

# EFFET D'UNE RESTRICTION ALIMENTAIRE ET D'UNE SUPPLEMENTATION EN ACIDE GRAS OMEGA 3 SUR LA FERTILITE, LA STEROIDOGENESE ET LA QUALITE DE PONTE CHEZ LA POULE REPRODUCTRICE

Mellouk Namya<sup>1</sup>, Ramé Christelle<sup>1</sup>, Delaveau Joël<sup>2</sup>, Rat Christophe<sup>2</sup>, Marchand Maxime<sup>2</sup>, Mercierand Frédéric<sup>2</sup>, Rigoreau Harold<sup>2</sup>, Travel Angélique<sup>3</sup>, Bignon Laure<sup>3</sup>, Chartrin Pascal<sup>4</sup>, Ma Linlin<sup>1</sup>, Froment Pascal<sup>1</sup>, Dupont Joëlle<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR085 Unité de Physiologie de la Reproduction et des Comportements PRC - 37380 NOUZILLY

<sup>2</sup>INRA - Unité Expérimentale du Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours UE PEAT - 37380 NOUZILLY

<sup>3</sup>ITAVI - Centre INRA Centre Val de Loire - 37380 NOUZILLY

<sup>4</sup>INRA- UMR083 Unité de Recherches Avicoles - 37380 NOUZILLY

[joelle.dupont@inra.fr](mailto:joelle.dupont@inra.fr)

## RÉSUMÉ

Chez la volaille de type chair, une croissance rapide est souvent accompagnée d'une altération de la reproduction. Une des méthodes utilisées par les éleveurs pour pallier à ces conséquences défavorables sur la fertilité est la restriction alimentaire. L'objectif de cette étude est d'évaluer les conséquences de ce type d'alimentation et d'une supplémentation en acide gras polyinsaturés (AGPI), connus pour augmenter la production d'adipocytokines (hormones produites par le tissu adipeux), sur la fertilité, la stéroïdogénèse et la qualité de ponte. Ainsi, nous avons suivi 320 poules réparties en 4 groupes égaux nourries avec une alimentation restreinte (Rt) ou *ad libitum* (Ad), recevant une quantité d'aliment permettant une croissance 1.7 fois plus importante que celle des animaux Rt), supplémenteée ou non en AGPI. Nos analyses ont montré que les poules Ad pondent significativement ( $p < 0.05$ ) plus d'œufs sur 39 semaines que les animaux Rt. Cependant, la qualité des œufs pondus est de moins bonne qualité, avec un nombre d'œufs mous, cassés et doubles plus importants chez les animaux Ad que chez les animaux Rt. De plus, nous observons que la supplémentation en AGPI diminue le nombre d'œufs pondus chez les animaux Rt mais n'a aucun effet sur la qualité des œufs et le nombre total d'œufs. D'autre part, nous observons une diminution de la fertilité des animaux Ad ainsi qu'une production plus faible de progestérone en réponse à l'IGF1 (ou LH) dans les cellules de granulosa cultivées *in vitro* et dans le jaune d'œuf par rapport aux animaux Rt. Cependant, la supplémentation en AGPI n'a aucun effet sur la fertilité des animaux Ad et sur la production de progestérone dans les cellules de granulosa cultivées *in vitro* des animaux Rt, alors qu'elle améliore la fertilité et la production de progestérone en réponse à l'IGF1 (ou LH) dans les cellules de granulosa cultivées *in vitro* des animaux Rt ainsi que la production de progestérone dans le jaune d'œuf des animaux Ad et Rt. Ce dernier fait peut être expliqué par le maintien de concentrations élevées en AGPI dans les jaunes d'œufs des animaux ayant reçu la supplémentation. Ainsi, la quantité et la composition en AGPI de l'alimentation modifient la ponte, la qualité des œufs, la fertilité et la stéroïdogénèse chez la poule reproductrice de chair.

