

RYTHME RESPIRATOIRE ET PHYSIOLOGIE DE LA FORMATION DE LA COQUILLE DE L'ŒUF

P. MONGIN et L. LACASSAGNE

avec la collaboration technique de Denise DUBOIS

*Station de Recherches avicoles,
Centre national de Recherches zootechniques, 78-Jouy-en-Josas*

SOMMAIRE

Le rythme respiratoire nocturne est significativement plus élevé chez la poule qui forme une coquille que chez la même poule ne formant pas de coquille. Cette ventilation pulmonaire accrue compense l'acidose métabolique due au transfert d'ions CO_3H^- vers la coquille.

Le passage de l'état de veille à l'état de sommeil freine la mobilisation des bicarbonates, alors que le passage inverse l'accélère.

Puisque la fonction pulmonaire agit sur la formation de la coquille nous donnons une explication possible de l'action du CO_2 inhalé sur le dépôt du carbonate de calcium. Ces conclusions permettraient alors de comprendre pourquoi les coquilles sont faibles en été.

Nous avons montré que l'équilibre acido-basique du sang de la poule est perturbé durant la formation de la coquille (MONGIN et LACASSAGNE, 1964) et que « l'acidose métabolique » due à la perte d'ions bicarbonates est compensée par une « alcalose ventilatoire ». Puisque la pression partielle de gaz carbonique du sang est régulée par voie pulmonaire, nous avons recherché dans quelle mesure la ventilation pulmonaire varie durant la formation de la coquille (1).

MÉTHODE EXPÉRIMENTALE

Des animaux, croisés *Rhode-Island* × *Wyandotte* souche M 41, sont élevés deux mois avant l'expérience dans des cages individuelles placées dans des chambres conditionnées. La température est maintenue constante à $20^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ et l'hygrométrie à 55 ± 5 p. 100. Les cellules sont insonorisées

(1) Cet article complète la note parue dans *C. R. Acad. Sci.*, Fr. **261**, 4228-4229.

ce qui nous a permis d'utiliser un rythme lumineux inversé en nycthémère de 24 h, la période de nuit étant de 9 h à 19 et la période d'éclaircissement de 19 à 9 h.

On habitue chaque animal à être entravé par un collier et un anneau de cuir à chaque patte durant 15 jours avant le début de l'expérience afin d'effectuer les mesures sur un animal à comportement normal.

L'enregistrement du rythme respiratoire se fait au moyen d'un thermocouple cuivre-constantan placé à la sortie de la narine gauche. Le thermocouple, monté sur une microprise mâle, est amovible et se relie à une microprise femelle située sur la partie antérieure de la crête et fixée par 2 fils nylon. De cette prise sortent deux conducteurs de cuivre isolés sous double gaine de caoutchouc et plastique. Ils passent ensuite sous la peau de l'arrière de la crête jusqu'à la base du cou où ils sont fixés au collier de cuir et se rendent ensuite à un enregistreur galvanométrique (Sefram, type GRV).

La mise en place du dispositif se fait durant une courte anesthésie à l'éther. S'ils sont progressivement et suffisamment entraînés à supporter l'équipement, les animaux se comportent normalement et pondent régulièrement. Les variations de température au niveau de la soudure créent une variation de potentiel où chaque cycle thermique est lié à un cycle respiratoire.

RÉSULTATS

1. Temps minimum d'enregistrement

Afin de normaliser les résultats nous avons recherché quel était le temps minimum d'enregistrement en comparant les rythmes respiratoires moyens par minute.

Une analyse de variance, faite sur 60 résultats, montre que les fréquences respiratoires enregistrées pendant 5, 10 et 15 mn ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 p. 100. L'erreur faite sur un temps de comptage de 5 mn par rapport à des temps de comptage de 10 et 15 mn sont respectivement de $\pm 0,2$ et $\pm 0,4$ p. 100. Les résultats qui suivent sont donc exprimés en rythme respiratoire moyen par minute calculé sur un temps d'enregistrement de 5 mn.

2. Temps de mise au repos

L'enregistrement du R.R. diurne pose un certain nombre de problèmes, tel que variations du R.R. en fonction de l'activité de l'animal et également difficulté de comptage durant l'ingestion de nourriture car la poule respire très irrégulièrement.

La coquille se forme la nuit ; nous avons donc décidé de faire les enregistrements la nuit et non durant toute la formation de l'œuf. Les mesures sont prises au moment de l'extinction de la lumière, puis à intervalles réguliers au cours du sommeil de l'animal.

