

RAPPORT FINAL

Optimisation de la fertilité et de la survie des poussins des reproducteurs de poulet de chair par un régime végétal

Titre du projet

___ Projet n°6406___
Numéro du projet

Dr Janice Bailey _____
Nom du demandeur

Du 1^{er} Mars 2010 au 30 Juin 2013

Période couverte par le rapport

Dr Janice Bailey
Rédigé par _____
Nom et fonction du rédacteur

Date de dépôt du rapport d'étape

Le rapport final transmis au CDAQ en version papier et Word doit inclure:

- les biens livrables décrits à l'annexe C de la convention de contribution financière;
- les pièces justificatives, numérotées, portant la mention payée et inscrites dans le document Plan de financement et conciliation des dépenses;
- les copies des documents de diffusion produits faisant mention de la contribution du programme.

Table des matières

| | |
|--|----|
| 1. OBJECTIFS | 4 |
| 1.1 Objectif général | 4 |
| 1.2 Objectifs spécifiques | 4 |
| 2. RÉSULTATS ET ANALYSE | 5 |
| 2.1 Résultats obtenus et analyse | 5 |
| 2.2 Diffusion des résultats | 35 |
| 3. CONCLUSIONS | 40 |
| 4. HISTOIRE D'UNE RÉUSSITE | 42 |
| 5. PLAN DE FINANCEMENT ET CONCILIATION DES DÉPENSES | 44 |

Annexes à ajouter, s'il y a lieu

1. OBJECTIFS

1.1 Objectif général

Cette étude a pour but de développer un régime alimentaire enrichi en acides gras oméga3 et en antioxydants afin d'optimiser les performances de reproduction (fertilité, éclosion...) des reproducteurs de poulet de chair et, plus particulièrement, en fin de période de reproduction. Nous souhaitons par la même optimiser la survie et la santé de leur descendants.

1.2 Objectifs spécifiques

Les objectifs spécifiques de départ de notre projet étaient les suivants :

- (1) Caractérisation des taux de fertilité, d'éclosion et de mortalité embryonnaire sur deux périodes critiques de la saison de reproduction, soit le pic de ponte et la chute de fertilité, afin de déterminer la période d'utilisation la plus efficace de nos régimes;
- (2) Caractériser la fertilité et le stockage des spermatozoïdes dans l'oviducte des femelles par une méthode non invasive via l'estimation des spermatozoïdes emprisonnés entre les membranes périvitellines;
- (3) Caractériser la qualité de la semence (volume de semence, mobilité des spermatozoïdes détaillée à l'aide d'un système couplé à un ordinateur, viabilité et morphologie spermatique, stabilité de la chromatine). Ces tests seront complétés par une analyse de la composition lipidique des membranes des spermatozoïdes et de leurs sensibilités aux peroxydations ainsi que par la détection de certaines protéines d'intérêts correspondant à des marqueurs de fertilité;
- (4) Caractériser le statut physiologique des mâles (poids corporel et testiculaires, état du tractus reproducteur, dosage hormonal par RIA) et des femelles (état fonctionnel de l'oviducte, nombreux prélèvements tissulaires pour suivre l'expression de certains gènes d'intérêts par des approches qui peuvent expliquer la performance reproductrice) en fonction des régimes alimentaires ;
- (5) Caractériser la composition lipidique du jaune d'œufs en fonction du régime alimentaire des femelles pour déterminer l'impact du profil en acide gras sur le développement du futur poussin;
- (6) Caractériser l'impact du régime alimentaire maternel sur le métabolisme lipidique du poussin à l'éclosion (analyse lipidique en HPLC) et identifier de possibles altérations au niveau des muscles squelettiques susceptibles d'empêcher le poussin de rompre sa coquille (analyse de l'ultrastructure des fibres musculaires, recherche de marqueurs d'atrophie ou recherche de défauts d'innervation);
- (7) Caractériser l'impact du régime alimentaire maternel sur la résistance des poussins à un stress dans les premiers jours de vie (vaccination contre la maladie de Gumboro, stress oxydatif ou stress thermique). La résistance à ce stress sera estimée par l'intermédiaire de leur réponse immunitaire;
- (8) Développer une expertise québécoise sur la fertilité avicole, et plus spécifiquement dans le secteur de la volaille, afin de répondre aux problèmes de fertilité rencontrés par les producteurs et développer de nouveaux outils facilement applicables sur le terrain (test de fertilité, récolte de semence, insémination artificielle, et à plus long terme envisager la congélation de la semence).

2. RÉSULTATS ET ANALYSE

2.1 Résultats obtenus et analyse

Rappel : SO = groupe contrôle (2% huile soja + 0,3 ppm Se inorganique)

LOSe = 2% huile de lin + 0,3 ppm SSe (Sélénite de sodium = sélénium inorganique)

LOSYSse = 2% huile de lin + 0,15 ppm SSe + 0,15 ppm YSe (Yeast sélénium= sélénium organique)

LOYSe = 2% huile de lin + 0,3 ppm Se organique

2.1.1 Étude 1 : Comparer l'impact de régimes alimentaires tout végétal enrichis en acides gras polyinsaturés n-3 sur les performances de reproduction.

2.1.1.1. Objectif 1 : Caractérisation des taux de fertilité, d'éclosion et de mortalité embryonnaire sur les deux périodes critiques de la saison de reproduction (pic de ponte et chute de fertilité)

A- Performance de ponte

Les femelles sont rentrées en ponte au début de leur 24^{ème} semaine d'âge, ce qui est conforme à la charte des sélectionneurs. Les performances de ponte observées étaient moins élevées dans nos parquets (Fig.1). Tous nos groupes de traitement ayant été affectés de la même façon, nous pouvons conclure que le retard observés dans nos performance est dû à un rationnement plus important de nos femelles et non pas à un effet de nos rations expérimentales. En effet, nos femelles ont été maintenues sur des quantités plus faibles de nourriture que celles recommandées en début de ponte pour leur permettre de mieux appréhender la vague de chaleur de l'été 2010 en limitant leur prise de poids.

Aucun effet marquant des régimes n'a été observé sur le % moyen de ponte pour les deux périodes étudiées, soient en début (phase 1) et fin de saison de reproduction (phase 2), même si le traitement LOYSse présente globalement un taux de ponte légèrement plus faible en fin de saison de reproduction (Tableau 1).

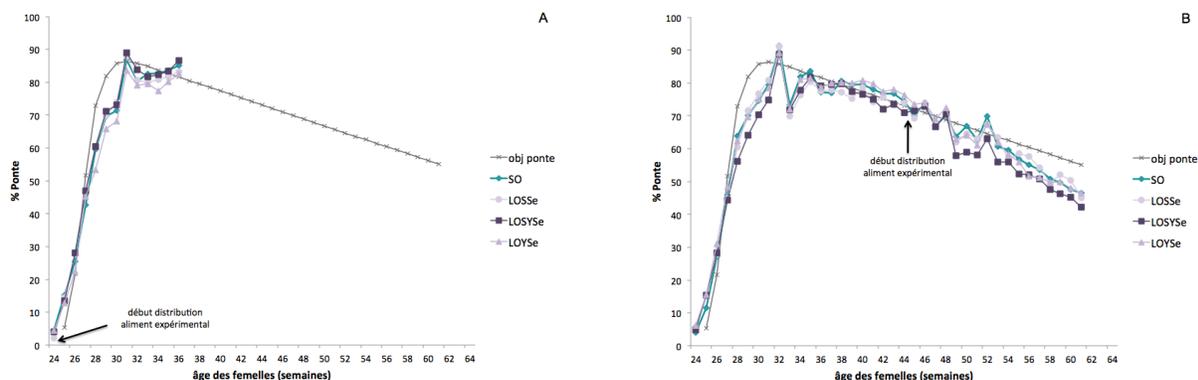


Fig.1 : Suivi de la courbe de ponte des femelles élevées en parquet de 24 à 36 (A) et de 24 à 61 semaines d'âge (B)

Taux de ponte = (nb total d'œufs pondus sur 7 jours / nb total d'œufs attendus)*100.

Les résultats représentent le taux moyen de ponte observé pour chaque traitement (n = 5 parquets / traitement).

Tableau 1 : Taux de ponte moyen observée en fonction du régime alimentaire distribuée à deux phases de la saison de reproduction (pic de ponte : 32-36 sem; fin de saison : 52-60 sem).

| Groupe | % Ponte moyenne semaines 32-36 | % Ponte moyenne semaines 52-60 |
|--------|--------------------------------|--------------------------------|
| SO | 80,49 | 55,55 |
| LOSSe | 78,92 | 56,33 |
| LOYSSe | 81,11 | 51,91 |
| LOYSe | 87,39 | 54,56 |

B- Performance reproductrice

Le remplacement de l'huile de soja (SO) par de l'huile de lin en présence de sélénium inorganique (LOSSe), organique (LOYSe) ou les deux sources combinées (LOSYSse) n'a pas eu d'impact majeur sur la fertilité des femelles en plein pic de ponte puisque le plus grand écart observé pour cette période n'excède pas 1.4% (SO vs LOYSe) (Tableau 2). Un constat similaire peut être effectué sur les différents taux d'éclosion calculés, avec toutefois une très légère amélioration en présence des deux sources de sélénium comparée aux autres traitements contenant également de l'huile de lin.

En fin de saison de reproduction (phase 2), l'ajout de n-3 semble être bénéfique sur les taux de fertilité indépendamment de la source de sélénium (jusqu'à +2.7% entre SO et LOSYSse). Les performances d'éclosion sont également améliorées (+3.8% entre SO et LOSSe).

Tableau 2 : % de fertilité, du taux d'éclosion et du taux d'éclosion des œufs fertiles en fonction du régime alimentaire distribué en début (phase 1) et fin de saison de reproduction (phase 2).

| Âge troupeau | Traitement | n ¹ | Nb œufs incubés | Fertilité ² (%) | Taux d'éclosion ³ (%) | Taux d'éclosion des œufs fertiles ⁴ (%) |
|------------------------|------------|----------------|-----------------|----------------------------|----------------------------------|--|
| 32-36 sem (phase 1) | SO | 25 | 4129 | 98.0 | 90.8 | 92.6 |
| | LOSSe | 25 | 5024 | 97.1 | 88.2 | 90.8 |
| | LOSYSse | 25 | 5108 | 96.7 | 89.2 | 92.2 |
| | LOYSe | 25 | 4716 | 96.6 | 87.4 | 90.4 |
| 52-61sem (phase 2) | SO | 50 | 6997 | 82.5 | 71.2 | 86.2 |
| | LOSSe | 50 | 6714 | 85.0 | 75.0 | 88.1 |
| | LOSYSse | 50 | 5921 | 85.2 | 74.2 | 87.1 |
| | LOYSe | 50 | 6770 | 83.7 | 72.0 | 86.0 |

¹Nombre d'unités expérimentales : 5 parquets*5 semaines de prélèvements (phase 1), 5 parquets*10 semaines de prélèvements (phase 2)

²Fertilité = (œufs fertiles/incubés)*100

³Taux d'éclosion = (œufs éclos/incubés)*100

⁴Taux d'éclosion des œufs fertiles = (œufs éclos/fertiles)*100

Contrairement à nos attentes suivant une étude préalable, les traitements alimentaires ne semblent pas avoir influencé de façon drastique le bon développement des embryons. Les différences observées entre les traitements pour chacune des phases sont minimes (autour de 1% pour les extrêmes), avec une légère amélioration du taux de survie tardive pour les traitements avec de l'huile de lin en phase 2 (Tableau 3).

Tableau 3: % des mortalités embryonnaires précoces, intermédiaires et tardives en fonction du régime alimentaire distribué en début (phase 1) et fin de saison de reproduction (phase 2).

| Âge troupeau | Traitement | n ¹ | Mortalité précoce ² (%) | Mortalité intermédiaire ³ (%) | Mortalité tardive ⁴ (%) |
|-----------------------|------------|----------------|---------------------------------------|---|---------------------------------------|
| 32-36 sem (phase1) | SO | 25 | 2.0 | 2.1 | 3.7 |
| | LOSSe | 25 | 2.5 | 2.8 | 4.9 |
| | LOSYS | 25 | 2.6 | 2.5 | 3.9 |
| | LOYS | 25 | 2.6 | 2.9 | 4.6 |
| 52-61sem (phase 2) | SO | 50 | 5.6 | 4.6 | 3.8 |
| | LOSSe | 50 | 5.0 | 4.1 | 3.1 |
| | LOSYS | 50 | 5.3 | 4.7 | 3.3 |
| | LOYS | 50 | 5.8 | 5.7 | 2.8 |

¹Nombre d'unités expérimentales : 5 parquets*5 semaines de prélèvements (phase 1), 5 parquets*10 semaines de prélèvements (phase 2)

²Mortalité précoce (MEP)= (embryons morts entre 0 et 4 jours d'incubation/œufs fertiles incubés)*100

³Mortalité intermédiaire (MEI)= (embryons morts entre 4 et 17 jours d'incubation/œufs fertiles incubés)*100

⁴Mortalité tardive (MET)= (embryons morts entre 17 et 21 jours d'incubation/œufs fertiles incubés)*100

2.1.1.2. Objectif 2 : Évaluation du stockage des spermatozoïdes dans l'oviducte des femelles

Le nombre de spermatozoïdes estimé au niveau des membranes périvitellines est constant pour les traitements SO, LOYS et LOSYS quelque soit la phase de la saison de reproduction. Ceci confirme qu'il n'y a pas de réelle différence de stockage en terme de quantité de spermatozoïdes entre des femelles en début et des femelles en fin de saison de reproduction. Cependant, même si le traitement LOSSe présente un nombre de spermatozoïdes périvitellins inférieur, cela n'a pas eu d'impact sur la fertilité des femelles (Tableau 4). ***Cette contradiction pourrait indiquer une meilleure fonctionnalité des spermatozoïdes lors du stockage chez les femelles LOSSe.***

Tableau 4: Population de spermatozoïdes périvitellins retrouvés dans les œufs pondus par les femelles de 32 à 36 semaines d'âge.

| Âge troupeau | Groupe | n ¹ | Nb estimé de spz périvitellins |
|------------------------|--------|----------------|--------------------------------|
| 32-36 sem (phase1) | SO | 38 | 35 688 ± 2 611 |
| | LOSSe | 38 | 24 271 ± 2 192 |
| | LOSYS | 39 | 32 165 ± 3 303 |
| | LOYS | 38 | 35 963 ± 3 162 |
| 52-61 sem (phase 2) | SO | 39 | 32 328 ± 5 651 |
| | LOSSe | 35 | 18 922 ± 2 765 |
| | LOSYS | 32 | 37 336 ± 6 278 |
| | LOYS | 39 | 40 091 ± 7 036 |

Les résultats représentent le nombre moyen de spermatozoïdes estimé pour chaque traitement.

¹nombre d'œufs fertiles prélevés aléatoirement pour chaque groupe.

2.1.1.3. Objectif 3 : Évaluation de la qualité de la semence fraîche de coq en réponse aux différents régimes alimentaires

A- Paramètres spermatiques

Les mâles en cage ont été récoltés à partir de 8 semaines post-alimentation expérimentale pour effectuer un suivi de la qualité de leur semence. La concentration moyenne, le nombre total de spermatozoïdes par éjaculat, la viabilité et la motilité des spermatozoïdes fraîchement éjaculés ne sont affectées ni par l'âge des animaux ni par les régimes testés. Cependant, après 48h de stockage à 4°C pour voir la capacité des spermatozoïdes face à un stress, les spermatozoïdes provenant des « jeunes » coqs de la phase 1 présentent de meilleurs paramètres de motilité que ceux des coqs plus âgés en phase 2. ***La présence de sélénium organique dans les rations contenant de l'huile de lin favorise l'intégrité de l'ADN spermatique***, tout du moins chez les jeunes coqs en phase 1. De plus, même si l'analyse statistique ne révèle pas de différence significative, il semblerait que l'ADN spermatique du groupe contrôle supporte moins bien un stockage de 48h à 4°C.

3.2 Composition en acides gras des membranes spermatiques

Les profils en acides gras des spermatozoïdes de coqs ont été réalisés pour chacune des phases expérimentales. Bien que notre étudiante au doctorat n'ait toujours pas fini de les analyser, un survol rapide des données montrent qu'il y a bien eu incorporation d'acides gras polyinsaturés n3 dans les membranes spermatiques des mâles des groupes LO. Cependant, le ratio n6/n3 n'est que de 1,4 à 1,2 x plus important pour les mâles du groupe SO vs les autres, indiquant une certaine résistance des mâles vis à vis de l'incorporation des n3. Les principaux AG voyant leur proportion augmentée sont le C20:5, C22:5 et le C22:6 n3.

C- Profil antioxydant

Superoxyde dismutases (SODs)

L'étude du profil antioxydant de la semence nous a permis pour la première fois d'identifier par immunobuvardage les différentes isoformes de superoxyde dismutase (SODs) dans le plasma séminal et les spermatozoïdes chez le coq. La présence de SOD1 (forme Cu,Zn-dépendante connue pour être cytosolique) et SOD2 (forme Mn-dépendante et mitochondriale) dans les spermatozoïdes de coqs n'est affectée ni par la source d'huile ni par la forme de sélénium contenue dans nos régimes alimentaires.

Bien que l'âge des coqs n'influence pas les niveaux de SOD1 (Fig.2-A), de plus forts niveaux de SOD2 ont été détectés chez les spermatozoïdes des coqs plus âgés nourris avec de LO indépendamment de la source de sélénium (effet âge : $P=0,0049$, Fig.2-B). Ce résultat pourrait impliquer une sensibilité accrue des spermatozoïdes aux peroxydations lipidiques, en particulier au niveau de la pièce intermédiaire, chez les coqs plus âgés se traduisant par une augmentation des défenses anti-oxydantes à ce niveau.

