

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Saad Dahleb - Blida 1 -

Faculté des Sciences de la Nature et de Vie



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Master II
Option : Reproduction Animale

Immunolocalisation des récepteurs aux androgènes au
niveau des testicules au cours du développement post-natal
chez la caille japonaise (*Coturnix japonica*)

Présenté par : **BELHADJ Djamilia et BOUDERBANI Imane**

Soutenu le : **17/09/2017 à 13h**

Devant le jury :

Président(e) :	LARBI DOUKARA K.	M.C.B, USD Blida 1
Examinatrice :	SAYAD M.	M.C.B, USD Blida 1
Promoteur :	FERROUK M.	M.C.B, I.S.V. Blida 1
Co-Promotrice :	BOUKENAOUI N.	M.C.B, I.S.V. Blida 1

Année universitaire : 2016/2017

Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens à remercier Dieu le tout puissant de m'avoir accordé la force et la volonté pour réaliser ce travail.

Nos remerciements s'adressent particulièrement à **Docteur FERROUK M.** pour avoir accepté de diriger, qu'il trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

Nos remerciements s'adressent aussi à **Docteur BOUKENAOUI- FERROUK N.** pour avoir codirigé notre travail, sa disponibilité, son suivi attentif qu'il trouve également ici notre profonde reconnaissance.

A Docteur LARBI DOUKARA K. Maître-assistant à l'Université de Blida-1 qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.
Hommage respectueux.

A Docteur SAYAD M. Maître de conférences B à l'Université de Blida-1 qui nous ont fait l'honneur de participer au jury et d'examiner notre travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail avec reconnaissance à ceux qui ont fait de moi ce que je suis et qui sont toujours là pour me soutenir à tout moment.

C'est grâce à eux que j'ai accompli mon rêve et obtenu ce diplôme.

A mon **père AHMED**

A ma très chère **mère YAMINA**

A deuxième ma famille :

BECHERIMIE MOHAMMED et ma mère **Karima**

Aussi à mes frères et sœurs: **Mohamed, Maamar, Zakaria, Zahra, Fatima, Souhila, Hafsa et Nassima, Sara.**

A mes oncles : **AbdELkader, Hamid**

A mon mari : **Ben Yebka**

A mes nièces : **Ritadj, Acil**

A mon neveu : **Ahmed yacine**

A mes amis : **,Dahbia, Imène, Saida, Asma, Maria, Khadija, Ibtissem, Noura, Soumia, Imane.**

A Tous ce qui m'aiment et me respectent

A Tout Nos Confrères En Premier Lieu Ceux De La Promotion 2ème Année Master
Reproduction Animale.

Résumé

L'objectif de notre travail est de déterminer la localisation des récepteurs aux androgènes au niveau testiculaire et l'âge de la puberté chez la caille japonaise au cours du développement post-natal. Notre travail est basé sur la réalisation de l'immunomarquage sur des coupes histologiques des testicules des cailles japonaises âgées de 1 jour, 3 et 7 semaines.

Les résultats d'examen histologique montrent qu'à l'âge d'un jour, les tubes séminifères se présentent, à l'observation microscopique, comme des tubes pleins sans présence de la lumière centrale. A partir de l'âge 3 semaine et jusqu'à 7 semaine, une distincte lumière centrale est observée au centre des tubes séminifères. Les cellules spermatogénétiques ont migrées vers la périphérie des tubes séminifères.

Après l'immunomarquage des récepteurs aux androgènes, en fonction de l'âge : l'observation au microscope photonique montre une immunoréaction entre l'anticorps anti-récepteurs aux androgènes utilisé et l'antigène localisé au niveau des cellules de Sertoli, des cellules myoïdes périvitubulaires, des cellules germinales (spermatogonies, spermatocytes I et II, spermatides et spermatozoïdes) et les cellules de Leydig.

En conclusion, la présence de la lumière au centre des tubes séminifères, à l'âge de 3 semaines et un indicateur du début d'installation de la puberté chez la caille japonaise.

Mots clés : Caille japonaise, testicules, immunomarquage, récepteurs aux androgènes.

Abstract

The objective of our work is to determine the localization of androgen receptors at the testicular level and the age of puberty in Japanese quail during postnatal development. Our work is based on the realization of immunolabeling on histological sections of the testes of Japanese quail aged from 1 day, 3 weeks and 7 weeks.

The results of histological examination show that at the age of one day, the seminiferous tubules present themselves, on microscopic observation, as solid tubes without the presence of the central lumen. From the age of 3 weeks to 7 weeks, a distinct central lumen is observed in the center of the seminiferous tubules. The spermatogenic cells migrated to the periphery of the seminiferous tubules.

After immunostaining of androgen receptors, in function of age: photon microscopic observation, shows an immunoreaction between the anti-androgen receptor antibody used and the antigen (androgen receptor) localized to Sertoli cells, peritubular myoid cells, of germ cells (spermatogonia, spermatocytes I and II, spermatids and spermatozoa) and Leydig cells.

In conclusion, the presence of light at the center of the seminiferous tubules at the age of 3 weeks and an indicator of the onset of puberty in Japanese quail.

Keywords: Japanese quail, testes, immunolabeling, androgen receptors.

ملخص

الهدف من عملنا هو تحديد موقع مستقبلات الاندروجين على مستوى الخصية و سن البلوغ عند السمان الياباني خلال فترة النمو بعد الفقس. عملنا يقوم على تحقيق الفلورة المناعية على مقاطع نسيجية للخصية للسمان الياباني الذين تتراوح أعمارهم بين 1 يوم، 3، اسابيع و 7 أسابيع.

وقد أظهرت النتيجة انه في سن يوم واحد بعد الفقس، الأنابيب المنوية، تظهر بالملاحظة المجهرية على شكل أنابيب كاملة دون وجود ضوء المركزي. من سن 3 أسابيع إلى 7 أسابيع لوحظ الضوء المركزي منفصل في وسط الأنابيب المنوية. الخلايا المنوية تهجر نحو محيط الأنابيب المنوية.

بعد عملية الفلورة المناعية لمستقبلات الاندروجين، حسب السن: المراقبة بواسطة
المجهر الضوئي،

يظهر ارتفاع لمناعيين الأجسام المضادة لمستقبلات الاندروجين المستخدمة والمستضد (مستقبلات الاندروجين) المتواجدة في خلايا سيرتوليا والخلايا الشبه عضلية، الخلايا الجنينية (المني، الخلية النطفية او، النطف والحيوانات المنوية) وفي خلايا ليديغ.

وفيا الختام، فإن وجود الضوء في وسط الأنابيب المنوية في سن 3 أسابيع ومؤشر على بداية سن البلوغ عند السمان الياباني.

الكلمات المفتاحية: السمان الياباني، الخصيتين، الفلورة المناعية، مستقبلات الاندروجين.

SOMMAIRE

RESUMES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur la caille domestique

I.1.Historique sur la caille japonaise.....	2
I.2. Classification.....	3
I.3. Description Morphologie	5
I.4. Paramètres de reproduction.....	6
II.4.1. Maturité sexuelle	6
II.4.2. Accouplement.....	6

Chapitre II : Anatomie, histologie et physiologie de l'appareil reproducteur mâle

II.1.Anatomie de l'appareil reproducteur mâle.....	8
II.2. Histologie du testicule.....	10
II.2.1. Spermatogenèse.....	11
II.2.2. Spermatozoïdes.....	14
II.2.2.1.Structure et ultrastructure des spermatozoïdes.....	14
II.2.2.2.Transport, maturation et stockage des spermatozoïdes.....	15
II.3. Physiologie de l'appareil reproducteur mâle.....	16
II.3.1. Régulation des testicules.....	16
II.3.1.1.Androgène testiculaire.....	16
II.3.1.1.1.Biosynthèse des androgènes.....	16
II.3.1.1.2. Sécrétion et transport des androgènes.....	16
II.3.1.1.3. Récepteurs des androgènes.....	17
II.3.1.1.4. Rôle des androgènes dans la fonction de reproduction	17

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

I. Matériel animal.....	18
I.1. Conduite d'élevage.....	18
II. Méthodes	19
II.1. Protocole d'immunohistochimie.....	19

RESULTATS

III.1. Structure histologique des testicules au cours de croissance.....	29
III.2. Analyse de l'immunomarquage des récepteurs aux androgènes au niveau des testicules	31

DISCUSSION	35
-------------------	----

CONCLUSION ET PERSPECTIVES	38
-----------------------------------	----

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	39
------------------------------------	----

Liste des figures

Figure 1 :	Différents espèce de la caille	4
Figure 2 :	Anatomie du tractus génital mâle au repos et en période de reproduction....	9
Figure3 :	Diagramme de la spermatogénèse.....	13
Figure 4:	Ultrastructure d'un spermatozoïde de coq.....	15
Figure 5 :	Entrée du centre Cynégétique de Zéralda.....	18
Figure 6:	Cailleaux installés dans la poussinière.....	19
Figure 7 :	Prélèvement dans une cassette portant les références de l'animal	20
Figure 8 :	Cassettes immergées dans le fixateur.....	20
Figure 9:	Moules métalliques.....	21
Figure 10:	Mobilisation du prélèvement au fond du moule métallique.....	21
Figure 11:	Blocs de paraffine.....	21
Figure 12:	Coupe au microtome type Leica.....	22
Figure 13:	Etallement du ruban de coupe sur un plateau.....	22
Figure 14:	Coupe flottante dans le bain- marie.....	22
Figure 15 :	Récupération de la coupe à l'aide d'une lame.....	22
Figure 16 :	Boîte (A) et lames (B) de type « Superfrost plus ».....	23
Figure 17 :	Batterie de déparaffinage.....	24
Figure 18:	Bacs de rinçage au PBS.....	24
Figure 19:	Solution de PBS.....	24
Figure 20:	Solution de démasquage	24
Figure 21:	Cocotte-minute « SEB ».....	25
Figure 22:	Cocotte-minute sous pression.....	25
Figure 23:	Chambre humide sur un agitateur va et vient.....	25
Figure 24:	Kit VECTASTAIN (A) et les réactifs (B) du kit VECTASTAIN.....	26
Figure 25:	Kit de blocage des biotines endogènes(A) et produits (B) du kit.....	26
Figure 26:	Liquide de montage « Eukitt ».....	27
Figure 27:	Lame prête à être observée	27
Figure 28 :	Microscope photonique.....	27

Figure 29 :	Histologie des coupes transversales des testicules des cailleaux âgés de 1jour.....	30
Figure 30 :	Histologie des coupes transversales des testicules des cailleaux âgés de 3 semaines (A) et 7 semaines (B).....	30
Figure 31 :	Immunolocalisation des récepteurs aux androgènes au niveau des coupes transversales de testicules des cailleaux âgés de 1 jour.....	32
Figure 32 :	Coupe transversale des testicules des cailleaux âgés de 1 jour.....	32
Figure 33:	Immunolocalisation des récepteurs aux androgènes au niveau des coupes transversales de testicules des cailleaux, âgés de 3 semaines.....	33
Figure 34 :	Immunolocalisation des récepteurs aux androgènes au niveau des coupes transversales de testicules des cailles, âgés de 7 semaine.....	33
Figure 35 :	Coupe transversale des testicules des cailleaux âgés de 1 jour :Contrôle négatif.....	34

INTRODUCTION

Depuis environ un siècle, la production avicole s'est considérablement développée dans le monde, en quantité comme en qualité. Elle possède une place importante dans le cadre de l'apport de protéines animales dans l'alimentation humaine. La consommation de viande de volaille constitue en effet 20 à 25% de la consommation totale de viande dans le monde. Dans les pays en développement, cette part est de 30% minimum. Selon la FAO (Food Agriculture Organization) la production mondiale de viande de volaille est actuellement d'environ 134,5 millions de tonnes par an et la viande de volaille devrait être la plus consommée dans le monde à partir de 2020 (Nguyen, 2015).

L'aviculture s'est principalement intéressée à la production d'œufs de poule et de poulets de chair. Mais depuis un certain temps, l'élevage de la caille ou coturniculture, a attiré l'attention des spécialistes comme nouvelle piste de diversification de l'élevage de volailles, en offrant aux consommateurs de nouveaux choix de goût et en renforçant la production de viande pour faire face à la demande de plus en plus accrue en protéines animales (Ukashatu et *al.*, 2014).

