

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Mouloud Mammeri de
Tizi-Ouzou



Faculté de Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques
Département de Biologie

Mémoire de Master

Spécialité : Sciences Biologiques

Option : Biologie et Physiologie de la Reproduction

Thème

**Etude histomorphométrique de la gonade mâle chez
le poulet reproducteur de type *Cobb 500* en élevage
rationnel dans la région d'Azazga : essai préliminaire.**

Présenté par

RAMDANI Massissilia

RAFIL Cylia

Soutenu Septembre 2017 devant le jury composé de :

Président :	M ^r	DEBIANE H.	MCB	UMMTO
Promotrice :	M ^{me}	HAMIDOUCHE Z.	MCA	UMMTO
Co-promoteur :	M ^{me}	LAKABI L.	MCB	UMMTO
Examinatrice :	M ^{me}	LOUNAOUCI Gh.	MAA	UMMTO
Examinatrice :	M ^{me}	GUENDOUZI S.	MAA	UMMTO

Année Universitaire : 2016-2017

Remerciements

Notre travail pratique a été possible par un élan de solidarité professionnelle et scientifique de M^r HAMIDOUCHE Cherif, Docteur vétérinaire et propriétaire d'un cheptel aviaire dans la région d'Azazga Willaya de. Tizi-Ouzou. Merci d'avoir financé notre travail expérimental par le sacrifice d'animaux reproducteurs de grande valeur pour votre élevage. Merci de nous avoir accueilli dans votre établissement et de nous avoir donné toutes les explications et les informations utiles pour notre travail. Nous tenons à vous témoigner notre profond respect.

Avant tout nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à M^{me} HAMIDOUCHE Z, qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être notre promotrice, de nous diriger tout au long de notre travail, pour toute l'aide et le temps qu'elle nous a consacrée. Nous vous remercions très sincèrement pour votre patience.

Nous remercions vivement M^{me} LAKABI L. pour sa disponibilité sans conditions, ses remarques pertinentes et ses conseils précieux. Merci Madame d'avoir accepté de nous co-diriger. Nous voudrions vous témoigner ici l'expression de notre profond respect.

Nous tenons à remercier Le professeur YACOUB de nous avoir accueillie dans son laboratoire pour la réalisation de notre travail qui intervient dans la thématique de l'équipe. Nous voulons lui témoigner, ici, notre profond respect.

Nous tenons à remercier M^r Bouahmed abdelkader et M^{me} Simouhammed-Hamidouche Chafiaà pour leur aide dans notre étude statistique et leurs conseils. Nous voudrions vous témoigner ici l'expression de notre profond respect.

A M^r DEBIANE H. qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury, sincères remerciements et notre immense gratitude.

Notre grande reconnaissance et la marque de notre profond respect à Madame LOUNAOUCI GH. Et Madame GUENDOUI S. d'avoir accepté d'examiner notre travail et nous faire profiter de leurs savoirs.

Nous remercions, M^{me} Nait cherif L pour son aide et ces conseils.

Figure 1 : Anatomie de l'appareil génital du coq	3
Figure 2 : structure histologique de l'épithélium séminifère et du tissu interstitiel.....	5
Figure 3 : Structure du spermatozoïde de coq.....	7
Figure 4 : Cellule de Sertoli et cellules germinales.....	8
Figure 5 : fonction endocrine du testicule et sa régulation.....	13
Figure 6 : effet de la lumière sur la fonction de reproduction.....	15
Figure 7 : Bâtiments d'élevage.....	18
Figure 8 : Lieu de l'étude.....	19
Figure 9 : Sacrifices et prélèvements.....	20
Figure 10 : Etape de fixation.....	21
Figure 11 : Technique de coloration pour préparations histologiques.....	24
Figure 12 : Station d'observation microscopique et de traitement d'images.....	25
Figure 13 : Analyse morphométrique sur logiciel AxioVision.....	26
Figure 14 : Evolution pondérale moyenne des animaux en fonction de l'âge.....	30
Figure 15 : Evolution de poids moyens des testicules gauche et droit en fonction de l'âge...	31
Figure 16 : Evolution du poids testiculaire par rapport au poids corporel.....	32
Figure 17 : Evolution du poids testiculaire moyen relatif à 100g de poids corporel.....	33
Figure 18 : Testicule de poulet âgé de 19S, pré-puberté.....	34
Figure 19 : Testicule du poulet âgé de 22S, engagement de la puberté.....	35
Figure 20 : Testicule du poulet âgé de 25S, adulte.....	36
Figure 21 : Variation des surfaces des tubes séminifères en fonction de l'âge.....	40
Figure 22 : Variation du diamètre des tubes séminifère en fonction de l'âge.....	41
Figure 23 : Variation de la surface des lumières en fonction de l'âge.....	42
Figure 24 : Variation des diamètres des lumières des tubes séminifères en fonction de l'âge.....	43
Figure 25 : Variation des hauteurs des épithéliums en fonction de l'âge.....	44

Tableaux

Tableau I: Evolution de diamètre testiculaire des poulets en fonction de l'âge.....32

Tableau II : Tableau récapitulatif de l'analyse de variance (test de Tukey).....44

Planches

Planche I: Variation de l'état du testicule du poulet reproducteur mature au sein d'une exploitation intensive. Observation au microscope photonique.....38

A : Activité

CPG : cellules germinales primordiales

CL : Cellule de leydig.

CM : Cellule myocytaire

DMR1 : double sex and mab-3 related transcript factor 1

ESM : erreur standard a la moyenne

FSH: hormone folliculo-stimulante

G: grossissement

g: gramme

GnRh : Gonadotropin-releasing hormone

LH : hormone lutéinisante

LU : Lumière.

R : repos

SC : Spermatocyte

SDa : Spermatide allongée

SDr : Spermatide ronde

SG : Spermatogonie.

SPZ : Spermatozoïde

TS : Tube séminifère.

VS : Vaisseau sanguin.

µm : micromètre

.

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des planches	
Liste des abréviations	
Introduction	1
CHAPITRE I: Synthèse bibliographique	
1. Ontogenèse et embryologie du testicule.....	3
2. Rappels anatomiques	4
2.1. Anatomie du testicule	5
2.2. Histologie du testicule	6
2.2.1. Cellule de l'épithélium séminifère.....	6
2.2.1.1. Cellule germinale male.....	6
a. Spermatogonie.....	7
b. Spermatocyte primaire.....	7
c. Spermatocyte secondaire	8
d. Spermatide.....	8
e. Spermatozoïde	8
2.2.1.2. Cellule souche épithéliale.....	9
2.2.1.3. Cellule de Sertoli.....	9
2.2.2. Tissu interstitiel	11
2.2.2.1. Cellule de Leydig.....	11
3. Développement testiculaire	11
3.1. Développement du testicule de poulet durant la période embryonnaire.....	11
3.2. Développement postnatal du testicule de poulet.....	12
3.2.1. Pré-puberté.....	12
3.2.2. Puberté.....	12
3.2.3. Maturité sexuelle	12
4. Physiologie testiculaire.....	13

4.1. Fonction exocrine du testicule : production de spermatozoïde.....	13
4.2. Fonction endocrine du testicule.....	14
5. Contrôle endocrinien de la fonction de reproduction et sa régulation.....	15
6. Effet de l'intensité et de la durée de la lumière sur le développement testiculaire.....	16

CHAPITRE II: Matériels et méthodes

1. Matériel biologique	20
1.1. Modèle animal.....	20
2. Conditions d'élevage.....	20
2.1. Bâtiment d'élevage.....	20
2.2. Paramètres d'élevage contrôlés.....	21
2.2.1. Luminosité.....	21
2.2.2. Température	21
2.2.3. Alimentation.....	22
3. Expérimentation	22
3.1. Sacrifices et prélèvements.....	23
4. Méthodes d'analyse.....	23
4.1. Etude histologique.....	23
4.1.1. Fixation des échantillons.....	24
4.1.2. Déshydratation	24
4.1.3. Eclaircissement ou imprégnation par le liquide intermédiaire.....	25
4.1.4. Imprégnation	25
4.1.5. Inclusion.....	25
4.1.6. Confection des coupes.....	25
4.1.7. Déparaffinage et réhydratation.....	26
4.1.7.1. Déparaffinage	26

4.1.7.2. Réhydratation	26
4.1.7.3. Coloration.....	26
4.1.8. Le montage des lames pour observation microscopique.....	27
4.1.9. Observation microscopique et prise des photos	27
4.2. Etude histomorphométrique	28
4.3. Etude statistique... ..	29

CHAPITRE III : Résultats

1. Eude macroscopique	30
1.1. Evolution du poids des animaux	30
1.2. Evolution des poids et diamètres des testicules	31
1.2.1. Poids des testicules.....	31
1.2.2. Diamètre des testicules.....	32
1.3. Evolution du poids testiculaire par rapport au poids corporel	32
1.4. Evolution du poids testiculaire relatif à 100 g de poids corporel.....	33
2- Etude microscopique.....	34
2.1. Analyse histologique des tubes séminifères.....	34
2.1.1. Dix-neuf semaines d'âge: Poulet pré-pubère	34
2.1.2- Vingt-et-une semaines d'âge: Début de la stimulation lumineuse.....	35
2.1.3. Vingt-deux semaines d'âge: Engagement à la puberté	35
2.1.4. Vingt-et-cinq semaines d'âge: Animal pubère	36
2.1.5. Quarante-neuf semaines d'âge: Animal adulte sexuellement mature	36
2.1.5.a. Animal en activité sexuelle intensive	36
2.1.5.b. Animal post-actif.....	37
2.2. Etude histomorphométrique des structures testiculaires du poulet reproducteur.....	39
2.2.1. Variation des diamètres et des surfaces des tubes séminifères	39
2.2.1.1. Variation des surfaces des tubes séminifères	39

2.2.1.2. Variation des diamètres des tubes séminifères	40
2.2.2. Variation des diamètres et des surfaces des lumières des tubes séminifères	41
2.2.2.1. Variation des surfaces des lumières des tubes séminifères	41
2.2.2.2. Variation des diamètres des lumières des tubes séminifères	42
2.2.3. Variation des hauteurs des épithéliums séminifères	43

CHAPITRE IV : DISCUSSION	45
---------------------------------------	-----------

Conclusion.....	49
------------------------	-----------

Referances bibliographiques.....	50
---	-----------

ANNEXES

Le poulet représente plusieurs caractéristiques biologiques intéressantes concernant sa reproduction et sa productivité.

La viande de poulet viande blanche, comparée aux autres viandes animales, offre une source de protéines qui a à la fois une faible teneur en graisse et une concentration assez élevée en acides aminés essentiels. Par son cycle court, sa facilité de production, cette viande est parmi les moins chères et les plus consommée au monde **(OFIVAL, 2006)**. Selon cette même source, la production ainsi que la consommation mondiale de viande de poulet se situe en seconde position avec 75,2 millions de tonnes après celle du porc (95.8 millions de tonnes) suivie par celle du bœuf (60,8 millions de tonnes). En plus de la viande, on estime la production mondiale d'œufs de consommation à plus de 1020 milliards avec un taux de croissance de +3,9% entre 2000 et 2004 **(ITAVI, 2005)**. L'Algérie a produit 300 000 tonnes de viandes blanches et presque 5 milliards d'œufs en 2011 **(ONAB,2012)**.

En Algérie, l'aviculture prend une place assez importante dans l'économie nationale en général et agricole en particulier grâce à ses revenus qui ne cesse d'augmenter au fil du temps, ces données avicoles atteignent 100 milliards de Dinars en 2007 soit 1,400 milliards de dollars, ce qui représente une importante source de revenus pour l'économie nationale, ainsi que pour les 350 000 personnes qui y travaillent.

Un cheptel de reproducteurs génétiquement performants n'existe pas encore en Algérie. Le poussin étant actuellement importé. D'après l'éleveur, il existe deux points de production de parentaux génétiquement sélectionnés, en Algérie. Ces animaux n'étant pas soumis aux conditions d'élevages d'origine, une perte de leurs performances a été enregistrée et la production optimale n'est jamais atteinte.

En Algérie, la filière avicole prend un essor considérable grâce aux différents encouragements reçus tant sur le plan financier que sur le plan des programmes de recherche scientifique **(YOUBI, 2009)**.

L'élevage reproducteur est ainsi apparu. Il est encore peu connu, pourtant essentiel et d'une grande importance. Il consiste à produire des individus mâles et femelles avec un poids corporel optimal et sexuellement compétents.

Dans ce type d'élevage, un suivi très rigoureux de la croissance des animaux est mis en place, dicté par des guides d'aviculture. Dans ces conditions, un développement testiculaire optimal est atteint dont une bonne qualité et une longue durée de production de spermatozoïdes ce qui est assuré grâce à l'efficacité de l'élevage en question.

Le développement testiculaire se fait en différentes phases. Il commence dès la naissance par une phase de croissance lente, qu'on appelle la pré-puberté, la durée de cette phase varie selon les espèces. Cette phase est suivie de la puberté, durant laquelle on observe une augmentation considérable du poids et de la taille des testicules, avec production des premiers spermatozoïdes, ainsi qu'un début d'activité sexuelle. La maturité sexuelle est la dernière phase du développement testiculaire, la production de spermatozoïde devenant maximale chez les animaux adultes.

Notre étude a pour but l'évaluation du développement postnatal du testicule durant ces différentes phases citées chez le poulet reproducteur mâle de race Cobb 500 en élevage rationnel. Nous mettons en évidence les variations de certains paramètres macroscopiques, microscopiques et morpho- métriques des testicules.

Notre travail se présente sous la forme de quatre chapitres, dont le premier est une synthèse bibliographique de l'état de la question relative à la reproduction chez le poulet male reproducteur. Le deuxième chapitre est dédié au travail expérimental, dans lequel sont exposés le matériel et les méthodes utilisés. Le troisième chapitre concerne les résultats obtenus lors de notre expérimentation et le quatrième pour la discussion des résultats. Nous terminerons par une conclusion globale, ainsi qu'un ensemble de perspectives.

Appelé communément poule pour la femelle et coq pour le mâle, ou encore poulet domestique (*Gallus gallus domesticus*), le poulet a été décrit pour la première fois par le naturaliste suédois Linné 1758 (**Djellil, 2012**). Sa systématique se résume comme suite :

Règne : Animal

Sous règne : Métazoaires

Embranchement : Chordés

Sous-embranchement : vertébrés

Classe : Oiseaux

Ordre : Galliformes

Genre : Phasianidés

Espèce : *Gallus*

Famille : *Gallus gallus*

1. Ontogenèse et embryologie du testicule

Le poulet est un animal ovipare. Il se reproduit par l'œuf pondu par la femelle préalablement fécondé par le mâle. L'œuf, une fois pondu, est couvé par la femelle jusqu'à l'éclosion. Le développement embryonnaire commence à la fécondation, avant la ponte et continue durant la couvée. L'œuf éclos au bout de 21 jours après la ponte.

La différenciation sexuelle s'opère très tôt durant la vie embryonnaire chez les vertébrés. Elle est contrôlée chez les oiseaux par l'expression du facteur DMRT1 codé par le gène DMRT1 porté par le chromosome Z, et qui agit par un « effet dose » double chez le mâle, en rapport avec l'existence de deux copies du gène. (**Smith et al, 2009**)

D'après les travaux réalisés chez l'embryon de poulet (**Hien, 2002**), la différenciation gonadique débute après 48 heures d'incubation alors que les cellules germinales primordiales (CGP) commencent à migrer entre l'endoderme et le mésoderme en développement. Chez le poulet, cette différenciation s'opère ainsi, à partir du mésoderme intermédiaire, au niveau du mésonéphros. A J3.5 la gonade primitive comprend un cortex épithélial d'origine cœlomique et une médulla formée par les cordons médullaires issus de la prolifération des cellules épithéliales cœlomiques de la partie corticale. L'espace entre ces cordons est occupé par un stroma mésenchymateux

Les cellules germinales primordiales (CPG) sont entraînées par les mouvements morphogénétiques dans l'aire extra-embryonnaire du croissant germinal antérieur. Ces

cellules sont identifiables dès la 15 ième heure d'incubation (**Dubois, 1969**).

Les CPG migrent alors pour occuper dans un premier temps le cortex de la crête génitale mise en place au niveau du mésonéphros. Des signaux attractifs spécifiques émanant de l'épithélium germinatif du mésoblaste et des vaisseaux sanguins sont à l'origine de cette migration.

La différenciation gonadique commence alors à s'opérer dès J5-6. Les cordons médullaires se transforment en cordons séminifères au niveau desquels se différencient les cellules de Sertoli. Le cortex régresse (**Smith et Sinclair, 2004**).

Chez le poulet, on note la présence de spermatogonies au sein d'une couronne de cellules de Sertoli à partir du 20 ième Jour d'incubation, l'éclosion se faisant à 21 jours. Les cellules de Sertoli forment la première barrière sanguine entre le tissu interstitiel en formation et les cellules de la lignée germinale (**Hien, 2002**).

2. Rappels anatomiques

Chez la plupart des oiseaux, les dimensions des testicules et leur poids varient notablement suivant l'espèce, l'individu et la saison.

Chez le coq, les variations saisonnières sont moins marquées et sont de plus, variables selon l'origine génétique (**De Reviers et Williams, 1984**) et les individus (**De Reviers, 1988**). Ainsi les dimensions d'un testicule en période de repos sont de 10 à 20 mm de longueur et de 10 à 15 mm de diamètre, alors qu'en période de reproduction elles atteignent 25 à 60 mm de hauteur et 25 à 30 mm de diamètre (**Hien, 2002**).

Bien que les deux testicules soient positionnés d'une manière symétrique, ils sont souvent de taille différente. Le testicule gauche est généralement plus grand que le testicule droit chez environ 60% des individus chez le coq domestique (**Marvan, 1969**) et plus lourd chez 65% des individus (**Hien, 2002**). **Venzke (1964)** explique cette asymétrie par une migration des cellules germinales primordiales plus importantes du côté gauche de l'embryon, mais il n'existe aucune confirmation physiologique disponible pour cette hypothèse.

2.1. Anatomie du testicule

Contrairement aux mammifères, chez le poulet les testicules sont internes. Par absence de migration testiculaire, les testicules restent dans leurs emplacements d'origine. (**Pichereau, 2012**).

Ils sont situés de part et d'autre de l'aorte postérieure, et fixés en situation antérieure par

rapport aux reins dans la cavité abdominale. Ils sont à peine visibles chez les poussins et augmente fortement de volume avec l'âge pour devenir 300 à 400 fois plus grand à l'approche de la période de reproduction. **(Kempf, I, 1992)**

Les testicules sont deux organes blanchâtres, en forme de haricots entourés d'une capsule conjonctive fine et fragile **(Pichereau, 2012)**.

Chaque testicule est prolongé par les voies génitales représentées par les canaux efférents, les canaux épидидymaires et les canaux déférents **(Meyer et Rouvier, 2009)**. Ces derniers longent les urètres et forment des replis pour atteindre le cloaque par deux vésicules séminales situées dans la paroi du cloaque. Le cloaque est la partie terminale de l'intestin dans laquelle débouchent les conduits urinaires et génitaux par des orifices distinct **(Figure 2) (Pichereau, 2012)**.