Après l'extinction de la lumière la poule ne cesse toute activité qu'au bout d'un certain temps qui paraît très constant et que nous avons chiffré à $57,5 \pm 3,4$ mn sur un lot de 8 animaux. Durant cette période de transition le rythme respiratoire se modifie en baisse puis se stabilise une fois atteint le stade de sommeil profond. Si l'on observe la décroissance de la fréquence respiratoire, on constate que la chute par rapport à la valeur à l'extinction est beaucoup plus faible chez la poule qui forme un œuf que pour celle qui est en pause. Chez cette dernière, le changement de rythme est brutal au moment du sommeil comme chez le coq (fig. 1).

3. Rythme respiratoire et formation de la coquille

Une analyse de variance ayant montré que le rythme respiratoire est lié à l'individu ($P < 1 p. 100$), chaque poule est considérée comme son propre témoin de la manière suivante : Pour une même poule, nous avons comparé le rythme respiratoire nocturne durant la formation de la coquille du dernier œuf de la série au

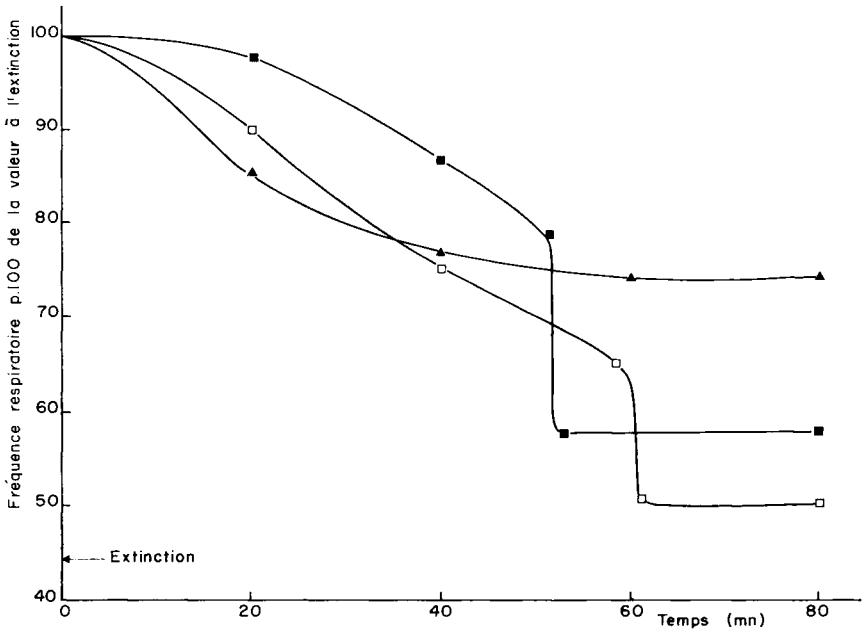


FIG. 1. — Chute du rythme respiratoire durant le passage de l'état de veille à l'état de sommeil chez le coq, chez la poule en pause et chez la poule lors de la formation de l'œuf

■ coq ;
 □ poule durant la pause ;
 ▲ poule durant la formation de l'œuf.
 Chaque point est la moyenne obtenue sur 5 animaux.

rythme respiratoire durant la nuit de pause suivante. Chaque valeur des tableaux 1 et 2 correspond à la moyenne de plusieurs mesures, dont le nombre est indiqué entre parenthèses, d'une durée de 5 mn et effectuées durant les 7 dernières heures de la nuit, en période de sommeil profond.

Les résultats groupés dans le tableau 1 montrent que les différences de R.R. sont hautement significatives même avec un petit nombre d'observations (cf. poule n° 1). Pour l'ensemble des poules, le rythme respiratoire chute de 38 p. 100 au moment de la pause et on n'observe pas d'évolution du R.R. durant le sommeil, qu'il y ait ou non une coquille en formation.