La caille japonaise (*Coturnix japonica*) est un oiseau rustique, de petite taille, caractérisé par une croissance rapide, une maturité sexuelle précoce, un court intervalle de génération, une forte ponte et des exigences (en alimentation et en espace) moins importantes par rapport aux autres espèces de volailles (Nanda et *al.*, 2015 ; Sarabmeet et Mandal, 2015).

L'objectif de notre travail est de reconnaître la localisation des récepteurs aux androgènes chez la caille japonaise au cours de la croissance postnatal ainsi de savoir l'âge de puberté chez cette espèce.

Le suivi à l'aide de technique d'immunohistochimie des récepteurs aux androgènes chez la caille japonaise permet de mettre en évidence des différentes localisations de ces derniers en fonction de l'âge (1 jour, 3 et 7 semaines).

Dans une première partie, nous abordons l'anatomie et l'histologie de l'appareil génital mâle chez les oiseaux. Dans une deuxième partie, nous allons aborder la technique d'immunohistochimie. Notre expérimentation sera consacrée à la réalisation de la technique d'immunohistochimie sur des coupes histologiques des testicules de la caille japonaise au cours de la croissance post-natal.

I. Généralités sur la caille domestique

I.1. Historique sur la caille japonaise

La caille japonaise (*Coturnix coturnix japonica*) est un petit oiseau aviaire domestiqué de l'ordre des galliformes et de la famille des phasianidés (Mills et *al.*, 1997). Les cailles ressemblent beaucoup aux perdrix, bien qu'on compte près de 200 espèces différentes de caille. Les plus communes sont la caille japonaise et la caille européenne. Seule la caille japonaise a pu être domestiquée et élevée à travers le monde (Gelin, 2013).

La domestication de la caille aurait été initiée simultanément en Chine, Corée et le Japon dans les années 1300. Au Japon, il a été noté vers 1590 un intérêt pour la caille comme animal de distraction (chant du mâle) et de plus en plus pour l'alimentation (Gelin, 2013). Le premier ouvrage écrit sur la caille japonaise remonte au 12^{ème} siècle (Lucotte, 1975).

La caille japonaise a été introduite en Europe dans les années 50. Et peu à peu, elle a gagné d'autres régions du monde (Vali, 2008) comme l'Algérie.

Les cailles sont élevées depuis très longtemps et gagnent en popularité en raison de certaines caractéristiques en commun avec la poule. Premièrement, la caille a atteint une importance économique en tant qu'espèce produisant des œufs et de la viande qui sont appréciés pour leur saveur unique (Kayang et *al.*, 2004). La production des œufs est importante au Japon et en Asie du Sud-Est, alors que la viande est le principal produit de l'élevage en Europe (Baumgartner, 1994 ; Minvielle, 1998). Deuxièmement, le faible coût d'entretien lié à sa petite taille (80 - 300g), son court intervalle de génération (3-4 génération par an), sa résistance aux maladies et sa production élevée d'œufs, a rendu la caille un excellent animal de laboratoire (Oguz et Minvielle, 2001). Troisièmement, la caille japonaise est également la plus petite espèce aviaire élevée pour la production de viande et d'œufs (Baumgartner, 1994). Ainsi, elle a été largement employée dans de nombreuses études scientifiques (Kayang et *al.*, 2004).

I.2. Classification

Selon Lucotte (1975) et Menassé (1986), la caille japonaise est un oiseau appartenant à :

- Règne : Animalia
- Embranchement : Chordata
- Classe : Aves
- Ordre : Galliformes
- Famille : Phasianidae
- Sous famille : Perdicinae
- Genre : *Coturnix*

Il existe plusieurs espèces : *Coturnix coturnix* (Caille des blés), *Coturnix japonica* (Caille du Japon), *Coturnix coromandelica* (Caille nattée), *Coturnix delegorguei* (Caille arlequin), *Coturnix pectoralis* (Caille des chaumes), *Coturnix novaezelandiae* (Caille de Nouvelle-Zélande), *Coturnix ypsilophora* (Caille tasmane) (voir figure 1).



Coturnix coturnix
(Caille des blés)



Coturnix japonica
(Caille du Japon)



Coturnix coromandelica
(Caille nattée)



Coturnix delegorguei
(Caille arlequin)



Coturnix pectoralis (Caille
des chaumes)



Coturnix novaezelandiae
(Caille de Nouvelle-Zélande)



Coturnix ypsilophora (Caille
tasmane)



Caille peinte



Caille bleue

Figure 1 : Différentes espèce de la caille

La caille peinte et la caille bleue étaient autrefois classées dans ce genre, avant d'être reclassées dans leur propre genre, *Excalfactoria*.

I.3. Description morphologique

La caille est plus petite que la perdrix et ne mesure environ que 18 centimètres de longueur. C'est un oiseau rustique, au corps arrondi, massif, couvert d'un plumage dense, de couleur plus au moins vive (Menassé, 1986). Elle possède un bec court et solide dont les mandibules inférieures sont légèrement dentées (Bielfld, 1992). Les ailes ne sont pas très longues mais très solides ; la queue est généralement très courte et de taille similaire en longueur chez les deux sexes, et souvent entièrement recouverte par les plumes de couvertures caudales (Menassé, 1986). Les pattes sont gris orangé et bien développées avec trois doigts antérieurs liés à la base par une membrane très fine et un doigt postérieur libre de dimension réduite (Laroche et Rousselet, 1990).

La connaissance du sexe est très importante pour le praticien lors de l'élaboration du diagnostic différentiel. Elle permet aussi au propriétaire de prévoir et donc de comprendre les changements comportementaux intervenant à la maturité sexuelle, C'est aussi le préalable obligatoire à toute tentative de reproduction d'une espèce (Ludovic, 2004).

Pour la plupart des espèces d'oiseaux, le dimorphisme sexuel n'est pas apparent ou ne se révèle que tardivement. Une diagnose du sexe ne se basant pas sur la clinique, ne peut alors se faire que grâce à l'écoute du chant ou à la visualisation d'un comportement sexuellement spécifique (comportement de reproduction : cour) (Rival, 1998). Il est à noter que chez la caille, le sexage se fait par la détermination de la couleur du plumage, qui reste le meilleur moyen pour d'identification du sexe à partir de la 3^{ème} semaine d'âge (Lucotte, 1975).

A partir de la troisième semaine d'âge, la distinction entre les deux sexes est donc possible. Les mâles présentent une couleur marron rougeâtre du cou et de la gorge tandis que les femelles présentent une couleur grise ou beige avec des tâches rondes noires du cou et de gorge (Oriol, 1987).

I.4. Paramètres de reproduction

I.4.1. Maturité sexuelle

La caille japonaise est une espèce vue son âge à la maturité sexuelle qui est atteint entre 4 semaines à 8 semaines d'âge, cela dépend de la durée de la lumière, une durée de lumière de 16 h/j peut donner des œufs fertiles à 6 semaines d'âge (Kovach, 1974).

Au cours des travaux d'Ottinger (1979), il a été constaté que la première présence des spermatozoïdes chez le mâle se situait vers 26^{ème} jour d'âge et à 35 jour d'âge leur nombre est plus important, le développement cloacal est atteint et le comportement sexuel commence au 35^{ème} jour, au 81^{ème} jour la copulation est maximale.

Plusieurs facteurs jouent sur ce paramètre :

- Sauveur (1988), a constaté que le développement des gonades exige un jour subjectif de 13 à 14 h/j, cela conduit à une maturité sexuelle après 5 à 6 semaines d'âge, alors que le pic de ponte est atteint à la 8^{ème} ou la 9^{ème} semaine d'âge.
- Un programme lumineux continu avance la maturité sexuelle à 35 jours d'âge et le début de ponte à 42 jours.
- La présence des deux sexes durant la phase d'élevage joue sur leur maturité sexuelle, d'après Guyomarch (1984), les vocalisations des mâles stimulent la maturité sexuelle des femelles.
- Delville et *al.* (1984) ont constaté que les mâles vivants avec les femelles arrivent à leur maturité sexuelle avant ceux vivants en sexe unique.
- Hazard et *al.* (2005) ont rapporté que la maturité sexuelle est acquise à 6 semaines d'âge chez une caille femelle et mâle exposés à un programme lumineux continu au cours des 3 premières semaines d'âge après éclosion et de 16 heures de lumière après cette période d'âge.

I.4.2. Accouplement

L'accouplement chez la caille du Japon ne dure que quelques minutes et consiste à de multiples copulations. Après quelque mouvement d'approche et de poursuite de la femelle par le mâle, il maintient la femelle par les plumes du sommet de la tête ou du cou puis établit le contact cloacal (Oriol, 1987). Une fois que le cochage est terminé, le mâle libère sa prise et descend ; les deux oiseaux secouent leurs plumes et le mâle peut répéter sa parade ou chanter (Kovach, 1974).

Les organes sexuels des oiseaux ont un volume réduit en dehors de la saison de reproduction en raison d'une adaptation au vol, Leur poids peut cependant être multiplié par cinq cents au cours de la saison de reproduction (Villate, 2001).

II. Anatomie, histologie et physiologie de l'appareil reproducteur mâle chez les oiseaux

II.1. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle chez les oiseaux

Chez les mâles, l'ensemble des organes sexuels sont internes et contrairement à ce que l'on observe chez la plupart des mammifères, les testicules ne migrent pas et donc demeurent sur leur site d'origine embryologique (Walter, 2007). L'appareil génital des mâles (Figure 2), consiste en deux tractus droit et gauche constitués chacun d'un testicule, d'un épидидyme et d'un conduit déférent sinueux qui chemine le long de l'uretère (Johnson, 2000).

- **Les testicules** sont suspendus à la paroi abdominale par un court mésorchium (Doneley, 2011). Ce dernier sert d'attache au testicule mais c'est aussi le support des vaisseaux et des nerfs qui le desservent (Johnson, 2000). Les gonades sont localisées au niveau du pôle crânial des reins, caudalement aux glandes surrénales, en rapport avec le foie et le pro-ventricule (Braun, 2004). La couleur des testicules est normalement blanchâtre même si elle peut devenir grise ou noire en liaison avec la présence de pigments de mélanine dans les mélanocytes du tissu conjonctif de chaque testicule (Walter, 2007).

Bien que les deux testicules soient positionnés de manière symétrique par rapport au plan médian, ils sont souvent de taille asymétrique. Le testicule gauche est généralement plus grand que le droit chez de nombreuses espèces d'oiseaux, comme par exemple dans environ 60% des individus chez le coq domestique. Cependant chez certaines espèces, c'est le testicule droit qui est plus souvent de taille supérieure au gauche, comme chez la tourterelle rieuse (*Streptopelia risoria*) (Walter, 2007). Le poids testiculaire subit des variations saisonnières très importantes.

Cette croissance est due à l'augmentation de la longueur et du diamètre des tubes séminifères ainsi que du nombre de cellules de Leydig et de cellules interstitielles (Braun, 2004).

Chaque testicule est entouré d'une fine capsule d'environ 80-90 µm d'épaisseur selon les espèces, ce qui en fait une structure relativement fragile. Une exception concerne l'autruche d'Afrique (*Struthio camelo*) chez qui la capsule est plus ferme et atteint une épaisseur moyenne de 578 µm. La capsule est constituée de la *tunica serosa*, de la *tunica adventitia* et de la *tunica vasculosa* (Walter, 2007).

-L'**épididyme** est localisé au bord dorso-médial du testicule au niveau du hile. Il est constitué du rete testis, des canaux efférents, des canaux de connexion et du canal épидидymaire. L'ensemble de ces canaux se déversent dans le canal déférent (Johnson, 2000).

- **les canaux déférents** longent les uretères en formant de plus en plus de replis au fur et à mesure que l'on approche du cloaque et se jettent dans l'**urodeum** en formant une ampoule séminale ou **glomus séminal** (Sauveur et Revier, 1988; Braun, 2004). Les muscles bulbo-caverneux compriment cette ampoule pendant l'accouplement, faisant jaillir le sperme dans le cloaque ou le vagin de la femelle (Villate, 2001). Ce glomus séminal est parfois visible, faisant protrusion sous la paroi abdominale, c'est un élément de la diagnose du sexe en période d'activité reproductrice (Braun, 2004).

