



FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES

Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de Master II

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité : biologie et physiologie de la Reproduction

Sujet :

L'histologie de l'appareil génital male de « *Meriones Lybicus* » ainsi que sa position dans l'arbre phylogénétique du genre *Mériones*

Présenté par : Mme Echchibani Amina

Devant le jury composé de :

<i>Présidente</i>	<i>: Sayad.M</i>	<i>MCB</i>	<i>SNV Blida-1</i>
<i>Examineur</i>	<i>: Larbi doukara</i>	<i>MCB</i>	<i>SNV Blida-1</i>
<i>Promotrice</i>	<i>: Mme DEROUICHE.L</i>	<i>MCA</i>	<i>ESSAIA</i>
<i>Co-promotrice</i>	<i>: Melle ZATRA.Y</i>	<i>MCB</i>	<i>SNV Blida-1</i>

Année Universitaire : 2017 /2018

REMERCIEMENT

Je tiens tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

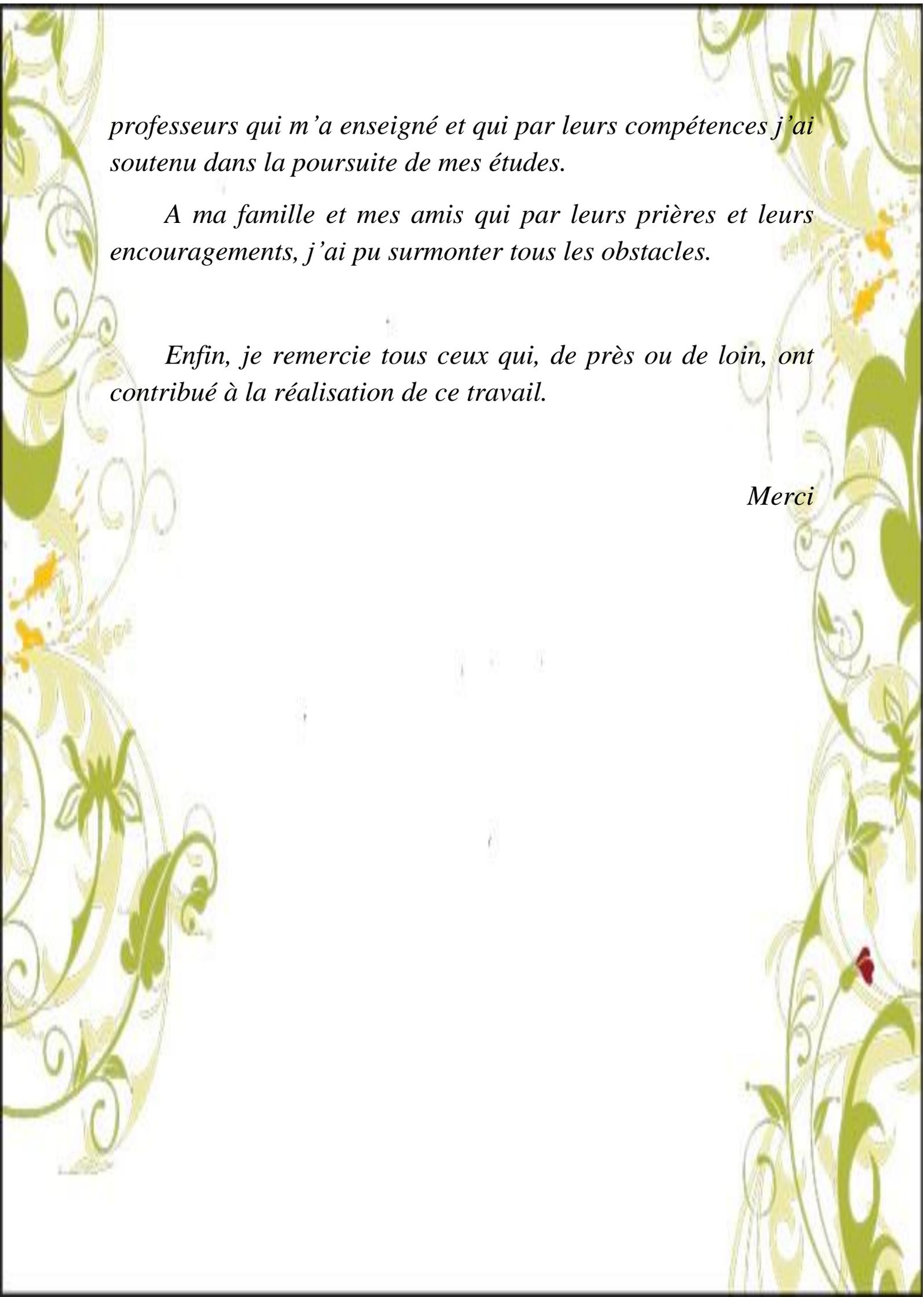
La première personne que je tiens à remercier est ma promotrice Mme DEROUICHE. L Maitre de conférence à l'Ecole préparatoire en sciences de la nature et de la vie – Alger, pour l'orientation, la confiance, la patience qui m'a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

Mes remerciements s'étendent également à Co-promotrice M elle ZATRA. Y Maitre assistante au département de biologie, pour ses bonnes explications qui m'a éclairé le chemin de la recherche et sa collaboration avec moi dans l'accomplissement de ce modeste travail.

*Mes vifs remerciements vont également aux membres du jury : A la présidente Mme **Sayad.M** et L'examineur **Larbi doukara**. Pour l'intérêt qu'ils ont porté à ma recherche en acceptant d'examiner notre travail Et de l'enrichir par leurs propositions.*

Je souhaite aussi adresser mes remerciements les plus sincères aux membres du laboratoire de Kolea qui m'a apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce travail.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à tous les



professeurs qui m'a enseigné et qui par leurs compétences j'ai soutenu dans la poursuite de mes études.

A ma famille et mes amis qui par leurs prières et leurs encouragements, j'ai pu surmonter tous les obstacles.

Enfin, je remercie tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Merci

DEDICACES

Ma mère Ben chamma Mahdia, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père Echchibani Rachid , qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Je remercie mon frère Abd madjide, ma sœur Siham et Ma fille Djerboaa salsabile assil qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude,

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible,

Merci d'être toujours là pour moi.

Résumé

L'objectif de notre travail est basé sur deux éléments : le premier élément réside sur le positionnement de notre espèce *Meriones lybicus* par rapport aux autres espèces du genre *Meriones* et *Rattus* dans un arbre phylogénétique, le deuxième élément réside sur la comparaison histologique et morphométrique de l'appareil reproducteur mâle de *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus* et *Rattus rattus*. L'arbre phylogénétique obtenu dans ce travail a été élaboré à l'aide du logiciel MEGA5 avec la méthode UPGMA à partir de 59 séquences de cytb de l'ADNmt de 22 espèces qui appartiennent au genre *Meriones* et *Rattus* pris dans différentes régions géographiques, l'étude histologique est réalisée sur différents organes de l'appareil reproducteur fixés au formol à 10%, les colorations réalisées dans ce travail sont : l'Hémalun éosine, le trichrome de Masson, et le rouge Congo. L'ensemble des résultats phylogénétiques nous ont permis de caractériser les espèces les plus proches à notre modèle d'étude. Les résultats histologiques chez trois espèces montrent une similitude d'aspect général de testicule et épидидyme, la différence trouve sur le plan histo-morphométrique, Les tubes séminifères sont de taille volumineuse chez *Rattus rattus* et peu volumineuse chez *Rattus norvegicus* et réduite chez *Meriones lybicus*. Sur plan morphométrique on trouve que les cellules épithéliales de l'épididyme et espace supra nucléaire et la taille des noyaux sont de grande taille chez *Rattus rattus* et chez *Rattus norvegicus* presque même taille et petite taille chez *Meriones lybicus*. Concernant le canal déférent et les vésicules séminales, la hauteur de cellule épithéliale et la hauteur du noyau et l'espace supra nucléaire est plus grande chez *Rattus norvegicus* que chez *Rattus rattus* et petite taille chez *Meriones lybicus*.

Mots clés : *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*, structure morphométrique, phylogénétique, appareil reproducteur.

ملخص

يستند هدف عملنا على عنصرين هما: الأولى موقع الجرد و الجربوع في في شجرة النشوء والتطور والعنصر الثاني يكمن في المقارنة نسيجية.وقد تحصلنا على شجرة النشوء بوسطت برنامج مقا وستنتجنا بان جرد البري و المخبري قربين الى بعضهم في الشجر النشوء اما جربوع بعيد على الجرد البري لكين قريب لجرد المخبري . اما العنصر الثاني يتم تنفيذ الفحص النسيجي على الجهاز التناسلي استعملنا يوزين، ثلاثي الألوان ماسون، والكونغو الأحمر سمحت لنا مجموعة نتائج توصف الأنواع الأقرب إلى نموذج دراستنا وتظهر النتائج النسيجية بان المظهر العام مماثل الخلايا الظهارية المورفولوجية، والفرق هو الأنايب المنوية حجمها كبير لدى الجرد البري تقريبا نفس الحجم والجرد مخبري اما عندى الجربوع (Epididyme ,Canal défférent ,vésicule séminale)صغير الحجم .بنسبت

نستنتج نفس شى بان المظهر العام مماثل المورفولوجية الخلايا الظهارية اما يختلف بنسبت حجم الخلايا نستنتج بانخلايا عندى الجرد البري و مخبري كبيرك اما عندى الجربوع صغير ونتائج متحصل عليها مماثل مورفومتري و عندى مختلف باحتين.

الكلمات المفتاحية

Epididyme ,Canal défférent ,vésicule الجرد . الجربوع. شجرة النشوء الأنايب المنوية séminale .

Summary

The objective of our work is based on two elements: the first element resides on the positioning of our species *Meriones lybicus* compared to other species of the genus *Meriones* and *Rattus* in a phylogenetic tree, the second element resides on the histological and morphometric comparison of the male reproductive system of *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus* and *Rattus rattus*. The phylogenetic tree obtained in this work was developed using the MEGA5 software with the UPGMA method from 59 mtDNA *cytb* sequences of 22 species belonging to the genus *Meriones* and *Rattus* taken in different geographical regions. Histological study is performed on different organs of the reproductive system fixed at 10% formalin, the colorations performed in this work are: Hemalun Eosin, Masson trichrome, and Congo red. The set of phylogenetic results allowed us to characterize the species closest to our study model. The histological results in three species show a similar general appearance of the testis and epididymis, the difference found on the histomorphometric plane, the size of the seminiferous tube and the light are voluminous in *Rattus rattus* and not bulky in *Rattus norvegicus* and reduced at *Meriones lybicus*. Morphometrically, it is found that the epithelial cells of the epididymis and supra nuclear space and the size of nuclei are large in *Rattus rattus* and *Rattus norvegicus* in *Meriones lybicus*. concerning the vas deferens and the seminal vesicle, the height of the epithelial cell and the height of the nucleus and the suprauclear space is greater in *Rattus norvegicus* than in *Rattus rattus* and small in *Meriones lybicus*.

Key words: *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*, structure, morphometry, phylogenetics.

Liste des abréviations

- ADN : Acide DésoxyriboNucléique
- ADNmt : ADN mitochondrial
- Cyt b : cytochrome b
- DDBJ : DNA Data Bank of Japan
- EMBL : European Molecular Biology Laboratory
- FSH : Follicle Stimulating Hormone
- LH : Luteinizing Hormone
- MEGA : Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood
- NCBI : National Center for Biotechnology Information
- Pb : Paire de base
- PCR : Polymerase Chain Reaction / Réaction de polymérisation en chaîne
- UPGMA : Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure 01	<i>Meriones lybicus</i> (Photo original 2017).	03
Figure02	Répartition géographique de <i>Meriones lybicus</i> (Aulagnier, 1992)	05
Figure 03	Schéma en vue dorsale de l'appareil génital mâle (Roscoe et al. 1941).	06
Figure 04	Testicule de rat en coupe transversale (Vernet ,2006).	07
Figure 05	coupe de testicule sur laquelle figure l'espace interstitiel situé entre les tubes séminifères (Lécureuil et al ,2007).	08
Figure 06	Relation d'une cellule de Sertoli (Ser) avec diverses cellules germinales de l'épithélium séminifère du rat.	09
Figure 07	Testicule et épididyme du rat (Bihun, 2004).	12
Figure08	Photo représente arbre non raciné et arbre raciné.	17
Figurer 09	Appareil reproducteur mâle du <i>rat blanc</i> adulte (photos original 2018).	20
Figure 10	photos représente la capture des images par un appareil photo numérique connecté à un microscope photonique via le logiciel TS View.	23
Figure11	Méthode de mesure la surface des tubes séminifères par logiciel "Axio Vision 4.6.3.0".	23
Figure 12	Photo représente la page de la GenBank.	24
Figure 13	Taxonomies des espèces de genre « <i>Meriones</i> » A et « <i>Rattus</i> » B et obtenues dans la GenBank.	25
Figure14	Les données obtenir sur la GenBank des espèce <i>Rattus norvegicus a</i> et <i>Rattus rattus b</i> <i>Merione lybicus c</i>	25
Figure15	Exemple d'une séquence nucléotidique au format FASTA.	26
Figure16	Barre d'outils de MEGA5.	26
Figure17	Le programme ClustalW utilisé pour l'alignement multiple des séquences du marqueur moléculaire choisi	27
Figure18	La méthode UPGMA utilisée pour la construction de l'arbre phylogénétique	27
Figure19	Les paramètres utilisés pour la reconstruction phylogénétique	28
Figure20	représente coupe longitudinale et transversale de testicule et de l'épididyme de rat blanc	30
Figure21	Aspect structural du testicule chez les trois espace étudié colorée par Hématoxyline Éosine et observer au microscope photonique à G×10.	31
Figure22	Morphométrie tissulaire du Tubes séminifères	32
Figure23	Aspect structural du tube séminifère présenté les coupe longitudinale et transversale	33

	chez les trois espèce étudié colorée par le rouge congo et observer au microscope photonique à G×40. Scal bar : 50µm.	
Figure 24	Aspect structural du tube séminifère chez les trois espèces étudiées colorée par Hémalum Éosine et observer au microscope photonique à G×100. Scal bar: 10µm	34
Figure25 :	Aspect structural de la cellule de leydig chez les trois espèce étudié colorée par Hémalum Éosine.	34
Figure26	Aspect structural de épидидyme présenté coupe longitudinale et transversale chez les trois espace étudié colorée par Hématoxyline Éosine et observer au microscope photonique à G×10	36
Figure27	Morphométrie tissulaire du l'épididyme.	37
Figure28	Aspect structural du épидидyme présenté coupe longitudinale et transversale chez les trois espace étudié colorée par le rouge congo et observer au microscope photonique à G×40.	38
Figure29	Morphométrie tissulaire du l'épididyme	39
Figure30	Aspect structural du épидидyme chez les trois espace étudié colorée par Hématoxyline Éosine et observer au microscope photonique à G×100.	40
Figure31	Aspect structural de canal différent chez les trois espace étudié colorée par Hématoxyline Éosine et observer au microscope photonique à G×10	41
Figure32	Aspect structural du canal déférent chez les trois espace étudié colorée par le rouge congo et observer au microscope photonique à G×40.	42
Figure33	Morphométrie tissulaire de canal déférent	42
Figure34	Anatomie de la vésicule séminale chez rat blanc	43
Figure35	Aspect structural de vésicule séminale chez les trois espace étudié colorée par Hématoxyline Éosine et observer au microscope photonique à G×10	44
Figure36	Aspect structural du vésicule séminale les trois espace étudié colorée par le rouge congo et observer au microscope photonique à G×40.	45
Figure37	Morphométrie tissulaire du le vésicule séminale	45
Figure38	Anatomie de la prostate chez le rat blanc	46
Figure39	Aspect structuralde prostate chez <i>Rattus norvegicus</i> , Gx40. à différent colorée par Hématoxyline Éosine .Scal bar : 50µm L : Lumière, E : Epithélium, N : Noyaux, , S : Sécrétions Scal bar : 50µm	46

Figure40	Structure de l'ADN mitochondrial (Rustin et al., 1995).	47
Figure41	Arbre phylogénétique des séquences cyt b des genres <i>Meriones</i> et <i>Rattus</i> en utilisant la méthode UPGMA par logiciel MEGA5.	51

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau I	Principales caractéristiques de <i>Meriones lybicus</i> établis d'après les données de petter 1961 et Berr 1990.	04
Tableau II	Chronologie de la spermatogenèse chez le rat d'après les données d'Ilse-Dore Adler. 1996	10
Tableau III	présentée les différent espace utilisée	19
Tableau IV	représent les different organe prélever	20
Tableau V	Les séquences d'ADN nucléaire et mitochondrial extraites de la GenBank pour les 4 espèces	47
Tableau VI	Tous les gènes mitochondriaux de notre espèce (<i>Meriones lybicus</i> , <i>Rattus norvegicus</i> , <i>Rattus rattus</i>)	48

SOMMAIRE

INTRODUCTION	01
CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	
I.1. Présentation de l'espèce	03
I.1.1. Classification	03
I.1.2. Description	03
I.1.3. Répartition géographique	05
I.1.4. Croissance et reproduction	05
I.2. Appareil reproducteur	06
I.2.1. Testicule	06
I.2.1.1. Structure générale	06
I.2.1.2. Histologie	07
I.2.1.3. Fonction	09
I.2.2. Epididyme	11
I.2.2.1. Structure général	12
I.2.2.2. Histologie	11
I.2.2.3. Fonction	12
I.2.3. Canal déférent	12
I.2.3.1. Structure général	12
I.2.3.2. Histologie	13
I.2.3.3. Fonctions	13
I.2.4. Vésicules séminales	13
I.2.4.1. Structure général	13
I.2.4.2. Histologie	13
I.2.4.3. Fonction	14
I.2.5. Prostate	14
I.2.5.1. Structure général	14
I.2.5.2. Histologie	14
I.2.5.3. Fonctions	15
I.3. Identification phylogénétique	15
I.3.1. Définition de la phylogénie	15
I.3.2. Phylogénie moléculaire	15
1. Marqueurs d'ADN nucléaire	16

2.Marqueurs d'ADN mitochondrial.....	16
I.3.3.Etude phylogénétique.....	16
I.3.4.Arbre phylogénétique.....	17
I.3.4.1.Caractéristiques générales des arbres.....	17
I.3.5 Les différent étapes d'analyse moléculaire.....	18

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODE

II.1.Matériel	19
II.1.1.Matériel non Biologique.....	19
II.1.2.Matériel Biologique.....	19
II.1.2.1.Dissection et prélèvement des organes.....	19
II.2.Méthodes.....	20
II.2.1.Etude macroscopique.....	20
II.2.2.Technique histologique.....	20
II.2.4.Etude Morphométrique.....	22
II.2.4.Analyses moléculaires et phylogénétiques.....	24
II.2.4.1.Utilisation des données de la GenBank.....	24
II.2.4.1.1.Présentation de la GenBank.....	24
II.2.4.1.2. Extraction des données de la GenBank.....	24

CHAPITRE III :RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.1.Résultats.....	29
III.1.1.Résultats histlogique.....	29
III.1.1.1.Testicule et épидидyme.....	29
1.Anatomie du testicule et de l'épididyme.....	29
2.Aspect structural du testicule.....	30
3.Aspect Structure du l'épididyme.....	35
III.1.1.2.Canal différent.....	40
1.Anatomie du canal différent.....	40
2.Aspect structural du canal différent	40
III.1.1.3.Vésicule séminale.....	43
1.Anatomie du vésicule séminale.....	43
2. Aspect structural du vésicule séminale.....	43
III.1.1.4. La prostate	44

1. Anatomie de la prostate.....	46
2. Aspect structural de la prostate.....	46
III.2. Résultat Phylogénétique.....	47
III.2.1. Analyses phylogénétiques.....	47
III.2.1.1. Analyse des séquences de la Genbank.....	47
III.2.2. Construction des arbres phylogénétiques.....	49
III.3. Discussion.....	52
III.3.1. Etude histo-morphométrie.....	52
III.3.1.1. Testicule.....	52
III.3.1.2. Epididyme.....	53
III.3.1.3. Canal déférent.....	53
III.3.1.4. Vésicule séminale.....	54
III.3.2. Etude phylogénique.....	54
III.3.3. Discussion générale.....	55
CONCLUSION.....	56
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE.....	
ANNEXES.....	

INTRODUCTION

L'étude de la reproduction apparait très importante puisqu'elle assure la survie des espèces. *Meriones libycus* est une espèce qui fait partie des rongeurs. C'est une gerbille de la famille des Gerbillidés, Elle est d'origine d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient, colonisé dans la région désertique semi désertique en Algérie (Granjon et al. 1992 ; Duplantier et al. 1991). Possède une vaste aire de répartition, il habite tout le Sahara et atteint vers le nord les hautes plaines algériennes, notamment à Djelfa et Biskra. Cette espèce a été l'objet de plusieurs études portant sur la reproduction (Belhoucine et al ; 2007 ; Boufermes, et al., 2014) sur la fonction corticotrope (Aknoun et al., 2017). Les variations saisonnières de ces espèces sont un bon exemple d'une stratégie d'adaptation au différent milieu. Notre travail est une étude comparative et histologique de l'appareil génital mâle de « *Meriones libycus* » et la construction de l'arbre phylogénétique. Afin d'enrichir notre étude nous avons introduit deux autres espèces une domestique et une autre sauvage : le rat wister « *Rattus norvegicus* », et rat sauvage « *Rattus rattus* ». Premièrement, nous avons réalisé l'étude des aspects histologique et morphométrique des testicules, de l'épididyme, du canal déférent et des vésicules séminales chez trois espèces, afin de bien voir les différences entre nos espèces. La deuxième partie est l'étude morphométrique, afin de comparer la surface, le diamètre (petit axe et grand axe), le périmètre pour les tubes séminifères et les épидидymes et la hauteur de l'épithélium et du noyau jusqu'au pôle apicale de l'épididyme, la vésicule séminale et le canal déférent. Enfin la partie phylogénétique, le but est de faire une comparaison entre nos espèces (*Meriones libycus* ; *Rattus norvegicus* ; *Rattus rattus*) de voir s'ils sont proches ou non sur le plan moléculaire à partir des données de la GenBank pour déterminer la position de ces espèces dans l'arbre phylogénétique. Après quelques données bibliographiques générales portant sur l'appareil génital mâle, nous présenterons le chapitre, matériel et techniques utilisées. Le troisième chapitre sera consacré aux résultats obtenus, qui seront discutés à la lumière de la littérature, et enfin, nous terminerons par une conclusion générale qui clôturera ce mémoire qui rassemble les principaux résultats de notre travail et ouvre de nouvelles perspectives.

Afin de contribuer à l'étude comparative entre nos espèces (*Meriones libycus* ; *Rattus norvegicus* ; *Rattus rattus*), L'objectif de notre travail est basé sur deux éléments : le premier élément réside sur le positionnement de notre espèce *Meriones libycus* par rapport aux autres espèces du genre *Meriones* et *Rattus* dans un arbre phylogénétique, le deuxième élément réside sur la comparaison histologique et morphométrique de l'appareil reproducteur mâle de

Meriones lybicus, *Rattus norvegicus* et *Rattus rattus*, pour voir qu'il y avait un rapprochement entre les animaux et les analyse histologique et l'étude phylogénique devraient être effectuées simultanément ou différent .

C

Chapitre I

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I .PRESENTATION DE L'ESPECE

I.1.1. Classification

Meriones libycus, ou *Meriones (Pallasiomys) libycus*, est une espèce qui fait partie des rongeurs. C'est une gerbille de la famille des Muridés appelée en français mérione de Libye, mérione libyen ou encore mérione à queue rouge. Elle est originaire d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient.

I.1.2. Description

Le Méridon de Libye (*Meriones libycus*) est caractérisé par l'allongement particulier de sa queue terminée par un important pinceau de poils noirs et par ses ongles est toujours pigmentés de gris ou de noir mais qui ne sont jamais blancs. Le pelage dorsal est fauve, tiqueté de gris, les flancs sont parfois soulignés par une étroite ligne orange. La face intérieure et les pieds sont blancs. La tête porte une tache blanche post-auriculaire et des taches grises près des yeux et sous les oreilles, ces dernières ne sont pas pigmentées mais sont recouvertes de poils chamois qui leur donnent aspect pâle. Ils sont de 5 à 6 pouces de long et ont un conte qui est à peu près la même longueur que le reste de leur corps. La queue n'est pas bicolore, sa base est rougeâtre et se termine par un fort pinceau noir (Petter, 1963 ; LeBerre, 1990). La seule caractéristique physique qui distingue le corps du Jird libyen de toute autre espèce de gerbille est que chez *M. libycus*, la tête peut être plus étroite à un degré moindre. (Veen, 1999 ; Nowak, 1999 ; Barker, 1999).



Figure 1 : *Meriones libycus* (Origina2017).

Tableau I : Principales caractéristiques de *Meriones lybicus* établis d’après les données de petter (1961) et LeBerre (1990).

Espèce	<i>Meriones Lybicus</i>
1. Synonyme	<i>Meriones caudatus</i> (Thomas, 1919)
2. Nom usuel	En français : Mérion de Libye En anglais : Libyan jird En arabe : Zaboud
3. Systématique	
Règne	Animal
Embranchement	Vertébrés
Ordre	Rongeurs
Super famille	Méridae
Famille	Muridae
Genre	<i>Mérion</i>
Espèce	<i>Meriones lybicus</i>
4. Morphologie	
4.1. Forme (Taille)	Rat
4.2. Couleur de pelage Face dorsale	Fauve tiqueté de gris
-Flans	Souignées par une étoile ligne orangée
-Face ventrale	Blancs
-Oreilles	Non pigmentées mais couvertes de poils chamois
-Tête	Taches blanches post auriculaire – taches grise près des yeux et sous les oreilles.
Pieds	Blancs soles palmaires partiellement velues
-Ongles	Gris noir (foncé)
-Queue	Nettement plus longue que le corps noir bicolore, base rougeâtre ; terminée par un fort pinceau noir
5. Mensuration La longueur « tête et corps »	130-170mm
La longueur de la queue	140-190mm
La longueur du pied	32-41mm
La mesure de l’oreille	16-21mm
Poids du Corps	60-140g
Formule chromosomique (2n)	44
6. Biotope	Riche en végétation (Daya et Gara de Béni-Abbés)
7. Terrier	Ensemble complexe de galeries creusées parmi les racines d’un buisson, 20cm de profondeur
8. Régime alimentaire	Herbivore et granivore parfois insectivore
9. Mœurs	Nocturne vit solitaire ou par familles

I.1.3. Répartition géographique

✓ Distribution en Algérie

Meriones libycus colonisé dans la région désertique et semi désertique en Algérie (Granjon et al., 1992 ; Duplantier et al., 1991). Possède un vaste aire de répartition, il habite tout le Sahara et atteint vers le nord les hautes plaines algériennes, notamment à Djelfa et Biskra.