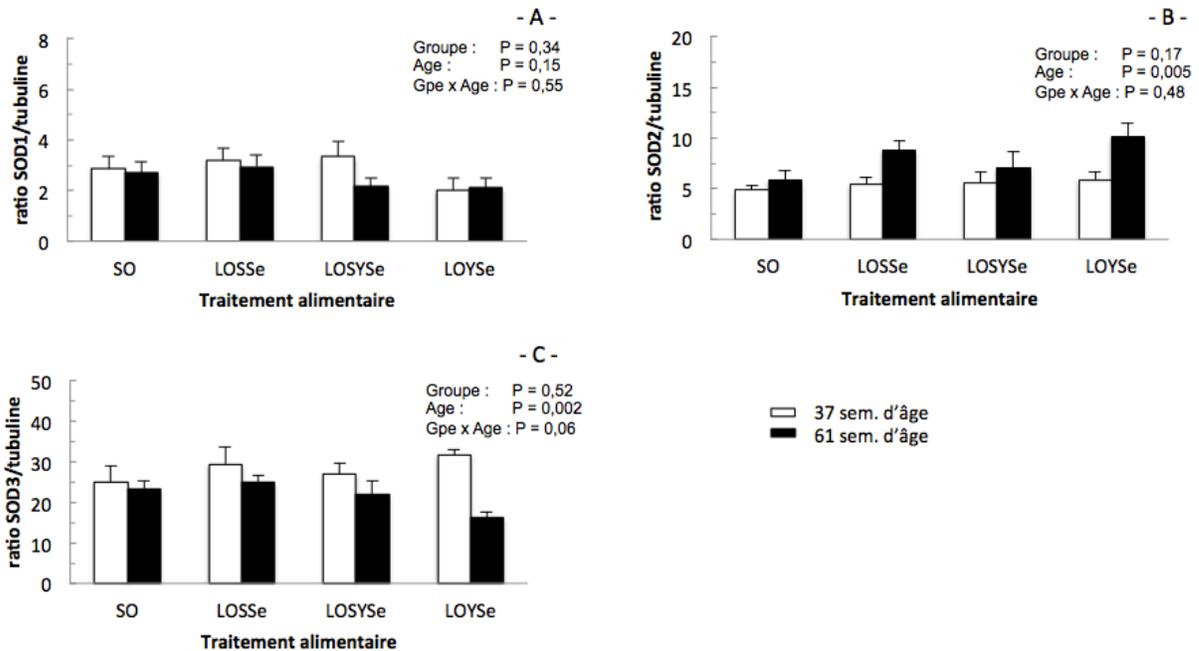


Fig.2 : Niveaux relatifs spermatiques des différentes isoformes de SOD chez des coqs nourris avec un aliment riche en n6 (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). **A :** SOD1, Cu,Zn-dépendante et cytosolique ; **B :** SOD2, manganèse dépendante et mitochondriale; **C :** SOD3, Cu,Zn-dépendante et extracellulaire. n = 5; moyenne ± SD. Tubuline utilisée comme protéine housekeeping. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

Or, l'activité de SOD2 *per se* n'est pas affectée par le vieillissement de nos animaux (P=0,78) (Fig.3-B). Pris ensemble, ces deux résultats semblent suggérer l'existence de mécanisme rendant la protéine SOD2 inactive chez les coqs plus âgés, qu'ils s'agissent d'une régulation post-traductionnel, d'une diminution de la biodisponibilité de son cofacteur (Mn) ou encore d'une inactivation suite à une plus grande production de facteurs inhibiteurs (ex. oxyde nitrique).

De plus, une plus grande activité de SOD2 a été mesurée pour le traitement LO vs SO (P=0,0004 ; contraste *a priori*) (Fig.3-B). L'enrichissement des membranes spermatiques en acides gras n-3 à longues chaînes impliquant une augmentation contre des risques de peroxydation (cf. plus haut) pourrait expliquer ce constat. Le sélénium n'étant pas connu pour contribuer à l'activité de SOD2, la présence de YSe dans les rations augmente de façon surprenante cette activité (P=0,02 pour contraste 'source Se linéaire').

La SOD3, aussi Cu,Zn-dépendante (comme SOD1) et connue pour être extracellulaire, a pu être détectée au niveau des spermatozoïdes de coqs par l'immunohistochimie. Un même constat a déjà été rapporté chez l'humain par une autre équipe de recherche. Ceci semble suggérer une possible liaison de SOD3 sur la membrane plasmique des spermatozoïdes. De ce fait, cette enzyme pourrait participer à la protection du spermatozoïde contre les peroxydations au cours de leur transit dans les voies femelles. Des expérimentations complémentaires sont nécessaires pour valider cette hypothèse.

Comme pour SOD1 et SOD2, la source d'huile testée n'a pas d'effet sur la présence de SOD3 spermatique (contraste SO vs LOSse) tandis qu'un effet global de l'âge du coq a été

observée ($P=0,0024$). Remplacer du sélénium inorganique (S_{Se}) par du sélénium organique (Y_{Se}) n'affecte pas les niveaux de SOD3 chez les coqs au pic de reproduction (phase 1) tandis qu'une diminution de ses niveaux est observée chez les coqs plus âgés en phase 2 (contraste âge x effet source Se linéaire, $P=0,02$) (Fig.2-C).

Cet effet de la source de sélénium se répercute également sur l'activité spermatique des SODs Cu,Zn-dépendantes (SOD1 + SOD3) mesurée, puisqu'une augmentation en présence de Y_{Se} a pu être observée (Fig.3-A). Toutefois, aucun effet âge n'a été mis en évidence sur cette dernière ($P=0,1$).

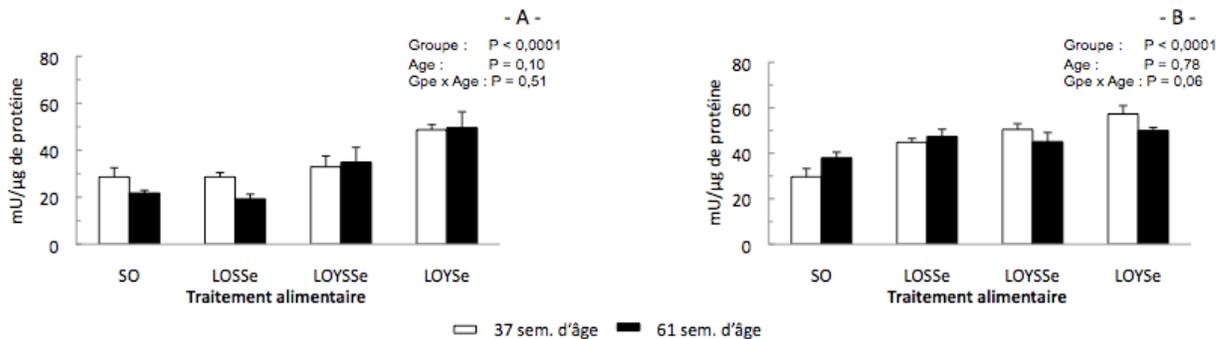


Fig.3 : Activités spermatiques Cu, Zn dépendante (A) et Mn-dépendante (B) des SOD chez des coqs nourris avec un aliment riche en n6 (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). n = 5; moyenne ± SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

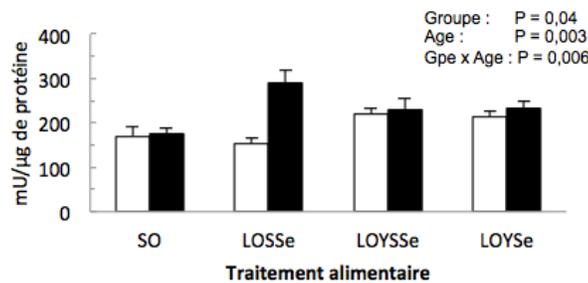


Fig.4 : Activité superoxyde dismutase totale dans le plasma séminal de coqs nourris avec un aliment riche en n6 (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). n = 5; moyenne ± SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

L'activité des trois SODs en totale dans le plasma séminal est également affectée par nos traitements et l'âge des coqs. Globalement, une augmentation de l'activité des SODs est observée avec l'âge (phase 1 versus phase 2 ; $P=0,003$) suggérant une plus grande production de radicaux libres chez les coqs plus âgés. Le traitement LOSSe présente également une activité supérieure comparée au traitement SO ($P=0,02$, contraste *a priori* 'effet huile') (Fig.4).

Glutathion peroxydases (GPxs)

Jusqu'à maintenant nous n'avons pas été en mesure de détecter de façon satisfaisante les différentes isoformes de GPx faute d'anticorps commerciaux dirigés contre le poulet. Par conséquent nous ne disposons que des mesures d'activité. L'activité GPx spermatique qu'elle

soit sélénio ou non sélénio-dépendante reste globalement stable avec l'avancée en âge des animaux (Fig.5-A et 5-B). À l'inverse, on observe une très nette diminution de ces activités dans le plasma séminal (P= 0,0071 et P=0,0004 respectivement) (Fig.5-C et 5-D). Les GPxs étant responsables de la détoxification des peroxydes d'hydrogène produits par les SODs, la 'sur-activité' des SODs et la 'sous-activité' des GPxs dans le plasma séminal des coqs plus âgés pourraient conduire à une augmentation des risques d'oxydation au niveau des membranes et donc, compromettre certaine fonction spermatique.

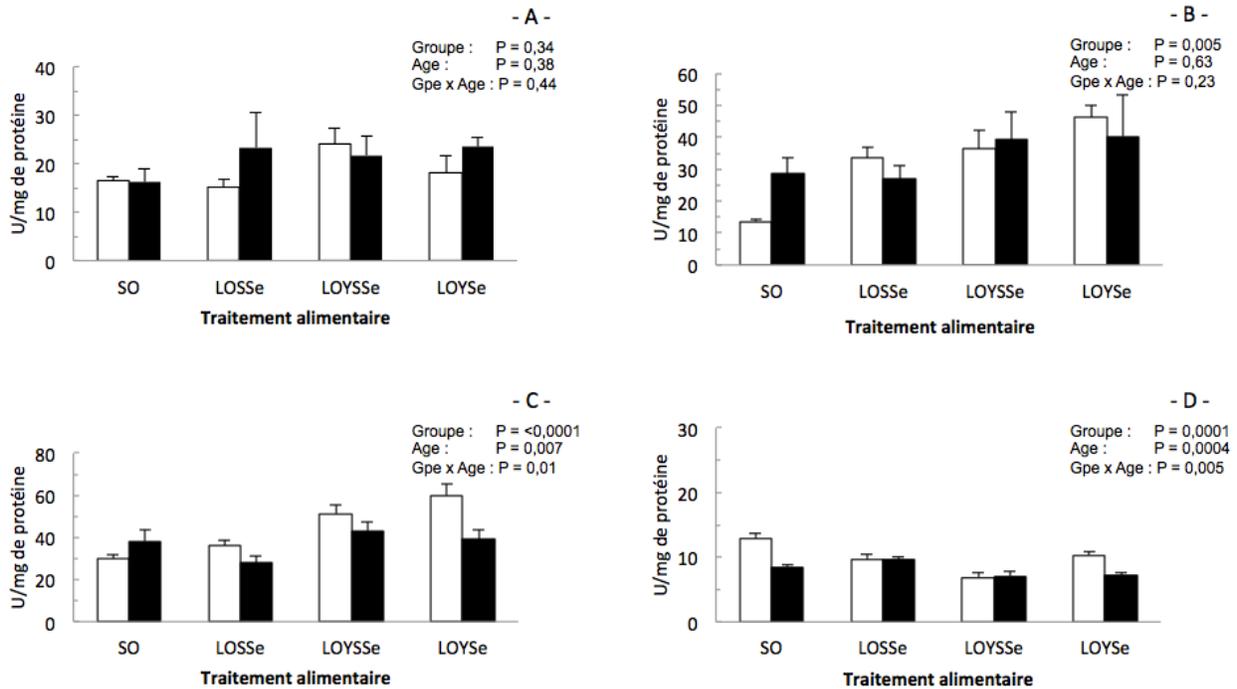


Fig.5 : Activité glutathion peroxydase sélénio et non-sélénio dépendante dans la semence de coqs nourris avec un aliment riche en n6 (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). **A :** activité Se-GPx spermatique; **B :** activité non Se-GPx spermatique; **C :** activité Se-GPx du plasma séminal; **D :** activité non Se-GPx du plasma séminal. n = 5; moyenne \pm SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

De façon surprenante, seule l'activité Gpx non sélénio-dépendante spermatique répond à nos diètes (effet groupe : P=0,005) (Fig.5-B), celle-ci étant légèrement supérieur pour le groupe LOYSe comparé aux groupes SO et LOSSe. Dans le plasma séminal, les activités GPxs sont cependant d'avantage affectées. L'activité GPx sélénio- dépendante est significativement augmentée en réponse à l'incorporation de YSe dans nos régimes (contraste source Se linéaire : P=0,0002 et Se quadratique : P=0,02), permettant de minimiser l'effet négatif de l'âge (LOSSe à 37 sem pas significativement différent de LOYSe et LOSYSse à 61 sem) (Fig.5-D).

2.1.1.4. Objectif 4 : Caractérisation du statut physiologique de l'appareil reproducteur male et femelle.

Pour la première fois, notre projet donne une vue d'ensemble du profil des principaux acteurs enzymatiques du système antioxydant de l'appareil génital mâle et femelle. À notre connaissance, nous sommes les seuls à avoir caractérisé les différentes isoformes de SODs et de GPxs du point de vue moléculaire (expression des gènes codant pour ces protéines),

protéique (présence par immunobuvardage) et fonctionnel (mesures d'activité), et ce, dans différents tissus reproducteurs.

A- Côté Femelle :

Pour la première fois nous mettons en évidence la présence de transcrits de GPX1, GPX3, GPX4, SOD1, SOD2 et SOD3 dans le vagin, la jonction utéro-vaginale (JUV) et l'infundibulum chez la poule. La GPx4, étant généralement associée au problème de fertilité chez le mâle, sa présence dans les deux sites de stockage de l'oviducte pourrait indiquer un rôle important de la GPx4 dans la survie des spermatozoïdes qui y sont stockés. De plus, la distribution des GPxs ainsi que des SODs (ARNm et activité) et leur modulation par voie nutritionnelle varient suivant le tissu considéré.

Glutathion Peroxydases (GPxs) :

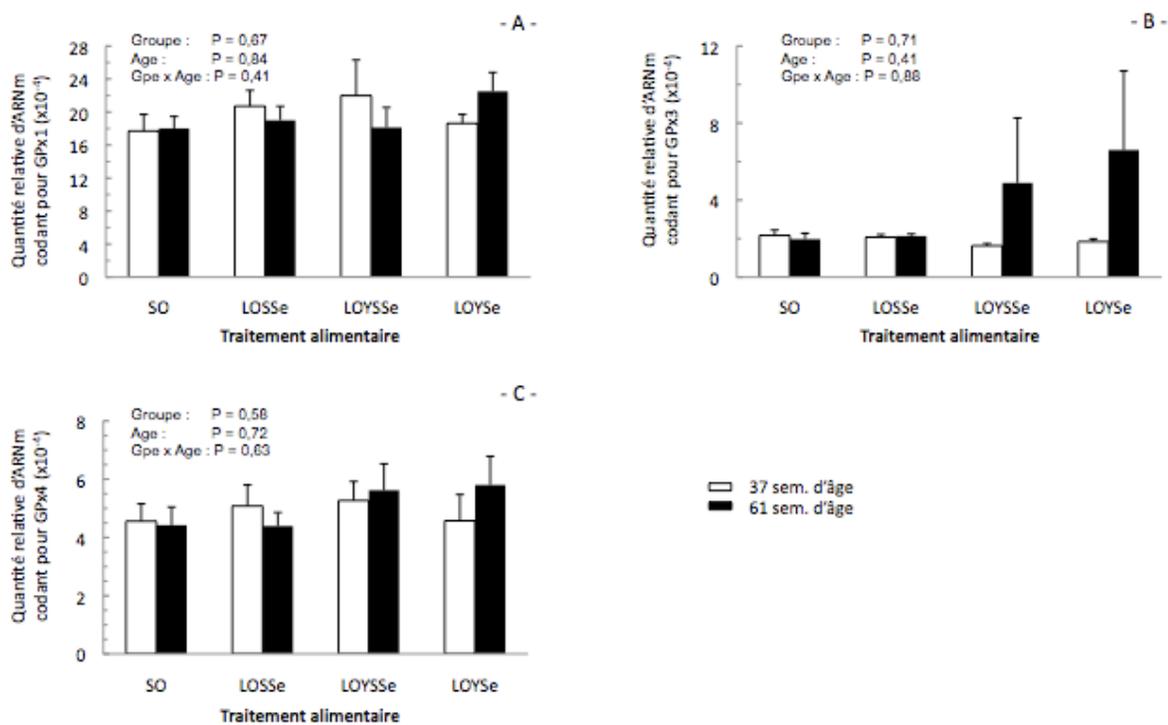


Fig.6 : Niveaux d'ARNm codant pour GPx1 (A), GPx3 (B) et GPx4 (C) dans le vagin de poules nourries avec un aliment riche en (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). n = 4; moyenne ± SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

Les niveaux d'ARNm codant pour GPx1 et GPx3 dans le vagin et la JUV ne sont affectés ni par l'âge des femelles ni par les rations expérimentales testées (Fig.6-A et 6-B et Fig.7-A et 7-B). Cependant, dans l'infundibulum, des taux d'ARNm codant pour GPx3 plus importants sont observés chez les femelles âgées de 61 semaines (phase 2 versus phase 1; effet âge : P=0,002) alors que ceux codant pour GPx1 sont plus élevés en présence de YSe et ce, indépendamment de l'âge des femelles (effet traitement : P=0,003) (Fig.8-A et 8-B).

Dans la JUV, des niveaux supérieurs d'ARNm codant pour GPx4 ont été observés à 60 semaines (phase 2) vs 37 semaines (phase 1) pour les femelles nourries avec de LO tandis que ces derniers restent stables pour le traitement SO (contraste huile x âge : P=0,01) (Fig.7-C).

Cependant, aucun effet huile n'a été mis en évidence. Le remplacement du SSe (sélénium inorganique) par du YSe (sélénium organique) dans les rations induit une augmentation des niveaux de transcrits en phase 1 alors qu'une diminution de ces mêmes niveaux est observée en phase 2 (contraste source Se linéaire x âge : $P=0,0001$). Les niveaux d'ARNm codant pour GPx4 sont restés stables dans les tissus du vagin et de l'infundibulum, quel que soit l'effet testé (Fig.6-C et Fig.8-C).