Néanmoins avec la poule n° 3, nous avons pu enregistrer une augmentation du R.R. entre 12 et 18 h après l'oviposition précédente, augmentation qui coïncide

TABLEAU I

Fréquence respiratoire durant la formation de la coquille et en l'absence de calcification
(Période de sommeil profond)

Poule n°	Période de formation de coquille	Période sans formation de coquille
1	(6)* 10,5 ± 0,4**	(4) 7,7 ± 0,1***
2	(10) 10,7 ± 0,2	(4) 7,2 ± 0,2
3	(7) 11,3 ± 0,3	(7) 6,4 ± 0,1
4	(11) 13,2 ± 0,4	(13) 7,7 ± 0,1
5	(24) 13,5 ± 0,2	(23) 7,3 ± 0,1
Moyenne	11,8 ± 0,6	7,2 ± 0,2

* Nombre d'enregistrement de 5 minutes

** Moyenne ± $\frac{\sigma}{\sqrt{n}}$

*** Pour chaque poule la différence entre les deux valeurs est significative : P < 0,1 p. 100 (test de t).

TABLEAU 2

Fréquence respiratoire chez le coq en période de sommeil profond

Coq n°	Fréquence respiratoire nocturne
1	(9)* 7,7 ± 0,1**
2	(5) 6,3 ± 0,2
3	(10) 7,0 ± 0,1
4	(7) 7,4 ± 0,3
5	(6) 7,3 ± 0,1
Moyenne	7,2 ± 0,2

* Nombre d'enregistrement de 5 minutes

** Moyenne ± $\frac{\sigma}{\sqrt{n}}$

avec le début de la calcification intense puisque le temps de formation de cet œuf fut de 27 h (fig. 2). On peut noter la constance du R.R. durant la pause, constance que l'on observe également chez les coqs.

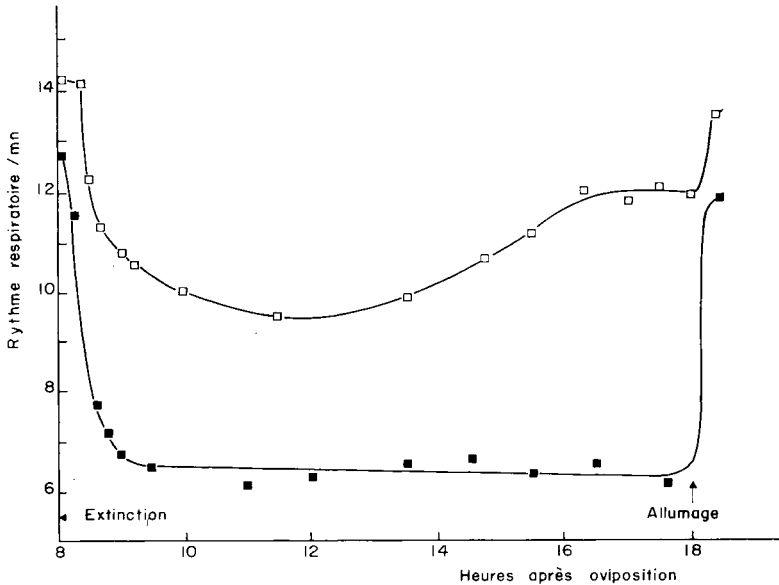


FIG. 2. — Chez la même poule, variation du rythme respiratoire nocturne durant la formation du dernier œuf de la série (□) et durant la pause suivante (■).

DISCUSSION

1. Ventilation pulmonaire et fréquence respiratoire

Il est assez difficile de mesurer chez la poule la ventilation pulmonaire par minute par les méthodes habituelles sans modifier la ponte. C'est la raison pour laquelle nous n'avons mesuré que la fréquence respiratoire. Néanmoins il nous est apparu intéressant de voir si cette fréquence est un reflet fidèle de la ventilation.

En effet, d'après la relation (1), le débit ventilatoire par minute (\dot{V}) est fonction du volume courant (V_e) et de la fréquence (f).

$$\dot{V} = V_e \times f \quad (1)$$

En utilisant un thermocouple on ne mesure pas directement V_e , mais la différence ΔT de température entre l'air inspiré et expiré. Or, ces 2 valeurs sont liées par la relation

$$V_e = k \Delta T \quad (2)$$

donc
$$\dot{V} = k \cdot \Delta T \cdot f \quad (3)$$

Si en faisant varier f , on mesure ΔT et f , il est possible d'évaluer \dot{V} à une constante près puisque

$$\dot{V}/k = \Delta T \cdot f.$$

et chercher ensuite s'il existe une relation entre \dot{V}/k et f .

Pour ce faire, nous avons pris un coq *Rhode Island* \times *Wyandotte* sur lequel nous avons fixé de façon très rigide la soudure du thermocouple au niveau de la narine afin d'éviter des erreurs dans la mesure de ΔT par simple déplacement du thermocouple. Puis nous avons fait varier sa fréquence respiratoire par inhalation de CO_2 (hyperventilation provoquée) soit par ingestion de largactil (hypoventilation provoquée), ce qui nous a permis d'obtenir une gamme de 8 à 23 révolutions respiratoires par minute. La mesure de ΔT fut faite par enregistrement sur papier millimétré avec une très forte amplification et à grande vitesse. Notons enfin que les mesures furent effectuées sur l'animal au repos.

