

République Algérienne Démocratique et populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Saad Dahleb Blida 1

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER

En Biologie

Option : Génétique Et Physiologie

### THEME

Régulation interne et externe de la glande surrénale  
chez les béliers D'man et Ouled Djellal

**Présenté par :** M<sup>elle</sup> kaladjou dahbia

**Date de soutenance :** 29 /10/ 2015

**Devant le jury composé de :**

<b>Présidente :</b>	Mr Mohamed Said .R	MAA/BPC	Univ. Blida 1
<b>Promoteur :</b>	M <sup>eme</sup> Amokrane .A.	MAA/BPC	Univ. Blida 1
<b>Examinatrice :</b>	Melle Zatra .Y.	MAA/BPO	Univ. Blida 1

**2014/2015**

## REMERCIEMENT

*Je remercie tout d'abord ALLAH tout puissant qui m'a donné le courage , la volonté et la santé afin d'accomplir mon travail .*

*Je suis très heureuse d'exprimer ici tous mes remerciements et ma profonde gratitude au professeur KHAMMAR FARIDA , qui m'a accueilli dans Laboratoire De Recherche Sur Les Zones Arides (LRZA).*

*Je tiens a exprimé mes vifs remerciements et ma profonde gratitude à ma promotrice M<sup>ème</sup> AMOKRANE ASSIA , qui a bien voulu me consacrer tout son temps pour me transmettre son savoir avec une bonne volonté , son soutien son aide , ses conseils et sa bienveillance durant l'élaboration de ce mémoire .*

*Tous mes remerciements à M<sup>ème</sup> LAMOUTI le chef service de l'anatomo-pathologie pour son aide dans la coloration de TM .*

*Mes remerciements s'adressent vivement à mon chef d'option de génétique et physiologie Mr MOHAMED SAID .R , qui a accepté de présider le jury , et pour leur grande efficacité et leur aide désintéressée durant les cours.*

*Je remercie chaleureusement M<sup>elle</sup> ZTARA YAMINA, qui a accepté d'être examinatrice de ce mémoire , et de faire partie de ce jury . je suis reconnaissante pour son aide précieuse au laboratoire , ses nombreux conseils judicieux qui ont été pour moi un grand appui , et pour l'intérêt qu'elle a toujours manifesté.*

*Mes remerciements s'adressent également vers l'ensemble d'équipe de LRZA qui, par leurs aides, conseils et remarques ont enrichi cette mémoire, et surtout Mr BENMOULOUD A. et Mme CHAKHMA.*

*Mes derniers et profondes remerciements vont à tous ceux qui m'on donné le gout des études ( mes maitres et mes professeurs).*

*Dahbia*

# DÉDICACE

*J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail en témoignage de mes  
gratitudes et mes profonds remerciements à :*

*Mes **très chers parents** qui m'ont suivi dans mes études , guidés vers la  
réussite avec grand amour , pour leur compréhension et surtout leurs  
encouragements .*

*Ma très chère sœur **Imane** ,et mes frères*

***A toute ma famille.***

*Ma directrice de la thèse Amokrane Assia qui a toujours été l'exemple  
durant mes études*

***A toutes mes amis et collègues de l'université Saad Dahleb BLIDA***

***Sincères reconnaissances***

*Tous ceux qui m'aiment et que j'aime et à tous ceux qui mon aidé de  
prés ou de loin .*

*Dahbia*

## LISTE DES ABRÉVIATIONS :

- **11 $\beta$ -OHase** : 11 $\beta$ -Hydroxylase .
- **17 $\alpha$ H** : 17 $\alpha$ -Hydroxylase.
- **17 $\alpha$ -OHPREG** : 17  $\alpha$ -Hydroxyprégnénone .
- **17 $\alpha$ -OHPROG** : 17 $\alpha$ -Hydroxyprogestérone .
- **3BHSD** : 3 Bhydroxy-Steroid-Déshydrogénase .
- **ACTH** : AdrenoCorticoTropin Hormone .
- **AMPC** : Adénosine MonoPhosphate Cyclique
- **ARNm** : acide ribonucléique messenger .
- **AZM** : Azan Modifié .
- **BhLh** : Basic helix-loop-helix .
- **Bmal1** : Brain and muscle arnt like protein 1 .
- **C** : Claire.
- **CCG** : Clock-Controlled-Gene, Gène Contrôlé Par L'horloge .
- **CKI $\epsilon$**  : Caseine kinase I $\epsilon$  .
- **CLOCK** : Circadian Locomotor Output Cycle Kaput .
- **CRH** : Corticotropin-Releasing Hormone .
- **Cry** : Cryptochrome .
- **Dec** : Differentially Expressed In Chondrocytes Protein .
- **GMPC** : Guaninase Monophosphate Cyclique .
- **GnRH** :Hormone Libérant La Gonadotropin/ Gonadotropin Releasing Hormone.
- **RG** : Récepteur Des Glucocorticoïdes .
- **HE** : Hemalun-Eosine .
- **HHC** : Hypothalamo-Hypophyso-Corticosurrénalien (**axe**).

- **HHS** : Hypothalamo-Hypophyso-Surrénalien (**axe**).
- **IML** : Colonne Intermédio-Latérale de la moelle épinière.
- **LDL** : Low Density Lipoproteins .
- **LRZA** : Laboratoire de Recherche sur Les Zones Arides .
- **MC2R** : Melanocortin 2 Receptor .
- **Mt1** : Melatonin receptor type 1.
- **N** : Noyau .
- **N/C** : rapport nucléo-cytoplasmique .
- **Ng/ml** : Nanogramme/ milliliter .
- **NGFI-B** : Nerve Growth Factor IB .
- **NSC** : Noyaux SupraChiasmatisques .
- **P450c17** : 17 $\alpha$ -hydroxylase/ 17, 20 lyase .
- **P450scc** : P450 side chain cleavage .
- **PAS** : Period-arnt-sim .
- **PER2** : Period2.
- **PKA** : Protéine kinase A .
- **POMC** : La Pro-Opiomelanocortine .
- **PVN** : Les Noyaux Paraventriculaires .
- **RIA** : Dosage radio-immunologique / radio-immuno assay.
- **ROR  $\alpha$**  : Retinoid-related Orphan Receptor  **$\alpha$** .
- **RT** : ARN m TOTAL .
- **SEM** : Erreur standard / standard error of the mean.
- **STAR** : La Steroidogenic Acute Regulatory Protein .
- **S** : sombre
- **t/min** : tours/minnute.
- **TM** : TRICHROME DE MASSON .
- **V/V** : volume à volume.

- **ZF** : zone fasciculée .
- **ZG** : zone glomérule.
- **ZR** : zone réticulée .
- **$\beta\Gamma$**  : SOUS-UNITES DES PROTEINES GI.
- **$\mu\text{m}$**  : Micromètre.

# GLOSSAIRE :

★ **P450** : (pigment 450 )le composé responsable du pic d'absorbance à 45 nm qui apparaît quand on sature en monoxyde de carbone (**Nicolaidis ; 2004**).

★ **Circadien** : du latin= cira : environ ,dia : jour . est un type de rythme biologique d'une durée de 24 h (**Minoros 1985**).

★ **Equinoxe** : époque de l'année (20 ou 21 mars , 22 ou 23 septembre )ou le soleil se trouve dans le plans équatoriale (moment ou les rayons du soleil arrivent perpendiculairement sur l'axe de rotation de la terre , les rayons du soleil sont donc parallèles à l'équateur ), cela a pour conséquence que la durée du jour et de la nuit sont égaux partout sur la terre (**Pierre et al ,2000**).

★ **Nycthémère** : un cycle biologique de 24 heures comprenant une période de veille et une période de sommeil correspondant respectivement à un jour et une nuit pour les espèces diurnes , et a l'inverse pour les espèces strictement nocturnes (chauve,1980).

★ **Pâturage** : surface couverte d'herbe , prairie artificielle ou naturelle , ou l'on fait paître des herbivores (**Meyer 2009**).

★ **Photopériodisme** : la propriété , qu'ont certaines plantes ou certains animaux d'avoir leur développement ou leur fonctionnement soumis à l'influence de la durée des jours et des nuits , plus précisément à la durée du temps d'éclairement et de l'obscurité (**Lotfs ,1978**).