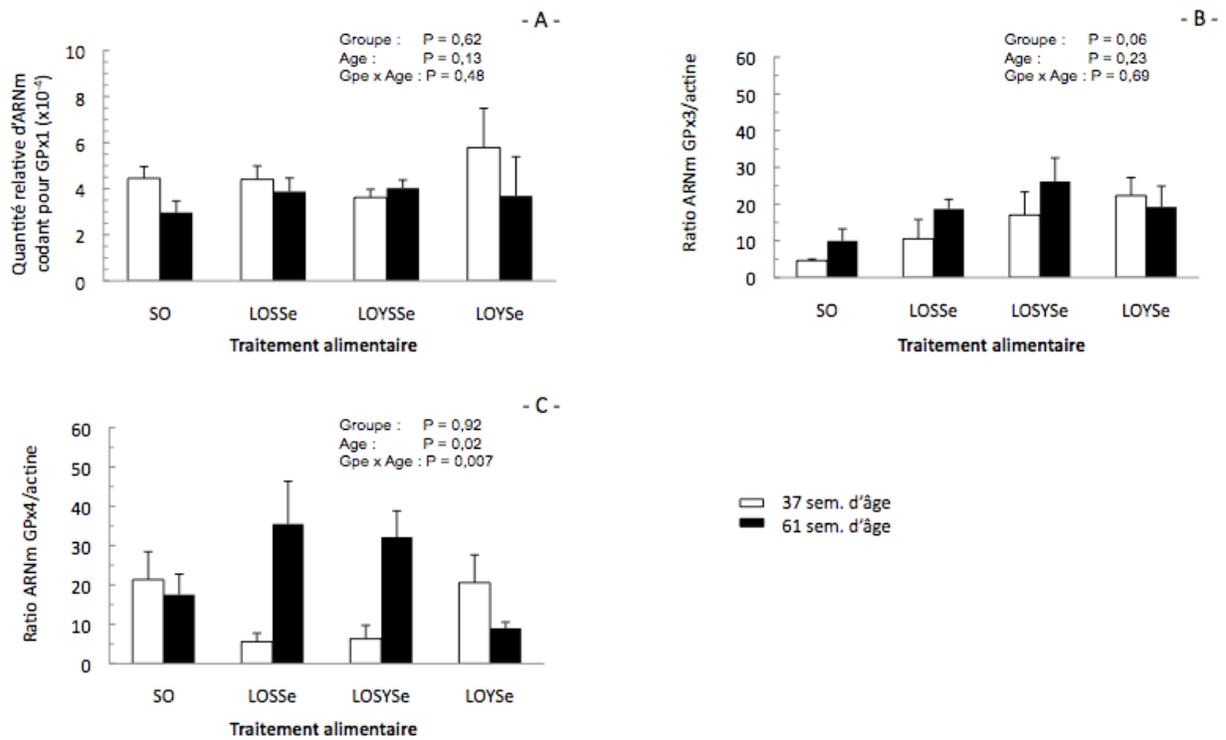


Fig.7: Niveaux d'ARNm codant pour GPx1 (A), GPx3 (B) et GPx4 (C) dans la jonction utéro-vaginale de poules nourries avec un aliment riche en (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). $n = 4$; moyenne \pm SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

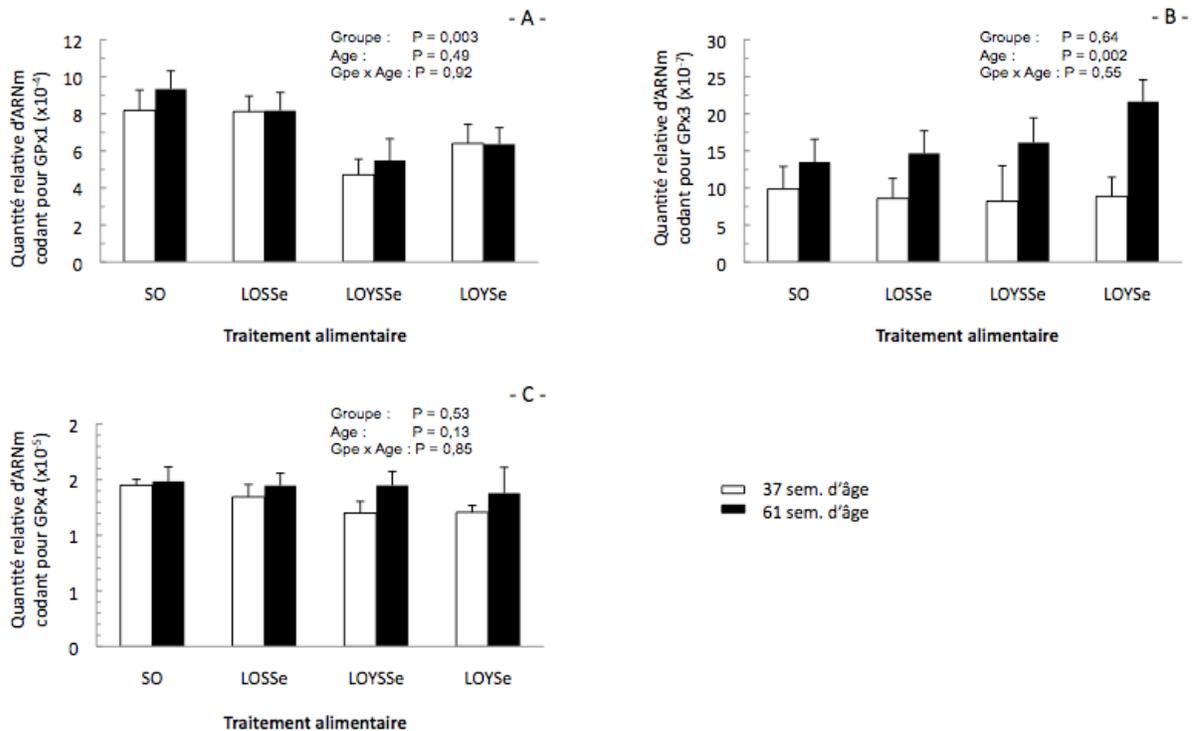


Fig.8 : Niveaux d'ARNm codant pour GPx1 (A), GPx3 (B) et GPx4 (C) dans l'infundibulum de poules nourries avec un aliment riche en (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). n = 4 moyenne \pm SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

Bien qu'aucun effet âge n'ait été mis en évidence dans le vagin sur les taux d'ARNm des GPx testées, une plus faible activité globale (séléno- ou non séléno-dépendante) a été observée chez les femelles âgées en phase 2 (Fig.9). Ce résultat semble suggérer l'existence d'une régulation post-transcriptionnelle au niveau vaginal pour ces enzymes (traduction ou activité *per se*).

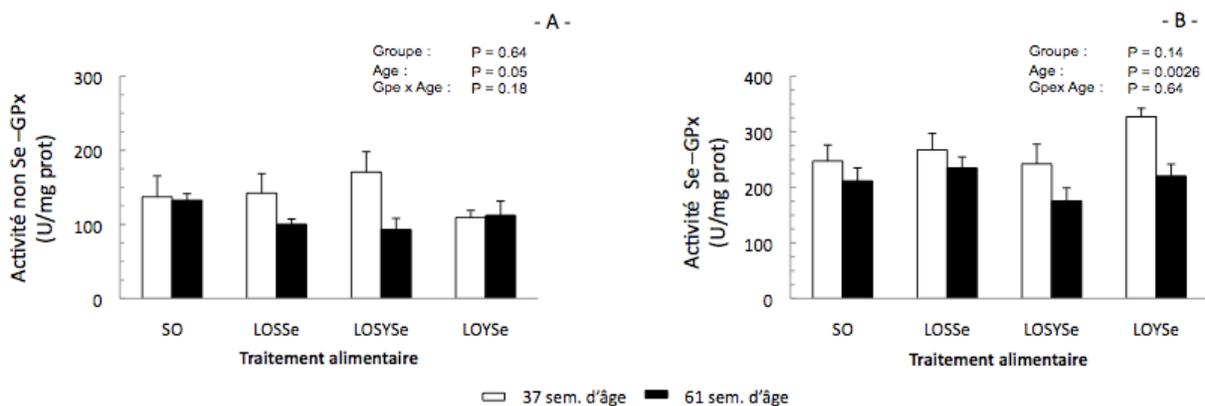


Fig.9 : Activité glutathion peroxydase séléno (B) et non-séléno dépendante (A) dans les tissus vaginaux de poules nourries avec un aliment riche en n6 (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). n = 5; moyenne \pm SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

Une légère diminution de l'activité séléno-dépendante chez les femelles en phase 2 (effet âge : $P=0,1$) a également été mesurée dans le site principal de stockage des spermatozoïdes (JUV), et ce, indépendamment des rations alimentaires (Fig.10-B). L'augmentation du taux d'ARNm codant pour GPx4 pourrait donc résulter : 1) d'une non traduction ou baisse de dégradation de ces derniers, 2) d'une tentative d'augmenter la traduction des protéines par les cellules pour compenser la baisse d'activité séléno-dépendante globale observée. Quoi qu'il en soit, les variations d'activité observées suggèrent une diminution de la capacité des tubules de stockage de la JUV à protéger les spermatozoïdes des peroxydations lipidiques. Enfin, l'incorporation de YSe dans nos régimes expérimentaux riche en n-3 a favorisé l'activité GPx séléno-dépendante de la JUV, semblant compenser l'effet négatif de l'âge pour le traitement LOYSe (Fig.10-B).

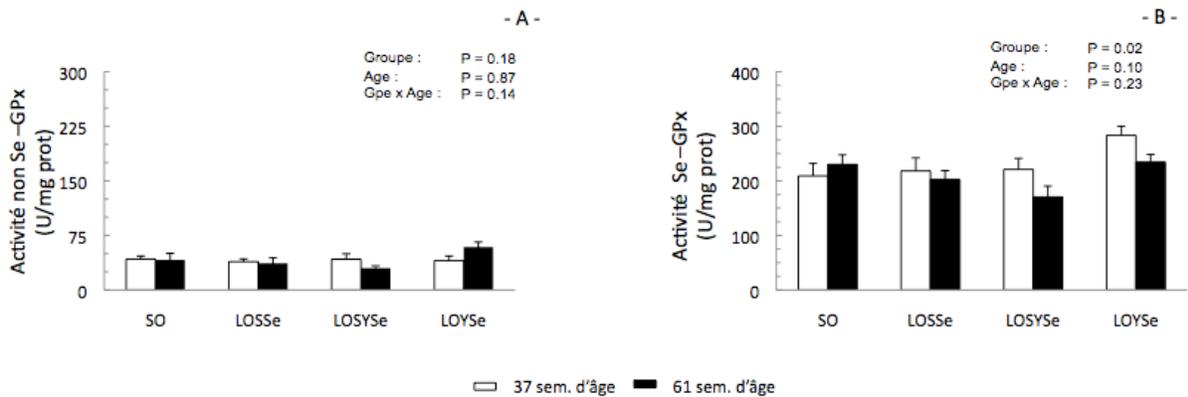


Fig.10 : Activité glutathion peroxydase séléno (**B**) et non-séléno dépendante (**A**) dans les tissus de la jonction utéro-vaginale de poules nourries avec un aliment riche en n6 (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). $n = 5$; moyenne \pm SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

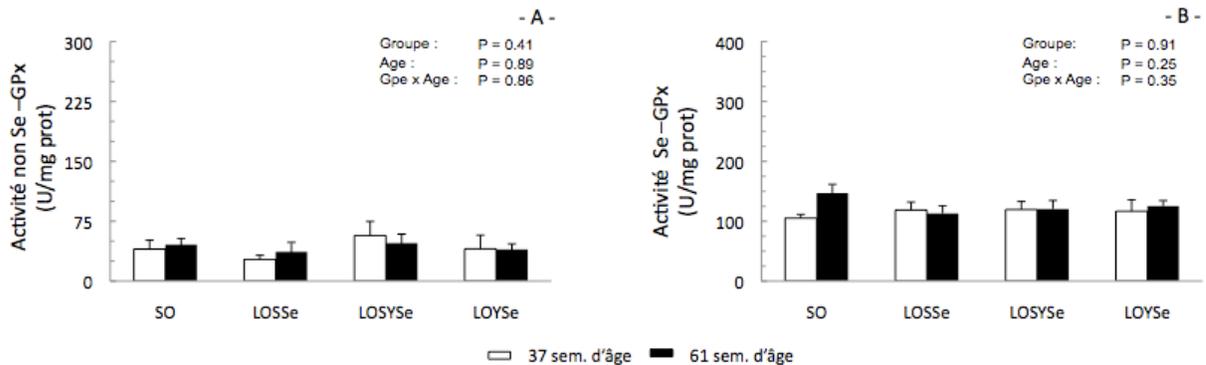


Fig.11 : Activité glutathion peroxydase séléno (**B**) et non-séléno dépendante (**A**) dans les tissus de la jonction utéro-vaginale de poules nourries avec un aliment riche en n6 (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). $n = 5$; moyenne \pm SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

Inversement, aucun effet de l'âge ni de nos traitements sur les activités GPx n'a été décelé dans l'infundibulum (Fig.11) bien que des variations d'expression aient été observées (Fig.8)). Il

semblerait donc qu'il existe un système de compensation entre les différentes formes de GPx pour assurer le maintien d'un taux basal d'activité peroxydase à proximité du site de fécondation.

Superoxyde Dismutases (SODs) :

Nous avons également pu mettre en évidence pour la première fois la présence des différents transcrits de SOD dans les tissus oviducaux. Le sélénium n'étant pas un co-facteur des trois isoformes de SOD, aucun effet de la source de sélénium n'a été observé sur les niveaux de transcrits dans le vagin (Fig.12) et l'infundibulum (Fig.13), tout comme pour ceux de SOD1 et SOD2 dans la JUV (Fig.14-A et 14-B).

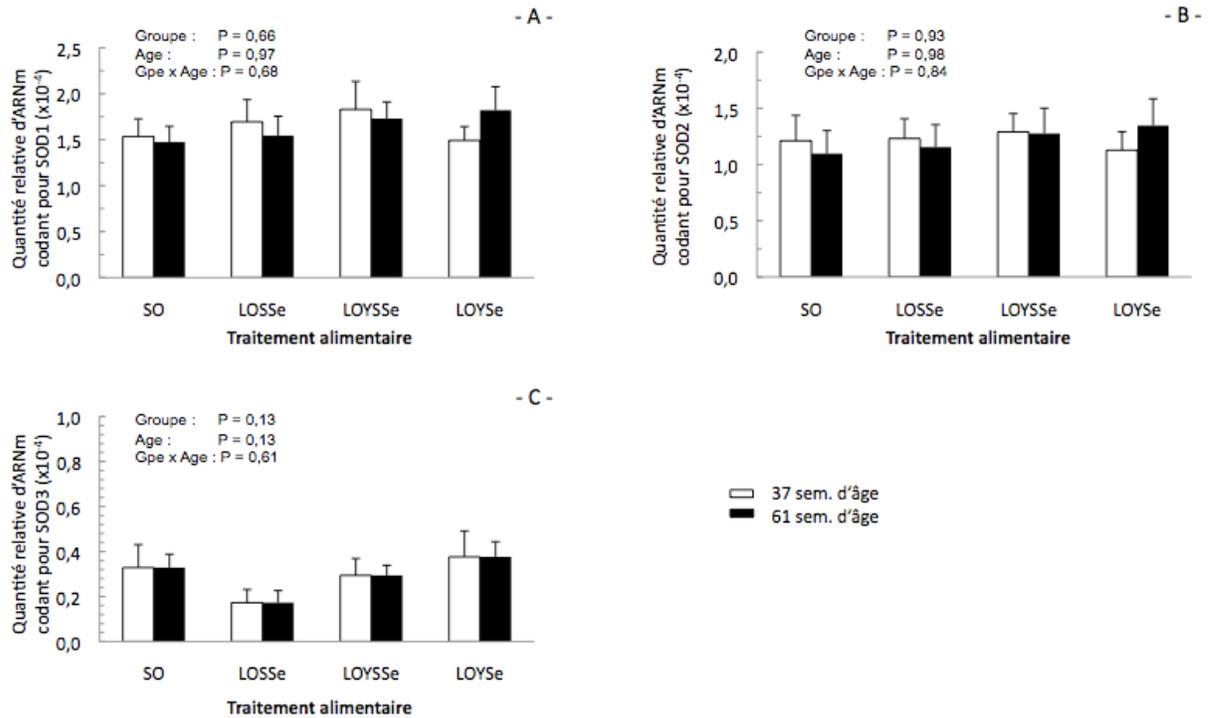


Fig.12 : Niveaux d'ARNm codant pour SOD1 (A), SOD2 (B) et SOD3 (C) dans le vagin de poules nourries avec un aliment riche en (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). n = 4; moyenne \pm SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

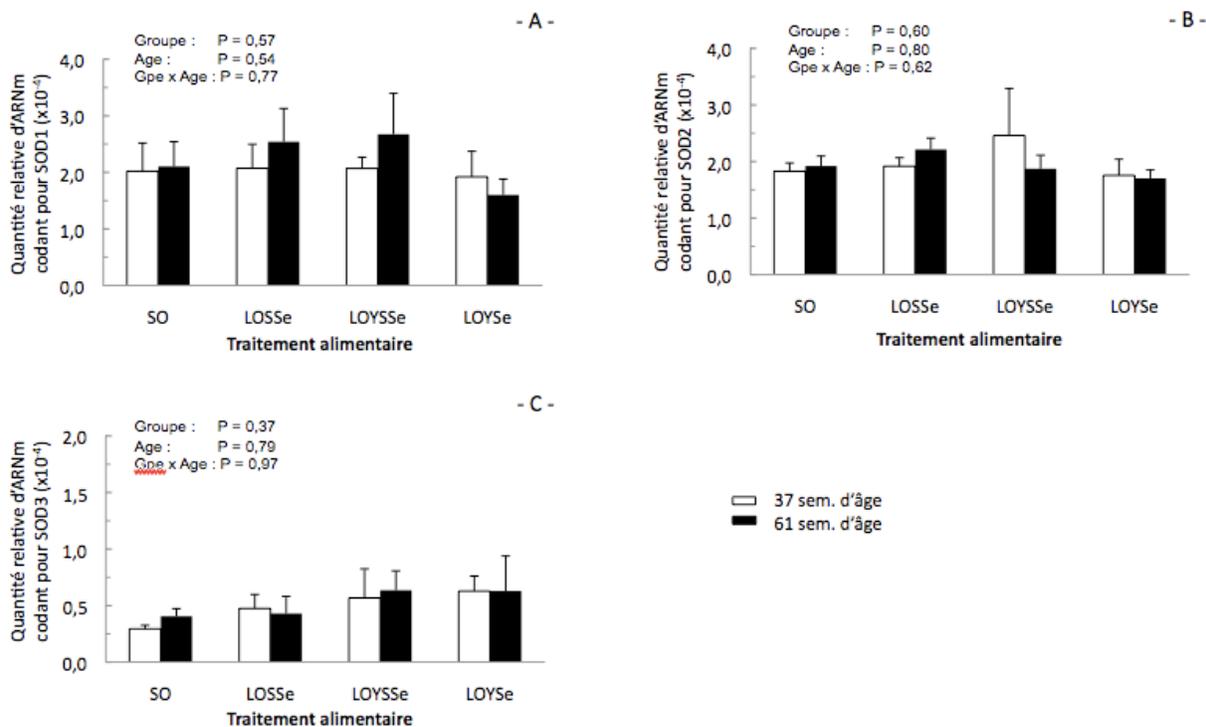


Fig.13 : Niveaux d'ARNm codant pour SOD1 (A), SOD2 (B) et SOD3 (C) dans l'infundibulum de poules nourries avec un aliment riche en (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). n = 4; moyenne \pm SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

De façon surprenante, une plus grande quantité d'ARNm codant pour SOD3 a été retrouvée dans la JUV chez les femelles du traitement LOYSe vs les traitements LOSSe et LOSYSe (effet traitement : P=0,0026). La transcription des gènes codant pour les différentes isoformes de SOD n'est pas affectée par l'âge dans les tissus testés, excepté pour SOD1 dans la JUV où une baisse de transcription est observée (P=0,02). Il semble donc que la transcription des SODs soit peu affectée par nos conditions expérimentales.

