination volontairement. Pour stimuler cette posture, l'auteur plaçait une main sous l'abdomen et l'autre sur le dos. En réponse, la femelle relevait la queue et présentait son cloaque. Elle acceptait plus rapidement cette posture dans les jours qui précédaient la ponte, et plus difficilement le jour suivant la ponte.

Figure 15. Copulation volontaire d'un mâle *Aquila chrysaetos* sur le bras du soigneur [19]



Légende : un bras est présenté au mâle conditionné, l'autre est laissé libre pour récupérer la semence après éjaculation.

4.6.2. Impact sur la reproduction

L'avantage majeur que procure le conditionnement est que l'oiseau n'a pas à être maintenu et n'est donc pas stressé. Il a également été montré que cette technique stimulait l'oviposition et augmentait la fertilité chez de nombreuses espèces de rapaces (aigle royal, faucon pèlerin) [3].

Chez les rapaces, c'est par copulation volontaire que la semence récoltée est le moins souvent contaminée. La copulation dure alors 10 à 20 secondes et peut être répétée 2 fois par heure durant la saison de reproduction. La manœuvre est plus facilement acceptée si elle est pratiquée tôt le matin et lorsque le climat est doux à chaud. La qualité de la semence est souvent faible en début de saison. Les grandes espèces de faucons, telles que le faucon sacre (*Falco cherrug*) et le faucon pèlerin, ne commencent à produire de la semence qu'à partir de la 2^{ème} saison de reproduction pour atteindre un pic de production au cours de la 4^{ème} saison [15].

La limite de cette technique réside dans le temps nécessaire à l'entraînement des oiseaux jusqu'à ce qu'ils acceptent la procédure. En général le conditionnement nécessite deux phases d'entraînement par jour pendant plusieurs semaines voire plusieurs mois. Cependant, une fois que le couple soigneur-oiseau est établi, l'oiseau répondra correctement à l'insémination tout le long de sa vie [3]. Le soigneur doit alors être présent pour les prélèvements au minimum 3 fois par jour durant tout le long de la saison de reproduction (au moins 6 semaines). Dans le cas contraire le mâle stoppera sa production de semence [15].

CONCLUSION

L'appareil reproducteur des oiseaux est particulier. Il est nécessaire d'en connaître l'anatomie pour pratiquer l'insémination artificielle.

Chez les femelles, l'appareil reproducteur n'est souvent constitué que de l'oviducte gauche. Un seul ovaire est donc présent et fonctionnel. Chez les mâles, les 2 testicules sont présents et fonctionnels en général. L'appareil de reproduction n'est actif que pendant certaines périodes de l'année où la photopériode est augmentée. Il subit alors des modifications morphologiques et physiologiques importantes selon une variation saisonnière.

L'activité sexuelle est soumise à de nombreux paramètres environnementaux incluant la température ambiante, l'humidité relative, l'accès à l'alimentation... En conséquence, l'environnement doit être parfaitement maîtrisé. Pour contrôler les cycles de reproduction, les femelles peuvent être maintenues dans des bâtiments fermés à éclairage artificiel.

Pour la collecte de semence chez les mâles, 3 méthodes sont décrites : le massage abdominal, l'électro-éjaculation et l'utilisation d'un boute-en-train. L'utilisation de l'une ou l'autre des techniques dépend de l'espèce considérée, de l'individu et de la technicité du manipulateur. La méthode de prélèvement a également un impact sur la qualité de la semence. Le prélèvement ne peut se faire qu'à certaines périodes de l'année, au cours de la saison de reproduction.

L'insémination peut être cloacale, intravaginale 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.

Le conditionnement des oiseaux dès leur naissance permet de diminuer fortement le stress des animaux et augmente la qualité des inséminats et la fertilité des animaux. La limite de cette pratique reste l'investissement requis en termes de temps, et l'impossibilité de changer de manipulateur.