★ **Solstice** : l'époque de l'année (20 ou 21 juin ,21 ou 22 décembre ) ou le soleil est le plus éloigné dans le plan équatorial ), cela a pour conséquence le jour est le plus long de l'année et la nuit est la plus courte pour le solstice d'été et le contraire pour le solstice d'hiver (**Peirre Et Al ;2000**).

★ **Steppe** : est une formation végétale , primaire ou secondaire ; basse et ouverte dans sa physionomie typique et inféodée aux étages bioclimatique arides et désertique dont elle est l'expression naturelle (**Bourbouze et al , 1987** ).



## RÉSUMÉ

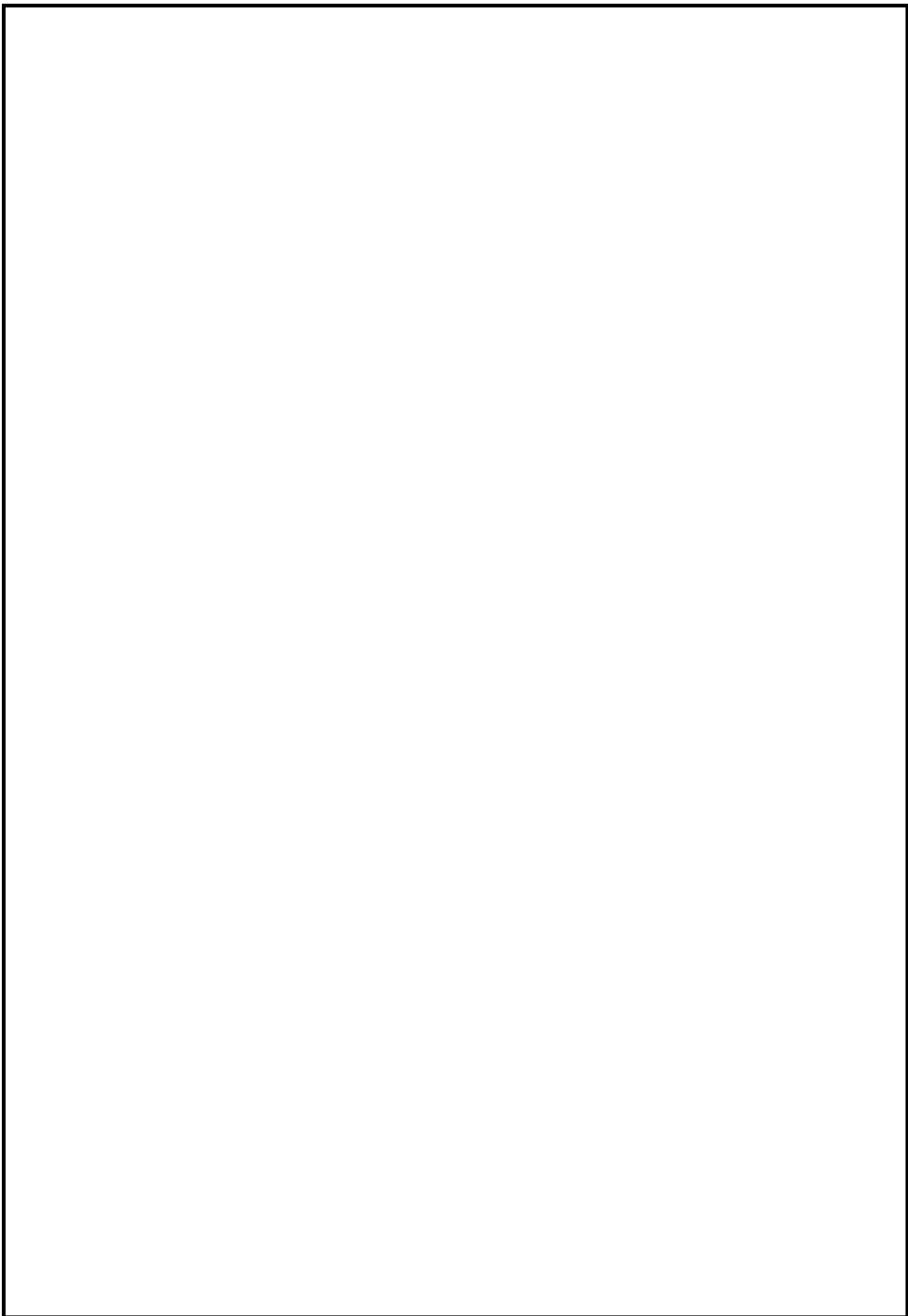
Les mammifères vivant en zones arides constituent de bons modèles expérimentaux, pour l'étude des mécanismes développés, permettant leurs survies aux conditions de leur environnement, ainsi ces animaux peuvent répondre aux facteurs externes et internes par des variations de leur activité corticosurrénale. L'objectif de notre étude, consiste à la mise en évidence des effets de ces facteurs endogènes et exogènes à savoir la lumière du jour et la photopériode saisonnière sur la corticosurrénale. Pour cela, une investigation est conduite sur 27 béliers de race Ouled Djellal et 28 béliers D'man adultes élevés dans la bergerie de la station expérimentale d'El-Meniaa (30° 34' N, 02° 52' E), soumis aux conditions de température et de lumière naturelles.

L'étude de la corticosurrénale comporte trois techniques ; 1)- la qPCR Syber Green réalisée sur des fragments de la corticosurrénale pour l'évaluation de l'expression des gènes de contrôle de la biosynthèse et de la rythmicité du cortisol, 2)- la technique histomorphométrique réalisée sur des surrénales fixées dans le Bouin Aqueux permettant les mesures des épaisseurs tissulaires et les surfaces cellulaires et nucléaires, 3)- la technique radio-immunologique (RIA) permettant l'évaluation de l'activité glucocorticoïde.

Les résultats obtenus montrent une expression rythmique des gènes étudiés, qui se manifeste par une forte expression de : Clock, Bmal1,  $\beta$ hsd et Star pendant la phase nocturne et une importante expression de Per2 et de Revb pendant la phase diurne. Les résultats morphométriques rapportent : Des variations de l'épaisseur de la corticosurrénale qui se trouve plus développée en phase claire qu'en phase sombre pour l'ensemble des équinoxes et solstices. Le cortex surrénalien présente aussi des variations morphométriques au cours de l'année caractérisées par : un maximum en été/printemps et un minimum en hiver/automne chez les deux races ovines D'Man et Ouled Djellal. En outre, l'activité glucocorticoïde est caractérisée par un rythme saisonnier : important à l'équinoxe du printemps pour la race Ouled Djellal et au solstice d'été pour la race D'Man et se trouve faible au solstice d'hiver chez les deux races. Il est remarquable de constater que l'activité glucocorticoïde de la surrénale du bélier Ouled Djellal demeure significativement importante par rapport à celle du bélier D'Man au cours de toutes les saisons. Même chose, est rapportée pour le volume corticale, la fasciculaire ainsi que la surface de la cellule fasciculaire se trouvent significativement plus importants chez la race Ouled Djellal par rapport à la race D'Man au cours du nyctémère et de la saison. Enfin, nous rapportons l'existence de corrélations significatives entre le facteur externe, l'expression génique, la structure surrénalienne et l'activité glucocorticoïde de la surrénale.

A partir de ces résultats, il semble que l'intensité lumineuse et la photopériode ont un puissant effet sur la synchronisation des gènes exprimés au niveau de la corticosurrénale, qui se manifeste par des changements de l'aspect histologique de la surrénale et de son activité glucocorticoïde.

**Mots clés :** Corticosurrénale, Gènes horloge, Cycle lumière/obscurité, Photopériode, D'man, Ouled Djellal, El-Meniaa.



## ABSTRACT

Most mammals have to adapt to their habitats to survive. The mammals living in arid areas are good experimental models for the study of mechanisms of adaptation to the conditions of their environment and these animals can respond to external and internal factors by changes in adrenocortical activity. The aim of our study is to highlight the effects of external and internal factors ie daylight and seasonal photoperiod on the adrenal cortex. For this, an investigation was conducted on 27 breed rams Ouled Djellal and 28 adult rams D'man high into the fold of the experimental station of El-Meniaa (30 ° 34 'N, 02 ° 52' E), subject to temperature and natural light.