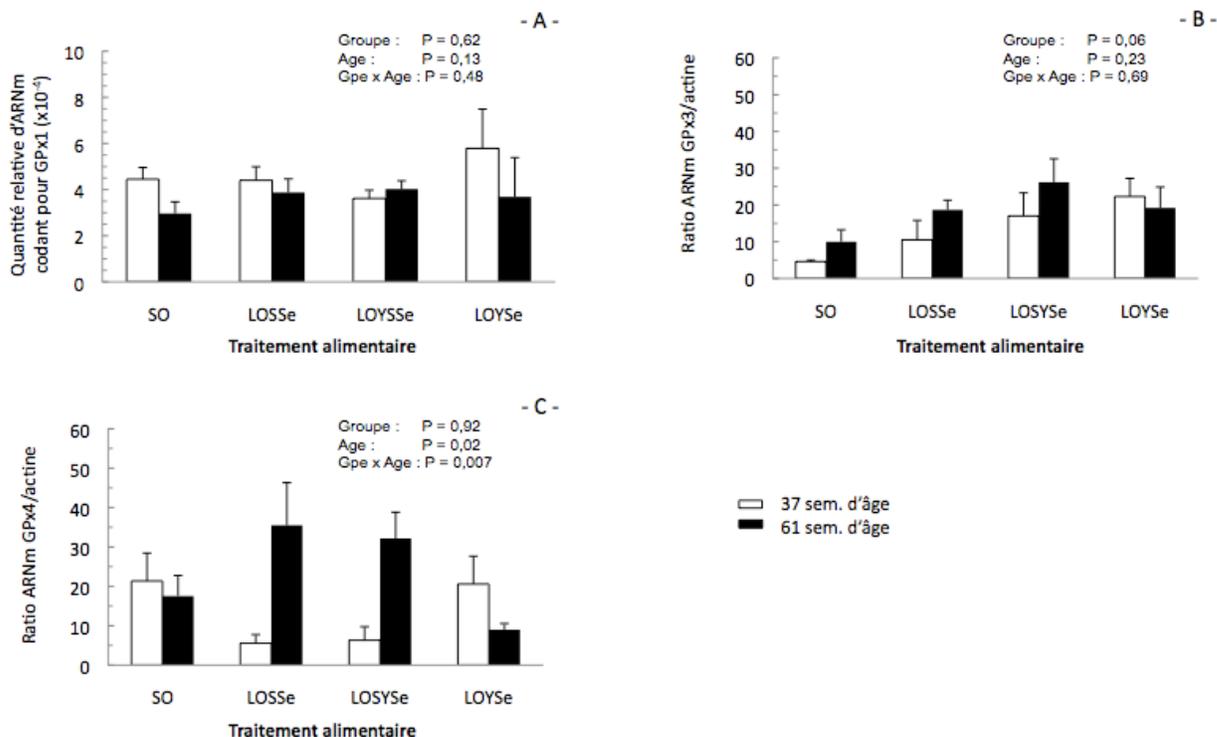


Fig.14 : Niveaux d'ARNm codant pour SOD1 (A), SOD2 (B) et SOD3 (C) dans la jonction utéro-vaginale de poules nourries avec un aliment riche en (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). n = 4; moyenne \pm SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

De façon surprenante, un effet positif du YSe a été mis en évidence sur la chute d'activité âge-dépendante des SOD Cu,Zn- dépendante (SOD1 + SOD3) dans le vagin, celle-ci restant stable pour le traitement LOYSe contrairement à LOSSe (contraste Se lin*âge : P=0,0015) (Fig. 15-C). Ce constat semble aller de pair avec l'expression protéique de SOD1 qui est plus importante pour le traitement LOYSe vs LOSSe et LOSYSe (P= 0,04 et P=0,0063) (Fig.15-A). Pour les autres tissus oviducaux testés, aucune de nos conditions n'a eu d'impact sur les niveaux et activités de SOD1 et SOD3 (Fig.16-A et C; Fig.17-A et 17-C).

L'activité de la SOD2 (Mn-dépendante) est, quant à elle, âge-dépendante tout du long du tractus oviducal. Une diminution significative de cette dernière est observée avec l'avancée en âge des femelles dans le vagin (Fig.15-E) et l'infundibulum (Fig.17-E) (P=0,0005 et P=0,001, respectivement) alors qu'une activité légèrement plus forte est retrouvée chez les femelles plus âgées au niveau de la JUV (P=0,08) (Fig.16-E). Cependant, au niveau protéique seul, un effet âge a pu être mise en évidence au niveau du vagin (P=0,009), suggérant là aussi l'existence d'une régulation post-traductionnelle pour cette enzyme (Fig. 15-D, 16-D et 17-D).

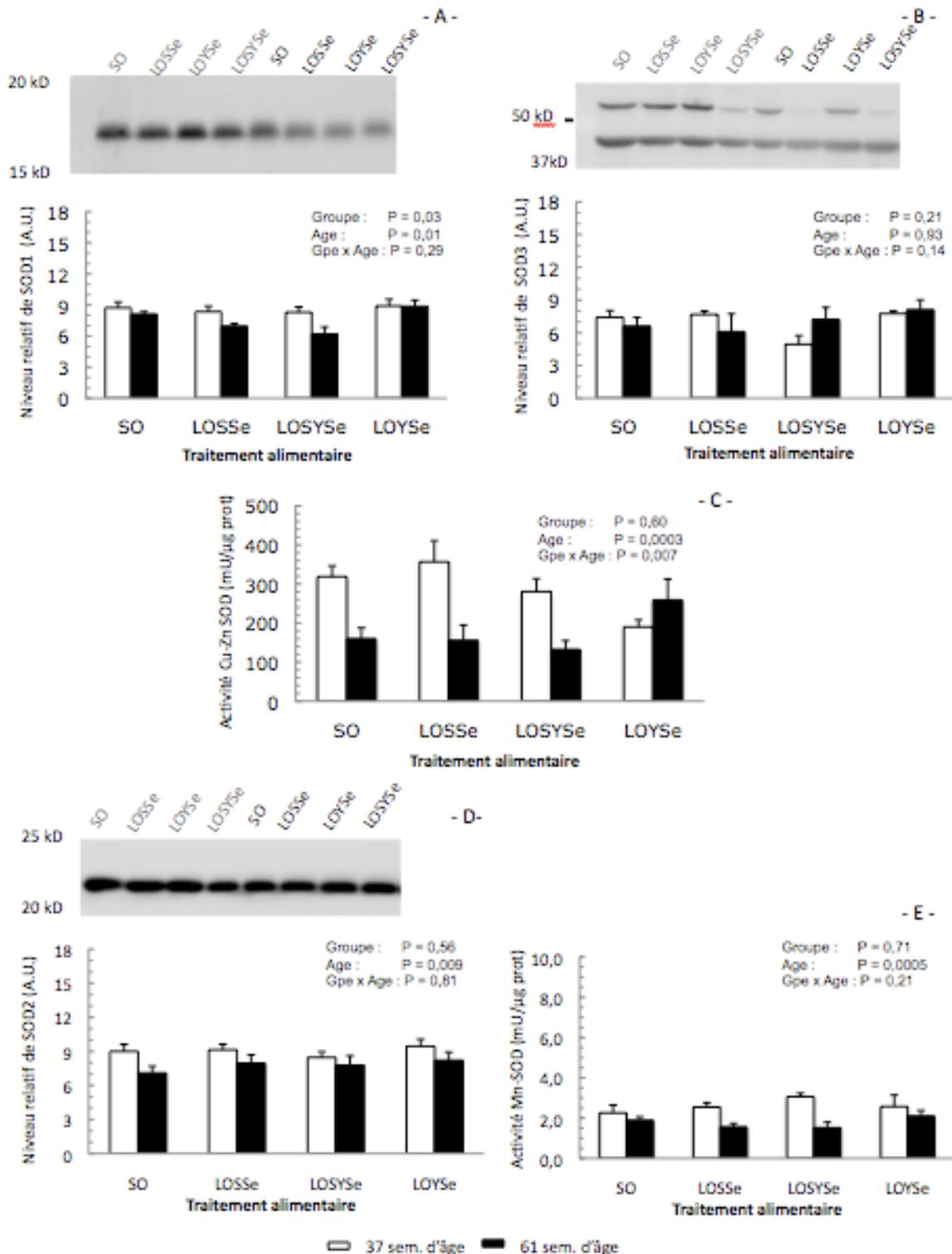


Fig.15 : Niveaux relatifs et activités des différentes isoformes de SOD dans le vagin de poules nourries avec un aliment riche en n6 (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). **A :** niveau relatif de SOD1; **B :** niveau relatif de SOD3; **C :** activité SODs Cu,Zn dépendante (SOD1+3); **D :** niveau relatif de SOD2; **E :** activité Mn-SOD dépendante (SOD2). n = 5; moyenne \pm SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

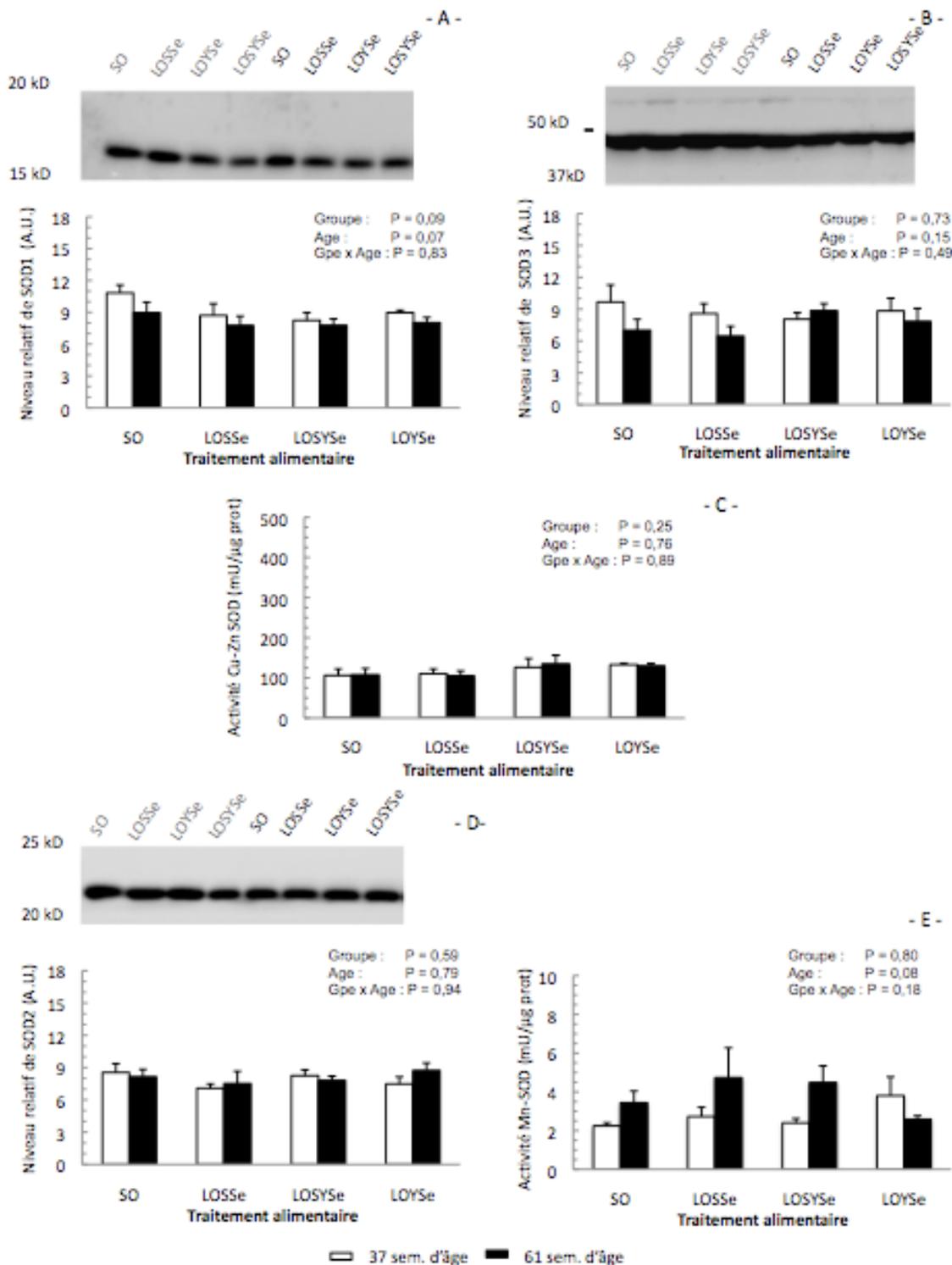


Fig.16: Niveaux relatifs et activités des différentes isoformes de SOD dans la jonction utéro-vaginale de poules nourries avec un aliment riche en n6 (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). **A** : niveau relatif de SOD1; **B** : niveau relatif de SOD3; **C** : activité SODs Cu,Zn dépendante (SOD1+3); **D** : niveau relatif de SOD2; **E** : activité Mn-SOD dépendante (SOD2). n = 5; moyenne ± SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

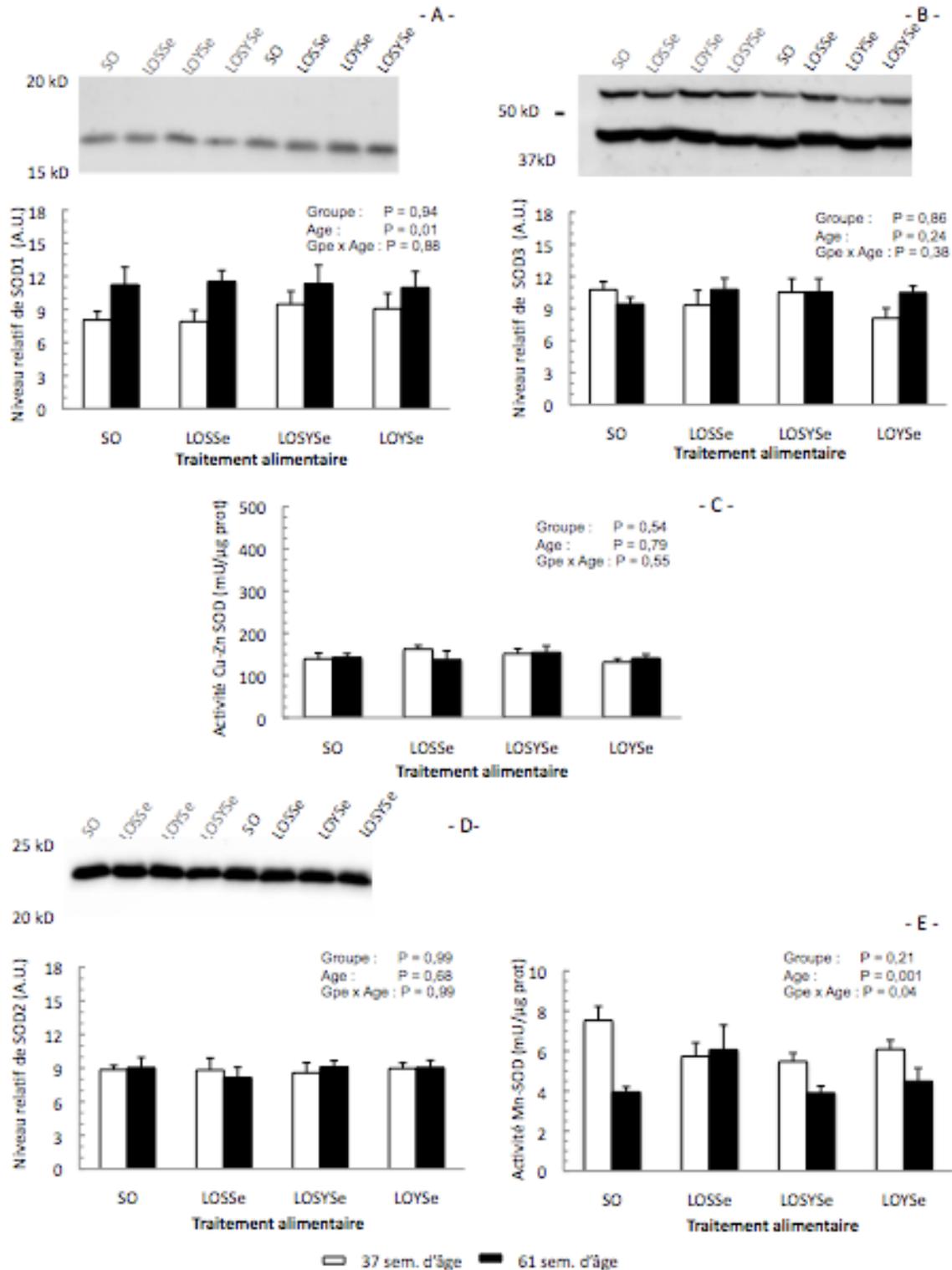


Fig.17 : Niveaux relatifs et activités des différentes isoformes de SOD dans l'infundibulum de poules nourries avec un aliment riche en n6 (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). **A :** niveau relatif de SOD1; **B :** niveau relatif de SOD3; **C :** activité SODs Cu,Zn dépendante (SOD1+3); **D :** niveau relatif de SOD2; **E :** activité Mn-SOD dépendante (SOD2). n = 5; moyenne \pm SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

B- Côté Mâle :

Glutathion peroxydases (GPxs) :

L'expression des gènes codant pour GPx 1, 3 et 4 en fonction de nos conditions expérimentales a été étudiée dans le testicule et les vas déférents (Fig.18 et Fig.19). Le remplacement du SSe par du YSe conduit à une augmentation des quantités d'ARNm testiculaires codant pour GPx1 et GPx4 (LOYSe vs LOSSe : $P=0,0094$ pour GPx1 et $P=0,003$ pour GPx4) (Fig.18-A et C). De plus, la transcription de GPx4 semble plus sensible que celle de GPx1 à la biodisponibilité du sélénium puisque cet effet positif est également observé pour le traitement LOSYSe (LOYSe vs LOSSe; $P=0,01$). A l'opposé, aucun effet sur les transcrits de GPx3 n'a été montré (Fig.18-B).