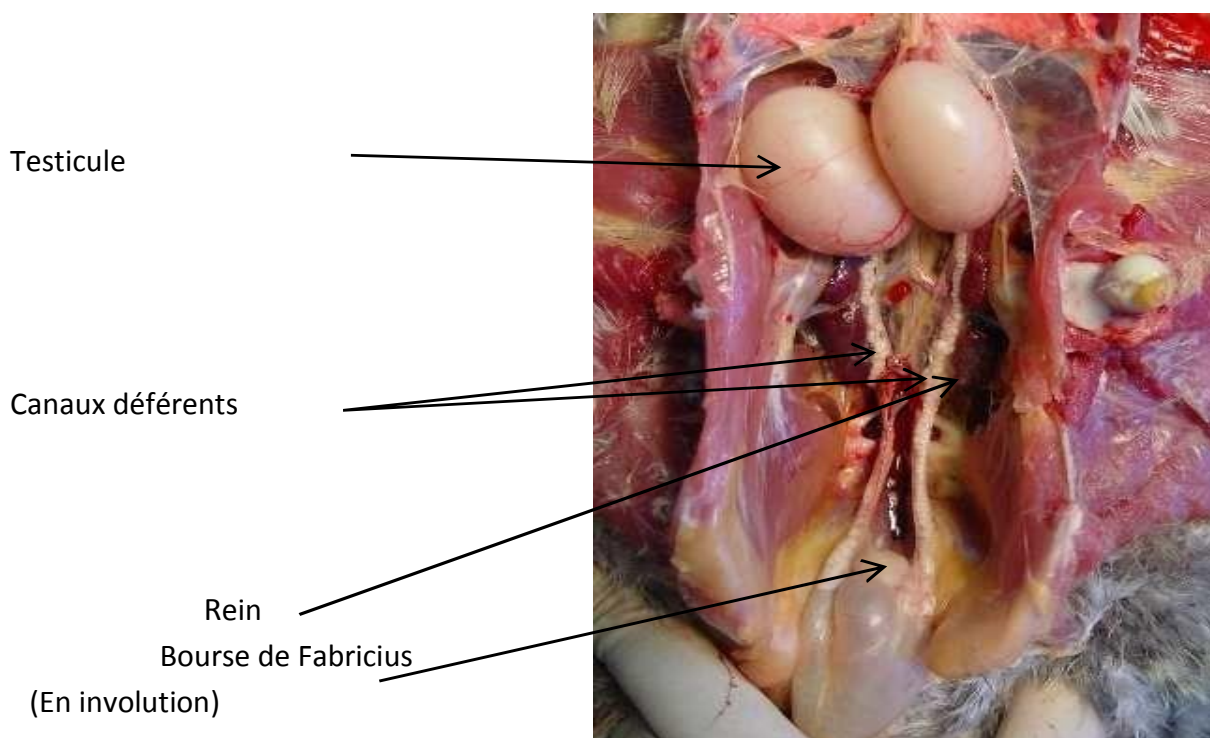


Figure 1 : Anatomie de l'appareil génital du coq (Sauveur, 1982)

Le poulet a la particularité de ne pas avoir de pénis, son organe copulateur est une papille située sur le plancher du cloaque **(Koyabizo, 2009)**

2.2. Histologie du testicule

Le testicule de poulet est de type tubulaire, constitué de tubes séminifères présentant des circonvolutions et forment un véritable réseau séminifère entre les mailles duquel se trouve un tissu interstitiel peu développé. Le tout est délimité par une capsule et recouvert par

l'épithélium péritonéal. Cette dernière n'émet pas de cloisons d'où l'absence de la structure observable chez les mammifères (**Nicaise, 2015**).

La capsule du testicule est une fine membrane de tissu fibro-élastique très souple appelée Albuginée (**Nicaise, 2015**). Elle est constituée de deux parois, une paroi externe qui est un tissu fibro-élastique lâche doublé par le péritoine interne de la cavité abdominale, et une paroi interne faite de fibres élastiques, mais également de fibroblastes qui sécrètent du collagène, ce qui la rend relativement dense (**Nguyen, 2015**).

Le compartiment intra-tubulaire représente le principal paramètre d'étude de la croissance testiculaire. A l'éclosion, il occupe environ 60% du volume testiculaire et atteint 95% dès les 12 semaines d'âge, il se maintient constant chez le coq adulte, la longueur et l'épaisseur des tubes étant liées au poids testiculaire de façon exponentielle (**De Reviers et al, 1971**).

Un tube séminifère est formé d'un épithélium séminifère qui contient des cellules de type épithéliales dites cellules de Sertoli et des cellules germinales. Cet épithélium délimite un espace central, la lumière du tube séminifère (**Nguyen, 2015**).

Les spermatozoïdes, une fois élaborés, atteignent le cloaque via les voies excrétrices.

2.2.1. Cellules de l'épithélium séminifère

L'épithélium séminifère est le siège, au sein de chaque tube séminifère, de l'élaboration des cellules sexuelles males à partir des cellules spécifiques : les cellules germinales, par le processus de spermatogenèse.

2.2.1.1. Cellules germinales male

Tout au long du tube séminifère on retrouve des groupes juxtaposés de cellules germinales à des stades définis et différents de différenciation. De la périphérie des tubes vers la lumière centrale se trouvent les spermatogonies, les spermatocytes (I et II) et les spermatides (**Hien, 2002**). Les associations typiques de cet épithélium séminifère ne sont pas définies à ce jour, toutefois elles existent chez le coq (**De Reviers et al., 1971**).

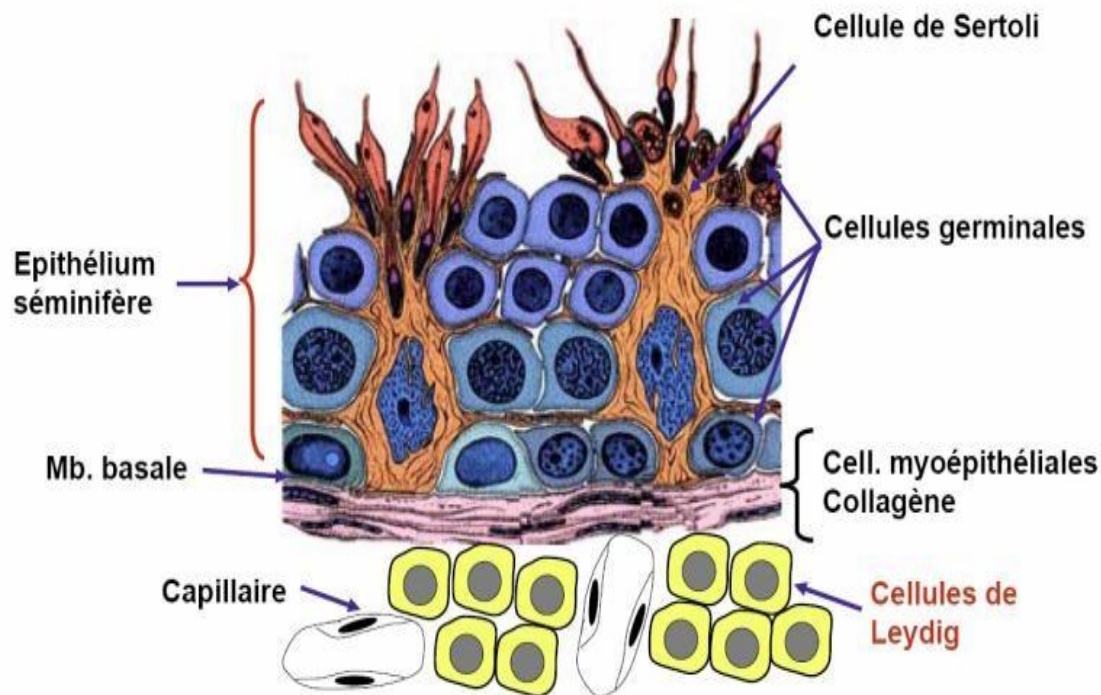


Figure 2: structure histologique de l'épithélium séminifère et du tissu interstitiel
(anonyme 1)

a. Spermatogonies

Localisées à la périphérie du tube séminifère, les spermatogonies sont les cellules germinales souches. Elles assurent le maintien de la spermatogenèse durant la vie sexuelle du mâle. Leur chromatine présente des petits granules plus ou moins nombreux en forme de réseau ainsi que deux nucléoles de petite taille. Chez le coq, il n'existerait que deux catégories selon la forme du noyau (**Hien, 2002**), les unes de type A à noyau ovoïde, les autres de type B, plus petites, à noyaux arrondis, issues de la division des spermatogonies de type A, (**De Reviers et al., 1971**).

b. Spermatocytes primaires

Les spermatocytes primaires sont de grosses cellules situées en position centripète par rapport aux spermatogonies (**Hien, 2002**). Ce sont des cellules qui ont subi une croissance et une entrée en méiose. Ils se distinguent des spermatogonies de type B par leur noyau légèrement plus gros et leur position légèrement plus centrale dans les tubes séminifères. (**De Reviers et al, 1971**)

La prophase de la première division méiotique connaît les mêmes stades chez les oiseaux et les mammifères. Six stades, le stade leptotène, zygotène, pachytène, diplotène et

enfin la diacinèse (**Hien, 2002**) ; caractérisés morphologiquement par l'aspect de la chromatine et des chromosomes qui en dérivent, cette phase étant celle qui engage la division réductionnelle (**De Reviers et al.,1971**).

c. Spermatocytes secondaires

Proviennent du spermatocyte I ayant achevé sa première division de méiose. Ce sont des cellules haploïdes ayant subis une réduction du nombre de chromosomes (**Hien, 2002**). Ils sont placés plus au centre des tubes séminifères que les spermatocytes primaires (**De Reviers et al., 1971**). Ils présentent un noyau sphérique d'un diamètre plus petit que celui des spermatocytes primaires. Leur observation sur les coupes histologiques est peu fréquente car leur durée-de vie est courte 0,5 jour chez le coq (**Hien,2002**).

d. Spermatides

Les spermatides rondes, issues de la deuxième division de méiose qui termine la réduction nucléaire sont de petites cellules avec un noyau arrondi de petite taille, très semblable à celui des spermatocytes II. Elles sont par ailleurs beaucoup plus nombreuses. Le premier signe de leur maturation est la disparition du réseau chromatique puis des granules intranucléaires et une augmentation de la chromophilie périphérique des noyaux (**Boivin, 2007**). Leur apparition est accompagnée par une différenciation morphologique très importante des cellules de Sertoli (**De Reviers et al, 1971**).

Les spermatides allongées vont subir, de suite une différenciation profonde pour donner des spermatides allongées, en voie de devenir des spermatozoïdes. Une transformation de l'architecture nucléaire marque cette transition vers le début de l'élongation. Les noyaux deviennent pyriformes, pointe orientée vers les noyaux des cellules de Sertoli. Simultanément, l'acrosome se met en place en avant du noyau à partir du système Golgien.

e. Spermatozoïdes

La morphologie des spermatozoïdes des oiseaux domestiques se rapproche plus de celles des reptiles et des batraciens que celles des mammifères (**Hien, 2002**).

Sa tête est très caractéristique : elle est étirée, étroite et légèrement incurvée (**Nicaise,2015**). L'acrosome est de taille réduite, placé à l'extrême bout du noyau, la présence d'un acrosome nettement différencié ainsi qu'une organisation simplifiée de la pièce intermédiaire et du flagelle ; chez les oiseaux domestiques, une gaine amorphe remplace les colonnes striées et les fibres denses périphériques associées chez certains mammifères aux 9b doublets de fibrilles de flagelle. En outre la pièce intermédiaire des spermatozoïdes du coq ne contient que peu de mitochondries et un flagelle de grande longueur atteignant(90 µm)(**Hien, 2002**).

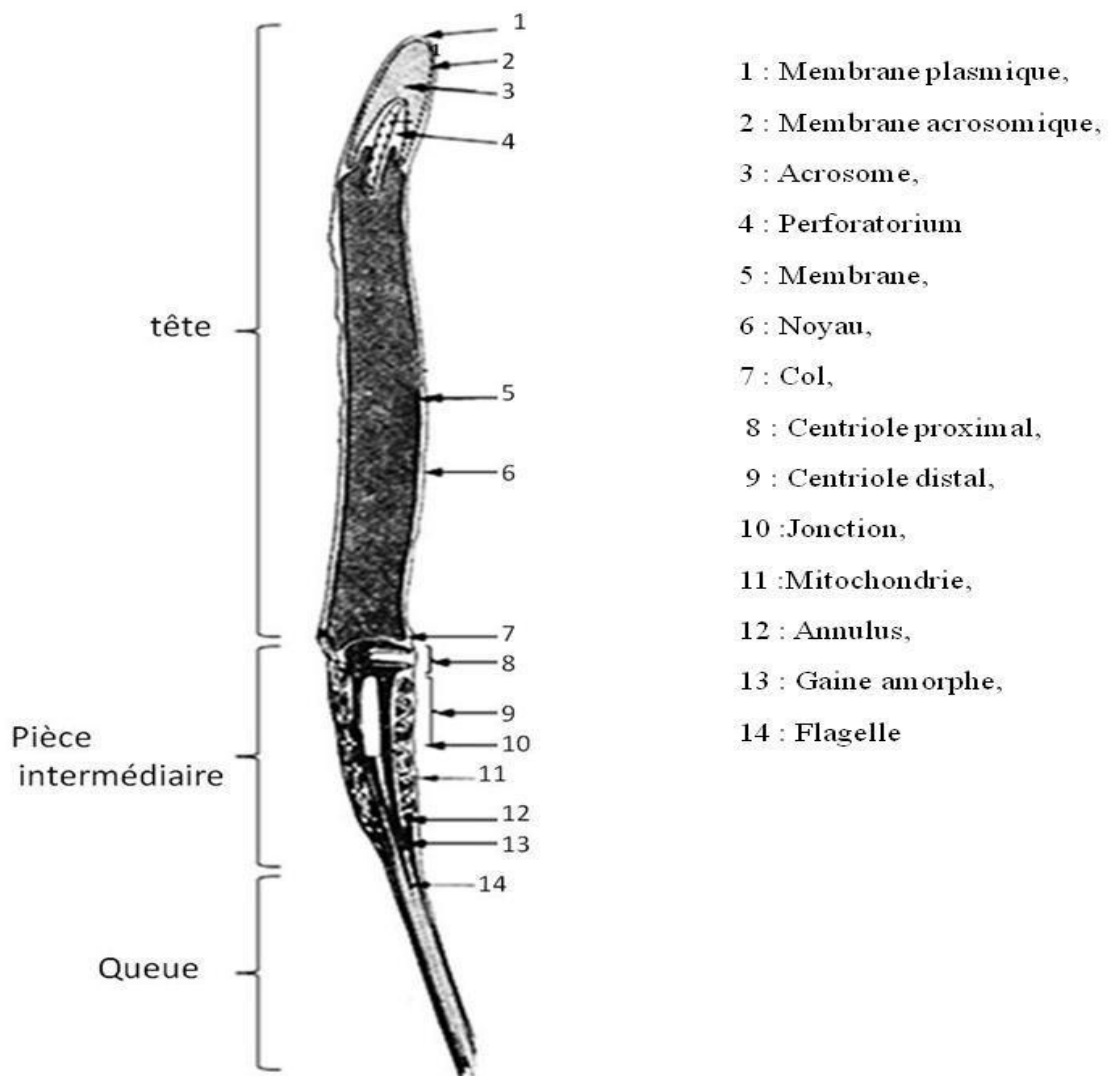


Figure 3 : Structure du spermatozoïde de coq (Sauveur, 1988)

2.2.1.2. Cellules souches épithéliales

Ce sont les cellules somatiques du testicule, capables de se diviser chez l'animal impubère qui se différencient à la pré puberté pour donner les cellules de Sertoli. Ce sont des cellules avec un noyau polymorphe, ayant une chromatine diffuse et des granules repartis dans tout le noyau (Hien, 2002).

2.2.1.3. Cellules de Sertoli

Les cellules de Sertoli apparaissent avant le début de la différenciation des cellules germinales leurs nombres augmentent lentement après la maturité sexuelle. Leur transformation est progressive, d'où la difficulté de caractériser la première cellule de Sertoli typique (De Reviers, 1971).

La cellule de Sertoli est une cellule somatique permanente différenciée qui ne se divise pas (**Figure 4**), elle assure le soutien, la coordination et l'apport nutritionnel des cellules germinales, elles intègrent tous les signaux hormonaux nécessaire à la spermatogenèse, en particuliers la FSH et la testostérone. Elle jouerait également un rôle phagocytaire et même endocrine (**Hien, 2002**).

Principalement sous le contrôle de la FSH, la cellule de Sertoli coordonne l'activité des tubes séminifères. Lors de la spermiation, il y a destruction des jonctions entre cellule de Sertoli et cellules allongées permettant ainsi la leurs libérations dans la lumière séminifère. (**Nguyun 2015**).

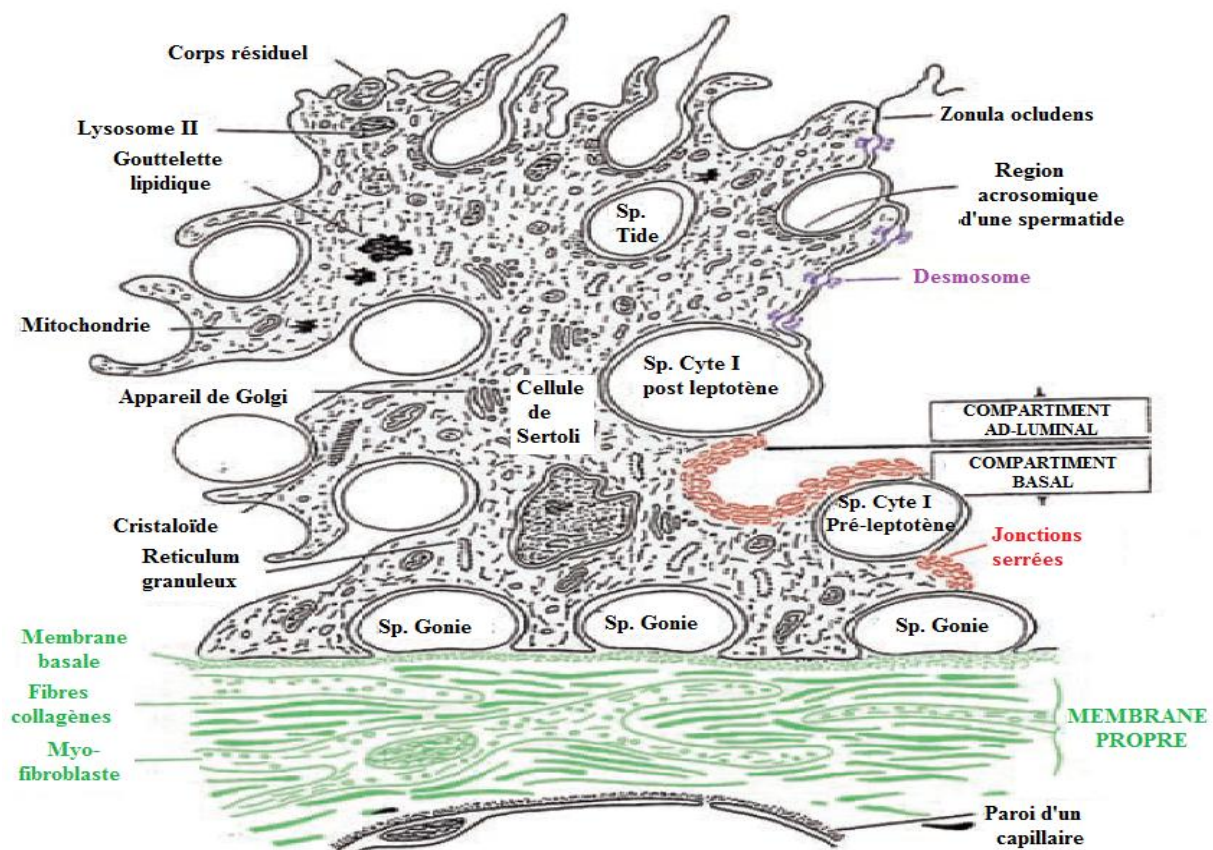


Figure 4 : Cellule de Sertoli et cellules germinales.