We used three techniques; the Syber Green QPCR technique performed on mRNA adrenocortical which have the purpose of gene expression Clock, Bmal1, Per2, Reverb, 3Bhsd and Star .Also the histomorphometric technical performed on tissues fixed in Bouin Hollande, whose the aim is to study the structural variations; and technical radio immunoassay (RIA) using the cortisol labeled with iodine 125 to check the diurnal and seasonal changes in plasma levels of glucocorticoids.

The results show a rhythmic gene expression are studying, a high expression of clock genes and Bmal1 during dark fortunes, and Per2 Reveb genes and the diurnal fortunes .the Star 3Bhsd genes and also have a strong expression during the ups dark and there is a relationship between photoperiod and gene expression and glucocorticoid activity this last has a relationship with al diurnal variation in adrenocortical .Ansai, the results report the existence of morphometric changes of the adrenal cortex whose thickness is more developed in light reactions that dark phase. The adrenal cortex also undergoes variations during the year characterized by: A maximum observed in summer and a minimum in winter and autumn. Moreover, we confirm the intimate relationship of the thickness of the adrenal cortex and the ZF whose glucocorticoid activity; Z F occupies the largest area of the adrenal cortex and is responsible for the production and secretion of cortisol, a significant concentration of plasma cortisol is reported in the summer, it is moderate in autumn, and is low in winter and spring at D 'man and a strong concentration in spring evening in Ouled Djellal..A From these results, it seems that the light intensity and photoperiod have an important effect on the adrenal function, manifested by changes in the appearance Histological adrenal and its glucocorticoid activity.

**Keywords:** adrenal cortex, light / dark cycle , photoperiod , race Ouled Djellal, race D'man, El-Meniaa , the genes horologe .

## ملخص

تتكيف معظم الثدييات مع بيئاتها من أجل البقاء ومنه تعد الثدييات التي تعيش في المناطق القاحلة نماذج تجريبية جيدة لدراسة آليات التكيف مع الظروف البيئية. هذه الحيوانات يمكن أن تستجيب للعوامل الخارجية وداخلية بتغيرات في نشاط قشرة الغدة الكظرية. الهدف من دراستنا هو تسليط الضوء على تأثير العوامل الخارجية والداخلية أي ضوء النهار والضوئية الموسمية على قشرة الغدة الكظرية. لهذا، تم إجراء التحقيق في 27 سلالة كباش أولاد جلال و 28 الكبار الكباش دمان في حظيرة محطة تجريبية للمنيعة (30 ° 34 'N، 02 ° 52' E) بالمنيعة، وفقا لشروط درجة الحرارة والضوء الطبيعي.

قمنا باستخدام ثلاث تقنيات؛ اولاً تقنية IQPCR Syeber Green التي أجريت على كمية ARNm الموجود في القشرة-الكظرية وهذا بغرض دراسة التعبير الجيني للمورثات . CLOCK ,Bmal1 , Per2 Reverb , 3Bhsd ; Star ; ثانياً ، تقنية القياس النسيجي الذي أجري على أنسجة مثبتة، باستخدام متتبع الكورتيزول معلم (RIA) بمحلول هولندا بوين، بهدف دراسة الاختلافات الهيكلية. تقنية القياس المناعي الشعاعي باليود 125 للتحقق من التغيرات النهارية والموسمية لمستويات الستيرويدات القشرية السكرية في البلازما. أظهرت النتائج أن سمك القشرة أكبر خلال النهار عن الليل في أوقات مختلفة من السنة. هذه النتائج تدعم إمكانية تأثير الضوء على وظيفة القشرية الكظرية.

تثبت النتائج المحصل عليها أيضاً وجود اختلافات موسمية في سمك القشرة الكظرية حيث يتميز فصل الصيف بزيادة حجم القشرة

أظهرت النتائج التعبير المورثات عن ، تعبير عال من الجينات clock و Bmal1 خلال المرحلة المظلمة، والمورثات Per2 Reveb و عن تعبير عال في المرحلة الضوئية. وايضا الجينات Bhsd Star3 فيها يكن التعبير المورثات كبيرا في الليل ومنه فهناك علاقة بين المراحل الضوئية والتعبير الجيني والنشاط جلايكورتيكود له هذا الأخير علاقة مع تنظيم الاختلاف نهارى في قشر-كظري أ، ايضا أظهرت نتائج التقرير وجود التغيرات المظهيرية للقشرة الغدة الكظرية الذين يزداد سمكها أكثر في التفاعلات الضوئية على تلك المرحلة المظلمة. تخضع قشرة الغدة الكظرية أيضا للاختلافات خلال العام تتميز بما يلي: كحد أقصى للتغيرات لوحظ في الصيف والحد الأدنى في فصل الشتاء والخريف. وعلاوة على ذلك، فإننا نؤكد على العلاقة بين سمك قشرة الغدة الكظرية وإفراز الكورتيزول حيث ظهرت انه المنطقة فاسيكيلى نشاطها جلايكورتيكود؛ يحتل المنطقة فاسيكيلى أكبر مساحة من قشرة الغدة الكظرية، وهي مسؤولة عن إنتاج وإفراز الكورتيزول، وعن تركيز كبير من الكورتيزول البلازما في الصيف، فمن معتدل في الخريف، ومنخفضة في الشتاء والربيع في دمان والتركيز القوي في المساء الربيع في أولاد جلال من هذه النتائج، يبدو أن شدة الضوء والضوئية لها تأثير هام على وظيفة الغدة الكظرية، والذي تجلى من خلال التغيرات في مظهر الغدة الكظرية النسيجية والنشاط الاستيرويد لها.

**كلمات البحث:** قشرة كظرية، ضوء/الظلام، فترة الإضاءة الموسمية، أولاد جلال، المنيعة، ا، القياس

الكورتيزول، تناوب نهارى، تناوب موسمي .