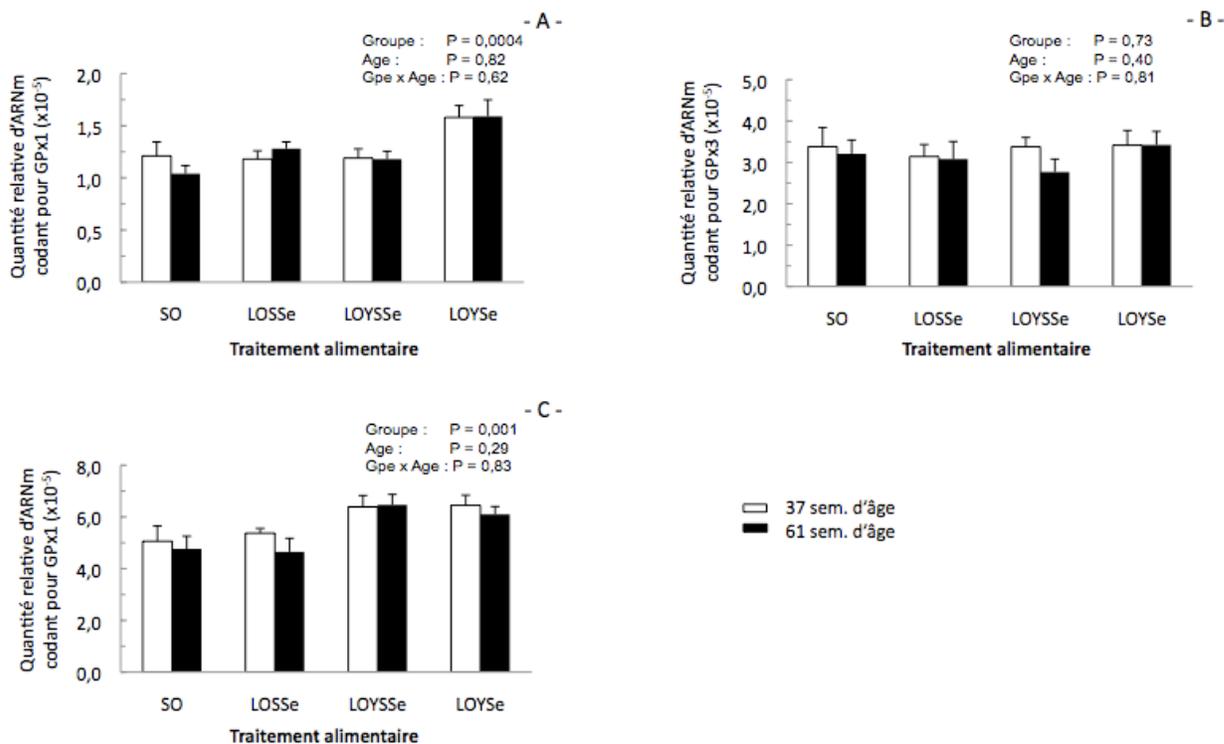


Fig.18: Niveaux d'ARNm codant pour GPx1 (A), GPx3 (B) et GPx4 (C) dans l'infundibulum de poules nourries avec un aliment riche en (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). $n = 4$ moyenne \pm SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

Contrairement au testicule, l'expression des différentes isoformes de GPx étudiées dans les vas déférents n'est pas affecté par nos régimes expérimentaux (Fig.19). Par contre, une plus forte quantité d'ARNm codant pour GPx1 a été retrouvée chez les coqs âgés de 61 semaines (phase 2; $P=0,021$) (Fig.19-A), tandis que la quantité de transcrite de GPx3 est légèrement plus faible ($P=0,07$) (Fig.19-C).

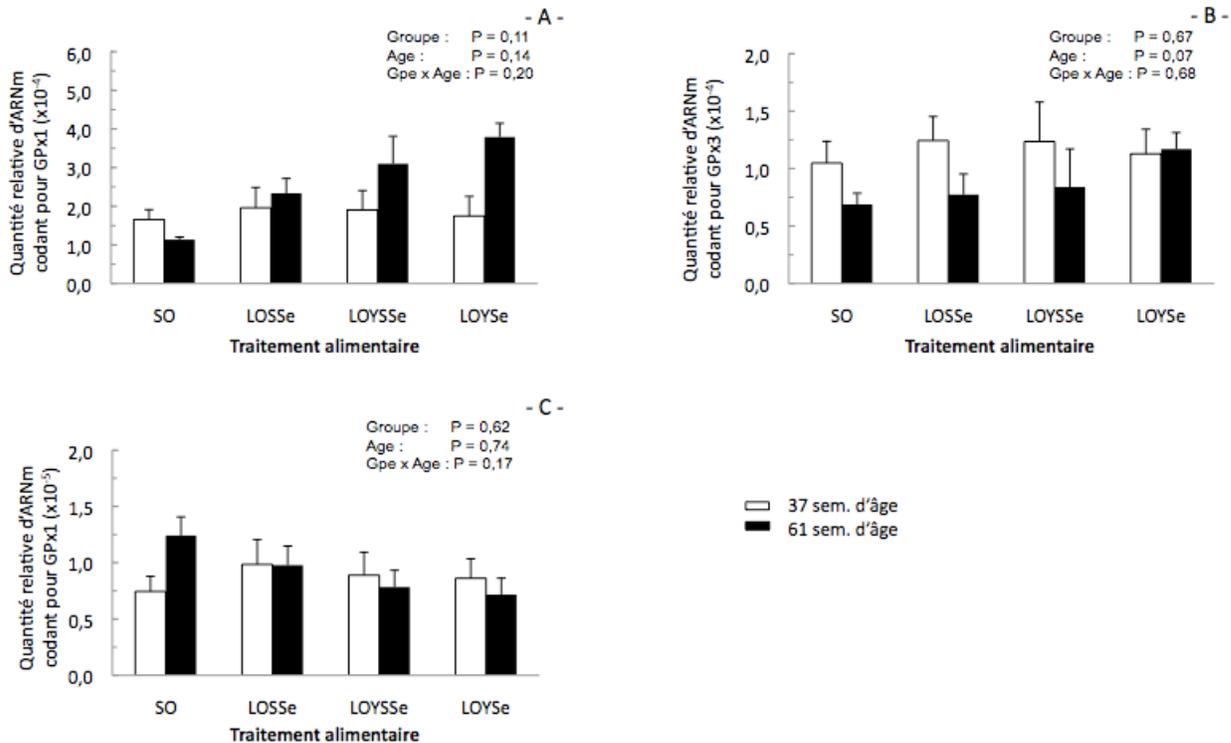


Fig.19: Niveaux d'ARNm codant pour GPx1 (A), GPx3 (B) et GPx4 (C) dans l'infundibulum de poules nourries avec un aliment riche en (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). n = 4 moyenne \pm SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

Les activités GPx séléno-dépendantes mesurées dans le testicule confirment les profils d'expression observés. Indépendamment de l'âge, le traitement LOYSe possède une plus forte activité séléno-dépendante comparé au traitement LO ($P=0,04$) (Fig. 20-B), suggérant une meilleure protection du tissu contre les peroxydations lipidiques. À l'inverse, les variations d'expression observées dans les vas déferents ne se reflètent pas dans nos mesures d'activité séléno-dépendante puisqu'aucun effet de l'âge n'a été mis en évidence (Fig. 21-B). De plus, on observe une légère augmentation de cette dernière en présence de YSe (LOYSe vs LOSSe : $P=0,0975$).

L'activité GPx séléno-indépendante testiculaire reste relativement stable en fonction de nos conditions (Fig.20-A), tandis que dans les vas déferents, l'incorporation d'n-3 dans l'aliment des mâles conduit à une augmentation de celle-ci indépendamment de l'âge des coqs (contraste huile : $P=0,04$) (Fig.21-A).

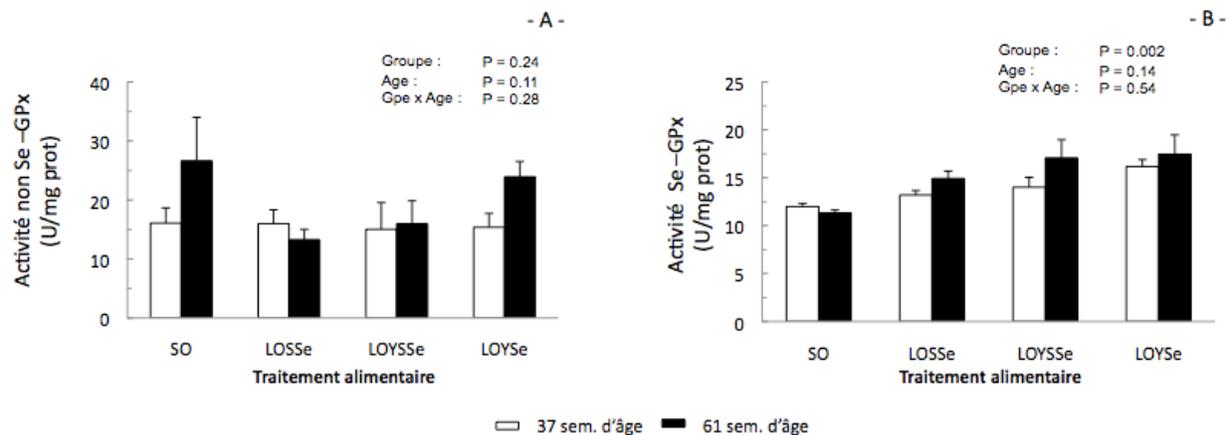


Fig.20 : Activité glutathion peroxydase sélénio (B) et non-sélénio dépendante (A) dans les tissus testiculaires de coqs nourris avec un aliment riche en n6 (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). n = 5; moyenne ± SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

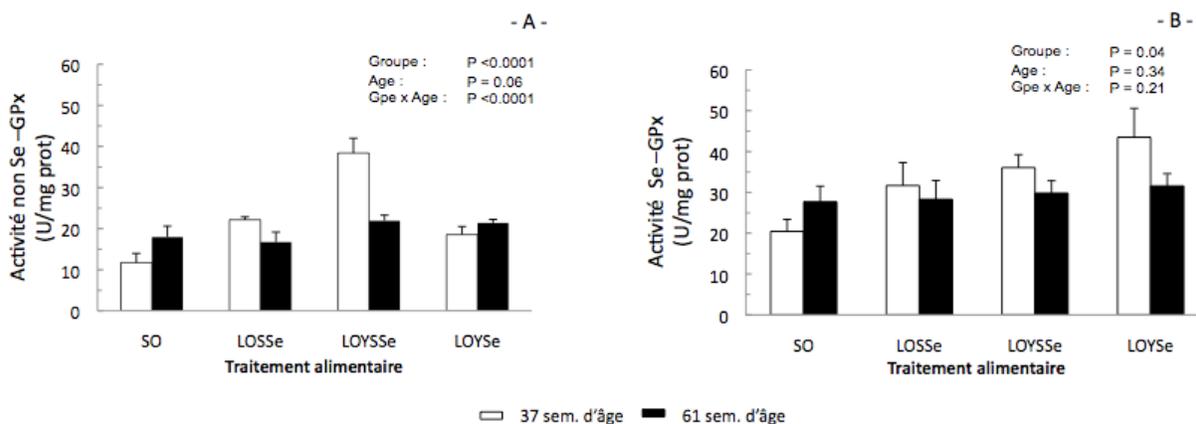


Fig.21 : Activité glutathion peroxydase sélénio (B) et non-sélénio dépendante (A) dans les vas déférents de coqs nourris avec un aliment riche en n6 (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). n = 5; moyenne ± SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

Superoxyde Dismutases (SODs) :

Contrairement aux tissus femelles, l'expression des gènes codant pour les différentes SODs semble plus stable dans les tissus reproducteurs mâles (Fig.22 et 23). Seule la quantité d'ARNm testiculaire codant pour SOD1 est affectée par nos conditions expérimentales : à 37 semaines d'âge (phase 1), elle augmente en réponse à la présence de YSe dans les régimes alors que l'effet inverse est observé à 61 semaines (phase 2 ; contraste : source sélénium linéaire x âge, P=0,0068) (Fig.22-A).

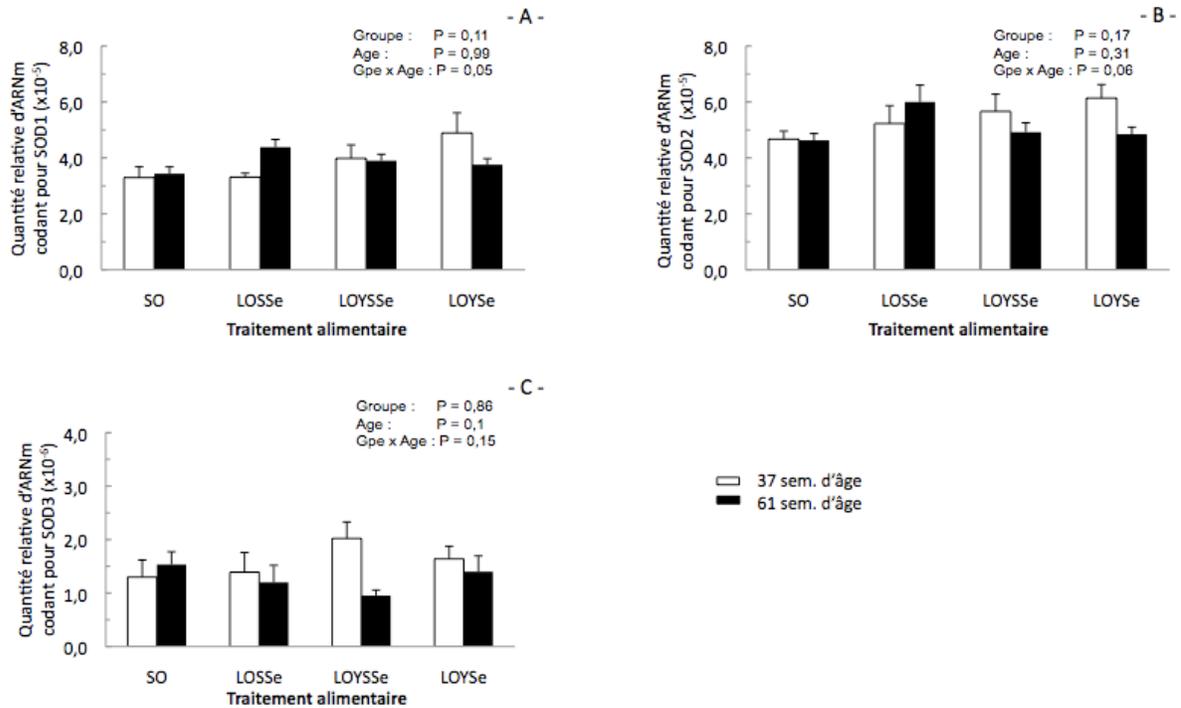


Fig.22 : Niveaux d'ARNm codant pour SOD1 (A), SOD2 (B) et SOD3 (C) dans les tissus testiculaires de coqs nourris avec un aliment riche en (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). n = 4; moyenne \pm SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

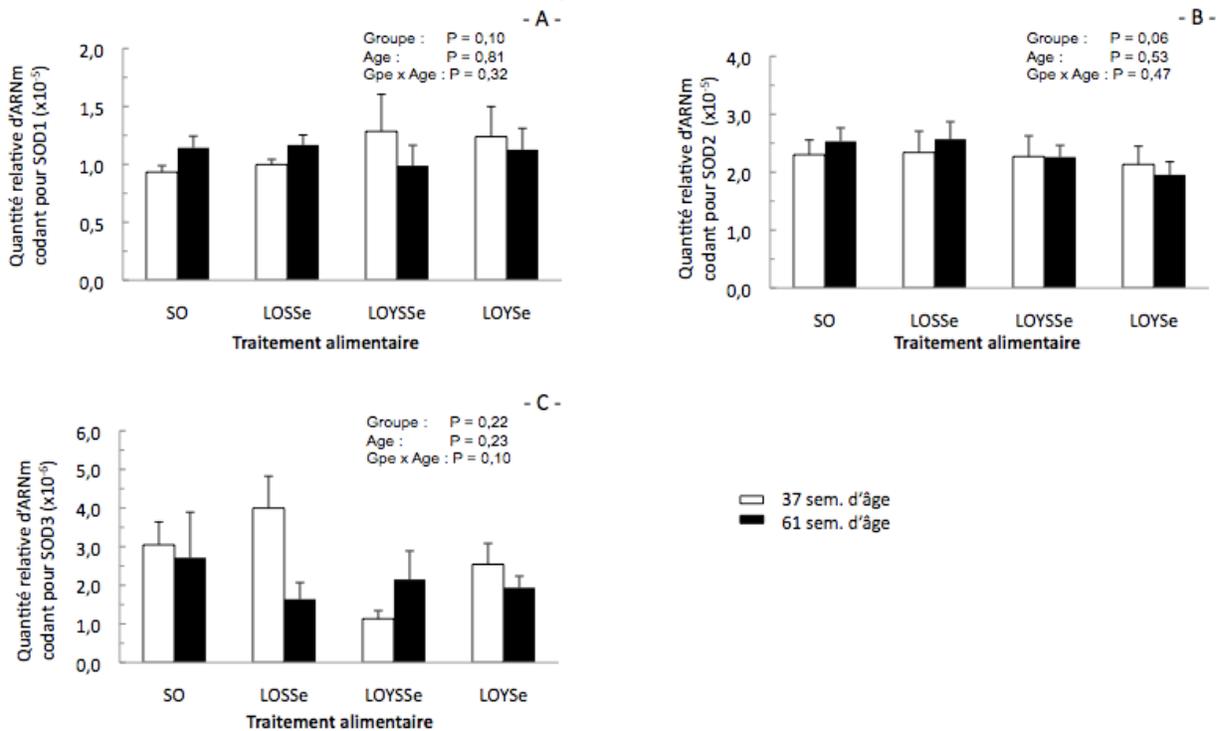


Fig.23 : Niveaux d'ARNm codant pour SOD1 (A), SOD2 (B) et SOD3 (C) dans les tissus testiculaires de coqs nourris avec un aliment riche en (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). n = 4; moyenne \pm SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

Bien qu'aucune variation de l'expression protéique de SOD3 n'ait pu être mesurée dans le testicule (Fig.24-B), un effet négatif de l'âge a été observé sur les quantités de SOD1 (Cu,Zn-dépendante, $P=0,001$) (Fig.24-A) et SOD2 (Mn-dépendante, $P=0,02$) (Fig.24-D). Nos mesures d'activités viennent confirmer les résultats obtenus en immunobuvardage, les activités retrouvées dans le testicule étant significativement plus faibles chez les coqs plus âgés ($P=0,026$ pour activité Cu,Zn -dépendante de SOD1 + SOD3 et $P=0,0004$ pour l'activité Mn-dépendante de SOD2) (Fig.24-C et E).

