

Effet du gène *Na* (*cou nu*) chez des coqs élevés à deux températures II. Caractéristiques du sperme et reproduction

H. HAMMADE *, M. PETITJEAN **,
Madeleine DOUAIRE *, J. MALLARD * et P. MÉRAT ***

avec la collaboration technique de G. MALINEAU ** et P. MÉTEAU **

* Ecole Nationale Supérieure Agronomique, F 35000 Rennes.

** Laboratoire de Spermologie, I.N.R.A., Le Magneraud, F 17700 Surgères.

*** I.N.R.A., Laboratoire de Génétique factorielle, Centre de Recherches de Jouy-en-Josas,
F 78350 Jouy-en-Josas.

Résumé

Des coqs des génotypes *NaNa* (*cou nu* homozygote), *Nana*⁺ (*cou nu* hétérozygote) et *na*⁺*na*⁺ (plumage normal) issus de l'accouplement de parents tous deux hétérozygotes *Nana*⁺, appartenant à une même population expérimentale, ont été répartis en 2 groupes maintenus l'un à une température constante de 30 °C, l'autre à 18 °C obtenus progressivement après l'âge de 3 semaines. Les coqs, au nombre total de 256, étaient élevés au sol jusqu'à 10 semaines puis en cages individuelles. Sur chacun étaient mesurés à 3 âges (19, 23, 27 semaines) des caractéristiques du sperme (volume, concentration, nombre de spermatozoïdes par éjaculat, motilité). L'âge au 1^{er} éjaculat était aussi noté individuellement ainsi que le taux de testostérone plasmatique à 27 semaines. D'autre part, à l'âge de 21 et 28 semaines et sur un échantillon de 24 groupes de 5 coqs (4 par génotype et traitement) dont le sperme était mélangé, des paramètres biochimiques du liquide séminal ou des spermatozoïdes étaient dosés.

Des effets de la température sont notés, en accord avec des travaux antérieurs, en particulier une avance de l'âge au premier éjaculat, une diminution du volume et du nombre de spermatozoïdes par éjaculat sous l'influence de la chaleur. On constate d'autre part à 30 °C une testostéronémie plus élevée. Quant au génotype, il a un effet hautement significatif sur le volume et le nombre de spermatozoïdes par éjaculat, augmentés en présence du gène *Na* quels que soient la température et l'âge, avec une valeur de l'hétérozygote *Nana*⁺ intermédiaire entre celles des 2 homozygotes. Quelques effets significatifs du génotype ou de la température sur des paramètres biochimiques du plasma séminal ou des spermatozoïdes demanderaient à être confirmés. D'autre part, un test de fertilité réelle ne montre aucun effet significatif du génotype.

Mots clés : Coq, fertilité, sperme, température, cou nu.

Summary

*Effect of the Na (Naked Neck) gene in cocks kept at two temperatures.
II. Semen traits and reproduction*

Male chicks of the genotypes *NaNa* (*Naked Neck* homozygotes), *Nana*⁺ (*Naked Neck* heterozygotes) and *na*⁺*na*⁺ (normal plumage) were obtained from parents which were both heterozygotes and belonged to the same experimental population. Chicks of each genotype were distributed at random into 2

groups, one maintained at 30 °C and the other at 18 °C after gradual decrease from the age of 3 weeks. The total number of birds was 256. The cockerels were raised on the floor until the age of 10 weeks, then they were kept in individual cages. On each individual at 3 ages (19, 23, 27 weeks) semen traits (volume, concentration, number of spermatozoa per ejaculate, motility) were measured. The age at the first detectable ejaculate and plasma testosterone at 27 weeks were also noted individually. In addition, at the ages of 21 and 28 weeks, on 24 pools of the semen of 5 cocks each (4 pools per genotype and treatment) biochemical parameters of seminal plasma or of spermatozoa were measured.

A reduction of the age at first ejaculate and a decrease of the volume and number of spermatozoa per ejaculate were caused by the high ambient temperature, in agreement with other published results. On the other hand, plasma testosterone was higher at 30 °C than at 18 °C. Genotype had a highly significant effect on the volume and number of spermatozoa per ejaculate, which were increased in the presence of the *Na* gene at either temperature and at all ages, the mean value of the heterozygote being intermediate between that of the homozygotes. A few other significant effects of the genotype or temperature on biochemical traits of seminal plasma or spermatozoa need further confirmation. On the other hand, a test of fertility showed no significant genotype effect.

Key words : Cock, fertility, semen, temperature, Naked Neck.

I. Introduction

Nous avons comparé précédemment (HAMMADE *et al.*, 1987) le développement pondéral et des caractéristiques morphologiques et physiologiques de coqs adultes maintenus à une température ambiante élevée ou tempérée, selon leur génotype au locus *Na* (*cou nu*). Le présent travail a un objectif similaire, concernant les caractéristiques du sperme et les performances de reproduction.

Des effets de températures ambiantes élevées sur des caractéristiques de reproduction du coq ont été décrits. INGKASUWAN & OGASAWARA (1966), BOONE *et al.* (1977), VO *et al.* (1980) notent qu'une température élevée avance la maturité sexuelle du mâle. La croissance testiculaire est diminuée et la spermatogenèse retardée à des températures très basses (moins de 8 °C) selon HUSTON (1975), BOONE *et al.* (1977).