## Sommaire :

### RESUME

### REMERCIEMENTS

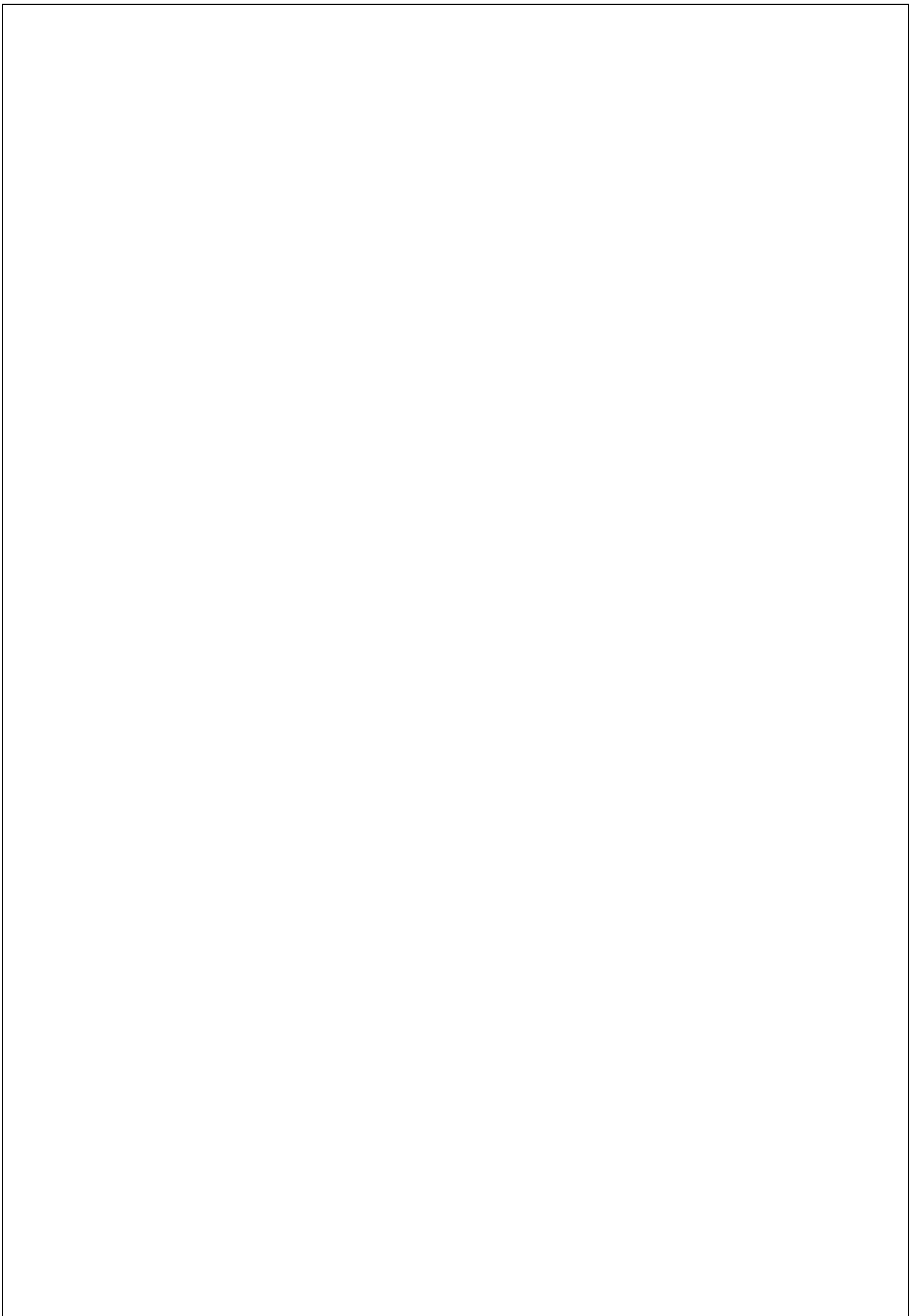
### DEDICACES

### LISTE DES ABREVIATIONS

### GLOSSAIRE

<b>PREAMBULE.....</b>	<b>2</b>
<b>RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>3</b>
I .Le système endocrinien.....	3
1. Les glandes surrénales.....	3
1-1.L anatomie .....	3
1-1-1 L'anatomie externe .....	3
1-1-2. L'anatomie interne.....	3
2. Biosynthèse des glucocorticoïdes .....	4
II. Contrôle de la fonction glucocorticoïde de la corticosurrénale .....	5
II.1 Axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien.....	5
II .1.1 Rôle de l'ACTH .....	6
II 1 .2 Signalisation intracellulaire de l'ACTH .....	6
II.3. Implication du système sympathique .....	7
III. Contrôle par les Noyaux Supra Chiasmatisques.....	7
IV . Les rythmes biologiques de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien...	8
V . L'horloge circadienne.....	9
VI . Construction endogène de la rythmicité circadienne.....	9
VI.1 . Détermination génétique.....	10
VI .1 -1.Gènes horloge principaux .....	10
VI.1-2 .Gènes horloges secondaires.....	11
VI . 2.La régulation transcriptionnelles .....	12

<b>MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>16</b>
I. Matériel biologique .....	16
II. Biotope .....	21
III. Méthodes .....	23
III.1. Technique histologique .....	23
III.2. Etude morphométrique .....	26
III.3. Dosage radioimmunologique (RIA) du cortisol .....	28
III. 4. La Q PCR (Syber Green) .....	32
VI. Analyse statistique.....	37
<b>RESULTATS.....</b>	<b>39</b>
A- La race D'Man.....	41
I . Les variations histo-morphométriques de la corticosurrénale.....	41
II. Concentration plasmatique du cortisol durant le cycle lumière/obscurité.....	49
III .L'expression des gènes horloge et les gènes impliqués dans la biosynthèse de cortisol au niveau de la surrénale .....	56
A- La race Ouled Djellal .....	66
I . Les variations histo-morphométriques de la corticosurrénale.....	66
II. Concentration plasmatique du cortisol durant le cycle lumière/obscurité.....	74
III .L'expression des gènes horloge et les gènes impliqués dans la biosynthèse de cortisol au niveau de la surrénale .....	78
C. Étude comparative de la corticosurrénale chez les deux races ovines D'Man et OuledDjellal.....	84
<b>Discussion .....</b>	<b>97</b>
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>104</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>108</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>124</b>



La Terre tourne sur elle-même en 24 heures, imprimant ainsi une alternance régulière du jour et de la nuit. De plus, en une année, la terre tourne autour du soleil, imprimant ainsi les saisons. Ces cycles font varier considérablement les caractéristiques du milieu, qu'il s'agisse de la luminosité, de la température, de l'hygrométrie ou encore de la disponibilité alimentaire (Trischer, 2006).

Pour leur survie, les espèces ont donc dû s'adapter à ces variations environnementales. Cette adaptation se traduit, pour de nombreuses espèces, par l'accouplement à une période précise de l'année, permettant ainsi la naissance des petits à la période la plus propice à leur survie. Cette adaptation s'est faite notamment grâce à la mise en place d'une horloge capable de se synchroniser et de distribuer à tout l'organisme un message temporel permettant l'anticipation des changements du milieu. Ainsi, cette horloge contribue largement au fonctionnement harmonieux des organismes dans leur environnement (Malek, 2007).

Les variations temporelles, qu'elles soient journalières ou saisonnières, sont un élément constitutif de l'environnement. Pour étudier au mieux les animaux dans leur milieu, il faut tenir compte de ces variations temporelles rythmiques. Il est donc important d'étudier la variation physiologique issue de l'horloge biologique permettant aux animaux d'être en phase avec leur environnement.

L'existence d'une horloge biologique a été mise en évidence pour la première fois en 1729 chez une plante : la sensitive, par d'Ortous de Mairan, qui a montré que l'ouverture et la fermeture des feuilles de cette plante perdurent en l'absence d'alternance jour/nuit. En 1832, de Candolle a montré que les mouvements de cette plante présentaient une période proche mais différente de 24 heures dans des conditions constantes, mettant ainsi en évidence l'existence d'une horloge capable de fonctionner de façon autonome (Canguilhem et Boissin, 1998). On parle d'horloge circadienne, *circa* signifiant autour et *dies* signifiant jour, qui présente donc une période d'environ 24 heures. D'où l'idée que ce n'est pas la lumière qui est à l'origine des rythmes observés, mais elle joue le rôle de synchroniseur. L'horloge oscillant de façon autonome, les facteurs d'information temporelle, photiques ou non, sont considérés comme des synchroniseurs ou *Zeitgeber*, les donneurs de temps, (*Zeit* signifiant temps et *Geber* signifiant donneur). Chez les Mammifères, il a fallu attendre l'année 1972 pour



localiser l'horloge circadienne dans les noyaux suprachiasmatiques de l'hypothalamus (SCN) grâce à des expériences de lésions (Stephan & Zucker, 1972 ; Moore & Eichler, 1972). Après lésion de ces noyaux, la greffe de ces mêmes noyaux réinstalle une rythmicité, notamment celle de l'activité locomotrice ; la rythmicité observée présente la période endogène de l'animal qui est donneur du greffon. De même, la greffe d'hypothalamus embryonnaire de souris sauvages, à des souris mutantes arythmiques, en raison de l'inactivation de deux gènes horloge (KO *Cry1-Cry2*), rétablit une rythmicité de l'activité locomotrice chez les mutantes (Sujino *et al.*, 2003). Des résultats similaires ont été obtenus en greffant des SCN embryonnaires de hamster mutant *tau*, présentant une période endogène très courte d'environ 20 heures (Ralph & Menaker, 1988), à des hamsters sauvages ayant subi une lésion de l'horloge circadienne (Ralph *et al.*, 1990). Par ailleurs, la greffe de cellules isolées de SCN est suffisante pour rétablir une rythmicité de l'activité locomotrice à des animaux préalablement lésés (Silver *et al.*, 1990).

Les mammifères vivant en zones arides constituent de bons modèles expérimentaux pour l'étude des mécanismes de l'adaptation aux conditions de leur environnement. Ainsi, ces animaux peuvent répondre aux facteurs externes (climatique, sociaux..) par des variations de l'activité corticosurrénalienne et donc des changements dans leur comportement et métabolisme.