222. Tissu interstitiel

Chez le poulet comme chez les mammifères, le tissu interstitiel du testicule est un tissu conjonctif constitué de fibroblastes, et des macrophages dans un réseau de collagène matriciel. Il abrite les cellules de Leydig organisées en amas ou dispersées que l'on retrouve dans les espaces intertubaire, des cellules myoïdes allongées de type musculaire lisse contractile sont associés notamment à la lame basale des TS autour desquels elles forment une sorte de ceinture. **(Hien, 2002)**. Il contient aussi un réseau artério-veineux et un réseau lymphatique qui irrigue le testicule.

Ce tissu est cependant peu développé chez le poulet **(Nicaise, 2015)**. Chez l'adulte, il est réduit à un compartiment de petite taille qui ne représente respectivement que 5 à 15% du volume testiculaire chez le coq. Alors qu'il atteint 10 à 40% de ce volume chez les mammifères **(Hien, 2002)**

2.2.2.1. Cellules de Leydig

Les cellules de Leydig sont disposées en amas ou dispersées dans le tissu interstitiel. Ce sont les cellules de type endocrine, productrice de la testostérone, hormone sexuelle mâle. Elles expriment des récepteurs à la LH **(Bacon et al, 2000)**. Leur forme peut être aplatie ou polyédrique selon leur stade d'activation et deviennent de plus en plus nombreuses avec l'activité sexuelle **(Nicaise, 2015)**. Elles sont sensibles à la LH nettement avant la puberté **(Hien, 2002)**.

Dans le testicule actif, elles sont riches en réticulum lisse, mitochondries et présentent des inclusions lipidiques caractéristiques des cellules sécrétant des stéroïdes. En période de repos sexuel, leur cytoplasme accumule des inclusions lipidiques, et montre de nombreux signes de dégénérescence **(Nicaise, 2015)**.

3. Développement testiculaire

3.1. Développement du testicule de poulet durant la période embryonnaire

La testostérone est produite très tôt durant le développement embryonnaire chez le poulet **(Woods et al. 1983)**

En effet chez le mâle, sous l'action de différentes hormones telles que la testostérone, le MIF (Müllerian Inhibiting Factor) et l'AMR (Anti Müllerian Hormone) sécrétées par le jeune testicule en formation, le canal de Müller régresse alors que le canal de Wolf se développe et commence à se différencier pour donner naissance ultérieurement au tractus génital mâle

(Épididymes, canaux déférents et organe copulateur). La partie proximale du canal de Wolf est en contact avec les testicules. La portion adjacente se différencie pour donner l'épididyme, alors que la queue du canal de Wolf se développe pour donner naissance aux voies déférentes qui se terminent en un renflement appelé ampoule éjaculatrice (**Hien, 2002**).

3.2. Développement postnatal du testicule de poulet

Chez les oiseaux, le développement des gonades mâles et femelles est largement dépendant des conditions de l'environnement et en particulier de la lumière et de l'alimentation (**Brillard, 1992**). A la puberté, la LH et la FSH agissent en synergie pour induire la croissance des testicules et une augmentation des taux circulants de testostérone (**Hien, 2002**).

3.2.1. Pré-puberté

La phase de pré-puberté est caractérisée par une très faible teneur en testostérone et une augmentation transitoire du taux plasmatique de l'hormone gonadotrope hypophysaire LH.

Dans les TS, les cellules de Sertoli prolifèrent à partir des cellules de soutiens et se différencient progressivement tout en augmentant leur espace cytoplasmique. Une fois leur nombre est optimal, ces cellules cessent de se multiplier. Au sein de cet environnement sertolien la spermatogenèse débute, mais elle est limitée et ne dépasse pas l'étape de production de spermatocytes primaires les spermatozoïdes ne sont pas encore produits.

Toutes ces transformations conduisent à une augmentation très importante du diamètre et de la longueur des tubes séminifères, cependant, la croissance pondérale du testicule est lente à la fin de cette phase. La pré puberté se termine à différents âges selon les conditions du milieu extérieur (**De Reviers, 1996**).

3.2.2. Puberté

C'est une phase de croissance très rapide, où le poids testiculaire augmente significativement. On enregistre des concentrations plasmatiques élevées de l'hormone gonadique, la testostérone et des gonadotropes hypophysaires, LH et FSH. L'activité testiculaire est très importante et toutes les étapes de la spermatogenèse sont observables. Les spermatozoïdes sont produits au début de cette phase cependant, leur qualité est médiocre et sont peu féconds. (**De Reviers, 1996**)

3.2.3. Maturité sexuelle

Durant la phase de la puberté, le nombre et la qualité des spermatozoïdes augmentent ; la maturité sexuelle est atteinte peu avant que le nombre de spermatozoïdes ne soit maximum.

Cette étape s'arrête à l'âge de réforme. Chez le coq, à 54 semaines **(De Reviers, 1996)**.

Chez le coq domestique la production de spermatozoïdes a lieu pendant toute l'année. On y observe cependant une modulation saisonnière du nombre et de la qualité des spermatozoïdes produits, avec un maximum en hiver ou au printemps et un minimum en été, la reprise ayant lieu progressivement au cours de l'automne **(Hien, 2002)**. Chez le coq, la production de spermatozoïdes est d'environ $3 \text{ à } 10 \times 10^9$ spermatozoïdes par ml, dans 0.3 à 1.5 ml par éjaculat.

4. Physiologie testiculaire.

Le testicule est une glande mixte endocrine et exocrine, il assure la production de spermatozoïdes et de testostérone. Son fonctionnement dépend de l'axe hypothalamo-hypophysaire via la LH et la FSH hypophysaires sécrétés en réponse à la libération de GnRH hypothalamique **(Hien, 2002)**. La testostérone est l'hormone clé de la spermatogenèse dont la maturité sexuelle.

4.1. Fonction exocrine du testicule : production de spermatozoïdes.

La spermatogenèse est mise en place à la puberté. C'est le processus physiologique qui permet la production des spermatozoïdes à partir des spermatogonies souches. Il a lieu dans l'épithélium séminifère et se déroule en trois phases principales :

La phase proliférative : qui correspond à la multiplication par mitose des spermatogonies souches issus des cellules germinales primordiales. Cette phase permet d'amplifier le contingent des cellules germinales diploïdes.

La phase méiotique : les spermatogonies entrent en méiose, + une division réductionnelle qui conduit à la formation des spermatides, cellules germinales haploïde, en passant par les stades de spermatocytes I, puis spermatocytes II qui termineront la méiose pour donner des spermatides **(De Reviers, 1996)**.

La spermiogenèse est le processus différenciateur qui transforme les spermatides rondes en spermatozoïdes. Au cours de la spermiogenèse, la spermatide ronde subit des modifications morphologiques et fonctionnelles avec réorganisation du noyau, mise en place et développement de l'acrosome et assemblage des structures du flagelle ; la spermatide ronde devient une spermatide allongée. La spermiogenèse sera alors suivie de la spermiation, processus qui assure la libération des spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères **(Nguyen, 2015)**.

Ce processus est régulé par les hormones gonadotropes hypophysaires, FSH et LH, qui

agissent sur les cellules de Sertoli et les cellules de Leydig respectivement **(Hien, 2002)**.

Chez le poulet on rencontre, dans la même section du tube séminifère, tous les stades de maturation des cellules germinales, elles sont ajustées en colonnes qui évolue chacune indépendamment de l'autre **(Nicaise, 2015)**. On dit que l'établissement de la spermatogenèse est progressif dans le temps et dans l'espace, car les cellules de la lignée germinales entrent séparément en activité individuellement, ou par petit groupes **(De Reviers et al, 1971)**.

La spécificité la plus marquante chez les oiseaux est que la spermatogenèse se produit à la température interne de l'abdomen, soit environ 41°C **(Hien, 2002)**.

4.2. Fonction endocrine du testicule.

En plus de la production de spermatozoïdes, le testicule présente une fonction endocrine importante qui assurent le bon déroulement de la spermatogenèse. Sous le contrôle des hormones gonadotropes, le testicule des oiseaux, comme chez les autres vertébrés, sécrète des stéroïdes et en particulier la testostérone. **(Hein, 2002)**

Entre les tubes séminifères l'espace interstitiel est occupé par les cellules de Leydig qui forment une glande endocrine. Elles synthétisent des androgènes dont la testostérone et la sécrète dans la circulation sanguine. La testostérone est indispensable à la spermatogenèse et à la maturation des spermatozoïdes dans l'épididyme **(Bacon et al, 2000)**.

Une fonction endocrine du testicule est également présente au niveau des cellules de Sertoli qui coordonne l'activité des tubes séminifères via plusieurs molécules tel que l'ABP (Androgen Binding Protein), protéine de transport des androgènes qui concentre la testostérone dans l'épithélium séminifère et transporte la testostérone vers la lumière ou le GDNF, facteur de signalisation paracrine indispensable au maintien de l'état indifférencié des spermatogonies souches **(De Reviers, 1971)**.

La cellule de Sertoli produit aussi des molécules de type hormonale dont l'inhibine et l'activine hormones peptidiques antagonistes, de régulation des effets de la testostérone sur la fonction testiculaire. La régulation produite par ces molécules s'exerce sous la forme de rétrocontrôles sur le système hypothalamo-hypophyso-gonadique. Les récepteurs de l'inhibine sont localisés sur les cellules de Leydig. Elle possède un effet rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de FSH par l'hypophyse et agit par deux voix : voix paracrine en favorisant la production d'androgène par les cellules de Leydig, en ralentissant l'activité aromatique sur la testostérone et en diminuant la mitose des cellules germinales et par voix endocrine, en baissant la production de FSH **(Nicaise, 2015)**.

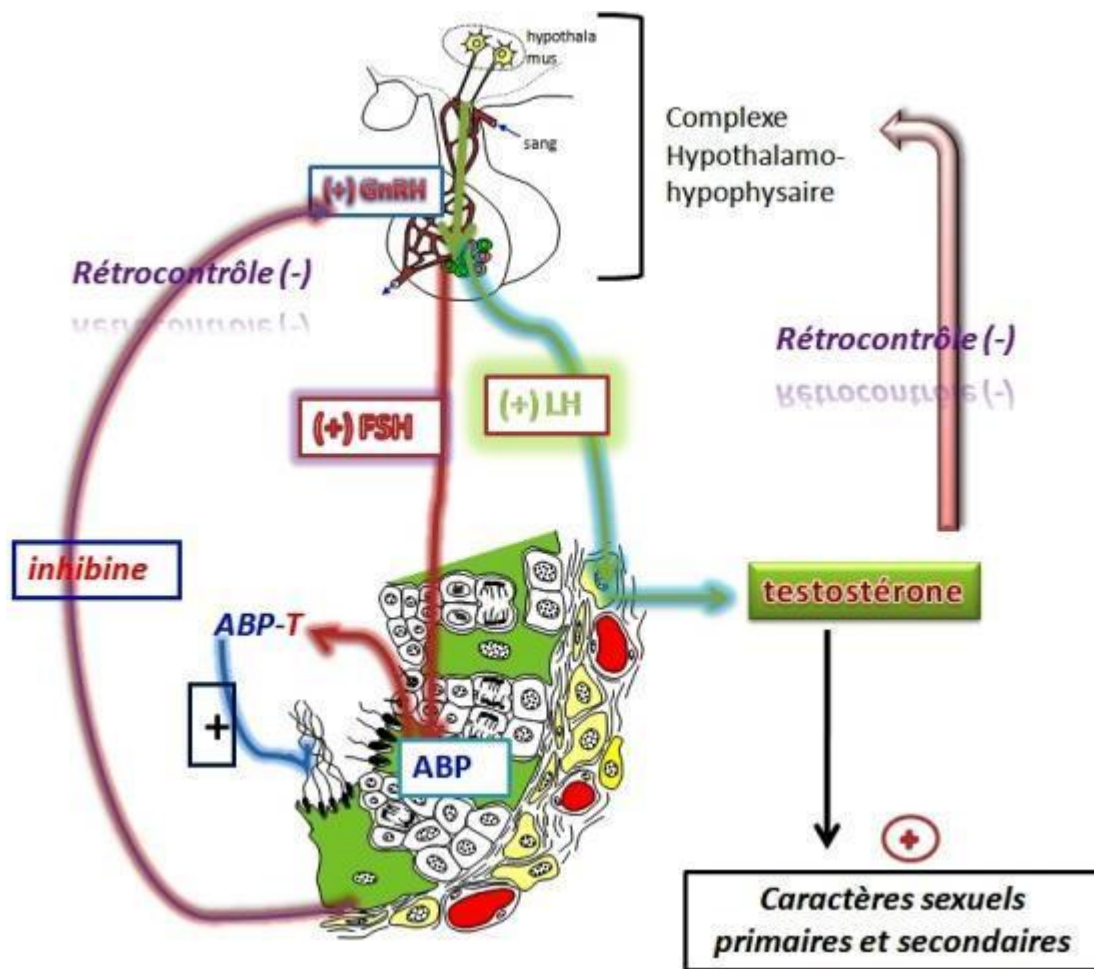


Figure 5 : fonction endocrine du testicule et sa régulation (anonyme 2)

5. Contrôle endocrinien de la fonction de reproduction et sa régulation.

L'axe gonadique comprend trois points de contrôle qui sont l'hypothalamus, l'hypophyse et la gonade en question. Le rôle de l'hypothalamus est centré sur la transformation de l'information électrique émise par les photorécepteurs réiniens et/ou hypothalamiques, en une information hormonale au niveau de l'éminence médiane sous forme de LH-RH (Luteinizing Hormone Release Hormone) et de FSH-RH (Follicle-stimulating Hormone Release Hormone), souvent regroupées sous le terme de GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone). La GnRH est libérée dans la circulation et emprunte le système porte veineux jusqu'à l'hypophyse (Follet et Robinson, 1980).

L'hypophyse reçoit la GnRH qui se fixe sur ces récepteurs, induisant ainsi la sécrétion pulsatile de la LH et de FSH, qui se déversent à leurs tours dans la circulation sanguine afin d'atteindre les gonades.

Au niveau du testicule, la LH agirait sur la formation de ses propres récepteurs et sur la multiplication et la différenciation des cellules de Leydig lesquelles, en réponse, secrètent de la testostérone. La FSH induirait la différenciation des cellules de Sertoli et stimulerait, avec l'aide de la testostérone, la formation de ses propres récepteurs au niveau des cellules de Sertoli **(Hien, 2002)**.

Les taux circulants de testostérone ont une évolution comparable à celle observée pour la LH, avec un profil sécrétoire pulsatile et un pic sécrétoire transitoire après photo stimulation, la testostérone agit en synergie avec la FSH au niveau des cellules de Sertoli pour stimuler la spermatogenèse et agit par un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo- hypophysaire pour réguler les sécrétions de LH et de FSH **(Figure 5)**.

Ce rétrocontrôle s'exerce directement au niveau de l'hypothalamus et de l'hypophyse en diminuant à la fois les sécrétions de GnRH et la sensibilité des récepteurs à GnRH avec pour conséquence, une diminution des sécrétions de LH. La testostérone agit également au niveau de l'hypophyse en diminuant directement les sécrétions de LH. **(Kawashima et al., 1978)**. Le feed-back des hormones gonadiques est levé après deux ou trois mois de régression partielle des testicules chez le coq domestique **(De Reviers 1996)**. Il semble que l'augmentation des pulses de LH en relation avec une augmentation de la durée d'éclairement soit à l'origine d'une augmentation transitoire du taux moyen journalier de cette hormone **(Hien, 2002)**.

6. Effet de l'intensité et de la durée de la lumière sur le développement testiculaire.

La lumière exerce sur la fonction sexuelle de la plupart des oiseaux une double action elle stimule la fonction sexuelle et permet la mise en place du cycle reproducteur. De manière générale, 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 **(Pichereau, 2012)** la lumière perçue est transformée par ces photorécepteurs en signaux électriques. Les phases successives de la photo stimulation passent par un trajet complexe impliquant plusieurs organes : les yeux, l'hypothalamus, l'adénohypophyse et les testicules et induisent une cascade de réactions le long de l'axe, l'hypothalamus sécrète la GnRH qui stimule l'hypophyse qui, en réponse secrète la LH et la FSH **(Hien, 2002)**.

Ces photorécepteurs sont sensibles à toutes les longueurs d'onde visibles. Les radiations rouge-orange, de longueur d'onde les plus élevées ont la capacité de pénétration

transcrânienne, ce sont les plus efficaces. Chez le coq, les radiations de faibles longueurs d'onde, actives au niveau de l'œil, favorisent la précocité sexuelle, mais non la persistance de la production des spermatozoïdes. Par contre, des radiations de longueurs d'onde plus élevées pouvant agir aussi bien au niveau de l'œil que de l'hypothalamus assurent le développement testiculaire pendant une plus longue durée.

La voie d'action des récepteurs hypothalamiques est la plus importante chez tous les oiseaux ; elle est souvent la seule. Contrairement aux mammifères l'œil n'est pas indispensable au réflexe photo sexuelle des oiseaux (Sauveur, 1988).