## ABSTRACT

### Effect of feed restriction and fatty acid supplementation on fertility, steroidogenesis and eggs quantity and quality in hens

In broiler hens, rapid growth is often associated with a disruption of reproduction. One of the methods used by farmers to limit the decline of fertility is feed restriction. The aim of this study is to assess the consequences of this type of feed intake management and polyunsaturated fatty acid supplementation (FAS) known to increase adipokines (hormones produced by the adipose tissue) production, on fertility, steroidogenesis and eggs quantity and quality. Hence, we followed 320 hens divided into 4 equal groups fed with a restricted (Rt) or *ad libitum* (Ad, receiving an amount of feed to reach a 1.7 times heavier weight than the animals of the restricted diet), supplemented or not with FAS (1%). Our analyses have shown that Ad hens lay significantly ( $p < 0.05$ ) more eggs in 39 weeks than Rt animals. However, the quality of eggs laid is of lower quality, with a higher number of soft, broken and double eggs in Ad animals than in Rt animals. In addition, we observe that the FAS reduces the number of laid eggs in Rt animals but has no effect on egg quality and the total number of eggs. On the other hand, we observe a decrease in fertility of Ad animals associated with lower progesterone production in response to IGF1 (or LH) in cultured granulosa cells and in egg yolk compared to Rt animals. However, the FAS supplementation has no effect on the fertility of Ad animals and on the production of progesterone in cultured granulosa cells of Rt animals. Otherwise, it improves fertility and progesterone production in response to IGF1 (or LH) in the *in vitro* cultured granulosa cells of the Rt animals as well as the production of progesterone in the egg yolk of the Ad and Rt animals. This fact can be explained by the maintenance of high concentrations of FAS in egg yolks of animals receiving supplementation. Thus, the amount and the FAS composition of diet affect laying, egg quality, fertility and reproductive steroidogenesis in broiler hens.

## INTRODUCTION

Chez la poule reproductrice de type chair, l'augmentation rapide de la croissance, via une alimentation *ad libitum*, génère un développement anarchique des follicules ovariens pouvant conduire à la coexistence de plusieurs hiérarchies folliculaires qui perturbe les ovulations (Hocking et al. 1989). Hocking et al. ont aussi montré une relation entre le poids des poules à la maturité sexuelle et le nombre de gros follicules en croissance sur l'ovaire (Hocking et al. 1993). Le maintien des performances de reproduction (ponte et fertilité) ne peut être assuré qu'à condition d'appliquer dès le très jeune âge (2-3 semaines après éclosion) un rationnement alimentaire strict d'au moins 30%. Il s'avère cependant que l'application de ce rationnement a des effets secondaires sur le bien-être de l'animal qui se manifestent par des modifications du comportement social et alimentaire (Savory et al. 1993). Par ailleurs, le tissu adipeux a été pendant longtemps considéré uniquement comme un tissu de stockage, emmagasinant les graisses en période d'abondance et les régulant en périodes de jeûne. Or, nous savons maintenant depuis la découverte de la leptine en 1994 que le tissu adipeux est impliqué dans la régulation hormonale au niveau central et gonadique par la production et sécrétion vers la circulation sanguine de nombreux facteurs appelés adipocytokines (Trayhurn et al. 2006). Trois hormones sont à cet égard particulièrement importantes : l'adiponectine, la visfatine et la chémérine. Comme la leptine, elles jouent un rôle critique dans la régulation du métabolisme glucidique et lipidique et nous avons récemment montré un rôle important dans le contrôle de la reproduction chez la poule. D'autre part chez les rongeurs et l'homme, il a été montré qu'une supplémentation en AGPI augmente la production de ces adipocytokines impliqués dans la régulation de la reproduction.

Cette étude a pour objectifs de déterminer chez la poule reproductrice si la combinaison d'une restriction alimentaire et d'une supplémentation en AGPI affecte la production et la qualité des œufs mais aussi la fertilité et si elle modifie les concentrations des adipocytokines au cours de la ponte et finalement si ces changements nutritionnels affectent l'expression des adipocytokines et de leur(s) récepteur(s) au sein même des cellules ovariennes.

## 1. MATERIELS ET METHODES

Le protocole mis en place a reçu un avis favorable par le comité d'éthique (CEEA VdL) sous la référence du dossier : 01607.02

### 1.1. Les animaux

Pour cette étude 320 poussins femelles de type chair (Cobb 500) âgés de un jour ont été élevés au sein de

l'Unité Expérimentale du Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours (UE PEAT). Les animaux ont été répartis en 32 groupes homogènes de 10 et élevés au sol dans des parquets de 3 m<sup>2</sup> selon les conditions classiques d'élevage. Le programme lumineux comportait une première phase, avec 14 h de lumière à l'éclosion puis une deuxième phase de diminution progressive de l'exposition à la lumière jusqu'à atteindre 8 heures de lumière au moment de la ponte (21<sup>ème</sup> semaine) puis une dernière phase d'augmentation progressive de l'exposition à la lumière jusqu'à atteindre 15 h de lumière à la fin de l'étude (39<sup>ème</sup> semaine).