Dans la gamme de fréquence étudiée (8 à 23/mn) nous avons trouvé une relation linéaire entre \dot{V} et f telle que

$$\dot{V}/k = 0,58 f + 2,05 = r = + 0,94.$$

avec un coefficient de régression significativement différent de zéro ($P < 0,1$ p. 100). Par contre, un essai de régression linéaire entre \dot{V}/k et ΔT ne donne pas de résultat significatif ($P > 50$ p. 100). Bien que les 170 valeurs du calcul ne soient relatives qu'à un seul animal, mais vu les résultats, nous pouvons considérer que le débit ventilatoire/minute est uniquement fonction de la fréquence et que la mesure de cette dernière suffit pour apprécier la ventilation pulmonaire.

2. Rythme respiratoire et formation de la coquille

La fréquence respiratoire nocturne du coq ($7,15 \pm 0,23$, tabl. 2) n'est pas significativement différente de celle de la poule en pause ($7,24 \pm 0,24$, tabl. 1). On peut donc considérer la fréquence respiratoire de la poule au repos et en pause comme la fréquence physiologique de base et lier l'augmentation du rythme respiratoire à la formation de l'œuf.

Bien qu'il soit impossible de suivre le rythme respiratoire de la poule durant toute la formation de l'œuf dans des conditions identiques puisque l'animal passe par un état de veille puis de sommeil, il est possible de faire durant la formation de la coquille un parallèle entre la fréquence respiratoire et la $p\text{CO}_2$ sanguine. En effet la formation de la coquille déclenche une acidose métabolique que la poule compense par une alcalose respiratoire en éliminant le CO_2 sanguin par augmentation des échanges ventilatoires. Si l'on compare les résultats obtenus avec la poule n° 3, aux variations moyennes de la $p\text{CO}_2$ (MONGIN et LACASSAGNE, 1964), l'augmentation du R.R. durant la nuit correspond à un abaissement de la $p\text{CO}_2$.

Malgré cette réponse ventilatoire à l'acidose métabolique durant la nuit, il apparaît que la régulation se fait moins bien entre 10 et 20 h après l'oviposition, qu'avant et après cette période. En effet, si l'on étudie la fonction $\frac{d(p\text{CO}_2)}{dt} = f(t)$, on constate qu'elle est croissante dans la période qui s'étend de 10 à 15 h après l'oviposition et décroissante dans les périodes 5 à 10 et 20 à 22 h. après l'oviposition (fig. 3). Mais en reprenant nos résultats de 1964 sur l'équilibre acido-basique du sang, nous avons remarqué que cette période se situe la nuit puisque en moyenne l'obscurité avait lieu de 10,10 h à 20,10 h \pm 40 mn après l'oviposition. Or nous avons montré plus haut que la mise en sommeil se déroule durant 58 mn et s'accom-

pagne d'une chute du R.R. de 25 p. 100 (fig. 1). Donc pendant le passage de l'état de veille à l'état de sommeil, la poule hypoventile par rapport à la période d'éclaircissement si bien que la chute de la $p\text{CO}_2$ est inférieure à ce qu'elle devrait être s'il n'y avait pas eu de changement d'état. Le réveil, qui est très rapide, inverse le phénomène, et l'augmentation du R.R. accroît la vitesse de chute de la $p\text{CO}_2$ sanguine.

De même si l'on étudie la courbe $\frac{d(\text{CO}_3\text{H}^-)}{dt} = f(t)$ (fig. 3) on constate que la mise en repos freine le transfert des bicarbonates vers la coquille, alors que le réveil l'accélère.