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.








Finalement, peu d'études sont disponibles dans la bibliographie et ce domaine reste à investiguer chez de nombreuses espèces d'oiseaux. Etant donnée la diversité de l'ensemble








des familles existantes d'oiseaux il est difficile de mener des études généralisables à tous les individus. Pour chacune des étapes de l'insémination les informations sont alors disponibles seulement pour certaines familles d'oiseaux.








Annexe 1. Répartition phylogénétique et illustration des espèces citées








| Ordre | Famille | Genre | Espèce | Illustration |
|-----------------|--------------|------------|--|--|
| Accipitriformes | Accipitridés | Aquila | Aigle de Bonelli (<i>Aquila fasciata</i>) |  [Source : http://www.oiseaux.net/oiseaux/aigle.de.bonelli.html] |
| | | | Aigle ibérique (<i>Aquila adalberti</i>) |  [Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Aigle_ib%C3%A9rique] |
| | | | Aigle impérial (<i>Aquila heliaca</i>) |  [Source : http://www.oiseaux.net/oiseaux/aigle.imperial.html] |
| | | | Aigle royal (<i>Aquila chrysaetos</i>) |  [Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Aquila_chrysaetos] |
| | | Buteo | Buse à queue rousse (<i>Buteo jamaicensis</i>) |  [Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Buteo_%C3%A0_queue_rousse] |
| | | Hieraaetus | Aigle botté (<i>Hieraaetus pennatus</i>) |  [Source : http://www.oiseaux.net/oiseaux/aigle.botte.html] |







| | | | | |
|----------------|-------------|----------|---|--|
| Ansériformes | Anatidés | Anas | Canard colvert (<i>Anas platyrhynchos</i>) |  [Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Canard_colvert] |
| | | Anser | Oie cendrée (<i>Anser anser</i>) |  [Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Anser_anser] |
| | | | Oie à tête barrée (<i>Anser indicus</i>) |  [Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Oie_%C3%A0_t%C3%AAt_e_barr%C3%A9e] |
| | | Branta | Bernache néné (<i>Branta sandvicensis</i>) |  [Source : http://www.oiseaux.net/oiseaux/bernache.nene.html] |
| | | Cairina | Canard de Barbarie (<i>Cairina moschata</i>) |  [Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Cairina] |
| Apterygiformes | Apterygidés | Apteryx | Kiwi brun (<i>Apteryx mantelli</i>) |  [Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Apterygiformes] |
| Casuariiformes | Dramaiidés | Dromaius | Émeu d'Australie (<i>Dromaius novaehollandiae</i>) |  [Source : http://www.oiseaux.net/oiseaux/emeu.d.australie.html] |



| | | | | |
|---------------|------------|--------------|--|---|
| Columbiformes | Columbidés | Columba | Pigeon biset (<i>Columba livia</i>) |  [Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Pigeon_biset] |
| | | Streptopelia | Tourterelle rieuse (<i>Streptopelia risoria</i>) |  [Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Tourterelle_rieuse] |
| | | Zenaida | Tourterelle triste (<i>Zenaida macroura</i>) |  [Source : http://www.oiseaux.net/oiseaux/tourterelle.triste.html] |
| Falconiformes | Falconidés | Falco | Crécerelle d'Amérique (<i>Falco sparverius</i>) |  [Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Cr%C3%A9cerelle_d%27Am%C3%A9rique] |
| | | | Faucon crécerelle (<i>Falco tinnunculus</i>) |  [Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Faucon_cr%C3%A9cerelle] |
| | | | Faucon d'Eléonore (<i>Falco eleonora</i>) |  [Source : http://www.oiseaux.net/oiseaux/faucon.d.eleonore.html] |
| | | | Faucon des prairies (<i>Falco mexicanus</i>) |  [Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Faucon_des_prairies] |