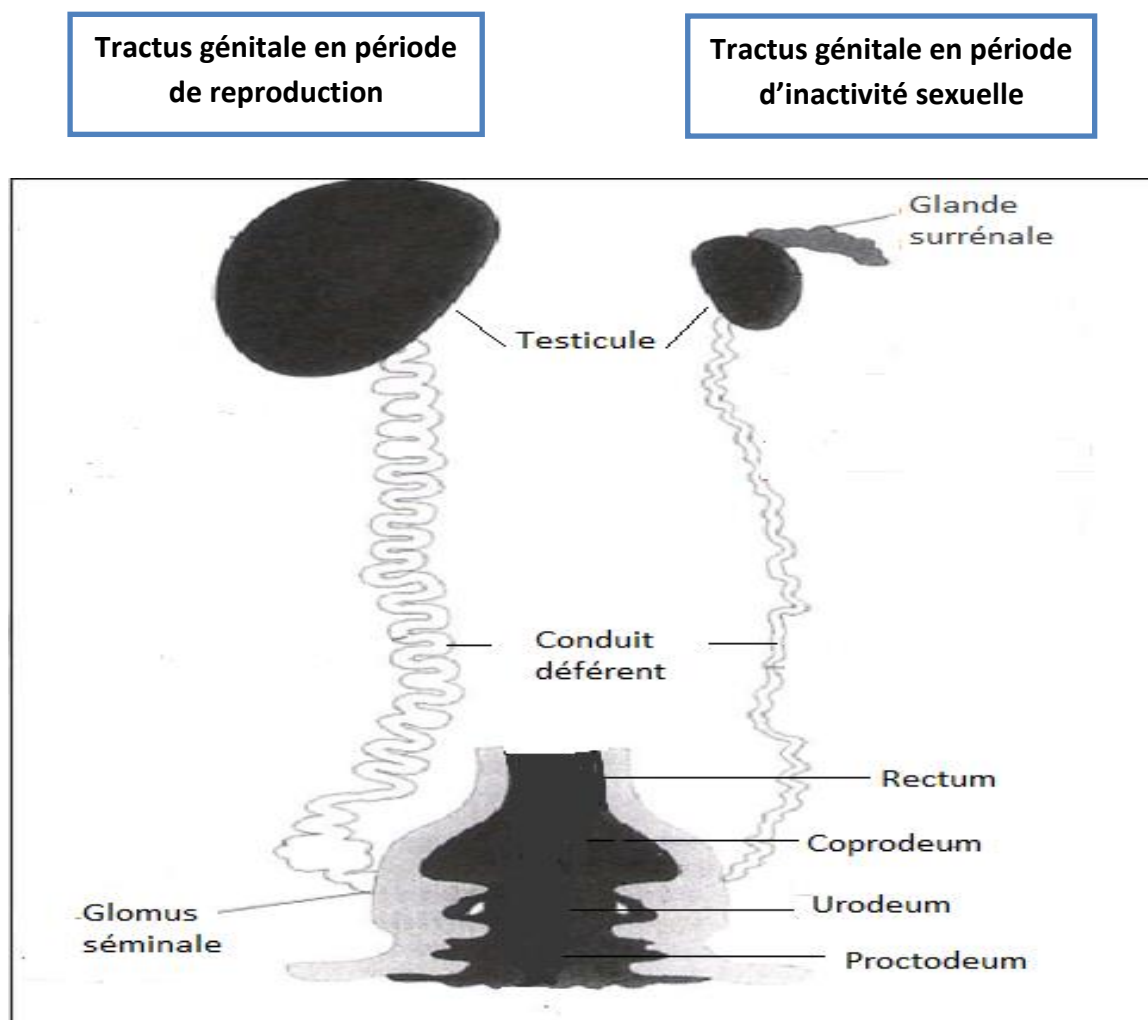


Figure 2 : Anatomie du tractus génital mâle au repos et en période de reproduction (Johnson, 2000).

Les modifications des Tractus génital :

- **en période de reproduction**
 - ✓ Augmentation importante de la taille des testicules.
 - ✓ Conduit déférent plus large et présentant de nombreuses circonvolutions.
- **en période d'inactivité sexuelle**
 - ✓ Les testicules sont de petite taille et inactifs.

Au niveau du cloaque, un **phallus** peut être présent. Il n'existe que chez les struthioniformes (émeu, kiwi, autruche, nandou, casoar), les tinamiformes (tinamou), les ansériformes (canard, oie, cygne, canarioie, kamichi) et les galliformes (dinde, poule, pintade, caille, faisan) (Walter, 2007). Ce phallus est selon les espèces protusible (struthioniformes), ou présent mais non protusible (galliformes). Il est absent chez la majorité des oiseaux dont les psittacidés. Le phallus est situé sur le plancher du **proctodeum** et il s'éverse partiellement durant la miction et la défécation (Braun, 2004). Il n'y a pas d'organes ou de glandes accessoires de la reproduction connus chez les oiseaux (Walter, 2007).

L'irrigation des testicules est permise par une courte artère testiculaire qui provient de l'artère rénale crâniale et par une, voire deux courtes artères testiculaires accessoires qui prennent leur origine directement au niveau de l'aorte. La partie crâniale du conduit déférent est également irriguée par l'artère rénale crâniale, la partie moyenne par les artères rénales médianes et caudales, et la partie caudale par l'artère honteuse dont certaines branches vont également irriguer le cloaque et le phallus. Le drainage veineux des testicules est assuré par de grosses et courtes veines qui se terminent dans la veine cave caudale. Le conduit déférent est drainé par les veines satellites des artères qui irriguent cette région (Walter, 2007).

II.2.Histologie du testicule

La capsule testiculaire de la caille, sur le plan histologique, est mince, composée de trois couches : la couche la plus externe, la tunique séreuse qui provient du péritoine; une couche plus épaisse, l'albuginée et une couche plus profonde et souvent mal différencié, tunica vasculos (Hodges, 1974; Lake, 1981).

Les cloisons testiculaires sont absentes chez la caille (Hodges, 1974; Lake, 1981).

Le testicule n'est pas clairement divisé en lobe car il est cloisonné par l'existence d'un tissu conjonctif interstitiel peu abondant entre les tubes séminifères adjacents (Hodges, 1974; Lake, 1981; Al-Tememy, 2010).

Le tissu périvitubulaire délimitant les tubes séminifères est présent chez toutes les espèces de mammifères (Maekawa et *al.*, 1996) et chez plusieurs oiseaux (Rothwell et Tingari, 1973; Aire, 1997). Ce tissu comprend des cellules musculaires lisses (myoïdes) chez divers espèces de oiseaux (Rothwell et Tingari, 1973; Aire, 1997). Chez la caille, les tubes séminifères sont entourés par une gaine mince composée de fibres de tissu conjonctif, des cellules myoïdes et des fibres musculaires lisses (Al-Tememy, 2010).

La capsule testiculaire et le tissu péri tubulaire ont un rôle dans la propulsion des spermatozoïdes hors des testicules et ceci grâce à la contractions des différents fibroblastes (actines, desmine et vimentine) (Clulow et Jones, 1988; Aire et Ozegbe, 2007).

La paroi de l'épithélium des tubes séminifères contient 2 types de cellules : des cellules de Sertoli (cellules de soutien) et des cellules germinales (Sauveur, 1988).

Chez la caille, les tubes séminifères se prolongent dans l'épididyme et donnent la forme de tubules striés (*tubuli recti*) caractérisés par un faible diamètre et délimités uniquement par des cellules de sertoli. Ces tubules striés vont s'anastomosés pour former le rete Testis qui est en contact direct avec les conduits efférents (Al-Tememy, 2010).

II.2.1. Spermatogenèse

La spermatogenèse est un processus de formation de gamète mâle à savoir les spermatozoïdes (Toukam, 2007). Elle se déroule dans les tubes séminifères, elle se début à la puberté et elle est principalement contrôlée par les hormones hypophysaires (FSH et LH).

La durée de la spermatogénèse chez la caille du japon est de 13 jours (Amir et *al.*, 1973; lin et Jones, 1992). Les spermatozoïdes apparaissent 11^{ème} jours après le début de la spermatogénèse dans l'épididyme et 12 jours dans la partie distale du canal déférent et le transit des spermatozoïdes dans les voies déférentes nécessite 24h (Amir et *al.*, 1973).

En absence de femelle, le canal déférent peut servir comme étant un lieu de stockage transitoire de spermatozoïdes non éjaculés. Par contre en présence de femelles, les spermatozoïdes stocké seront éliminés une journée plus tard (Amir et *al.*, 1973).

L'identification des types de spermatogonie présentes dans l'épithélium séminifère des testicules aviaires a été proposé par Reviere (1971) chez le poulet, Brillard (1981) chez la volaille de Guinée et par Lin et Jones (1992; 1993) chez la caille du japon.

Quatre types de spermatogonies ont été décrits chez la caille du japon (Bakst et *al.*, 2007) qui diffèrent selon leur coloration et leurs ultrastructures : des spermatogonies sombres (dark) appelé aussi spermatogonie Ad, elle est considérée comme spermatogonie

souche ; deux types de spermatogonies pâles (Ap1 et Ap2), qui sont à des stades intermédiaires et ne peuvent être différenciés que par la microscopie électronique à transmission et les spermatogonies B.

La spermatogénèse est divisée en 3 phases (**Figure 2**) :

- a. phase de multiplication :** selon Lin et Jones(1992), chaque spermatogonie souche Ad subit une division mitotique pour donner une nouvelle cellule Ad et une autre spermatogonie Ap1 ; cette dernière se divise à son tour en 2 cellules filles, Ap2. Chaque Ap2 se divise pour donner 2 spermatogonies B. Vers la fin de cette phase, la spermatogonie B se divise par mitose et donne 2spermatocytes primaires.
- b. Phase de maturation (méiose I et méiose II) :** les spermatocytes primaires subissent une première division méiotique (Division réductionnelle) donnant ainsi naissance à des spermatocytes secondaires et des spermatides à la fin de la deuxième division méiotique (Division équationnelle).

Le rendement de ces divisions cellulaires mitotique et méiotique, à partir d'une cellule germinale Ad (cellule diploïde à $2n$ chromosomes), on aboutit à 32 spermatides (cellule haploïde à n chromosome) (Lin et Jones, 1992).

- c. Phase de différenciation (spermiogénèse) :** cette phase est définie comme étant la transformation morphologique profonde aboutissant à un spermatozoïde immature. Ce dernier est composé : d'une tête contenant un acrosome, un perforatorium et un noyau ; d'une pièce intermédiaire contenant des mitochondries et d'une queue appelée flagelle.

La spermiogénèse, décrite par Lin et *al.* (1990),est subdivisée en 12 étapes allant d'une spermatide ronde a un spermatozoïde immature. Cette dernière phase est achevée par la libération des spermatozoïdes à partir des cellules de Sertoli dans la lumière du tube séminifère.Ce phénomène est appelé spermiation.