A l'âge adulte, une forte chaleur affecte diverses caractéristiques de qualité du sperme. Pour le volume par éjaculat, HUSTON & WHEELER (1949), INGKASUWAN & OGASAWARA (1966) notent une diminution causée par la chaleur, mais cet effet n'est pas observé par CLARK & SARAHOON (1967), BOONE *et al.* (1977) à des températures dépassant 30 °C. Un effet dépressif d'une température élevée sur la concentration en spermatozoïdes est signalé par BOONE & HUSTON (1963), CLARK & SARAHOON (1967), VO *et al.* (1980) ; pour le nombre de spermatozoïdes par éjaculat, une baisse significative sous l'influence de la chaleur est rapportée par BOONE & HUSTON (1963). Selon DE REVIERS (1982), en cas de choc thermique, il y a une diminution importante et très rapide (en 2 jours) de ce nombre. D'autre part, la baisse de qualité du sperme a lieu même si la chaleur est limitée à la période diurne (EL JACK & DE REVIERS, 1979). Pour la motilité des spermatozoïdes, INGKASUWAN & OGASAWARA (1966), CLARK & SARAHOON (1967), VO *et al.* (1980) constatent une baisse sous l'effet de la chaleur.

Relativement au pourcentage d'œufs fécondés, HUSTON & CARMON (1958) ne trouvent pas d'effet significatif d'une température élevée exercée sur les mâles, alors que CLARK & SARAHOON (1967) signalent une baisse de 13 p. 100 de la fertilité de coqs mis à 27-38 °C par rapport à des coqs élevés à 20 °C. De même, selon HUSTON (1975), la fertilité des coqs à 30 °C est plus basse qu'à 19 °C, et VO *et al.* (1980) trouvent une diminution significative de la fertilité pour des mâles élevés à 35 °C.

L'ensemble de ces résultats suggère un effet dépressif des températures ambiantes élevées sur la reproduction du coq. Il paraissait donc intéressant de comparer à cet égard le génotype *cou nu* homozygote ou hétérozygote au génotype normalement emplumé, car divers effets favorables à la thermotolérance ont été trouvés associés au type *cou nu* (revue par MÉRAT, 1986) mais on ne disposait pas jusqu'ici d'informations quant aux effets éventuels du gène *Na* sur les caractères de reproduction du mâle.

II. Matériel et méthodes

Les animaux utilisés, les conditions d'élevage et la constitution des lots expérimentaux ont déjà été décrits (HAMMADE *et al.*, 1987). Nous en rappellerons l'essentiel.

A. Animaux

Les animaux proviennent d'une souche synthétique contenant le gène *Na* en ségrégation. Des parents tous deux hétérozygotes *Nana*⁺ étaient accouplés en pedigree pour obtenir des poussins *NaNa* (*cou nu* homozygote), *Nana*⁺ (*cou nu* hétérozygote) et *na*⁺*na*⁺ (plumage normal) en 2 éclosions espacées de 21 jours en septembre 1983. Les poussins mâles étaient envoyés à la Station I.N.R.A. du Magneraud où chaque génotype était réparti au hasard, à l'intérieur de chaque famille de même père, en 2 lots expérimentaux. Les génotypes *NaNa* et *Nana*⁺ étaient distingués selon CRAWFORD (1976), SCOTT & CRAWFORD (1977).

B. Conditions d'élevage

Après la distribution, les 3 premiers jours, d'un aliment « anti-stress », l'aliment, jusqu'à la fin de la 9^e semaine, était à 23,8 p. 100 de protéines brutes et 2 900 kcal/kg d'énergie métabolisable ; puis à 15,6 p. 100 de protéines brutes et 2 790 kcal/kg d'énergie métabolisable à partir de la 10^e semaine. Les aliments étaient donnés *ad libitum*.

L'éclairage était permanent jusqu'au 3^e jour d'âge, puis les oiseaux recevaient 14 h de lumière par 24 h, de 6 h à 20 h.

Après une période d'élevage au sol jusqu'à l'âge de 10 semaines, les coquelets étaient placés dans le même local en cages individuelles.

C. Lots expérimentaux

Les poussins étaient répartis dans 4 cellules climatisées, 2 pour chaque éclosion. Dans l'une d'elles, la température ambiante était maintenue à 30 ± 1 °C durant toute la vie des oiseaux. Dans l'autre, elle restait de 30 °C jusqu'à l'âge de 3 semaines, puis baissait progressivement jusqu'à 18 ± 1 °C à l'âge de 9 semaines pour rester constante à cette valeur jusqu'à la fin de l'expérience. Chaque cellule contenait 64 cages individuelles sur 2 étages, les génotypes y étant répartis au hasard. La période expérimentale allait jusqu'à 35 semaines d'âge.

Le taux d'hygrométrie était maintenu autant que possible, dans les 4 cellules, autour de 65-70 p. 100.

Le tableau 1 donne les effectifs mis en cage par génotype et par cellule.

TABLEAU 1
Effectifs par génotype et par cellule.
Numbers of birds per genotype and room.