| | | | | |
|-------------|-------------|----------|---|--|
| | | | Faucon pèlerin (<i>Falco peregrinus</i>) |  [Source : http://www.oiseaux.net/oiseaux/faucon.pelerin.html] |
| | | | Faucon sacre (<i>Falco cherrug</i>) |  [Source : http://www.oiseaux.net/oiseaux/faucon.sacre.html] |
| Galliformes | Numidés | Gallus | Poule domestique (<i>Gallus gallus domesticus</i>) |  [Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Gallus_gallus_domesticus] |
| | | Numida | Pintade (Numida meleagris) |  [Source : http://www.oiseaux.net/oiseaux/pintade.de.numidie.html] |
| | Phasianidés | Coturnix | Caille du Japon (<i>Coturnix japonica</i>) |  [Source : http://aviculture.wikibis.com/caille_du_japon.php] |
| | | Lagopus | Lagopède des saules (<i>Lagopus lagopus</i>) |  [Source : http://www.oiseaux.net/oiseaux/lagopedes.des.saules.html] |
| | | Lophura | Faisan d'Edwards (<i>Lophura edwardsi</i>) |  [Source : http://www.oiseaux.net/oiseaux/photos/faisan.d.edwards.html] |

| | | | | |
|---------------|--------------|-------------|---|---|
| | | Meleagris | Dinde (<i>Meleagris gallopavo</i>) |  <p>[Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Dindon_sauvage]</p> |
| | | Tragopan | Tragopan satyres (<i>Tragopan satyra</i>) |  <p>[Source : http://www.oiseaux.net/oiseaux/tragopan.satyre.html]</p> |
| Gruiformes | Gruidés | Grus | Grue cendrée (<i>Grus grus</i>) |  <p>[Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Grus_grus]</p> |
| | | | Grue du canada (<i>Grus canadensis</i>) |  <p>[Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Grue_du_Canada]</p> |
| Otidiformes | Otididés | Chlamydotis | Outarde houbara (<i>Chlamydotis undulata</i>) |  <p>[Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Outarde_houbara]</p> |
| Passériformes | Cardinalidés | Passerina | Passerin indigo (<i>Passerina cyanea</i>) |  <p>[Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Passerin_indigo]</p> |
| | Corvidés | Pica | Pie bavarde (<i>Pica pica</i>) |  <p>[Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Pica_pica]</p> |

| | | | | |
|--|--------------|-------------|--|--|
| | Emberizidés | Junco | Junco ardoisé (<i>Junco hyemalis</i>) |  [Source : http://www.oiseaux.net/oiseaux/junco.ardoise.html] |
| | | Zonotrichia | Bruant à couronne blanche (<i>Zonotrichia leucophrys</i>) |  [Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Bruant_%C3%A0_couronne_blanche] |
| | | | Moineau couronné (<i>Zonotrichia leucophrys gambelii</i>) |  [Source : http://en.wikipedia.org/wiki/White-crowned_Sparrow] |
| | Estrildidés | Lonchura | Padda de Java (<i>Lonchura oryzivora</i>) |  [Source : http://www.oiseaux.net/oiseaux/padda.de.java.html] |
| | Fringillidés | Serinus | Canari (<i>Serinus canaria</i>) |  [Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Serin_des_Canaries] |
| | Muscicapdés | Saxicola | Tarier pâtre africain (<i>Saxicola torquata</i>) |  [Source : http://photo.net/photodb/photo?photo_id=3022725] |
| | Passéridés | Passer | moineau domestique (<i>Passer domesticus</i>) |  [Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Moineau_domestique] |
| | Sturnidés | Sturnus | Étourneau sansonnet (<i>Sturnus vulgaris</i>) |  [Source : http://www.oiseaux.net/oiseaux/etourneau.sansonnet.html] |