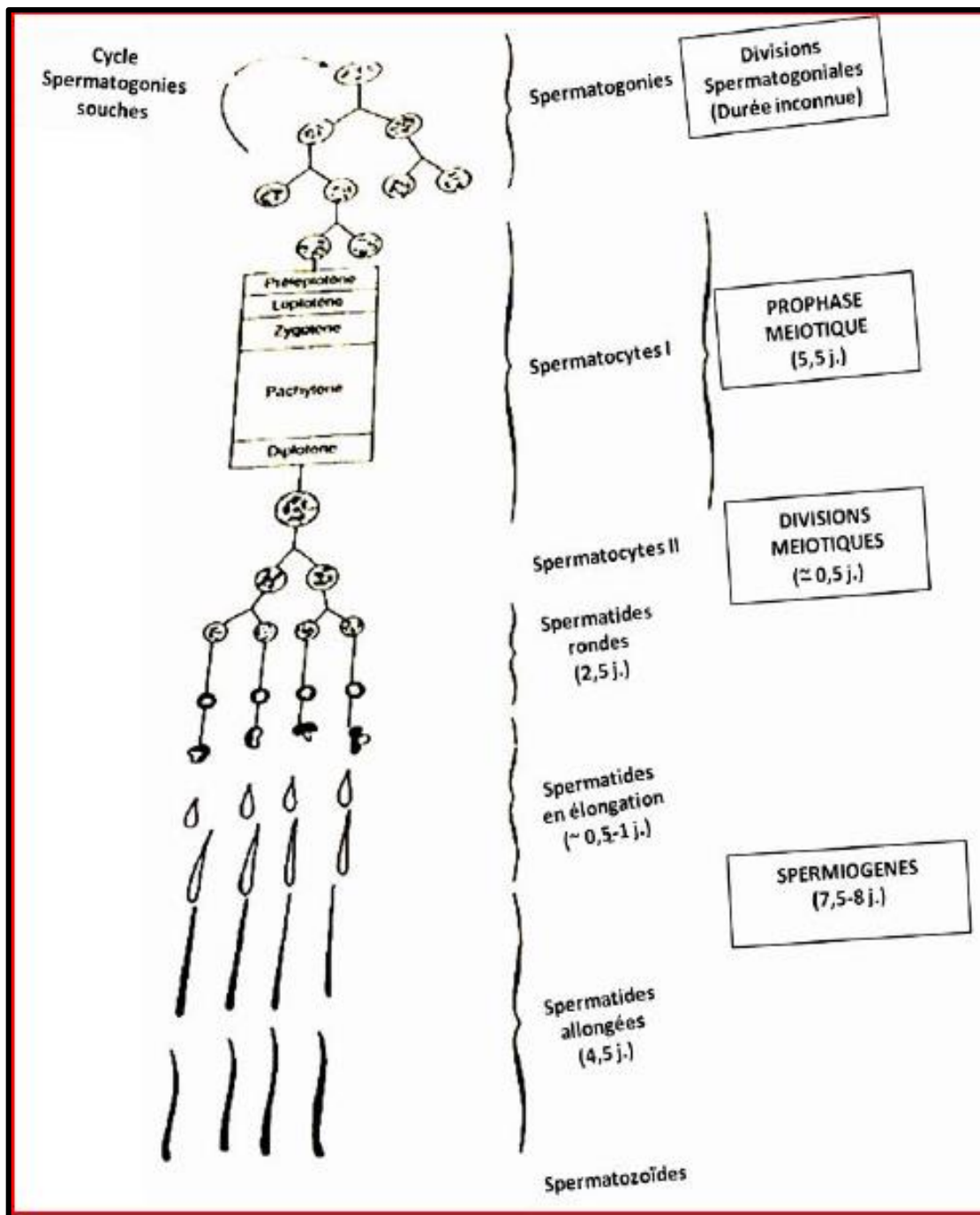


Figure3 : Diagramme de la spermatogénèse .Le nombre et la durée des divisions spermatogoniales ne sont pas connus chez le coq (Reviere, 1988)

II.2.2. Spermatozoïdes

II.2.2.1. Structure et ultrastructure des spermatozoïdes

Korn *et al.* (2000) ont donné une description des spermatozoïdes chez la caille du Japon.

La caille du Japon a des spermatozoïdes identiques à ceux des sauropsiens, ce qui est typique des non passereaux. Les caractéristiques sont les suivantes :

- Une forme vermiforme avec 0,6 μ de largeur et entre 230 et 250 μ de longueur
- Un acrosome de 3,7 à 4,5 μ
- Un noyau de 20,8 à 23,8 μ
- Une pièce intermédiaire de 160 à 170 μ de longueur et qui représente 64 à 74% de la longueur totale du spermatozoïde
- Une queue de 40 à 60 μ .

Les caractéristiques observées au microscope électronique à transmission sont les suivantes :

- L'acrosome ne contient pas des granules denses entourant le perforatorium par rapport à ceux des mammifères. L'extrémité postérieure du perforatorium s'insère au niveau du noyau.
- Le centriole distal observé donne lieu à l'axonème à structure micro tubulaire.
- L'axonème est entouré par une gaine spirale de mitochondries dans la région de la pièce intermédiaire. Le nombre de mitochondries est estimé à 1400 par spermatozoïde, ce qui est énorme par rapport à celui de la dinde qui ne contient que 20 à 30 mitochondries par spermatozoïde.
- Un perforatorium est une structure rigide à base d'actine et de myosine, retrouvé également chez les rongeurs, les batraciens et de nombreux invertébrés.

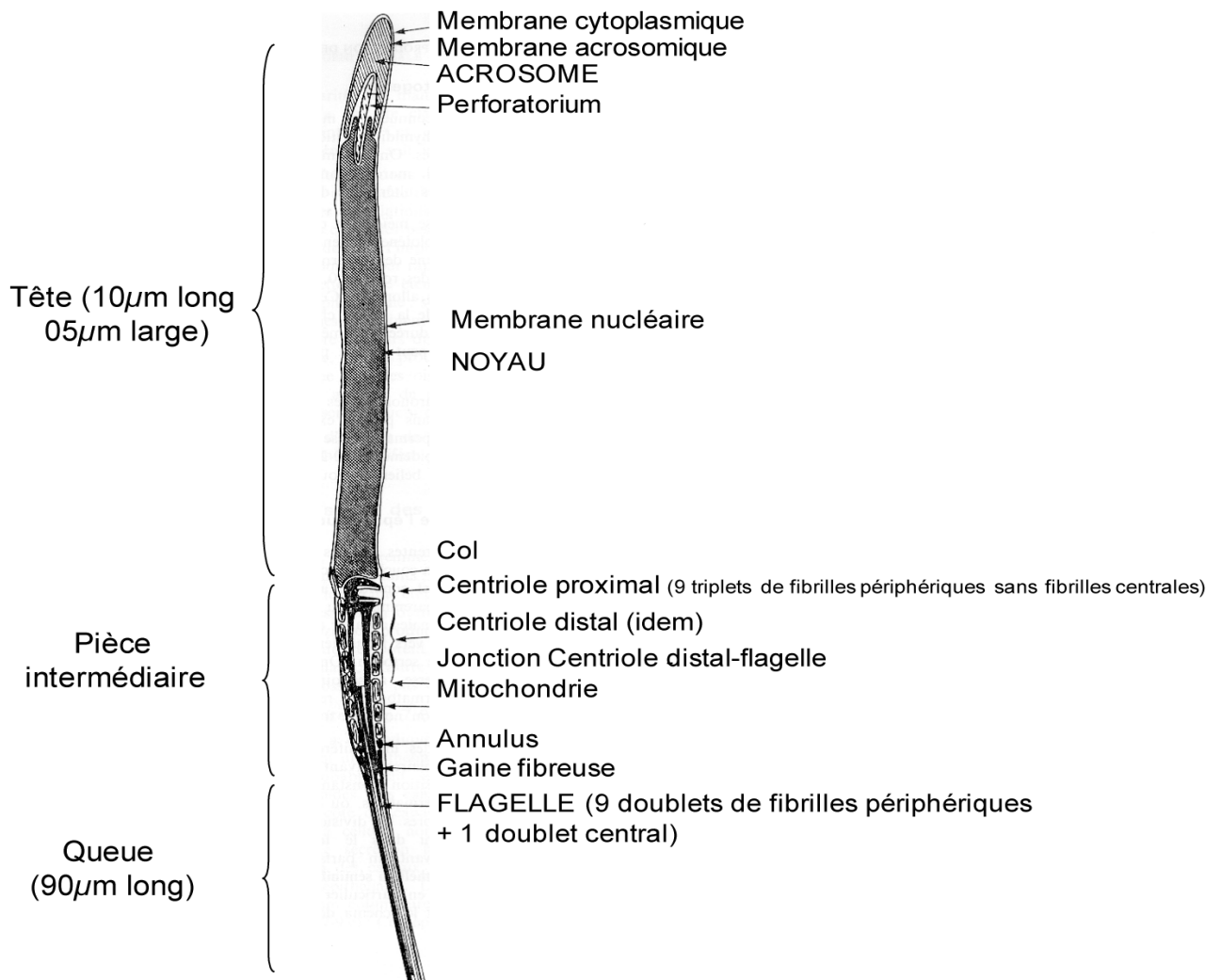


Figure 4: Ultrastructure d'un spermatozoïde de coq (Reviere, 1988)

II.2.2.2. Transport, maturation et stockage des spermatozoïdes

Selon Clulow et Jones (1982), les mâles de la caille du Japon possèdent de grandes testicules (environ 2,26% du poids corporel total), une durée de spermatogénèse de 14,4-15,8 jours et une production efficace de spermatozoïdes ($92,5 \times 10^6$ /g de testicule/jour). Les spermatozoïdes sont transportés à travers les conduits génitaux durant 24h; subissent la maturation dans la région épидидymaire et stockés dans le canal déférent. Si les spermatozoïdes restent plus de 3 jours dans le canal déférent, ils perdent leurs motilités.

II.3. Physiologie de l'appareil reproducteur mâle

II.3.1. Régulation des testicules

II.3.1.1. Androgène testiculaire

II.3.1.1.1. Biosynthèse des androgènes

Hormones stéroïdes à dix-neuf atomes de carbone, les androgènes naturels sont bio synthétisés par les gonades, ovaires et testicules (et dans ces derniers par les cellules de Leydig), et par les corticosurrénales (zone réticulée). La testostérone est chez le mâle le principal androgène parmi ceux qui circulent dans le sang. D'activité plus faible et produite en outre à concentrations moindres, l'androsténone est élaborée surtout dans les testicules, alors que la déhydroépiandrostérone (DHEA) est biosynthétisée en majorité dans les glandes corticosurrénales. Ces deux stéroïdes sont en fait des précurseurs de la testostérone. La biosynthèse des androgènes, qu'elle ait lieu dans les testicules ou dans les corticosurrénales, fait appel aux mêmes systèmes enzymatiques et au même intermédiaire, la prégnénolone, commune aux diverses hormones stéroïdes. Deux voies métaboliques sont possibles. L'une, prépondérante, débute par la transformation de la prégnénolone en progestérone suivie de son hydroxylation en 17α et de la métabolisation en androsténone, précurseur de la testostérone. L'autre, minoritaire, met en jeu des enzymes.

II.3.1.1.2. Sécrétion et transport des androgènes

La testostérone se diffuse librement à travers les membranes plasmiques des cellules de Leydig et dans le sang veineux. Dans le plasma, la testostérone circule sous 3 formes :

- 2 % sous forme libre (c'est la seule forme utilisable directement par les tissus) ;
- 45-75 % sont liés à la protéine de transport des stéroïdes sexuels dont la SHBG (Sex Hormon Binding Globulin) ;
- 30 à 55 % sous forme liée à l'albumine (Tostain et *al.*, 2004). La testostérone liée à la SHBG, contrairement à la fraction liée à l'albumine, se dissocie difficilement et n'est pas disponible pour l'utilisation tissulaire. La testostérone bio-disponible représente la somme de la testostérone libre et de la testostérone liée à l'albumine, soit 40 à 50% de la testostérone totale. Les protéines de liaison servent de réserve de stéroïdes qui, autrement, seraient rapidement métabolisées par le foie (Reveiller, 2008).

II.3.1.1.3. Récepteurs des androgènes

Le récepteur des androgènes est une protéine intracellulaire qui fait partie de la grande famille des facteurs de transcription à médiation hormonale. Le récepteur androgénique facilite les actions biologiques des androgènes physiologiques tels que la testostérone et la 5 α -dihydrotestostérone. Le complexe androgène-récepteur régule les réponses du développement dans les organes sexuels annexes en modulant la transcription génétique spécifique de la synthèse des RA (Nussey et Whitehead, 2001; Gayrard, 2007).

II.3.1.1.4. Rôle des androgènes dans la fonction de reproduction

Les androgènes jouent un rôle essentiel dans l'apparition et le développement des caractères sexuels secondaires du mâle et aussi dans l'apparition et le maintien de la spermatogenèse.

Au cours du développement, le testicule fœtal a un rôle dans la morphogénèse et exerce un contrôle sur la différenciation des organes génitaux. Le développement des canaux de Wolff et la régression des voies génitales femelles dérivées des canaux de Müller sont induits par les androgènes (Gayrard, 2007).

Par conséquent, tout déséquilibre détermine une perturbation de la différenciation des voies génitales externes, en particulier dans le cas d'une hyper androgénémie (Gayrard, 2007). Au cours de la puberté, la production des androgènes, de LH et de FSH augmente et les cordons sexuels se creusent, formant les tubes séminifères. Les cellules germinales commencent à se différencier en spermatozoïdes. Pendant toute la vie adulte, les androgènes et la FSH coopèrent et agissent sur les cellules de Sertoli dans les testicules pour soutenir la production continue de spermatozoïdes (Nussey et Whitehead, 2001).