Lots et cellules	Génotype			Total
	<i>NaNa</i>	<i>Nana</i> ⁺	<i>na</i> ⁺ <i>na</i> ⁺	
Lot 1 :				
Cellule 1 (30 °C)	21	22	21	64
Cellule 2 (18 °C)	17	24	23	64
Lot 2 :				
Cellule 3 (30 °C)	21	22	21	64
Cellule 4 (18 °C)	22	21	21	64
Total	81	89	86	256

D. Mesures

1. Caractéristiques biophysiques du sperme

Le sperme est récolté individuellement selon la technique de BURROWS & QUINN (1937). L'âge en jours au 1^{er} éjaculat décelable est noté. Puis, aux âges de 19, 23 et 27 semaines, la valeur moyenne de 4 collectes faites sur 4 jours consécutifs est déterminée pour :

- le volume de l'éjaculat (ml) estimé par pesée après dilution (1 poids de sperme pour 2 de dilueur à 19 et 23 semaines, ou pour 1,5 de dilueur à 27 semaines). La dilution a pour but d'homogénéiser l'échantillon ;

- la concentration en spermatozoïdes (10⁹/ml) estimée à partir de la densité optique du sperme mesurée au spectrophotomètre à 638 nm. L'équation de prédiction du nombre de spermatozoïdes à partir de la densité optique a été établie par GALUT (1983) par des comptages du sperme dilué à 30 pour 2 000 sur hématimètre. Cette équation est la suivante :

$$C = 0,1226 D + 0,1126$$

où C est la concentration (estimée pour le sperme pur) et D la densité optique ;

- le nombre de spermatozoïdes par éjaculat, égal au produit des 2 variables précédentes;

- la motilité, estimée à l'aide d'un appareillage photoélectrique. Les impulsions électriques créées par les déplacements des spermatozoïdes sont comptées pendant 30 secondes. La motilité est estimée par une note tenant compte de la concentration en spermatozoïdes dans le champ du microscope. Le sperme était examiné aux âges de 19 et 23 semaines après 19 h de conservation à + 3 °C. A 27 semaines, l'examen avait lieu 4 à 5 h après la récolte.

2. Caractéristiques biochimiques du sperme

Aux âges de 21 et 28 semaines, les caractéristiques biochimiques soit du plasma séminal, soit des spermatozoïdes, sont mesurées ; les dosages sont faits sur du sperme non dilué. Un mélange du sperme de 2 groupes de 5 coqs du même génotype et de la même cellule (soit au total 24 de ces groupes représentant 120 individus) est récolté. Le même pool de spermatozoïdes est récolté aux 2 âges et seule la moyenne des 2 âges est considérée. Par échantillon, le volume et la densité optique sont mesurés. La pression osmotique, l'acide urique, les protéines, la phosphatase acide, l'ATP-ase, se rapportent au plasma séminal séparé par centrifugation et filtration sur filtre millipore (0,45 μ), la consommation d'oxygène aux spermatozoïdes lavés, tandis que la fumarase et l'acrosine concernent les spermatozoïdes après désintégration par ultrasons. Pour les analyses du plasma séminal, nous avons suivi SERVOUSE *et al.* (1976). L'acide urique est dosé au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 293 nm par la méthode de l'uricase [PRAETORIUS, 1963, cité par SERVOUSE *et al.* (1976)]. La méthode de dosage de la phosphatase acide et de l'ATP-ase est décrite respectivement par LINHARDT & WALTER (1963) et ADAM (1963) cités par SERVOUSE *et al.* (1976). La pression osmotique est mesurée à l'aide d'un microosmomètre numérique automatique. Les protéines du plasma séminal sont dosées par la méthode de WARBURG & CHRISTIAN (1941) cités par SERVOUSE *et al.* (1976). L'activité respiratoire des spermatozoïdes est évaluée par la quantité d'oxygène consommée par un nombre donné de spermatozoïdes (4×10^9 dans 3 ml de solution). La mesure est réalisée à l'aide d'un oxygraphe Gilson à électrodes de Clark. La fumarase est dosée par la méthode décrite par RAUEN (1956) et l'acrosine par celle de la chymotrypsine (ERLANGER *et al.*, 1961).

3. Testostérone du plasma sanguin et poids des testicules

Sur le plasma sanguin, la testostérone est déterminée à partir de prélèvements individuels faits à l'âge de 25 semaines entre 10 h et 12 h du matin à la veine alaire. Le dosage radioimmunologique est effectué selon la méthode décrite par LEYMARIE *et al.* (1974).

En fin d'expérience, à l'âge de 35 semaines, un échantillon pris au hasard de 5 coqs par génotype et traitement est abattu et le poids des testicules est mesuré et ramené au poids vif.

4. Fertilité réelle

Le sperme mélangé de 5 coqs de chaque génotype dans chaque milieu permet d'inséminer 50 poules de 2 souches expérimentales du type « pondeuse à œufs bruns » (« M 33 » et « M 22 »). Le taux de fertilité (pourcentage d'œufs non notés « clairs » au mirage à 5 jours d'incubation) est déterminé sur les œufs de ces poules ramassés pendant 2 semaines à partir du 3^e jour après la 1^{re} insémination.

E. Analyses statistiques

Pour chaque caractère et par âge, l'effet moyen des 2 facteurs « température » et « génotype » a été testé par analyse de variance à effets fixes et effectifs inégaux (SNEDECOR & COCHRAN, 1969).