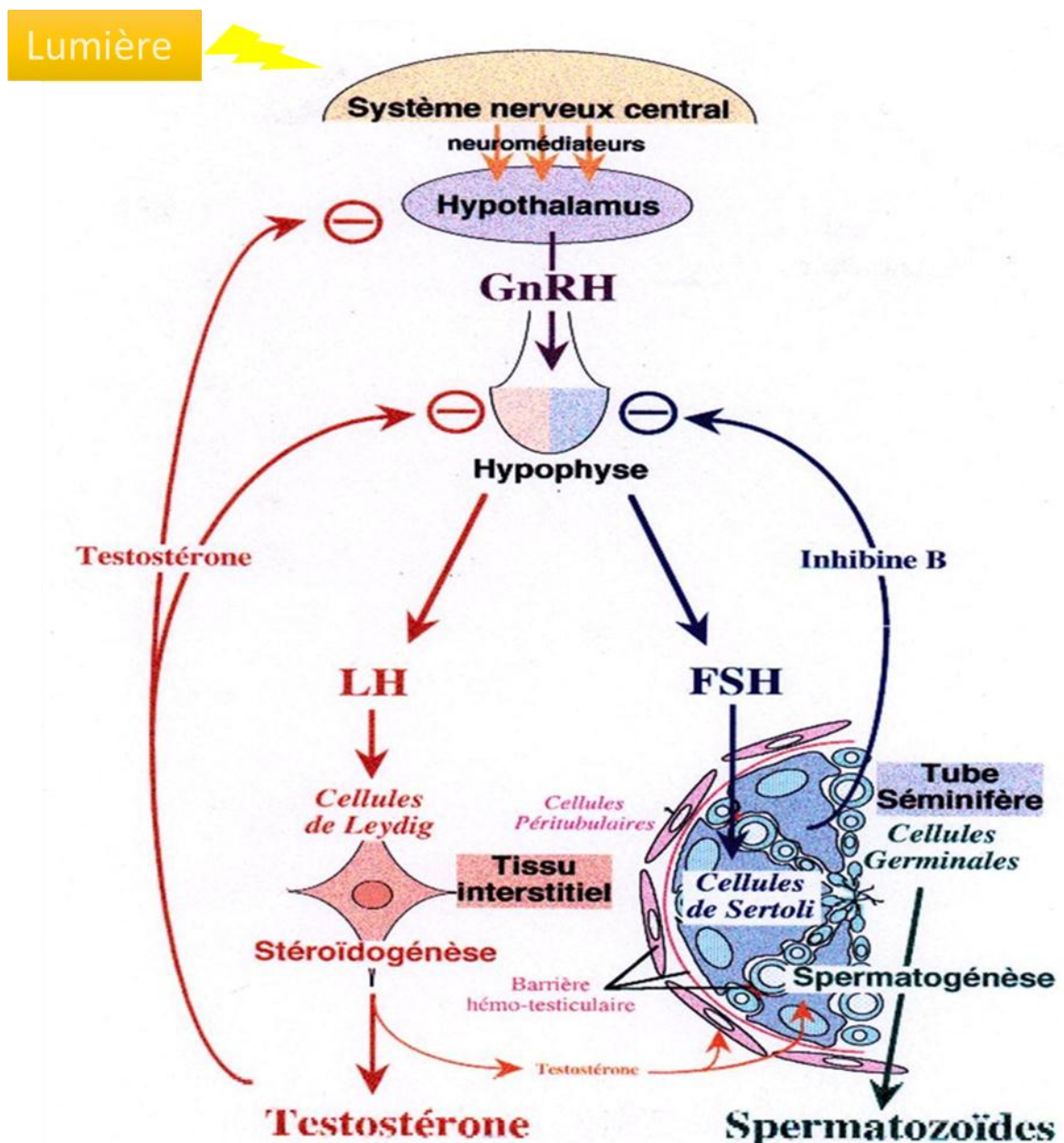


Figure 6: effet de la lumière sur la fonction de reproduction.(Anonyme 3)

Les résultats obtenus par les régimes de photopériode et d'intensité lumineuse chez la volaille sont souvent divergent selon l'espèce ou le sexe de l'animal. Les mâles élevés à une intensité lumineuse avoisinant 10 lux ont montré un meilleur gain accompagné d'une consommation alimentaire réduite dû à un besoin plus faible d'énergie. Le même auteur a également montré une amélioration des performances sous cette faible intensité. Tandis que les poulets élevés à de fortes intensités, 64,8 lux présentaient un taux de croissance testiculaire réduit **(Boivin, 2007)**.

Les variations progressives de la durée d'éclairement artificiel miment plus ou moins les variations saisonnières **(Hien, 2002)**. La diminution progressive de la durée d'éclairement chez le coq domestique entraîne un retard important dans la mise en place du développement testiculaire sans altérer la vitesse de croissance ultérieure **(De Reviers, 1977 ; Brillard et de Reviers, 1985)**. A l'inverse, une augmentation progressive de la durée d'éclairement chez le coq augmente la rapidité du développement testiculaire par rapport à des photopériodes constantes **(Hien, 2002)**. Les jours croissants favorisent un développement testiculaire maximum moyen, plus précoce et plus élevé **(Brillard, 1992)**.

Si la lumière stimule l'entrée en reproduction des oiseaux via les sécrétions d'hormones gonadotropes, leur maintien en jours longs entraîne une diminution progressive et irréversible des taux plasmatiques de LH. Cette diminution s'accompagne d'une régression testiculaire irréversible chez le moineau et le dindon, on l'appelle période « photo réfractaire ». Toutefois, le type de situation observé chez le moineau ne semble exister ni chez le coq ni chez le dindon domestique **(Wilson et Follet, 1974)**.

Nous avons réalisé une étude expérimentale, préliminaire sur le développement du testicule chez le poulet reproducteur en élevage rationnel.

Le matériel biologique, en l'occurrence les poulets reproducteurs, a été financé volontairement par le Dr Hamidouche Ch, propriétaire de l'établissement de production, nous permettant de réaliser la partie pratique de notre travail. La collecte des animaux, les sacrifices et les prélèvements biologiques ont été réalisés dans ce même établissement.

L'expérimentation fondamentale s'est déroulée au laboratoire commun de notre faculté et au laboratoire de recherche de biotechnologie végétale dirigé par M^{me} Yacoub, dans lesquels nous avons réalisé l'étude histologique et histomorphométrique.

2. Matériel biologique

2.1. Modèle animal

Notre étude a été réalisée sur des poulets mâles reproducteurs de type Cobb500 (**Figure 7, A**). Cette race est caractérisée par sa grande résistance aux conditions locales et environnementales et par son poids lourd d'environ 5Kg à l'âge adulte. Les animaux sont extrêmement chers et de haute valeur commerciale, du fait qu'ils soient des sujets reproducteurs. Le poussin J0 est importé par l'éleveur.

Les animaux sont élevés dans une unité d'élevage de poulets située dans la région d'Azazga, wilaya de Tizi-Ouzou (**Figure 7, B**). Il s'agit d'un élevage rationnel dans lequel les animaux sont soumis à des conditions d'élevage bien définies, depuis l'arrivée du poussin jusqu'à l'âge de 60 semaines, réformés par l'éleveur. Le protocole cible le bon développement corporel et une très bonne condition physique des poulets ; la condition physique des animaux étant un facteur déterminant dans la réussite de l'exploitation de la fonction de reproduction.

3. Conditions d'élevage

3.1. Bâtiment d'élevage

Dans l'élevage rationnel du poulet reproducteur, les sujets mâles et femelles sont séparés dès J0, un bâtiment pour les mâles et deux pour les femelles. De l'éclosion Jusqu'à 21 semaines d'âge, le nombre des poulets dans le bâtiment d'élevage des mâles est de 8 sujets/m².

Les poulets mâles de 21 semaines sont introduits dans les bâtiments des femelles, bâtiments de reproduction, pour subir une excitation lumineuse et les préparer pour la

fonction de la reproduction. Le nombre des poulets dans ces bâtiments est de 5 sujets/m² et les mâles représentent environ 10 à 11% de la population totale.

Les bâtiments sont équipés d'un appareillage qui permet de contrôler les paramètres d'élevage dont la lumière, la température et l'alimentation et permet ainsi d'isoler l'élevage de l'environnement et diminuer l'influence extérieure (**Figure 7**).



Figure 7 : Bâtiments d'élevage. A : Bâtiment d'élevage de l'éclosion jusqu'à 21 semaine, B: Bâtiment de reproduction (**Image originale, 2017**).

3.2. Paramètres d'élevage contrôlés

3.2.1. Luminosité

Les animaux sont élevés dans des conditions de luminosité contrôlées, celles-ci varient selon l'âge des animaux.

Les poussins J₀ sont soumis à un éclairage permanent durant toute la première semaine, avec une intensité lumineuse de 40 lux/m². Au-delà de cette première semaine, la durée de l'éclairage est réduite progressivement jusqu'à 8 heures par jour. Dans le même temps l'intensité de la lumière est diminuée jusqu'à 10 lux/m² au bout de la deuxième semaine et est ainsi stabilisée jusqu'à l'âge de 21 semaines.

Une excitation lumineuse de 60 à 70 lux/m², inductrice de la puberté, est appliquée à partir de la 21^{ème} semaine d'âge jusqu'à la 23^{ème} semaine. Dans le même temps les mâles reproducteurs sont introduits chez les femelles, ils subissent la photo-stimulation ensemble, dans les mêmes conditions. Au-delà de cet âge, l'éclairage du bâtiment de reproduction est ramené à 10 lux/m².

3.2.2. Température

Le bâtiment d'élevage est doté d'un équipement qui permet de contrôler la température selon un programme spécifique établi par l'éleveur (**Figure 8, C**). La température est maintenue à 32°C durant la première semaine, puis réduite chaque jour de 2°C jusqu'à atteindre 24°C.

3.2.3. Alimentation

Le poulet reproducteur est soumis à une alimentation contrôlée, dans le but d'éviter un surpoids et d'assurer un meilleur développement corporel des animaux. Un premier niveau de contrôle consiste dans la surveillance de la distribution de l'aliment à qui permet une maîtrise de la quantité d'aliment ingéré par l'animal. La distribution de l'aliment est contrôlée à l'aide d'un mécanisme automatique (**Figure 8,D**), qui distribue l'aliment dans tout le bâtiment en moins de trois minutes. Les quantités sont contrôlées selon un guide spécifique. Tous les poulets bénéficient de la même quantité d'aliment. Cette méthode empêche l'apparition de lots hétérogènes au sein de l'élevage.

Un deuxième niveau de contrôle réside dans la composition de l'aliment, Un aliment de croissance est distribué depuis la réception du poussin J_0 jusqu'à 21 semaines. Au-delà, une alimentation plus riche en protéines est introduite dans le but d'assurer un développement optimal des animaux pour de meilleures performances de reproduction.



Figure 8 : Lieu de l'étude, A : Poulet Cobb 500, B : Centre d'élevage, C : Dispositif de contrôle de la lumière et de la température, D : Chaîne d'aliment (**Image originale, 2017**).

4. Expérimentation

Nous avons réalisé une étude sur 10 poulets mâles reproducteurs, âgés respectivement de 19 à 49 semaines (S). Le choix des âges des animaux est dicté par les différentes phases du développement postnatal chez le poulet reproducteur en élevage rationnel, pré puberté pour les poulets âgés de 19 à 21S, engagement en puberté pour les poulets de 22S, puberté accomplie et début d'activité sexuelle pour les sujets de 25S et en fin les animaux matures, adulte, sexuellement en activité (A) ou temporairement au repos (R) âgés de 49S.

4.1. Sacrifices et prélèvements

Les poulets sont sacrifiés et immédiatement pesés puis disséqués (**Figure 9, A, B**).

Les testicules prélevés, pesés individuellement (**Figure 9, C**) sur une balance à précision à 0,01gramme (g) et plongés directement dans le fixateur de Bouin Hollande. Chacun des testicules est mis dans un pilulier soigneusement étiqueté.

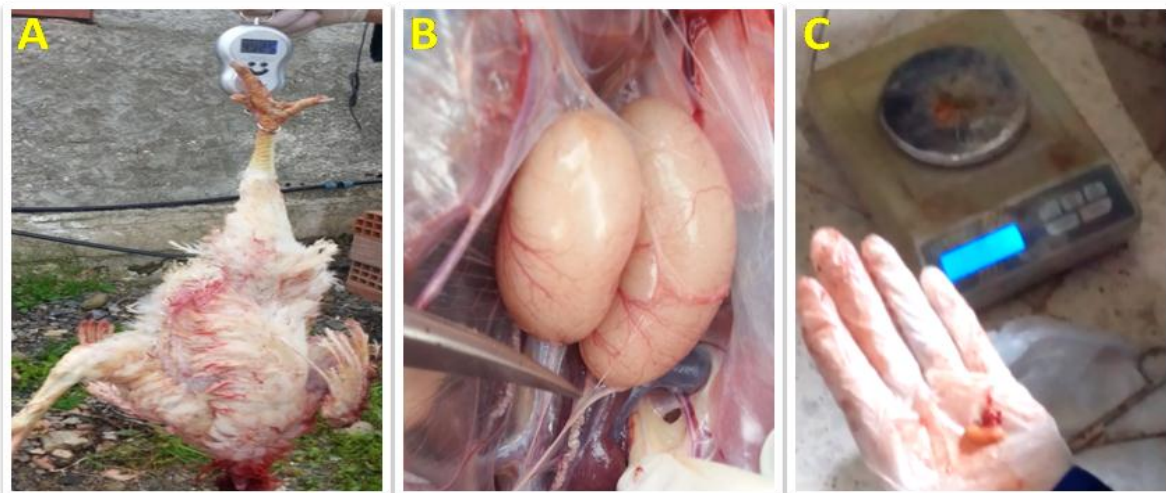


Figure 9 : Sacrifices et prélèvements. A: Sacrifice et pesée de l'animal, B: Prélèvement des organes, C: Pesée des testicules. (Image Originale, 2017)

5. Méthodes d'analyse

5.1. Etude histologique

Cette étude a pour objectif de décrire la structure histologique du testicule à partir des échantillons prélevés sur les animaux.

La technique histologique consiste en une séquence d'étapes successives basées sur la fixation des échantillons suivie d'un traitement de déshydratation qui permet l'enrobage en paraffine pour la confection de coupes fines destinées à l'observation microscopique après coloration histochimique.

Les techniques utilisées ont été inspirées de celles de MARTOJA et MARTOJA. (Martoja et Martoja,1967). Nous résumons l'essentiel du protocole selon les étapes suivantes.

5.1.1. Fixation des échantillons

Cette étape est la plus importante de la préparation histologique. Elle a pour but d'immobiliser les structures cellulaires en place en respectant leur morphologie et permettant leur conservation permanente et le renforcement de l'intensité de la coloration ultérieure. L'agent fixateur de bonne qualité permet une bonne coagulation du gel protéique qui circule entre les mailles du réseau membranaire intracellulaire et assure ainsi le maintien des organites en place. Nous avons utilisé le fixateur sublimé de Bouin Hollande, ce dernier appartient à la famille des fixateurs coagulants à base de métaux lourds, acétate de cuivre. C'est une solution préparée au laboratoire sur la base d'un mélange de formol et d'acide picrique.

Nous avons plongé les testicules, chacun dans un pilulier contenant le fixateur avec un volume au moins 10 fois supérieur de celui des organes. Après deux jours de fixation, nous avons retiré l'enveloppe externe qui entoure les testicules et coupés transversalement les plus grands d'entre eux en fragments plus petits afin que le fixateur pénètre à l'intérieur du tissu testiculaire. La durée de la fixation est de sept à dix jours selon la taille de testicule.

Une fois l'organe fixé, nous le plaçons directement dans de l'alcool 70° pour le préserver indéfiniment (**Figure 10**).



Figure 10 : Etape de fixation. A : Bouin Hollande, B : Piluliers pour fixation.

5.1.2. Déshydratation

La déshydratation est le passage de l'échantillon dans des bains successifs d'alcool de degrés croissant (50°, 70°, 80°, 90°, 100°). Cette étape permet de retirer toute l'eau contenue dans les tissus tout en évitant de désorganiser les structures cellulaires. L'échantillon est alors prêt pour l'inclusion dans la paraffine.

Nous avons mis les organes dans des cassettes d'inclusion bien étiquetées avant de les tremper dans l'alcool.

5.1.3. Eclaircissement ou imprégnation par le liquide intermédiaire

Il s'agit maintenant d'extraire l'alcool des échantillons et de le remplacer par la paraffine. Cette étape intermédiaire sert à éliminer complètement les traces d'alcool des échantillons. Pour cela on utilise un solvant miscible à la paraffine comme le xylène ou toluène, une fois l'alcool éliminé, l'imprégnation par la paraffine peut avoir lieu (**Figure 11, A**).

5.1.4. Imprégnation

C'est une étape qui se fait à chaud, immédiatement après l'éclaircissement. Les organes sont plongés dans deux bains successifs, le premier est un mélange mi-xylène mi-paraffine et le deuxième est un bain de paraffine pure liquide, deux heures pour chaque bain, dans une étuve réglée à une température de fusion de la paraffine (58°C à 60°C).

La paraffine pénètre à l'intérieur de l'organe et occupe les espaces, à l'origine remplis d'eau.

5.1.5. Inclusion

L'inclusion est l'étape qui consiste à enrober l'organe dans la paraffine pour former des blocs à couper renfermant l'échantillon.

Pour réaliser cette étape, nous avons utilisé des moules et des cassettes d'inclusions préalablement identifiés. Nous versons un peu de paraffine pure fondue à 60°C au fond de chaque moule, que nous avons-nous-même confectionné au début de notre expérimentation, avant d'y positionner l'organe dans le sens qui convient pour la coupe. Nous recouvrons par la cassette d'inclusion précitée puis nous les remplissons de paraffine. Nous laissons refroidir complètement les blocs avant de les démouler (**Figure 11, B**). Les blocs obtenus sont gardés à température ambiante jusqu'à utilisation pour la réalisation des coupes minces. Dans ce cas, ils sont placés à -20°C quelques heures auparavant pour faciliter la coupe.

5.1.6. Confection des coupes

Nous avons réalisé des coupes fines de 3 à 4 mμ d'épaisseur à l'aide d'un microtome à couteau fin de type Leica (**Figure 11, C**). Les blocs de paraffine renfermant les échantillons sont débités un par un en fines lanières de paraffine que nous étalons à la surface d'un bain marie de 40°C. Les coupes sont ensuite recueillies sur des lames de verre, nettoyées et identifiées avec un crayon en diamant. Les lames sont séchées dans une étuve à 37°C pendant toute la nuit. Au moment de la coloration, les lames sont passées sur une plaque chauffante pour faire fondre la paraffine et coller l'échantillon sur la lame (**Figure 11, E**).

5.1.7. Déparaffinage et réhydratation

Avant d'entamer la coloration, les lames doivent être déparaffinées et réhydratées. Les colorants histologiques que nous avons utilisés étant des solutions aqueuses.

5.1.7.1. Déparaffinage

Pour enlever toute la paraffine, nous avons plongé les lames dans deux bains successifs de xylène pure, 15 minutes chacun.

5.1.7.2. Réhydratation

Elle a pour objet de retirer le toluène/xylène du tissu et le remplacer par l'eau. Pour réhydrater nous avons passé les lames dans une série de bains d'alcool éthylique de degrés décroissant (100°, 95°, 80°, 70°, 50°), puis dans de l'eau distillée.

5.1.7.3. Coloration

Pour la coloration de nos lames nous avons choisi la coloration topographique au Trichrome de Masson (**Figure 11, F**).

Cette technique de coloration est utilisée pour mettre en évidence les éléments cellulaires et tissulaires, visualiser la morphologie des cellules (noyau et cytoplasme) afin de déterminer leurs répartitions, architectures et structures. Le noyau apparaît coloré en noir, le cytoplasme acidophile et le nucléole en rose, les sécrétions sont soit rouges soit vertes en fonction de leurs natures, les muscles sont rouges et les fibres collagènes vertes.

Cette technique est réalisée par une batterie de colorants qui sont : l'hématoxyline, la fuchsiine-ponceau, l'orange G et le vert lumière.



Figure 11 : Technique de coloration pour préparations histologiques (images originales, 2017. **A:**Batterie de déshydratation, **B:** Enrobage en paraffine, **C:** Confection de coupes au microtome, **D:** Etalement des coupes, **E:** Fixation des coupes sur lame, **F:** Batterie de coloration(**Image originale**, 2017).

5.1.8. Montage des lames pour observation microscopique

Le montage est l'opération qui consiste à fixer, à l'aide d'une goutte d'un milieu de montage, en l'occurrence de l'Eukit, une lamelle de verre sur l'échantillon histologique, qui permet l'adhérence entre la lame et la lamelle. Une légère pression sur la lamelle permet de chasser les bulles d'air. Après montage, les lames sont séchées, nettoyées au xylène puis observées par un microscope photonique.

Après cette étape, les lames peuvent être scellées par une couche de vernis transparent sur les bords de la lamelle pour permettre de les conserver pendant de très longues années.

5.1.9. Observation microscopique et prise des photos

L'observation des lames est réalisée sous un microscope photonique (Optika, B-382Pli ALC). Les observations microscopiques et la prise de micrographies de champs histologiques ont été réalisées sur un microscope optique équipé d'une caméra (Optika) et branché au microordinateur. La prise des photos se fait à l'aide du logiciel « Optika Vision Lite 2.1 », conçu pour l'appareil utilisé et fourni par le constructeur.