Notre travail est basé essentiellement, sur l'étude de l'influence des facteurs externes à savoir : la lumière du jour et la photopériode saisonnière et des facteurs internes (gènes de contrôle de la sécrétion et de la rythmicité du cortisol au niveau surrénalien), sur la structure et l'activité glucocorticoïde de la surrénale chez les béliers de races D'man et Ouled Djellal, pour cela nous avons réalisé :

- L'étude histologique complétée par l'étude morphométrique en réalisant des mesures de l'épaisseur : du cortex, de la zone fasciculée (ZF), de la surface cellulaire (C) et nucléaire (N) au cours du cycle lumière/obscurité de toutes les saisons.
- L'étude de l'activité glucocorticoïde de la surrénale par le dosage du cortisol plasmatique (radio-immunologie)
- L'étude de l'expression génique (*Bmal1*, *Clock*, *Per2*, *Reverb*, *3βhsd* et *Star*) par la Qpcr Syber Green.
- L'étude statistique permettant l'interprétation des résultats obtenus.

Avant de rapporter nos résultats , nous rappellerons d'abord la physiologie endocrinienne du cortex surrénalien en insistant sur l'activité glucocorticoïde et sa régulation par les gènes horloge, nous tenterons de faire aussi la synthèse des connaissances sur la description des deux races de mouton Ouled Djellal et D'man adaptées particulièrement à la vie désertique , ensuite nous présenterons le matériel et les technique utilisées , les résultats obtenus seront discutés à la lumière de la littérature et enfin une conclusion générale clôturera ce mémoire .

### I Le système endocrinien

L'appareil endocrinien regroupe les glandes endocrines et les cellules endocrines disséminées dont la fonction est de réguler et coordonner les activités métaboliques de l'organisme (**Delmas et al., 2008**). Les glandes endocrines déversent leurs produits de sécrétion, appelé hormone, dans les capillaires sanguins, directement par le sang vers un ou plusieurs des récepteurs cellulaires au niveau des organes cibles, au niveau des quels l'effet se manifeste (**Poirier et al., 2006**).

Les glandes endocrines sont représentées par :

L'hypophyse, la glande pinéale (anciennement épiphyse). La glande thyroïde, les glandes parathyroïdes, le thymus, les testicules, les ovaires et les glandes surrénales (**Delmas et al., 2008**) .

#### I. Les glandes surrénales

Les glandes surrénales sont des glandes endocrines qui sécrètent des hormones indispensables à la vie, par leur rôle très important dans la régulation des grandes fonctions de l'organisme.

Elles sont composées de deux compartiments d'origine embryologique distincte : le cortex surrénalien d'origine mésodermique et la médullosurrénale d'origine neuro-ectodermique. Seul le cortex produit des hormones stéroïdiennes (**Antoine et al., 1993 ; Folligan et al., 2005 ; Panagiotakopoulos et Neigh, 2014**).

#### 1-1.L anatomie

##### 1-1-1 L'anatomie externe

Se sont de petites glandes endocrines aplaties appliquées contre le pôle supérieur de chaque rein chez les mammifères (**Wheater et al., 2004**). Elles sont Environ 4,5 cm de longueur et 3 cm de largeur, environ 6 g de poids. Elles sont en nombre de deux : une droite et une gauche, possédant une consistance molle, et une coloration jaune chamois (**Gilles et al., 2000**)

##### 1-1-2. L'anatomie interne

Elles sont composées de deux compartiments :

**En périphérie : la corticosurrénale** : elle est divisée elle-même en 3 parties concentriques distinctes, de la périphérie vers le centre :

**La zone glomérulée**, externe, occupant environ 10 % du cortex. Elle est composée de cellules en amas. les cellules de cette zone sécrètent les minéralo-corticoïde, principalement l'aldostérone (**Wheater et al., 2004**);

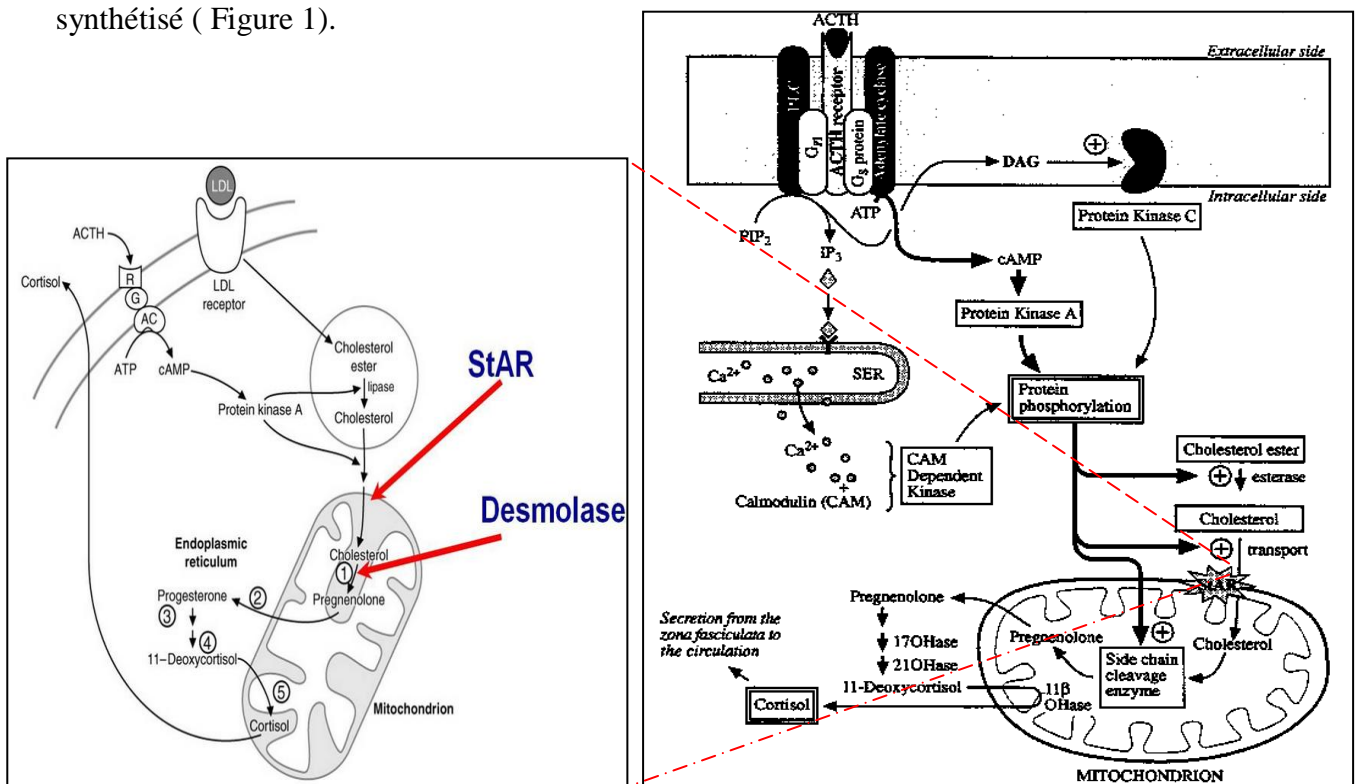
**La zone fasciculée**, intermédiaire, occupant environ 75 % du cortex. Elle est constituée de volumineuses cellules, groupées en cordons cellulaires à disposition radiale, qui produisent les corticoïdes principalement le cortisol et, à moindre degré, des androgènes (**Stevens et Low, 1997**);

**La zone réticulée**, occupant environ 15 % du cortex. Elle est composée de cordons cellulaires bordant la médullosurrénale qui produisent les hormones sexuelles surrénaliennes (Wheater *et al.*, 2004).

**En profondeur : la médullosurrénale** : elle est formée à partir d'un amas de tissus nerveux lorsque la moelle est stimulée par les neurones du système nerveux sympathique, ces cellules sécrètent l'adrénaline et la noradrénaline, ces deux hormones sont appelées catécholamines.