I. Matériel animal

L'expérimentation a été menée sur des cailles du japon (*Coturnix japonica*), issues et élevées au niveau du Centre Cynégétique de Zéralda (CCZ) (Figure 5).



Figure 5 : Entrée du centre Cynégétique de Zéralda

I.1. Conduite d'élevage

Sexe : Mâle

Effectif total : 30 cailles à raison de 10 cailles / âge

Age : 1j après éclosion, 3 semaines et 7 semaines

Période de travail : 2 mois (Avril-Mai 2017)

Conditions d'élevage :

*Température

- **De 1j à 1 semaine :** T° : 38 à 40°C
- **De 2 à 3 semaines :** T° : 34-35°C
- **De 3 à 7 semaines :** T° : 20 - 30°C

***Alimentation :** de type poulet de chair "croissance", composé de maïs, de tourteaux de soja, d'un complexe de minéraux et de vitamines, d'un antioxydant et d'un anticoccidien.

- Alimentation et l'eau en *ad libitum* (figure 6).
- Le sacrifice des animaux se fait à l'âge de 1 jour, 3 semaines et 7 semaines.



Figure 6: Cailleaux installés dans la poussinière

II. Méthodes

II.1. Protocole d'immunohistochimie

Les étapes de la technique d'immunohistochimie sont les suivantes :

Première étape: Préparation des prélèvements par la technique d'histologie

- Les tissus prélevés sont immédiatement placés dans des cassettes en plastique portant les références de l'animal (Figure 7).
- Les cassettes sont immergées dans le **fixateur** (Formol dilué à 10%) pendant plus de 24h (Figure 8).



Figure 7 : Prélèvement dans une cassette portant les références de l'animal



Figure 8 : Cassettes immergées dans le fixateur

• Ensuite, les prélèvements fixés sont **déshydratés** et **éclaircit** selon le protocole de laboratoire :

- Alcool 70° : 30min
- Alcool 96° : 45 min
- Alcool 96° : 1h
- Alcool 100° : 1h
- Alcool 100° : 1h30min
- Toluène : 30min
- Toluène : 45min

• Les prélèvements déshydratés sont **imprégnés** dans les différents bains de paraffine :

- 1^{er} bain : 15min
- 2^{ème} bain : 30min
- 3^{ème} bain : 1h
- 4^{ème} bain : 1h30min

• Par la suite, les prélèvements testiculaires sont **inclus en paraffine** pour **confectionner des blocs de paraffine**, dont les différentes étapes sont les suivantes :

- Mettre le prélèvement au fond de moule métallique (choisir le moule selon la taille du prélèvement) (Figure 9).
- Couler la paraffine liquide à chaude (56°).
- Immobiliser le prélèvement au milieu du moule (Figure 10).



Figure 9: Moules métalliques (photo originale).

- Laisser refroidir jusqu'à durcissement et obtention d'un bloc de paraffine (Figure 11).



Figure 10: Immobilisation du prélèvement au fond du moule métallique (photo originale).

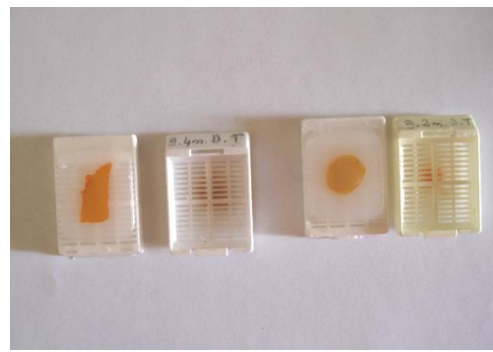


Figure 11: Blocs de paraffine (photo originale).

- Après la confection des blocs, les prélèvements sont **coupés** au microtome avec une épaisseur de coupe de 5 μ m (Figure 12).
- Le ruban obtenu est déposé sur un plateau ; puis à l'aide d'un scalpel, on sélectionne les meilleures coupes (Figure 13).



Figure 12: Coupe au microtome type Leica (photo originale).



Figure 13: Etalement du ruban de coupe sur un plateau (photo originale).

- Afin de ne pas laisser de plis, les coupes sélectionnées sont déposées dans un bain-marie (42C°) (Figure 14).
- Ensuite, les coupes sont récupérées sur une lame silanisée de type «Superfrost plus » (Figure 15 et 16).



Figure 14: Coupe flottante dans le bain-marie (photo originale).



Figure 15: Récupération du coup à l'aide d'une lame (photo originale).

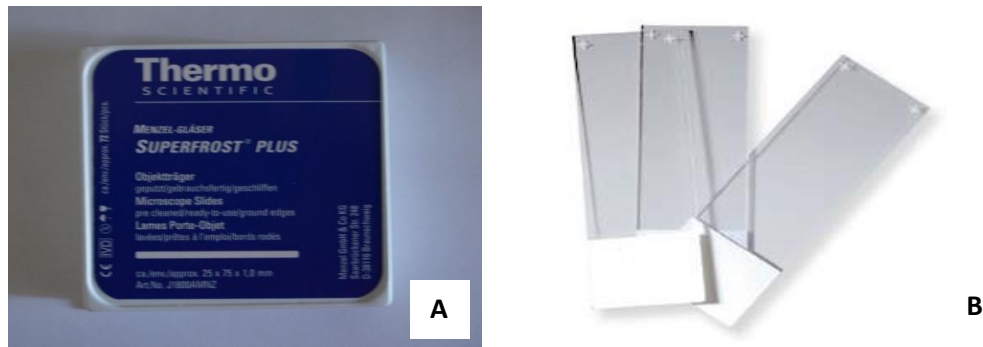


Figure 16: Boîte (A) et lames (B) de type « Superfrost plus »

- Enfin, les lames sont séchées à l'étuve (50°C) pendant 1 heure.

Remarque: On utilise des lames spéciales pour l'immunohistochimie. Ces lames permettent une adhésion sur le verre, grâce à laquelle les coupes de tissus sont d'abord attirées, puis fermement attachées à la surface de la lame par des liaisons chimiques.

Deuxième étape: Avant de commencer l'immunoréaction indirecte, on a fait :

- Un déparaffinage et une hydratation (Figure 17) des prélèvements comme suit :
 - Cyclohexane I : 10min
 - Cyclohexane II : 10min
 - Ethanol à 95° : 5min
 - Ethanol à 70° : 1min
 - Eau courante : passage jusqu'à disparition du trouble.

Les différentes étapes de l'immunomarquage indirect sont les suivantes :

- Les coupes déparaffinées et hydratées sont rincées au PBS (Figure 18 et 19).
- L'excès de PBS est enlevé par égouttage des lames sur papier absorbant.
- Les étapes du démasquage des sites antigéniques sont les suivantes :
 - Agiter la solution de démasquage (Figure 20) (tampon citrate, pH=6) et prélever 15 ml et les diluer dans 1,6 litre d'eau distillée.
 - Mettre le mélange dans la cocotte-minute (Figure 21) et mettre à bouillir sur plaque chauffante.
 - Mettre les lames dans un portoir métallique. Immerger les lames dans la solution de démasquage bouillante et fermer la cocotte-minute.

Matériels et méthodes

- Une fois la cocotte-minute sous pression (Figure 22), laisser les lames 1min. (ne surtout pas ouvrir la cocotte-minute tout de suite) puis passer la cocotte-minute sous l'eau froide jusqu'à ce que la pression descende.
- Ouvrir la cocotte-minute et laisser refroidir pendant 30 min.
- Récupérer le portoir avec une pince en bois.
- Rincer les lames au PBS (Phosphate Buffer Salin) pendant 5 min.
- Après le démasquage, incuber les lames dans le mélange PBS+H₂O₂ à 3% pendant 5min.
- Rincer au PBS.
- Entourer les coupes avec une résine hydrophobe (Daco-pen) et les placers dans une chambre humide sur un agitateur va et vient (Figure 23).



Figure 17 : Batterie de déparaffinage

(photo originale).



Figure 18: Bacs de rinçage au PBS

(photo originale).



Figure 19: Solution de PBS (photo originale).



Figure 20: Solution de démasquage (photo originale).



Figure 21: Cocotte-minute « SEB »

(photo originale).



Figure 22: Cocotte-minute sous pression

(photo originale).



Figure 23: Chambre humide sur un agitateur va et vient

(Photo originale).

- Incuber les lames dans du sérum de cheval (Réactif jaune du kit VECTASTAIN) (Figure 24) à température ambiante, pendant 10 min.
- Les biotines endogènes sont bloquées par le kit de blocage (Avidin/Biotin Blocking Kit) (Figure 25) : incuber les coupes avec la solution Avidine D pendant 15 min. Rincer brièvement avec le PBS ; incuber 15min. Avec une solution Biotine (Figure 19).
- Rincer au PBS.
- L'Ac primaire anti-récepteurs aux androgènes de type polyclonale, produit chez le lapin, est dilué au 1/200 (référence de l'Ac : AR N-20 : sc _816, Santa Cruz) ; puis appliqué pendant une nuit à 4°C.

Matériels et méthodes

- Rincer au PBS, 2×5min. L'Ac secondaire biotinylé, produit chez le cheval, est appliqué (Réactif bleu du kit VECTASTAIN) (Figure 24) pendant 30 min. à température ambiante.
- Rincer au PBS : 2×5min.
- Appliquer le complexe Streptavidine-Peroxydase pendant 30min. à température ambiante (Réactifs gris du kit VECTASTAIN) (Figure 24).
- Rincer au PSB : 2×5min.



Figure 24: Kit VECTASTAIN (A) et les réactifs (B) du kit VECTASTAIN(photo originale).

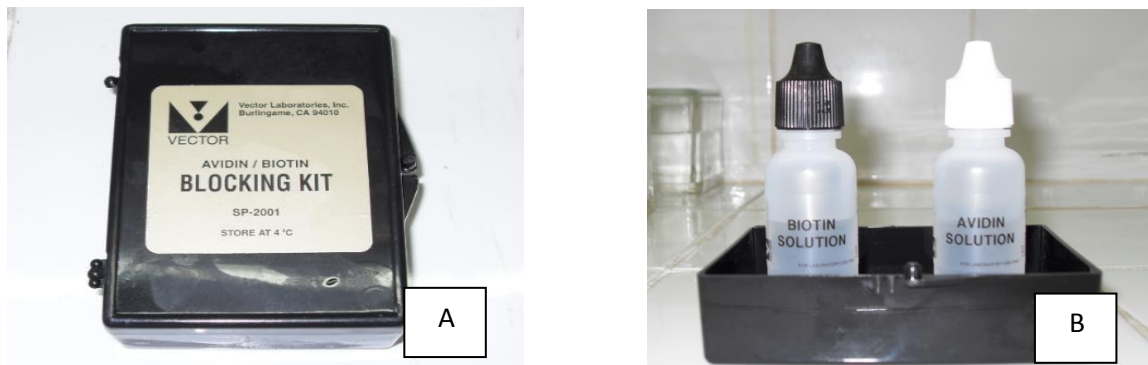


Figure 25: Kit de blocage des biotines endogènes(A) et produits (B) du kit(photo originale).

Matériels et méthodes

- Le chromogène utilisé est la DAB. Il est déposé sur les différentes coupes. L'apparition du marquage est contrôlée sous le microscope photonique.
- Rincer à l'eau distillée.
- Contre colorer à l'hématoxyline pendant 10 secondes.
- Rincer à l'eau du robinet (c'est le pH alcalin de l'eau du robinet qui fait bleuir l'hématoxyline).
- Déshydrater les lames comme suit :
 - Ethanol à 70° : 2min.
 - Ethanol à 95° : 5min.
 - Ethanol à 100° : 5 à 10min.
 - Butanol : 5min.
 - Cyclohexane : 10min.
- Déposer une goutte de liquide de montage « Eukitt » sur la lamelle (Figure 26). Puis, appliquer la lamelle sur la lame en évitant la formation des bulles d'air. Enfin, la lame montée est prête à être observée (Figure 27).



Figure 26: Liquide de montage « Eukitt »
(photo originale).

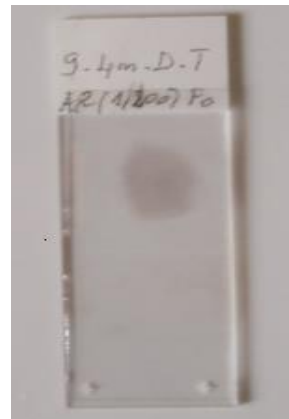


Figure 27: Lame prête à être
observée (photo originale).