Figure 12 : Station d'observation microscopique et de traitement d'images

5.2. Etude histomorphométrique

L'étude histomorphométrique a été réalisée à l'aide du logiciel de traitement d'images «AxioVision» qui permet de mesurer, à l'échelle microscopique, les structures histologiques des testicules étudiés, sur les micrographies réalisées. Les paramètres mesurés sont la surface des tubes séminifères, la surface des lumières, leurs diamètres respectifs et la hauteur de l'épithélium séminifère, pour tous les points d'âges étudiés. Les diamètres et les hauteurs sont mesurés en μm , et les surfaces en μm^2 .

Nous avons pris différentes sections sur différents testicules, droit et gauche. Les sections mesurées sont celles qui montrent les structures les plus régulières possible, afin de travailler sur un échantillon homogène. Les sections allongés et/ou contournés ne sont que le reflet du contournement des tubes séminifères dans les testicules.

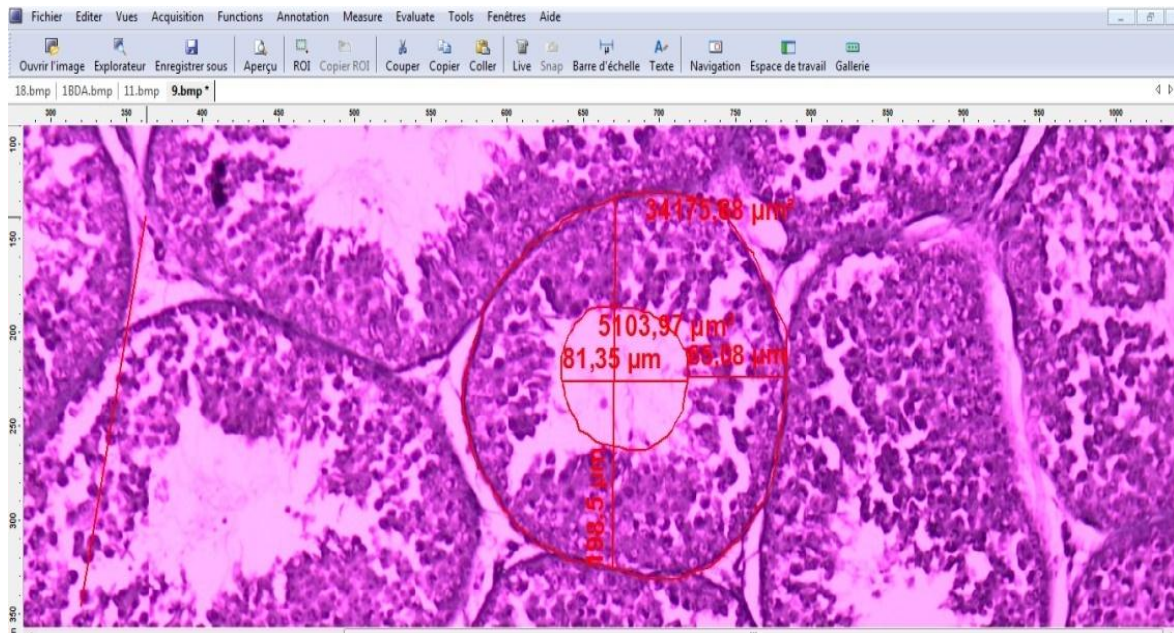


Figure 13 : Analyse morphométrique sur logiciel AxioVision(Image originale, 2017)

5.3. Etude statistique

Le traitement statistique des données et les présentations graphiques des résultats ont été réalisés sous Microsoft Office Excel 2007.

La moyenne arithmétique des valeurs individuelles est calculée pour chaque série et pour chaque paramètre et les valeurs de l'erreur standard à la moyenne «ESM» ont été calculées par Excel pour les résultats de l'analyse morphométrique. L'analyse de la variance a été réalisée sur le logiciel «R» 2015. Après collection des données, les tests de Shapiro Wilk et Bartlett ont été appliqués pour une vérification de la normalité et de l'égalité des variances. Le test non paramétrique de Kruskal-Wallis a été appliqué à nos résultats par défaut de la normalité, ce test démontre une différence des moyennes ($P < 0,0000$) d'où la possibilité d'appliquer un test de comparaison des moyennes deux à deux. Nos données ont été, à ce fait, soumises au test de Tukey.

Les valeurs des probabilités considérées « p » sont les suivantes :

- Si $P < 0.001$: La différence est hautement significative***.
- Si $P < 0.01$: La différence est très significative**.
- Si $P < 0.05$: La différence est significative*.
- Si $P > 0.05$: La différence est non significative.

Notre travail porte sur le développement des testicules du poulet reproducteur chez des animaux de la race Cobb500, âgés de 19 à 49S.

Au cours de notre étude, nous avons mesuré différentes variables dont le poids des animaux après sacrifice, le poids de chacun des testicules, puis nous avons réalisés une étude histologique et histomorphométrique des tubes séminifères durant la période de développement postnatal du testicule sur laquelle s'étend notre étude.

1. Etude macroscopique

1.1. Evolution du poids des animaux

La figure (14) représente l'évolution du poids des animaux, les valeurs sont exprimées en (g).

Nous avons enregistré une augmentation progressive du poids corporel entre la 21^{ème} et la 49^{ème}S. Le poids le plus élevé enregistré atteint 5150g pour le poulet sexuellement actif (A).

Nous avons remarqué une légère réduction de poids de poulet en phase de repos sexuel (R), post activité, par rapport à celui qui est en activité (A).

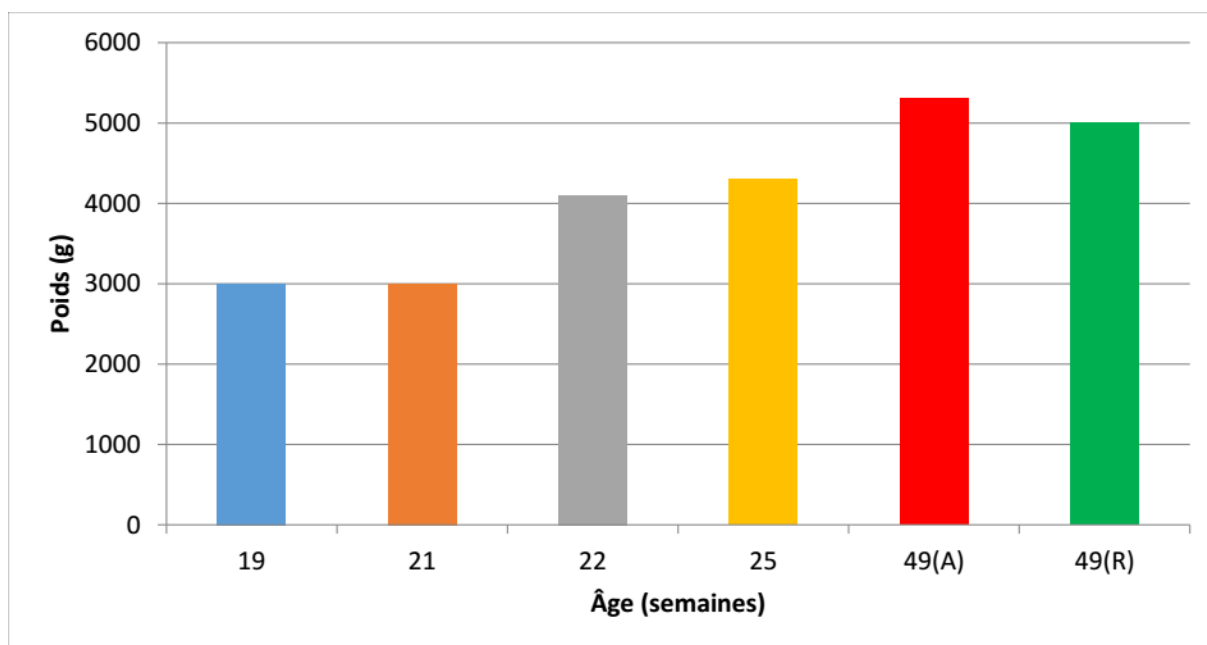


Figure 14 : Evolution pondérale moyenne des animaux en fonction de l'âge.

1.2. Evolution des poids et diamètres des testicules

1.2.1. Poids des testicules

La figure 15 représente l'évolution des poids des testicules droit et gauche en fonction de l'âge, chez les animaux étudiés.

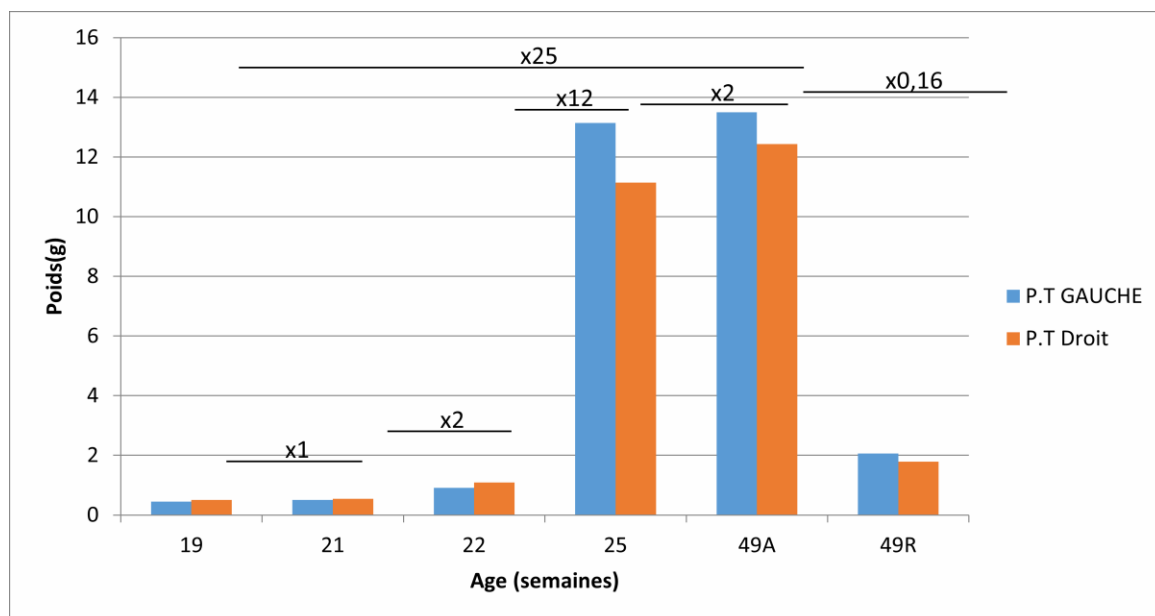


Figure 15 : Evolution de poids moyens des testicules gauche et droit en fonction de l'âge.

Les résultats obtenus montrent que le poids testiculaire des animaux augmente progressivement à partir de 22 S en fonction de l'âge pour atteindre le poids le plus élevé à la 49^{ème} semaine chez le poulet adulte en activité sexuelle intense (A) avec une valeur de 12,96g.

En comparant le poids des testicules des animaux entre les différents stades de la maturité sexuelle, nous avons constaté que le testicule double de poids entre la phase de pré-puberté et après une semaine de stimulation lumineuse, il passe de la valeur de 0,5g à la valeur de 0,99g, celle-ci durant deux semaines. Le poids des testicules de l'animal pubère subit une augmentation 25 fois supérieur au poids initial.

Nous avons enregistré un poids testiculaire très bas pour le poulet qui est en repos sexuel (R), avec une valeur inférieure à 2g par rapport à celui en activité (A) qui dépasse 12g.

La comparaison entre les poids des testicules gauche et droit des animaux en fonction de l'âge montre que le testicule gauche est plus grand que le testicule droit dans 60% des cas que nous avons étudié.

1.2.2. Diamètre des testicules

Le Tableau I représente l'évolution de diamètre testiculaire des poulets en fonction de l'âge.

Tableau I : Evolution de diamètre testiculaire des poulets en fonction de l'âge.

Age (semaines)	19	21	22	25	49 (A)	49 (R)
Diamètres des testicules (mm)	4	6	9	17	22	10

Nous avons enregistré une évolution remarquable dans le développement du diamètre des testicules du poulet reproducteur en fonction de l'âge (**tableau I**). Le diamètre du testicule de l'animal adulte en activité atteint 22 mm, soit cinq fois supérieur à celui des individus pré-pubères de 19S. Il est intéressant de noter que le testicule du poulet adulte du même âge, mais au repos, diminue de la moitié sur le diamètre par rapport au poulet actif.

Nous avons enregistré un diamètre moyen pour les testicules des animaux pubère de 25S de 17mm, proche de celui du poulet adulte, en activité, ce qui justifie l'importance de cette phase pour la réussite de la fonction de reproduction.

1.3. Evolution du poids testiculaire par rapport au poids corporel

Nous avons mesuré le poids des animaux et de leurs testicules, les valeurs sont exprimées en (g). La figure (**16**) représente l'évolution du poids testiculaire et du poids corporel des animaux étudié en fonction de l'âge et de l'état physiologique des poulets matures.

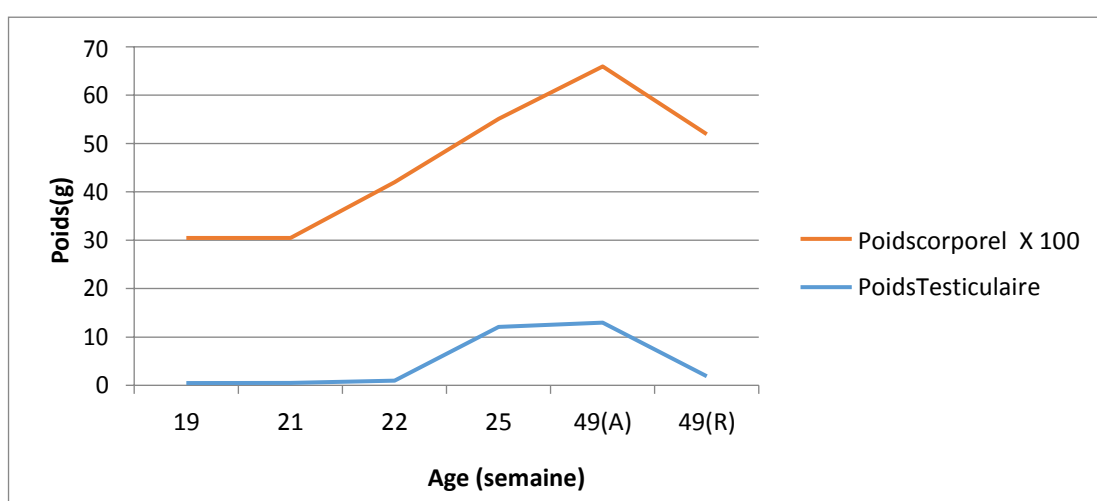


Figure 16: Evolution du poids testiculaire par rapport au poids corporel

Nous avons remarqué un parallélisme dans le développement de poids corporel des animaux et de leurs testicules, le poids corporel des poulets augmente exponentiellement au début de l'excitation lumineuse jusqu'à atteindre l'âge adulte, dans le même temps le poids des testicules augment faiblement au début puis exponentiellement après une semaine d'excitation lumineuse. Nous avons enregistré une diminution dans le poids corporel et testiculaire chez les animaux post-actifs de 49S.

1.4. Evolution du poids testiculaire relatif à 100 g de poids corporel

Dans le but d'apprécier l'évolution du poids des testicules par rapport au poids corporel, nous avons évalué le poids testiculaire relatif à 100g de poids corporel (**figure 17**).

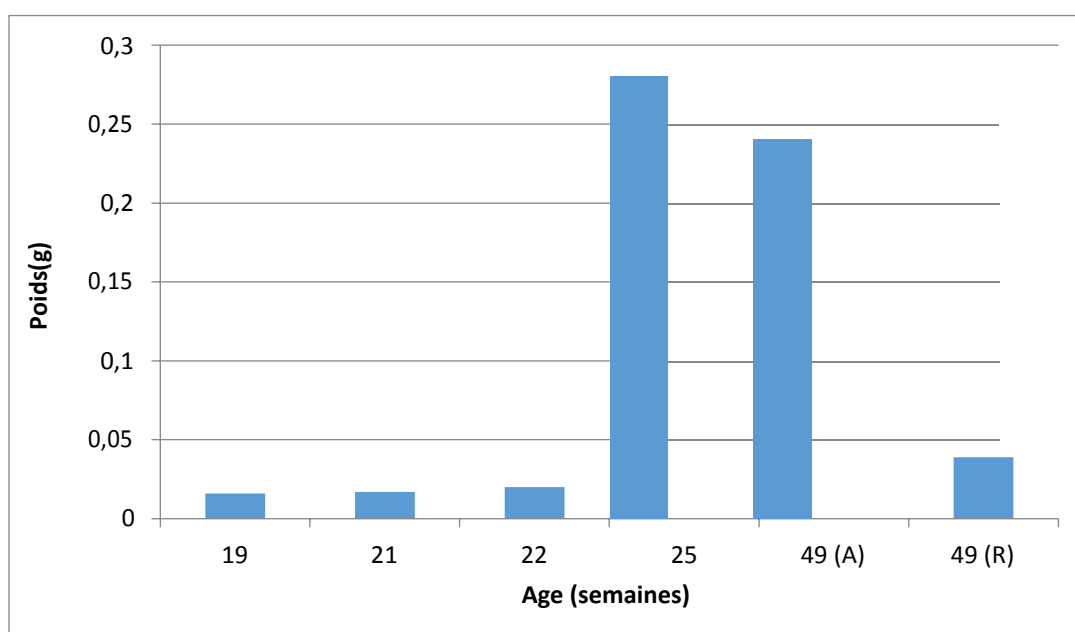


Figure 17 : Evolution du poids testiculaire moyen relatif à 100g de poids corporel.

Nous avons enregistré la plus grande valeur en faveur des poulets âgés de 25 semaines, avec une moyenne de 0,28 g, le poulet âgé de 49 semaines, en phase d'activité sexuelle (A), les poulets âgés respectivement de 19S, 21S et 22S donnent des valeurs inférieures à 0,05 g. Le poulet de 49S en phase de repos sexuel enregistre une valeur très proche à celle des individus immatures, ce qui renforce la valeur de ce paramètre pour justifier l'importance de la condition physique des animaux pour le développement des performances sexuelles. La spermatogenèse se mettant en place durant cette période pubertaire.

2. Etude microscopique

La deuxième partie de notre travail concerne les aspects microscopiques du développement gonadique chez le poulet reproducteur aux différents stades de développement étudiés.

Dans un premier temps nous présenterons l'analyse histologique du testicule notamment les tubes séminifères. L'étude a été réalisée sur la base de l'observation microscopique des coupes minces des testicules des animaux étudiés, dans un deuxième temps, nous aborderons une analyse histomorphométrique de ces mêmes structures.

2.1. Analyse histologique des tubes séminifères

D'une manière générale, l'observation microscopique d'une coupe mince de testicule chez les animaux étudiés montre, au faible grossissement (Gx10), des sections de différentes formes arrondies, allongées ou encore contournées es rappelant les circonvolutions du tube séminifère.

Cette observation microscopique nous a permis de distinguer différents aspects du tube séminifère, en fonction de l'âge de l'animal et de l'état physiologique des animaux notamment ceux âgés de 49 S en activité sexuelle intense ou au repos.