## 2. Biosynthèse des glucocorticoïdes :

La synthèse des glucocorticoïdes, comme les autres hormones stéroïdiennes, résulte de transformations enzymatiques successives de cholestérol. L'étape initiale consiste à une coupure de la chaîne latérale de cholestérol, réaction catalysée par le cytochrome P450<sub>sc</sub>. Cette étape dépend de l'activité d'une protéine, la **steroidogenic acute regulatory protein (StAR)** qui intervient dans le transport du cholestérol libre vers la mitochondrie. La synthèse de StAR est régulée par l'ACTH (Raux Demay, 2010). Le résultat de cette réaction est la production de prégnénolone, étape limitante à la biosynthèse des différents stéroïdes surrénaliens. La prégnénolone est transformée par la 17 $\alpha$ -hydroxylase (17 $\alpha$  H) ou P-450 C17 en 17  $\alpha$ -hydroxyprégnénolone (17 $\alpha$ -OH-Pgn) qui est transformée en 17 $\alpha$ -hydroxyprogestérone par la 3 $\beta$ HSD, après deux Hydroxylation, le cortisol est synthétisé ( Figure 1).

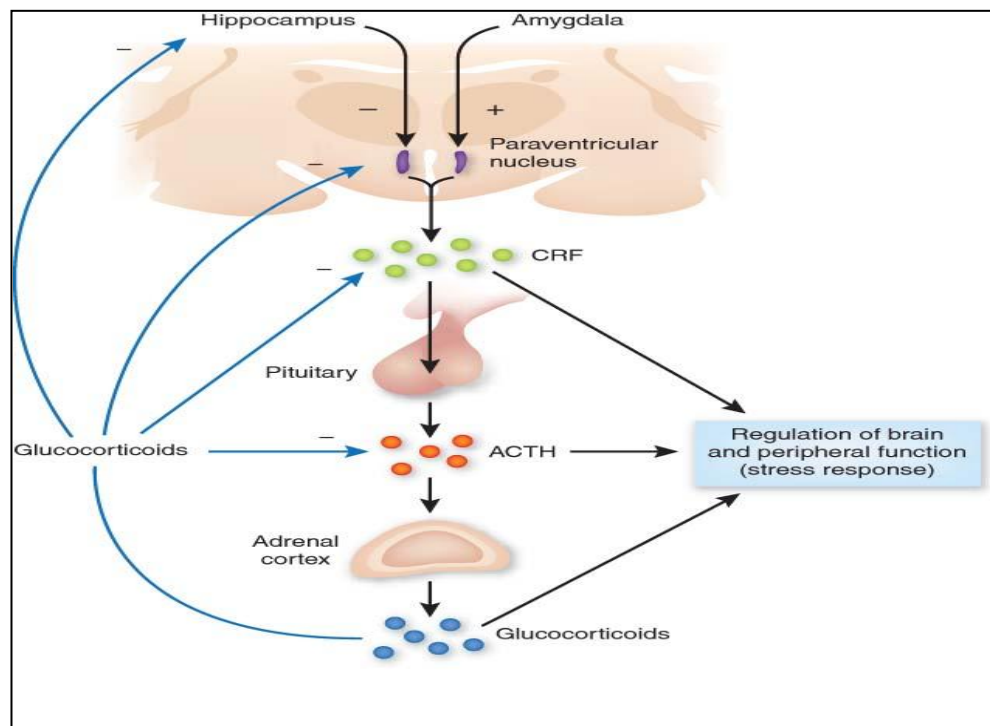


**Figure 1** : Mécanisme de régulation de la stéroïdogénèse par l'ACTH ( Lacroix *et al.*, 2001).

## II. Contrôle de la fonction glucocorticoïde de la corticosurrénale

### II.1 Axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien

L'axe hypothalamo-hypophysio-corticosurrénalien (HHC) est organisé selon **trois régions (Figure 2)**. L'**hypothalamus** via les noyaux paraventriculaires (PVN) (sont une cible privilégiée des NSC), libère la CRH (*Corticotropin-Releasing Hormone*) et l'AVP dans le système porte hypothalamo-hypophysaire. En réponse, l'**antéhypophyse**, deuxième région, va sécréter la corticotrophine (ACTH ou AdrenoCorticoTropin Hormone) dans la circulation générale. Enfin, la troisième région constituée par le cortex surrénalien ou **corticosurrénale** va répondre par une libération de glucocorticoïdes. Les glucocorticoïdes exerceraient un rétrocontrôle négatif à la fois sur la sécrétion de CRH et sur celle d'ACTH (Keller-Wood & Dallman, 1984, Herman, et al . ;2012 ). L'axe HHC est par ailleurs fortement activé dans des conditions de stress engendrant de forts taux plasmatiques de cortisol.



**figure 2** : Représentation schématique de l'axe HHC .(Lightman and Conway–Campbell, 2010).

## II 1.1 Rôle de l'ACTH :

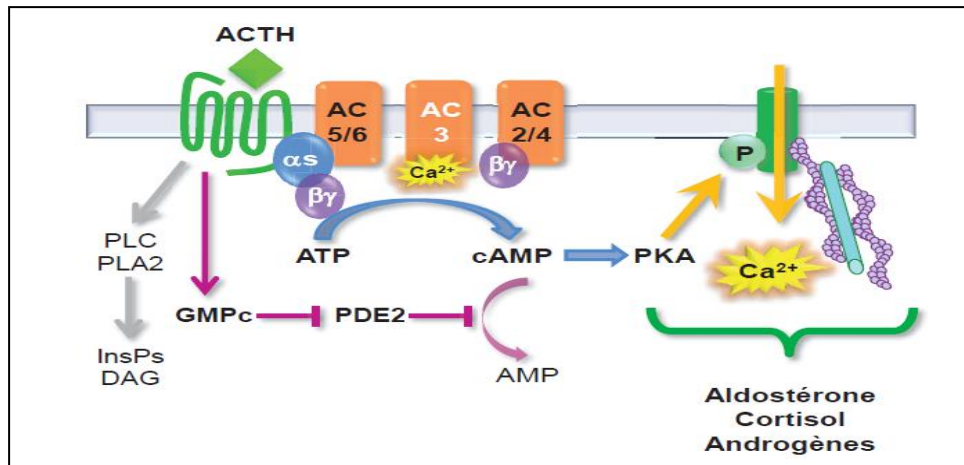
La corticotrophine (ACTH) hypophysaire est le principal régulateur de la synthèse et de la sécrétion du cortisol qu'elle stimule via sa liaison au récepteur MC2R (melanocortin 2 receptor). La sécrétion de l'ACTH est issue du clivage enzymatique d'un précurseur, la pro-opiomélanocortine (POMC). (**Grossman *et al.*, 1991**) et elle est stimulée par la corticotropin releasing hormone (CRH) et la vasopressine (**Oudet *et al.*, 2010**). L'effet de l'AVP semble être équivalent à celui de la CRH chez l'espèce bovine (**Schwartz et Vale, 1988**). Alors que chez l'espèce ovine, l'action de l'AVP sur la sécrétion d'ACTH est plus importante que celle de CRH (**Vant Pavert *et al.*, 1997**).

L'ACTH augmente la sécrétion de cortisol en activant la synthèse des enzymes impliquées dans la synthèse du cortisol ( $3\beta$ -HSD et  $11\beta$ -Hase), de leurs cofacteurs (telle l'adrénodoxine) et des récepteurs surrénaliens aux LDL.