✓ Distribution en Afrique

Largement distribuée dans tout le nord de l'Afrique, du Maroc à la Lybie, et du Mauritanie au Tchad (Granjon et al., 1999). Arrivée récente au Sénégal interprétée comme une extension de distribution vers le sud, liée à la désertification (Duplantier et al., 1991).

✓ Distribution dans le monde

Il se retrouve dans le désert de Syrie et en Mésopotamie et atteint la Chine par l'Asie centrale. En Iran, sa répartition couvre la plus grande partie de pays. En Afrique du nord, il est souvent en sympatrie avec *Meriones shawi* (Petter, 1963 ; Aulagnier, 1992).



Figure 2 : Répartition géographique de *Meriones libycus* (Aulagnier, 1992).

I.1.4. Croissance et reproduction

Les poils apparaissent le 4ème jour, les oreilles se déplient du 4ème au 6ème jour. Les incisives percent la gencive du 7ème au 9ème jour, les yeux s'ouvrent du 12ème au 17ème jour (Petter, 1963). Chez les mâles les testicules peuvent descendre dans les bourses avant la fin du premier mois, la maturation sexuelle est atteinte à 23 jours, les naissances sont nombreuses au printemps (Petter, 1953). La reproduction de cette espèce se déroule selon un cycle saisonnier marqué par une courte période de reproduction située au printemps et début de l'été et une longue phase de repos débutant à la fin de l'été et se poursuivant jusqu'à la fin de l'hiver. Des modifications histologiques saisonnières très importantes ont été observées dans les vésicules séminales (Thevenot, 1990).

Au cours du cycle saisonnier de reproduction du mérion de Libye (*Meriones libycus*), la vésicule séminale montre d'importantes modifications histologiques observées aux niveaux de ses trois composantes histologiques : la partie épithéliale, la fraction mésenchymateuse et la

zone fibre musculaire les variations saisonnières de ces constituants tissulaires ont été quantifiés par analyse semi-automatique (Belhocine et al., 2006).

I.2. APPAREIL REPRODUCTEUR

Chez l'adulte, l'appareil reproducteur (figure 3) assure la production, le stockage et le transport du matériel génétique contenu dans les gamètes males, ou spermatozoïdes.

Les organes principaux sont les testicules, les épидидyme, les canaux, les canaux déférents, le canal éjaculateur, et pénis. Les organes auxiliaires sont la prostate, les glandes bulbo urétral et la vésicule séminale.

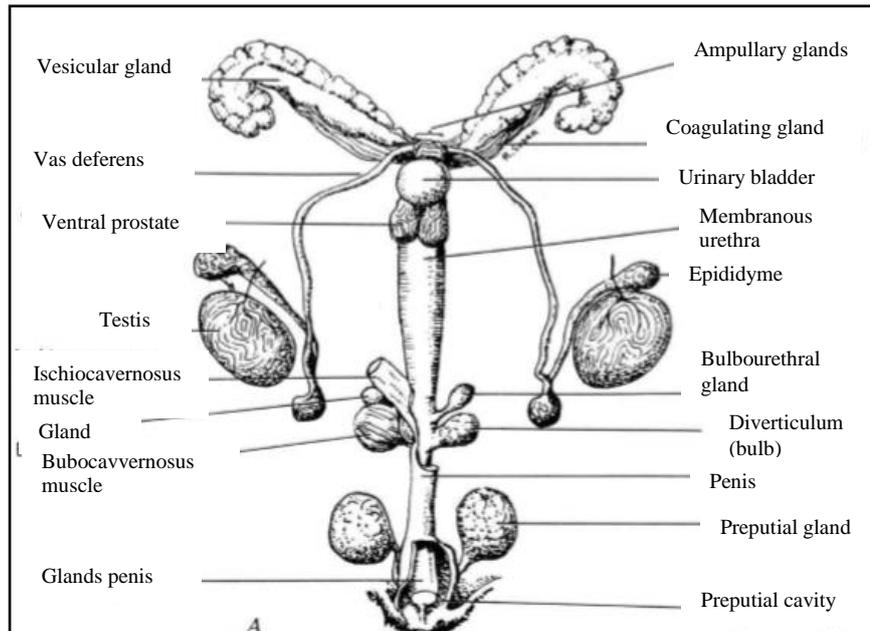


Figure 3 : Schéma en vue dorsale de l'appareil génital mâle (Roscoe et al., 1941).

I.2.1. TESTICULE

I.2.1.1. Structure générale

Le testicule est un organe doué d'une double fonction glandulaire :

- Une fonction exocrine : formation de spermatozoïdes par les tubes séminifères et leur expulsion dans le milieu extérieur lors de l'éjaculation.
- Une fonction endocrine : synthèse des androgènes (testostérone) par les cellules de Leydig et synthèse hormonale par les cellules de Sertoli.

Il est revêtu extérieurement par une capsule fibreuse, l'albuginée, constituée de faisceaux de fibres de collagène et de cellules musculaires lisses. Grâce à ces dernières, l'albuginée se contracte spontanément et rythmiquement pour propulser les spermatozoïdes hors du testicule. A l'un des pôles du testicule, l'albuginée s'épaissit pour former le corps de highmore qui renferme le Rete-testis, un réseau de tubules anastomosés, et les vaisseaux sanguins, Le corps de highmore envoie des cloisons conjonctives divisant le testicule en lobules contenant chacun 1 à 4 tubes séminifères

Très flexueux qui s'ouvrent à leurs deux extrémités dans des tubes droits, ces derniers se jettent dans le rete-testis d'où partent les canaux efférents pour déboucher dans l'épididyme. Entre les tubes séminifères, siège l'espace intertubulaire ou interstitiel où sont localisées les cellules de Leydig (De Kretser et Kerr, 1988 ; Kerr, 1989b ; Demoulin, 1991 ; Wroblet et al., 1993).

I.2.1.2. Histologie

Le testicule est formé de deux compartiments anatomiquement et fonctionnellement distincts :

- **Les tubes séminifères ou compartiment tubulaire :**

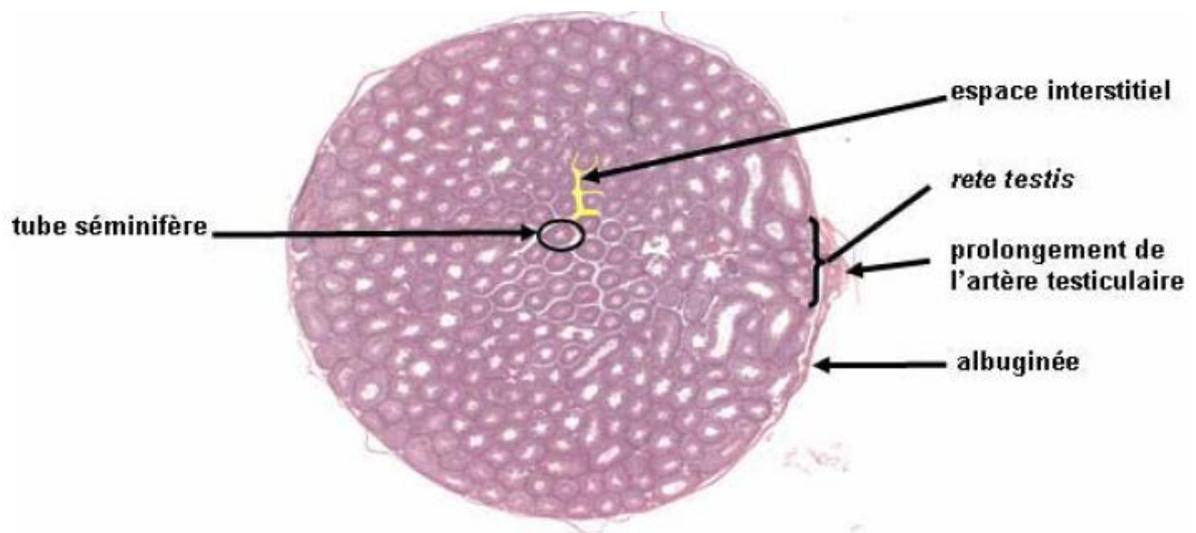


Figure 4 : Testicule de rat en coupe transversale (Vernet, 2006).

Ils sont formés par un épithélium séminifère composé de cellules germinales qui se transforment en spermatozoïdes au cours de la spermatogenèse et de cellules de Sertoli fournissant un support cytoarchitectural et nutritionnel à la spermatogenèse. Cet épithélium repose sur la lame basale ou matrice extracellulaire constituée principalement de laminine, élastine, acide hyaluronique, collagène de type glycoprotéines et protéoglycanes. La lame basale est entourée par une ou plusieurs assises de cellules myoïdes périlitubulaires (Cieciura, 1988), celles-ci sont riches en matériel contractile (actine, myosine, protéine actine-like) (Maekawa et al., 1991), chez le rat, elles se contractent toutes les 30 à 45s pour évacuer les spermatozoïdes des tubes séminifères (Anthony et Skinner, 1989 ; Tung et Friz, 1990 ; Palombi et al., 1992).

- **L'espace interstitiel ou comportement intertubulaire :**

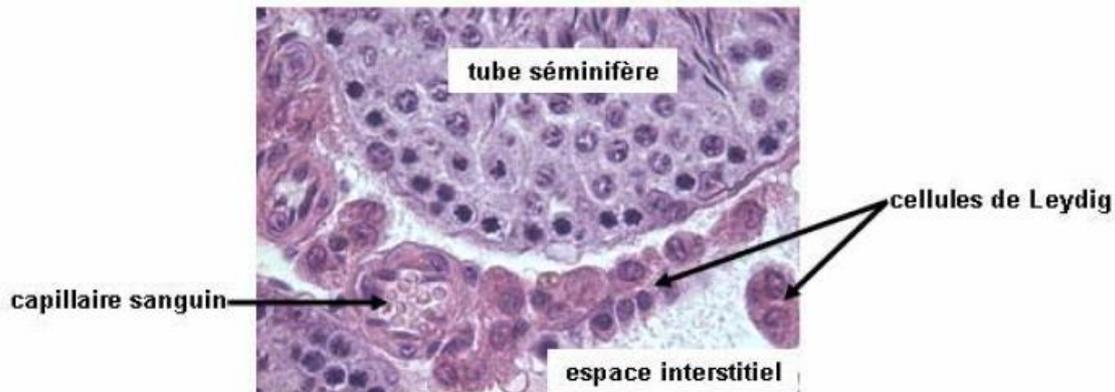


Figure 5 : Coupe de testicule sur laquelle figure l'espace interstitiel situé entre les tubes séminifères (Lécureuil et al., 2007).

Cet espace réformé des cellules Leydig productions d'androgènes des macrophages capable d'activité bactéricide (Wei et al., 1988) et endocrine (Bergh et Hutson, 1992), des fibroblastes, des vaisseaux sanguins et lymphatiques, et quelques mastocytes (Gayton et al., 1992).

- **Cellule de Leydig**

➤ **Structure général**

Les cellules de Leydig sont découvertes et décrites pour la première fois par Leydig en 1850. Elles résident dans l'espace interstitiel testiculaire à proximité des capillaire sanguins ou de la paroi des tubes séminifères. Cette disposition est en faveur du passage de la testostérone dans la circulation ou sa diffusion dans les tubes séminifères (Fawcett, 1973 ; De Kretser et Kerr, 1988). Elles ont une forme polyédrique, le noyau excentrique est large et ovale ou rond, il est riche en chromatine décondensée avec quelques amas de chromatine condensée attachés à l'enveloppe nucléaire et possédé deux nucléoles. La fonction endocrine principale des cellules de Leydig est la sécrétion des androgènes, en particulier la testostérone. Elles ont pour cela un cytoplasme riche en organites impliqués dans cette synthèse (Almahbobi et al., 1985 ; De Kretser et Kerr, 1988 ; Hall, 1988 ; Payne et al., 1992) des cellules de Leydig contribuent à la biosynthèse de la testostérone (Bielinski, 1992).

➤ **Rôles de la testostérone**

Dès leur apparition pendant le développement embryonnaire (15 jour chez le rat et 8 semaines chez l'homme) les cellules de Leydig fœtales produisent activement de la testostérone qui entraîne la différenciation du tractus génital male à partir du canal de Wolff primitif, le masculinisation des organes génitaux externes et du système nerveux central (Saez et al., 1995). A la naissance les cellules de Leydig fœtales sont graduellement transformées en

cellules adultes, les synthèses de la testostérone permettent le développement et le maintien des organes génitaux, et l'apparition des caractères sexuels secondaires. A la puberté, les cellules de Leydig adultes entament leur synthèse stéroïdogénique. La testostérone avec la FSH initie la spermatogénèse. Chez l'adulte, elle perpétue l'expression du phénotype sexuel mâle (Lobaccaro et Sultan, 1992).

• **Cellule de Sertoli**

C'est une grande cellule de forme pyramidale qui s'étend de la lame basale à la lumière des tubes séminifères, son noyau large à pourtour irrégulier occupe une position basale et présente un nucléoplasme homogène riche en chromatine décondensée avec un nucléole proéminent tripartite et très actif. Le cytoplasme renferme des organites à distribution régionale (Fawcett, 1988 ; Jégou, 1992).

Les cellules de Sertoli jouent essentiellement un rôle d'assistance à la spermatogénèse, leur corps constitue un échafaudage qui maintient en place les clones de cellules germinales en voie de différenciation et absorbe les débris cellulaires ainsi que les corps résiduels après libération des spermatozoïdes dans la lumière tubulaire (Josso et Rey, 1995).

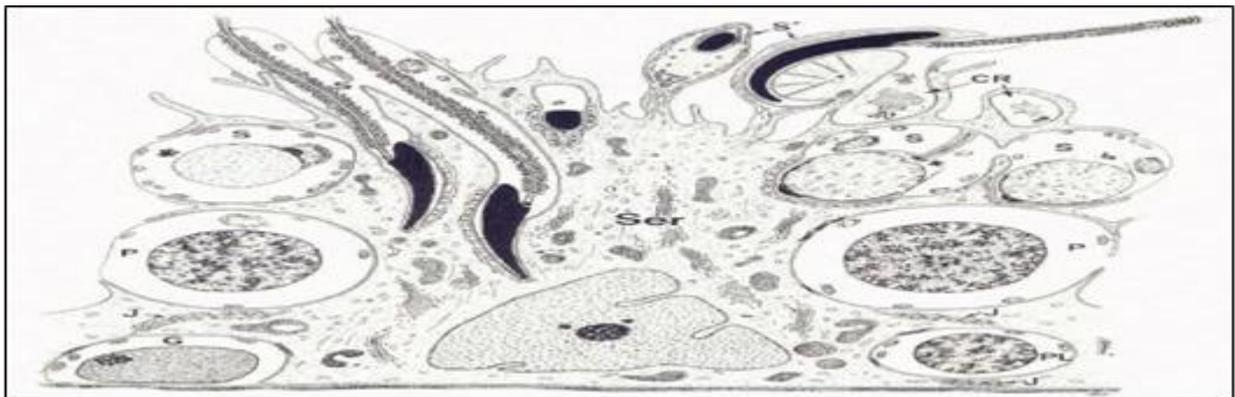


Figure 6 : Relation d'une cellule de Sertoli (Ser) avec diverses cellules germinales de l'épithélium séminifère du rat. Spermatogonie (G), spermatocytes préleptotène (PL) et pachytène (P), spermatides à différentes étapes de la spermiogénèse (S) avec en haut à droite des spermatozoïdes (S') sur le point d'être relâchés dans la lumière du tube ; corps résiduels (CR). J = complexes de jonction entre les cellules de Sertoli adjacentes, composants essentiels de la barrière hémato-testiculaire (Mauvais-Jarvis, 1984).

I.2.1.3. Fonction

-La spermatogénèse :

La spermatogénèse est le processus qui transforme une cellule germinale indifférenciée, la Spermatogonie, en cellules germinales mâles hautement différenciées, les spermatozoïdes. Ce processus se déroule dans les tubes séminifères du testicule où les cellules germinales en différenciation sont étroitement liées aux cellules de Sertoli.

Comme dans l'espèce humaine, la spermatogénèse du rat débute à la puberté et se déroule

durant toute la vie adulte. Chez le rat, le temps nécessaire à la transformation d'une Spermatogonie en spermatozoïdes est d'environ 50 jours : 48 jours chez le rat Sherman, 53.2 jours chez le rat Wistar (Clermont et coll, 1959), et 51.6 jours chez le rat Sprague-Dawley (Clermont et Harvey, 1965).

-La spermatogenèse comprend trois étapes :

- Une phase de multiplication des cellules germinales indifférenciées (spermatogonies).
- Une phase de méiose qui intéresse les spermatocytes.
- Une phase de différenciation qui transforme les spermatides en spermatozoïdes : la Spermiogénèse.

1. Multiplication des spermatogonies

Les spermatogonies sont les cellules germinales les plus périphériques dans le tube séminifère. Ce sont des cellules diploïdes qui se trouvent dans le compartiment basal, au contact de la base des cellules de Sertoli. La présence de cellules souches permet aux spermatogonies d'assurer à la fois leur propre auto-renouvellement et d'alimenter la lignée germinale tout au long de la vie afin de produire en continu des spermatozoïdes (Hermo et coll, 2010).

Tableau II : Chronologie de la spermatogenèse chez le rat d'après les données d'Ilse-Dore Adler (1996).

Phase de Multiplication goniale				10.5 jours
Méiose	Prophase	17.5 jours	Pré-leptotène	3.5 jours
			Leptotène	1 jour
			Zygotène	2 jours
			Pachytène	11 jours
			Diploène	< 1jour
	Fin I ^{ère} division	>0.5 jours		
	II ^{ème} division	> 0.5 jours		
Spermiogénèse				20.5 jours

2.Spermatocytes et méiose

La différenciation des spermatocytes I intéresse essentiellement leur noyau, dans lequel se déroule la méiose. Au stade zygotène, les spermatocytes I passent dans le compartiment adluminal du tube séminifère. Ils sont localisés à distance de la membrane basale, sous forme de cellules sphériques logées entre les cellules de Sertoli. Le spermatocyte I subit sa première division de méiose, et donne naissance à deux spermatocytes II. Les spermatocytes II sont de

plus petite taille que les spermatozoïdes I. Ils sont également logés entre les prolongements des cellules de Sertoli, plus haut dans le compartiment adluminal. Ces cellules germinales n'ont qu'une existence brève et s'observent difficilement sur les coupes histologiques. La deuxième division de méiose se produit très rapidement et aboutit à la formation de deux spermatozoïdes haploïdes.

3.Spermatozoïdes et spermiogénèse

La métamorphose d'un spermatozoïde en spermatozoïde est un phénomène cytotologique complexe au cours duquel les organites cellulaires subissent des transformations morphologiques profondes.

Quatre événements majeurs caractérisent cette transformation :

- La formation d'une vésicule riche en enzymes qui s'étale progressivement sur une partie du noyau, c'est l'acrosome
- L'élongation du noyau et sa condensation
- La formation d'un flagelle
- La mise en place de protéines qui jouent un rôle fondamental dans le mécanisme de la fécondation.

I.2.2.EPIDIDYME

I.2.2.1.Structure général

L'épididyme est responsable du transport des spermatozoïdes du testicule vers les canaux déférents et éjaculateurs, de leur maturation fonctionnelle et de leur stockage dans sa partie distale jusqu'à l'éjaculation (Dadoune, 1988).

I.2.2.2.Histologie

L'épididyme est un long canal fortement contourné plaqué contre le testicule et divisé classiquement en trois régions anatomiques en trois régions anatomiques :

- Tête ou Epididyme proximale, reliée au hile de la gonade par les canaux efférents. Elle collecte les spermatozoïdes provenant du testicule.
- Corps ou Epididyme moyen, longeant la gonade.
- Queue ou Epididyme distal, épaisse et coudée en continuité avec le canal déférent.

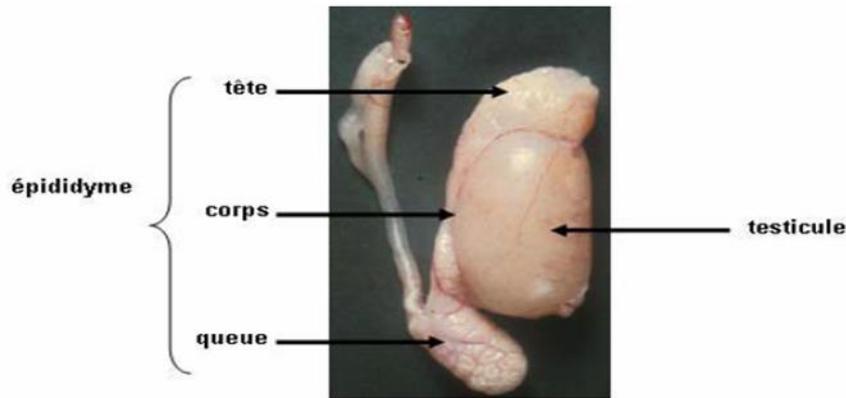


Figure 7 : Testicule et épiddidyme du rat (Bihun, 2004).

La tête et le corps de l'épididyme sont le siège de la maturation des spermatozoïdes, et la queue est surtout adaptée à leur stockage (Orgebin-Crist, 1986).

L'épididyme est soutenu extérieurement par une paroi musculaire et intérieurement il est tapissé d'un épithélium cylindrique pseudostratifié (Fournier-Delpech et Thibault, 1991).

La paroi musculaire de l'épididyme est une couche circulaire de fibres musculaires lisses qui s'épaissit au niveau de la queue. Ces muscles sont doués de contractions péristaltiques régulières (toutes les 2 à 10s) entraînant le mélange de spermatozoïdes issus de différentes vagues de spermatogenèse et leur expulsion dans le canal déférent. L'épididymaire est formé de 5 type cellulaires (cellules basales, cellules principales, cellules à noyau apical, cellules claires, cellules en halo.

I.2.2.3. Fonction

Les cellules épithéliales de l'épididyme élaborent le fluide épiddidymaire dans lequel baignent les spermatozoïdes ,grâce à leurs activités d'absorption, de concentration et de synthèse des protéines (Dacheux et Paquigno ,1981) et controlent rigoureusement sa composition spécifique grâce à la barrière physiologique que constituent les jonction serrées reliant les cellules entre elles et assurant une fermeture hermétique à l'espace intercellulaire pour empêcher le passage des molécules du sang (Hofer et Hinton,1984 ; Cyr et al.,1995). Dans ce fluide les spermatozoïdes trouvent tout ce dont ils ont besoin pour leur maturation : protéines et glycoprotéines (Regalado et al., 1993).

I.2.3.CANAL DEFERENT

I.2.3.1.Structure général

Le canal déférent est un long canal mesurant 6cm de longueur chez le rat, il fait suite à la queue de l'épididyme et débouche dans le canal éjaculateur. Il est divisé en trois régions anatomiques et fonctionnelles différentes : les parties proximale, distale et terminale (Rodriguez et Bustos-Orgebon, 1993).

I.2.3.2. Histologie

En s'éloignant de la partie proximale la lumière du canal s'élargit et la muqueuse forme des replis épithéliaux. Il possède de l'extérieur vers l'intérieur :

- Une paroi musculaire épaisse formée de 3 couches, une couche longitudinale interne, une couche moyenne circulaire et une couche longitudinale externe. La contraction de cette paroi entraîne la propulsion des spermatozoïdes dans le canal éjaculateur.
- Un épithélium pseudostratifié constitué de cellules basales et de cellules principales possédant :

-Un noyau en position submédiane.

-Une zone supranucléaire riche en réticulum endoplasmique granuleux et en réticulum endoplasmique lisse.

-Un appareil de Golgi très développé, et de nombreux mitochondries et ribosome

I.2.3.2. Fonctions

Lors de l'éjaculation, les spermatozoïdes expulsés par l'épididyme distal traversent le canal déférent pour se déverser dans l'urètre. Le canal déférent pourrait aussi contribuer à la survie et au maintien de la fertilité des spermatozoïdes (Robaire et Hermo, 1988) et peut être aussi la phagocytose des spermatozoïdes dégénérés et des corps étrangers (Murakami et al., 1984).

I.2.4. VESICULES SEMINALES**I.2.4.1. Structure général**

Les vésicules séminales sont des glandes paires formées de nombreuses circonvolutions, leur sécrétion exocrine s'ajoute au plasma séminal lors de l'éjaculation. Elles possèdent une paroi musculaire et un épithélium sécrétoire. La lumière est irrégulière interrompue par des diverticules bordés par l'épithélium sécrétoire pseudostratifié composé de cellules basales et de cellules principales.

Les cellules basales ressemblent à celles des autres épithéliums du tractus génital et les cellules principales ont un noyau basal riche en chromatine décondensée avec un nucléole proéminent, un REG développé et des mitochondries nombreuses. L'appareil de Golgi supranucléaire et les grains de sécrétion ont un centre dense aux électrons entouré d'une zone claire (Aumuller, 1979 ; Spring-Mills, 1980).

I.2.4.2. Histologie

Les vésicules séminales sont formées de deux compartiments : le compartiment épithélial et le stroma. Cette dernière comporte tous les espaces interstitiels et la paroi fibromusculaire qui borde extérieurement la glande. Les espaces interstitiels regroupent tout le tissu conjonctif infiltré dans la glande et est formé par une matrice extracellulaire (MEC) ou baignent les cellules conjonctives.

I.2.4.3. Fonction

La vésicule séminale élabore son produit et le stocke dans sa lumière. Au moment de l'éjaculation, la lumière se vide et se remplit en moins d'une semaine. Elle contribue pour 50 à 80% du contenu en protéines totales du plasma séminal. Le fructose constitue une source d'énergie pour le déplacement des spermatozoïdes (Mann et Lutwak-Mann, 1981).

I.2.5. PROSTATE

I.2.5.1. Structure général

La prostate est une glande exocrine entourant l'urètre et située juste sous la vessie urinaire à proximité des vésicules séminales. Organisé en lobes bien individualisés et recouverts d'une capsule conjonctive : les lobe ventral, dorsal et les deux lobes latéraux. La paroi musculaire de chaque lobe est formée de 3 à 4 couches de cellules musculaires lisses quand elles se contractent la sécrétion est déchargée dans l'urètre. L'épithélium sécrétoire est pseudostratifié constitué de cellules basales et de cellules principales (Aumuller, 1979).

Les cellules basales insérées entre les cellules principales n'atteignent jamais la lumière, leur noyau est irrégulier, et le cytoplasme est pauvre en organites et ne possède pas de sécrétion. Les cellules principales sont douées d'une activité de synthèse des protéines.

I.2.5.2. Histologie

La prostate est la plus volumineuse des glandes génitales accessoires. Elle est constituée de 30 à 50 glandes rubllo-alvéolaires ramifiées qui déversent leur contenu dans l'urètre prostatique par l'intermédiaire de longs canaux excréteurs. Les glandes prostatiques se répartissent en trois régions :

1. Des glandes muqueuses péri-urétrales,
2. Des glandes sous-muqueuses péri-urétrales et
3. Des glandes composées périphériques appelées glandes principales. Ces glandes sont bordées d'un épithélium cylindrique simple ou pseudostratifié.