2.1.1. Dix-neuf semaines d'âge : Poulet pré-pubère

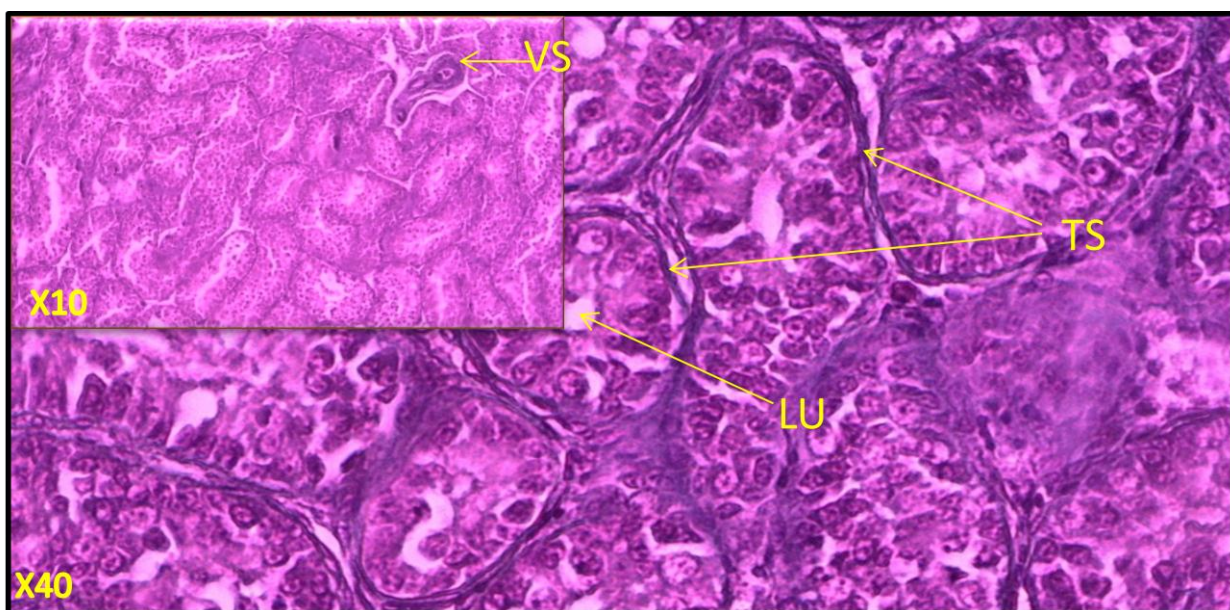


Figure 18 : Testicule de poulet âgé de 19S, pré-puberté, LU:Lumière, TS: Tube séminifère, VS: Vaisseau sanguin.

Les tubes séminifères sont entourés d'une matrice extracellulaire riche en fibres de collagène que nous avons identifié par la coloration en vert avec le trichrome de Masson. Nous avons également observé dans cette matrice extracellulaire des vaisseaux sanguins et des cellules myocytaires qui entourent les tubes séminifères. Les tubes séminifères sont délimités par une lame basale sur laquelle repose l'épithélium séminifère.

L'épithélium séminifère est constitué à ce stade par des spermatogonies occupant toute la surface du tube. Nous avons observé la présence de petites ébauches de la lumière dans certains tubes séminifères, cependant cette lumière reste absente dans la majorité des tubes observés.

2.1.2. Vingt-et-une semaines d'âge : Début de la stimulation lumineuse

Chez ces animaux, la structure de l'épithélium séminifère est très semblable à celle observée à 19S. Les spermatogonies occupent toujours toute la surface des tubes, avec un début d'alignement vers la périphérie, à la limite de la lame basale. La lumière commence à se mettre en place dans la majorité des tubes séminifères. Les espaces occupés sont plus importants.

2.1.3. Vingt-deux semaines d'âge : Engagement de la puberté

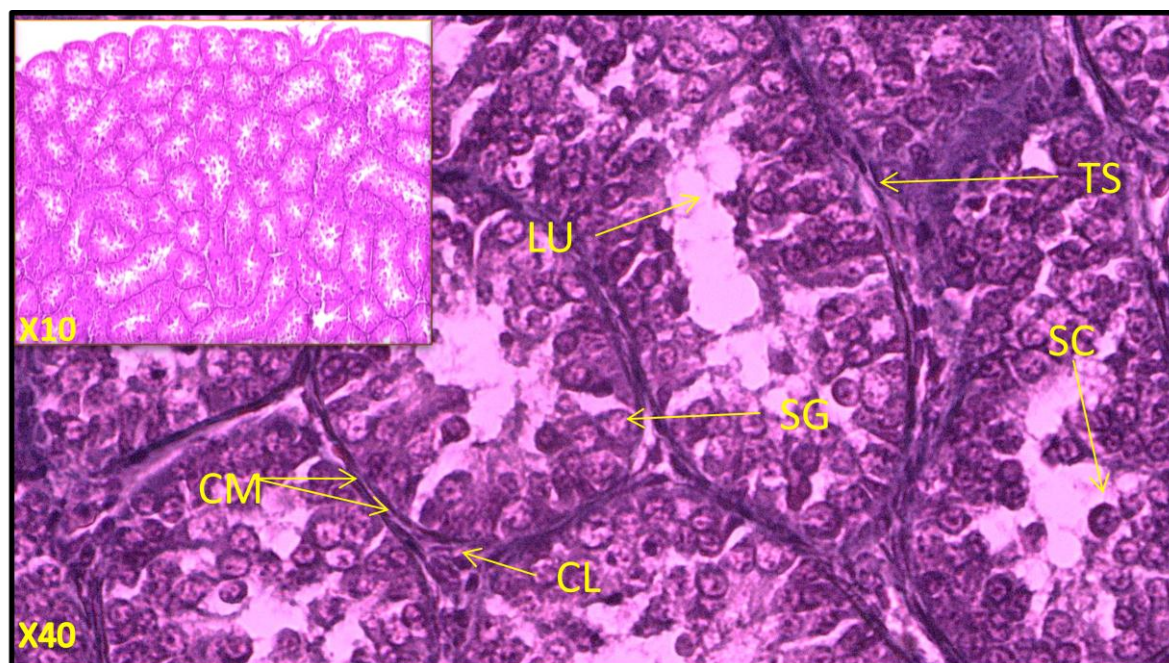


Figure 19 : Testicule du poulet âgé de 22S, engagement de la puberté. **CL :** Cellule de Leydig, **CM :** Cellule myocyttaire, **LU :** Lumière, **SC :** Spermatoctte, **SG :** Spermatogonie, **TS :** Tube séminifère.

L'épithélium séminifère commence à se différencier. Les spermatogonies sont alignées à la périphérie des tubes séminifères plaquées contre la lame basale. Les premiers spermatoctes primaires commencent à apparaître dans une direction centripète mais ils sont

encore rares. La lumière dans les tubes séminifères, devenue bien visible, occupe le centre des tubes.

Les cellules de Leydig en amas ou dispersées sont bien visibles aussi, elles occupent les espaces inter-tubulaires dans lesquels des vaisseaux sanguins sont souvent apparents.

2.1.4. Vingt-et-cinq semaines d'âge : Animal pubère

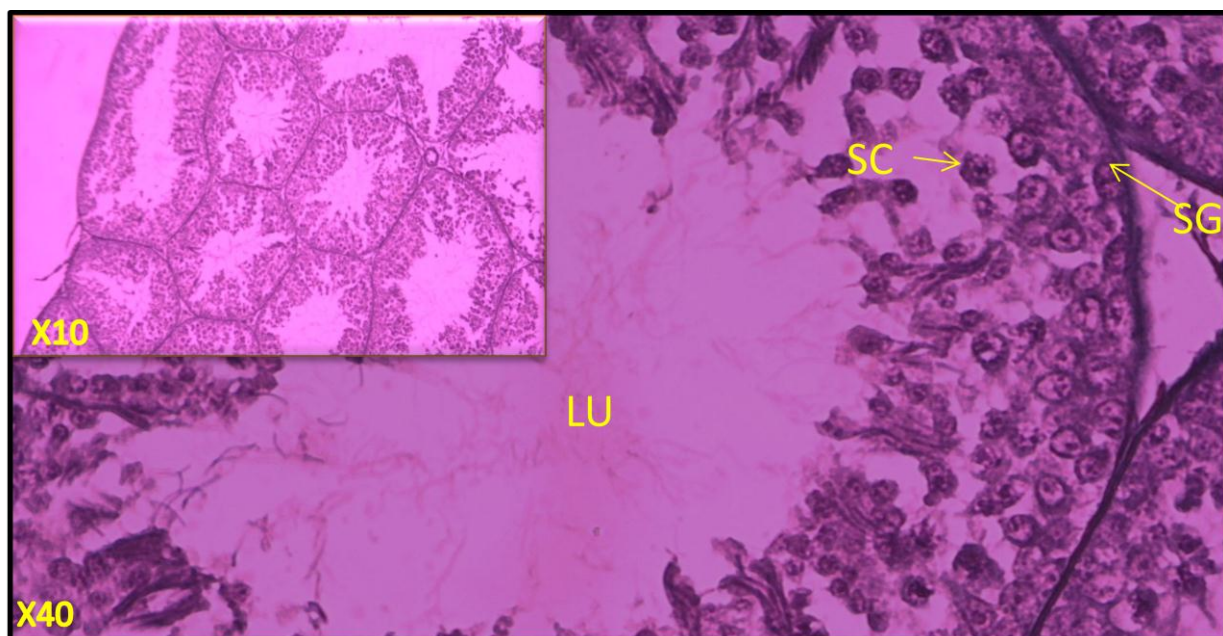


Figure 20 : Testicule du poulet âgé de 25S, adulte. **LU:** Lumière, **SC:** Spermatocyte, **SG:** Spermatogonie.

L'épithélium séminifère est bien différencié. Nous observons tous les types de cellules de la lignée germinale. De nombreuses spermatogonies, occupent la périphérie des tubes séminifères, puis viennent les spermatocytes de type I et les spermatides arrondies dont la densité témoigne d'une spermatogenèse active. Quelques spermatides allongées commencent à apparaître encore accrochées à la cellule de Sertoli et une faible densité de spermatozoïdes s'accumulent dans la lumière centrale des tubes séminifères, cette lumière est très importante à cet âge.

2.1.5. Quarante-neuf semaines d'âge : Animal adulte sexuellement mature

2.1.5.a. Animal en activité sexuelle intensive

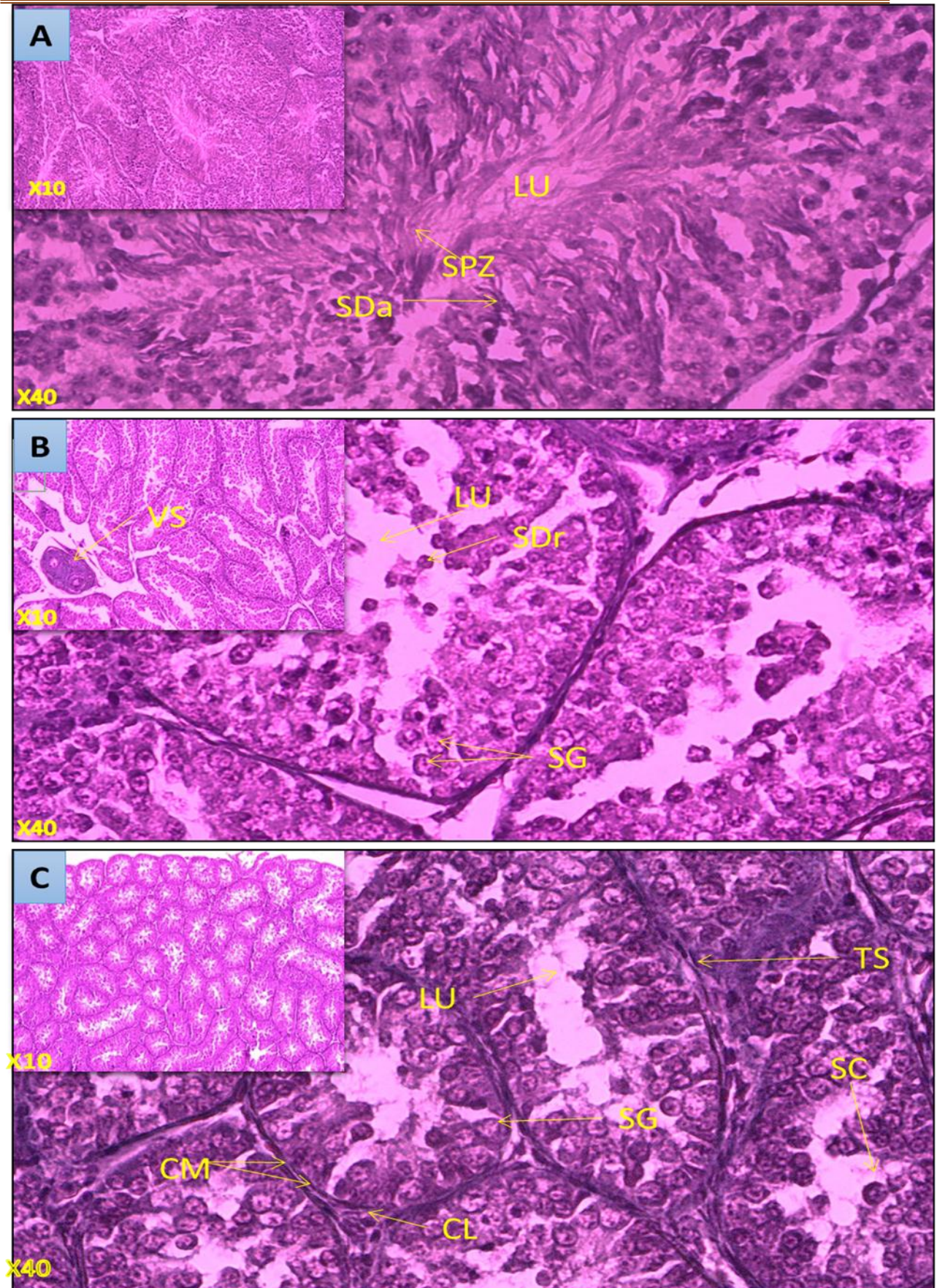
Les testicules du poulet en pleine activité sexuelle présentent une structure très développée. L'épithélium séminifère est très actif, il présente toutes les lignées de cellules germinales en abondance, les spermatogonies, spermatocytes, spermatides arrondies et allongés. Les spermatozoïdes sont bien visibles. Ils remplissent la lumière des tubes séminifères de façon abondante dans certaines sections observées des testicules.

2.1.5.b. Animal post-actif

Nous avons observé une très remarquable réduction dans la structure des tubes séminifères par rapport à ceux du sujet en activité sexuelle.

L'épithélium séminifère est constitué de spermatogonies alignées à la périphérie des tubes, des spermatocytes et des spermatides arrondies qui deviennent rares. Nous n'avons pas observé de spermatides allongées et quasiment pas détecté de spermatozoïdes dans les lumières des tubes séminifères, devenues réduites. La structure globale du testicule chez ce reproducteur mis au repos nous rappelle quelque peu celle des animaux engagés dans la phase de la puberté, à 22S d'âge, après une semaine de photostimulation.

PlancheI



2.2. Etude histomorphométrique des structures testiculaires du poulet reproducteur.

Parallèlement à l'analyse histologique, nous avons effectué des mesures morphométriques sur les micrographies réalisées à partir de l'observation microscopique des coupes histologiques du testicule de poulet reproducteur aux différents stades étudiés. Les mesures morphométriques ont été réalisées à l'aide du logiciel AxioVision de traitement d'images.

Nous avons mesuré plusieurs paramètres : les diamètres et les surfaces des tubes séminifères et de leurs lumières, ainsi que la hauteur des épithéliums séminifères en fonction de l'âge (19, 21, 22, 25, 49 semaines) et de l'état physiologique des individus. Les mesures sont évaluées en μm .

2.2.1. Variation des diamètres et des surfaces des tubes séminifères

2.2.1.1. Variation des surfaces des tubes

Nous avons mesuré la surface des tubes séminifères dans les différentes conditions, les valeurs sont exprimées en μm^2 . Les résultats nous ont permis de réaliser un histogramme qui représente l'évolution de la surface des tubes séminifères dans les différentes conditions.

Nous avons séparé l'ensemble des individus étudié en groupe, selon l'âge. Le premier groupe concerne les animaux n'ayant pas encore atteints la puberté de 19S à 21S, le deuxième groupe concerne les individus pubères et mature 25S et 49SA et le troisième groupe pour l'individu au repos sexuel 49R, postactivité.

La surface des tubes séminifères varie en fonction de l'âge des animaux et de leur état physiologique, elle augmente de façon linéaire, faiblement dans le groupe des animaux n'ayant pas encore atteints la puberté, elle passe de la valeur de $1965,06 \pm 48,96 \mu\text{m}^2$ à 19S à une valeur de $6230,73 \pm 289,43 \mu\text{m}^2$ à 22S et avec beaucoup plus d'amplitude chez les animaux pubères et matures où la surface atteint une valeur maximale de $40277,6 \pm 1137,33 \mu\text{m}^2$ à 49SA. Nous avons enregistré une diminution importante de la surface des tubes séminifères pour l'animal mis au repos avec une valeur de $11875,3 \pm 843,9 \mu\text{m}^2$.

Les résultats de l'analyse de la variance montrent des différences hautement significative ($p < 0,001$) entre 21S et 25S, 22S et 25S, 25S et 49SA, 49SA et 49SR et entre 22S et 49S tandis qu'elle est non significative ($P > 0,05$) entre 19S et 21S, 21S et 22S.

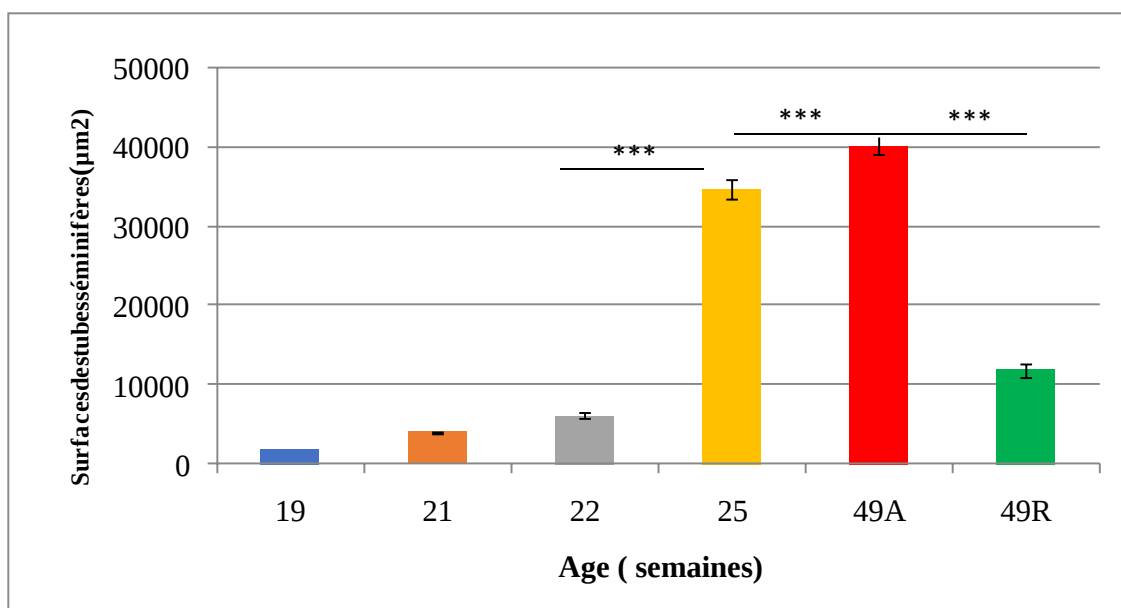


Figure 21 : Variation des surfaces des tubes séminifères en fonction de l'âge.