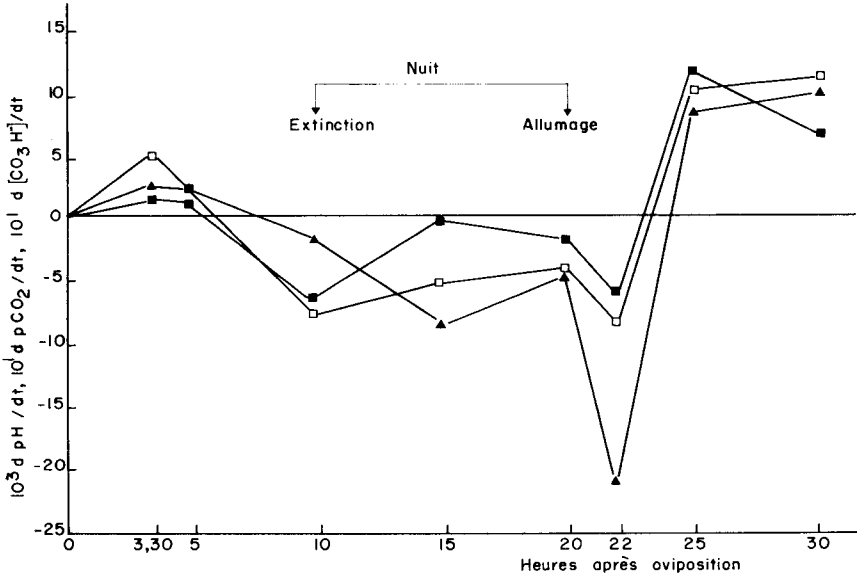


FIG. 3. — Dérivées par rapport au temps des fonctions pH , pCO_2 et (CO_3H^-) obtenues sur le sang veineux général de la poule durant la formation de l'œuf

▲ $d\text{pH}/dt$; ■ $d\text{pCO}_2/dt$; □ $d(\text{CO}_3\text{H}^-)/dt$.

Donc l'étude du R.R. chez la poule durant la formation de la coquille entraîne trois conclusions :

- durant le sommeil, l'animal hyperventile pour compenser l'acidose métabolique due à la mobilisation des ions CO_3H^- ;
- une chute du rythme respiratoire, telle que celle observée durant la mise en repos, freine la formation de la coquille ;
- inversement, une augmentation du R.R. facilite la formation de la coquille.

Faite dans le système de coordonnées de DAVENPORT (1962), la figure 4 rend compte du phénomène et permet de penser que la compensation ventilatoire pourrait être beaucoup plus grande si la chute du R.R. n'avait pas lieu durant la nuit.

Cet ensemble de conclusions montre que la fonction respiratoire est étroitement liée à la formation de la coquille et que le transfert des ions bicarbonates ne se fait normalement que dans la mesure où la ventilation pulmonaire est capable de réguler l'équilibre acido-basique du sang.

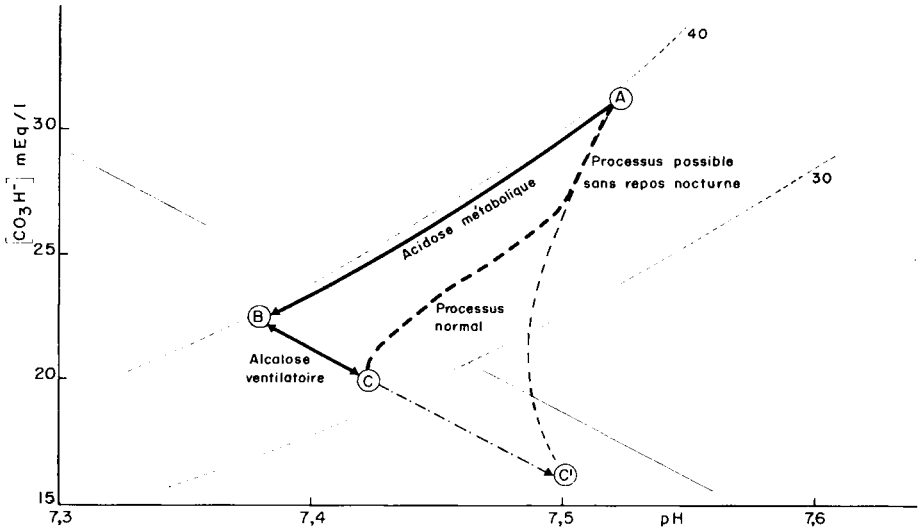


FIG. 4. — Variations comparées entre 0 et 22 h après l'oviposition précédente de l'équilibre acido-basique du sang veineux général de la poule telles que nous les avons mesurées (processus normal) et telles qu'elles seraient s'il n'y avait pas de repos nocturne (processus possible sans repos nocturne).

— ligne tampon normale du sang.

--- isobares 40 et 30 de la pCO_2 .

A. Point représentatif normal à l'oviposition.

B. Point représentatif théorique 22 h après l'oviposition s'il n'y avait pas de compensation ventilatoire de l'acidose métabolique.