Comme pour le testicule, l'activité Mn-dépendante (SOD2) est négativement affecté par l'âge dans les vas déférents (Fig.25-E). A l'inverse, une plus grande quantité de protéine a été détectée dans ce tissu chez les coqs de la phase 2 (Fig.25-D). Donc, toutes les protéines présentes ne semblent pas actives. De plus, contre tout attente, les coqs du traitement SO possèdent une plus grande quantité de SOD2 que ceux du traitement LOSSe ($P=0,025$). L'activité Cu,Zn-dépendante (de SOD1 + SOD3), tout comme la quantité de SOD1 et SOD3, reste globalement stable avec l'avancée en âge des mâles dans la saison de reproduction (Fig.25-A, 25-B et 25-C).

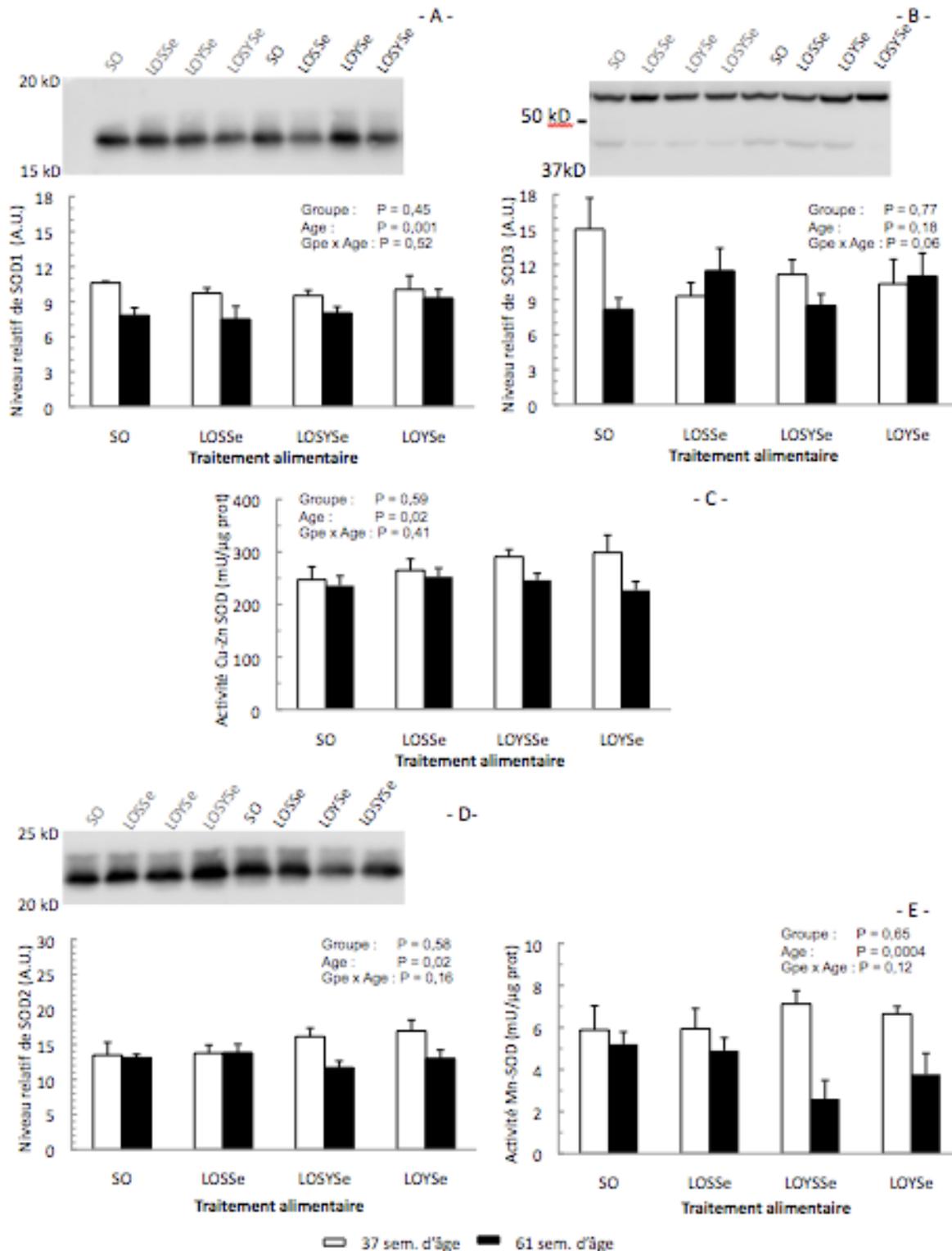


Fig.24 : Niveaux relatifs et activités des différentes isoformes de SOD dans le tissu testiculaire de coqs nourris avec un aliment riche en n6 (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). **A** : niveau relatif de SOD1; **B** : niveau relatif de SOD3; **C** : activité SODs Cu,Zn dépendante (SOD1+3); **D** : niveau relatif de SOD2; **E** : activité Mn-SOD dépendante (SOD2). n = 5; moyenne \pm SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

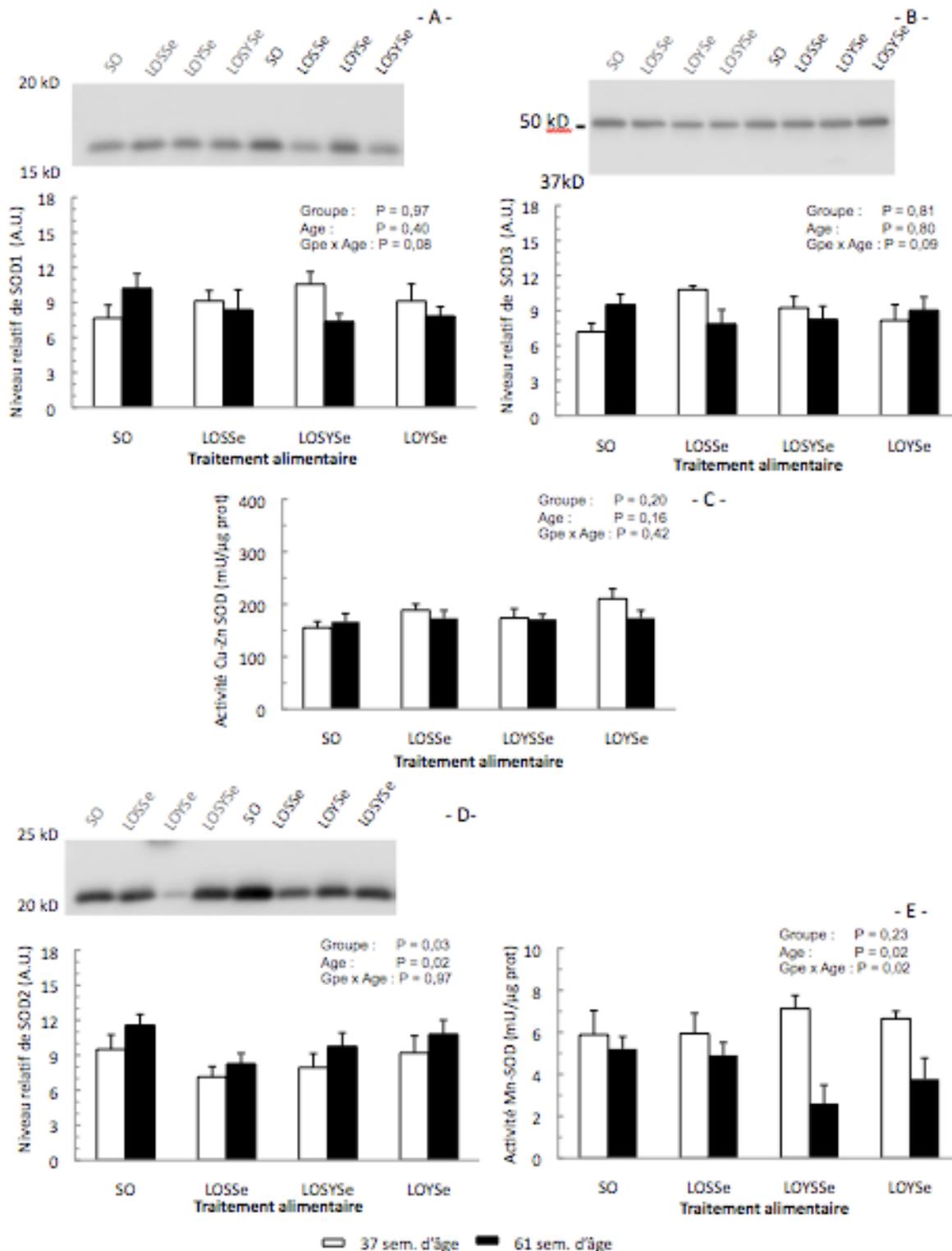


Fig.25 : Niveaux relatifs et activités des différentes isoformes de SOD dans les vas déférents de coqs nourris avec un aliment riche en n6 (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) à deux âges de la saison de reproduction (37 et 61 semaines). **A** : niveau relatif de SOD1; **B** : niveau relatif de SOD3; **C** : activité SODs Cu,Zn dépendante (SOD1+3); **D** : niveau relatif de SOD2; **E** : activité Mn-SOD dépendante (SOD2). n = 5; moyenne \pm SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

2.1.2 Étude 2: Évaluer l'impact des régimes alimentaires parentaux testés sur la qualité du jaune d'œuf et le bon développement embryonnaire du poussin.

2.1.2.1. Objectif 5: Caractériser la composition lipidique du jaune d'œuf en fonction du régime alimentaire des femelles.

L'évaluation de la composition lipidique de jaunes d'œufs a été réalisée sur un échantillonnage aléatoire d'œuf provenant de chaque parquet à 2, 4, 8 et 12-16 semaines post changement alimentaire.

Comme attendu, les femelles ont bien intégré les AGPI n-3 provenant de leur alimentation dans leurs jaunes d'œufs puisqu'une diminution significative des ratios n-6/n-3 a été observée dans tous les traitements LO et ce, quelque soit l'âge du troupeau. Ce changement apparaît dès les deux premières semaines d'alimentation. Le remplacement des AGPI n-6 par les n-3 est cependant plus marqué pour les œufs provenant du jeune troupeau, suggérant une plus grande résistance chez les femelles âgées à synthétiser des n-3 à longues chaînes à partir de leur précurseur. La source de sélénium incorporé dans l'aliment des femelles ne semble pas avoir d'influence sur la composition lipidique du jaune d'œuf.

Quelque soit la période de prélèvement considérée, des quantités significativement plus élevées ont été mesurées pour les acides gras C20:5, C22:5 et C22:6 n-3 dans le jaune d'œuf provenant des parquets nourris avec les aliments contenant de LO (LOSSe, LOSYSe et LOYSe). ***L'acide éicosapentaénoïque (EPA; C20:5 n-3) et docosahexaénoïque (DHA; C22:6 n-3) sont connus pour jouer un rôle très important dans le bon développement du cerveau et du cœur. Leur forte présence dans le jaune d'œuf des femelles des traitements LOSSE, LOSYSe et LOYSe ne peut donc qu'être bénéfique au bon développement embryonnaire des futurs poussins. Ce résultat pourrait en partie expliquer les taux d'éclosions légèrement supérieur observés pour ces traitements en fin de période de reproduction.***

2.1.2.2. Objectif 6 Caractériser l'impact du régime alimentaire maternel sur le métabolisme lipidique du poussin à l'éclosion (analyse lipidique en HPLC).

L'étude 3 n'ayant pas donné les résultats escomptés (cf. plus bas **Etude 3**), nous avons décidé de compléter nos données par des analyses des profils lipidiques et antioxydants dans le foie, le cerveau et les muscles de la pâte des poussins nouvellement éclos.

Globalement, le profil lipidique des tissus analysés reflète la composition du jaune d'œuf que ce soit pour les poussins provenant du jeune (phase 1) ou du plus vieux (phase 2) troupeau. ***Quelque soit le tissu considéré un plus grand pourcentage de n-3 a été retrouvé au détriment des n-6 chez les poussins provenant des parents nourris avec un aliment enrichi en LO*** : les ratios n-6/n-3 étant significativement diminués dans le foie et le muscle ($P < 0,0001$) alors que dans le cerveau il est augmenté (cerveau plus riche en n3 qu'en n6 ; $P < 0,0001$). Les proportions de C20:5, C22:5 et C22:6 suivent également le même patron, ces derniers étant plus abondants dans les poussins issus des traitements LO.

De plus, ***la présence de sélénium organique dans les rations parentales a permis d'augmenter significativement le pourcentage de n-3 dans le cerveau et le muscle.*** L'implication du sélénium dans le métabolisme lipidique de ces tissus reste encore à élucider.

2.1.2.3. Objectif 6bis : Profil en antioxydant des tissus des poussins nouvellement éclos.

A l'instar des tissus parentaux, des mesures d'activité enzymatique et d'expression protéique ont été également réalisées sur 3 des tissus de leurs descendants.

Là encore, nous sommes à notre connaissance, les seuls à avoir identifier 3 isoformes de SOD chez les poussins. Les activités SOD1 + SOD3 ou SOD2 (Cu, Zn-dépendante ou Mn-dépendante, respectivement) mesurées dans le foie et le cerveau des poussins ne sont pas affectés par nos traitements ni par l'âge des parents (Fig.26 et Fig.27). Cependant, un effet huile a été mis en évidence au niveau du muscle ($P=0,04$), les poussins issus du traitement SO présentant une plus forte activité Cu,Zn-dépendante (SOD1 + SOD3) (Fig.28). De plus, les activités mesurées reflètent l'expression protéique dans tous les tissus testés.

Bien que l'activité GPx ne soit pas affecté dans le foie ou le muscle en réponse aux traitements parentaux, un effet bénéfique de l'incorporation de sélénium sur l'activité sélénio-dépendante dans le cerveau a été mis en évidence ($P=0,05$ pour LOYSe vs LOSSe et $P=0,04$ pour LOSYSe vs LOSSe) (Fig.29). Ce résultat confirme qu'il existe une régulation tissus-spécifique des GPx, chaque tissu priorisant certaines formes par rapport à d'autres en fonction de la disponibilité du sélénium et de leur propre rôle dans l'organisme.

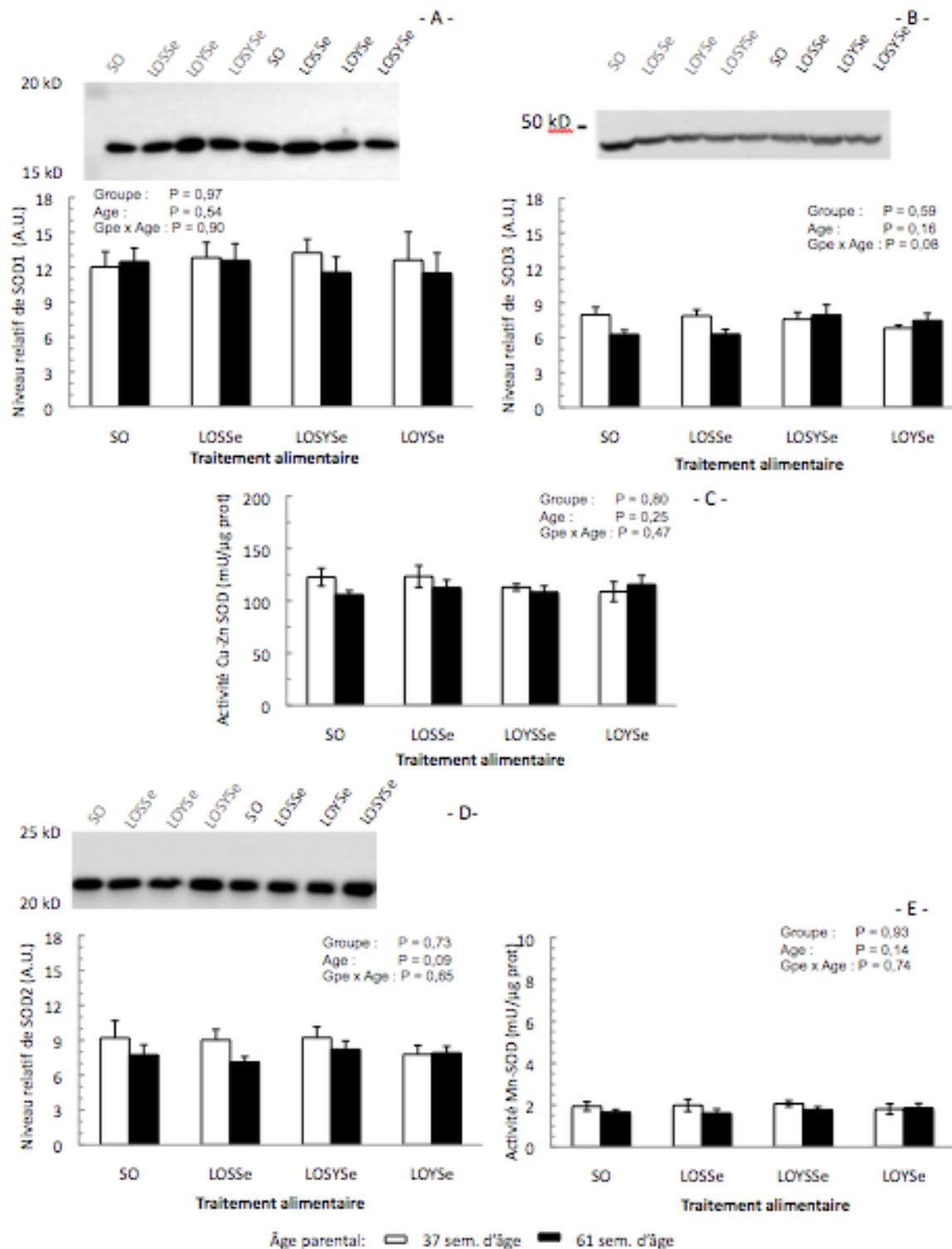


Fig.26 : Niveaux relatifs et activités des différentes isoformes de SOD dans le cerveau de poussins nouveaux nés issus de parents âgés de 37 et 61 semaines et nourris avec un aliment riche en n6 (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte). **A** : niveau relatif de SOD1; **B** : niveau relatif de SOD3; **C** : activité SODs Cu,Zn dépendante (SOD1+3); **D** : niveau relatif de SOD2; **E** : activité Mn-SOD dépendante (SOD2). n = 5; moyenne ± SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