L'effet du lot d'éclosion n'a pas été pris en compte, après vérification de l'absence de signification de cet effet pour tous les critères étudiés, la seule exception concernant le volume de l'éjaculat à 19 semaines et paraissant peu probante (probabilité voisine de 0,05). Par ailleurs, pour les dosages biochimiques, nous avons déjà indiqué que la variable de base correspond à un pool de 5 individus ; l'effectif total étant $N = 24$, le nombre de degrés de liberté de la variance résiduelle n'est que 18.

Pour la fertilité réelle, le test de χ^2 la compare pour les 3 génotypes aux 2 températures (SNEDECOR & COCHRAN, 1969).

III. Résultats

A. Maturité sexuelle

Le tableau 2 indique que l'âge du 1^{er} éjaculat est avancé en moyenne de 6 jours par la température élevée (effet hautement significatif). Il n'apparaît pas de différence entre génotypes ni d'interaction entre ces derniers et la température.

B. Caractéristiques biophysiques du sperme

Les tableaux 3, 4, 5 et 6 donnent, pour chaque âge ayant fait l'objet d'une mesure, les valeurs moyennes selon le génotype et la température et la signification de ces 2 effets et de leur interaction, respectivement pour le volume de l'éjaculat, sa concentration, le nombre de spermatozoïdes par éjaculat et leur note de motilité.

L'examen des valeurs moyennes fait voir préalablement que la diminution du nombre de spermatozoïdes avec l'âge est régulière aux 2 températures, ce qui s'accorde avec des résultats antérieurs (DE REVIERS, 1986). Par contre, la motilité ne montre aucune relation apparente entre les différents âges considérés.

Quant à l'effet du traitement et du génotype, la chaleur diminue le volume du sperme aux 3 âges, comparativement à la température de 18 °C. A tous les âges également, l'effet du génotype est hautement significatif, avec, sans exception, l'homozygote *NaNa* ayant la valeur moyenne la plus élevée, l'hétérozygote étant intermédiaire et l'homozygote *na⁺na⁺* se classant le dernier. Il n'y a nulle part d'interaction significative : l'effet du génotype s'exerce indépendamment de la température. Au total, en pourcentage du génotype normalement emplumé *na⁺na⁺* pris égal à 100, la valeur du génotype *NaNa* va de 132 à 151 suivant l'âge, et celle de l'hétérozygote de 127 à 132.

Sur la concentration en spermatozoïdes, on n'observe d'effet significatif de la température qu'à 23 semaines, la concentration étant alors plus élevée en moyenne à 30 °C qu'à 18 °C, mais la différence n'est pas significative aux 2 autres âges et est même de sens contraire à 19 semaines de sorte que, dans l'ensemble, la réalité de cet effet ne paraît pas certaine. Par ailleurs, on n'observe aucun effet significatif du génotype et aucune interaction génotype \times température.

L'absence d'effets significatifs sur la concentration explique que les différences dans le nombre de spermatozoïdes par éjaculat soient très parallèles à celles observées pour le volume de celui-ci. La température de 30 °C comparée à 18 °C diminue le nombre estimé de spermatozoïdes aux 3 âges considérés, cet effet étant hautement significatif

TABLEAU 2

Age au 1^{er} éjaculat (jours) selon la température et le génotype.
Age at 1st ejaculate (days) according to temperature and genotype.

18 °C		Valeurs moyennes				Analyse de variance				
		30 °C		Total génotypes groupés		Total traitements groupés		Valeur de F		
NaNa	na ⁺ na ⁺	NaNa	na ⁺ na ⁺	18 °C	30 °C	NaNa	na ⁺ na ⁺	Traitement	Génotype	Interaction
113	113	105	106	113	107	109	110	111	47,93***	1,70 1,76

Effectif total : N 256.
*** : P < 0,001.

TABLEAU 3

Volume (ml) de l'éjaculat dilué à 3 âges, selon la température et le génotype : valeurs moyennes et écarts-types (entre parenthèses).
Volume (ml) of the diluted ejaculate at 3 ages, according to temperature and genotype : means and standard deviations (within parentheses).

Age (semaines) et effectifs (entre parenthèses)	18 °C		30 °C		Total génotypes groupés		Total traitements groupés		Analyse de variance					
	NaNa		na ⁺ na ⁺		18 °C		30 °C		NaNa		na ⁺ na ⁺		Interaction	
	NaNa	na ⁺ na ⁺	NaNa	na ⁺ na ⁺	18 °C	30 °C	NaNa	na ⁺ na ⁺	Traitement	Génotype	Interaction	Traitement	Génotype	Interaction
19 (247)	1,585 (0,68)	1,347 (0,59)	1,027 (0,65)	1,270 (0,58)	1,152 (0,62)	0,868 (0,61)	1,314 (0,67)	1,091 (0,62)	1,432 (0,65)	1,254 (0,61)	0,949 (0,63)	**	***	7,71 12,16 0,23
23 (241)	1,386 (0,71)	1,267 (0,68)	1,001 (0,60)	1,091 (0,59)	1,110 (0,51)	0,881 (0,51)	1,221 (0,68)	1,028 (0,54)	1,242 (0,67)	1,191 (0,61)	0,941 (0,63)	**	**	6,16 5,43 0,32
27 (238)	1,373 (0,71)	1,123 (0,57)	0,934 (0,49)	0,902 (0,49)	0,900 (0,48)	0,665 (0,45)	1,140 (0,62)	0,824 (0,48)	1,140 (0,62)	1,015 (0,54)	0,801 (0,49)	***	**	24,77 8,18 0,80