### 1.2. Les régimes alimentaires

Du 1<sup>er</sup> jour à la 3<sup>ème</sup> semaine, les 320 poussins femelles ont reçu une alimentation de démarrage de type *ad libitum* (libre accès à la nourriture). A partir de la 3<sup>ème</sup> semaine les poules ont été séparées en deux groupes. Un premier groupe (n=160) a continué à recevoir une alimentation *ad libitum* (Ad) et le second groupe (n=160) a reçu une alimentation restreinte (Rt) (consommation 1,7 fois moins importante que chez les animaux *ad libitum*). De la 9<sup>ème</sup> à la 39<sup>ème</sup> semaine, ces deux groupes ont été subdivisés pour former 4 groupes auquel nous avons ajouté ou non une supplémentation en acide gras polyinsaturés (AGPI) (groupe A : Rt supplémenté, groupe B : Ad supplémenté, groupe C : Rt non supplémenté, groupe D : Ad non supplémenté). La supplémentation en AGPI utilisée (OMG 750) est composée de 77% d'huile de poisson raffinée (dont 14% d'acide éicosapentanoïque (EPA) et 9% d'acide docosahexaénoïque (DHA)) et de 23% de gélatine (capsule) et a été utilisée à 1% de l'alimentation totale.

### 1.3. Profil en acide gras de l'aliment

Les lipides totaux ont été extraits après homogénéisation des échantillons avec un mélange chloroforme/méthanol. Les classes de lipides ont été déterminées après chromatographie sur couche mince de gel de silice. La composition en acide gras a été déterminée après trans-méthylation des lipides par chromatographie gazeuse (Perkin Elmer Autosystem, St Quentin en Yvelines, France) (Morrisson et al. 1964) (tableau 1).

### 1.4. Mesure de la production et de la qualité des œufs

Dès la 23<sup>ème</sup> semaine, les œufs de chaque parquet ont été collectés, comptés, pesés à l'aide d'une balance (OHauss, Pionner) 2 fois par jour. Les œufs mous, fêlés, cassés ont été dénombrés. A la 25<sup>ème</sup> semaine, les œufs pondus par les quatre groupes d'animaux ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse numérique (Mitutoyo, CD-20DCX). Leur rigidité statique (Sd) et leur résistance à la rupture (F) ont été évalués à l'aide

d'un Instron (Instron, UK527). Le module élastique de la coquille (module de Young, exprimé en N/mm<sup>2</sup>) et la ténacité (N/mm<sup>3</sup>=2) ont été estimés selon les formules développées par Bain (Bain, 1990, Sauveur, 1988, Guesdon et al. 2006). La détection des œufs micro-fêlés a été réalisée à l'aide d'un Acoustic Egg Tester (Coucke et al. 1999, Dunn et al. 2005).

### 1.5. Mesure de la fertilité

La semence de 65 coqs (Cobb500) a été collectée et regroupée pour former un unique pool. Les poules ont été inséminées avec 2.10<sup>8</sup> spermatozoïdes issus du pool à la 27<sup>ème</sup> et la 32<sup>ème</sup> semaine puis les œufs ont été collectés tous les jours pendant 3 semaines et mis en incubation tous les 7 jours. Les œufs clairs, les mortalités embryonnaires précoces (M1) et tardives (M2) ont été évaluées par cassage des œufs, et mirage au 7<sup>ème</sup> et 14<sup>ème</sup> jour d'incubation. Le pourcentage de fertilité a été calculé comme 100 fois le ratio du nombre de poussin nés sur le nombre d'œufs incubés.

### 1.6. Mesure *in vitro* de la sécrétion de progestérone par les cellules de granulosa

Les cellules de granulosa du follicule pré-ovulatoire F1 de 3 poules par groupe (25-26<sup>ème</sup> semaine) ont été collectées et mises en culture dans un milieu composé de DMEM et de 5% de FCS (sérum de veau foetal). Après privation de sérum pendant une nuit les cellules ont été stimulées ou non avec de l'IGF (10<sup>-8</sup>M) ou de la LH (10<sup>-8</sup>M) pendant 48 heures. La concentration de progestérone sécrétée dans le milieu par les cellules de granulosa dans les différentes conditions a été déterminée suivant un protocole ELISA comme décrit précédemment (Canepa et al. 2008). Cette expérience a été réalisée sur quatre séries de trois poules pour les quatre groupes nutritionnels étudiés.