| | | | | |
|----------------|-------------|---------------|--|---|
| | Viréonidés | Viréo | Viréo aux yeux blancs (<i>Vireo griseus</i>) |  <p>[Source : http://www.oiseaux.net/oiseaux/photos/vireo.aux.yeux.blancs.html]</p> |
| | | | Viréo à œil rouge (<i>Vireo olivaceus</i>) |  <p>[Source : http://www.oiseaux.net/oiseaux/photos/vireo.a.oeil.rouge.html]</p> |
| Psittaciformes | Psittacidés | Amazona | Amazone à front bleu (<i>Amazona aestiva</i>) |  <p>[Source : http://www.oiseaux.net/oiseaux/photos/amazone.a.front.bleu.html]</p> |
| | | Lathamus | Perruche de Latham ou Swift (<i>Lathamus discolor</i>) |  <p>[Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Perruche_de_Latham]</p> |
| | | Melopsittacus | Perruche ondulée (<i>Melopsittacus undulatus</i>) |  <p>[Source : http://www.oiseaux.net/oiseaux/perruche.ondulee.html]</p> |
| | | Psittacula | Perruche à collier (<i>Psittacula krameri</i>) |  <p>[Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Perruche_%C3%A0_collier]</p> |

| | | | | |
|------------------|---------------|-------------|--|---|
| Sphenisciformes | Sphenicidés | Aptenodytes | Manchot empereur (<i>Aptenodytes forsteri</i>) |  <p>[Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Manchot_empereur]</p> |
| Struthioniformes | Struthionidés | Struthio | Autruche d'Afrique (<i>Struthio camelo</i>) |  <p>[Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Autruche_d%27Afrique]</p> |

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BEDECARRATS GY *et al.* Gonadotropin-inhibitory hormone receptor signaling and its impact on reproduction in chickens. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 2009, **163**(1-2), 7-11.
- [2] BLANCO JM *et al.* Producing progeny from endangered birds of prey: treatment of urine-contaminated semen and a novel intramaginal insemination approach. *J. Zoo. Wildl. Med.*, 2002, **33**, 1-7.
- [3] BLANCO JM *et al.* Implementing artificial insemination as an effective tool for ex situ conservation of endangered avian species. *Theriogenology*, **71**, 2009, 200-213.
- [4] BRAUN L. Physiologie et maîtrise de la reproduction chez les Reptiles et les Oiseaux. Thèse Méd. Vét., Alfort, 2004, 200p.
- [5] BRIERE S. *et al.* Alimentation, fertilité et bien-être des oiseaux reproducteurs domestiques : des liens complexes. *INRA prod. Anim.*, 2011, **24**(2), 171-180.
- [6] BRILLARD JP et de REVIERS M. L'insémination artificielle chez la poule. *INRA prod. Anim.*, 1988, **2**(3), 197-203.
- [7] CASSOU B. Généralités sur l'insémination artificielle des oiseaux. In : L'aviculture française, R. ROSSET, Paris, 1988, 217-223.
- [8] CHARGE R *et al.* Male health status, signalled by courtship display, reveals ejaculate quality and hatching success in a lekking species. *J. Anim. Ecol.*, 2010, **79**(4), 843-850.
- [9] 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.
- [10] CROSTA L *et al.* Endoscopic testicular biopsy technique in Psittaciformes. *J. Avian. Med. Surg.*, 2002, **16**(2), 106-110.
- [11] 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.
- [12] DONELEY B. Avian medicine and surgery practice companion and aviary birds. Manson publishing, Londres, 2011, 19-30.