- Les lames montées sont séchées à l'air libre, puis observées au microscope photonique.

- **Validité de la technique d'immunohistochimie**

Au cours de notre technique, des contrôles négatifs sont insérés pour confirmer l'immunomarquage observé. Les coupes qui servent de contrôles négatifs ont subi les mêmes étapes que notre prélèvement sauf que l'Ac primaire anti-récepteurs aux androgène est remplacé par le PBS.

III. Résultats

Les résultats d'immunohistochimie des récepteurs aux androgènes vont servir d'une part à la localisation des récepteurs aux androgènes au niveau testiculaire et d'autre part à la détermination de l'âge à la puberté des cailleteaux, âgés de 1jour, 3 et 7 semaines.

III.1. Structure histologique des testicules au cours de la croissance

Avant de décrire la structure histologique des testicules au cours de la croissance, on explique l'observation histologique de chaque type de cellules observé dans le testicule (Figures 29 et 30).

- Les **gonocytes** apparaissent comme de volumineuses cellules localisées en position centrale dans les tubes séminifères. Leur noyau, en position centrale, contient de l'hétérochromatine et un ou deux nucléoles.

- Les **cellules de Sertoli** occupent un grand volume au niveau des tubes séminifères. Ces cellules sont localisées à la périphérie des tubes séminifères. Ces derniers sont délimités par une lame basale. Leur noyau ovoïde est caractérisé par une hétérochromatine, contenant un ou deux nucléoles.

- Les **cellulesmyoïdes péritubulaires** ont une forme allongée, semblable aux fibres musculaires lisses.

- Le **tissu interstitiel** est observé entre les tubes séminifères ; il est constitué par des cellules somatiques, de type **cellules de Leydig**, qui apparaissent comme de larges cellules rondes groupées autour des vaisseaux sanguins. Les cellules de Leydig ont un noyau en position centrale et renferment une hétérochromatine.

Les coupes transversales des testicules des cailleteaux montrent l'évolution des structures histologiques des testicules au cours de l'âge (Figures29 et 30).

- A l'âge de 1 jour, les tubes séminifères, se présentent à l'observation microscopique comme des tubes pleins sans présence de la lumière centrale (Figure 29). Les gonocytes peu nombreux, localisés au centre des tubules, sont les seules cellules germinales observées. La partie périphérique des tubes séminifères est occupée par les cellules de Sertoli (Figure 29).

A cet âge, l'espace intertubulaire est occupé par un tissu interstitiel très abondant. L'ensemble des structures observées, est délimité par un tissu conjonctif formant l'albuginée.

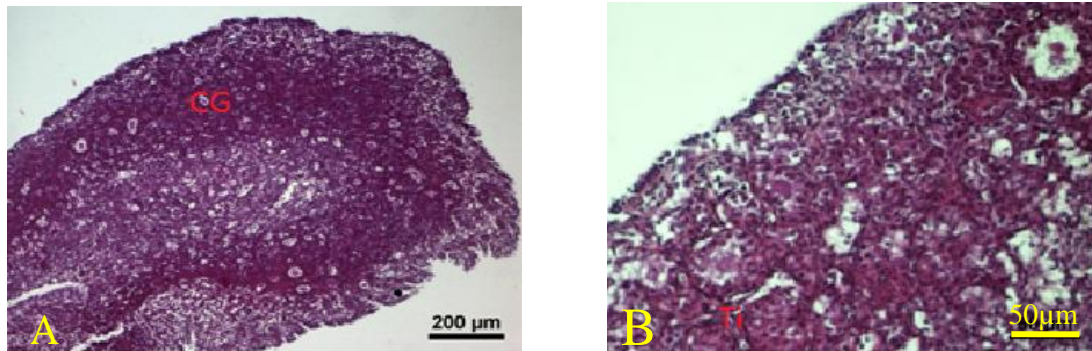


Figure 29 : Histologie des coupes transversales des testicules des cailleteaux âgés de 1 jour avec coloration Azan modifiée ; A : Grossissement X40 ; B : Grossissement X400). Ti : Tissu interstitiel ; CG : Cellule germinale.

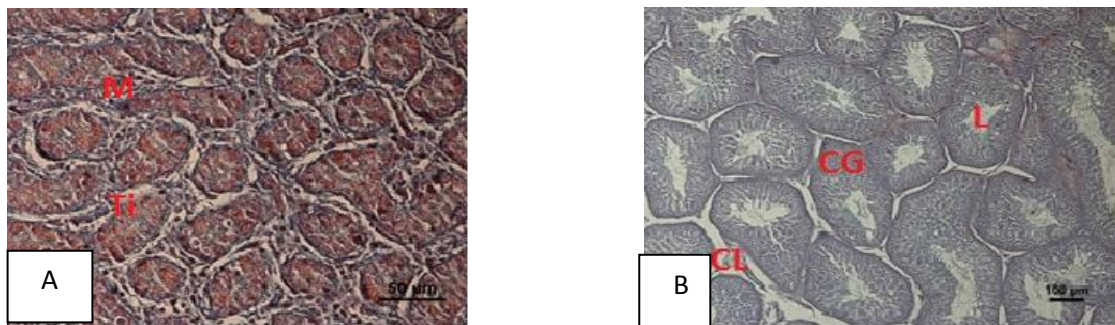


Figure 30: Histologie des coupes transversales des testicules des cailleteaux âgés de 3 semaines (A) et 7 semaines (B) avec coloration Azan modifiée (A : Grossissement X400; B Grossissement X400). Ti : Tissu interstitiel ; CL : Cellule de Leydig ; M : Cellule péritubulaires myoïdes ; L : Lumière ; CG : Cellule germinale.

A partir de l'âge de 3 semaines et jusqu'à 7 semaines, une distincte lumière centrale est observée au centre des tubes séminifères. Les cellules spermatogénétiques ont migrées vers la périphérie des tubes séminifères. Ces derniers sont délimités par une lame basale (Figure 30).

Les cellules du tissu interstitiel, de type cellules myoïdes péritubulaires, délimitent extérieurement la lame basale. Le tissu interstitiel occupant l'espace intertubulaire est peu abondant (Figure 30).

III.2. Analyse de l'immunomarquage des récepteurs aux androgènes au niveau des testicules

Après l'immunomarquage des récepteurs aux androgènes, l'observation au microscope photonique des coupes de testicule des cailloteaux japonaises, montre une réaction positive entre les récepteurs aux androgènes et l'Ac anti-récepteurs aux androgènes utilisé dans notre travail.

Ce marquage est observé à la fois dans le compartiment interstitiel et dans l'épithélium séminifère (Figures 31, 32, 33 et 34).

- Dans le **compartiment interstitiel** : le marquage spécifique des RA se trouve au niveau de quelques cellules de Leydig dont l'intensité de marquage varie d'une cellule à l'autre et même entre deux cellules adjacentes.

- Dans le **compartiment tubulaire**, la localisation des RA est observée aux niveaux des noyaux :

- Des cellules de Sertoli,
- Des cellules de la lignée germinale,
- Des cellules myoïdes pérیتubulaires.

Au cours de la technique d'immunomarquage des coupes de testicule, des contrôles négatifs ont été utilisés pour connaître si l'Ac primaire se lie de façon spécifique sur son Ag. L'observation microscopique des lames utilisées comme contrôle négatif ne montre aucun marquage au niveau des cellules des deux compartiments testiculaires interstitiel et tubulaire (Figure 35).

Nos résultats sont validés par la présence de ce contrôle négatif; car d'après Suarez-Quian et collaborateurs (1997), la validité des résultats d'une étude immunohistochimique repose essentiellement sur la qualité des contrôles effectués comprenant à la fois des contrôles positifs et négatifs.

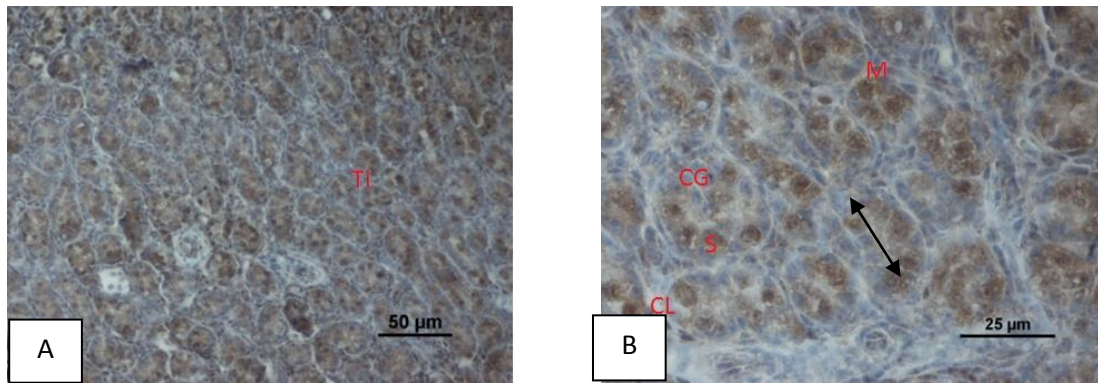


Figure 31 : Immunolocalisation des récepteurs aux androgènes au niveau des coupes transversales de testicules des cailleaux âgés de 1 jour. Ti : Tissu interstitiel ; CL : Cellule de Leydig ; M : Cellule péricubulaires myoïdes ; S : Sertoli ; CG : Cellule germinale ; \longleftrightarrow : Tube séminifère ; (A : Grossissement X400 ; B : Grossissement X1000).

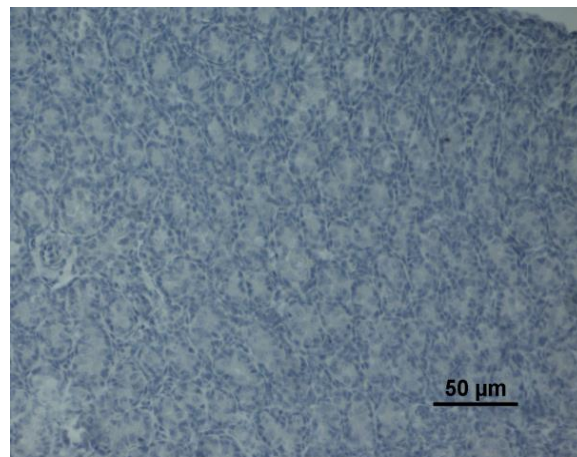


Figure 32 : Coupe transversale des testicules des cailleaux âgés de 1 jour (contrôle négatif) (Grossissement X400).

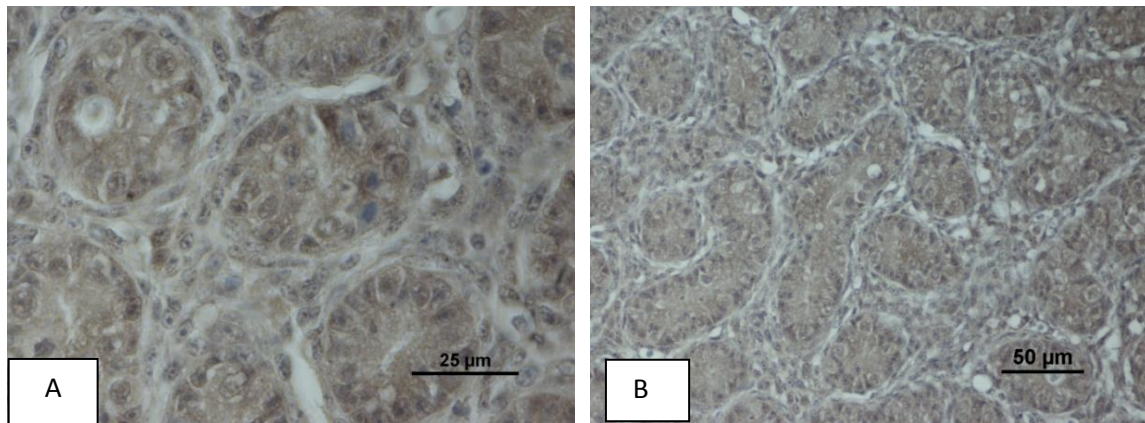


Figure 33: Immunolocalisation des récepteurs aux androgènes au niveau des coupes transversales de testicules des cailleaux, âgés de 3 semaines (A : Grossissement X400 ; B : Grossissement X1000).