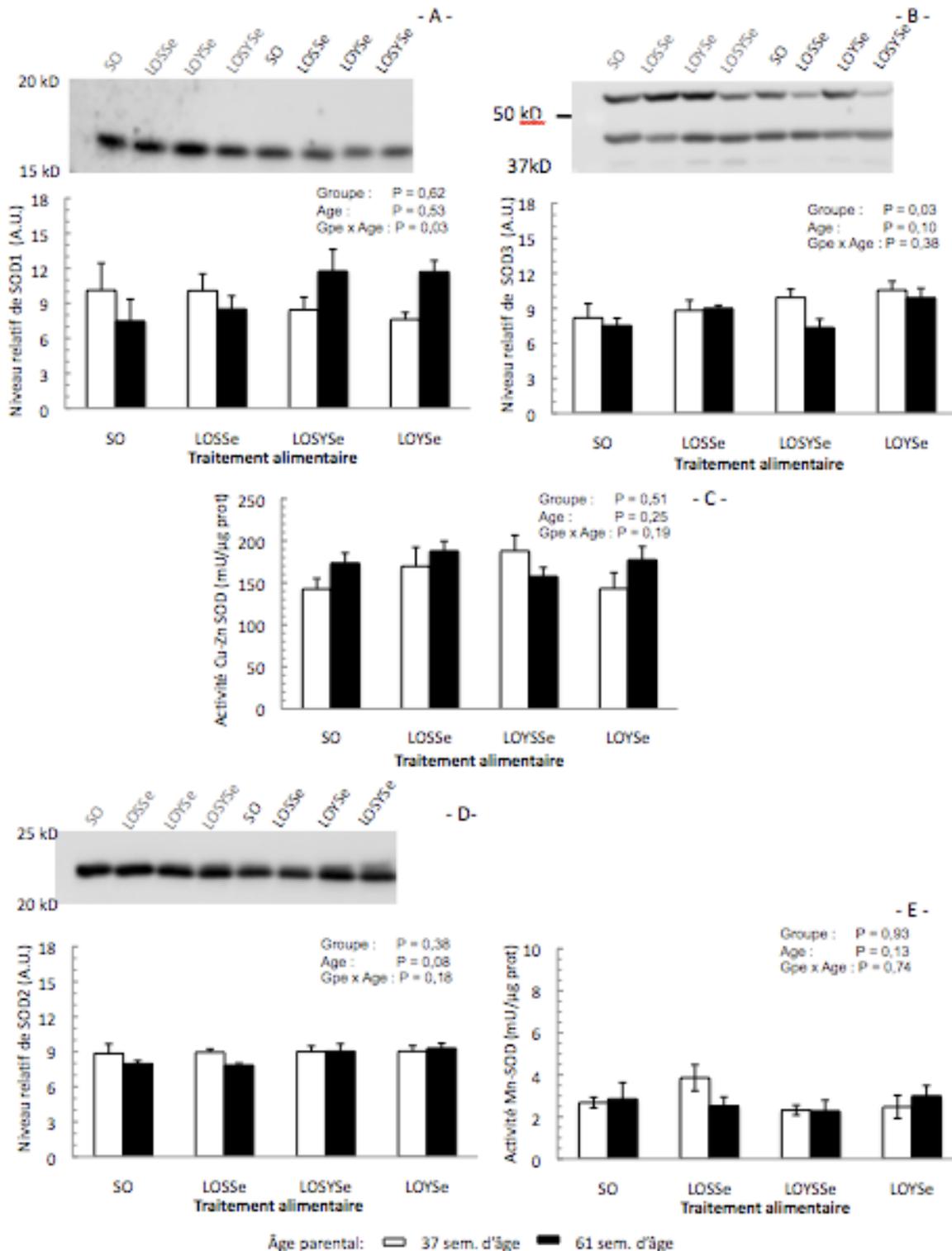


Fig.27: Niveaux relatifs et activités des différentes isoformes de SOD dans le foie de poussins nouveaux nés issus de parents âgés de 37 et 61 semaines et nourris avec un aliment riche en n6 (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte). **A :** niveau relatif de SOD1; **B :** niveau relatif de SOD3; **C :** activité SODs Cu,Zn dépendante (SOD1+3); **D :** niveau relatif de SOD2; **E :** activité Mn-SOD dépendante (SOD2). n = 5; moyenne \pm SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

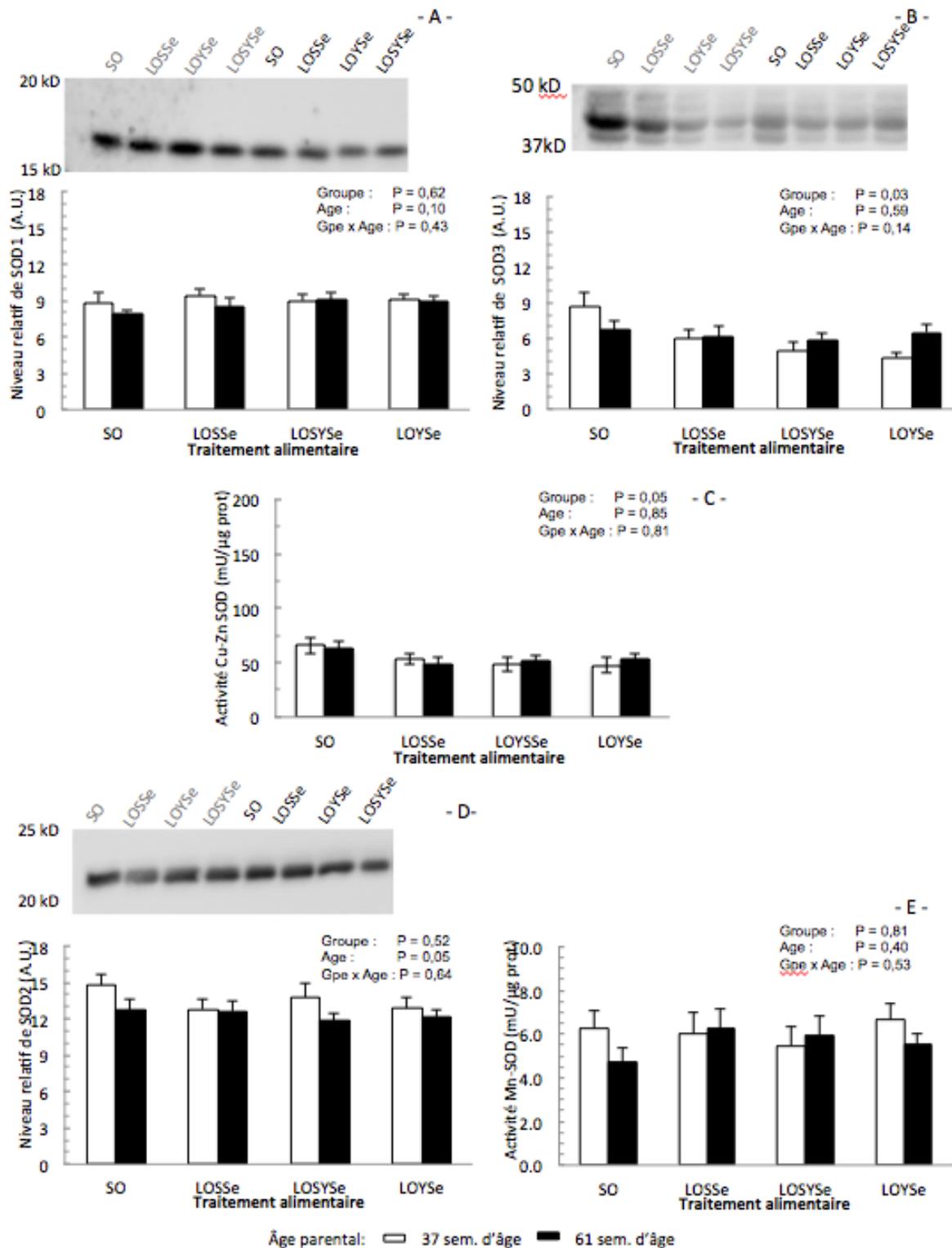


Fig.28 : Niveaux relatifs et activités des différentes isoformes de SOD dans le cerveau de poussins nouveaux nés issus de parents âgés de 37 et 61 semaines et nourris avec un aliment riche en n6 (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte). **A :** niveau relatif de SOD1; **B :** niveau relatif de SOD3; **C :** activité SODs Cu,Zn dépendante (SOD1+3); **D :** niveau relatif de SOD2; **E :** activité Mn-SOD dépendante (SOD2). n = 5; moyenne \pm SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

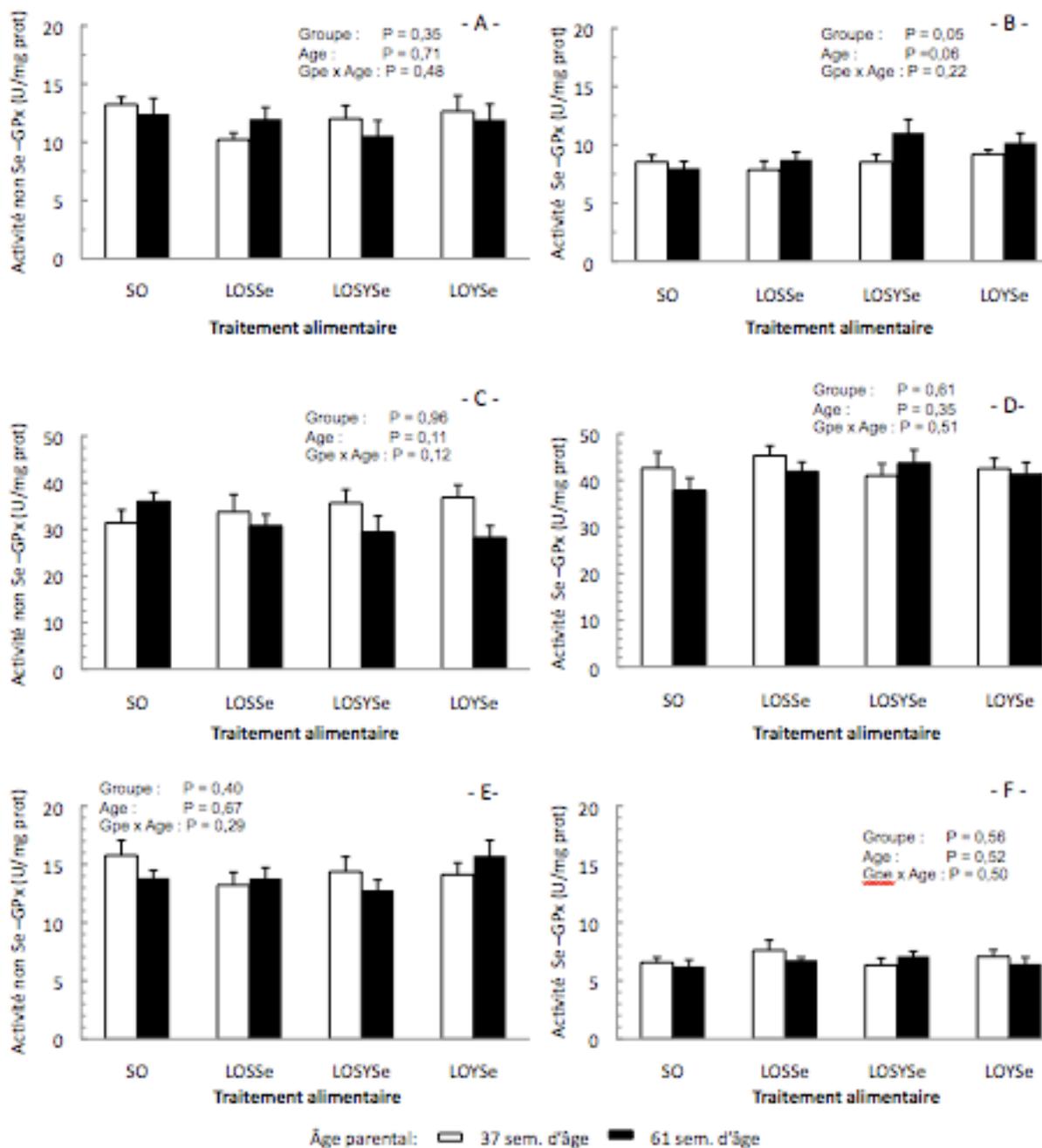


Fig.29: Activité glutathion peroxydase sélénio (**B, D, F**) et non-sélénio dépendante (**A, C, E**) dans différents organes de poussins nouveaux nés issus de parents âgés de 37 et 61 semaines et nourris avec un aliment riche en n6 (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte). **A et B** : Cerveau; **C et D** : Foie; **E et F** : Muscle de la patte. n = 5; moyenne \pm SD. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de PROC MIXED suivi de contrastes *a priori* le cas échéant.

2.1.3 Étude 3 : Survie et Santé des Descendants

Quelque soit l'âge des reproducteurs, les traitements alimentaires testés n'influencent pas de façon marquante le poids des poussins à la naissance. Pour les reproducteurs les plus jeunes, l'alimentation à base d'huile de lin a cependant permis d'obtenir des poussins légèrement plus lourds. Ce constat n'est pas applicable au troupeau plus âgé. Les gains de poids pour les poussins des phases 1 et 2 sont également comparables chez les mâles et les femelles (Tableau 5).

Tableau 8 : Poids des poussins à l'éclosion et gain de poids après 42j d'élevage en fonction du sexe, des régimes alimentaires parentaux et de l'âge des reproducteurs. Données présentées sous forme de moyenne \pm SEM.

| Âge Parents | Traitement | n | | Poids du poussin ¹ (g) | | Gain de poids ² (g) | |
|-----------------------|--------------------|----|----|-----------------------------------|----------------|--------------------------------|---------------|
| | | F | M | F | M | F | M |
| 32-36 sem (phase1) | SO | 43 | 47 | 39.9 \pm 0.5 | 41.2 \pm 0.5 | 2922 \pm 60 | 3562 \pm 34 |
| | LOSe | 42 | 46 | 43.1 \pm 0.6 | 43.8 \pm 0.5 | 2887 \pm 34 | 3431 \pm 46 |
| | LOSYS _e | 48 | 45 | 41.2 \pm 0.6 | 41.9 \pm 0.3 | 2878 \pm 42 | 3430 \pm 38 |
| | LOYS _e | 48 | 48 | 42.0 \pm 0.5 | 43.0 \pm 0.3 | 2816 \pm 50 | 3567 \pm 40 |
| 52-61sem (phase 2) | SO | 56 | 36 | 49.5 \pm 0.5 | 49.7 \pm 0.8 | 3096 \pm 44 | 3680 \pm 41 |
| | LOSe | 55 | 38 | 47.8 \pm 0.6 | 49.3 \pm 0.8 | 3025 \pm 38 | 3651 \pm 30 |
| | LOSYS _e | 53 | 44 | 49.4 \pm 0.6 | 49.2 \pm 0.6 | 3085 \pm 28 | 3678 \pm 44 |
| | LOYS _e | 48 | 42 | 48.1 \pm 0.6 | 48.2 \pm 0.6 | 2988 \pm 34 | 3711 \pm 42 |

¹poids moyen des poussins à l'éclosion. Initialement 100 oiseaux au total par groupe (2 réplicats de 50) – animaux morts en cours d'élevage.

²Gain de poids = poids à J42- poids à J6 (pour la phase 1 : poussins n'ont été bagués pour le premier réplica qu'à 6 jours de vie)
Gain de poids = poids à J42- poids à J0 (pour la phase 2).

Les poussins des parents nourris avec de l'huile de lin semblent bénéficier d'une teneur légèrement plus forte en anticorps maternels puisque les taux d'anticorps retrouvés dans le jaune d'œuf sont légèrement plus élevés pour LOSS_e, LOSYS_e et LOYS_e. Cependant, les concentrations en anticorps maternels évoluent de façon similaire à partir de J1 (Fig.30).

Les poussins ont été vaccinés par voie orale à 14J de vie avec un vaccin à virus vivants atténués contenant des souches intermédiaires du virus de la maladie de Gumboro. Cependant nous n'avons pas pu observer de séroconversion. Il semble donc que les animaux aient été vaccinés trop tôt, leur titre d'anticorps maternels étant à ce stade encore trop élevé pour que le poussin ait besoin de synthétiser ses propres anticorps. Les résultats de la phase 2 semblent suivre la même tendance malgré une vaccination effectuée avec de plus fortes doses.

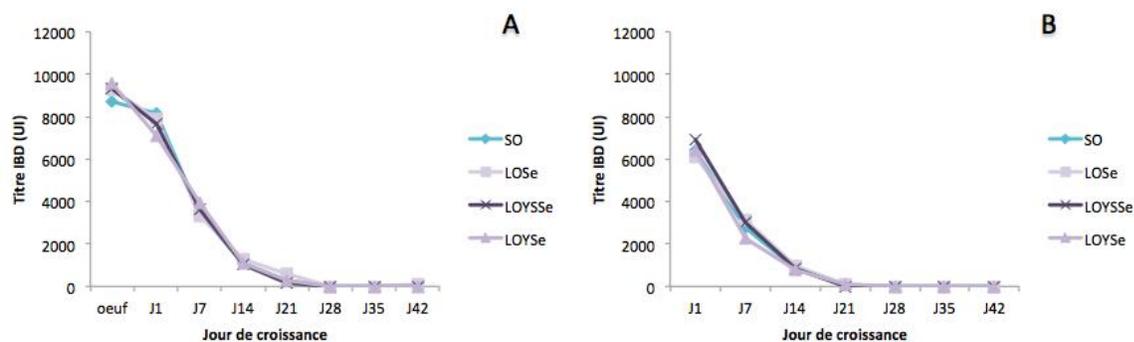


Fig.30: Évolution de la teneur en anticorps maternel dans le sérum des poussins issus de troupeaux nourris avec un aliment riche en n6 (SO) ou n3 (LO) et différentes sources de sélénium (inorganique, organique ou mixte) au pic (phase1; A) et en fin de saison de reproduction (phase 2; B). Données présentées sous forme de moyenne (n= 6 pour Œuf, n=30 pour J1 et n= 16 pour les autres prélèvements).