- [13] DONOGHUE AM et WISHART GJ. Storage of poultry semen. *Animal. Repro. Sci.*, **66**, 2000, 213-232.
- [14] ETCHES R.J. Reproduction in poultry. Editions CAB international, Cambridge, 1996, 318p.
- [15] FORBES NA. Captive raptor propagation. *Vet. Clin. North. Am. Exot. Anim. Pract.*, 2002, **5**(3), 649-476.
- [16] GARAMSZEGI *et al.* Testosterone, testes size, and mating success in birds: a comparative study. *Hormones and Behavior*, 2005, **47**, 389– 409.
- [17] GARTRELL BD. Assessment of the reproductive state in male swift parrots (*Lathamus discolor*) by testicular aspiration and cytology. *J. Avian Med. Surg.*, 2002, **16**, 211–217.
- [18] GEE GF et MIRANDE CM. Artificial insemination. *In* : ELLIS DH, GEE GF, MIRANDE CM. *Cranes : their biology, husbandry, and conservation*. Washington, 1996, 365-373.
- [19] GRIER JW. Techniques and results of artificial insemination with Golden eagles. *Raptor Res.*, 1973, **7**(1), 1-12.
- [20] GVARYAHI G *et al.* An improved method for obtaining semen from Muskovi drakes and some of its quantitative and qualitative characteristics. *Poult. Sci.*, 1984, **63**, 548-553.
- [21] HANSE M *et al.* Comparative examination of testicular biopsy samples and influence on semen characteristics in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *J. Avian Med. Surg.*, Germany, 2008, **22**(4), 300-309.
- [22] JOHNSON AL. Reproduction in the female. *In* : Sturkie's Avian Physiology. 5^{ème} ed. Academic Press, USA, 2000, 569-600.
- [23] 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.
- [24] LESKA A *et al.* Seasonal changes in the expression of the androgen receptor in the testes of the domestic goose (*Anser anser f. domestica*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 2012, **179**, 63–70.
- [25] QUINN JP et BURROWS WH. Artificial insemination in fowls. *J. Heredity.*, 1936, **27**, 38-37.
- [26] REITEMEIER S *et al.* Evaluating the reproductive status of the male budgerigar (*Melopsittacus undulatus*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 2011, **171**(3), 350-358.

- [27] Reproduction des animaux d'élevage. 2ème éd. Educagri editions, Dijon, 2005, 409 p.
- [28] de REVIERS M. Photopériodisme, développement testiculaire et production de spermatozoïdes chez les oiseaux domestiques. *INRA Prod. Anim.*, 1996, **9**(1), 35-44.
- [29] ROBBE D *et al.* Use of a synthetic GnRH analog to induce reproductive activity in canaries (*Serinus canaria*). *J. Avian Med. Surg.*, 2008, **22**(2), 123-126.
- [30] SAINT JALME M. *et al.* Artificial insemination in hubara bustards (*Chlamydotis undulata*) : influence in the number of spermatozoa and insemination frequency on fertility and hability to hatch. *J. Reprod. Fertil.*, 1994, **100**, 93-103.
- [31] SAMOUR JH *et al.* Studies on semen collection in waterfowl by electrical stimulation. *Br. Vet. J.*, 1985, 141:265.
- [32] 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.
- [33] SAUVEUR B. Photopériodisme et reproduction des oiseaux domestiques femelles. *INRA Prod. Anim.*, 1996, **9**(1), 25-34.
- [34] SAUVEUR B. et DE REVIER M. Reproduction des volailles et production d'œufs. Editions Quae, 1988, 449 p.
- [35] SEIGNEURIN F. Fréquence de collectes de sperme et ses applications à la selection chez la pintade. *In* : Contrôle of fertility in domestic birds (les colloques de l'INRA n°54), Ed. INRA, Paris, 1990, 185-194.
- [36] STEVENSON TJ *et al.* Variation in the gonadotrophin-releasing hormone-1 and the song control system in the tropical breeding rufous-collared sparrow (*Zonotrichia capensis*) is dependent on sex and reproductive state. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 2012, **178**, 1-7.
- [37] 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.
- [38] TEMPLE SA. Artificial insemination with imprinted birds of prey. *Nat.*, 1972, **237**, 287-288.
- [39] 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.
- [40] VILLATE D. *Maladie des volailles*. 2ème éd. France Agricole Editions, 2001, 400p.

[41] 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.