*** ** : respectivement P < 0,05 ; P < 0,01 ; P < 0,001.

TABLEAU 4
*Concentration du sperme (x10⁹/ml) à 3 âges selon la température et le génotype : valeurs moyennes et écarts-types (entre parenthèses).
 Concentration of semen (x10⁹/ml) at 3 ages, according to temperature and genotype : means and standard deviations (within parentheses).*

Age (semaines) et effectifs (entre parenthèses)	18 °C		30 °C		Total génotypes groupés 18 °C 30 °C		Total traitements groupés NaNa Nana ⁺ na ⁺ na ⁺		Analyse de variance Valeur de F				
	NaNa	Nana ⁺ na ⁺ na ⁺	NaNa	Nana ⁺ na ⁺ na ⁺	18 °C	30 °C	NaNa	Nana ⁺ na ⁺ na ⁺	Traitement	Génotype Interaction			
19 (247)	5,23 (1,45)	5,09 (1,44)	4,80 (1,96)	4,80 (1,96)	4,98 (1,82)	4,43 (2,00)	5,17 (1,44)	5,04 (1,62)	4,62 (1,98)	0,82	2,33	0,15	
23 (241)	4,29 (1,61)	4,62 (1,58)	4,42 (1,74)	5,15 (1,39)	5,23 (1,61)	5,15 (1,39)	4,47 (1,61)	4,91 (1,61)	4,79 (1,61)	**	7,82	1,79	0,13
27 (238)	3,85 (1,48)	4,28 (1,38)	3,98 (1,52)	4,18 (1,84)	4,18 (1,84)	4,18 (1,64)	3,94 (1,46)	4,23 (1,61)	4,07 (1,57)	0,24	0,55	0,24	

** : P < 0,01.

TABLEAU 5

Nombre de spermatozoïdes par éjaculat ($\times 10^6$) à 3 âges selon la température et le génotype : valeurs moyennes et écarts-types (entre parenthèses).
 Number of spermatozoa per ejaculate ($\times 10^6$) at 3 ages, according to temperature and genotype : means and standard deviations (within parentheses).

Age (semaines) et effectifs (entre parenthèses)	18 °C		30 °C		Total génotypes groupés 18 °C 30 °C		Total traitements groupés <i>NaNa Nana⁺ na⁺na⁺</i>		Analyse de variance Valeur de F		
	<i>NaNa</i>	<i>Nana⁺ na⁺na⁺</i>	<i>NaNa</i>	<i>Nana⁺ na⁺na⁺</i>	18 °C	30 °C	<i>NaNa</i>	<i>Nana⁺ na⁺na⁺</i>	Traitement	Génotype	Interaction
19 (247)	2,856 (1,26)	2,456 (1,14)	2,242 (0,92)	2,131 (1,19)	2,437 (1,25)	1,950 (1,07)	2,558 (1,15)	2,301 (1,17)	*** 15,10	** 9,45	0,26
23 (241)	2,232 (1,10)	2,119 (1,15)	1,859 (0,84)	2,094 (1,02)	2,011 (1,12)	1,870 (0,93)	2,051 (0,99)	2,107 (1,08)	1,13	** 4,74	0,61
27 (238)	1,886 (1,00)	1,758 (0,92)	1,347 (0,67)	1,462 (0,86)	1,681 (0,93)	1,285 (0,74)	1,681 (0,89)	1,615 (0,90)	*** 14,14	** 6,33	0,34

** *** : respectivement $P < 0,01$; $P < 0,001$.

TABLEAU 6
Motilité des spermatozoïdes à 3 âges, selon la température et le génotype : valeurs moyennes et écarts-types (entre parenthèses).
Motility of spermatozoa at 3 ages, according to temperature and genotype : means and standard deviations (within parentheses).

Age (semaines) et effectifs (entre parenthèses)	18 °C		30 °C		Total génotypes groupés		Total traitements groupés		Analyse de variance Valeur de F		
	NaNa	Nana+ na+na+	NaNa	Nana+ na+na+	18 °C	30 °C	NaNa	Nana+ na+na+	Traitement	Génotype	Interaction
19 (247)	80,6 (67,0)	73,5 (63,5)	41,0 (34,6)	55,4 (52,2)	68,0 (59,9)	49,0 (46,3)	61,3 (57,5)	64,8 (58,6)	** 9,57	** 1,64	** 4,78
23 (241)	20,6 (14,6)	21,6 (15,6)	22,1 (17,8)	20,6 (13,0)	20,9 (15,2)	21,1 (15,3)	21,3 (16,2)	21,1 (14,2)	0,006	0,05	0,18
27 (238)	108,6 (63,0)	104,2 (57,0)	114,4 (59,0)	105,8 (65,0)	106,0 (58,1)	105,0 (63,0)	111,4 (61,2)	105,0 (60,7)	0,09	0,30	0,80

** : P < 0,01.

à 19 et 27 semaines. L'effet du génotype est hautement significatif aux 3 âges et, comme pour le volume, le classement est, dans l'ordre décroissant *NaNa*, *Nana⁺*, *na⁺na⁺*, à la seule exception de l'âge de 23 semaines où la valeur moyenne du génotype hétérozygote est très légèrement supérieure à celle de l'homozygote *NaNa*. Aucune interaction n'apparaît entre génotype et traitement. En pourcentage sur la base de la valeur 100 attribuée à l'homozygote « normal » *na⁺na⁺*, la valeur de l'homozygote *cou nu* va selon l'âge de 124 à 149 et celle de l'hétérozygote de 128 à 133.