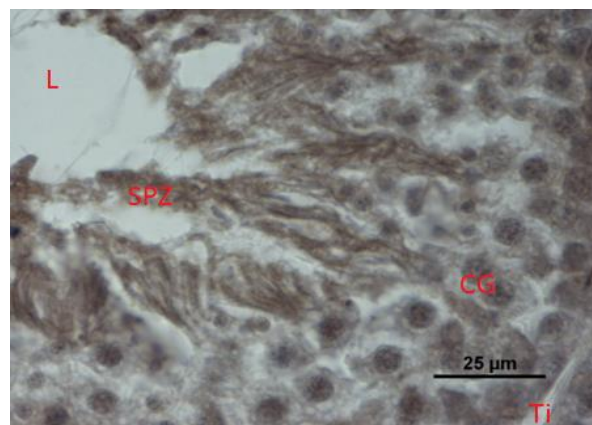


Figure 34 : Immunolocalisation des récepteurs aux androgènes au niveau des coupes transversales de testicules des cailles, âgés de 7 semaine. Ti : Tissu interstitiel ; L : Lumière; CG : Cellule germinale ; SPZ : Spermatozoïde (Grossissement X1000).

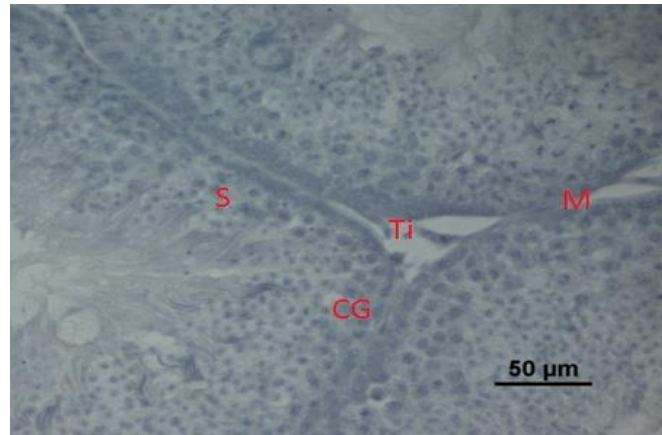


Figure 35 : Coupe transversale des testicules des cailleteaux âgés de 1 jour (contrôle négatif) (Grossissement X1000). Ti : Tissu interstitiel ; M : cellule péritubulaires myoïdes ; S : Sertoli ; CG : Cellule germinale (Grossissement X1000).

La description des structures histologiques observées chez la caille japonaise à savoir les Cellules Germinale (CG) et les cellules somatiques décrites dans notre travail, est identique à celle rapporté par Réviers (1968) chez le coq.

Il existe dans la bibliographie une description morphologique des cellules germinales, la spermiogénèse, l'épithélium séminifère et la cellule Sertoli (S) (Gunawardana, 1977; Aire et *al.*, 1980). Ces auteurs décrivent aussi une différence morphologique entre la caille, d'un côté, le poulet et le canard de l'autre. Des travaux récents ont montré que l'épithélium séminifère et la durée de la méiose chez la caille sont les mêmes que ceux retrouvés chez la dinde, le poulet et la pintade (Noirault et *al.*, 2006).

Nous avons retrouvé chez la caille un épithélium stratifié avec des cellules germinatif. En effet, c'est ce qui est retrouvé dans la bibliographie chez les Galliformes et de Colombiformes (Soley, 1993 ; Soley et Roberts, 1994 ; Soley, 1997).

Dans notre étude, nous avons observé, à un jour (figure 29), la présence des tubes séminifères pleins sans lumière centrale. Cela est expliqué par le fait que la maturité sexuelle n'est pas atteinte à un jour. Il faut savoir que normalement les tubes séminifères, en coupe transversale, présentaient des formes presque hexagonales chez la caille (Baraldi Artoni et *al.*, 1999), le parenchyme testiculaire est composé de tubules séminifères qui, dont les sections transversales, présentent des formes presque hexagonales, similaire de ce qui est observé chez le coq domestique (Lake, 1971).

Chez la caille, de 3 à 7 semaines, une distincte lumière centrale est observée au centre des tubes séminifères. Les cellules spermatogénétiques ont migrées vers la périphérie des tubes séminifères. Ces derniers sont délimités par une lame basale (Figure 30). Aussi, les cellules myoïdes périvitubulaires délimitent extérieurement la lame basale. Le tissu interstitiel occupant l'espace intertubulaire est peu abondant. A la lumière de ces résultats, nous pouvons dire que la maturité sexuelle c'est installée à partir de la 3^{ème} semaine.

Nos résultats d'immunomarquage des prélèvements testiculaires des cailleteaux japonaises ont montré différentes localisations de ces récepteurs dans le compartiment interstitiel et dans le compartiment tubulaire. En effet, Zhou et collaborateurs (2002) a rapporté l'existence d'une variation considérable dans la localisation des récepteurs aux stéroïdes au niveau du tractus génital mâle au sein d'une même espèce et entre différentes espèces étudiées.

L'immuno-localisation des récepteurs aux androgènes, observée au cours de notre travail, a été mise en évidence au niveau des deux compartiments du testicule chez les cailleteaux (comparativement aux contrôles négatifs):

- Dans le compartiment interstitiel, l'immunomarquage montre que les noyaux des cellules de Leydig sont positifs. En effet, les cellules de Leydig sont les cellules cibles de l'action des androgènes au niveau du testicule. En effet, Shan et collaborateurs (1997) rapportent que les androgènes exercent un effet inhibiteur partiel sur la stéroïdogénèse de ces cellules. Comme elles synthétisent et secrètent les androgènes (en particulier la testostérone) et contiennent des récepteurs aux androgènes ; il peut être suggéré que, dans ce type de cellules, les androgènes exercent une action intracrine ou paracrine par la présence de ces récepteurs (Pelletier et *al.*, 2000).

- Dans le compartiment tubulaire : L'immunoréactivité des récepteurs aux androgènes est trouvée dans les noyaux des cellules somatiques (cellules de Sertoli et les cellules myoïdes périvitubulaires) et dans les noyaux des cellules germinales (Gonocytes, spermatogonies, spermatocytes, spermatides et spermatozoïdes) aux niveaux des coupes transversales des testicules des cailleteaux au cours de la croissance (1jour à 7semaines).

Des résultats similaires ont été rapporté par de nombreux auteurs. En effet, Suarez-Quian et *al.* (1997), Berensztien et *al.* (2006) et Ramesh et *al.* (2007), ont rapporté des résultats similaires concernant la présence de marquage au niveau des cellules de la lignée germinale. Par contre, Sar et collaborateurs (1990) ; Pelletier (2000) ; Pelletier et collaborateurs (2000) ; Regadera et collaborateurs (2001) et Zhou et collaborateurs (2002), n'ont pas observé de marquage au niveau de ces cellules germinales.

Récepteurs aux androgènes (RA) a été montré pour être Limité aux cellules somatiques dans les testicules mais largement distribué dans les segments composant la région épидидymique, La distribution testiculaire de l'RA a été trouvée dans les cellules somatiques, nommément cellules de Sertoli, cellules de Leydig et cellules myoïdiennes, chez les coqs et les canards. Une étude sur le poulet a décrit la protéine réceptrice aux androgènes uniquement dans les cellules de Leydig (Shanbhag et Sharp, 1996). À l'inverse, chez le Canari, la transcription des récepteurs aux androgènes a été décrite dans les cellules de Sertoli mais pas dans les cellules de Leydig (Nastiuk et Clayton, 1994).

Chez les oiseaux, en particulier en ce qui concerne la régulation hormonale de la spermatogénèse, en termes de réactivité aux androgènes, nos résultats suggèrent que la

Discussion

régulation de la spermatogenèse chez les coqs et les canards peuvent partager leur similitude avec les mammifères car cette hormone semble influencer les cellules somatiques testiculaires, plutôt que d'agir directement sur les cellules germinales (Johnston et *al.*, 2001; Tan et *al.*, 2005).

Conclusion

L'immunolocalisation des récepteurs aux androgènes des testicules réalisé chez la caille japonaise (*Coturnixjaponica*) au cours des huit premières semaines d'âge après éclosion, a montré que :

- Le marquage est observé à la fois dans le compartiment interstitiel et dans l'épithélium séminifère
- Dans le **compartiment interstitiel** : le marquage spécifique des récepteurs aux androgènes se trouve au niveau de quelques cellules de Leydig dont l'intensité de marquage varie d'une cellule à l'autre et même entre deux cellules adjacentes.
- Dans le **compartiment tubulaire**, la localisation des récepteurs aux androgènes est observée aux niveaux des noyaux :
 - ✓ Des cellules de Sertoli,
 - ✓ Des cellules de la lignée germinale,
 - ✓ Des cellules myoïdes périvitubulaires.
- La localisation des récepteurs aux androgènes se diffère en fonction de l'âge chez la caille japonaise à 1 jour après éclosion, 3 semaines et 7 semaines.
- L'âge de maturité sexuelle chez cette espèce est de 3 semaines.

Références bibliographiques

Aire, T.A., 1980. The ductuli efferentes of the epididymal region of birds. *J. Anat.* 130, 707–723.

Aire, T.A., 1997. The structure of the interstitial tissue of the active and resting avian testis. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 64, 291-299

Aire, T.A., Ozegbe, P.C., 2007. The testicular capsule and peritubular tissue of birds: morphometry, histology, ultrastructure and immunohistochemistry. *J. Anat.*, 210(6), 731-740.

AL-Tememy, H.S.A., 2010. Histological study of testis in quail (*Coturnix coturnix japonica*). Al- Anbar J. *Vet. Sci.*, 3, 36-44.

Amir, D., Braun-Eilon, B., Schindle, H., 1973 Passage and disappearance of labelled spermatozoa in the genital tract of the male Japanese quail in segregation or cohabitation. *Annls Biol. anim. Biochim. Biophys.* 13, 321-328.

Bakst, M.R., Akuffo, V., Trefil, P. and Brillard J.P., 2007. Morphological and histochemical characterization of the seminiferous epithelial and Leydig cells of the turkey. *Anim. Reprod.Sci.*, 97, 303-313.

Baraldi Artoni, S.M., Orsi, A.M., Lamano-Carvalho, T.L., Lopes, R.A., 1997. The annual testicular cycle of the domestic quail (*Coturnix coturnix japonica*) testis. *Anat. Histol. Embryol.* 26:337-339.

Baraldi Artoni, S.M., Orsi, A.M., Carvalho, T.L.L., Vicentini, C.A., Stefanini, M.A., 1999. Seasonal morphology of the domestic quail (*Coturnix coturnix japonica*) testis. *Anat. Histol. Embryol.* 28:217-220.

Baumgartner, J., 1994. Japanese quail production, breeding and genetics. *World's Poultry Science Journal* 50,227-235.

Berensztein, E.B., Baquedano, M.S., Gonzalez, C.R., Saraco, N.L., Rodriguez, J., Ponzio, R., Rivarola, M.A., Belgorosky, A., 2006-Expression of aromatase,estrogen receptor alpha and beta, androgen receptor, and cytochrome P-450scc in the human early prepubertal testis. *Pediatr.Res.*, 60 (6), 740-744.

Références bibliographiques

Bielfld, H., 1992. Oiseaux d'agrement. Ed Eugen ulmes, 124p.

Braun, L. Physiologie et maîtrise de la reproduction chez les Reptiles et les Oiseaux.

Thèse Méd. Vét., Alfort, 2004, 200p.

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

Clulow, J., Jones, R.C., 1982. Production, transport, maturation, storage and survival of spermatozoa in the male Japanese quail, *Coturnix coturnix*. J. Reprod.

Fert. 64, 259-266.

Clulow, J., Jones, R.C., 1988. Studies of fluid and spermatozoa transport in the extratesticular ducts of the Japanese quail. J Anat. 157: 1-11.

Delville, Y.; Hendrick, J. C.; Sulon, J. and Balthazart, J., 1984. Testosterone metabolism and testosterone-dependent characteristics in Japanese quail. *Physiol.Behav.*, 33(5):817-23.

De Reviere, M., 1988. Appareil génital mâle et production des spermatozoïdes. In : Reproduction des volailles et production d'oeufs. INRA Editions, Paris, France, 141-206.