2.2.1.2. Variation du diamètre des tubes séminifères

Nous avons mesuré le diamètre des tubes séminifères dans les différentes conditions, les valeurs sont exprimées en μm . L'histogramme (**Figure 22**) montre les résultats obtenus.

Nous avons enregistré une augmentation progressive des diamètres des tubes séminifères en fonction de l'âge. Cependant les différences ne sont pas toutes uniformes, l'augmentation semble linéaire dans le groupe des individus non pubère, avec une valeur qui passe de $47,24 \pm 1,09 \mu\text{m}$ à 19S à une valeur de $78,44 \pm 1,84 \mu\text{m}$ à 22S. Nous avons noté un développement plus important en passant de premier groupe au groupe des individus pubères et matures où les tubes séminifères atteignent le plus grand diamètre à 49S avec une valeur de $207,68 \pm 5,73 \mu\text{m}$.

Nous avons constaté une diminution importante du diamètre des tubes séminifères Chez l'animal mis au repos avec une valeur de $110,33 \pm 4,58 \mu\text{m}$.

L'analyse de la variance montre, pour ce paramètre, des différences significatives entre toutes les classes comparées. Seuls différent les niveaux de significativité (**Tableau II**).

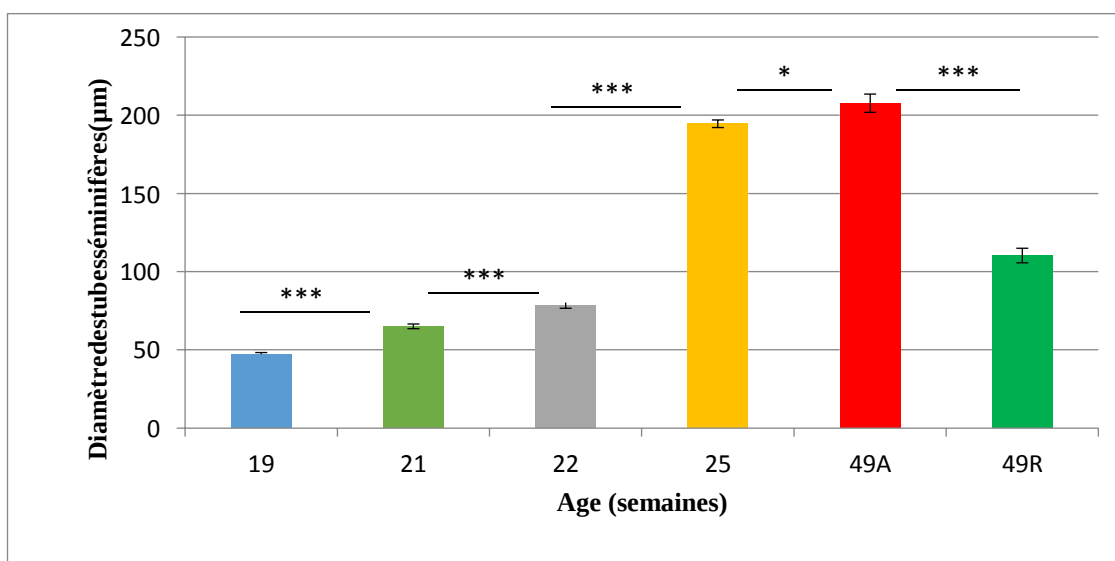


Figure 22: Variation du diamètre des tubes séminifère en fonction de l'âge

2.2.2. Variation des diamètres et des surfaces des lumières des tubes séminifères.

Nous avons mesuré les surfaces et les diamètres des lumières des tubes séminifères sur les différentes conditions, les valeurs sont exprimées en μm pour les diamètres et en μm^2 pour les surfaces

2.2.2.1. Variation de la surface de la lumière

Les mesures de la surface des lumières des tubes séminifères nous a permis de réaliser l'histogramme de la figure (23).

La surface de la lumière des tubes séminifères augmente progressivement en fonction de l'âge entre 19S et 25S. Cependant elle reste très faible dans le groupe des individus non pubères où elle passe de la valeur de $20,81 \pm 1,4 \mu\text{m}^2$ à 19S à la valeur de $138,86 \pm 10,57 \mu\text{m}^2$ à 22S. La surface de la lumière augmente exponentiellement à partir de 22S pour atteindre une valeur maximale de $6518,85 \pm 490,55 \mu\text{m}^2$ chez les individus pubères de 25S, puis diminue légèrement à 49SA avec une valeur de $5389,46 \pm 774,66 \mu\text{m}^2$ chez l'individu mature 49SA.

Nous avons enregistré une diminution très remarquable chez l'animal mis au repos avec une valeur de $384,08 \pm 56,18 \mu\text{m}^2$ par rapport au poulet de même âge mais en activité, tandis qu'elle est très proche de la valeur enregistrée chez les poulets de 22S.

L'analyse statistique nous montre des différences hautement significative ($p < 0,001$) entre 21S et 25S et 22S et 25S.

La différence de la lumière des tubes séminifères des animaux 49SA par rapport à celle des animaux 49SR est hautement significative ($p < 0,001$). Elle est non significative entre les individus non pubères de 22S et l'animal mature post-actif.

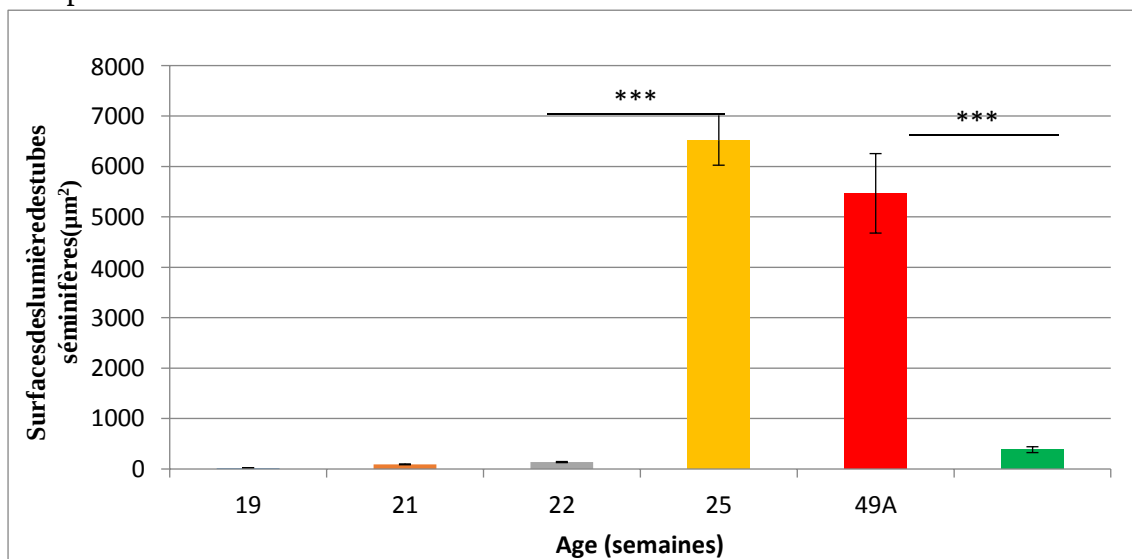


Figure 23 : Variation de la surface des lumières en fonction de l'âge.

2.2.2.2. Variation des diamètres des lumières

Les mesures de diamètres de la lumière des tubes séminifères nous a permis de réaliser l'histogramme de la figure (24).

Le diamètre de la lumière des tubes séminifères varie en fonction de l'âge des animaux et de leur état physiologique. Il augmente faiblement chez les individus non pubères, avec une valeur qui passe de $4,66 \pm 0,35 \mu\text{m}$ à 19S à la valeur de $11,88 \pm 0,59 \mu\text{m}$ à 22S. Nous avons enregistré une augmentation exponentielle à partir de 22S, elle atteint une valeur maximale de $75,39 \pm 4,24 \mu\text{m}$ chez l'individu sexuellement pubère puis diminue légèrement à 49SA mais avec une différence non significative ($P > 0,05$). L'augmentation enregistrée est hautement significative ($p < 0,001$) entre 21S et 25S et entre 22S et 25S.

Nous avons enregistré une diminution très remarquable chez l'animal mature post-actif par rapport au poulet de même âge mais en activité, avec des valeurs respectives de $17,18 \pm 1,63 \mu\text{m}$ et $75,13 \pm 3,45 \mu\text{m}$, cette différence est hautement significative ($p < 0,001$). Les différences ne sont pas significatives entre les animaux de 22S et 49SR.

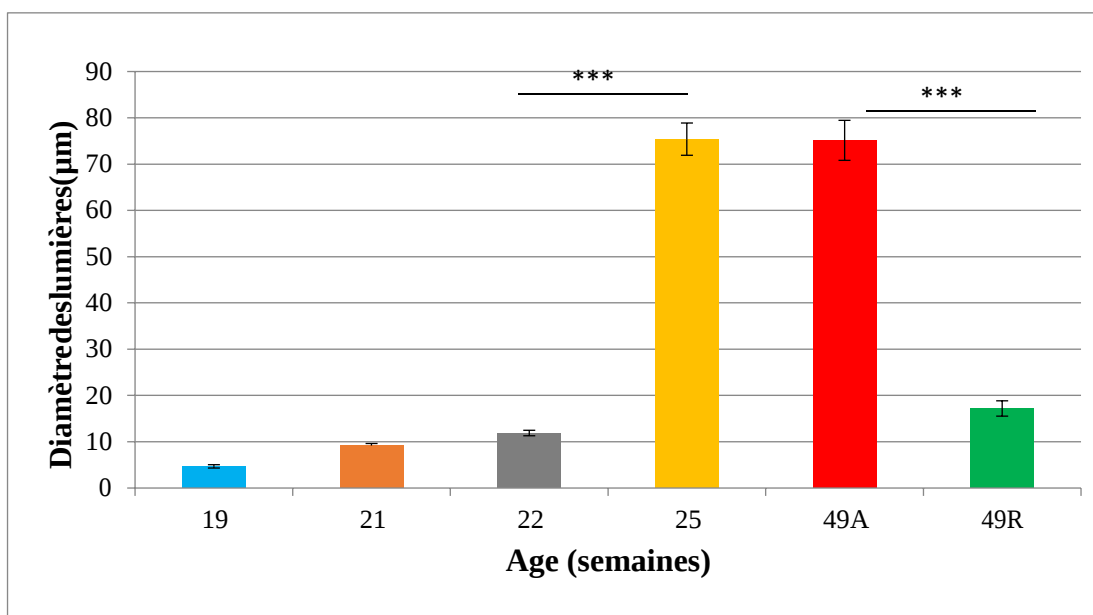


Figure 24 : Variation des diamètres des lumières des tubes séminifères en fonction de l'âge.

2.2.3. Variation de la hauteur de l'épithélium séminifère

L'histogramme de la Figure (25) montre les résultats obtenus pour les changements concernant l'épithélium séminifère.

La hauteur de l'épithélium séminifère augmente progressivement en fonction de l'âge des individus 19S à 49SA, nous avons enregistré une valeur de $19,4 \pm 0,43 \mu\text{m}$ chez les individus de 19S et une valeur de $33,04 \pm 0,98 \mu\text{m}$ chez les individus ayant subi une semaine d'excitation lumineuse. Cette augmentation est exponentielle à partir de 22S, elle atteint une valeur de $79,23 \pm 2,33 \mu\text{m}$ à 49SA.

La hauteur de l'épithélium séminifère des individus de 49SR donne une valeur de $45,44 \pm 1,95 \mu\text{m}$, cette valeur indique une diminution de ce paramètre par rapport à son équivalent actif 49SA.

L'analyse statistique montre une augmentation hautement significative ($p < 0,001$) entre 19S et 21S, 22S et 25S et entre 49SA et 49SR. Tandis qu'elle est non significative entre 21S début de l'excitation lumineuse et 22S après une semaine de traitement lumineux.

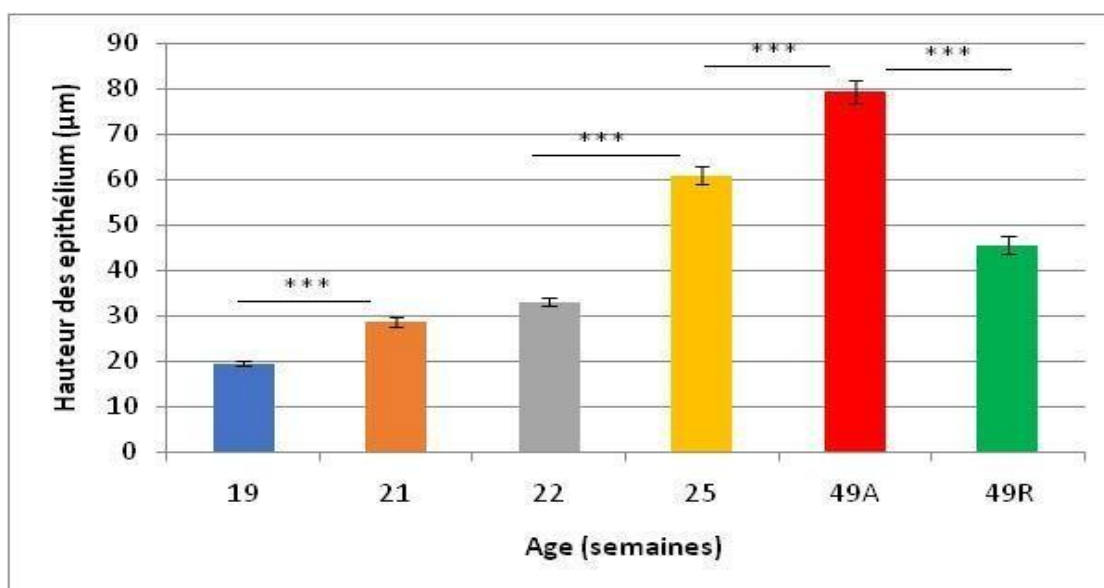


Figure 25: Variation des hauteurs des épithéliums en fonction de l'âge.

L'ensemble des résultats de l'analyse de variance par le test de Tukey sous R sont consignés dans le tableau II.

Tableau II : Tableau récapitulatif de l'analyse de variance (test de Tukey).

	Diamètre des tubes	Diamètre des lumières	Hauteur des épithéliums	Surfaces des tubes	Surfaces des lumières
19S _ 21S	P<0,001	ns	P<0,001	ns	ns
21S _ 22S	P<0,001	ns	ns	ns	ns
21S _ 25S	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
22S _ 25S	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
25S _ 49SA	P<0,01	ns	P<0,001	P<0,001	ns
49SA _ 49SR	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
49SR _ 22S	P<0,001	ns	P<0,001	P<0,001	ns

Au vu de nos résultats, l'analyse histomorphométrique montre une augmentation des paramètres microscopiques des tubes séminifères. Ces résultats nous permettent de noter que la puberté est accompagnée de changements drastiques de tous les paramètres des tubes séminifères parallèlement au développement pondéral du testicule et confirment l'importance de cette phase dans le développement des performances sexuelles des poulets reproducteurs.

Notre présent travail a porté sur le développement postnatal du testicule chez le poulet reproducteur en élevage rationnel sur les périodes pré-puberté-puberté et maturité sexuelle. Les résultats obtenus durant notre expérimentation concernent un aspect macroscopique incluant les paramètres pondéraux et testiculaire, et un aspect microscopique qui consiste en une étude histomorphométrique des structures de la gonade male en développement durant les périodes citées plus haut.

Les mesures effectuées dans notre étude, montrent l'existence d'un parallélisme entre le poids corporel et le poids testiculaire avec une augmentation continue en passant par une phase d'augmentation importante allant de 21S début de l'excitation lumineuse à 22S, et une phase plus ralentie mais progressive jusqu'à l'âge adulte de 49S.

Selon **Faure et al. (2016)**, le poids du testicule évolue de façon isométrique avec le poids corporel. Cependant l'augmentation du poids testiculaire à 22S est drastique et atteint la plus grande valeur que nous ayons mesurée à 49S. Nos résultats corroborent ceux obtenus par **Tyler et Gous (2011)**, qui ont démontré qu'après la photostimulation, il y a une augmentation exponentielle des poids testiculaires. Le poids testiculaire peut être multiplié par cinq cents au cours de la saison de reproduction (**Villate, 2001**).

Les valeurs des poids testiculaire relatifs à 100 g de poids corporel ainsi que le diamètre testiculaire montrent une augmentation après la photostimulation. Selon **Vizcarra et al., (2010)**, après photo stimulation il y a un développement exponentiel des poids testiculaires.

La photostimulation consiste en l'augmentation brusque de la durée et de l'intensité de la lumière. Dans la nature, les coqs qui se développent très tôt sous des jours croissant rapidement, sont plus précoces sexuellement, que les animaux qui subissent des jours longs dès le très jeune âge **de REVIERS (1973)**.

Des mâles élevés à une intensité lumineuse avoisinant 10 lux ont montré un meilleur gain corporel accompagné d'une consommation alimentaire réduite dû à un besoin plus faible d'énergie d'entretien par rapport à ceux élevés sous une intensité lumineuse plus élevée (**Boivin, 2007**).

Cette faible intensité et la constance des durées de lumière servent à retarder la maturité sexuelle. D'après **De REVIERS (1996)**, la durée d'éclairement restreinte retarde la maturité sexuelle qui permet d'avoir au même âge des mâles et femelles matures, capable de produire des gamètes de qualité (**Brillard, 1992**).

Il existe un poids corporel optimal pour un développement testiculaire maximal (**HIEN, 2002**). Ce contrôle se fait en limitant la quantité d'aliment ingéré et en utilisant une faible intensité lumineuse.

En effet selon **De Reviere, et Brillard (1975)**, le poulet Cobb500 est une race lourde à maturité sexuelle tardive 25S. Ces auteurs ont provoqué une maturation sexuelle précoce chez ces espèces lourdes, et ont conclu l'efficacité de la lumière en tant que facteur gonadostimulant. Cependant, la quantité des spermatozoïdes produite est inférieure à la normale, et la fécondité très faible. Ces données corroborent avec les résultats obtenus par **HIEN (2002)**, qui constate également que les poids testiculaires sont plus élevés si la photosimulation est plus tardive.

Nous avons constaté que les valeurs des poids des testicules gauche et droit sont inversement proportionnelles entre la phase prépubère et la phase pubère. En effet, les testicules droits sont légèrement plus lourds que les testicules gauches avant la puberté tandis qu'à la puberté à l'inverse les testicules gauches sont plus lourds que les testicules droits avec un taux de 60%.

Ferrouk et al., (2015) ont observé un dimorphisme testiculaire en faveur du testicule gauche à partir de la puberté chez la caille Japonaise. D'ailleurs, **Marvane (1988)** a observé que le testicule gauche est plus grand chez 65% des poulets reproducteurs.

Chez le poulet de 49S au repos nous avons observé un déclin dans les poids corporel et testiculaires avec un aspect proche de celui des individus en début de puberté. D'après **Villate (2001)**, les organes sexuels des oiseaux ont un volume réduit en dehors de la saison de reproduction ce qui corrobore avec nos résultats. Cette plasticité de la taille du testicule peut être liée à une plasticité des structures microscopiques du testicule.