Dans leur lumière, on observe des concrétions prostatiques (corps amylicés) riches en glycoprotéines et, parfois, sites d'un dépôt de calcium. Les cellules contiennent un réticulum endoplasmique rugueux et un appareil de Golgi bien développés. La prostate est un organe musculaire et glandulaire. Elle est constituée de trois groupes de glandes : (1) des glandes muqueuses péri-urétrales; (2) des glandes sous-muqueuses péri-urétrales, reliées à l'urètre par de courts canaux; et (3) des glandes prostatiques principales, périphériques. Environ 30 à 50 glandes tubulo-alvéolaires s'ouvrent directement dans l'urètre prostatique par l'intermédiaire de 15 à 30 longs canaux se terminant sur les côtés de la crête urétrale.

L'épithélium des glandes prostatiques principales, de type cylindrique simple à

pseudostratifié, s'organise en replis reposant sur un chorion. Leur lumière peut contenir des corps amylicés, structures condensées riches en glycoprotéines et en fragments cellulaires, ayant tendance à se calcifier avec l'âge.

I.2.5.3. Fonctions

Le produit de sécrétion de la prostate élaboré par les cellules principales renferme des ions (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Cl^-), des substances de faible poids moléculaire (cholestérol, acides aminés, spermine, speridine), des enzymes (phosphatase acide, lysosome créatine kinase) et des protéines. Lors de l'éjaculation, la prostate évacue son contenu dans l'urètre ou il est mélangé au plasma séminal. 15 à 30% des protéines de plasma séminal proviennent de la prostate. L'activité de synthèse des protéines est soumise au contrôle des androgènes (Cunh et al., 1987 ; Prins et Birch, 1993).

La sécrétion de la prostate est acide (pH 6,5). Elle contient de la fibrinolysine dont le rôle est de liquéfier le sperme. Le liquide prostatique sécrété dans le sperme contient de fortes concentrations d'acide citrique, de zinc, d'amylase, d'antigène spécifique de la prostate et de phosphatase acide.

I.3. IDENTIFICATION PHYLOGENETIQUE

I.3.1. Définition de la phylogénie

La phylogénie est « le cours historique de la descendance des êtres organisés ». Le terme lui-même date de la fin du 19ème siècle (inventé par Haeckel, 1866) et avait alors le sens de « l'enchaînement des espèces animales ou végétales au cours du temps ». La phylogénie est donc une des héritières des méthodes de classification du monde vivant. Cependant, on distingue actuellement rarement la classification et la phylogénie, puisque, comme Darwin le suggérait, toute classification légitime des êtres vivants doit être « généalogique » (Jourdan, 2006).

I.3.2. Phylogénie moléculaire

La phylogénie moléculaire consiste à reconstruire les relations de parenté entre les séquences de nucléotides ou d'acides aminés. Elle permet d'étudier l'évolution des séquences et la relation de parenté entre espèces. La nature quantitative des relations, ainsi établies, a permis le développement de méthodes et de règles rigoureuses pour la construction des arbres phylogénétiques (Cheikh, 2006). Elle étudie l'histoire évolutive des espèces étudiées à la base d'une portion de leur séquence moléculaire (Diallo, 2009).

La phylogénie moléculaire est basée sur les principes suivants :

- Les mutations se produisent au hasard.
- Les mutations s'accumulent au cours du temps.
- Les mutations se produisant chez un individu et se fixent dans sa descendance.

Pour reconstituer des phylogénies, on peut utiliser différents gènes, ou les protéines correspondantes, appelés marqueurs phylogénétiques (Alauzet, 2009).

Un marqueur génétique est basé sur la variation dans le génome, cette variation est aussi nommée polymorphisme. Selon le niveau taxonomique étudié, il est essentiel de choisir un type de marqueur qui lui est adapté. Par exemple, si le but visé est de distinguer des groupes d'individus au niveau de l'espèce, les marqueurs utilisés devront être plus conservés que dans le cas des études de populations (Beaulieu, 2007).

Les polymorphismes ADN peuvent être détectés dans l'ADN nucléaire et l'ADN d'organites, trouvé dans les mitochondries et les chloroplastes. Les marqueurs moléculaires Rappels bibliographiques concernent la molécule d'ADN elle-même, et, comme tels, sont considérés comme des mesures objectives de la variation (Vicente et Fulton, 2003).

1. Marqueurs d'ADN nucléaire

Un certain nombre de marqueurs sont à présent disponibles pour détecter les polymorphismes d'ADN nucléaire. Dans les études sur la diversité génétique, les marqueurs les plus fréquemment utilisés sont les microsatellites (Rischkowsky et Pilling, 2008).

2. Marqueurs d'ADN mitochondrial

Les polymorphismes d'ADN mitochondrial (ADN mt) ont été largement utilisés lors des analyses de la diversité phylogénétique et génétique. L'ADN mt haploïde transporté par les mitochondries du cytoplasme cellulaire, possède un mode maternel d'hérédité (les animaux héritent l'ADN mt de leurs mères et non de leurs pères) et un taux de mutation élevé ; il ne se recombine pas. Ces caractéristiques consentent aux biologistes de reconstruire les relations évolutives intra et interraciales par l'évaluation des modèles de mutation de l'ADN mt.

Les marqueurs d'ADN mt peuvent également fournir un moyen rapide de détecter l'hybridation entre les espèces et les sous-espèces d'animaux d'élevage (Nejman et *al.*, 2003) ou même sauvage.

I.3.3. Etude phylogénétique

L'élaboration de technologies à haut débit serait inutile si l'on ne disposait pas des capacités d'analyse des données biologiques en croissance exponentielle. Ces données doivent se stocker dans des bases de données électroniques associées à des logiciels spécialement conçus pour la mise à jour, l'interrogation et l'extraction. Les informations doivent être facilement accessibles et flexibles aux interrogations pour faciliter l'extraction des informations pouvant être analysées pour éclaircir les voies métaboliques et le rôle des protéines et des gènes impliqués (Rischkowsky et Pilling, 2008).

La bioinformatique est fondamentale pour associer les informations provenant de sources différentes et générer une connaissance nouvelle à partir de données existantes. Elle dispose également des potentialités pour simuler la structure, la fonction et la dynamique des systèmes

moléculaires et est donc utile pour la formulation des hypothèses et pour la conduite du travail expérimental (Rischkowsky et Pilling, 2008).

Pour réaliser une phylogénie, un bon nombre de programmes informatiques sont disponible sur la grande toile avec plus de 367 logiciel (Djekoun et Hamidechi, 2010).

I.3.4. Arbre phylogénétique

Un arbre phylogénétique ou un dendrogramme est une représentation graphique de la phylogénie. Il exprime les liens entre les taxa sous la forme d'une succession de branchements (Rasmont, 1997 ; Gattolliat, 2002 ; Schmidt, 2003).

Il contient quatre éléments principaux :

La racine (au cas où l'arbre serait enraciné) qui indique l'ancêtre commun des espèces représentées dans l'arbre.

Les nœuds externes (ou feuilles) représentent les espèces contemporaines pour lesquelles les informations ont été disponibles lors de la construction de l'arbre. Ils sont communément appelés taxons.

Les nœuds internes qui représentent des ancêtres inférés, hypothétiques.

Les branches (ou arêtes) de l'arbre qui montrent les relations de descendance entre les nœuds (les taxons). Ces arêtes peuvent avoir des longueurs. Ces longueurs peuvent correspondre à plusieurs informations dont, le taux de mutation, la distance génomique, etc.

I.3.4.1. Caractéristiques générales des arbres

Il est nécessaire de distinguer d'abord entre réseaux et arbres, ces derniers pouvant être non enracinés ou enracinés (figure 9).

a) **Un arbre enraciné** est un arbre dans lequel un des nœuds est désigné pour être la racine, et la direction des rapports héréditaires est déterminée

b) **Un arbre non enraciné** est une représentation intemporelle des relations phylogénétiques, les liens entre nœuds ne sont pas orientés, et un seul et unique chemin permet de passer d'un sommet à l'autre. Cet arbre n'induit donc aucune hiérarchie.

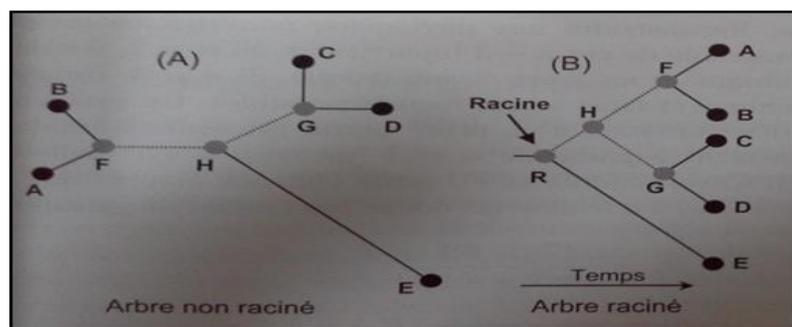


Figure 8: Représente un arbre non raciné et un arbre raciné

I.3.5. Les différentes étapes d'analyse moléculaire

Les étapes de l'analyse moléculaire sont les suivantes:

-Echantillonnage représentative : Les échantillons employés pour extraire l'ADN sont composés de : os, tissu, poils, sang ou matériel fécal.

-Extraction et quantification de l'ADN : L'extraction d'acides nucléiques d'un matériel biologique requiert la lyse cellulaire, l'inactivation des nucléases cellulaires et la séparation de l'acide nucléique souhaité de débris cellulaires. Cependant il a été montré que la sensibilité de détection par PCR de l'ADN extrait varie selon le kit utilisé (Yoshikawa et al., 2011).

-Amplification de l'ADN par PCR : Est une méthode in vitro d'amplification de séquences spécifiques d'ADN en un très grand nombre de copies.

-Séquençage des fragments amplifiés :

Le séquençage de l'ADN consiste à déterminer l'ordre des nucléotides sur la molécule d'ADN précédemment amplifiée par PCR.

C

Chapitre II

MATERIEL ET METHODES

Notre étude a été réalisée pendant une durée de huit mois, du mois de février au mois de septembre 2018.

Le travail a été divisé en trois parties :

- ✚ Une partie histologique au niveau du laboratoire d'Anatomie Pathologie de Koléa dont l'intérêt est de comparer et d'étudier l'aspect histologique de l'appareil génital mâle du *Merion lybicus*, *Rattus rattus* et *Rattus norvegicus*.
- ✚ Une partie morphométrie au niveau du laboratoire de recherche sur les zones arides (LRZA), USTHB, Alger.
- ✚ Une partie génétique au niveau du laboratoire de biodiversité et environnement : interaction, génome (LBEIG) FSB, USTHB, Alger ; dont l'intérêt est d'étudier la phylogénie du genre « Meriones », afin de trouver la position exacte des espèces « *Meriones lybicus* », « *Rattus rattus* » et « *Rattus norvegicus* » dans l'arbre phylogénétique.

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. MATERIEL

II.1.1. Matériel non Biologique

L'ensemble du matériel non biologique utilisé dans ce mémoire est présenté en annexe I.

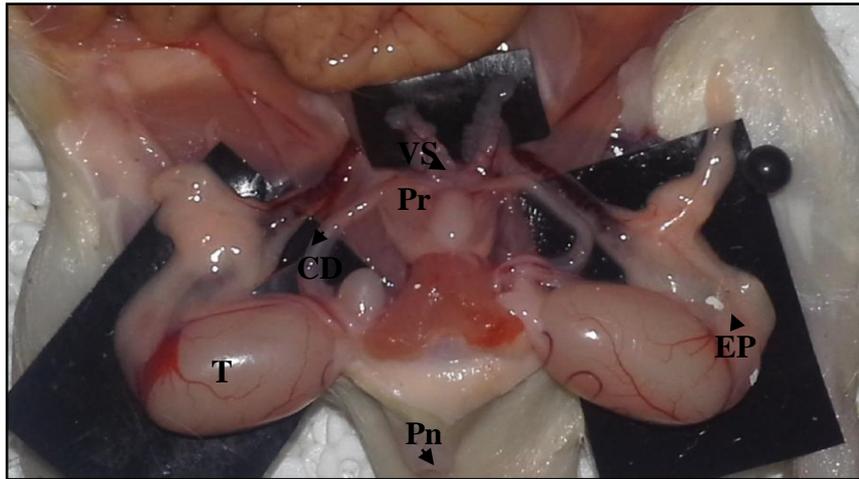
II.1.2. Matériel Biologique

Dans le cadre de notre expérimentation, qui consiste à faire une comparaison entre *Meriones lybicus*, rat wister et rat sauvage sur le plan histologique et morphométrique nous avons utilisé :

Espèce	Nombre d'espace
Rat blanc « <i>Rattus norvegicus</i> »	4
Rat sauvage « <i>Rattus rattus</i> »	2
<i>Merione</i> « <i>Meriones lybicus</i> »	3

II.1.2.1. Dissection et prélèvement des organes

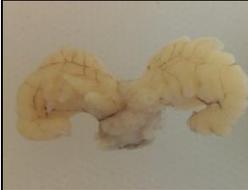
- ✓ Nous avons disséqué et prélevée les différentes organes reproducteur (testicule ; épididyme ; vésicule séminale ; canal déférent ; prostate) , chez *Rattus norvegicus* et *Rattus rattus* .
- ✓ Nous avons ramené les organes reproducteur mâle (testicule ; épididyme ; vésicule séminale ; canal déférent) chez *Meriones lybicus* dans laboratoire de recherche sur les zones arides (LRZA), USTHB, Alger.



Figurer 9 : Appareil reproducteur mâle du *rat blanc* adulte (original 2018)

T : Testicule, EP : Epididyme, VS : Vésicules séminales, Pr : Prostate, CD : Canal déférent
Pn : Pinus.

Tableau III : Représente les différents organes prélevés.

Organe	Photo d'organe
Teticule et pididyme, Canal déférent	
Vésicules séminales	
La prostate	

II.2. Méthodes

II.2.1. Étude macroscopique

Nous avons étudié l'aspect macroscopique des différents échantillons analysés. Ces échantillons sont coupés de façon longitudinale et transversale afin d'obtenir les coupes qui seront traitées par la technique histologique.

II.2.2. Technique histologique

Nos échantillons ont été soumis à la technique histologique courante qui permet l'observation

microscopique après une coloration spécifique. Elles comportent plusieurs étapes, rapportées essentiellement dans Martoja et Martoja (1967) et Gabe (1968).

Le matériel spécifique utilisé pour la technique histologique est présenté en annexe I.

Fixation

C'est l'étape qui permet d'immobiliser et conserver les structures cellulaires et tissulaires dans un état aussi proche que possible du vivant.

Le fixateur utilisé est le formol à 10% (annexe I), les pièces ont été plongées dans un volume 60 fois supérieur à leur volume.

Chaque pièce est accompagnée d'une étiquette portant toutes les indications utiles.

Inclusion

Ce processus comporte quatre étapes :

1. Déshydratation : La déshydratation a pour but d'éliminer l'eau des tissus afin d'être remplacée par la paraffine car ce dernier est hydrophobe.

Les cassettes contenant l'organe à étudier est mise dans cinq bains d'alcool à degré croissant 70° (1bain), 96° (2bain), 100° (2 bain), pendant 1h pour chaque (annexe I).

2.Eclaircissement : il permet l'élimination complète des traces d'alcool et l'imprégnation par 5 bains de xylène, solvant de la paraffine. La durée de chaque bain est de 1 heure.

3.Pénétration des pièces par la paraffine : Cette étape consiste à éliminer le butanol et à le remplacer par la paraffine. Les pièces sont placées successivement dans deux bains chacun à l'étuve à 58C° :

- Le premier est composé de paraffine et dure une heure.

- Le deuxième bain est composé de paraffine et dure une heure.

4.Confection des blocs de paraffine : La pièce a été prélevée du milieu d'imprégnation à l'aide d'une pince chauffée puis placée dans des moules contenant la paraffine chaude. Les moules sont des barres métalliques spéciales appelés barres de leukart., la paraffine fondue est versée dans les moules légèrement préchauffés à 45°C. La cassette est déposée sur le moule. Le bloc n'est démoulé qu'après refroidissement total sur une plaque froide et il est conservé à la congélation à une température de -4°C jusqu'à la réalisation des coupes.

Microtomie

1. Confection des coupes : Tout d'abord, installer le bloc sur le porte bloc du microtome qui est réglé à 20 µm afin d'éliminer le surplus de la paraffine. Lorsque la pièce apparaît dans le plan de coupe, on ramène l'échelle à 5 µm pour obtenir des coupes fines sous forme de ruban.

2. Etalement des coupes : On dépose les rubans obtenus sur des lames nettoyées à l'alcool, contenant de l'eau distillée chauffée sur une plaque chauffante réglée à 40°C. A l'aide d'un diamant, les indications de l'organe sont gravées sur la lame correspondante.

Coloration

Le but de la coloration est de rendre plus évidents les différents constituants cellulaires et tissulaires. Ceci est obtenu à l'aide de coloration topographique : Hémato-Eosine, trichrome de Masson, Rouge Congo.

1. Déparaffinage : le déparaffinage sert à enlever la paraffine du tissu pour que les colorants puissent pénétrer. Le réactif utilisé est le xylène. Les coupes sont passées dans 3 bains de xylène pendant 5 à 10min pour chacun.

2. Réhydratation : elle a pour objet de retirer le xylène du tissu et le remplacer par l'eau.

Les lames sont passées dans les trois bains successifs d'éthanol de degrés décroissants (100°, 96°, 70°) d'une durée de 5min chacun. Les pièces sont enfin lavées à l'eau distillée pendant 5 minute environ avant coloration.

3. Coloration :

-Coloration de routine : Les solutions d'hématoxyline contiennent de l'hématéine et un mordant métallique (sels d'aluminium ou de fer). Ce mordant est responsable de la coloration. L'éosine colore les cytoplasmes en rose et les fibres dans une gamme de roses plus ou moins vifs selon l'acidophilie des différents éléments.

-Trichrome de Masson : Met en évidence les éléments du tissu conjonctif en particulier le collagène en vert, le noyau en noir et le cytoplasme en rouge ; cette coloration a servi pour les prises de photographies.

- Rouge Congo : Cette coloration marque en rouge les dépôts d'amylose. Il présente une biréfringence rouge-verte en lumière polarisée.

 **Montage et observation :** Le montage est l'opération qui consiste à conserver les colorations à l'aide de l'Eukitt (Merck, Darmstadt, R.F.A) qui permet l'adhérence entre la lame et la lamelle. Après montage, les lames sont séchées sur papier absorbant et enfin observées au microscope photonique (Optika).

II.2. 3. Etude morphométrique

Afin de tracer des histogrammes pour faire une comparaison entre les tailles des : tubes séminifères, épидидymes, canaux différents, vésicule séminale de nos espèces qui sont : Meriones « *Meriones libicus* », rat blanc « *Rattus norvegicus* » et rat sauvage « *Rattus rattus* », des mesures ont été réalisées sur des coupes histologiques des animaux expérimentés. Les images sont capturées par un appareil photo numérique (HiROCAM,

MA88-500, BME lab and Science, St. Paul, USA) connecté à un microscope photonique (Optika B 235, Italie) via le logiciel TS View (Microscopes America, Cumming, GA, USA).



Figure 10 : Photo représentant la capture des images par un appareil photo numérique (HiROCAM, MA88-500, BME lab and Science, St. Paul, USA) connecté à un microscope photonique (Optika B 235, Italie) via le logiciel TS View.

La surface, le diamètre (petit axe et grand axe), le périmètre pour les tubes séminifères et les épидидymes à $G \times 10$ et les contours des épидидymes et canal déférent et vésicule séminale et prostate à $G \times 40$, ont été mesurés via un logiciel d'analyse et de traitement d'images "Axio Vision 4.6.3.0" développé par la société Carl Zeiss.

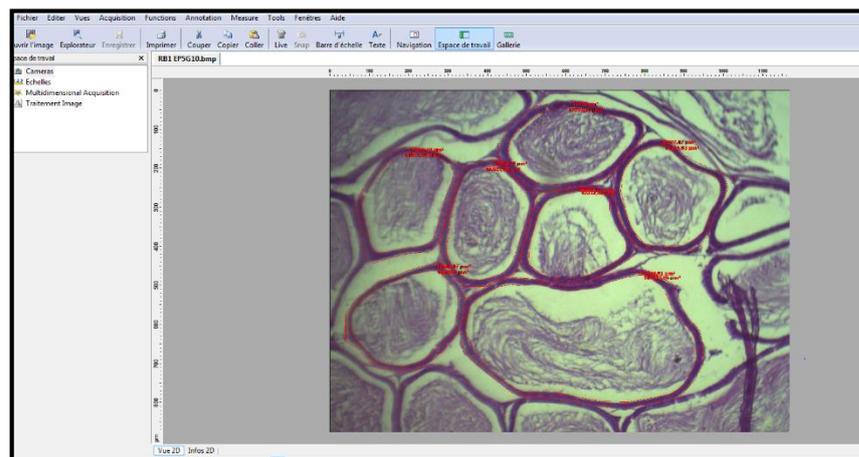


Figure 11 : Méthode de mesure la surface des tubes séminifères par logiciel "Axio Vision 4.6.3.0"

Ce système d'analyse d'images a été étalonné à l'aide d'une lame micrométrique graduée. Afin d'obtenir les mesures des diamètres (petite et grande axe) et périmètre en μm et les surfaces en μm^2 . Dans l'étude morphométrique, pour chaque coupe on a effectuée 150 mesures pour la surface, le diamètre et le périmètre ; tout ceci grâce au grossissement $G \times 10$ pour les tubes séminifères et l'épididymes ; ainsi que 30 mesures au grossissement $G \times 40$ afin de mesurer

le contour des épидидymes, vésicule séminale et canal déférent.

II.2.4. ANALYSES MOLECULAIRES ET PHYLOGENETIQUES

L'objectif de cette partie repose sur le positionnement de différentes espèces étudiées dans un arbre phylogénétique général réalisé par des logiciels de la bioinformatique, à partir d'une base de données de biologie moléculaire ; nous avons cherché à tracer l'arbre phylogénétique expliquant l'importance de ces rongeurs comme modèle de laboratoire d'étude privilégié, pour aborder les différentes facettes d'autres recherches scientifiques.

II.2.4.1. Utilisation des données de de la GenBank

Nous avons basé notre travail sur l'analyse des séquences d'ADN qui se trouvent au niveau de la GenBank des différentes espèces qu'on a étudiées « *Meriones lybicus* », « *Rattus rattus* », « *Rattus norvegicus* ».

II.2.4.1.1. Présentation de la GenBank

La GenBank est une collection annotée de toutes les séquences d'ADN publiquement disponibles. Cette banque est mise à jour régulièrement grâce à des échanges quotidiens de séquences avec la banque européenne EMBL (European Molecular Biology Laboratory) et la banque japonaise DDBJ (DNA Data Bank of Japan) (figure12).

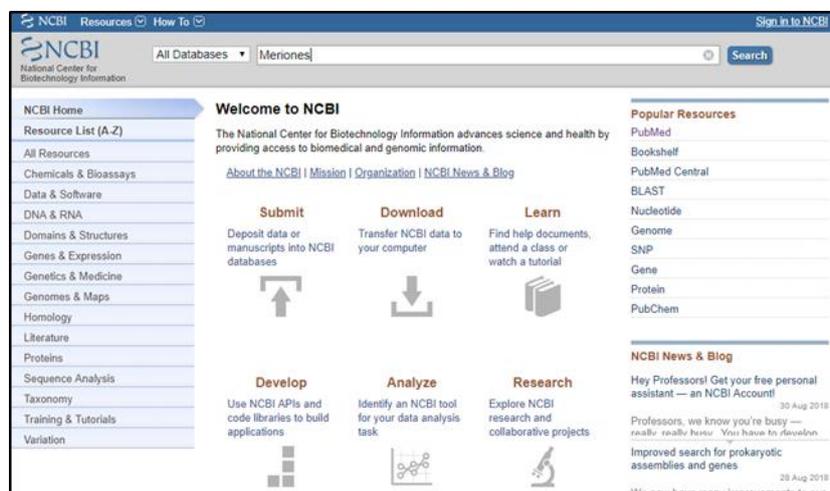


Figure 12 : Représente la page d'accueil de la GenBank.

II.2.4.1.2. Extraction des données de la GenBank

Pour récupérer les séquences d'ADN qui se trouvent au niveau de la GenBank, nous sommes passés par plusieurs étapes distinctes :

1. Nous construirons l'URL suivante : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank>
2. Nous avons choisi recherche par taxonomie.
3. Nous avons écrit le nom de notre genre « *Mériones* », « *Rattus* »

I. Nous avons obtenu toutes les espèces qui appartiennent aux différents genres étudiés

(Figure 13).