Doneley, B., 2011. Avian medicine and surgery practice, companion and aviary birds. CRC PressTaylor & Francis Group, Londres, 19-30.

Gayrard, V., 2007-Physiologie de la reproduction des mammifères. Ecole Nationale Vétérinaire deToulouse,198p.

Gelin, C., 2013. Lésions des volailles tertiaires (pigeon, caille) et du canard maigre : bases anatomopathologiques pour un référentiel national de retrait sur chaîne à l'abattoir. Thèse de docteur vétérinaire. Ecole national vétérinaire agroalimentaire et de l'alimentation Nantes Atlantiques, 138p.

Gunawardana, V.K., 1977. Stages of spermatids in the domestic fowl: a light microscope study using Araldite sections. J. Anat. 123, 351-360.

Références bibliographiques

Guyomarc'h C., Guyomarc'h J.-C., 1984 The influence of social factors on the onset of egg production in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) Biol. Behav. 9:333–342.

Hazard, D., Couty, M., Faure, J.M., Guémené, D., 2005. Relationship between hypothalamic pituitary adrenal axis responsiveness and age, sexual maturity status, and sex in Japanese quail selected for long or short duration of tonic immobility. Poultry Science 84, 1913-1919.

Hodges, R.D., 1974. The Histology of the Fowl. London: Academic Press, 648 p.

Johnson, A.L., 2000. Reproduction in the female. In : Sturkie's Avian Physiology. 5^{ème} Ed, Academic Press, USA, 569-600.

Johnston, D.S., Russell, L.D., Friel, P.J., Griswold, M.D., 2001. Murine germ cells do not require functional androgen receptors to complete spermatogenesis following spermatogonial stem cell transplantation. Endocrinology 142, 2405–2408.

Kayang, B.B., Vignal, A., Inoue-Murayama M., Miwa, M., Monvoisin, J.L., Ito, S., Minvielle, F., 2004. A first-generation micro satellite linkage map of the Japanese quail. Animal Genetics 35,195-200.

Korn, N., Thurston R.J., Pooser B.P., Scott T.R., 2000. Ultrastructure of spermatozoa from Japanese quail. Poultry Sci., 79, 407-414.

Kovach, J.K., 1974. Early color preferences in the *Coturnix* quail. J. Comp. Physiol. Psychol., 87(6),1049-60.

Lake, P.E., 1971 .The male in reproduction. In physiology and biochemistry of the domestic fowl (vol. 3), D. J.Bell et B. M.Freeman Eds., Academic Press, New-York, 1411 – 1447.

Lake, P. E.,1981. Male genital organs. In form and function in birds. (vol. 2), A. S. King & J. Mc lelland Ed, Academic press, New-York, 1-62.

Laroche, M.J., Rousselet, F., 1990. Les animaux de laboratoire : Ethique et bonnes pratiques. Ed.Masson, Paris 393p.

Références bibliographiques

- Lin, M., Jones, R.C. and Blackshaw, A.W., 1990. The cycle of the seminiferous epithelium in the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) and estimation of its duration. *J.Reprod. Fertil.*,88 (2), 481-490.
- Lin, M., Jones R.C., 1992.Renewal and proliferation of spermatogonia during spermatogenesis in the Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*. *Cell Tissue Res.*, 267, 591-601.
- Lin, M., Jones R.C., 1993. Spermiogenesis and spermiation in the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *J. Anat.*, 183(Pt 3), 525-535.
- Lucotte,G., 1975. L'élevage de la caille précis de coturniculture .Ed. vigot frères, 82p.
- Ludovic, X.B., 2004. Physiologie et maîtrise de la reproduction chez les reptiles et les oiseaux. Thèse de Doctorat vétérinaire,Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, 195p.
- Maekawa, M., Kamimura, K., Nagano,T., 1996-Peritubular myoid cells in the testis :their structure and function. *Archive Histo. Cyto.*, 59, 1-13.
- Malecki, I.A., Martin, G.B., O'Malley, P.J., Meyer, G.T., Talbot, R.T., Sharp, P.J., 1998. Endocrine and testicular changes in a short-day seasonally breeding bird, the emu (*Dromaius novaehollandiae*), in southwestern Australia. *Anim. Reprod. Sci.* 53:143-155.
- Menassé, V., 1986. Elevage rentable des cailles. Ed. de Vecchi, 125p.
- Mills, A.D., Crawford, L.L., Domjan, M., Faure, J.M., 1997. The behavior of the japanese or domestic quail *Coturnix japonica*. *Neuroscience and behavioural reviews*, 21, (3), 261-281.
- Minvielle, F., 1998. Genetic and breeding of Japanese quail for production around the world. *Proceedings 6th Asian Pacific poultry congress Nagoya, Japan*,122-127.
- Nanda, S., Mallik, B.K., Panda, P.K., Nayak, I., Samal, S.K. et Das, M., 2015, Effect of season on mortality of Japanese quail (*Coturnix Coturnix Japonica*) in different age groups. *International Research Journal of Biological Sciences* 4(7): 29-33.
- Nastiuk, K.L., Clayton, D.F., 1994. Seasonal and tissue-specific regulation of canary androgen receptor messenger ribonucleic acid. *Endocrinology* 134, 640-649.

Références bibliographiques

- Noirault, J., Brillard, J.P., Bakst, M.R., 2006. Spermatogenesis in the turkey (*Meleagris gallopavo*): Quantitative approach in immature and adult males subjected to various photoperiods. *Theriogenology*, 65, 845–859.
- Nussey, S.S., Whitehead, S.A., 2001. An Integrated Approach (Endocrinologie: une approche intégrée). Arch. Endocrinology ,publié par BIOS Scientific Publishers, Ltd, Oxford, UK.
- Oguz,I., Minvielle, F., 2001. Effects of genetics and breeding on carcass and meat quality of Japanese quail: A review. Proceedings of XV European symposium on the quality of poultry meat, WPSA Turkish branch, 9-12 September Kusadasi-Turkey.
- Oriol, A., 1987 .L'élevage de la caille, du faisan et du perdreau. Ed. Maison rustique 7.
- Ottinger, M.A., 1979. Brinkley, H.J., Testosterone and sex-related morphology during maturation of the male Japanese quail, *Biol. Reprod.* 20; 905 – 909.
- Pelletier, G., 200. Localization of androgen and estrogen receptors in rat and primate tissues. *Histol. Histopathol*, 15 (4) 1261-1270.
- Pelletier, G., Labrie, C., Labrie, F., 2000. Localization of oestrogen receptor alpha, oestrogen receptor beta and androgen receptors in the rat reproductive organs. *J. Endocrinol.*, 165 (2), 359-370.
- Ramesh, R., Pearl, C.A., At-Taras, E., Roser, J.F. and Berger, T., 2007. Ontogeny of androgen and estrogen receptor expression in porcine testis: effect of reducing testicular estrogen synthesis. *Anim. Reprod. Sci.*, 102(3-4), 286-299.
- Regadera, J., Martinez-Garcia, F., Gonzalez-Peramato, P., Serrano, A., Nistal, M. and Suarez-Quian, C., 2001. Androgen receptor expression in sertoli cells as a function of seminiferous tubule maturation in the human cryptorchid testis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 86(1),413-421.
- Reveiller,M., 2008.Etude du ligand TRAIL et ses récepteurs dans la prostate normale et pathologique reliée au statu hormonal.Thèse de doctorat,269p.

Références bibliographiques

Reviere, M., 1971. Le développement testiculaire chez le coq. I. Croissance pondérale des testicules et développement des tubes séminifères. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 11(4), 519-530.

Reviere, M., 1968. Détermination de la durée des processus spermatogénétiques chez le coq à l'aide de Thymidine tritiée. *Vle Congr. int. Reprod. anim. Insém. artif: Paris*, 1, 183-185.

Rival, F., 1998. Diagnose du sexe chez les nouveaux animaux de compagnie. *In : comptes rendus de la C.N.V.S.P.A. Paris*, 6-8 novembre. 283-286.

Rothwell, B. and Tingari, M.D., 1973. The ultrastructure of the boundary tissue of the seminiferous tubule in the testis of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *J. Anat.*, 114, 321-328.

Ruizeveld de Winter, J.A., Trapman, J., Vermey, M., Mulder, E., Zegers, N.D., van der Kwast, T.H., 1991. Androgen receptor expression in human tissues: an immunohistochemical study. *J. Histochem. Cytochem.* 39, 927-936.

Sar, M., Luba, D.B., French, F.S., Wilson, E.M., 1990. Immunohistochemical localization of the androgen receptor in rat and human tissues. *Endocrinology*, 127, 3180-3186.

Sarabmeet, K., Mandal, A.B., 2015. The performance of Japanese quail (White Breasted Line) to dietary energy and amino acid levels on growth and immuno-competence. *Nutrition and food science* 5(4): 1.

Sauveur, B., 1988. *Reproduction des volailles et production d'œufs*. Ed. INRA. 449p.

Shan, L.X., Bardin, C.W. and Hardy, M.P., 1997. Immunohistochemical analysis of androgen effects on androgen receptor expression in developing Leydig and Sertoli cells. *Endocrinology*, 138(3), 1259-1266.

Shanbhag, B.A., Sharp, P.J., 1996. Immunocytochemical localization of androgen receptor in the comb, uropygial gland, testis, and epididymis in the domestic chicken. *Gen. Comp. Endocrinol.* 101, 76-82.

Références bibliographiques

Soley, J.T., 1993. Ultrastructure of ostrich (*Struthio camelus*) spermatozoa I. Transmission electron microscopy. Onderstepoort J. Vet. Res. 60:119-130.

Soley, J.T., 1997. Nuclear morphogenesis and the role of the manchette during spermatogenesis in the ostrich (*Struthio camelus*). J. Anat. 190: 563-576.

Soley, J.T., Roberts, D.C., 1994. Ultrastructure of ostrich (*Struthio camelus*) spermatozoa II. Scanning electron microscopy. Onderstepoort J. Vet. Res. 61:239-246.

Suarez-Quian, C.A., Oke, B.O., Vornberger, W. et Gerard, H., 1997. Localisation du récepteur des androgènes dans le testicule. Andrologie, 7(3), 293-304.

Suarez-Quian, C.A., Martinez-Garcia, F., Nistal, M., Regadera, J., 1999. Androgen receptor distribution in adult human testis. J. Clin. Endocrinol. Metab. 84, 350–358.

Tan, K.A., De Gendt, K., Atanassova, N., Walker, M., Sharpe, R.M., Saunders, P.T., Denoet, E., Verhoeven, G., 2005. The role of androgens in sertoli cell proliferation and functional maturation: studies in mice with total or Sertoli cell-selective ablation of the androgen receptor. Endocrinology 146, 2674–2683.

Tostain, J., Rossi, D., Martin, P.M., 2004. Physiology of androgens in adult men. Prog Urol, 14, 639-660.

Toukam, M., 2007. Gamétogénèse. University of Yaoundé. Faculté de médecine et des sciences biomédicales.

Ukashatu, S., Bello, A., Umaru, M.A., Onu, J. E., Shehu, S. A., Mahmuda, A. et Saidu, B. A., 2014. Study of some serum biochemical values of Japanese quails (*Coturnix Coturnix Japonica*) fed graded levels of energy diets in Northwestern Nigeria. Scientific Journal of Microbiology 3(1). 1-8 p-10.

Vali, N., 2008. The japanese quail: A review. Int. J. Poult. Sci., 7, 925-931.

Villate, D., 2001. Maladie des volailles. 2^{ème} édition. France Agricole, 400p.

Walter, J.B., 2007. Reproductive Biology and Phylogeny of Birds: Phylogeny, Morphology,

Références bibliographiques

Hormones, Fertilization, vol. 6A. Barrie GM. Jamieson edition, Enfield, NH: Science Publishers, 609 p.

Zhou, Q., Nie, R., Prins, G.S., Saunders, P.T., Katzenellenbogen, B.S., Hess, R.A., 2002. Localization of androgen and estrogen receptors in adult male mouse reproductive tract. *J. Androl.* 23, 870–881.

Zhu, L.J., Hardy, M.P., Inigo, I.V., Huhtaniemi, I., Bardin, C.W., Moo-Young, A.J., 2000. Effects of androgen on androgen receptor expression in rat testicular and epididymal cells: a quantitative immunohistochemical study. *Biol. Reprod.* 63, 368–376.