### 1.7. Mesure de la sécrétion de progestérone dans le jaune d'œuf

Les stéroïdes des jaunes d'œufs (2x30 jaunes par condition alimentaire analysés à 36 et 38 semaines) étaient extraits avec du diethyl-éther après forte agitation et centrifugation. La phase du diethyl-éther contenant les stéroïdes était décantée après congélation des tubes dans l'azote pendant 10 secondes. Les solvants organiques étaient ensuite évaporés et les extraits repris dans du tampon phosphate. La progestérone est alors mesurée dans les extraits par dosage ELISA selon Canepa et al. (2008).

### 1.8 Mesure plasmatique des adipocytokines

Les concentrations plasmatiques des adipocytokines ont été obtenues à l'aide des kits spécifiques poulet de chez BlueGene (E12V0003 sensibilité 1 ng/mL, E12A0125 sensibilité 0.1 ng/mL et E112C0104 sensibilité 1 pg/mL respectivement pour la visfatine, l'adiponectine et la chémérine).

### 1.9. Mesure de l'expression des adipocytokines et de leurs récepteurs dans les cellules de la granulosa

L'ARN total des cellules de granulosa issue du follicule pré ovulatoire F1 ou F3 de 8 animaux âgés de 39 semaines a été extrait par homogénéisation dans le réactif TRIzol® à l'aide d'un Ultraturax selon les recommandations du fabricant (Invitrogen™ par Life technologies™, Villebon sur Yvette, France). La transcription inverse (RT) de l'ARN total et la PCR en temps réel ont été réalisées par Diot et al., 2015.

### 1.9. Analyses statistiques

Les résultats sont représentés sous forme de moyenne par groupe (A, B, C et D) de poule ± SEM. Une analyse de variance en mesure répétées a été utilisée pour comparer les moyennes de nombre d'œufs normaux, mous, cassés, et doubles entre les différents régimes alimentaires selon un modèle à deux effets avec interaction, au cours du temps. Un test ANOVA unidirectionnel (modèle à deux effet avec interaction) a été utilisé pour comparer les moyennes de concentration de progestérone sécrétée et d'expression des adipocytokines et de leurs récepteurs entre les différents groupes. Un test de Chi2 a été utilisé pour les analyses de pourcentage de fertilité entre les différents paramètres. Le logiciel SAS a été utilisé pour toutes les analyses.

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

### 2.1. Effet de la restriction alimentaire et de la supplémentation en AGPI sur la quantité et la qualité des œufs pondus

Nous observons un retard d'une semaine de l'entrée en ponte chez les poules Rt (24<sup>ème</sup> semaine) par rapport aux poules Ad (23<sup>ème</sup> semaine). De même, nous observons un pic de ponte plus précoce chez les poules Ad (27<sup>ème</sup> semaine) par rapport aux poules Rt (29-30 semaine). La supplémentation en AGPI repousse d'une semaine le pic de ponte seulement pour les poules Rt (30<sup>ème</sup> semaine) et n'a aucun effet sur le démarrage de la ponte (figure 1 A). D'autre part, nous notons que sur l'ensemble de l'étude les poules Ad pondent plus d'œufs (11666) que les poules Rt (10653). Cependant, lorsque nous comparons le nombre d'œufs pondus avant le pic de ponte, nous remarquons que les poules Rt pondent plus d'œufs (4331) que les poules Ad (3526) alors qu'on observe l'inverse après le pic de ponte (respectivement 6322 et 8140 pour les poules Rt et Ad). Bien que le nombre d'œufs pondus soit plus important chez les animaux Ad, il s'avère que leur qualité est significativement ( $p < 0.05$ ) moins bonne. Parmi l'ensemble des œufs pondus, on dénombre 95.2% (± 0.9%) d'œuf normaux, 1.75% (± 0.6%) d'œufs cassés, 0.5% (± 0.4%) d'œufs mous et 2.55% (± 0.5%) d'œufs doubles chez les poules Ad. A contrario, on retrouve 98.05% (± 1.25%) d'œufs normaux, 0.9% (± 0.7%) d'œufs cassés, 0.1

% ( $\pm 0.1$  %) d'œufs mous et 0.95 % ( $\pm 0.7$  %) d'œufs doubles chez les poules Rt. Aucun effet de la supplémentation en AGPI n'est observé sur la qualité des œufs (tableau 2).