A

- o [Meriones](#) (jirds) Click on organism name to get more information.
 - [Meriones chengi](#) (Cheng's jird)
 - [Meriones crassus](#) (Sundeval's jird)
- o [Meriones libycus](#) (Libyan jird)
 - [Meriones libycus erythrourus](#)
- o [Meriones meridianus](#) (mid-day jird)
 - [Meriones meridianus penicilliger](#)
- [Meriones persicus](#) (Persian jird)
- [Meriones rex](#) (King jird)
- o [Meriones shawi](#) (Shaw's jird)
 - [Meriones shawi isis](#)
- [Meriones tamariscinus](#) (Tamarisk jird)
- o [Meriones tristrami](#) (Tristram's jird)
 - [Meriones tristrami blackleri](#)
 - [Meriones tristrami bodenheimeri](#)
 - [Meriones tristrami bogdanovi](#)
 - [Meriones tristrami intraponticus](#)
 - [Meriones tristrami kilisensis](#)
 - [Meriones tristrami lycaon](#)
- [Meriones unguiculatus](#) (Mongolian gerbil)
- [Meriones vinogradovi](#)
- [Meriones sp. Garat An Njila](#)
- [Meriones sp. HK-2016](#)

B

- o [Rattus](#) Click on organism name to get more information.
 - [Rattus andamanensis](#) (Indochinese forest rat)
 - [Rattus annandalei](#) (Annandale's rat)
 - [Rattus argentiventer](#) (rice-field rat)
 - [Rattus baluensis](#) (summit rat)
 - [Rattus colletti](#) (dusky rat)
 - [Rattus everetti](#)
 - [Rattus exulans](#) (Polynesian rat)
 - [Rattus facetus](#)
 - [Rattus flavipectus](#)
- o [Rattus fuscipes](#) (bush rat)
 - [Rattus fuscipes assimilis](#)
 - [Rattus fuscipes coracius](#)
 - [Rattus fuscipes fuscipes](#)
 - [Rattus fuscipes greyii](#)
- [Rattus giluwensis](#) (Mount Giluwe rat)
- [Rattus hoffmanni](#) (Hoffmann's Sulawesi rat)
- o [Rattus leucopus](#) (mottle-tailed rat)
 - [Rattus leucopus cooktownensis](#)
 - [Rattus leucopus doboduræ](#)
 - [Rattus leucopus leucopus](#)
 - [Rattus leucopus ringens](#)
- [Rattus losea](#) (lesser rice-field rat)
- o [Rattus lutreolus](#) (Australian swamp rat)
 - [Rattus lutreolus lutreolus](#)
 - [Rattus lutreolus velutinus](#)
- [Rattus macleari](#) (Maclear's Christmas Island rat)
- [Rattus moluccarius](#)
- [Rattus cf. moluccarius TJJG-2015](#)
- [Rattus mordax](#) (Eastern New Guinea rat)
- [Rattus morotaiensis](#) (Halmahara rat)
- [Rattus nativitatis](#) (Christmas Island rat)
- [Rattus niobe](#) (Eastern New Guinea mountain rat)
- [Rattus nitidus](#) (White-footed indochinese rat)

- o [Rattus norvegicus](#) (Norway rat)
 - [Rattus norvegicus albus](#)
- [Rattus novaeguineae](#) (Papua New Guinea rat)
- [Rattus praetor](#) (Large New Guinea spiny rat)
- [Rattus pyctoris](#) (Himalayan rat)
- o [Rattus rattus](#) (black rat)
 - [Rattus rattus alexandrinus](#)
 - [Rattus rattus complex lineage I](#)
 - [Rattus rattus complex lineage II](#)
 - [Rattus rattus complex lineage III](#)
 - [Rattus rattus complex lineage IV](#)
 - [Rattus rattus complex RCVN_357811](#)
 - [Rattus rattus diardii](#) (Malayan black rat)
 - [Rattus rattus frugivorus](#)
- [Rattus sakeratensis](#)
- [Rattus satarae](#)
- [Rattus sordidus](#) (Australian dusky field rat)
- [Rattus steini](#) (Stein's New Guinea rat)
- o [Rattus tanezumi](#) (Oriental house rat)
 - [Rattus tanezumi sladeni](#) (Sladen's rat)
- [Rattus tiomanicus](#) (Malayan field rat)
- o [Rattus tunneyi](#) (Tunney's rat)
 - [Rattus tunneyi culmorum](#)
 - [Rattus tunneyi tunneyi](#)
- [Rattus verecundus](#) (New Guinea slender rat)
- [Rattus villosissimus](#) (long-haired rat)
- o [unclassified Rattus](#)

Figure 13: Les espèces de genre « Meriones » A et « Rattus » B obtenues de la GenBank.

2. Nous avons analysé nos espèces pour identifier le nombre des séquences nucléotidiques trouvées dans cette banque (Figure 14).

Entrez records		
Database name	Subtree links	Direct links
Nucleotide	2,863	2,585
Protein	1,425	1,181
Structure	57	57
Genome	1	1
Popset	64	64
GEO Datasets	114	114
PubMed Central	1,111	1,111
Gene	13	13
SRA Experiments	239	239
GEO Profiles	31,099	31,099
Protein Clusters	13	13
Bio Project	14	14
Bio Sample	1,359	1,359
Probe	1,710	1,710
Taxonomy	9	1

Entrez records		
Database name	Subtree links	Direct links
Nucleotide	336,225	336,224
Nucleotide EST	1,103,594	1,103,594
Nucleotide GSS	867,131	867,131
Protein	151,836	151,836
Structure	2,734	2,734
Genome	1	1
Popset	215	215
Conserved Domains	3	3
GEO Datasets	89,022	89,016
UniGene	67,297	67,297
PubMed Central	9,900	9,900
Gene	102,409	102,409
HomoloGene	18,871	18,871
SRA Experiments	15,047	14,775
GEO Profiles	6,827,762	6,827,762
Protein Clusters	13	13
Bio Project	2,991	2,986
Bio Sample	74,810	74,548
Bio Systems	2,009	2,009
Assembly	15	15
Clone DB	482,767	482,767
Probe	330,205	330,205
PubChem BioAssay	404,925	404,925
Taxonomy	2	1

Entrez records	
Database name	Direct links
Nucleotide	6
Protein	4
Popset	2
PubMed Central	27
Taxonomy	1

Figure 14 : Les données obtenues sur la GenBank des espèces : Rattus norvegicus (a), Rattus rattus ;(b)Rattus rattus ; Merione lybicus (C).

3. Les séquences représentatives de chacune des différentes espèces ont été téléchargées sous format FASTA à partir de la "GenBank" (Figure 15).

```

Meriones libycus isolate Mli-T6 cytochrome b (Cytb) gene, partial cds;
mitochondrial
GenBank: KP899542.1
GenBank Graphics PopSet
>KP899542.1 Heriones libycus isolate Mli-T6 cytochrome b (cytb) gene, partial cds;
mitochondrial
ATGATAAACCTACGAAAAATCATCCCCACTAAAAAGTAACTCACTCATTGACCTCCCTACTC
CCCCAATATCTCATCTTGATGAACTCGGGTCCCTTAGGCATCTGCTTAATTCAAATGGCCAC
AGGACTATTTTATGCTACACTACACAGCAGATACACCAAGCATTTTCAGTCTCCACATTGGC
CGAGATGAAACTATGGCTGACTCATCCGCTATATACATGCAACGGGGCTCATATTTTATTGTG
TGTATTCCATATGGAGGAGGATCTACTAGGATCTATATTTTCCACGAAACATGAAACATCGGTG
AATTCTTTTATTGACGTAATAGCCACTGCGTCTAAGTTACGCTCCACATGAGGACAAATCTTTC
TGAGGAGCCACAGTTACTTAACCTCTCTCAGCCATTCCATACATTGGACCTACAATCGTAAATGAA
TTTGGGTTGGGTTTTCAGTAGCAAGGCACTTAACAGGATTTTCGCTTTCATTTTATCTTACCATT
CATCATCGCACCCCTAGTCTTAGTCCACTCTTATCTTACATGAAACAGATCAACAGCCACTAGGC
CTTAATCCACGCGATAAAATCCCTTCCACCTACTACACAGTCAAGGCTTTTAGGAGTAGTCC
TACTAATCTTTTTCATACTCTAGTCTTCTTCCCTGACATACTAGGAGCCAGATAACTACAC
ACCAGCCAACTTAACCCACCCCATATTAACAGAGATGATCTTATTTCGATACGCTATT
CTTCGCTCTATCCATAAATAGGAGGAGTACTAGCCCTAATCTCATCTAATCTAATCTTTC
TTCCGTAATTCATACATCCAAACCAAGGCTCATATTCGCACTTTTCCAAATCATATGAGC
CCTAATCGCCCACTACTTATCTTCCATGAAATGGAGTCAACAGTAGAGCCCTTATTATTATC
GGACAACCTGCTCAATTTCTTCAATCTTCAATTTTTTACCTATTGACGGAATCATTGAGG
ACAATTTATAAATGATAC
    
```

Figure 15 : Exemple d’une séquence nucléotidique au format FASTA.

Pour réaliser une phylogénie, un bon nombre de programmes informatiques sont disponible (PHYLIP, PAUP*, MEGA, Phylo_win, ARB.....ect), mais nous avons choisi le programme MEGA version 5 ; MEGA a été développé pour faciliter des analyses statistiques d'évolution moléculaire.

Le MEGA est conçu pour réaliser diverses analyses statistiques dans un programme et pour produire des résultats dans des sorties de publications de qualité (Kumara et al., 1994).

Nous avons alors procédé à l’analyse phylogénétique à partir des séquences nucléotidiques de chaque espèce du genre «Felis », « Herpestes », « Canis », « Genetta » par différentes étapes :

Les alignements multiples des séquences nucléotidiques et protéiques ont été réalisés au moyen du logiciel MEGA version 5 (Tamura et al., 2011) (Figure 20) par la méthode d’alignement progressif ClustalW (Thompson et al., 1994), nous avons choisi ce type d'alignement par ce qu’il est très utile et permet d'étudier les différences et les similitudes entre les séquences d’un même marqueur moléculaire (Figure 16).

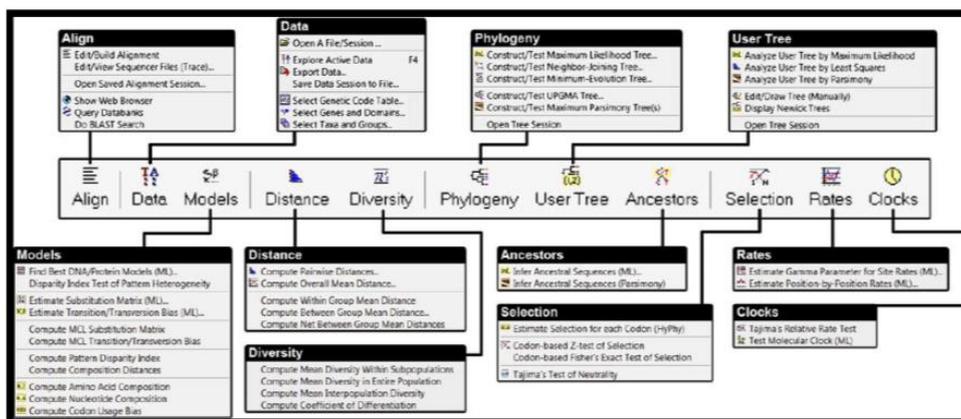


Figure 16: Barre d’outils de MEGA5



Figure 17 : Le programme ClustalW utilisé pour l'alignement multiple des séquences du marqueur moléculaire choisi.

-Une fois les séquences alignées elles sont ensuite comparées et servent à la construction d'arbres phylogénétiques en utilisant l'une des méthodes fondées sur les distances, la méthode UPGMA (figure 18), la plus simple, basée sur l'hypothèse que les taux de mutation et donc les vitesses d'évolution sont identiques sur les différentes branches de l'arbre.

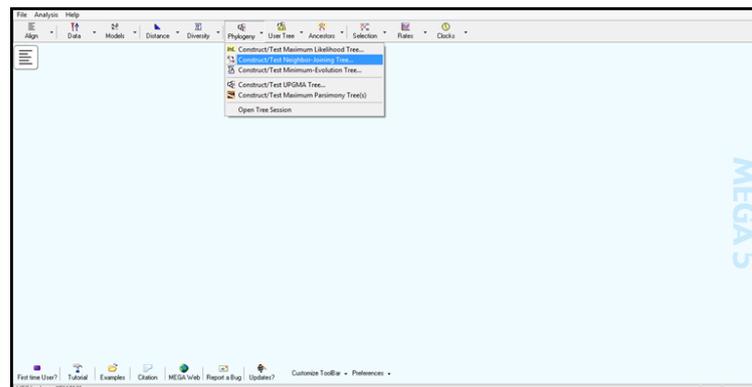


Figure 18 : La méthode UPGMA utilisée pour la construction de l'arbre phylogénétique.

-Dans ce modèle, les transitions et les transversions ne sont pas équivalentes en termes de proportions et leur fiabilité a été évaluée par le programme "Bootstrap" qui a été appliqué avec un nombre de répétitions égal à 1000 (figure 19). Les répliquions sont ramenées en pourcentage et elles sont indiquées au niveau des nœuds.

Option	Selection
Analysis	Phylogeny Reconstruction
Scope	All Selected Taxa
Statistical Method	UPGMA
Phylogeny Test	
Test of Phylogeny	Bootstrap method
<i>No. of Bootstrap Replications</i>	1000
Substitution Model	
Substitutions Type	Nucleotide
Genetic Code Table	Not Applicable
Model/Method	Kimura 2-parameter model
Fixed Transition/Transversion Ratio	Not Applicable
Substitutions to Include	d. Transitions + Transversions
Rates and Patterns	
Rates among Sites	Gamma Distributed (G)
<i>Gamma Parameter</i>	1
Pattern among Lineages	Same (Homogeneous)
Data Subset to Use	
Gaps/Missing Data Treatment	Complete deletion
<i>Site Coverage Cutoff (%)</i>	Not Applicable
Select Codon Positions	<input checked="" type="checkbox"/> 1st <input checked="" type="checkbox"/> 2nd <input checked="" type="checkbox"/> 3rd <input checked="" type="checkbox"/> Noncoding Sites

*

Figure 19: Les paramètres utilisés pour la reconstruction phylogénétique.

C

Chapitre III

RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. RESULTATS:

Notre étude porte sur la comparaison de l'appareil génital mâle entre trois espèces appartenant à la même famille des (*Meriones lybicus* ; *Rattus norvegicus* ; *Rattus rattus*). Cette étude sera représentée en deux parties : la première concerne l'étude structurale et morphométrique chez les trois espèces et la seconde concerne l'étude phylogénique.

III.1.1. Résultat histologique:

Nous avons réalisé des coupes transversales et des coupes longitudinales au niveau des différents composants de l'appareil reproducteur mâle : testicule, épидидyme, canal defférent, vésicule séminale, chez merione (*Meriones lybicus*), rat blanc (*Rattus norvigicus*) et rat sauvage (*Rattus rattus*), sur lesquelles nous avons effectué trois colorations :

- ✓ Hémato-éosine : Hémato colore les noyaux en bleu violet et l'éosine colore le cytoplasme en rose.
- ✓ Trichrome de Masson : Met en évidence les éléments du tissu conjonctif en particulier le collagène en vert, le noyau en noir et le cytoplasme en rouge.
- ✓ Rouge Congo : Marque en rouge les dépôts d'amylose, les fibres en rouge, les noyaux en rouge foncée.

Les résultats que nous avons obtenus ont été observés à l'aide d'un microscope optique à différents grossissements : Gx4, Gx10, Gx40, Gx100.

III.1.1.1. Testicule et épидидyme :

Dans cette partie nous avons étudié l'anatomie et l'histologie du testicule et de l'épididyme, nous avons réalisé des coupes transversales et longitudinales colorées à l'Hémalun éosine et Tichrome de trichrome de Masson et rouge Congo.

1. Anatomie du testicule et de l'épididyme :

- Testicules sont des organes pairs aplatis transversalement ovoïdes, leur surface est lisse, d'une coloration blanchâtre. Chaque testicule comporte une enveloppe fibreuse l'albuginée à partir de laquelle partent des cloisons limitant un très grand nombre de lobules testiculaires. Chaque lobule est formé par un groupement de canaux ou tubes séminifères.
- L'épididyme est relié à l'extrémité dorsale du testicule et subdivisé en trois régions : la tête volumineuse, le corps court et épais et la queue mince et libre de laquelle se démarque un conduit defférent. Elle est soutenue par le ligament de la tête de l'épididyme (figure 20).

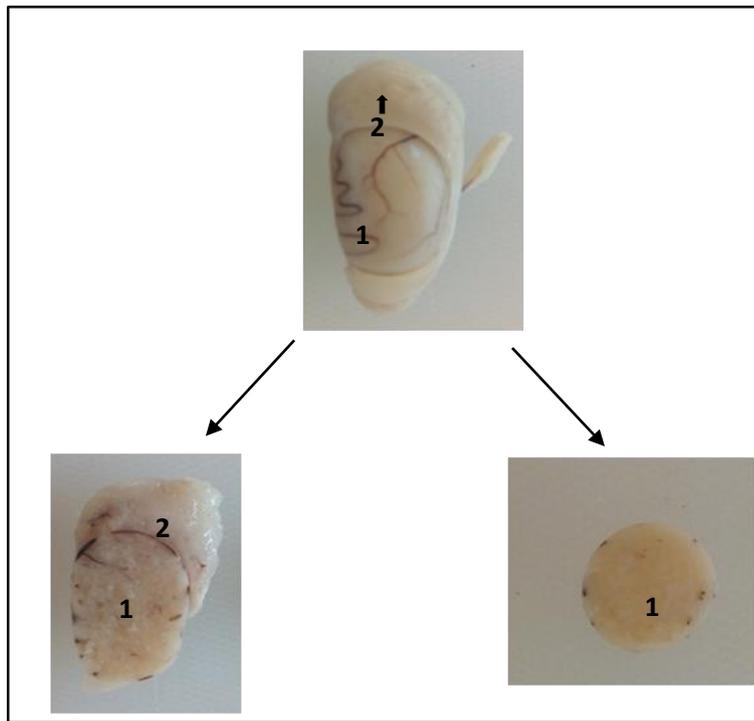


Figure 20 : représente une coupe longitudinale et transversale du testicule et de l'épididyme de rat blanc (1 : Testicule, 2 : épидидyme).

2. Aspect structural du testicule :

Nous avons sélectionné les coupes transversales et longitudinales du testicule chez *Meriones libicus* ; *Rattus norvegicus* ; *Rattus rattus*. Nous avons choisi la coloration Hémalum éosine à grossissement 10 ,100 et coloration rouge Congo pour grossissement 40, voire figure (21, 23,24,25).

✚ Observation au faible grossissement Gx10 (figure 21).

Nous avons observé une série de tubes séminifères qui recueillent les produits de l'épithélium séminifère. Les tubes séminifères sont constitués d'une lumière centrale bordée par un épithélium séminifère contenant des cellules germinales.

- ✓ Chez *Meriones libicus* : les tubes séminifères entourés par une lame basale plissée, leur diamètre et leur lumière est réduite elle renferme des spermatozoïdes, les tubes sont soudés d'une façon anarchique (figure 21). L'étude morphométrique a montré que la surface de ces tubes est de $(25647 \pm 339 \mu\text{m}^2)$. La lumière est de $(1809,5 \pm 59,1 \mu\text{m}^2)$.
- ✓ Chez *Rattus norvegicus* : les observations des coupes histologiques montrent que le tube séminifère à un diamètre élevé, le tubule présente une lumière moins réduite contenant de nombreux spermatozoïdes séparés les uns des autres d'une façon organisée par les espaces interstitiels voir figure 21. L'étude morphométrique a montré que la surface de ces tubes est de $(5 \pm 849,6 \mu\text{m}^2)$, la lumière est de $(12768,6 \pm 339,3 \mu\text{m}^2)$.

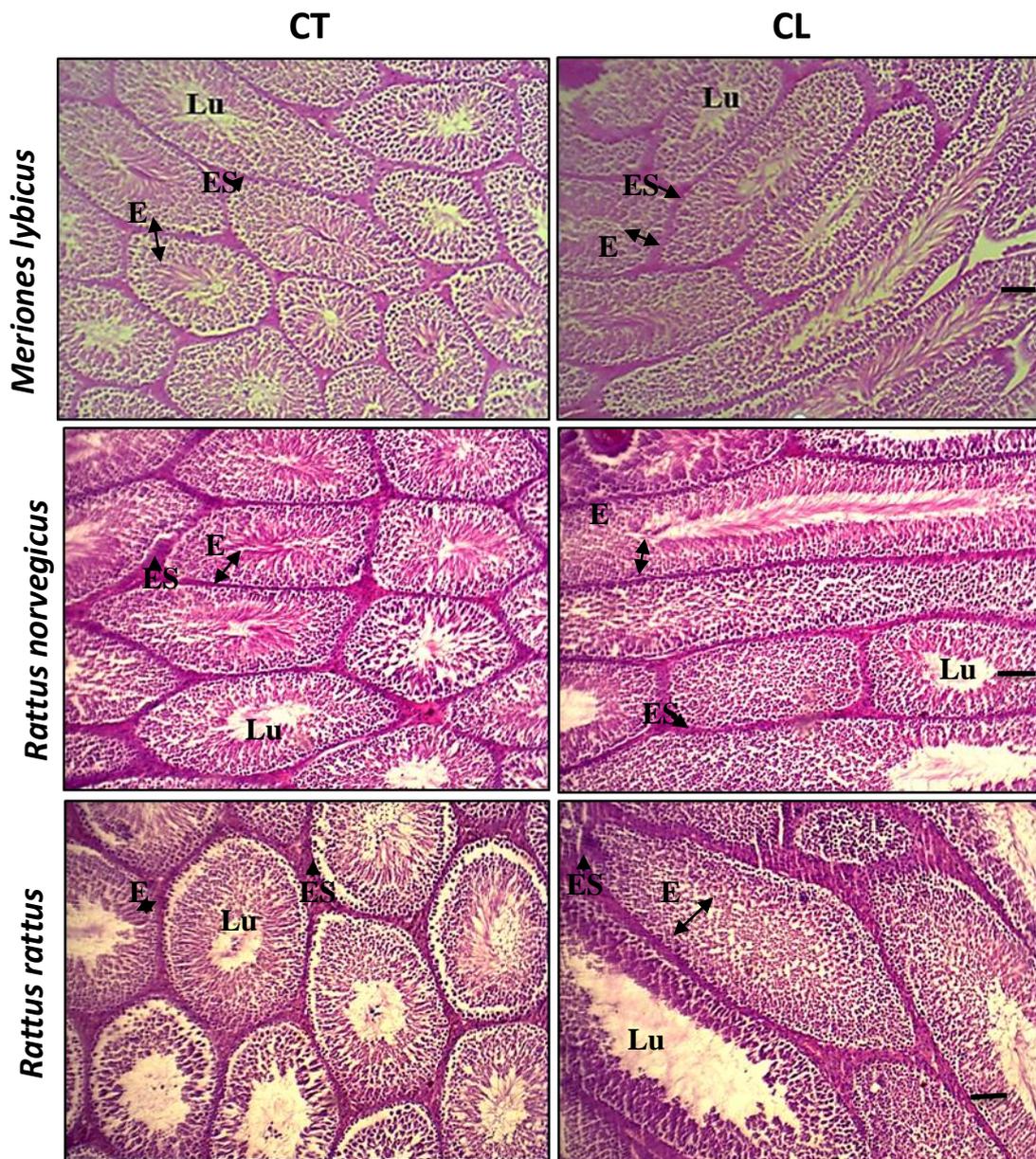


Figure 21 : Aspect structural du testicule présenté les coupe longitudinale et transversale chez les trois espace étudié colorée par Hématoxyline Éosine et observer au microscop photonique à G×10. Scal bar : 100µm

Lu : lumière, T : tube séminifère ES : espace interstitiel ; E : épithélium.

- ✓ Chez *Rattus rattus* : les observations des coupes histologiques montrent que les tubes séminifères sont volumineux avec une lumière large renfermant de nombreux spermatozoïdes organisées de façon rapprochés, voir la figure 21. L'étude morphométrique montré que la surface de ces tubes est de $(73046,6 \pm 1148,7 \mu\text{m}^2)$, la lumière $(15582,4 \pm 463,3 \mu\text{m}^2)$.
- Les résultats morophométriques renforce structurale montrer qu'il existe une différence entre les trois animaux : une différence statistiquement hautement significative entre meriones rat sauvage la différence est de -99% ; $p=0,000000$ pour la surface de tube

séminifère est ; de 76% $p=0,000000$ pour la lumière de tube.

- Presque aucune différence statistiquement significative n'a été signalé entre le rat blanc et rat sauvage, la différence est de -63,9255% ; $p=0,000000$ pour la surface de tube séminifère est de 22% ; $p=0,000002$ pour la lumière voir (figure 22).

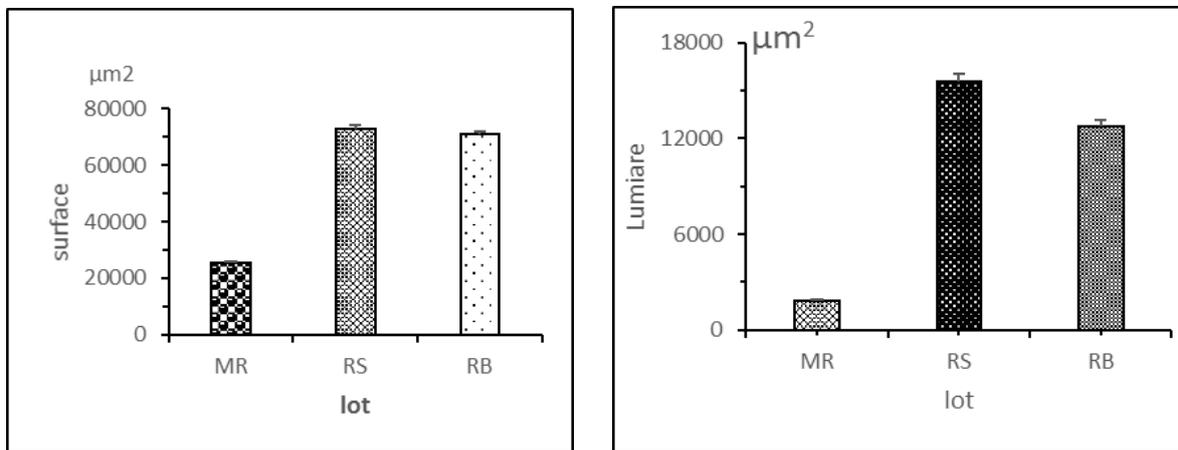


Figure 22 : Morphométrie tissulaire des tubes séminifères.

MR : *Meriones lybicus* **RS :** Rat sauvage **RB :** rat blanc
 Au grossissement $G \times 10$

🚩 Vue générale au grossissement 40 (figure 23).

- Les produits de l'épithélium séminifère concernant deux populations cellulaires distinctes : les cellules Sertoli et les cellules spermatogénèse ou germinales de différentes tailles et formes avec une organisation variant de la périphérie vers la lumière selon leur maturité.
- Les espaces situés entre les tubes séminifères sont occupés par des vaisseaux sanguins, et des amas de cellules de Leydig. Les cellules périvitubulaires bordent les tubes séminifères en épousant la forme arrondie.

Nous avons remarqué aussi :

- ✓ Chez *Meriones lybicus* : la figure nous montre que la lumière du tube séminifère contient de nombreux spermatozoïdes proches de la lumière donc la spermatogénèse est très active la lumière centrale est bordée par un épithélium séminifère qui contient des cellules germinales de différentes tailles et formes avec une organisation variant de la périphérie vers la lumière selon leur maturité, voir (figure 23) .
- ✓ Chez *Rattus norvegicus* : le tube séminifère avec un diamètre élevé et une lumière large renferme peu de spermatozoïdes on observe des cellules germinales en différents stades de maturation voir (figure 23) .

- ✓ Chez *Rattus rattus* : le tube séminifère est volumineux et présente une lumière bordée par des cellules à différents stades de maturation. Les spermatozoïdes sont moins nombreux et proches de la lumière du tube voir (figure 23).