Les variables microscopiques comme l'apparition de spermatides allongées et de spermatozoïdes dans les tubes séminifères, le diamètre, le nombre et la taille des cellules interstitielles et germinales ont été utilisées comme indicateurs de la maturité sexuelle (**Schinckel et al., 1983 ; Tegegne et al., 1991 in Lakabi, 2017**). Ces paramètres concordent modérément avec les variables macroscopiques en donnant une information supplémentaire quant à la maturité fonctionnelle des testicules (**Schinckel et al., 1983 ; Chemes, 2001 in Lakabi, 2017**).

Notre analyse histologique montre que l'évolution des structures testiculaires dépend de la stimulation lumineuse. À l'âge prépubère, les spermatogonies occupent presque la totalité du tube séminifère, et les lumières sont à peine perceptibles. À 22S, après la photo stimulation, nous distinguons une augmentation de la taille des tubes séminifères avec la mise en place des

lumières et le début de l'apparition des premiers spermatocytes I. Des résultats semblables ont été trouvés chez la caille japonaise par **Ferrouk et al., (2015)**, qui constatent que le diamètre moyen des tubes séminifères est en corrélation positive avec l'âge et augmente à la saison de reproduction.

A la puberté, tous les paramètres morphométriques augmentent significativement. Selon **De Reviers et al. (1971)**, la croissance des testicules est due essentiellement au développement des tubes séminifères en diamètres et en longueur. Ce qui est évident sur le plan histologique, les structures séminifères sont bien développées, les lumières sont très importantes. L'épithélium séminifère comporte tous les types de cellules de la lignée germinale, signe d'une importante activité sexuelle. Le nombre de cellules germinales est en relation linéaire avec le poids testiculaire (**De Reviers et al., 1971**).

Luna et al. (2013) ont observé une forte activité testiculaire accompagnée par une augmentation des poids testiculaires, ainsi que celle des concentrations plasmatiques des LH, FSH, testostérone et des hormones de croissance GH.

Le diamètre et la surface de la lumière des tubes séminifères sont moins importants à la maturité sexuelle par rapport à la puberté, due l'augmentation de la hauteur de l'épithélium séminifères au détriment de la lumière, tandis que la taille des tubes reste stable. A ce stade, les lumières sont envahies par les spermatozoïdes ce qui a été observé par **Bowling et al. (2003)**, qui a révélé l'influence de la photopériode sur la concentration du sperme.

Selon **Bacon et al. (2000)**, le rôle de la photopériode est clair concernant la synchronisation de l'activité sexuelle. Cependant les résultats obtenus divergent selon l'espèce ou le sexe de l'animal (**Boivin, 2007**). Selon **Bacon et al. (2000)**, il est possible de recréer artificiellement une saison afin de synchroniser l'activité sexuelle à une période déterminée.

En comparant entre l'individu en activité sexuelle et celui au repos, on note une remarquable réduction dans la structure des tubes séminifères. Ces résultats s'accordent parfaitement avec les résultats macroscopiques et histologiques où l'on observe des lumières qui sont très réduites, les cellules germinales qui se limite en général aux spermatogonies, avec l'apparition très rare des spermatocytes I et de spermatides. Cette structure ressemble à celle des animaux engagés dans la puberté après une semaine de photostimulation.

Selon **Vizcarra et al. (2010)**, un repos de quelques jours est nécessaire pour un poulet ayant eu une activité sexuelle intense. L'animal est ensuite remis en reproduction. Car après 28S il y a une diminution significative des concentrations de FSH, LH et de la testostérone qui

sont associées à une diminution du poids testiculaires qui est en corrélation importante avec la production de sperme.

Plusieurs expériences ont montré qu'il était possible de recréer artificiellement une saison sexuelle afin d'accélérer le rythme sexuel ou tout simplement de synchroniser l'activité sexuelle à une période déterminée (**Bacon et al., 2000**). Comme on peut ajuster la période de reproduction en fonction des contraintes économiques (**Brillard, 1991**).

En conclusion, cette étude préliminaire sur le développement post natal du testicule de poulet reproducteur nous a permis d'établir des résultats comme suite.

L'analyse des paramètres macroscopiques montrent une augmentation linéaire des poids des animaux (PC) et des poids (PT) et diamètres des testicules en fonction de l'âge. Le poids et le diamètre gonadiques augmentent drastiquement à la puberté. Le poids gonadique relatif à 100g de PC est maximal pour les animaux pubères. Le PT est multiplié respectivement par 2 et par 25 au début et à la fin de la photo-stimulation ce qui met en évidence l'important effet de la lumière sur la maturité sexuelle

L'analyse morpho métrique réalisée à partir des coupes histologiques montre pour tous les paramètres mesurés des TS une augmentation linéaire de 19 à 22S, début de la stimulation lumineuse. Les diamètres et surfaces des TS et de leurs lumières ainsi que la hauteur de l'épithélium séminifère montrent, après photo stimulation, un développement très significativement important. La lumière s'accroît après 22S jusqu'à atteindre un diamètre huit fois plus grand à 25S.

Chez l'animal adulte, au repos sexuel, accuse une chute significative de ces paramètres qui sont diminués de 6 fois par rapport à l'animal actif. Il recouvre des valeurs proches de celles des sujets de 22S.

L'analyse des données macroscopiques a mis le point sur une plasticité testiculaire confirmée par l'histologie et l'analyse histomorphométrique du développement gonadique qu'il conviendrait d'affiner sur un échantillon plus important pour dégager des perspectives d'amélioration des performances de reproduction de poulet reproducteur lorsque l'on sait que le poussin est un produit d'importation et en attendant la généralisation et l'optimisation de sa production en Algérie.

Références bibliographiques

BACON W. L., KURGINSKI-NOONAN B. A., YANG J. Effects of Environmental Lighting on Early Semen Production and Correlated Hormonal Responses in Turkeys. The Ohio State University.

BACON W.L., LONG D.W., KURIMA K., CHAPMAN D.P., 1994. Coordinate pattern of secretion of luteinizing hormone and testosterone in mature male turkeys under continuous and intermittent photo schedules. *Poult. Sci.*, 73 : 864-870.

BEGHOUL S. (2006), Bilan lésionnel des autopsies des volailles effectuées au niveau du laboratoire vétérinaire régional de Constantine. Mémoire de Magister en médecine vétérinaire. Faculté des sciences. Université Mentouri de Constantine -. Algérie.

BOIVIN CATHERINE (2007). Effet de l'intensité lumineuse sur le contrôle de la reproduction chez la brebis et sur la croissance des agneaux. Mémoire pour l'obtention du grade de maître ès sciences. Université Laval. Québec.

BRILLARD J.P., (1981). Influence de la photopériode quotidienne sur le développement des testicules et sur l'établissement de la spermatogenèse chez la pintade. Thèse, Faculté des Sciences exactes et Naturelles de l'Université de Tours, 68 p.

BRILLARD J.P., DE REVIERS M, (1985). Testis development and daily sperm

BRILLARD J. P. (1986), Influence of spermatozoa numbers and insemination frequency on fertility in dwarf broiler breeder hens. *Poultry science*, 65 (12): 2330-2334.

BRILLARD J.P., (1986). Age-related variations in seminiferous tubule dimensions and germinal and Sertoli cell numbers in guinea-fowl raised under a 14L: 10D photoperiod.

BRILLARD J.P. (1988). La fertilité de la poule après insémination artificielle : essai d'analyse quantitative du devenir des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles. Thèse, Université François Rabelais de Tour&, 212 r.

BROWN C. R. (1976), Comparison of neutral proteinase activities in cock and ram spermatozoa and observations on a proacrosin in cock spermatozoa. *Journal of reproduction and fertility*. 46 (1) : 155-164.

DE REVIERS M., 1968. Détermination de la durée du processus spermatogénétique chez le coq à l'aide de thymidine tritiée. *VI Congo Int. Reprod. Anim. Insem. ArtiL*, Paris,1, 183-185.

DE REVIERS M., 1971a. Le développement testiculaire chez le coq : 1- croissance pondérale des testicules et développement des tubes séminifères. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 11, 513-530.

Références bibliographiques

DE REVIERS M., 1971 b. Le développement testiculaire chez le coq : II Morphologie de l'épithélium séminifère et établissement de la spermatogenèse. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 11(4) : 531-546.

DE REVIERS M., 1974. Le développement testiculaire chez le coq : 111- Influence de la durée d'éclairement appliquée en photopériodes constantes. *Ann. Biol. Bioch. Biophys.*, 14, 591-600.

DE REVIERS M., 1977. Le développement testiculaire chez le coq : V- Action de variations progressives de la durée quotidienne d'éclairement. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 17, 179-186

DE REVIERS M., 1988 : Appareil génital mâle et production des spermatozoïdes. Dans : Sauveur B et de REVIERS M (ed.). *Reproduction des volailles et production d'oeufs*. Paris, Fr. : INRA ; 1988 ; 141-181.

DE REVIERS M., et **WILLIAMS J.**, 1984. Testis development and production of spermatozoa in the cockerel (*Gallus domesticus*).

DE REVIERS M. (1988). Appareil génital mâle et production des spermatozoïdes. In Sauveur B et de Reviere M. Eds. *Reproduction des volailles et production d'œufs*. Paris, Fr. : INRA ; 141-181.

DJELIL H. (2012). Ectoparasitisme et parasitémie du poulet de ferme (*Gallus gallus domesticus*, linnaeus 1758) dans la région d'Oran. Mémoire de Magister en parasitologie. Université d'Oran. Algérie.

FERROUK MOSTAPHA 1, NOURIA BOUKENAOU 1.2, IMEN SMAILI 1, ISSAM ABD AL SAMAD 3 ET JEAN-MARIE EXBRAYAT 4. Etude morphométrique et histologique du testicule de la caille du japon (*coturnix japonica*) au cours de la croissance post-natale. *Bull. Soc. zool. Fr.*, 2015, 140 (1) : 45-60.

FAURE M'ELANIE, EDITH GUIBERT, SABINE CROCHET, PASCAL CHARTRIN, JEAN-PIERRE BRILLARD, ANNE COLLIN, AND PASCAL FROMENT (2015). Differential proliferation and metabolic activity of Sertoli cells in the testes of broiler and layer breeder chickens. PRC, INRA, CNRS, IFCE, Université de Tours, 37380 Nouzilly, France ; and URA, INRA 37380 Nouzilly, France.

FOURNIER A. (2005). Elevage des poules. Ectoparasitisme et parasitémie du poulet de ferme (*Gallus gallus domesticus*, linnaeus 1758) dans la région d'Oran, Mémoire de Magister en parasitologie. Université d'Oran. Algérie.

Références bibliographiques

- GABE M. (1968).** Techniques histologiques. Eds Masson Paris 1, 1113p.
- GILBERT A.B., WELLS J.B., 1984.** Structure and function of the ovary, Reproductive Biology of poultry. Poult. Sci. Symposium n° 17: 15-28
- GUERIN J. L. ET BOISSIEU C. (2006).** L'autopsie en pathologie aviaire : 1ère Partie : Protocole d'autopsie et anatomie des volailles, *Élevage et Santé Avicoles et Cunicoles* – ENV Toulouse. pp: 28-29, 82-83.
- INRA, 1988.** Reproduction des volailles et production d'oeufs, Paris, 449 p.
- INRA, 1989.** L'alimentation des animaux monogastriques (porcs, lapins, volailles). 2e édition, 282 p.
- ITAVI, (2005).** Rapport mission filière volaille de chair.
- KEMPF. I, 1992** Mycoplasmoses aviaires in Manuel de pathologie aviaire, édit. Brugere-Picoux Jeanne et Silim Amer, 205 - 218.
- KORN N (2000).** Ultrastructure of spermatozoa from Japanese quail. *Poult Science*. **79** 86-93.
- KOYABIZO YVES-FRANÇOIS., (2009).** La poule L'aviculture et Le développement, sciences et technique de base. Le Harmattan, 2009 5-7, rue de l'Ecole Polytechnique ; 75005 Paris.
- LABAS, V., GRASSEAU I., CAHIER K., GARGAROS A., HARICHAUX G., TEIXEIRA-GOMES A., ALVES S, BOURIN M, GERARD N, BLESBOIS E. (2015).** Qualitative and quantitative peptidomic and proteomic approaches to phenotyping chicken semen. *Journal of Proteomics*. **1**; (112): 313-35.
- LAKABI, (2017)** Etudes du développement postnatal des structures gonadiques et qualité de la semence du lapin mâle de la population blanche. Thèse de Doctorat : Biologie et physiologie animale : Université Mouloud Maameri de Tizi Ouzou, 2017.
- LAKE PE. (1968).** The Ultrastructure of the ejaculated fowl spermatozoan. *Q. J. Exp. Physiol. Cogn. Med. Sci*, **53**(4): 356-366.
- MARICELA LUNA A, ADRIANA JHENY RODRIGUEZ-MENDEZ A,B, JOSE LUIS LUNA-ACOSTA A, MARTHA CARRANZA A, CARLOS ARAMBURO., 2013.** Expression and function of chicken bursal growth hormone (GH).
- MARTOJA R. ET MARTOJA M. (1967).** Initiation aux techniques de l'histologie animale. Eds Masson et Cie, Paris, 343p.

Références bibliographiques

MARVAN F. Postnatal development of the male genital tract of the *Gallus domesticus*. Anat. Anz. Bd. 1969 ; 443-462.

MEYER CH. ET ROUVIER R. (2009). L'insémination artificielle des volailles, Note bibliographique, Cirad Campus de Baillarguet, Montpellier, France.

NGUYEN T. M. (2015). Rôle de protéines clés de signalisation dans la qualité de cellules de reproduction destinée à être cryopréservées, thèse de Doctorat. Université François – Rabelais de Tours.

NICAISE CHARLES. (2015) Système génital mâle. Version du 28/05/2015.

NISHIYAMA H. (1955). Studies on the accessory reproductive organs in the cock. *J.F.Agric.* 10: 277-305.

OFIVAL, (2006). Chambres d'agriculture - Institut de l'Elevage avec le financement ADAR - ONILAIT – OFIVAL et Union Européenne. Edition du: 23 Mars 2006.

OKAMURA F. (1978). The passage of spermatozoa through the vitelline membrane in the domestic fowl *Gallus gallus*. *Cell Tiss Res*, 188: 497–508

ONAB., (2012). Journal de l'ONAB. Statistique des groupe avicoles.

PICHEREAU ALEXANDRA., 2012. Les techniques de prélèvement et d'insémination artificielle chez les oiseaux. Thèse de doctorat vétérinaire. Faculté de médecine de Créteil.

PETITJEAN M. 1970, Résultats expérimentaux sur la subfertilité liée à la crête rosacée chez le coq. *Cong. Mond. Avic.* Madrid, 1: 302-303

FOLLET B.K., ROBINSON J.E., 1980. Photoperiod and gonadotrophin secretion in birds. *Prog. Reprod. Biol.*, 5 : 39-61.

SAUVEUR B. (1982). Notions de physiologie de la reproduction femelle en relation avec l'insémination artificielle. In: Fertilité et insémination artificielle en aviculture. Station de recherches avicoles INRA, BP n°1, 37380 Monnaie / ITAVI. p. 61-75.

SAUVEUR B., (1982). Effets de fractionnement de la photopériode sur poule en phase de d'élevage et de production.

SAUVEUR B., 1988. Reproduction des volailles et Production d'œufs, INRA, Paris, 449 p.

Références bibliographiques

SMITH CRAIG A. 1, KELLY N. ROESZLER¹, THOMAS OHNESORG¹, DAVID M. CUMMINS², PETER G. FARLIE¹, TIMOTHY J. DORAN² ANDREW H. SINCLAIR. (2009). The avian Z-linked gene DMRT1 is required for male sex determination in the chicken.

SOLTNER D. (1993). La reproduction des animaux d'élevage. Sciences et Techniques Agricoles, Collec. Sciences et Techniques Agricoles, 49130 Eds. *Ste-Gemmes-sur-Loire*, vol. 1, 232 p.

SOLTNER D. (2001). La reproduction des animaux d'élevage. Sciences et Techniques Agricoles, Collec. Sciences et Techniques Agricoles, 49130 Eds. *Ste-Gemmes-sur-Loire*, vol. 1, 232 p.

TYLER DR N.C., GOUS R.M (2011). Animal and Poultry Science, University of KwaZulu-Natal, Pietermaritzburg, South Africa.

VENZKE W.G., 1964. The morphogenesis of the indifferent gonads of chickens embryos.

VIZCARRA J. A., KIRBY J. D., KREIDER D. L. Testis development and gonadotropin secretion in broiler breeder males. Food and Animal Sciences, Alabama A&M University. Poultry Science Association Inc 2010.

VILLATE D. (2001). Maladie des volailles. Eds. *France Agricole*. 2ème éd. 400p.

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

WILSON F.E. ET FOLLET B.K., 1974. Plasma and pituitary luteinizing hormone in intact and castrated tree sparrows (*Spizella arborea*) during a photo-induced gonadal cycle. Gen. Comp. Endocrinol.

YOUBI IBRAHIM., 2009. Conduite de l'élevage avicole. Cas de la poule pondeuse dans le souf. Mémoire de fin d'étude. Université kasdi merbeh, ouargla.

Fiche technique N° 1 :

Bouin holland : fixateur (GABE, 1968)

Broyer à froid dans un mortier :

Acétate de cuivre 2,5 g

Eau distillée..... 100 ml

Agiter puis ajouter peu à peu :

Acide picrique..... 4 g

Le liquide se conserve indéfiniment.

Filtrer après complète dissolution et ajouter :

Formaldéhyde 36- 40% (en solution saturée) 10ml

Acide acétique cristallisable..... 1ml

Pour obtenir 1 litre de Bouin Hollande, préparer au moment de l'emploi (ou la veille, si nécessaire)

Une conservation de plusieurs semaines dans le fixateur est possible à condition qu'il n'y ait pas d'évaporation (flacons bouchés, éviter l'utilisation de bouchons métalliques qui seraient très rapidement oxydés). Les tissus peuvent être conservés plusieurs semaines dans le fixateur.

Fiche technique N° 2:

Trichrome de Masson (MARTOJA et MARTOJA, 1967)

Mode opératoire :

Les coupes déparaffinées hydratées passent successivement dans :

L'hématoxyline de Groat.. 3 minutes.

Lavage à l'eau courante 5 minutes.

Mélange fuchsine ponceau 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rinçage.

Orange G 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rinçage.

Vert lumière 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rinçage.

Ensuite les coupes sont déshydratées et montées au baume de Canada.

Résultats :

Les noyaux sont colorés en brun noir.

Les cytoplasmes en rouge vif ou bleu.

Héματοxyline de Groat (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

Préparation à froid :

Première solution :

1. Acide sulfurique concentré.....0,8 ml
2. Alun de fer.....1 g
3. Eau distillée.....50 ml

Deuxième solution :

1. Héματοxyline.....0,5g
2. Alcool à 95°.....50 ml

Après dissolution, mélanger les deux solutions, laisser reposer pendant une heure et filtrer.
Se conserve pendant trois mois environ.

Mélange fuchsine acide ponceau (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

Préparation à froid :

1. Fuchsine acide.....0,1g
2. Ponceau.....0,2g
3. Eau distillée.....300 ml

Après dissolution ajouter :

Acide acétique.....0,6 m

Conservation illimitée

Orange G (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

1. Acide phosphomolybdique ou phosphotungstique.....3 à 5g
2. Eau distillée.....100 ml
3. Orange G.....2g

Conservation illimitée

Vert lumière (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

1. Vert lumière.....1g
2. Eau distillée.....100 ml
3. Acide acétique.....0,2 ml

Conservation illimitée