Pour la note de motilité, ce n'est qu'à 19 semaines que l'on voit un effet significatif de la température (valeur plus élevée à 18 °C qu'à 30 °C) avec à cet âge une interaction entre génotype et température. D'autre part, il n'apparaît à aucun âge d'effet global significatif du génotype. En outre, nous n'avons pas d'explication pour les valeurs très faibles trouvées à 23 semaines.

Les écarts-types représentés dans les tableaux 3 à 6 ne montrent pas d'hétérogénéité selon le génotype ou la température. Ils correspondent dans l'ensemble à des coefficients de variation élevés, dépassant 50 p. 100 pour le volume et le nombre de spermatozoïdes par éjaculat, ce qui correspond aux ordres de grandeur indiqués par DE REVIERS (1986). Les coefficients de variation sont également très élevés pour les paramètres biochimiques (tableau 7) décrits ci-après.

C. Caractéristiques biochimiques du sperme, testostérone plasmatique et poids des testicules

Le tableau 7 présente les moyennes par traitement et génotype et les tests correspondants pour les caractéristiques biochimiques mesurées sur le plasma séminal ou les spermatozoïdes ainsi que pour le taux de testostérone plasmatique et le poids des testicules en p. 100 du poids vif à 35 semaines d'âge.

Aucun effet significatif ne concerne les variables « acide urique », « ATP-ase », « protéines totales » et « pression osmotique ». La phosphatase acide a une valeur moyenne plus élevée à 30 °C qu'à 18 °C dans l'ensemble, et révèle d'autre part une différence entre génotypes, l'hétérozygote étant au total inférieure aux 2 homozygotes. Il y a une interaction significative entre génotype et température, et l'on remarque que de 18 °C à 30 °C la moyenne de l'homozygote *NaNa* n'augmente pas, contrairement à celle des 2 autres génotypes. Les autres variables ne montrent pas d'effet du génotype dans l'ensemble. Pour la fumarase, il y a interaction avec la température, le génotype *na⁺na⁺* augmentant seul à 30 °C par comparaison à 18 °C. L'acrosine et la consommation d'oxygène des spermatozoïdes sont modifiées par la température, la 1^{re} diminuant et la seconde augmentant à 30 °C par rapport à 18 °C. La respiration montre en outre une interaction génotype × traitement. Enfin, la testostérone plasmatique n'est pas affectée par le génotype mais diffère selon la température, sa valeur moyenne étant plus élevée en ambiance chaude. Par contre, le poids testiculaire n'est pas influencé par la température, mais l'est significativement par le génotype, avec la valeur moyenne la plus élevée pour l'homozygote *NaNa* et un classement intermédiaire pour l'hétérozygote.

D. Fertilité réelle

Les valeurs moyennes (p. 100) sont données au tableau 8.

Les tests de χ^2 n'indiquent aucune différence significative entre génotypes, quelle que soit la température d'élevage des coqs.

TABLEAU 7

Caractéristiques biochimiques du sperme et testostérone plasmatique selon la température et le génotype : valeurs moyennes et écarts-types (entre parenthèses).
 Biochemical parameters of semen and plasma testosterone according to temperature and genotype : means and standard deviations (within parentheses).

Variable	18 °C		30 °C		Total génotypes groupés		Total traitements groupés		Analyse de variance				
	NaN _a	Nan ⁺	NaN _a	Nan ⁺	18 °C	30 °C	NaN _a	Nan ⁺	Traitement	Génotype	Interaction		
	Na ⁺	na ⁺	na ⁺	na ⁺	na ⁺	na ⁺	na ⁺	na ⁺	na ⁺	na ⁺	na ⁺		
Acide urique (mg/l)	763 (381)	786 (496)	651 (287)	657 (416)	871 (404)	748 (424)	726 (380)	707 (337)	721 (450)	784 (415)	0,08	0,37	1,58
Phosphatases acide (µmole/ml)	3,767 (0,974)	2,888 (1,053)	3,210 (1,009)	3,585 (0,444)	4,157 (0,741)	3,288 (1,056)	3,808 (0,681)	3,725 (0,841)	3,236 (0,870)	3,683 (0,995)	**	**	**
ATPase (µmole/ml)	0,85 (0,26)	0,77 (0,15)	0,89 (0,19)	0,89 (0,17)	0,85 (0,22)	0,89 (0,17)	0,89 (0,18)	0,89 (0,22)	0,83 (0,17)	0,87 (0,17)	1,76	0,74	1,49
Protéines du plasma séminal (mg/ml)	0,26 (0,11)	0,44 (0,22)	0,30 (0,17)	0,32 (0,11)	0,41 (0,15)	0,30 (0,17)	0,35 (0,13)	0,29 (0,12)	0,33 (0,18)	0,35 (0,16)	2,04	1,37	2,10
Fumarase (µmole/10 ⁹ spermatozoïdes)	0,75 (0,36)	0,91 (0,36)	0,78 (0,42)	0,75 (0,47)	1,13 (0,51)	0,81 (0,38)	0,90 (0,50)	0,75 (0,41)	0,87 (0,42)	0,96 (0,49)	1,28	2,26	2,78
Acrosine (µmole/10 ⁹ spermatozoïdes)	1,09 (0,17)	0,96 (0,21)	0,97 (0,12)	0,64 (0,36)	0,74 (0,34)	1,01 (0,18)	0,72 (0,36)	0,87 (0,36)	0,85 (0,32)	0,88 (0,27)	***	27,82	0,12
Pression osmotique (mos/ml)	279 (72)	304 (10)	319 (27)	321 (16)	307 (8)	300 (48)	295 (65)	302 (50)	275 (85)	314 (21)	0,38	0,81	0,92
Consomm. d'oxygène des spermatozoïdes (µatome/10 ⁹ sp.)	54 (12)	60 (23)	39 (6)	67 (19)	62 (21)	51 (17)	63 (20)	60 (16)	59 (21)	51 (19)	**	7,97	2,20
Testostérone plasmat. (ng/ml) (N = 239)	1,8 (1,4)	2,3 (2,1)	2,7 (1,7)	3,6 (2,8)	3,4 (2,2)	2,3 (1,8)	3,2 (2,4)	2,7 (2,0)	2,6 (2,3)	3,1 (2,0)	**	11,10	1,17
Poids des testicules 35 semaines (%)	0,71	0,53	0,37	0,72	0,60	0,54	0,64	0,71	0,57	0,49	0,28	4,75	1,81