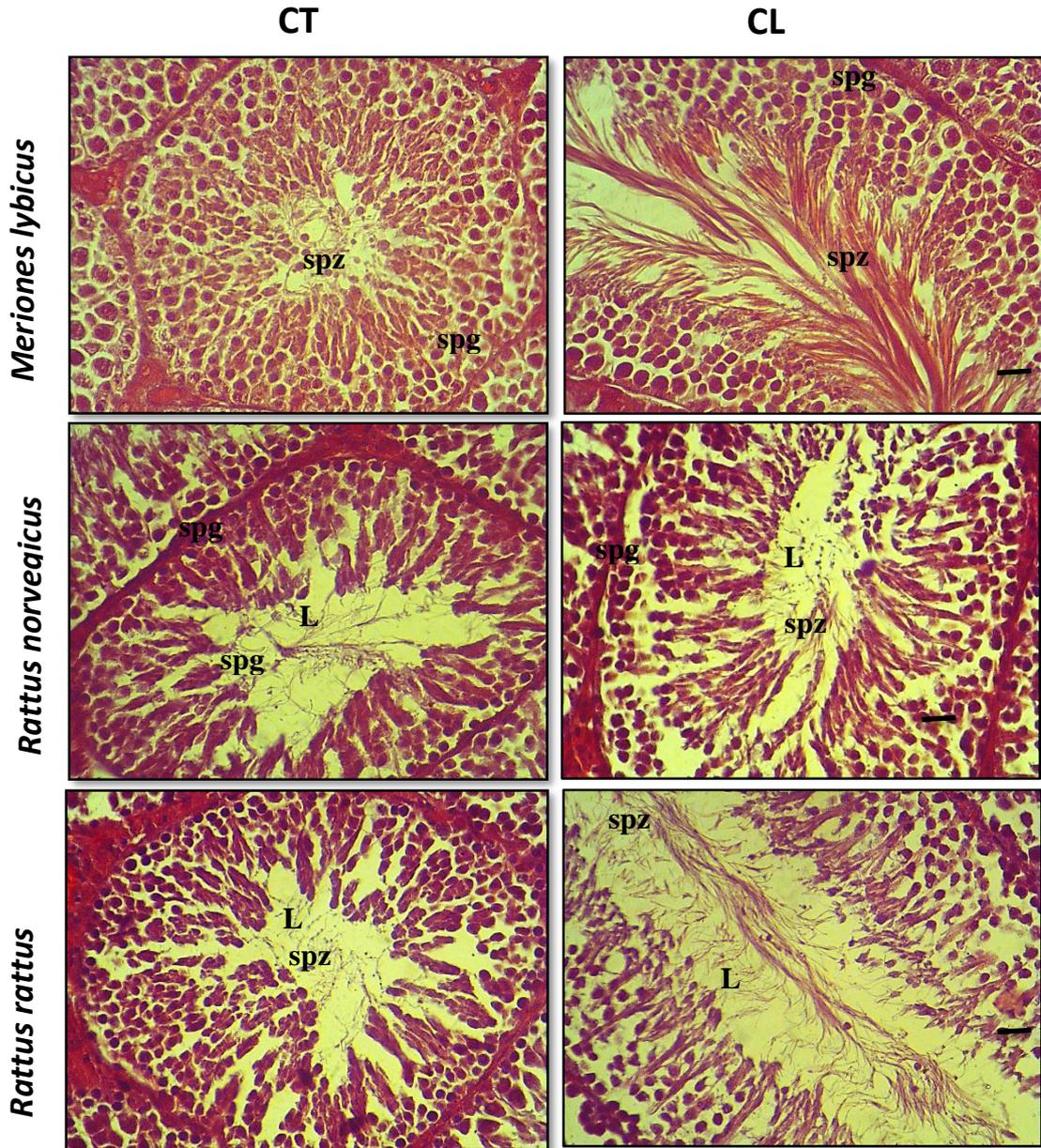


Figure23 : Aspect structural du tube séminifère présenté les coupe longitudinale et transversale chez les trois espèce étudié colorée par le rouge congo et observer au microscope photonique à G×40. Scal bar : 50µm.

L : lumière, F : flagelle ,spg :spermatogonie ,spz :spermatozoïde ,LB :lame basale.

- ✚ **Observation au fort grossissement (G100) voire (figure 24).**
- On peut observer facilement chez les trois espèces les différents stades de la spermatogénèse qui se déroulent d’une façon centripète au niveau de la paroi des tubes séminifères. Les spermatogonies de petite taille sont situées à proximité de la membrane basale. Les spermatocytes II et I de plus grande

taille sont à noyaux volumineux. Les spermatides plus petits sont situés vers l'intérieur des tubes. Les spermatozoides mûrs remplissent presque la totalité de la lumière des tubes par leurs flagelles.

- La Cellule de Sertoli : est caractérisée par un noyau clair et une position plus avancée dans l'épithélium et parfois collées à la lame basale le noyau de la cellule de sertoli occupe une position basale et les prolongement cytoplasmiques des cellules de sertoli entourent toutes les catégories de cellules germinale (figure24).

Meriones libicus

Rattus noregicus

Rattus rattus

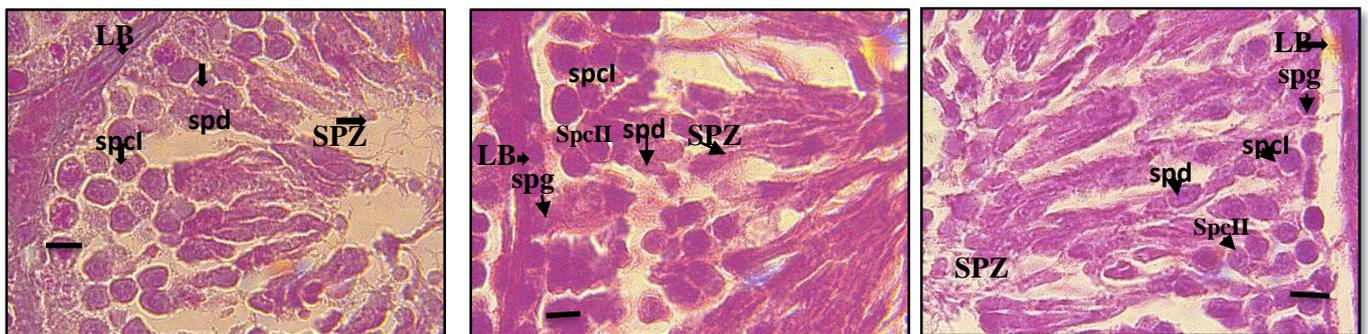


Figure 24: Aspect structural du tube séminifère chez les trois espèces étudiées colorée par Hémalun Éosine et observer au microscope photonique à G×100. Scal bar: 10µm

spg:spermatogonia,spd:spermatide,spz:spermatozoide

spcl :spermatocytI,spcII :spermatocytI LB: lame basale.

- Chez trois espèces les cellules de leydig sont disposée à proximité de la paroi des tubes séminifères. Nous avons observée dans l'espace intertubulaire testiculaire les cellules de leydig avec une membrane plasmique ramifiée. Le noyau et cytoplasme sont hypertrophiés, le noyau à pourtour régulier à une forme arrondie est situé au centre de la cellule, il possède une masse importante de chromatine décondensée.
- Nous avons remarqué que la taille de cellule de leydig est plus important chez *Rattus rattus* et chez *Rattus norvegicus* et faible chez *Meriones libicus* voire (figure25)

Meriones libicus

Rattus norvegicus

Rattus rattus

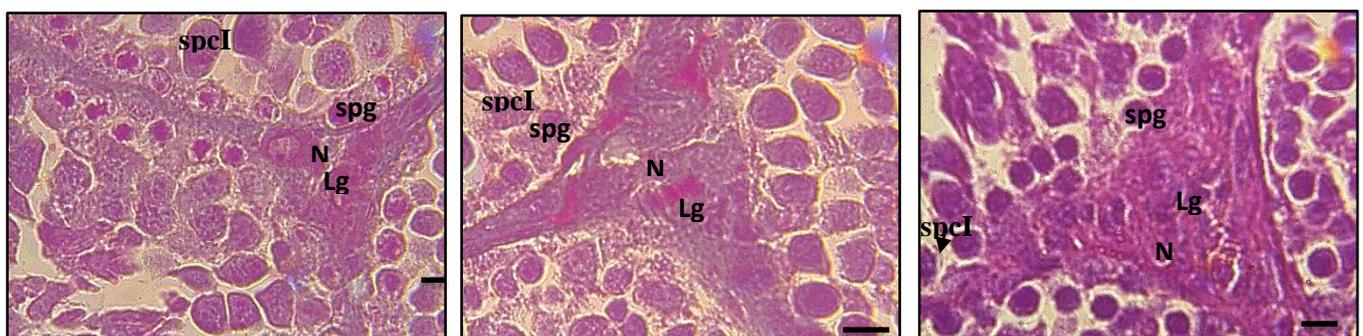


Figure25 : Aspect structural de la cellule de leydig chez les trois espèce étudié colorée par Hématoxyline Éosine et observer au microscope photonique à G×40. Scal bar : 10µm

spg : spermatogonie ,Lg :cellule de leydig ,N :nouaux,spcl :spermatocytel.

3. Aspect Structure du l'épididyme :

Dans cette étude nous avons réalisé des coupes transversales et longitudinales au niveau de l'épididyme chez *Meriones lybicus* et *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* nous avons choisi deux colorations : coloration à l'hémato-éosine qui nous permis de voir la structure générale de l'épididyme observés à G×10 et le Rouge congo qui nous permis de voir le noyaux de cellule épithéliale de l'épididyme observés à G×40 figure(26,28).

✚ Observation au faible grossissement 10 (figure 26) :

Le tubule de l'épididyme présente une lumière large contenant de nombreux spermatozoides et entouré par une fine paroi musculaire. Les tubules sont larges au niveau de la tête puis s'élargissent au niveau du corps et la queue.

- ✓ Chez *Meriones lybicus* : les tubules sont volumineux séparés par des travées conjonctives, présenté une lumière large contenant de nombreux spermatozoïde et entouré par une fine paroi musculaire, le tissu conjonctif de l'espace intertubulaire est lâche, présence d'un épithélium épaisse. Cet épithélium contient deux types de cellules : des petites cellules basales et des grandes cellules principales voire (figure 26). L'étude morphométrique à montré que la surface de ces tubes respectivement ($69848 \pm 2295,7 \mu\text{m}^2$), la lumière est de ($51727,5 \pm 1955,3 \mu\text{m}^2$).
- ✓ Chez *Rattus norvegicus* et chez *Rattus rattus* : l'épididyme formé de tubules de taille moyenne séparés par des travées conjonctives, entouré par une fine paroi musculaire voire (figure 26). L'étude morphométrique a montré chez *Rattus norvegicus* que la surface de ces tubules est respectivement ($72728,9 \pm 6204,6 \mu\text{m}^2$), la lumière est de ($56218 \pm 3464,7 \mu\text{m}^2$). L'étude morphométrique montré chez *Rattus rattus* que la surface de ces tubes est respectivement de ($62900,7 \pm 2246,1 \mu\text{m}^2$). La lumière est de ($45844,7 \pm 2046 \mu\text{m}^2$).

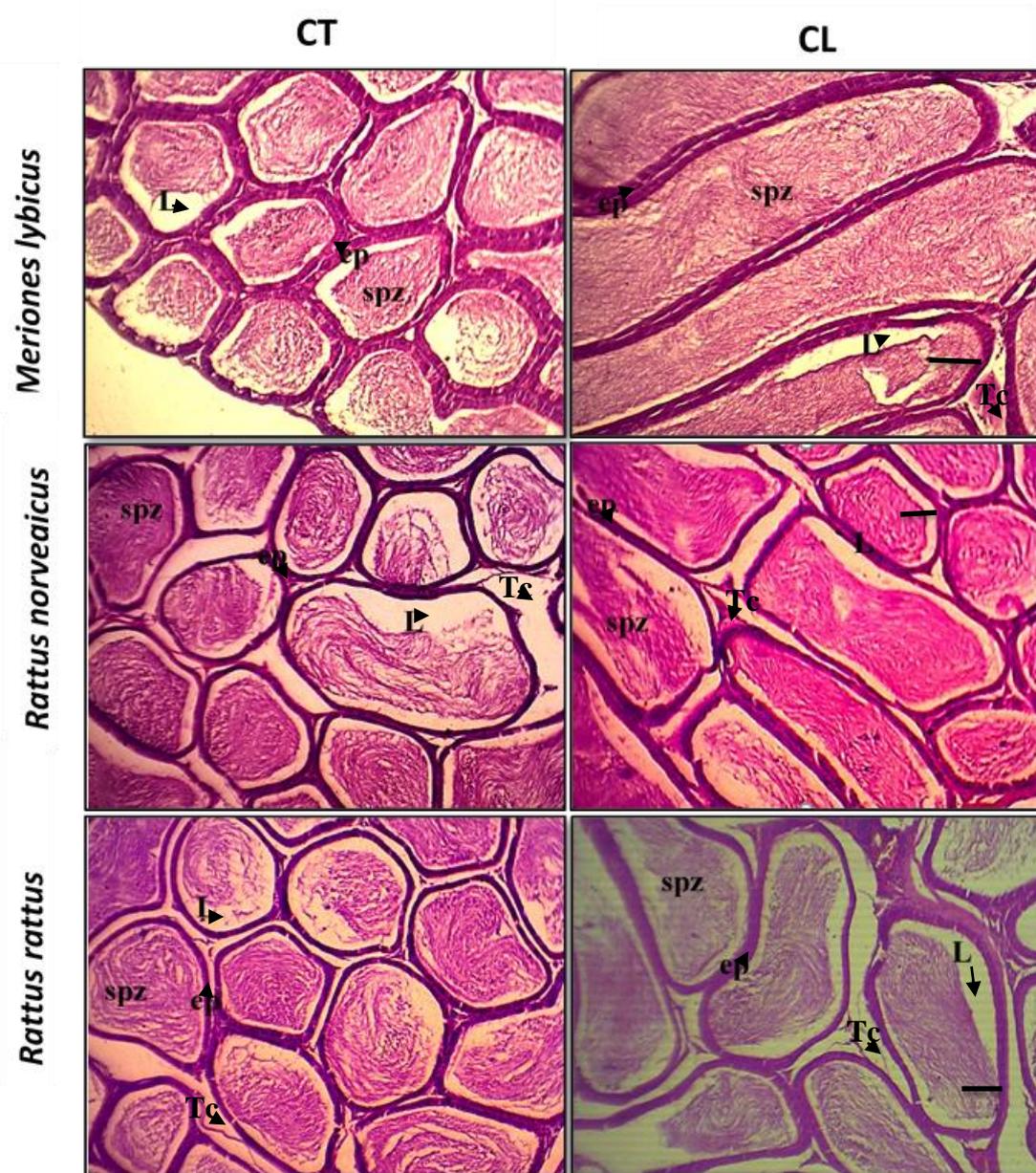


Figure 26: Aspect structural de l'épididyme chez les trois espèces présenté coupe longitudinale et transversale chez les trois espèces étudiées colorées par Hématoxyline Éosine et observées au microscope photonique à G×10. Scal bar : 100µm.

L : lumière et spz : spermatozoïde, ep : cellule épithéliale, Tc : tissu conjonctive

- Les résultats morphométriques ont montré qu'il existe une différence statistiquement hautement significative entre les trois espèces étudiées :
 - il y'a une différence statistiquement hautement significative entre le merione et rat blanc, la différence est de -5,0350% ; $p=0,473022$ pour la surface d'épididyme, et -9% et $p=0,18$
 - il y'a une différence statistiquement hautement significative entre le rat sauvage et rat blanc, la différence est de -15% ; $p=0,022136$ pour la surface d'épididyme, et -19%
 - il y'a une différence statistiquement hautement significative entre merion et rat sauvage, la différence est de -11% ; $p=0,014087$ pour la surface del'épididyme, et 0% , $p=1$ voir (figure 27).

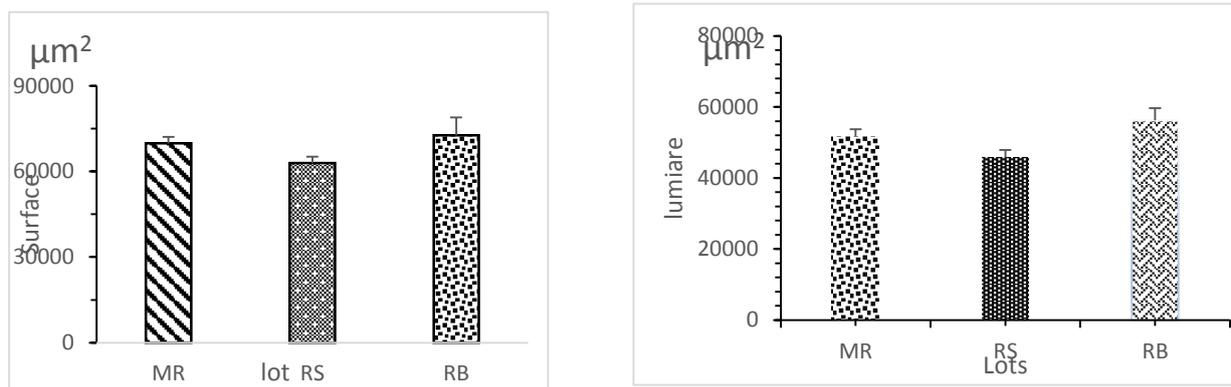


Figure 27 : Morphométrie de l'épididyme chez MR (*Meriones lybicus*), RS (*Rattus rattus*), RB (*Rattus norvegicus*).

🌈 Vue générale au grossissement 40 :

- ✓ Chez *Meriones lybicus* : Les canaux épидидymaires de forme irrégulière, la paroi de la lumière des canaux épидидymaires est bordée par un épithélium pseudo-stratifié entourée de fibres musculaires lisses les cellules épithéliales sont hautes s'insèrent sur une lame basale plissée et présentent un espace supra nucléaire réduit et absence des microvillosités apicales, la paroi musculaire disposée autour du tubule est développée et la lumière renferme de nombreux spermatozoïdes (figure28). L'étude morphométrique montrée que la hauteur de l'épididyme de nos espèces sont respectivement ($18,7 \pm 1,6$), la hauteur du noyau ($5,3 \pm 0,49$) la hauteur du supra-noyau ($9,2 \pm 0,9$).
- ✓ Chez *Rattus norvegicus* : la lumière des canaux épидидymaires est large les cellules épithéliales sont hautes et s'insèrent sur une lame basale, absence des microvillosités apicales, la lumière renferme de nombreux spermatozoïdes (figure28). L'étude morphométrique a montré que la hauteur de l'épididyme de nos espèces est respectivement ($36,1 \pm 1,2$), la hauteur du noyau ($6,961 \pm 0,2$), la hauteur du supra-noyau ($24,727 \pm 1,3$).
- ✓ Chez *Rattus rattus* : les canaux épидидymaire sont volumineux les cellules épithélium moins hautes et s'insèrent sur une lame plissée, la lumière des canaux épидидymaires est large. Les canaux épидидymaires de forme irrégulière avec présence de quelques spermatozoïdes dans leur lumière (figure 28).L'étude morphométrique amontrée que la hauteur de l'épididyme de nos espèces est respectivement ($14,4 \pm 0,2$), la hauteur du noyau ($4,1 \pm 0,1$) la hauteur du supra-noyau ($24,727 \pm 1,3$) (figure 28).

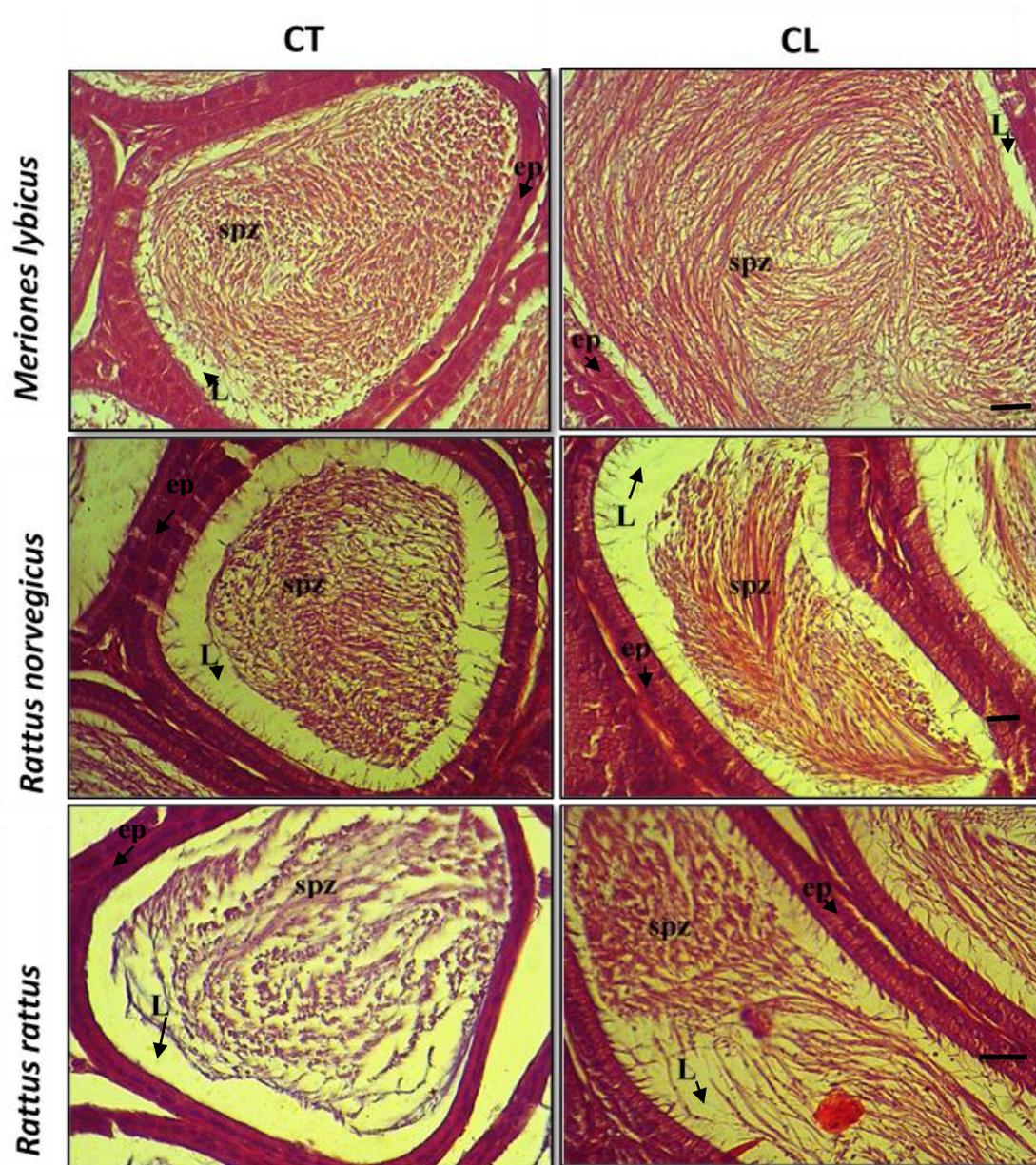


Figure 28 : Aspect structural de l'épididyme chez *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*

Rattus rattus présenté par des coupes longitudinales et transversales chez les trois espèces étudiées colorées au rouge Congo et observées au microscope photonique G×40. . Scal bar : 50µm. (L : lumière, ep : cellule épithélial, spz: spermatozoïde).

- Les résultats morphométriques ont montré qu'il existe une différence statistiquement hautement significative entre les trois espèces étudiées en faveur de *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*, la différence est de 30% ; $p=0,009676$ pour la hauteur de l'épithélium et de 31% ; $p=0,012186$ pour la hauteur du noyau 8% ; $p=0,450937$ pour la hauteur du supra-noyau (figure 29).

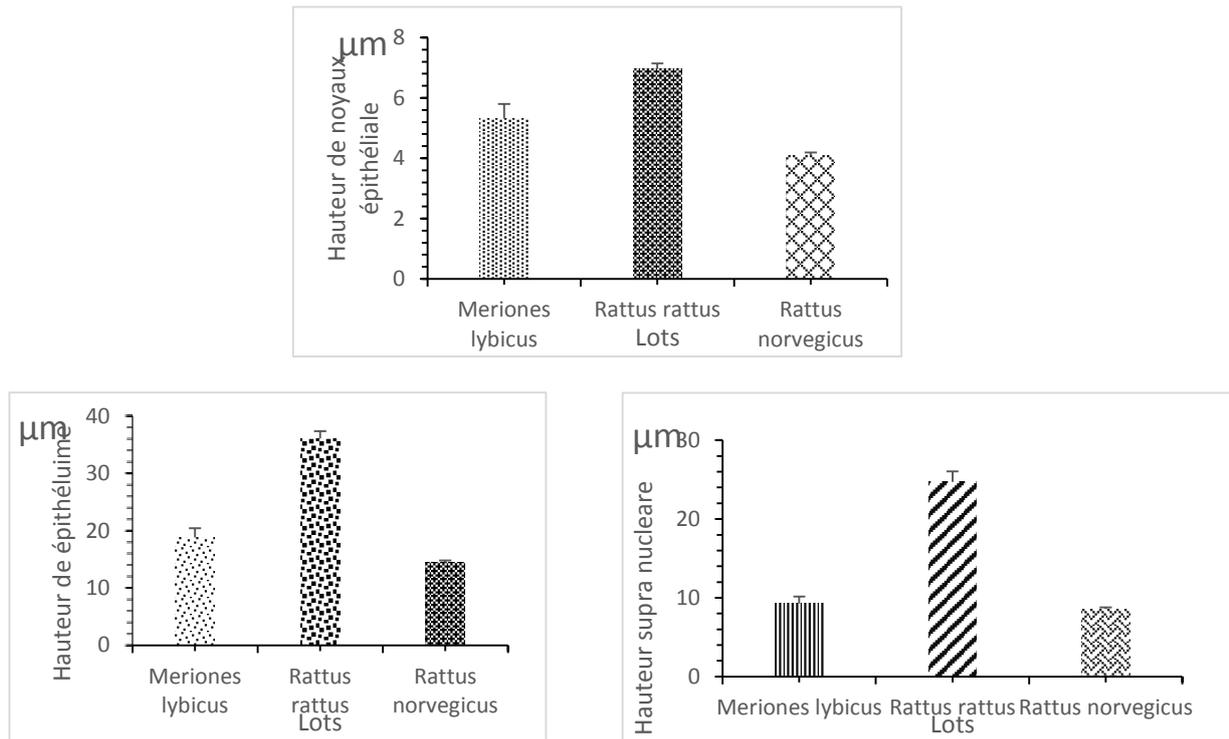


Figure 29 : Morphométrie tissulaire de l'épididyme MR (*Meriones lybicus*), RS (*Rattus rattus*), RB (*Rattus norvegicus*.)

➤ **En fort grossissement (Gx100)**

- ✓ Chez *Meriones lybicus* : les canaux épидидymaire sont volumineux, séparés par un amas de cellules, contenant un tissu conjonctif avec une large lumière pleine de spermatozoïdes et entouré par une fine paroi musculaire. Les cellules épithéliales sont hautes, serrées et reposent sur une lame basale plissée, et présentent un espace supranucléaire moins développé et les microvillosités sont absents (figure30).

Chez *Rattus norvegicus* : L'épididyme est formé par un épithélium simple stratifié, les noyaux des cellules épithéliales sont visibles, les cellules épithéliales sont hautes avec un espace supranucléaire développé. La lumière est large et contient des spermatozoïdes.