C. Point représentatif normal 22 h après oviposition.

C'. Point représentatif théorique 22 h. après oviposition ; en l'absence de sommeil, l'alcalose ventilatoire aurait pu se développer normalement.

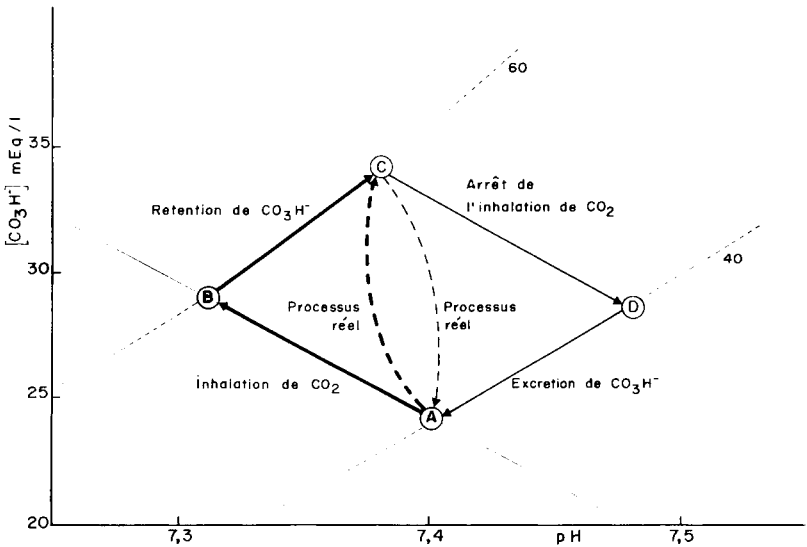


FIG. 5. — Variations de l'équilibre acido-basique du sang lorsque l'on place une poule dans une atmosphère à 5 p. 100 de CO_2 (—) et lorsque l'on supprime le CO_2 (---). (voir fig. 4).

— ligne tampon normale du sang ;

--- isobares 40 et 60 de la pCO_2 .

De A en B développement théorique de l'acidose ventilatoire sous l'action du CO_2 , puis de B en C, alcalose métabolique compensatoire et théorique par rétention des bicarbonates. Le tracé CDA est le phénomène inverse.

Il est alors possible d'expliquer les résultats d'HELBACKA et de ses collaborateurs (1963). Ces auteurs placent des poules durant 19 h. dans une atmosphère à 5 p. 100 de CO_2 et constatent une chute de l'épaisseur de la coquille de 4 p. 100. Ce traitement a pour effet une augmentation de la $p\text{CO}_2$ sanguine qui déclenche une alcalose métabolique par rétention des bicarbonates (fig. 5). L'équilibre acido basique est alors tel (point C) que les bicarbonates sont moins mobilisables car la poule en a besoin pour ramener son pH à une valeur voisine de la normale et ceci aux dépens de la coquille.

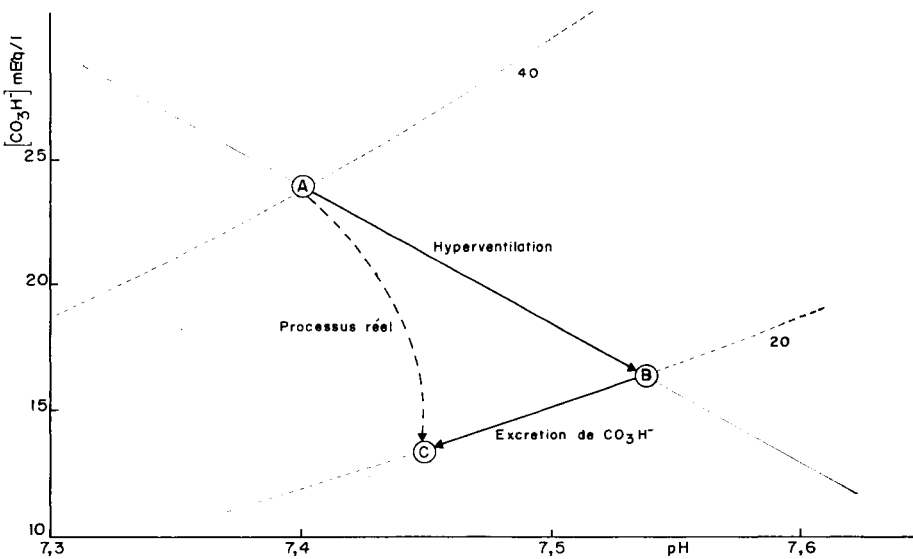


FIG. 6. — Déplacement du point normal de A en C de l'équilibre acido-basique du sang chez la poule en hyperthermie

(voir fig. 4).