[42] WASHBURN BE *et al.* Using a commercially available enzyme immunoassay to quantify testosterone in avian plasma. *The Condor*, 2007, **109**, 181–186.

LES TECHNIQUES DE PRÉLÈVEMENT ET D'INSÉMINATION ARTIFICIELLE CHEZ LES OISEAUX

Nom : PICHEREAU

Prénom : Alexandra

Résumé :

L'insémination artificielle reste encore aujourd'hui une technique délicate à mettre en œuvre chez de nombreuses espèces d'oiseaux. Elle représente pourtant un outil indispensable pour assurer la sauvegarde de certaines espèces dont la reproduction naturelle en captivité est souvent un échec. Le but de cette étude est de faire le point sur les différentes techniques de prélèvement de semence et d'insémination artificielle utilisées aujourd'hui et leurs applications chez différentes espèces. De même, elle expose les méthodes pour déterminer ou maîtriser la période de fertilité de la femelle et le statut reproducteur du mâle. L'objectif est de pouvoir appliquer ces techniques chez différentes espèces, que ce soit dans le cadre d'une reproduction chez un particulier ou dans un programme de reproduction en parc naturel.

Il ressort de l'étude que la méthode de massage abdominal reste la méthode la plus utilisée et la plus facile à mettre en œuvre chez de nombreuses espèces. Le prélèvement ne peut être effectué que lorsque le mâle est à un statut actif de reproduction dont la détermination nécessite la réalisation d'une endoscopie sous anesthésie générale. Les méthodes de synchronisation des femelles passent par la maîtrise de la photopériode en environnement confiné, méthode peu applicable aux espèces sauvages en raison du stress trop important auquel elles sont soumises. L'insémination peut alors se pratiquer sous anesthésie générale ou vigile selon les espèces.

La mise en place d'un conditionnement permet de s'affranchir de l'anesthésie générale et de réduire le stress de l'animal, que se soit pour le prélèvement de semence et la réalisation de l'insémination artificielle. Cette technique reste cependant difficilement réalisable car elle demande beaucoup d'investissement en termes de temps.

Mots clés : INSEMINATION ARTIFICIELLE ; TECHNIQUE DE PRELEVEMENT ; COLLECTE DE SEMENCE ; PHOTOPERIODE ; IMPREGNATION COMPORTEMENTALE ; MASSAGE ABDOMINAL ; PROGRAMME LUMINEUX ; OISEAU.

Jury :

Président : Pr

Directeur : Dr. FONTBONNE Alain

Assesseur : Dr. ARNE Pascal

SEMEN COLLECTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION IN BIRDS

Surname : PICHEREAU

Given name : Alexandra

Summary :

Artificial insemination remains difficult in some species of birds, and as natural mating is frequently a failure, it's a necessary practice to ensure the protection of endangered species. The purpose of this study is to describe the different methods to collect semen and to realize insemination in different bird's species, and to expose the different ways to determine or control fertility period in both females and males. The aim is to be able to apply this techniques in different species, for bird's owner or in a breeding program.

Abdominal massage is the easiest and the most common method to collect bird's semen. The collect has to be done while the male is on active reproduction. The status of each bird is determined by endoscopy under general anesthesia. Synchronization in females needs a photoperiod control. A confined building may be used but it is stressful for undomesticated species. Insemination can be realized vigil in trained birds or under general anesthesia.

Cooperative insemination technique could be used to reduce stress and avoid anesthesia. However this method needs a lot of time to be applied.

Keywords : ARTIFICIAL INSEMINATION ; SAMPLING TECHNIQUE ; SEMEN COLLECTION ; PHOTOPERIOD ; IMPREGNATION ; ABDOMINAL MASSAGE ; LIGHTING PROGRAM ; BIRD.

Jury :

President : Pr.

Director : M. FONTBONNE Alain

Assessor : M. ARNE Pascal