- ✓ Chez *Rattus rattus* : les cellules épithéliales sont hautes avec une espace supranucléaire moins développé, la lumière renferme peu de spermatozoïdes (figure 30).

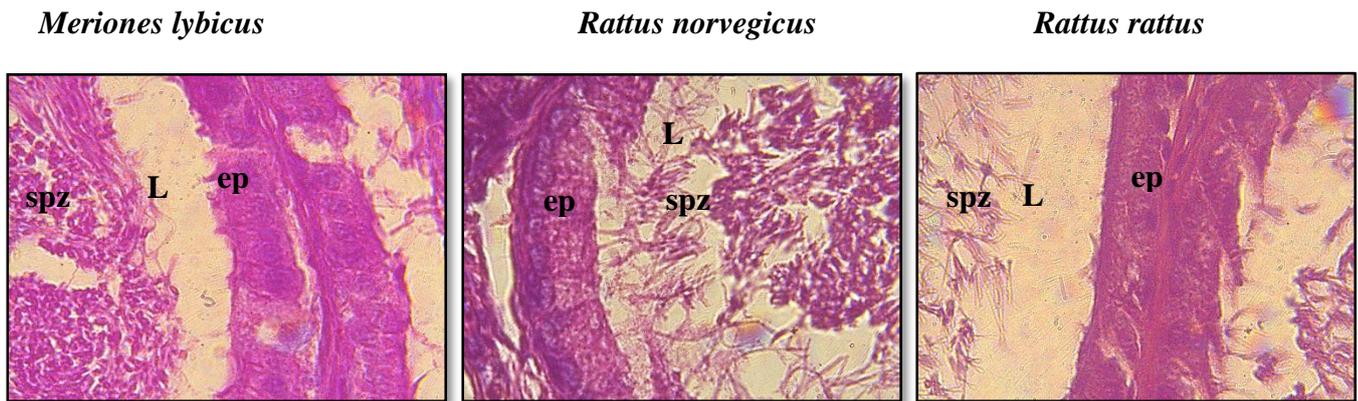


Figure 30: Aspect structural de l'épididyme chez les trois espèces étudiées, coloré par Hématoxyline Éosine et observé au microscope photonique à G× 100.
 spz : spermatozoïde, L : lumière, ep : cellule épithéliale Scal bar: 10µm.

III .1.1.2. Canal déférent

Dans cette partie nous avons étudié l'anatomie et l'histologie de la vésicule séminale chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus* nous avons réalisé des coupes transversales et longitudinale, nous avons choisi deux colorations : hémato-éosine, rouge Congo. En faible (Gx10) et fort grossissement (Gx40)

1. Anatomie du canal déférent :

Il fait suite à la queue de l'épididyme et débouche dans le canal éjaculateur. Il est divisé en trois régions anatomiques et fonctionnelles différentes : les parties proximales, distales et terminales.

2. Aspect structural du canal déférent

🚩 Vu générale en faible grossissement nous montre que :

- Chez *Meriones libicus* : le tissu conjonctif de la séreuse qui recouvre extérieurement le canal déférent est moins dense, la paroi musculaire est mince et le tissu conjonctif du chorion qui sépare cette dernière de l'épithélium est étroit, l'épithélium est développé et forme des replis épithéliaux qui entrecoupent la lumière, celle-ci est très large et contient des spermatozoïdes et des vésicules de sécrétion apocrine (figure 31).
- Chez *Rattus norvegicus* : la séreuse est mince mais la paroi musculaire est très développée, les replis épithéliaux sont très réduits et la lumière est étroite, dans laquelle aucun spermatozoïde n'est observé (figure 31).
- Chez *Rattus rattus* : la séreuse qui recouvre extérieurement le canal déférent est moins dense, la paroi musculaire est développée, le tissu conjonctif du chorion qui sépare cette dernière de l'épithélium est étroit. L'épithélium est développé, la lumière est très large et contient des spermatozoïdes (figure 31).

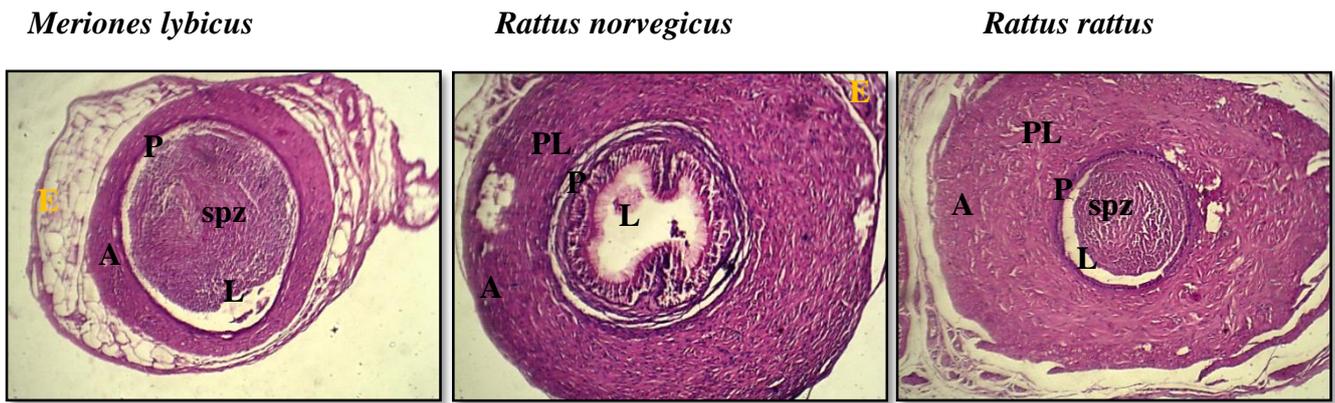


Figure 31 : Aspect structural du canal déférent chez *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* coloré par Hématoxyline Éosine et observé au microscope photonique à G×10 (L : lumière et spz : spermatozoïde, p : cellule épithéliale, PL : prémysium lisse ; A : Adventitia E : séreuse) Scal bar : 100µm.

Vue générale au grossissement 40

➤ Chez *Meriones lybicus* et *Rattus rattus* : l'épithélium est étroit et entrecoupe la lumière, celle-ci est très large et contient des spermatozoïdes, les microvillosités bordant l'extrémité apicale des cellules principales. Les cellules sont hautes et étroites et possèdent un noyau ovale en position basale (figure 32).

L'étude morphométrique chez *Meriones lybicus* a montré que la hauteur du canal déférent de nos espèces est respectivement $(12,5 \pm 0,3)$, la hauteur du noyaux $(3,2 \pm 0,1)$ la hauteur du supra-noyau est de $(6,6 \pm 0,3)$. Chez *Rattus rattus* l'étude morphométrique a montré que la hauteur du canal déférent de nos espèces est respectivement ; $(13,5 \pm 0,3)$, la hauteur du noyau $(3,9 \pm 0,2)$ la hauteur du supra-noyau est de $(57,9 \pm 2,6)$.

➤ Chez *Rattus norvegicus* les cellules épithéliales sont hautes avec présence des microvillosités apicale, les vésicules de sécrétion apocrine ne sont pas visibles. Le tissu conjonctif du chorion est formé de faisceaux de fibres conjonctives très rapprochées (figure 32).

L'étude morphométrique a montré que la hauteur du canal déférent de nos espèces est respectivement $(38,7 \pm 1,8)$, la hauteur du noyau $(57,9 \pm 2,6)$, la hauteur du supra-noyau est de $(10,3 \pm 0,7)$.

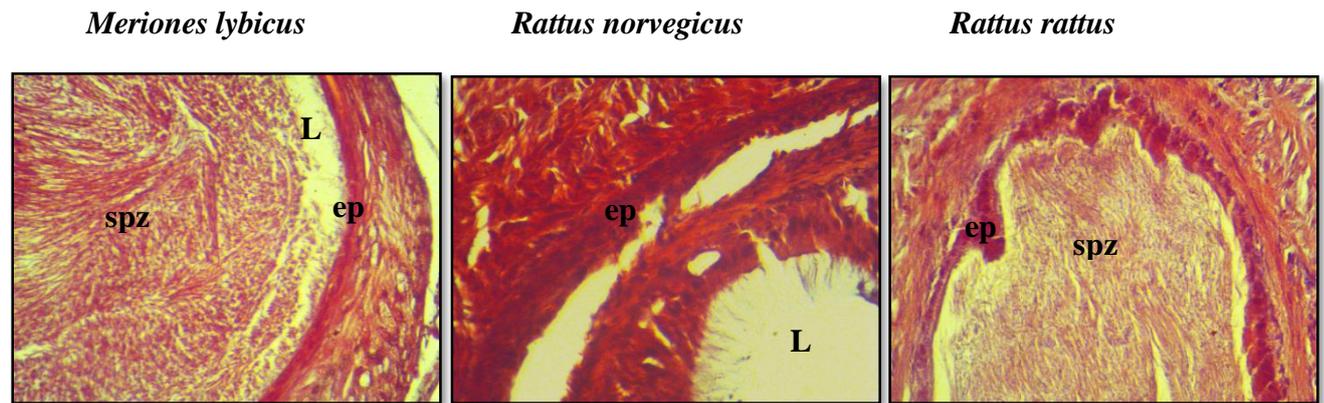


Figure 32 : Aspect structural du canal déférent chez les trois espèces étudiées coloré par le rouge Congo et observé au microscope photonique à G×40. (L : lumière, ep : cellule épithélial, spz : spermatozoïde) Scal bar : 50µm.

- Les résultats morphométriques ont montré qu'il existe une différence statistiquement hautement significative entre les trois espèces étudiées en faveur de *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*, la différence est de -37% ; p= 0,000000 pour la hauteur de l'épithélium et de -25% ; p= 0,000000 pour hauteur du noyau -47% ; p= 0,000000 pour la hauteur du supra-noyau (figure33).

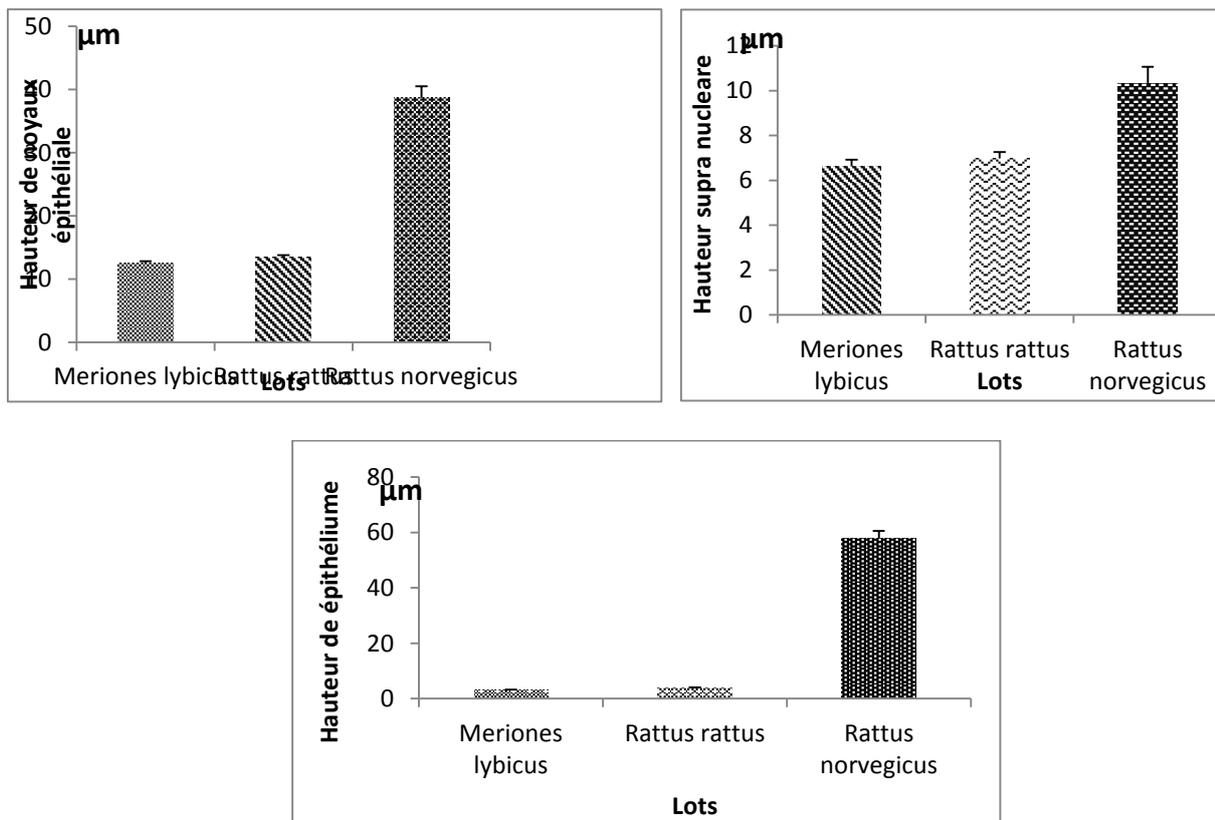


Figure33 : Morphométrie tissulaire de canal différent *Meriones lybicus* ,*Rattus rattus*,*Rattus norvegicus*.

III.1.1.3. Vésicule séminale

Dans cette partie nous avons étudié l'anatomie et l'histologie de la vésicule séminale chez *Meriones lybicus* ; *Rattus norvegicus* ; *Rattus rattus* nous avons réalisé des coupes transversales et longitudinales, nous avons choisi deux coloration : Hémato-éosine, rouge Congo.

1. Anatomie de la vésicule séminale :

Les vésicules séminales, sont deux sacs constitués de lobes multiples de couleur blanchâtre à marron pâle, c'est une glande qui s'ouvre dans l'urètre pelvien. Elle est en rapport avec la prostate, l'urètre et le canal déférent. Chaque vésicule séminale est une évagination glandulaire à nombreuses circonvolutions (figure 34).

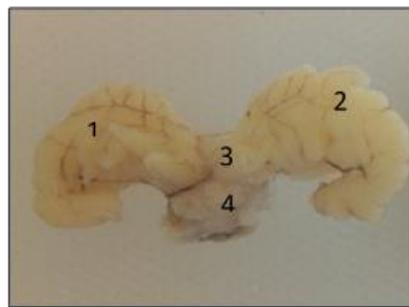


Figure 34 : Anatomie de la vésicule séminale chez le rat blanc (1 : vésicule gauche, 2 : vésicule droite, 3 : canal déférent 4 : conduit éjaculateur).

2. Aspect structural du vésicule séminale

✚ Observation en faible grossissement (Gx10) (figure 35)

Les vésicules séminales sont revêtues d'une paroi fibro-musculaire, le tissu conjonctif la séparant de l'épithélium consiste en quelques fibres conjonctives séparées.

L'épithélium développe des replis épithéliaux qui s'enfoncent en convergeant au centre d'une lumière très large remplie d'une sécrétion, l'épithélium est cylindrique pseudostratifié composé de cellules hautes dont le noyau est de forme ovale, en position basale et le cytoplasme est éosinophile et possède une importante zone supranucléaire (figure 35).

- ✓ Chez *Meriones lybicus* et chez *Rattus rattus*: on observe que le fibro-musculaire est moins développée et les replis épithéliaux très longs et s'enfoncent au centre d'une lumière très large et remplie d'une sécrétion très abondante (figure 35).
- ✓ Chez *Rattus norvegicus* la paroi fibro-musculaire des vésicules séminales est très développée et épaisse ; l'axe conjonctif des replis épithéliaux est large et dense entrecoupant une lumière très large dans laquelle la sécrétion est absente la forme du noyau des cellules épithéliales est devenue ovale (figure 35).

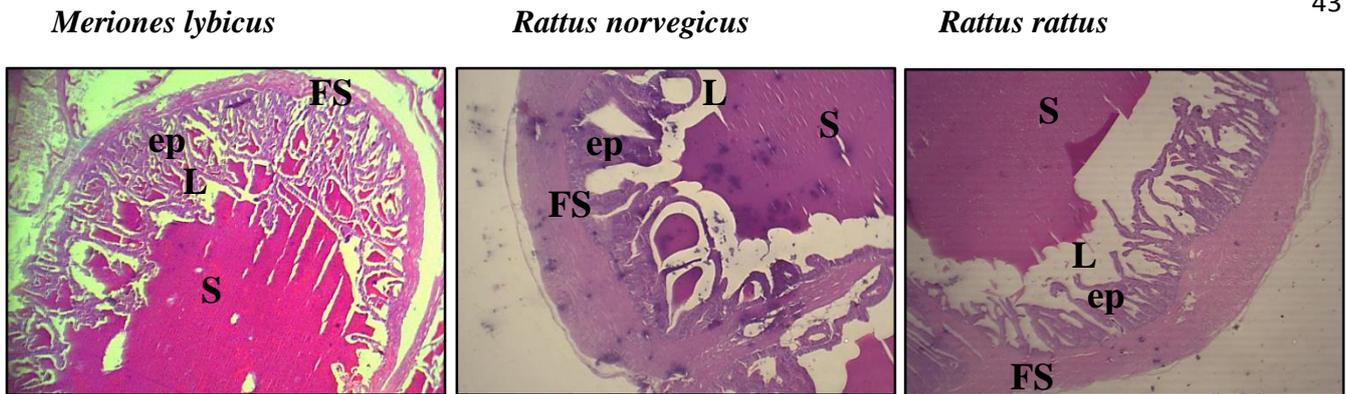


Figure 35 : Aspect structural de la vésicule séminale chez les trois espèces étudiées coloré par Hématoxyline Éosine et observé au microscope photonique à $G \times 10$ (L : lumière, ep: cellule épithéliale, S : sécrétion, FS : fibre musculaire) Scal bar : $100\mu\text{m}$.

✚ Vue générale en fort grossissement 40

- Chez *Meriones libicus* : le volume des cellules épithéliales est réduit, elles sont très serrées les unes aux autres et présentent une hauteur réduite et zone supra nucléaire fortement diminuée la paroi fibro-musculaire des vésicules séminales est moins développée la forme du noyau des cellules épithéliales est devenue ovale (figure36).

L'étude morphométrique a montré que la hauteur de la vésicule séminale de nos espèces est respectivement $(9,9 \pm 0,3)$, la hauteur supra nucléaire $(4,5 \pm 0,1)$ la hauteur du noyau $(4,3 \pm 0,2)$.

- Chez *Rattus rattus* : Les cellules épithéliales sont volumineuses elles sont très serrées les unes aux autres et présentent une importante hauteur et zone supra nucléaire élevée la paroi fibro-musculaire des vésicules séminales est développée (figure 36).

L'étude morphométrique a montré que la hauteur de la vésicule séminale de nos espèces est respectivement $(11 \pm 0,3)$; la hauteur du noyau $(4,3 \pm 0,2)$ la hauteur du supra-nucléaire est de $(5,2 \pm 0,2)$.

- Chez *Rattus norvegicus* : Le volume des cellules épithéliales est important elles sont très serrées les unes aux autres et présentent une hauteur réduite et zone supra nucléaire fortement diminuée la paroi fibro-musculaire des vésicules séminales est développée (figure36). L'étude morphométrique a montré que la hauteur de la vésicule séminale de nos espèces est respectivement $(8,4 \pm 0,4)$ la hauteur du noyau $(5,2 \pm 0,2)$ la hauteur du supra-nucléaire est de $(8,4 \pm 0,4)$.

Meriones lybicus

Rattus norvegicus

Rattus rattus

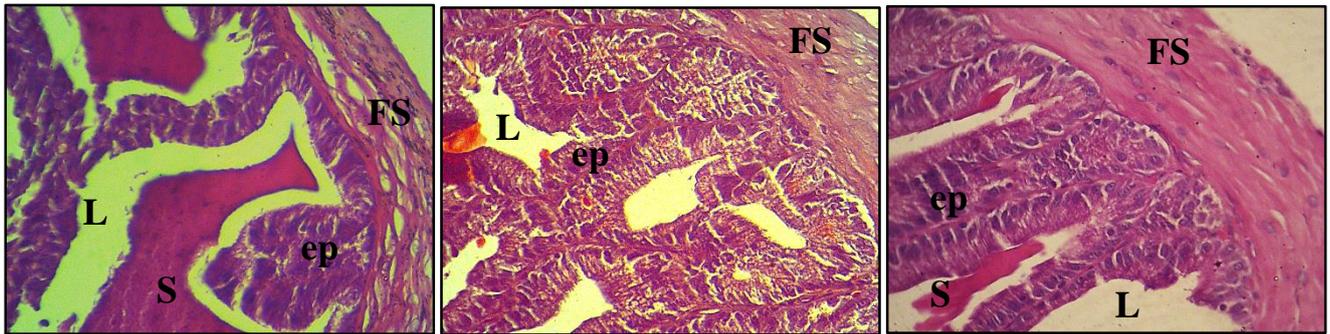


Figure 36 : Aspect structural de la vésicule séminale chez les trois espèces étudiées coloré par le rouge Congo et observé au microscope photonique à G×40. (L : lumière, ep : cellule épithélial, S : sécrétion, FS : fibre musculaire) Scal bar : 50µm.

Les résultats morphométriques ont montré qu’il existe une différence statistiquement hautement significative entre les trois espèces étudiées en faveur de *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*, la différence est de -37% ; $p= 0,000000$ pour la hauteur de l’épithélium et de -25% ; $p= 0,000000$ pour hauteur du noyau -47% ; $p= 0,000000$ pour la hauteur du supra-noyau (figure 37).

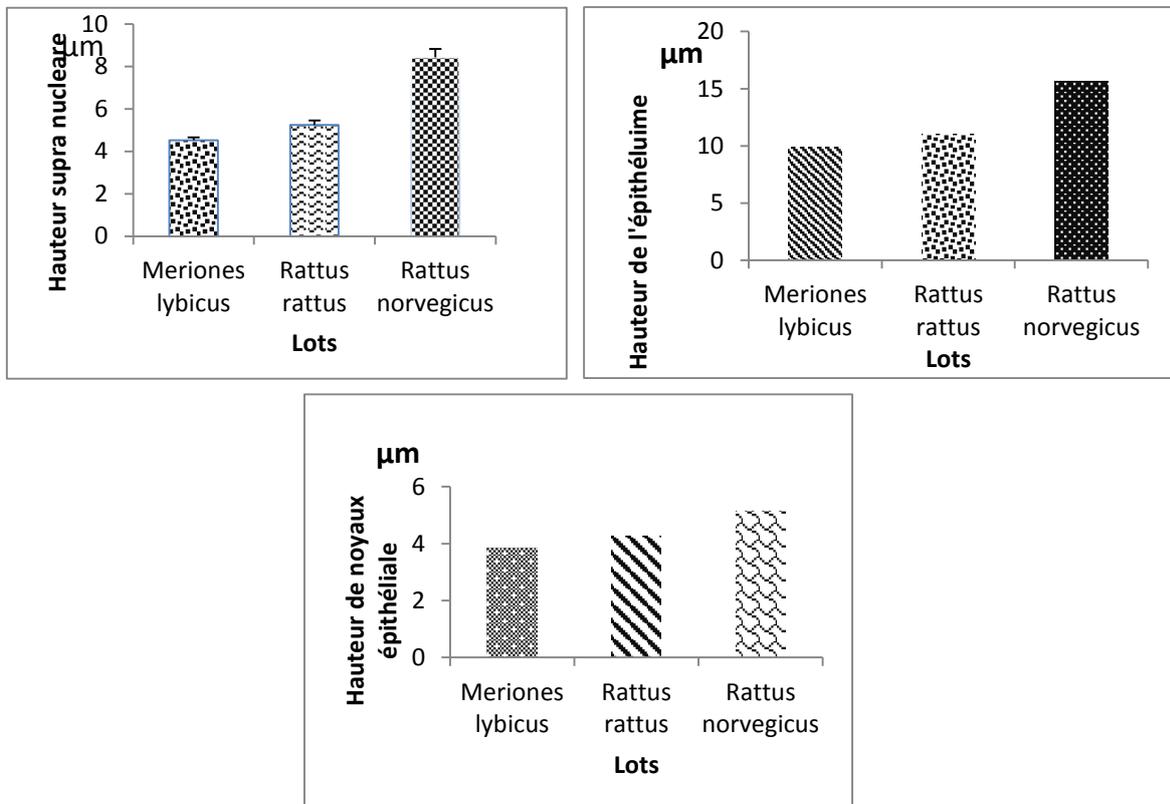


Figure37 :Morphométrie tissulaire du la vésicule séminale MR (*Meriones lybicus*) RS (*Rattusrattus*), RB (*Rattus norvegicus*).

III.1.1.4. La prostate

Dans cette partie nous avons étudié l’anatomie et l’histologie de la prostate chez *Rattus*, nous avons choisi⁴⁵ différent coloration : hémato-éosine qui nous permis de voir aspect structurale, Rougr congo pour faciliter l’observation des cellules , en faible grossissement(Gx10)qui nous permis de voir la structure générale de la prostate et fort grossissement(Gx40) pour voir le détail de la structure de prostate.

1. Anatomie de la prostate

La glande prostatique se présente sous forme d’une structure multilobée, entourant l’urètre à la base de la vessie. On parle habituellement de complexe prostatique, composé de quatre lobes distincts selon leur disposition autour de la vessie, qui sont : lobe latérale, lobe dorsale, lobe ventrale, lobe antérieur(Figure38).

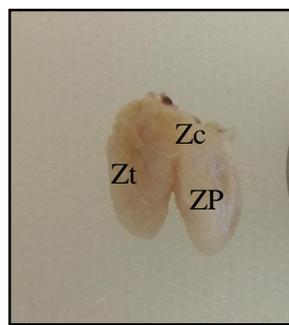


Figure38 : Anatomie de la prostate chez le rat blanc.
Zc: Zone centrale , **ZP** Zone périphérique , **Zt** Zone transitionnel

2.Aspect structural de la prostate

✚ Vu au fort grossissement Gx40 :

- Chez *Rattus norvegicus*: La prostate est constituée de glandes tubulo-alvéolaires ou acini entourés de stroma musculaire lisse, une lame basale sur laquelle repose des structures glandulaires. Chacune de ces glandes présente une lumière de largeurs variables, une muqueuse entourée par un tissu conjonctivo-musculaire, un chorion qui entoure les structures glandulaires et présentant de nombreux septa de tissu conjonctif avec des cordons de fibres musculaires (figure39).

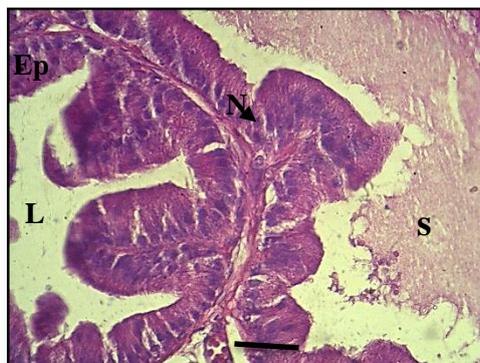


Figure 39 : Aspect structuralde prostate chez *Rattus norvegicus*, Gx40. à différent colorée par Hématoxyline Éosine .Scal bar : 50µm **L** : Lumière, **E** : Epithélium, **N** : Noyaux, **S** : Sécrétions Scal bar : 50µm

Nous avons récupéré toutes les séquences d'ADN mitochondriaux pour les espèces du genre *Meriones* et l'espèce *Rattus norvegicus* et *Rattus rattus* afin de choisir les séquences représentatives pour construire un arbre phylogénétique.