## II. 1 .2 Signalisation intracellulaire de l'ACTH

L'action de l'ACTH a été bien démontré dans la régulation de la protéine STAR et de la P450<sub>scc</sub> (**Liu *et al.*, 1996**). Une des grandes énigmes de la signalisation de l'ACTH est le décalage entre la concentration de demi-effet maximal (EC<sub>50</sub>) pour la stimulation de la stéroïdogénèse (entre 10 et 50 pmol/l) et celle pour la production de l'AMPc est (voisin de 1 nmol/l) (**Gallo-Payet, 1993**), ce qui indique que l'ACTH utilise d'autres médiateurs intracellulaires que l'AMPc. En fait, une stimulation de la stéroïdogénèse par l'ACTH peut être observée dans des conditions où aucune production d'AMPc n'est détectable (**kojima *et al.*, 1985**). Le calcium semble être ce premier « second messenger » (**Kojima *et al.*, 1985, Fakunding *et al.*, 1979 ; *et al.*, 1979 ; Tremblay *et al.*, 1991**). Ce dernier intervient dans l'activation d'au moins trois protéines clés de la stéroïdogénèse : StAR, cytochrome P450<sub>scc</sub> et 3 $\beta$ -HSD (**Cherradi *et al.*, 1979**). Comme plusieurs cellules excitables, les cellules cortico-surréaliennes sont caractérisées par un potentiel de repos négatif (variant de -40 à -70 mV). La stimulation par l'ACTH induit une dépolarisation de la membrane créer par l'inhibition de canaux potassiques (**Paye *et al.*, 1997, Mlinar *et al.*, 1993**), mais aussi la phosphorylation PKA-dépendante des canaux calciques voltage-dépendants type T (cellules fasciculées) (**Mlinar *et al.*, 1993 , Barbara *et al.*, 1995**) , ou une action sur des canaux de de type L (dans les cellules glomérules)(**Durroux *et al.*, 1991, Gallo-Payet *et al.*, 1996**) et/ou de canaux chlore (**Chorvatova *et al.*, 2000 ; Enyeart, 2005**). Plus récemment, des études ont montré que l'ACTH induisait également la synthèse de ces canaux calciques et potassiques (**Enyeart *et al.*,**

2010 ; Liu *et al.*, 2010). Ceci dit, la réponse soutenue et intense de l'ACTH et s'explique par la mise en jeu de plusieurs isoformes d'adenylyl cyclases (Côté *et al.*, 2001), l'inhibition transitoire de la phosphodiesterase PDE2, l'intervention des sous-unités  $\beta\gamma$  des protéines  $G_i$ , la production de GMPc ainsi que l'activation de la phospholipase A2 et la production d'inositols phosphates (Gallo-Payet, 2003) (Figure 3).



**Figure 3 :** Principales voies de signalisation mises en jeu par l'action de l'ACTH sur les cellules corticosurréaliennes. Adapté de (Gallo-Payet *et al.*, 2001 et de Gallo-Payet et Payet, 2003)

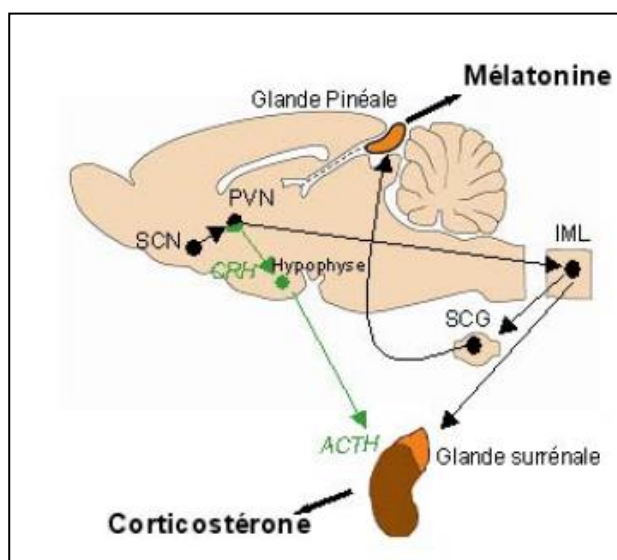
### II.3. Implication du système sympathique

L'amplitude du rythme d'ACTH observé ne permet pas de justifier à elle seule l'amplitude du rythme de cortisol plasmatique. Un autre acteur doit entrer en jeu pour permettre l'établissement du rythme de cortisol. Des expériences de lésion et de stimulation du nerf splanchnique ont montré que le système sympathique est le maillon manquant pour l'établissement de ce rythme dans des conditions physiologiques (Jasper et Engeland, 1994 ; 1997). Le système sympathique contrôle ainsi la sensibilité de la corticosurréale à l'ACTH (Kaneko *et al.*, 1981 ; Sage *et al.* ; 2002). Plusieurs hypothèses tentent d'expliquer ce contrôle de la sensibilité. Le contrôle du flux sanguin, au sein même de la glande, semble toutefois être l'hypothèse la plus probable dans la mesure où le nerf splanchnique contrôle directement le diamètre des vaisseaux sanguins dans la corticosurréale (Sage *et al.* ; 2002).

### III. Contrôle par les Noyaux Supra Chiasmatisques

Après lésion des NSC, la perte de la rythmicité de la sécrétion de cortisol montre que

l'horloge circadienne contrôle cette sécrétion endocrine (**Moore & Eichler, 1972 ; Buijs et al., 1993a**). Les deux systèmes décrits précédemment sont impliqués: l'axe HHC et le système sympathique. La lésion des NSC fait perdre la rythmicité de la sécrétion d'ACTH (**Szafarczyk et al., 1981**), ce qui s'explique par la lésion des projections des NSC *via* les neurones à CRH des PVN (**Buijs et al., 1993b**). Des traçages rétroviraux ont démontré l'existence d'une connexion entre la glande surrénale et les NSC, passant par le nerf splanchnique, l'IML et les PVN (**Buijs et al., 1999, Hensleigh et al., 2013**).



**Figure : 4** Représentation schématique des voies de contrôle des sécrétions de mélatonine et de corticostérone par les SCN

#### IV . Les rythmes biologiques de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien:

Les rythmes biologiques ont été observés chez l'Homme, dans le monde animal et végétal, à tous les niveaux d'organisation : écosystème, population, individus, systèmes d'organes, organes isolés, tissus, cellules et fractions subcellulaires (**Touitou et Haus, 1994**).

La sécrétion du CRH, de l'ACTH et du Cortisol se fait selon deux rythmes : circadien et saisonnier dont l'entraîneur naturel est généralement l'alternance jour /nuit mais aussi la photopériode saisonnière (**Woodley et al., 2003**), appelés aussi des synchroniseurs, capable de réguler les oscillateurs et la période des rythmes. Notons cependant que la suppression des synchroniseurs, comme cela a été fait dans les expériences d'isolement en grotte souterraine (**Siffre et al., 1966, Aschoff, 1981**), laisse persister les rythmes circadiens, mais avec généralement une



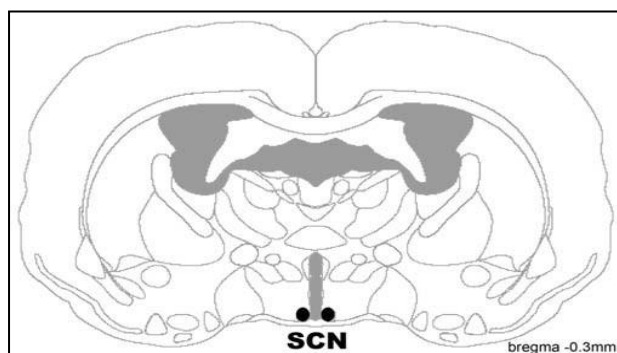
période naturelle allongée à 25 heures environ chez l'Homme sain (**Benoit *et al.*, 1988**).

Le rythme circadien est imposé par une horloge biologique interne, localisée dans les noyaux suprachiasmatiques de l'hypothalamus,

### V . L'horloge circadienne

Le concept d'**horloge circadienne maîtresse** s'est dès lors définitivement imposé. Les noyaux suprachiasmatiques (NSC) de l'hypothalamus, sont une petite structure paire localisée au-dessus du chiasma optique, de part et d'autre du troisième ventricule (fig.5) (**Morin et Wood ; 2001**).

Les NSC ont été décrits comme une structure capable de **générer** des rythmes endogènes d'une période d'environ 24h, de les adapter à l'action de facteurs **synchronisants** et de les **distribuer** à l'organisme. Depuis la fin des années 1990, les données expérimentales s'accumulent démontrant que l'horloge circadienne est capable d'adapter son fonctionnement à la photopériode. Les NSC paraissent ainsi être une horloge pour toutes les saisons (**Sumova *et al.*, 1995b ; Pevet *et al.*, 1996**)



**Figure 5 :** Coupe frontale de cerveau de hamster doré au niveau des noyaux suprachiasmatiques (NSC).

**Adapté de Morin et Wood, 2001.**

### VI . Construction endogène de la rythmicité circadienne

Les oscillations circadiennes sont d'origine moléculaire, elles proviennent de l'alternance entre activation et répression de la transcription d'une partie du génome par différentes protéines. Ces protéines autorégulées de manière rythmique sont codées par de nombreux gènes dits gènes horloges. Depuis la découverte du premier gène horloge (***Clock***) chez les mammifères (**Vitaterna *et al.*, 1994**), des recherches massives ont conduit à la caractérisation d'un modèle complexe

permettant d'expliquer la genèse des oscillations de l'horloge. La complexification du modèle évolue encore à grande vitesse avec la caractérisation de nombreux éléments régulateurs (**Ko et Takahashi, 2006**).