## **2.2. Effet de la restriction alimentaire et de la supplémentation en AGPI sur la fertilité**

Les impacts de la restriction alimentaire et de la supplémentation en AGPI sur la fertilité des poules sont analysés par le suivi du nombre d'œufs donnant un poussin suite à une insémination artificielle. Après chaque insémination artificielle (27<sup>ème</sup> et 32<sup>ème</sup> semaine), le meilleur taux de fertilité apparaît 2 jours après la 1<sup>ère</sup> insémination pour les poules Rt et 3 jours chez les poules Ad. A l'inverse, lors de la seconde insémination (32<sup>ème</sup> semaine) le meilleur taux de fertilité est plus précoce chez les poules Ad (2<sup>ème</sup> jour) que chez les poules Rt (5<sup>ème</sup> jour). La fertilité des poules sur l'ensemble des 3 semaines après la 1<sup>ère</sup> insémination est meilleure avec une restriction alimentaire qu'avec une alimentation ad libitum, avec ou sans supplémentation en AGPI (figure 1B). Ces effets ne sont plus observés après la seconde insémination. Ces différences entre groupe peuvent s'expliquer par l'âge des poules mais aussi par un effet du régime et de la supplémentation en AGPI sur la capacité des poules à conserver des spermatozoïdes fonctionnels ainsi que sur les profils hormonaux au niveau plasmatique, adipeux ou ovarien.

## **2.3. Effet de la restriction alimentaire et de la supplémentation en AGPI sur la stéroïdogénèse**

In vitro, la LH ( $10^{-8}$  M) augmente significativement la production de progestérone par les cellules de la granulosa issues de chaque groupe alors que l'IGF-1 ( $10^{-8}$  M) ne l'augmente que dans les cellules de granulosa issues de poules Rt. D'autre part, la restriction alimentaire augmente significativement la production de progestérone par les cellules de granulosa stimulées ou non avec de l'IGF 1 ou de la LH. De plus, à l'état Ad la supplémentation en AGPI augmente la production de progestérone dans les mêmes conditions de stimulation alors qu'elle n'a aucun effet chez les poules Rt (figure 1 C). Des effets similaires de la restriction alimentaire sont retrouvés sur la production de progestérone dans les jaunes d'œufs et la supplémentation en AGPI l'améliore chez les animaux Rt et Ad (figure 1 D).

## **2.4. Effet de la restriction alimentaire et de la supplémentation en AGPI sur la concentration et l'expression des adipocytokines (chémérine, adiponectine, et visfatine) au cours de la ponte**

Les adipocytokines (chémérine, adiponectine et visfatine) sont des hormones sécrétées par le tissu adipeux mais qui sont aussi exprimées dans différents types cellulaires ovariens (Dupont et al. 2015). Nous avons récemment montré une implication de ces adipocytokines dans la régulation de la stéroïdogénèse chez les mammifères et les oiseaux (Reverchon et al. 2012, 2014, Diot et al. 2015, Chabrolle et al. 2007). Avant la ponte (21<sup>ème</sup> semaine), le régime Rt et la supplémentation augmentent seulement les concentrations plasmatiques de la chémérine. Au pic de ponte et à la 39<sup>ème</sup> semaine, nous n'observons aucun effet sur les trois adipocytokines étudiées.

Nous n'observons pas non plus effet du régime et de la supplémentation sur l'expression transcriptionnelle des adipocytokines et de leurs récepteurs (CMKLR1, CCRL2, AdipoR1 et AdipoR2).