— ligne tampon normale du sang,
 - - - isobares 40 et 20 de la $p\text{CO}_2$.

En éliminant par voie pulmonaire les calories excédentaires la poule entre en hyperventilation qui déclenche une alcalose (A → B) ; puis elle excrète par voie rénale des bicarbonates (B → C) afin de compenser par une acidose métabolique l'élévation du pH sanguin.

Par contre, lorsqu'ils replacent la poule dans une atmosphère normale, l'épaisseur de la coquille augmente de 8 p. 100. Au moment où l'on supprime le CO_2 , une hyperventilation abaisse la $p\text{CO}_2$ et entraîne une excrétion des bicarbonates en excès. Chez les autres espèces, cette excrétion se fait par voie urinaire et il est intéressant de remarquer que, chez la poule, une partie de l'excrétion peut se faire par voie utérine au bénéfice de la coquille.

Ces auteurs ont refait le même traitement, mais à 30° au lieu de 21°C, et observent une diminution de 9 p. 100 de l'épaisseur de la coquille durant l'inhalation de gaz carbonique ; par contre, aucune amélioration n'est constatée après traitement. A cette température, la poule élimine les calories excédentaires par voie respiratoire puisqu'elle ne possède pas de glandes sudoripares, et augmente ainsi ses échanges respiratoires, mais cette hyperventilation d'origine thermique entraîne accessoirement une chute de la $p\text{CO}_2$ sanguine avec excrétion de bicarbonates. (Fig. 6.) A ce stade,

(point C) l'équilibre acido-basique est caractérisé par un pH alcalin, une $p\text{CO}_2$ basse, et une faible concentration en bicarbonates. Donc, lorsqu'on applique le traitement au CO_2 le point de départ est inférieur à celui du cas précédent si bien que la rétention des bicarbonates est également plus grande (Trajet CDE de la figure 7) d'où la baisse accrue de l'épaisseur de la coquille.

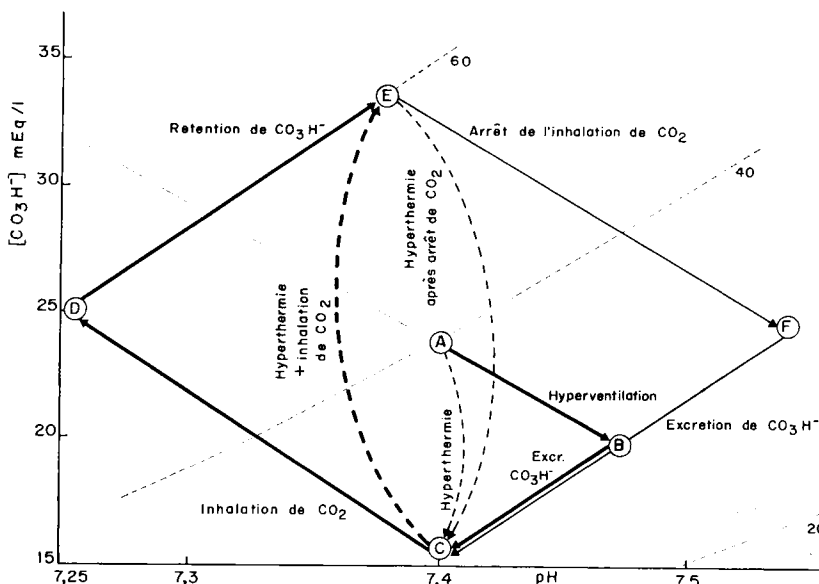


FIG. 7. — Représentation théorique de l'évolution de l'équilibre acido-basique du sang de la poule en hyperthermie placée dans une atmosphère à 5 p. 100 de CO_2 (---) puis replacée en atmosphère normale (—).

(voir fig. 4).

— ligne tampon normale du sang,
 ---- isobares 60, 40 et 20 de la $p\text{CO}_2$.

ABC (voir fig. 6).

CDE et EFC (voir fig. 5).