2.2 Diffusion des résultats

Remplir le tableau de la page suivante.

Décrire :

- les activités prévues telles que planifiées à l'Annexe A de la convention de contribution financière;
- les activités réalisées;
- les dates des activités;
- nombre de personnes rejointes.

De plus,

- annexer les communiqués de presse ou autres documents remis lors de conférences de presse ou autres événements officiels;
- ajouter des copies des articles de journaux ou de revues qui ont été publiés;
- inclure une copie des programmes des activités où les résultats ont été diffusés (ex. : colloques ou conférences) ou tout autre document de diffusion

Site online correspondant au colloque et congrès :

RQR 2011 : <http://www.rqr.umontreal.ca/index.php/fr/ssymposium/symposium-2011-du-rqr>

RQR 2012 : <http://www.rqr.umontreal.ca/index.php/fr/ssymposium/symposium2012>

XXIV World's Poultry congress 2012 : <http://www.facta.org.br/wpc2012-cd/welcome/>

SSR 2013: <http://www.ssr.org/13Meeting.shtml>

DIFFUSION DES RÉSULTATS

Supprimer ou ajouter les activités qui s'appliquent à **votre projet** et remplir les colonnes suivantes.
Annexer au rapport les documents de diffusion produits.

| Activités prévues de l'ANNEXE A | Activités réalisées | Description (Thème, titre, endroit, etc.) | Date de réalisation | Nombre de personnes rejointes | Visibilité accordée au CDAQ et à AAC (logo, mention) |
|---|---------------------|---|---------------------|-------------------------------|---|
| Article dans les journaux Article dans revues spécialisées Article dans revues régionales Article scientifique Feuilleton, brochure | | En préparation | | | |
| Colloque Présentation Conférence Forum Stand | Colloque | Salmon V., Brèque C., Chu T.K.O., Bailey J.L. 2011 . Effet d'un régime alimentaire enrichi en sélénium (Se) sur l'expression de glutathion peroxydase (GSH-Px) chez les descendants des reproducteurs de poulet de chair. In : Journée du Centre de Recherche en Biologie de la Reproduction. Québec, Québec, Canada | 24 Mars 2011 | 60 | LOGO sur poster |
| Colloque Présentation Conférence Forum Stand | Colloque | Salmon V., Brèque C., Chu T.K.O., Lessard C., Lefrançois M.R. Venne D., Bailey J.L. 2011 . L'expression de GPX3, GPX4 et SOD2 chez le poussin à l'éclosion suite à un régime parental supplémenté en acides gras et en sélénium. In : 4 ^{ème} Symposium annuel du Réseau Québécois en Reproduction, Montréal, Québec, Canada. | 15-16 Nov 2011 | 220 | LOGO sur poster |

| Activités prévues de l'ANNEXE A | Activités réalisées | Description (Thème, titre, endroit, etc.) | Date de réalisation | Nombre de personnes rejointes | Visibilité accordée au CDAQ et à AAC (logo, mention) |
|--|---|--|----------------------|-------------------------------|---|
| Colloque Présentation Conférence Forum Stand | Colloque | Chu T.K.O., Brèque C., Lessard C., Venne D., Lefrançois, M.R., Bailey J.L. 2011 . Oméga-3, sélénium et paramètres de fertilité. In : 4 ^{ème} Symposium annuel du Réseau Québécois en Reproduction, Montréal, Québec, Canada. | 15-16 Nov 2011 | 220 | LOGO sur poster |
| Colloque Présentation Conférence Forum Stand | Résumé projet pour bulletin annuel du CRSAD | Brèque C., Chu T.K.O., Venne D., Lefrançois M.R., Bailey J.L. Optimisation de la fertilité et de la survie des poussins des reproducteurs de poulets de chair par un régime végétal. | Avril 2010 | 50 | mention |
| Colloque Présentation Conférence Forum Stand | Congrès international | Brèque C., Chu T.K.O., Venne D., Lefrançois M.R., Bailey J.L. 2012 . Selenium sources and n-3 polyunsaturated fatty acids influence antioxidant gene expression in sperm storage tubules (SST) of hens. In : 24th World's Poultry Congress, Salvador, Bahia, Brasil. 2012pc640. | 5-9 Août 2012 | 2000 | LOGO sur poster |
| Colloque Présentation Conférence Forum Stand | Colloque | Chu T.K.O., Brèque C., Lessard C., Venne D., Lefrançois, M.R., Bailey J.L. 2012 . Oméga-3, sélénium et activité des enzymes antioxydantes dans la semence de poulet. In : 5 ^{ème} Symposium annuel du Réseau Québécois en Reproduction, Québec, Québec, Canada. | 14-15 Nov 2012 | 217 | LOGO sur poster |
| Colloque Présentation Conférence Forum Stand | Colloque | Chu T.K.O., Brèque C., Lessard C., Venne D., Lefrançois, M.R., Bailey J.L. 2012 . Impact de l'huile de lin et du sélénium sur la qualité de la semence de poulet. In : 1 ^{re} édition de la Journée de la recherche de la FSAA, Université Laval-Québec, Québec, Canada. | 28 Nov 2012 | 250 | LOGO sur poster |

| Activités prévues de l'ANNEXE A | Activités réalisées | Description (Thème, titre, endroit, etc.) | Date de réalisation | Nombre de personnes rejointes | Visibilité accordée au CDAQ et à AAC (logo, mention) |
|--|--|---|--------------------------|-------------------------------|---|
| Colloque Présentation Conférence Forum Stand | Congrès international | Chu T.K.O., Brèque C., Lessard C., Venne D., Lefrançois, M.R., Bailey J.L. 2013 . Semen quality and antioxidant status of roosters supplemented with flaxseed oil and various forms of selenium. In: Society for the Study of Reproduction's annual meeting, Montréal, Québec, Canada. | 22-26 Juillet 2013 | | LOGO sur Poster |
| Autres | Présentation orale lors de l'Assemblée générale d'information du CRSAD | Chu T.K.O., Brèque C., Salmon V., Lessard C., Lefrançois, M.R., Venne D., Bailey J.L. 2011 . Optimisation de la fertilité et de la survie des poussins des reproducteurs de poulet de chair. Présentation orale lors de l'Assemblée générale d'information du CRSAD, Deschambault, Québec, Canada. | 2 Juin 2011 | 20-30 | Logo et Mention |

3. CONCLUSIONS

- Résumer les retombées prévues à court terme, moyen terme (à la suite du projet) et à long terme sur le secteur.
- Inscrire les recommandations découlant des résultats.
- Décrire les éléments qui assureront la pérennité du projet (collaboration, mise en œuvre et adoption par le secteur, etc.).
- Est-ce qu'il y a des suites possibles au projet?

Le défi de ce projet était d'améliorer les performances de reproduction des troupeaux de reproducteurs de poulet de chair en fin de saison de reproduction. Nous désirions aussi améliorer, via l'alimentation des parents, la santé des poussins à l'éclosion. Pour cela, nous avons incorporé dans l'aliment standard des reproducteurs de l'huile de lin riche en acides gras oméga 3 et remplacé le sélénium inorganique par sa forme organique, cette dernière étant plus assimilable par les animaux.

En conditions d'élevage classique, les mâles présents à l'origine dans le troupeau sont capables de maintenir un très bon niveau de fertilité lors de la période de ponte maximale des femelles. Cependant, la baisse très rapide des performances reproductrices d'un grand nombre de ces derniers après 40 semaines d'élevage conduit les producteurs à introduire de nouveaux jeunes mâles dans leur cheptel. Cette introduction conduit à la réforme des mâles d'origine jugés les moins performants. Cependant, cette pratique ou 'spiking' a certains effets néfastes sur le bien-être des animaux car les nouveaux arrivants doivent s'intégrer dans le troupeau ce qui entraîne de nombreux combats de territorialité entre les mâles. Au Québec, le spiking implique le remplacement d'environ 1/3 des mâles pour chaque troupeau.

Nos résultats ont montré que sans spiking et en introduisant dans le programme alimentaire une moulée contenant de l'huile de lin et/ou du sélénium organique à partir de la 45^{ème} semaine d'élevage, nous sommes capables d'augmenter la productivité des femelles de 0,5 à 1 poussin/femelle (vs notre témoin) pour les 8 dernières semaines de production, tout en étant légèrement au dessus des objectifs de performance de la charte pour la souche Ross. Ce poussin de plus, à l'heure actuelle, correspond à un gain potentiel pour l'éleveur de 20cents /femelle (gain poussin- coût supplémentaire de l'aliment dû à l'incorporation d'huile de lin) pour ces 8 semaines. A cela, il faut rajouter les économies dues à l'absence de remplacement des mâles d'origines (= achats des jeunes mâles + frais d'élevage associé + main d'oeuvre pour leur mise en place). Il nous semble donc très opportuns pour les éleveurs de pouvoir considérer un tel changement alimentaire dans les troupeaux qui à la base connaissent de moins bonne performance de reproduction ou qui présentent une chute plus précoce de fertilité. Il est certain que nos données ne couvrent pas toute la période critique de production (40 à 60 semaines). On peut donc honnêtement penser que l'efficacité de production des femelles en terme de nombre de poussin obtenu devrait être supérieur pour l'ensemble de cette période.

A l'heure actuelle, l'huile de lin est encore une matière première très coûteuse car généralement très raffinée, la production étant presque entièrement destinée à la consommation humaine. Notre projet, si il incite les producteurs à se tourner vers l'utilisation de cette matière première, pourrait ouvrir un nouveau marché en alimentation animale pour les producteurs de lin. De plus, ce marché ne semble pas vouloir se limiter à la volaille puisque d'autres chercheurs dans notre département travaillent actuellement à valoriser son utilisation dans la nutrition des vaches laitières pour augmenter la teneur en n3 dans le lait. D'un point de vue plus pratique, il serait également intéressant de considérer la graine en tant que tel, avec toutefois un taux d'incorporation supérieur (autour de 15%). Dans ce cas, des études sur la digestibilité, l'appétence de la moulée, voir même la gestion des litières seraient nécessaire avant de valider son utilisation. Quoi qu'il en soit si un tel marché venait à se développer, il est certain que le prix du lin (huile ou grain) pourrait diminuer pour les meuneries, et les bénéfices pour les producteurs d'œufs d'incubation augmenteraient d'autant.

Les connaissances accumulées lors de notre projet en particulier sur la caractérisation du système antioxydant chez la volaille pourrait également inciter d'autres laboratoires à continuer des recherches plus fondamentales sur la caractérisation de ces différentes isoformes et leur régulation par voie alimentaire puisqu'à l'heure actuelle il existe très peu de données dans la littérature chez les oiseaux. A terme cela, pourrait conduire à redéfinir les besoins de ces animaux en sélénium, cuivre et zinc.

Ce projet a également permis au laboratoire de continuer à développer son expertise en reproduction chez les oiseaux ainsi que ces connaissances sur les systèmes antioxydants. Par conséquent, nous serons en mesure de répondre et d'orienter plus facilement les producteurs lorsque ceux-ci viendront nous consulter pour des problèmes ayant attrait à la reproduction dans leurs élevage. Notre partenaire principal, le Couvoir Scott a d'ailleurs déjà fait appel à nous pour vérifier si les faibles performances d'éclosion d'une de leur ferme provenait d'un problème de fertilité du troupeau ou d'autres facteurs.

A la suite de ce projet, nous avons décidé d'effectuer une étude nutri-génomique sur deux des tissus (foie et muscles) de poussins récoltés pendant cette étude. Notre but est de regarder l'impact de la source d'huile (SO vs LO) et de la source de sélénium (sélénite de sodium vs sélénium organique provenant de levures enrichies) sur l'expression de l'ensemble du génome au niveau de ces deux tissus. Bien que toutes les lames d'hybridation ainsi que les autres produits nécessaires aux expériences aient déjà été achetés, seul les ARNm totaux du foie ont été hybridés pour le moment. Les analyses des données sont actuellement en cours. Ce mini projet a été initié par notre étudiante en troisième cycle afin d'enrichir son doctorat et donnera un aperçu de la santé des poussins afin de réduire l'utilisation des antibiotiques. Ce projet est possible grâce au FCI qui a financé les installations de fines pointes présentes au département depuis 2012.

Nous souhaiterions également poursuivre nos investigations sur les conditions de stockage in vivo dans les tubules de stockages du tractus reproducteur femelle. Les informations obtenues lors de ce projet pourraient, à terme, nous aider à améliorer la conservation liquide des spermatozoïdes d'oiseaux et donc les performances obtenus lors de l'insémination artificielle. Bien que cette pratique soit peu répandu dans l'élevage de poulet, elle est indispensable pour les élevages de dinde/dindons puisque les races commerciales sont incapables d'effectuer une reproduction naturelle du fait d'un dimorphisme sexuel trop prononcé. De plus, il pourrait également exister un marché pour la cryo-conservation de certaines races patrimoniales du Québec, tel que la Chanteclerc. Nous avons été approchés par la Fédération de producteurs des

rares patrimoniales du Québec pour considérer un projet et à l'heure actuelle nous sommes toujours à la recherche de partenaire financier qui nous permettrait de réaliser ces recherches plus fondamentales.

4. HISTOIRE D'UNE RÉUSSITE

(POUR LES PROJETS SOUMIS DANS LE CADRE DE DÉFI-SOLUTION SEULEMENT)

Décrire l'histoire de la réussite (« success story ») du projet. Pour rédiger le texte, répondre aux sept questions sous forme d'un texte suivi de moins de 2000 caractères.

- En quoi ce projet est-il important?
 - 1 phrase expliquant dans quel contexte le projet s'inscrit.
- Pourquoi avez-vous mis ce projet en branle?
 - Une phrase décrivant le but du projet
- Quels étaient les principales activités ou les principaux résultats attendus?
 - 1 ou 4 phrases explicatives
- Quelles sont vos réalisations?
 - Une phrase décrivant les résultats au moyen d'indicateurs mesurables. Inclure les bénéficiaires.
- Selon vous, pourquoi ce projet a-t-il porté fruit?
 - 2 ou 3 phrases expliquant les succès prévus et inattendus du projet.
- Y a-t-il des aspects qui n'ont pas été terminés?
 - 1 ligne sur les travaux qui n'ont pas été exécutés
- Quelles sont les prochaines étapes?
 - 1 ou 2 phrases décrivant les prochaines étapes du projet, s'il y a lieu.

Le défi de ce projet était d'améliorer les performances des troupeaux de reproducteurs de poulet de chair en fin de saison de reproduction. Nous désirions aussi améliorer, via l'alimentation des parents, la santé des poussins à l'éclosion. Pour cela, nous avons incorporé dans l'aliment standard des reproducteurs de l'huile de lin riche en acides gras oméga 3 et remplacé le sélénium inorganique par sa forme organique, cette dernière étant plus assimilable par les animaux.

Bien que nous n'ayons pas obtenus d'effets marquants de nos traitements sur la qualité de la semence, nous avons réussi à obtenir 0,5 à 1 poussin de plus par femelle pour la période d'étude considérée, à savoir les 8 dernières semaines de production de poussins. Ce gain paraît petit mais à l'échelle d'une ferme avicole qui possède des troupeaux de 1500 individus, cela représente une entrée d'argent non négligeable. Accroître la productivité des troupeaux peut avoir un très gros impact sur le gain financier de ce secteur. La présence de sélénium organique dans les rations contenant de l'huile de lin favorise l'intégrité de l'ADN spermatique. Nous pourrions spéculer qu'un génome paternel (qui contribue également avec l'ADN de la poule pour faire un poussin) qui est plus stable favorisera d'une partie la hausse de productivité par poule. Les acides gras oméga-3, tel que l'acide éicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA), sont connus pour jouer un rôle très important dans le bon développement du cerveau et du cœur. Leur

forte présence dans le jaune d'œuf des femelles des traitements à base d'huile de lin ne peut donc qu'être bénéfique au bon développement embryonnaire des futurs poussins. Ce résultat pourrait aussi en partie expliquer les taux d'éclosions légèrement supérieurs observés pour ces traitements en fin de période de reproduction. Le Canada a exporté plus de 28,3 millions d'œufs d'incubation en 2012, d'une valeur marchande de près de 38,6 millions\$, mais nous avons aussi importé plus de 131 millions d'œufs d'incubation de poulet à griller, d'une valeur marchande de 37,6 millions \$. Réduire la nécessité d'importation grâce à notre recherche favorisera l'industrie et le consommateur canadiens. Les poussins issus des parents nourris avec de l'huile de lin semblent bénéficier d'une teneur plus forte en anticorps maternels puisque les taux d'anticorps retrouvés dans le jaune d'œuf sont plus élevés. Une meilleure protection maternelle est idéale pour optimiser la survie de poussin sans médicament supplémentaire. Enfin, l'ensemble de nos résultats montrant les bénéfices des régimes à base d'huile de lin représente également un appui pour l'industrie du lin canadienne.

5. PLAN DE FINANCEMENT ET CONCILIATION DES DÉPENSES

Remplir et transmettre le Plan de financement et conciliation des dépenses (relié à l'Annexe B de la convention de contribution financière) dont vous avez reçu une copie électronique en format MS Excel.

Vous devez y joindre toutes les **copies** de factures relatives aux postes budgétaires. Les contributions du demandeur et des partenaires doivent également être justifiées. **Aucun versement ne sera effectué sans que les pièces justificatives acquittées ne soient déposées.**

Référez-vous aux instructions disponibles dans la première feuille du chiffrier Excel intitulé **Plan de financement et conciliation des dépenses.**

Tout projet peut faire l'objet d'un audit.

Conformément à l'entente de contribution, vous êtes tenu de tenir le CDAQ informé des modifications effectuées au projet et au plan de financement.