## **CONCLUSION**

En conclusion, nous montrons que la quantité et la composition lipidique de l'alimentation apportée aux animaux au cours de leur développement et pendant la ponte influence quantitativement et qualitativement les performances de reproduction (ponte et fertilité). Le régime restreint et la supplémentation en AGPI améliorent significativement la production de progestérone à la fois dans le jaune d'œuf et dans les cellules ovariennes (granulosa). Ces résultats pourraient expliquer les effets bénéfiques de ces deux traitements sur la fertilité. D'autre part au cours de cette étude nous avons montré que les trois adipocytokines, adiponectine, visfatine et chémérine sont présentes au niveau du plasma et des cellules ovariennes (granulosa). Cependant, seules les concentrations plasmatiques de la chémérine sont affectées par le régime et la supplémentation avant le pic de ponte. A ce titre, deux hypothèses peuvent être postulées : 1) la régulation de la stéroïdogénèse par l'alimentation ne passe pas par les adipocytokines produites de manière locale mais par des signaux périphériques (tissu adipeux) ou 2) d'autres adipocytokines qui n'ont pas été testées dans notre étude seraient impliquées. Ainsi, la restriction alimentaire et la supplémentation en AGPI modifient la ponte, la qualité des œufs, la fertilité et la stéroïdogénèse chez la poule reproductrice.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Chabrolle C., 2007, Domestic Animal Endocrinology 33(4): 480–487.  
Diot M., 2015, Reproductive Biology and Endocrinology 13:81.  
Diot M., 2015, Reproduction (Cambridge, England) 150(1): 53–63.  
Dupont J., 2015, Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation 24(1): 11–24.  
Hocking P.M., 1993, British Poultry Science 34(4): 793–801.  
Hocking P.M., 1989, British Poultry Science 30(1): 161–173.

Morrison W.R, 1964, Journal of Lipid Research 5: 600-608.  
 Reverchon M., 2014, Biology of Reproduction 90(5): 102.  
 Reverchon M., 2012, Human Reproduction (Oxford, England) 27(6): 1790–1800.  
 Savory C.J., 1993, Behavioural Processes 29(3): 179–189.  
 Trayhurn P., 2006, The Journal of Nutrition 136(7 Suppl): 1935S–1939S

**Tableau 1:** Profil en acide gras de l'aliment. OMG: OMG750

Aliment	Semaine	DHA	EPA	EPA/DHA	n-6/n-3
démarrage	0 à 4	0,65	0,37	0,57	8,88
croissance	5 à 9	0,23	0,10	0,43	13,17
expé sans OMG	9 à 19	0,00	0,07		14,46
expé avec OMG	9 à 19	1,45	0,93	0,64	11,34
pré ponte sans OMG	20 à 22	0,00	0,00		13,04
pré ponte avec OMG	20 à 22	3,51	2,15	0,61	5,71
ponte sans OMG	23 à 39	0,07	0,08		8,41
ponte avec OMG	23 à 39	1,46	0,97	0,66	6,49

**Tableau 2:** Effet de la restriction alimentaire et de la supplémentation en AGPI sur la qualité des œufs.

Régime	Supplémentation	Nombre d'œufs sur la durée (23 à 39 semaines)				
		Normaux	Cassés	Mous	Doubles	Totaux
Ad libitum	non	727,4±33,3 <sup>a</sup>	14,0±1,1 <sup>a</sup>	4,0±1,2 <sup>a</sup>	19,1±1,6 <sup>a</sup>	764,5±33,8 <sup>a</sup>
Ad libitum	oui	708,9±25,4 <sup>a</sup>	11,8±1,6 <sup>ac</sup>	3,8±0,7 <sup>a</sup>	19,1±1,2 <sup>a</sup>	743,5±24,9 <sup>ab</sup>
Restreint	non	692,4±35,4 <sup>a</sup>	5,5±1,2 <sup>b</sup>	1,6±0,4 <sup>a</sup>	6,1±1,9 <sup>b</sup>	705,0±35,6 <sup>ab</sup>
Restreint	oui	650,5±35,1 <sup>a</sup>	7,6±2,5 <sup>bc</sup>	1,8±0,3 <sup>a</sup>	6,3±1,4 <sup>b</sup>	664,3±34,6 <sup>b</sup>
Significativité (P)						
Effet régime		0,1627	0,0006	0,0344	<0,0001	0,0418
Effet Supplémentation		0,3618	0,957	0,9595	0,9679	0,3504
Interaction		0,7223	0,1989	0,839	0,9679	0,7636

**Figure 1.** Effet de la restriction alimentaire et de la supplémentation en AGPI sur le nombre d'œufs pondus (A), le pourcentage de fertilité (B), la production de progestérone par les cellules de la granulosa (C) et dans le jaune d'œufs (D). RS : Restreint supplémenté, AS : Ad libitum supplémenté, RNS : Restreint non supplémenté ANS : Ad libitum non supplémenté. Les résultats sont représentés sous formes de moyenne ±SEM. Les différentes lettres indiquent des différences significatives.