** *** : respectivement P < 0,05 ; P < 0,01 ; P < 0,001.
 N = 24 pools du sperme de 5 coqs chacun (voir texte).

TABLEAU 8

Fertilité réelle (%) à 35 semaines selon la température et le génotype.

Fertility (%) at 35 weeks according to temperature and genotype.

18 °C		30 °C		Total génotypes groupés		Total traitements groupés	
<i>NaNa</i>	<i>na⁺na⁺</i>	<i>NaNa</i>	<i>na⁺na⁺</i>	18 °C	30 °C	<i>NaNa</i>	<i>na⁺na⁺</i>
92,5	93,2	94,7	88,7	92,0	91,4	93,3	92,3
	92,6		91,3			90,6	

IV. Discussion et conclusions

Plusieurs des effets de la température élevée dans ce travail s'accordent avec des données antérieures citées en introduction : c'est le cas de l'avancement de l'âge au 1^{er} éjaculat (en accord avec INGKASUWAN & OGASAWARA, 1966 ; BOONE *et al.*, 1977 ; VO *et al.*, 1980) ainsi que de l'effet dépressif sur le volume de l'éjaculat (HUSTON & WHEELER, 1949 ; INGKASUWAN & OGASAWARA, 1966) et le nombre de spermatozoïdes par éjaculat (BOONE & HUSTON, 1963 ; DE REVIERS, 1982). Par contre, nous ne retrouvons pas l'effet sur la concentration en spermatozoïdes signalé par certains auteurs. Par ailleurs, nos données sur la motilité sont peu concluantes, d'autant plus que la variation avec l'âge est considérable et la baisse de 19 à 27 semaines non expliquée. Quant à l'effet de la température que nous observons sur plusieurs paramètres biochimiques (diminution de l'acrosine par la chaleur, augmentation de la phosphatase acide, de la consommation d'oxygène des spermatozoïdes et de la testostérone plasmatique) nous ne sommes pas en mesure de l'interpréter et n'avons pas connaissance de données antérieures à cet égard.

Pour les effets associés au génotype au locus *Na*, ils n'ont pas fait l'objet de recherches antérieures. L'âge au premier éjaculat n'est pas significativement affecté par ce génotype. Cependant, on remarque à température élevée une avance moyenne de 5 jours du génotype *NaNa* par rapport à *na+na+*. On peut suggérer un rapprochement avec l'observation (HAMMADE *et al.*, 1987) d'une surface de la crête et des barbillons et d'un taux d'hématocrite augmentant plus vite pour le 1^{er} génotype que pour les autres à 30 °C aux âges de 13 et 16 semaines.

L'avantage apporté par le gène *Na* apparaît clair pour le volume et le nombre de spermatozoïdes par éjaculat, quelle que soit la température, avec une valeur moyenne de l'hétérozygote intermédiaire entre celles des 2 homozygotes. Les différences entre génotypes pour le poids des testicules, absolu ou exprimé en p. 100, peuvent être interprétées dans le même sens. On peut suggérer un rapprochement avec l'effet dépressif d'une température élevée sur ces critères, car un effet général du gène *Na* comparé à l'allèle normalement emplumé est un léger abaissement de la température corporelle (MÉRAT, 1986). Il faudrait vérifier si localement, au niveau des testicules, cet effet est plus prononcé qu'au niveau du cloaque. Une conséquence possible est que, par éjaculat, un coq *cou nu* puisse inséminer un nombre sensiblement plus grand de poules qu'un coq *na+na+*. Ceci devrait cependant être testé directement, et sur une durée plus longue que dans le présent travail pour évaluer le facteur persistance.