Tableau II : Tous les gènes mitochondriaux de notre espèce (*Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*).

Gene	<i>Rattus rattus</i>	<i>Rattus norvegicus</i>	<i>Meriones lybicus</i>	<i>Meriones chengi</i>	<i>Meriones crassus</i>	<i>Meriones meridianus</i>	<i>Meriones shawi</i>	<i>Meriones tristrami</i>
Cytochrome oxidase subunit 1 (COI)	53	60	9	1		21	1	
ATPase 6 and ATPase 8-like			-					
12S ribosomal RNA	11	5	1	-	1	1		
D-loop	59	84				138		
Control region	44	19						
Cytochrome b	527	187	50	1	2	113	28	3
Cytochrome c	28	24	1	-		19		
Cytochrome c oxidase subunit 2	-	-	-	1		4	1	
ND1=NADH dehydrogenase	-	3	-	-				
NADH 6	-	51	-	-				
16S Ribosomal RNA	1	5	4			5		
COI				-				
Mitochondrion	8	32	2			2		
tRNA-pro; controle region		-	-	-				
D-loop; tRNA-pro; tRNA-thr		-		-				
D-loop; tRNA-		11		7				

Nous avons traité le tableau ci-dessous et nous avons conclu que le gène le plus utilisé c'est le cytochrome b qui est présent dans les 8 espèces étudiées (Sélectionnées en jaune dans le tableau), les séquences correspondant à ce gène sont récupérées et analysées dans la GenBank (voire le tableau dans l'annexe II).

III.2.2. Construction des arbres phylogénétiques

Réalisation de l'arbre phylogénétique fait à l'aide du programme MEGA5. Tout d'abord, nous avons choisi les séquences représentatives de *cytb* et on présente leurs origines géographiques dans le monde :

1. **Pour l'espèce *Meriones shawi*** : Nous avons choisi une séquence de *cytb*, de Tunisie (1140pb).
2. **Pour les sous espèces *Meriones tamariscinus*** : Nous avons choisi une séquence de *cytb*, de Chine (1090pb).
3. **Pour l'espèce *Meriones chengi*** : Nous avons choisi une séquence de *cytb*, de Chine (1076pb).
4. **Pour l'espèce *Meriones crassus*** : Nous avons choisi 2 séquences de *cytb*, une séquence de l'Egypte. (1139pb) et une séquence de l'Arabie Saoudite (1052pb).
5. **Pour l'espèce *Meriones lybicus***: Nous avons choisi 3 séquences de *cytb*, une séquences de Tunisie (1140pb) et une séquence de l'Afghanistan (663pb) et une séquence de Chine (1179 pb).
6. **Pour les sous espèces *Meriones lybicus erythrourus*** : Nous avons choisi une séquence de *cytb*, une séquences de Chine. (1103pb).
7. **Pour l'espèce *Meriones meridianus*** : Nous avons choisi 3 séquences de *cytb*, de Chine (1099 et 1123 et 1140 pb).
8. **Pour les sous espèces *Meriones persicus*** : Nous avons choisi une séquence de *cytb*, une séquence de l'Iran (712pb).
9. **Pour les sous espèces *Meriones rex*** : Nous avons choisi une séquence de *cytb*, une séquence de l'Arabie Saoudite (1140pb).
10. **Pour l'espèce *Meriones tristrami*** : Nous avons choisi une séquence de *cytb*, une séquence de l'Iran (712pb).
11. **Pour les sous espèces *Meriones vinogradovi*** : Nous avons choisi une séquence de *cytb*, une séquence de l'Iran (878pb).
12. **Pour l'espèce *Rattus andamanensis*** : Nous avons choisi 4 séquences de *cytb*, une séquence du Viet Nam (1143pb) et une séquence de Chine (1143pb) et une séquence de la Thaïlande (858pb) et une séquence du Cambodge (774 pb).
13. **Pour l'espèce *Rattus argentiventer*** : Nous avons choisi 2 séquences de *cytb*, une séquence du

Viet Nam (1143pb) et une séquence de l'Indonésie (426 pb).

- 14. Pour l'espèce *Rattus exulans* :** Nous avons choisi 7 séquences de cytb, une séquence du Viet Nam (1143pb) et une séquence de Nouvelle Zélande (713npb) et une séquence de Thaïlande (713pb) et une séquence de Fiji (713 pb) et une séquence de Samoa (713npb) et une séquence de Thaïlande (1097pb) et une séquence de l'Indonésie (713 pb).
- 15. Pour l'espèce *Rattus facetus* :** Nous avons choisi une séquence de cytb, de l'Indonésie (1020pb).
- 16. Pour l'espèce *Rattus fuscipes* :** Nous avons choisi une séquence de cytb, de l'Australie (713pb).
- 17. Pour l'espèce *Rattus leucopus* :** Nous avons choisi 2 séquences de cytb, une séquence de Nouvelle Papouasie (1140pb) et une séquence de l'Australie (713 pb).
- 18. Pour l'espèce *Rattus lutreolus* :** Nous avons choisi une séquence de cytb, de l'Australie (450pb).
- 19. Pour l'espèce *Rattus norvegicus* :** Nous avons choisi 12 séquences de cytb, une séquences de l'Inde (1140pb) et une séquence de l'Allemagne (549 pb) et une séquence de Madagascar (1140pb) et une séquence des USA (774 pb) et une séquence de l'Indonésie (1140pb) et une séquence de France (549pb) et une séquence du Cambodge (1091pb) et une séquence de Chine (1092 pb) et une séquence de l'Espagne (673npb) et une séquence de l'Indonésie (1140pb) et une séquence du Viet Nam (1140 pb) et une séquence de Afrique du Sud (1140pb) et une séquence du Singapour (564 pb).
- 20. Pour l'espèce *Rattus rattus* :** Nous avons choisi 14 séquences de cytb, une séquences de l'Inde (887pb) et une séquence de Sri Lanka (1140 pb) et une séquence de Madagascar(1080pb) et une séquence des USA (803 pb) et une séquence du Pakistan (798pb) et une séquence du Nigeria (1111pb) et une séquence de Madagascar (803pb) et une séquence de Zambie (1193 pb) et une séquence de l'Espagne (706pb) et une séquence de l'Inde (1140pb) et une séquence du Népal (948pb) et une séquence de l'Afrique du Sud (1140pb) et une séquence de l'Espagne (706 pb)) et une séquence de Tunisie (706pb) et une séquence de l'Iran (803pb).
- 21. Pour l'espèce *Rattus tanezumi* :** Nous avons choisi 4 séquences de cytb, une séquence de l'Afrique duSud (1140pb) et une séquence de Chine (897pb) et une séquence de Thaïlande (1124pb) et une séquence du Népal (795 pb).
- 22. Pour l'espèce *Rattus tunneyi* :** Nous avons choisi une séquence de cytb, de l'Australie (713pb). L'arbre phylogénétique a été construit avec la méthode UPGMA sur le gène cytb de l'ADNmt des 22 espèces de *Meriones* et de *Rattus*, en utilisant le modèle Kimura-2 paramètres (Kimura, 1980). On considère généralement que les branches définies par une valeur de "Bootstrap" supérieure à 50% sont fiables. Il faut 1000 réplifications de "Bootstrap" pour que cette méthode soit statistiquement valable.

Les arbres phylogénétiques obtenus sont présentés dans la figure 41.

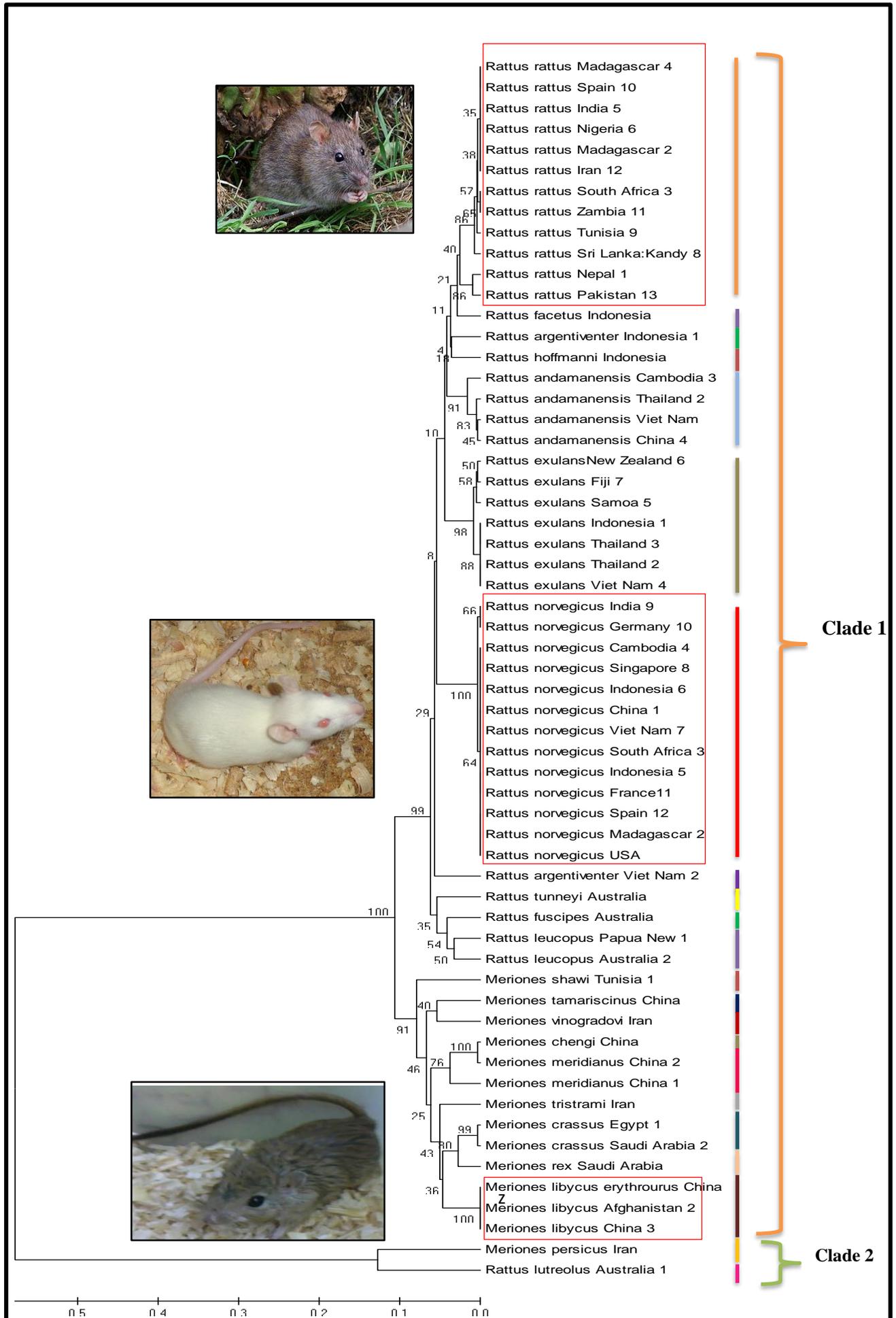


Figure41: Arbre phylogénétique des séquences cyt b des genres *Meriones* et *Rattus* en utilisant la méthode UPGMA par logiciel MEGA5.

Notre arbre phylogénétique a été divisé en 2 clades (1.2) selon l'origine géographique et les tailles des séquences qui nous avons pris voir figure 42.

-D'après notre arbre, les trois espèces : *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus* et *Rattus rattus* sont aperçue dans même clade1, la première espèce *Rattus rattus* se trouve le premier dans le clade 1 et le seconde *Rattus norvegicus* et en terminée le clade 1 par *Meriones lybicus*.

-Le rat wister « *Rattus norvegicus* » est plus proche de *Rattus argentiventer* et *Rattus exulans*

-*Meriones lybicus* est plus proche *Meriones rex* et en 2 proche de *Meriones persicus*.

Meriones lybicus est très loin de rat sauvage (*Rattus rattus*) et proche à rat blanc (*Rattus norvegicus*).

III. 3. DISCUSSION :

Notre étude a été réalisé sur l'appareil reproducteur mâle chez trois espèces : *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus* et *Rattus rattus* dans le but de faire une comparaison sur le plan histologique, morphométrique et phylogénétique.

III.3.1. Etude hosto-morphométrie :

III.3.1.1. Testicule : Après toutes les lames étudiées nous avons choisi la coloration Hematoxylin Éosine à G× 10 pour voir la forme générale des tubes séminifères au niveau des testicules. En comparant les trois espèces étudiées, nous avons trouvé que la structure du testicule du *Meriones lybicus* et du *Rattus norvegicus* et *Rattus rattus*, présente le même aspect structural avec un épithélium séminifère est de type pluristratifié avec plusieurs cellules germinales à différents stades de la spermatogenèse, résultat similaire à ceux de la gerbille (Rania et khawla, 2018) qui trouve que la structure du testicule présent le même aspect général d'une coupe histologique chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus*, et la gerboise (Assiou et Osmane2018) et différent de l'aulacode (Belhoucine et al., 2008) qui montre que le parenchyme contient 10 à 12 tubes séminifères par lobule par contre chez nos espèces il contient 2 à 4 tubes séminifères décrits par Lebas (1996).

Nous avons noté une différence dans les mesures morphométriques, observée dans les surfaces des tubes séminifères, chez *Rattus rattus*, les tubes séminifères sont volumineux par rapport aux deux autres.

Selon Beaumont et Cassier (1998) qui ont trouvé facilement des spermatogonies de petite taille situées à proximité de la membrane basale. Les spermatocytes II et I de plus grande taille sont à noyaux volumineux, les spermatides plus petites sont situées vers l'intérieur des tubes. Les spermatozoïdes mûrs remplissent presque la totalité de la lumière des tubes par leurs flagelles. Nos résultats confirment ceux de Belhoucine et al. (1996) et Farzadinia1 (2016) chez la *Meriones* (*Meriones lybicus* et *Meriones crassus*) (Menad et al., 2017) chez le rat des sables (*Psammomy obesus*) que Il existe cinq couches cellulaires de spermatogenèse

dans la paroi des tubules séminifères, tels que les spermatogonies, spermatocyte primaire, spermatocyte secondaire, spermatides et spermatozoïdes.

III.3.1.2. Epididyme : Après tous les colorants utilisés nous avons choisi la coloration rouge congo malgré qu'elle est utilisée dans d'autres types de microscope électronique pour voir le noyaux des cellules épithéliale de l'épididyme observés à $G \times 40$.

Notre analyse histomorphométrique montre le même aspect histologique d'une coupe histologique chez *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus* et *Rattus rattus*, l'épididyme comporte des cellules principales et des cellules à noyau apical et des cellules claires et des cellules basal, possède une assise épithéliale beaucoup moins haute. Cette composition cellulaire a été signalé chez de nombreux mammifères (Hamilton,1975 ; Goyal,1985 ; Amann, 1987 ; Robaire et Hermo,1988), la distribution de cellules dans l'épididymes semble être spécifique aux espèces, identifiés dans l'épididyme de rats, de gerbilles et de l'hamsters, (Beu et al., 2001), et selon Oke BO (1988) les différentes zones de l'épididyme chez le rat de canne étaient similaires à ceux observés chez le rat géant africain mais différent du lapin, du taureau, l'étalon et l'homme.

La différence observée sur le plan morphométrique, en effet les cellules épithéliales sont plus hautes chez *Rattus rattus*, s'insère sur une lame basale plissé et présentent un grand espace supra nucléaire, avec un grand noyau par rapport au *Rattus norvegicus* et *Meriones lybicus* ces résultats sont les mêmes des résultats de Setchell et Brooks, 1988 ; Fourni –Delpech et Thibault,1991 ; jiang et al., 1994 ; Menad et al., 2014 : la structure de l'épididyme chez *Meriones lybicus* est tout à fait comparable chez le rat des sables. Les différences se présentent par des variations saisonnières résultent de modifications structurales de l'épididyme, comme le dit Menadetel (2017) durant la saison de reproduction, nous avons observé une forte expression de toutes les cellules de l'épithélium et selon Onadeko (1996) la maturité, chez le grand rat canne, peu d'effet de l'âge sur la taille de l'épididyme.

III.3.1.3. Canal déférent : nous avons sélectionné les lames et choisi la coloration Hémaluin éosine pour voir le noyau de cellules épithéliales bleu violet et ronde et une lumière au centre très claire $G \times 10$. Comme les deux organes décrit précédemment on note une similitude de structure entre le canal déférent des trois espèces, résultat comparable a été observé chez d'autres espèces de mammifères tels que le rat (Francavilla et al., 1988), la souris (Manin et al.,1995), le rat des sables (Gernigo,1992), la Gerbille (Bouchouika et al., 1995. Belhocine et al., 1996) et l'homme (Hoffer,1976 ; Pryor et al.,1991) il s'agit d'un canal qui possède une paroi musculaire formée d'une couche longitudinale externe et d'une couche circulaire interne, et un épithélium pseudostratifié constitué de cellules hautes et étroites, munies de microvillosités apicales rappelant les cellules principales de l'épididyme. Mais sur plan morphométrie Chez *Meriones lybicus* et *Rattus rattus* la hauteur de cellule épithéliale est étroite possède un noyau ovale en position basale avec un espace supra nucléaire réduit, la avec présence des microvillosités apicales chez *Rattus norvegicus* nos

résultats sont similaires à Beu et al. (2009) la formation de l'épithélium ont montré des différences spécifiques à l'espèce entre le rat et le hamster.

III.3.1.4. Vésicule séminale : La morphologie des vésicules séminales varie selon les espèces chez l'homme, le cheval et le rat, elles sont de forme sacculaire ; chez le porc et le taureau, elles sont compactes et multi lobulées (Badia et al., 2006), et chez certains rongeurs elles présentent une structure tubulaire ramifiée (Mollineau et al., 2009). Chez les gerbilles sahariennes, les vésicules séminales sont paires et de forme tortueuse telle qu'observée chez tous les rongeurs et les mêmes constatations que ceux de la gerbille *Gerbillus tarabuli* ont été observé chez la petite gerbille (*Gerbillus gerbillus*) et le rat des sables (*Psammomys obessus*) (Gernigon-Spychalowicz, 1992) et du mérion (*Meriones crassus* et *Meriones libycus*) (Belhocine et al, 1998 et 2008).

Notre analyse histomorphométrique montre que la hauteur des cellules épithéliales est différente chez trois espèces sont réduit chez *Meriones libycus* et par rapport aux deux autres et très serrés les uns les autres et présentent une zone supra nucléaire fortement diminuée, la paroi fibro-musculaire des vésicules séminales est moins développée, la forme du noyau des cellules épithéliales est ovale la différence entre trois espèces peut causer la différence biotope, procède selon un saisonnier comparable cycle comme le dit Boufermes (1997) et Belhocine (1998) dans la vésicule séminale de *Meriones libycus*, saisonnière les variations sont très évidentes et affectent le poids, aspects histologiques, morphométriques et biochimiques. Pendant la phase de reproduction, une forte accumulation de la sécrétion est observée dans chaque vésicule séminale, corrélativement à une augmentation de son poids. changements histologiques saisonniers avec persistance du sécrétion et sans modification de la fibro-musculaire la paroi a été observée en période de repos dans la vésicule séminale du sable rat *Psammomys obessus* (Gernigon-Spychalowicz et al., 1994; Gernigon-Spychalowicz, 1995), la gerbille *Gerbillus gerbillus* (Belkacemi, 1988) et le hamster. (Schindelmeiser et al., 1988)

III.3.2. Etude phylogénique

Le but de cette partie est la construction de l'arbre phylogénique pour classer nos espèces, pour cela nous avons ciblé la banque de données « GenBank » disponible sur internet pour chercher les séquences d'ADN mitochondriales correspondant à nos espèces, *Meriones libycus*, *Rattus rattus*, *Rattus norvegicus*. Nous avons choisis l'ADN mitochondriale parce que les taux de mutation de l'ADN mitochondriale sont plus grands que ceux de l'ADN nucléaire (Ballard et al., 2004). Après analyse du tableau I, parmi les gènes mitochondriaux notre choix s'est porté sur le cytochrome b (cytb), le cytochrome b est un gène présent en de nombreuses copies dans la cellule et est considéré comme clonal et rarement ou jamais soumis à la recombinaison (Le B. M., 1990 et al., 2000). Il est transmis maternellement (hérédité cytoplasmique) (Gyllensten et al., 1991). Enfin il a un taux de mutation plus élevé que les gènes nucléaires.

-Notre arbre phylogénétique a démontré la présence de deux principaux clades génétiques le premier contient toutes les espèces de genre *Rattus* et *Meriones* et le deuxième clade contient une espèce de genre *Rattus* et une espèce de genre *Merion*.

-D'après cette arbre, les espèces *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* ils sont tous dans le même clade 1, où nous avons trouvé *Rattus rattus* proche à *Rattus norvegicus* et *Meriones lybicus* sont proche à *Rattus norvegicus* mais chez *Meriones lybicus* et *Rattus rattus* sa position est loin par rapport aux trois premiers, à distance éloignée d'après notre arbre.

-Nous avons trouvé que *Rattus argentivente* et *Rattus tuney* et *Rattus fuscipes*, *Rattus leucopus* forment ensemble le groupe sœur.

-Après avoir analysé les résultats, nous avons constaté que la position de *Meriones lybicus* est plus proche de *Meriones rex* de Saudi Arabia et *Meriones persicus* Iran, et d'après Alhajeri (2015). Les analyses phylogénétiques suggèrent que le genre *Meriones* n'est pas monophylétique et place *M. tamaricinus* comme taxon frère dans un clade comprenant les autres espèces de *Meriones*. Les autres espèces de *Meriones* se divisent en trois lignées: *M. meridianus* (y compris *M. chengi*), *Meriones unguiculatus* et un clade comprenant de nombreuses espèces de *Meriones* originaires d'Asie, du Moyen-Orient et d'Afrique et aucune différence n'a été observé dans les séquences du gène *Cytb* à partir de *M. Chengi* prélevé dans le bassin de Turfan au nord et celles de *M. Meridianus* dans le sud, ce qui suggère que *M. Chengi* pourrait être synonyme de *M. Meridianus*.

La position de *Rattus rattus* est proche de *Rattus facetus*, et la position de *Rattus norvegicus* est proche à *Rattus exullans viet nam* et *Rattus argentiventer*.

trouvée chez *Rattus norvegicus* et *Rattus tanezumi* a révélé que deux souches d'hantavirus génétiquement différentes ont été trouvées chez les rongeurs de Singapour

III.3.3. Discussion générale

Nos résultats suggèrent que l'analyse histologique et l'étude phylogénique devraient être effectuées simultanément pour une identification précise des trois rongeurs (*Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*).

Après avoir analysé les résultats, nous avons constaté qu'il y avait un rapprochement entre les animaux *Rattus norvegicus* et *Rattus rattus* sur le plan phylogénique à partir des données de la GenBank, alors qu'il y a un corrélation sur le plan histologique entre les deux, donc les résultats étaient généralement concordants avec les phylogénies mais on trouve une différence entre *Meriones lybicus*, *Rattus rattus* sur le plan histologique et phylogénique malgré que les deux rongeurs sauvages est due en partie aux adaptations convergentes des environnements arides (Alhajeri, 1996).

Les variables bioclimatiques et l'émergence d'une opportunité écologique suggérant que des facteurs autres que le climat pourraient influencer la répartition de cette espèce (Alhajeri, 1996).

CONCLUSION

Notre travail portant sur la comparaison entre trois espèces une désertique *Meriones lybicus* (Granjon et al. 1992 ; Duplantier et al. 1991) capturé dans la région de Béni Abbès (30°07' lat. N., 2°10' long. O. ; altitude (495m ; Wilaya de Béchar), et l'autre rat wister et rat sauvage. Cette comparaison est étudiée sur le plan histologique et morphométrique de l'appareil reproducteur mâle chez trois espèces et d'un autre part sur le positionnement de ces espèces dans un arbre phylogénétique, ainsi nous pouvant conclure :

✚ Sur le plan histologique et morphométrique :

❖ Du testicule

- Une similitude d'aspect anatomique et structurale de l'organisation des tubes séminifères chez les trois espèces.
- La différence s'observe dans la taille de tube séminifère et lumière qui sont plus volumineuse chez *Rattus rattus* que les deux autres espèces.

❖ De l'épididyme

- Une similitude d'aspect anatomique et structurale de l'organisation des canaux épидидymaires chez les trois espèces.
- La différence s'observe sur plan morphométrique dans les cellules épithéliales sont plus hautes avec une espace supra nucléaire réduit chez *Meriones lybicus* et *Rattus norvegicus* par rapport à *Rattus rattus*

❖ De canal déférent

- Sur le plan structural : Une similitude d'aspect anatomique et structurale de l'organisation de canal déférent.
- la différence s'observe dans le tissu conjonctif de la séreuse qui recouvre extérieurement de canal déférent, qui est moins dense chez *Meriones lybicus* et *Rattus rattus*, mais chez *Rattus norvegicus* l'épithélium est développé et formée des replis épithéliaux qui entrecoupent la lumière .
- Sur le plan morphométrique : chez *Meriones lybicus* et *Rattus rattus* la hauteur des cellules épithéliales est basse que celles retrouvées chez *Rattus norvegicus*.

❖ Des vésicules séminales

-On trouve chez *Meriones lybicus* et chez *Rattus rattus* que la paroi fibro-musculaire est moins développée et les replis épithéliaux très longs enfoncent au centre d'une lumière très large et remplie d'une sécrétion très abondante mais chez *Rattus norvegicus* la paroi fibro –musculaire des vésicules séminales est très développée et épaisse, replis épithéliaux est large et dense entrecouper une lumière très large.

-La hauteur des cellules épithéliales est réduite chez *Meriones lybicus* par rapport à *Rattus rattus* et *Rattus norvegicus*.

✚ Sur le plan phylogénétique :

Pour la reconstruction des relations phylogénétiques du genre *Meriones*, *Rattus* nous avons trouvé que :

- Notre arbre phylogénétique est divisé en 2 clades selon l'origine géographique et les tailles des séquences que nous avons utilisé.

- D'après cette arbre les espèces *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* appartiennent tous dans le même clade 1, dans lequel, nous avons trouvé *Rattus rattus* proche de *Rattus norvegicus* et *Meriones lybicus*, sont proches de *Rattus norvegicus* mais chez *Meriones lybicus* et *Rattus rattus* sa position est loin d'après notre arbre.