Lorsqu'on supprime le CO_2 , (Trajet EFC de la figure 7) tout en restant à une température de 30°C , la chute de la $p\text{CO}_2$ est compensée par une excretion rapide des bicarbonates par voie rénale, l'utérus est court-circuité et ne peut bénéficier de l'excès d'ions CO_3H^- . Donc en raison du stress thermique le rein se comporte comme un organe prioritaire dans la régulation du pH car l'état d'équilibre se situe en C et non en A. Il est alors vraisemblable de penser que par fortes chaleurs, le point représentatif de l'équilibre acido-basique du sang est voisin de C; d'ailleurs chez le coq il en est ainsi comme l'ont montré LINSLEY et DURGER (1964), ce qui suffirait à expliquer la fragilité des coquilles en été.

Il est également possible de penser que, chez la poule, l'action de l'équilibre acido-basique du sang sur la formation de la coquille ne se limite pas à la production d'ions bicarbonates, mais agit également sur le métabolisme calcique par l'intermédiaire des ions H^+ ; cette interaction étant clairement démontrée chez le chien (FUJITA et coll., 1965). Une acidose sanguine, telle que celle observée entre 10 et 22 h après oviposition, facilite la dissolution du calcium osseux et limite la chute de la

calcémie. Ces auteurs montrent également qu'après hypocalcémie, une alcalose facilite le retour à la calcémie normale. D'après nos résultats, le pH normal du sang de la poule est nettement alcalin ($7,52 \pm 0,01$) et supérieur à celui du coq ($7,45 \pm 0,02$). Il est en de même chez la poulette quelques jours avant l'entrée en ponte puisque le pH est de $7,51 \pm 0,01$ (MONGIN et LACASSAGNE, 1965). Il apparaît alors que l'équilibre acido-basique chez la poule s'est adapté afin de récupérer plus rapidement après l'hypocalcémie due au dépôt calcique coquillier. Cette liaison entre pH et métabolisme calcique se ferait par l'intermédiaire des parathyroïdes puisque après parathyroïdectomie, l'alcalose n'a aucun effet sur la calcémie (FUJITA et coll., 1965). Comme l'activité de ces glandes endocrines est réglée par la teneur du sang en ions calcium et que cette teneur est fonction de la concentration en ions H^+ , il est possible de concevoir cette médiation hormonale.

L'équilibre acido-basique agirait également au niveau de l'utérus par son pH, puisque le sang veineux utérin est très acide par rapport au sang artériel (HODGES, 1965). Cette forte concentration locale en ions H^+ libérerait le calcium complexé sous forme de protéinate et accroîtrait ainsi le gradient calcique à travers la muqueuse utérine afin de faciliter le transfert du Ca^{++} sanguin vers la coquille.

Reçu pour publication en décembre 1965.

SUMMARY

RESPIRATORY RHYTHM AND PHYSIOLOGY OF THE EGG SHELL FORMATION

The respiratory rhythm of the hen was studied by means of a thermo-couple fixed on the nostril. It was recorded during the night only, for the normal activity of the hen during the day disturbs estimations. The respiratory rhythm of a resting hen during the night (7.26 ± 0.24) and that of the cock (7.15 ± 0.23) are similar, but during the shell formation, the respiratory rhythm of the hen significantly increases (11.8 ± 0.6). This increased pulmonary ventilation balances a metabolic acidosis due to the transfer of CO_3H -ions to the shell.

Moreover, the transfer of bicarbonates slows down when the hen turns to sleep. It increases when it wakes up.

Since the pulmonary activity acts upon shell formation, we can thus explain the action of inhaled CO_2 on shell thickness. These conclusions would allow us to understand why shell are thinner in summer.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- DAVENPORT H. W. *The A, B, C of acid base chemistry*. The university of Chicago Press, 1962
- FUJITA T., ORINO H., YOSHIKAWA M., MORRI H., NAKA O. K., 1965. Effect of acidosis and alkalosis on recovery from hypocalcemia. *Endocrinology*, **76**, 1202-1204.
- HELBACKA N. V., CASTERLINE J. L., SMITH C. J., 1963. The effect of high CO_2 atmosphere on the laying hen. *Poultry Sci.*, **42**, 1082-1084.
- HODGES D., 1965. *Communication personnelle*.
- LINSLEY D. G., BURGER R. E., 1964. Respiratory and cardiovascular responses in the hyperthermic domestic cock. *Poultry Sci.*, **43**, 291-305.
- MONGIN P., LACASSAGNE L., 1964. Physiologie de la formation de la coquille de l'œuf de poule et équilibre acido-basique du sang. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **258**, 3093-3094.
- MONGIN P., LACASSAGNE L., 1965. Données non publiées.