En ce qui concerne les paramètres biochimiques, si à propos du gène *R* (crête rosacée) PETITJEAN & SERVOUSE avaient en 1981 relaté des activités significativement différentes de l'ATPase et de l'acrosine entre *RR* et *rr*, il faut considérer qu'il s'agit d'un gène déterminant une subfertilité des spermatozoïdes. Pour le gène *Na* qui nous occupe ici, nous n'avons pas mis en évidence d'effet significatif sur la fertilité du sperme et parmi les critères étudiés, seule la phosphatase acide est significativement influencée, le sperme des hétérozygotes présentant une activité plus faible que celui des homozygotes. L'interprétation de ce résultat et des autres effets significatifs trouvés associés au gène *Na* sur certains paramètres biochimiques paraît prématurée, d'autant que les analyses faites sur le sperme ou le plasma séminal portent sur des échantillons beaucoup plus réduits que les caractéristiques précédentes.

Reçu le 22 octobre 1986.

Accepté le 9 février 1987.

Références bibliographiques

- BOONE M.A., HUSTON T.M., 1963. Effects of high temperature on semen production and fertility in the domestic fowl. *Poult. Sci.*, **42**, 670-676.
- BOONE M.A., VO K.V., KNECHTGES J.F., 1977. Effect of high temperature on sexual maturity (Abstr.). *Poult. Sci.*, **56**, 1347.
- BURROWS W.H., QUINN J.P., 1937. The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. *Poult. Sci.*, **16**, 19-24.
- CLARK C.E., SARAHOON K., 1967. Influence of ambient temperature on reproductive traits of male and female chickens. *Poult. Sci.*, **46**, 1093-1098.
- CRAWFORD R.D., 1976. Incomplete dominance of the gene for Naked Neck in the domestic fowl. *Poult. Sci.*, **55**, 820-822.
- DE REVIERS M., 1982. Fertilité et insémination artificielle en aviculture. C.R. Session I.T.A.V.I., 20 avril 1982, Station de Recherches avicoles, I.N.R.A., Nouzilly.
- DE REVIERS M., 1986. Fertilité mâle des volailles. 7^e Conférence avicole européenne, Paris, 24-28 août 1986, II, 916-931, World's Poult. Sci. Association, branche française.
- EL JACK M.A., DE REVIERS M., 1979. The influence of fluctuating high environmental temperature on egg production, fertility and hatchability of the domestic fowl. *Archiv. für Geflügelkd.*, **43**, 139-143.
- ERLANGER B.F., KOKOWSKI N., COHEN W., 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Arch. Biochem. and Biophysics*, **95**, 271-278.
- GALUT O., 1983. Recherche sur des critères d'évaluation de la qualité du sperme de coq (*Gallus domesticus*). Mémoire de Maîtrise de Sciences et Techniques de Production animale, Université de Tours.
- HAMMADE H., PETITJEAN M., DOUAIRE M., MALLARD J., MÉRAT P., 1987. Effet du gène Na (*cou nu*) chez des coqs élevés à deux températures. I. Croissance, consommation alimentaire et caractéristiques physiologiques. *Génét. Sélect. Evol.*, **19**, 109-125.
- HUSTON T.M., 1975. The effects of environmental temperature on fertility of the domestic fowl. *Poult. Sci.*, **54**, 1180-1184.
- HUSTON T.M., WHEELER R.S., 1949. Effect of synthetic thyroprotein on seasonal variation in volume and concentration of cock semen. *Poult. Sci.*, **28**, 262-269.
- HUSTON T.M., CARMON J.L., 1958. Influence of high environmental temperature on fertility and hatchability of eggs of domestic fowl. *Physiol. Zool.*, **31**, 232-235.
- INGKASUWAN P., OGASAWARA F.X., 1966. The effect of light and temperature and their interaction on the semen production of *White Leghorn* males. *Poult. Sci.*, **45**, 1199-1206.
- LEYMARIE P., STRAUSS N., SCHOLLER R., 1974. Dosage radioimmunologique rapide de la testostérone plasmatique chez l'adulte et l'enfant. Vérification de la spécificité par dosage en spectrophotométrie de masse. *Pathol. Biol.*, **22**, 877-882.
- MÉRAT P., 1986. Potential usefulness of the Na (*Naked Neck*) gene in poultry production. *World's Poult. Sci. J.*, **42**, 124-142.
- PETITJEAN M., SERVOUSE M., 1981. Comparative study of some characteristics of the semen of RR (rose comb) or rr (single comb) cockerels. *Reprod. Nutr. Develop.*, **21**, 1085-1093.
- RAUEN H.M., 1956. Biochemische Tagenbuch. In : *Methods in Enzymology*, **13**, 988. Springer, Stuttgart.
- SCOTT T., CRAWFORD R.D., 1977. Feather number and distribution in the throat tuft of Naked Neck chicks. *Poult. Sci.*, **56**, 686-688.
- SERVOUSE M., PETITJEAN M.J., ROSENBERG A.J., 1976. Etude de quelques enzymes du plasma séminal de coq. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, **16**, 807-819.
- SNEDECOR G.W., COCHRAN W.G., 1969. *Statistical methods*. 6th ed., XIV + 593 p., Iowa State University Press, Ames.
- VO K.V., BOONE M.A., HUGHES B.L., KNECHTGES J.F., 1980. Effects of ambient temperature on sexual maturity in chickens. *Poult. Sci.*, **59**, 2532-2537.