- Nous avons trouvé que *Rattus argentivente* et *Rattus tuney* et *Rattus fuscipes*, *Rattus leucopus* forment ensemble le groupe sœur.

- La position de *Meriones lybicus* est plus proche de *Meriones rex* de Saudi Arabia et *Meriones persicus* Iran, et la position de *Rattus rattus* est proche de *Rattus facetus*, et la position de *Rattus norvegicus* est proche à *Rattus exullans viet nam* et *Rattus argentiventer*.

En perspective

- ✚ Réaliser une étude approfondie en comparant chaque espèce entre la période de repos et l'activité sexuelle.

- ✚ Augmenter l'effectif d'individu

- ✚ Doser les hormones de l'axe gonadotrope notamment la LH, FSH et testostérone.

- ✚ Réaliser l'étude immuno-histochimique en utilisant des anticorps anti répéteur des androgènes et ceux de l'axe gonadotrope (LH, FSH, GnRH et œstrogène)

- ✚ Réaliser une étude de la fonction de la reproduction chez la femelle

- ✚ Faire une étude comparative poussée entre espèces de moeurs différentes (diurnes vs nocturnes, granivores vs herbivores) afin de dégager l'effet probable de la photopériode, de l'alimentation etc... et des conditions particulières qui sévissent en zones arides exposant les organismes vivant dans ces régions à une déshydratation chronique.
- ✚ Pour des recherches ultérieures sur les différent rangeur et contribution à la connaissance de sa biologie de la reproduction ,il avait une corrélation positive entre les poids et la taille et maturation des rangeur.
- ✚ *Meriones lybicus* est un meilleur modèle de laboratoire par leur caractéristique morphologique histologique et phylogénique .

A

Adebayo A.O., Olurode S.A.,2010- The morphology and morphometry of the epididymis in the greater cane rat (*Thryonomys swinderianus* Temmincks). *Folia Morphol*, Vol. 69, No. 4, pp. 246–252.

Ait Hamdouche N., 2011 -Effets l'exposition chronique au plomb sur le systeme reproducteur et l'axe hypothalamo-hypophysaire chez le rat mâle wistar .Université d'oran,pp.1-187.

Almahbobi G. , Kretser D.M., 1988- A quantitative morphological study of age - related changes in the donkeytestis in the period between puberty and senium. *Andrologia* 29 (3),pp. 149-161.

Anthony B ., Skinner B.F., 1989 -Age-related changes in the Leydig cell populations, seminiferous tubules and sperm production in stallions. *Biol Reprod* ,pp.703- 712.

Aumuller K.,1979- Effect of seasonal changes in Leydig cell number on the volume of smooth endoplasmic reticulum in Leydig cells and intratesticular testosterone content in stallions. *J Reprod Fertil*,pp.227–232.

Aulagnier P., 1992- Caractérisation moléculaire des champignons ophiostomatoï des associés à quatre espèces de scolytes de l'écorce colonisant l'épinette blanche au Québec et phylogénie multigénique d'une nouvelle espèce de leptographium. Thèse doctorat, Université Laval, Québec,pp.1-255.

Aumuller K., Spring.J., 1980--Management of the stallion for maximum reproduction ef ficiency. II. Animal reproduction and biotechnology laboratory bulletin. Vol. No. 05. Colorado state university : Fort Collins,pp.1-235.

B

Belhocine K., 2006 - Morphology and morphometry of seminiferous tubules in crioulu horses. Université du Québec à Montréal,pp.1-195.

Bielinski M.,1992- Environment and changes in reproductive activity in sheep and goats. 8th Conf. Eur. Soc. Comp. Bio chem., 31 août-2 septembre 1986, Strasbourg, France,pp.1-175.

Bihun B.,2004- Anatomie et physiologie de l'appareil génital de Rangeur. ENVA, Maisons-Alfort, Short RV. *J. Reprod. Fert*,pp. 365-370.

Birch B., 1993 - The Pelvis, PelvicViscera, Tail and External Genitalia. In: Clinical dissection guide for large animals . 2nd eds., Omphaloskepsis books, pp. 313-337.

C

Cayrouse F., 2005 - les tumeurs testiculaires à cellules de leydig . 1ed, lea & febigereds, philadelphia, pp. 1137-1154

Cheikh E. H.,2006- quantitative morphological study of age - related changes in the donkeytestis in the period between puberty and senium. *Andrologia* 29 (3),pp. 149-161.

Clermont. F., 1959 - Utilisation des marqueurs moléculaires pour l'étude de la diversité génétique végétale. International Plant Genetic Institute for genomic diversity resources Institute,pp.1-245.

Clermont F., Harvey H.,1965 -Atlas d'histologie fonctionnelle de, Traduction de la 5^e édition anglaise par pierre Validire et Patricia Validire –Charpy, Ouvrage Original : Wheater's Functional Histology .A Text and Atlas, Fith Edition by J.W.Heath, J. Lowe, A. Stevens, B. Young ,pp.1-312.

D

Dacheux E ., Paquigno .,1981- Desenvolvimen to testicular osmestiços da raça Brasileira de hipismo, de 1 a 30 mesese de idade (dissertation) . Belo horizonte MG : Universidade Federal de Minas Gerais,pp.1-256.

Dadoune J.,1988 -physiology and Endocrinology. In: mc kinnnon ao, squires el, vaala we, varner dd (eds), Rangeur reproduction, 2ed. united kingdom : wiley-blackwell, pp.881-908.

Duplantier M., 1991-Anatomie comparée des mammifères domestiques, Tome 4 : Splanchnologie II. Péritoine et topographi e abdominale. Paris: Vigot,pp.1- 896.

F

Fawcett P.,Jégou L., 1992- L'appareil génital mâle des mammifères domestiques. Documents de cours de l'Unité d'anatomie, Vetagro-sup, Campus vétérinaire ,pp.1-54.

Fawcett P.,Kerr L.,1988-Hybridization of banteng (*Bosjavanicus*) and zebu (*Bosindicus*) revealed by mitochondrial DNA, satellite DNA, AFLP and microsatellites. *Heredity*, 90,pp. 10–16.

Fournier D ., 1991-Physiologie et pathologie de la reproduction chez les rangeur : étude bibliographique ,PP.36, 104.

G

Gayton J., 1992 -Studies on polynucleotides. XCVI. Repairreplications of short synthetic DNA's as catalyzed by DNA polymerases. *J. Mol. Biol*,pp.341-361.

Référence

Granjon A., Duplantier J., 1991- Anatomie comparée des mammifères domestiques. Eds Vigot, Paris, pp.1-896.

Granjon A., 1999 - Anatomie comparée des mammifères domestiques, Tome 4 : Splanchnologie II. Péritione et topographie abdominale. Paris : Vigot, pp.1- 896.

H

Haeckel E., 1866- Morphometric and histological observations on the testis. Indian Journal of Veterinary Anatomy, pp. 99-101.

Hofer K., Hinton G.E., 1984 -Reproductive anatomy and physiology of the stallion. Vet Clin, 8 (1),

J

pp. 1-29

Jourdan D., 2006- Environment and changes in reproductive activity in sheep and goats. 8th Conf. Eur. Soc. Comp. Bio chem., 31 août-2 septembre 1986, Strasbourg, France, pp.1-175.

Josso C., Rey O., 1995 Reproductive patterns in donkeys. In : Proceedings of the 9th International Congress of World Veterinary Association, 22-26 janvier 2006, Marrakech, Morocco, pp.311-319.

K

Kretser D.M., Kerr., 1988 -Überneue, lebende Radiolarien des Mittelmeeres, Monatsberichte der Königlich Preussischen Akademie der Wissenschaften, pp. 794-817.

L

Lobaccaro M., Sultan., 1992- L'Etat des ressources zoogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture dans le monde, pp.393-410.

M

Mann W., Lutwak E., 1981- Utilisation des marqueurs moléculaires pour l'étude de la diversité génétique végétale. International Plant Genetic Institute for genomic diversity resources Institute, pp.1-245.

Murakami H., 1984 -Atlas d'histologie fonctionnelle de, Traduction de la 5^e édition anglaise par Pierre Validire et Patricia Validire –Charpy, Ouvrage Original : Wheater's Functional Histology .A Text and Atlas, Fifth Edition by J.W.Heath, J. Lowe, A. Stevens, B. Young ,pp.1-312.

O

Orgebin C., 1986 - The Pelvis, Pelvic Viscera, Tail and External Genitalia. In: Clinical dissection guide for large animals . 2nd eds., Omphaloskepsis books, pp. 313-337.

P

Petter S.,1990 -Taxonomie des bactéries anaérobies de la reclassification a la découverte de nouveaux pathogènes. Thèse doctorat, université de Nancy,pp.223-589.

Petter S.,1990 - Seasonal variation in testicular volume and sexual behavior of chios ans serra rams. Theriogenology,pp.275-282.

Thomas., 1919 -The incomplete natural history of mitochondria. Molecular Ecology,pp.729-744.

Petter S ., Aulagnier P.,1992- Appareil génital mâle. In : Anatomie compare des mammifères domestiques, Tome 4. Splanchnographie II. Paris : Vigot,pp. 83-250.

Petter S., 1963 - Imeroved prediction of signal peplides . signa IP 3.0.J.Mol.Biol,pp. 783-795.

Petter S .,1953 -Influence of season on testicular morphometry and semen characteristics in Martina Franca jackass. Theriogenology,pp. 502-507.

R

Regalado M.P., 1993- Encyclopédie des rangeurs. 4ème ed Paris : Maloine, pp.1-757.

Rodriguez A ., Bustos.,O., 1993- Morphometric and histological observations on the testis. Indian Journal of Veterinary Anatomy,pp. 99-101.

Robaire B .,1988- endocrine-paracrine-autocrine regulation of reproductive function in the stallion. in: mc kinnon ao, squires el, vaala we, varner dd (eds), RangeurReproduction, 2ed. United Kingdom, Wiley-Blackwell, pp. 996-1014.

Roscoe W., 1941- precis d'histologie et d' antomie microscopique des animaux domestique,pp.1-155.

S

Saez D., 1995 -Management of the stallion for maximum reproduction ef ficiency. II. Animal reproduction and biotechnology laboratory bulletin. Vol. No. 05. Colorado state university : Fort Collins,pp.1-235.

T

Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M. and Kumar S., 2011 - MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol*,pp.1-312.

Thompson J. D., Higgins D. G., Gibson T. J., 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22,pp.4673-4680.

Thevenot J., 1990 - Bioinformatique avancée. Université du Québec à Montréal ,pp.1-198.

V

Veen D., Barke E.,1999 -les tumeurs testiculaires à cellules de Leydig,pp .77-145.

Vernet.D, 2006- Fine strusture of rangeur testes : light and electronmicroscopystudy. *Am. J.Vet. Res.*, 38 , n°4, 443447,pp.1-325.

Y

Yoshikawa H., 2011 .-Evaluation of DNA extraction kits for molecular diagnosis of human Blastocyst issub types from fecalsamples. *ParasitolRes.*;109:1045-50,pp.1-254.



A
ALLEXE

FICHE TECHNIQUE N°1: DÉSHYDRATATION

1 bain d'alcool 70°	1h
2 bains d'alcool 96°	1h
2 bains d'alcool 100°	1h

FICHE TECHNIQUE N°2: ECLAIRCISSEMENT

1 bain d'alcool butanol	1h
1 bain d'alcool butanol	1h

FICHE TECHNIQUE N°3 : Pénétration Des Pièces Par Paraffinage

1er bain de paraffine/butanol (V/V)	
2eme bain de paraffine	1h
3eme bain de paraffine	1h

FICHE TECHNIQUE N°4: COLORATION TOPOGRAPHIQUE AU Hémato-Eosine

Produite	Tempes
Xylène	20min
Alcool100%	1min
Alcool95%	30sec
Alcool70%	30sec
Eau rinçage	10min
Hématoxyline	02min
Eau rinçage	05min
Ammoniac	15min
Eau de rinçage	05min
Eosine	05min
Eau de rinçage	10min
Alcool90%	30sec
Xylène	20min

Montage et observation

Rouge Congo :

1-Sechage : mettre les lames dans l'étuve à 100c° pendant 30min 2-

Produit	Temps
Xylène	20min
Xylène	20min
Xylène	20min
Alcool 80%	5min
Alcool 95%	5min
Alcool 100%	5min
3-Montage et observation	

MATERIEL NECESSAIRE POUR L'HISTOLOGIE

Station d'enrobage de marque



Microtome



Chauffe bain



Déshydratation des
pièces histologiques
après fixation
(automate)



Automate de coloration hémato-éosine



Microscope camira



Etuve de 58° séchage



le moule

Coloration de rouge Congo



Trichrom de Masson



Tableau III : Variation morphométrique tissulaire du tubes séminifères chez *Meriones lybicus* et *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*.

	Surface	Grand	petit diamètre	Périmètre
<i>Meriones lybicus</i>	25647±339	178,3±2,08	196,9±1,8	601,5±3,7
<i>Rattus norvegicus</i>	71086,5±849,6	303±2,5	324,3±3,6	983,3±6,1
<i>Rattus rattus</i>	73046,6±1148,7	305,9±4,3	326,8±3,3	995,1±8,1

Tableau IV : Variation morphométrique tissulaire du Tube séminifère chez *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*. Différences en pourcentage et signification statistique des différences

	M1	M2	Différence en %	p
SRB vs. SM	71114,81	25654,28	-63,9255	0,000000
SRB vs. SRS	71114,81	305,72	-99,5701	0,000000
SM vs. SRS	25654,28	305,72	-98,8083	0,000000
DRB vs. DM	303,09	178,66	-41,0547	0,000000
DRB vs. DRS	303,09	326,41	7,6929	0,000000
DM vs. DRS	178,66	326,41	82,6997	0,000000
dRB vs. dM	324,64	196,85	-39,3616	0,000000
dRB vs. dRS	324,64	994,11	206,2221	0,000000
dM vs. dRS	196,85	994,11	404,9975	0,000000
PRB vs. PM	983,44	601,72	-38,8151	0,000000
PRB vs. PRS	983,44	144,35	-85,3215	0,000000
PM vs. PRS	601,72	144,35	-76,0096	0,000000

Tableau IV : Variation morphométrique tissulaire de la lumière des tubes séminifères chez *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*

	Surface	Grand	petit diamètre	Périmètre
<i>Meriones lybicus</i>	1809,5±59,1	46,6±1,2	53,3±1,3	163,8±3
<i>Rattus norvegicus</i>	12768,6±339,3	124,3±2	140,4±2,6	419,5± 419,5
<i>Rattus rattus</i>	15582,4±463,3	138,9±2,9	154,3±2,9	463,6±7,1

Tableau IV : Variation morphométrique tissulaire de la lumière des Tubes séminifères chez *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*. Différences en pourcentage et signification statistique des différences

	M1	M2	différence en %	p
SRB vs. SM	12776,86	1806,02	-85,8649	0,000000
SRB vs. SRS	12776,86	15556,56	21,7557	0,000002
SM vs. SRS	1806,02	15556,56	761,3707	0,000000
DRB vs. DM	124,41	46,61	-62,5372	0,000000
DRB vs. DRS	124,41	138,86	11,6115	0,000071
DM vs. DRS	46,61	138,86	197,9260	0,000000
dRB vs. dM	140,37	53,15	-62,1378	0,000000
dRB vs. dRS	140,37	154,04	9,7347	0,000443
dM vs. dRS	53,15	154,04	189,8263	0,000000
PRB vs. PM	419,59	163,61	-61,0067	0,000000
PRB vs. PRS	419,59	463,09	10,3654	0,000002
PM vs. PRS	163,61	463,09	183,0364	0,000000

Tableau VI : Variation morphométrique de la surface des épидидymes chez *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*

	Surface	Grand	petit diamètre	Périmètre
<i>Meriones lybicus</i>	69848±2295,7	295,9±5,8	319,8±6,5	975,2±15,6
<i>Rattus norvegicus</i>	72728,9±6204,6	324,6±12,7	306,1±11,3	984,7±34,9
<i>Rattus rattus</i>	62900,7±2246	299,4±7,4	322,9±10,1	986,8±19,8

Tableau VI : Variation morphométrique de la surface des épидидymes chez *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* Différences en pourcentage et signification statistique des différences

	M1	M2	différence en %	p
DRB vs. DM	73551,4	69848,1	-5,0	0,5
DRB vs. DRS	73551,4	62149,5	-15,5	0,0
DM vs. DRS	69848,1	62149,5	-11,0	0,0

Tableau VII : Variation morphométrique de la lumière des épидидymes chez *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*

	Surface
<i>Meriones lybicus</i>	51727,5±1955,3
<i>Rattus norvegicus</i>	56218±3464,7
<i>Rattus rattus</i>	45844,7±2046

Tableau VI : Variation morphométrique de la lumière des épидидymes chez *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*. Différences en pourcentage et signification statistique des différences

	M1	M2	Différence en %	p
dRB vs. dM	57120,45	51727,53	-9,4413	0,183777
dRB vs. dRS	57120,45	45811,69	-19,7981	0,005677
dRS vs. dRS	45811,69	45811,69	0,0000	1,000000

Tableau VIII : La variation morphométrique de la hauteur des cellules, du diamètre des noyaux et la hauteur supra nucléaire des cellules principales épидидymaires chez les 3 espèces étudiées *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*

	c	N	SN
<i>Meriones lybicus</i>	18,8±1,6	5,3±0,5	9,3±0,9
<i>Rattus norvegicus</i>	36±1,3	6,9±0,2	
<i>Rattus rattus</i>	14,5±0,3	4,1±0,1	8,6±0,2

Tableau VIII : La variation morphométrique de la hauteur des cellules, du diamètre des noyaux et la hauteur supra nucléaire des cellules principales épидидymaires chez les 3 espèces étudiées *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* Différences en pourcentage et signification statistique des différences

		M1	M2	Différence en %	p
C	RB vs. M	14,48600	18,83574	30	0,009676
	RB vs. RS	14,48600	36,21393	150	0,000000
	M vs. RS	18,83574	36,21393	92	0,000000
N	RB vs. M	4,08767	5,35492	31	0,012186
	RB vs. RS	4,08767	6,93885	70	0,000000
	M vs. RS	5,35492	6,93885	30	0,002554
SN	RB vs. M	8,56167	9,26393	8	0,450937
	RB vs. RS	8,56167	24,89770	191	0,000000
	NM vs. RS	9,26393	24,89770	169	0,000000

Tableau VVI : La variation morphométrique de la hauteur des cellules, du diamètre des noyaux et la hauteur supra nucléaire des cellules principales du canal déférent chez les 3 espèces étudiées *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*

	C	N	SN
<i>Meriones lybicus</i>	12,5±0,3	3,2±0,1	6,6±0,3
<i>Rattus norvegicus</i>	13,5±0,3	3,9±0,2	
<i>Rattus rattus</i>	38,7±1,8	57,9±2,6	10,3±0,7

Tableau VVI : La variation morphométrique de la hauteur des cellules, du diamètre des noyaux et la hauteur supra nucléaire des cellules principales du canal déférent chez les 3 espèces étudiées *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* : Différences en pourcentage et signification statistique des différences

		M1	M2	Différence en %	p
C	RB vs. M	38,71583	12,51650	-68	0,000000
	RB vs. RS	38,71583	13,50400	-65	0,000000
	M vs. RS	12,51650	13,50400	8	0,030235
N	RB vs. M	57,99117	3,16350	-95	0,000000
	RB vs. RS	57,99117	3,90400	-93	0,000000
	M vs. RS	3,16350	7,18283	127	0,000000
SN	RB vs. M	10,32967	6,63933	-36	0,000006
	RB vs. RS	10,32967	7,18283	-30	0,000086
	NM vs. RS	6,63933	7,18283	8	0,166495

Tableau VVI : La variation morphométrique de la hauteur des cellules, du diamètre des noyaux et la hauteur supra nucléaire des cellules principales des Vésicules séminales chez les 3 espèces étudiées *Meriones lybicus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*

	C	N	SN
<i>Meriones lybicus</i>	9,9±0,3		4,5±0,1
<i>Rattus norvegicus</i>	11±0,3		5,2±0,2
<i>Rattus rattus</i>	15,6±0,4	5,1±0,2	8,4±0,4

Tableau VVI : La variation morphométrique de la hauteur des cellules, du diamètre des noyaux et la hauteur supra nucléaire des cellules principales des Vésicules séminales chez les 3 espèces étudiées *Meriones libycus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* Différences en pourcentage et signification statistique des différences

		M1	M2	Différence en %	P
C	RB vs. M	15,61933	9,85917	-37	0,000000
	RB vs. RS	15,61933	11,04083	-29	0,000000
	M vs. RS	9,85917	11,04083	12	0,006664
N	RB vs. M	5,12600	3,84117	-25	0,000000
	RB vs. RS	5,12600	4,27733	-17	0,000158
	M vs. RS	3,84117	4,27733	11	0,017283
SN	RB vs. M	8,47806	4,47541	-47	0,000000
	RB vs. RS	8,47806	5,23900	-38	0,000000
	NM vs. RS	4,47541	5,23900	17	0,004139

Tableau XVI : Liste des séquences d'ADN trouvées dans la GenBank pour l'étude phylogénétique (code, nombre de base et leur origine géographique) chez les 3 espèces étudié :

Merion shawi :

N°	Code	Pair de base	Pays
1	KP899538	1140	Tunisia
2	KP899525	1140	Tunisia
3	LN868362	1140	Tunisia

Meriones chengi :

N°	Code	Pair de base	Pays
1	AB381900	1076	China

Meriones crassus :

N°	Code	Pair de base	Pays
1	KR089028	1139	Egypt
2	AJ851267	1052	Saudi Arabia

Meriones meridianus :

N°	Code	Pair de base	Pays
1	KU156736	1099	China
2	KU156737	1124	China
3	AB381899	1124	China
4	AJ851268	1140	China

Meriones tristrami :

N°	Code	Pair de base	Pays
1	KR089032	1133	Jordan
2	KU561099	878	Iran

Meriones libycus :

N°	Code	Pair de base	Pays
1	LN868372	1140	Tunisia
2	LN868373	1140	Tunisia
3	LN868374	1140	Tunisia
4	MF535299	663	Afghanistan
5	MF535300	663	Afghanistan
6	MF535301	663	Afghanistan
7	MF535302	663	Afghanistan
8	MF535303	663	Afghanistan
9	MF535304	663	Afghanistan
10	MF535305	663	Afghanistan
11	MF535306	663	Afghanistan
12	MF535307	663	Afghanistan
13	MF535308	663	Afghanistan
14	MF535309	663	Afghanistan
15	MF5353010	663	Afghanistan
16	MF5353011	663	Afghanistan
17	MF5353012	663	Afghanistan
18	KP899540	1140	Tunisia
19	KP899541	1140	Tunisia
20	KP899542	1140	Tunisia
21	LN868371	1140	Tunisia
22	LN868370	1140	Tunisia
23	KR089029	1140	Iran
24	KU156732	1179	China
25	JQ927412	1110	Tunisia

Rattus argentiventer :

N°	Code	Pair de base	Pays
1	KY754125	426	Indonesia
2	HM217364	1108	Cambodia
3	FR775882	1143	Viet Nam
4	FR775877	1143	Viet Nam

Rattus andamanensis :

N°	Code	Pair de base	Pays
1	KY754124	424	Viet Nam
2	HM217403	1119	Thailand
3	KC010173	858	Thailand
4	JQ814249	774	Cambodia
5	JQ814211	1143	China
6	FR775874	1143	Viet Nam
7	JQ823538	1143	China

Rattus exulans :

N°	Code	Pair de base	Pays
1	KY754126	1089	Indonesia
2	HM217472	1104	Thailand

3	KJ155783	381	Indonesia
4	KJ155782	381	Singapore
5	KJ155781	381	Indonesia
6	KJ155778	381	Solomon Islands
7	MF535302	360	East Timor
8	KJ155774	381	Philippines
9	JX534034	1097	Thailand
10	FR775886	1143	Viet Nam
11	EF186523	713	Papua New Guinea
12	EF186434	713	Thailand
13	EF186431	713	Samoa
14	EF186429	711	French Polynesia
15	EF186428	713	Papua New Guinea
16	EF186426	713	New Zealand
17	EF186421	713	Indonesia
18	EF186419	713	USA
19	EF186417	713	Fiji
20	EF186416	713	Cook Islands

Rattus facetus :

N°	Code	Pair de base	Pays
1	KY754127	1020	Indonesia

Rattus fuscipes :

N°	Code	Pair de base	Pays
1	MG021322	447	Australia
2	EF186439	713	Australia

Rattus hoffmanni :

N°	Code	Pair de base	Pays
1	EF186443	713	Indonesia

Rattus leucopus :

N°	Code	Pair de base	Pays
1	KY754128	1140	Papua New Guinea
2	EF186452	713	Australia

Rattus lutreolus :

N°	Code	Pair de base	Pays
1	MG021321	450	Australia

Rattus norvegicus :

N°	Code	Pair de base	Pays
1	KY356148	1143	China
2	LC147012	1140	Madagascar
3	KP858491	286	Kenya

ANNEXE II

4	DQ439844	1140	South Africa
5	HQ157799	1140	South Africa
6	HM217481	1091	Cambodia
7	HM217429	1127	Thailand
8	FJ842279	1140	Indonesia
9	FJ842278	1140	Viet Nam
10	GQ274947	564	Singapore
11	KU156724	1133	China
12	AB973107	1140	India
13	KT279110	1092	China
14	KT024820	1143	China
15	KF294415	1140	China
16	JX887164	549	Germany
17	JX887163	549	France
18	HE820127	673	Spain
19	JQ814283	774	USA
20	FR775890	1143	Viet Nam
21	JF318991	627	Germany
22	EF186462	713	French Polynesia
23	AB451021	775	Japan
4	KU156732	1179	Viet Nam

Rattus tunneyi :

N°	Code	Pair de base	Pays
1	EF186518	713	Australia

Rattus tanezumi :

N°	Code	Pair de base	Pays
1	KY002828	795	Nepal
2	KX519421	639	China
3	DQ439850	1140	South Africa
4	HM217480	1124	Laos
5	HM217467	266	Thailand
6	FJ842265	1140	South Africa
7	FJ842264	1140	Swaziland
8	GQ274949	564	Singapore
9	KP343797	794	Afghanistan

Rattus rattus:

N°	Code	Pair de base	Pays
1	KY002817	948	Nepal
2	KY002822	639	Nepal
3	LC147016	1140	Madagascar
4	DQ439858	1140	South Africa
5	AY452177	266	Greece
6	HM217368	1080	Madagascar
7	HM217734	887	India
8	KT232247	1111	Nigeria
9	AB973104	1140	India
10	AB762744	1140	Sri Lanka
11	HE820125	706	Tunisia
12	HE820123	706	Spain
13	AB752999	1193	Zambia

ANNEXE II

14	JQ814282	803	Madagascar
15	JQ814271	803	Iran
16	JQ814242	798	Pakistan
17	JQ814240	803	US