### **VI.1 . Détermination génétique**

Jusqu'à ce jour, onze gènes horloges impliqués dans la machinerie moléculaire des oscillations circadiennes ont été identifiés : *Per1*, *Per2*, *Per3*, *Cry1*, *Cry2*, *Dec1*, *Dec2*, *Rev-erba*, *Rora*, *Clock* et *Bmal1* (**Li et al . ;2013**).

#### **VI .1 -1.Gènes horloge principaux :**

##### **Clock et Bmal1**

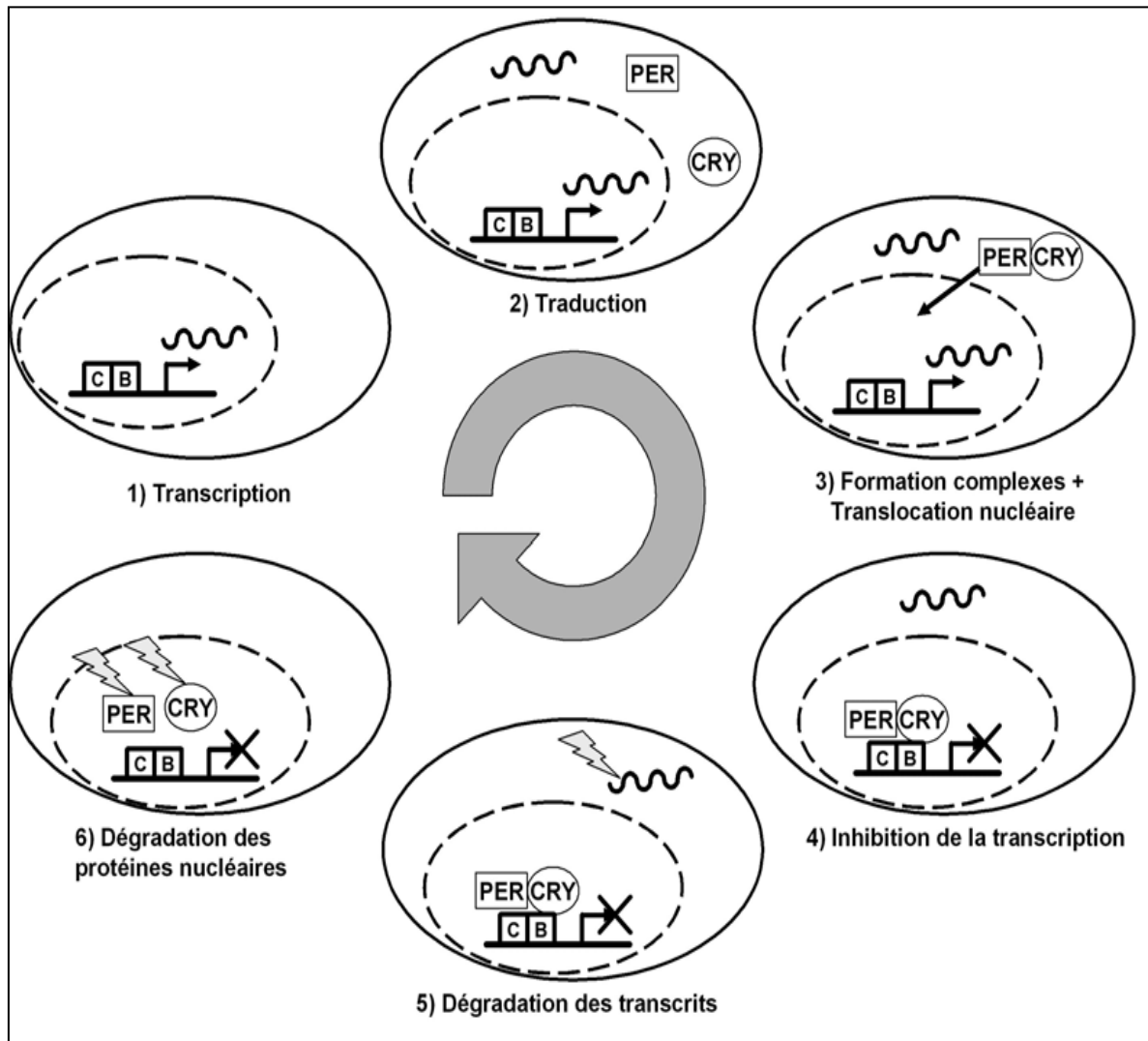
L'activation des gènes horloge est assurée par les produits d'expression des gènes horloge *Clock* (localisée sur le Chromosome 5), et *Bmal1*(localisée sur le Chromosome 7). *Clock* est exprimé de façon constante dans les NSC, que l'on considère son ARNm (**Sun et al., 1997 ; Tei et al., 1997 ; Shearman et al., 1997 ; Oishi et al., 2000**) ou sa protéine (**Maywood et al ;2003**). Quant à *Bmal1*, il est exprimé rythmiquement, **l'expression de son ARNm est maximale durant la nuit**, ce qui induit un pic de la protéine BMAL1 en fin de nuit (**Honma et al., 1998 ; Tamaru et al., 2000 ; Maywood et al., 2003**).

Les gènes *Clock* et *Bmal1* sont indubitablement impliqués dans **l'activation de la transcription des gènes horloge, première étape de la genèse des oscillations dont Per et Cry.**

##### **Per et Cry**

Trois gènes *Per*(le gène *Per 2* localisée sur le Chromosome 1) (**Shearman et al., 1997; Sun et al., 1997; Zylka et al., 1998**) et deux gènes *Cry* ( les gènes *Cyr 1* et *2* sont localisée sur le Chromosome 12, et 11 )(**Miyamoto et Sancar, 1998**) ont été décrits chez les mammifères.

**La présence conjuguée de *Per* et *Cry* est indispensable** à l'établissement de la rythmicité circadienne. Du fait, c'est en formant des hétérodimères que les protéines PER et CRY vont engendrer la deuxième étape de la construction des oscillations : la répression de la transcription induite par CLOCK-BMAL1.



**Figure 6 :** Principales étapes biochimiques de la construction des oscillations circadiennes. C : protéine CLOCK ; B : protéine BMAL1 ; PER : protéine PER ; CRY : protéine CRY.

(Modifié d'après **Johnston, 2005**)

### VI.1-2 Gènes horloges secondaires

L'expression rythmique de *Bmal1* est modulée par les produits d'expression d'autres gènes horloge, les gènes **Rev-erb** ( $\alpha$  et  $\beta$ ) et **Ror** ( $\alpha$  et  $\beta$ ) (**Guillaumond et al., 2005**).

L'expression de ces gènes dans les NSC est rythmique (**Preitner et al., 2002; Sumi et al., 2002; Ueda et al., 2002; Guillaumond et al., 2005**) soumise à l'action alternée de CLOCK-BMAL1 et PER- CRY. La protéine **REV-ERB**  $\alpha$  est capable d'inhiber la transcription de *Bmal1* (**Guillaumond et al., 2005**). Au contraire, **ROR** aurait un rôle activateur sur l'expression de *Bmal1* (**Steinmayr et al., 1998; Sato et al., 2004**). Il semblerait que c'est l'action inhibitrice

de REV-ERB qui imprime une rythmicité à l'expression de *Bmal1*, alors que ROR modulerait plutôt l'amplitude du rythme (Liu *et al.*, 2008). Cependant, REV-ERB et ROR ne sont pas indispensables à la genèse de la rythmicité circadienne dans les NSC (Liu *et al.*, 2008). (figure7).

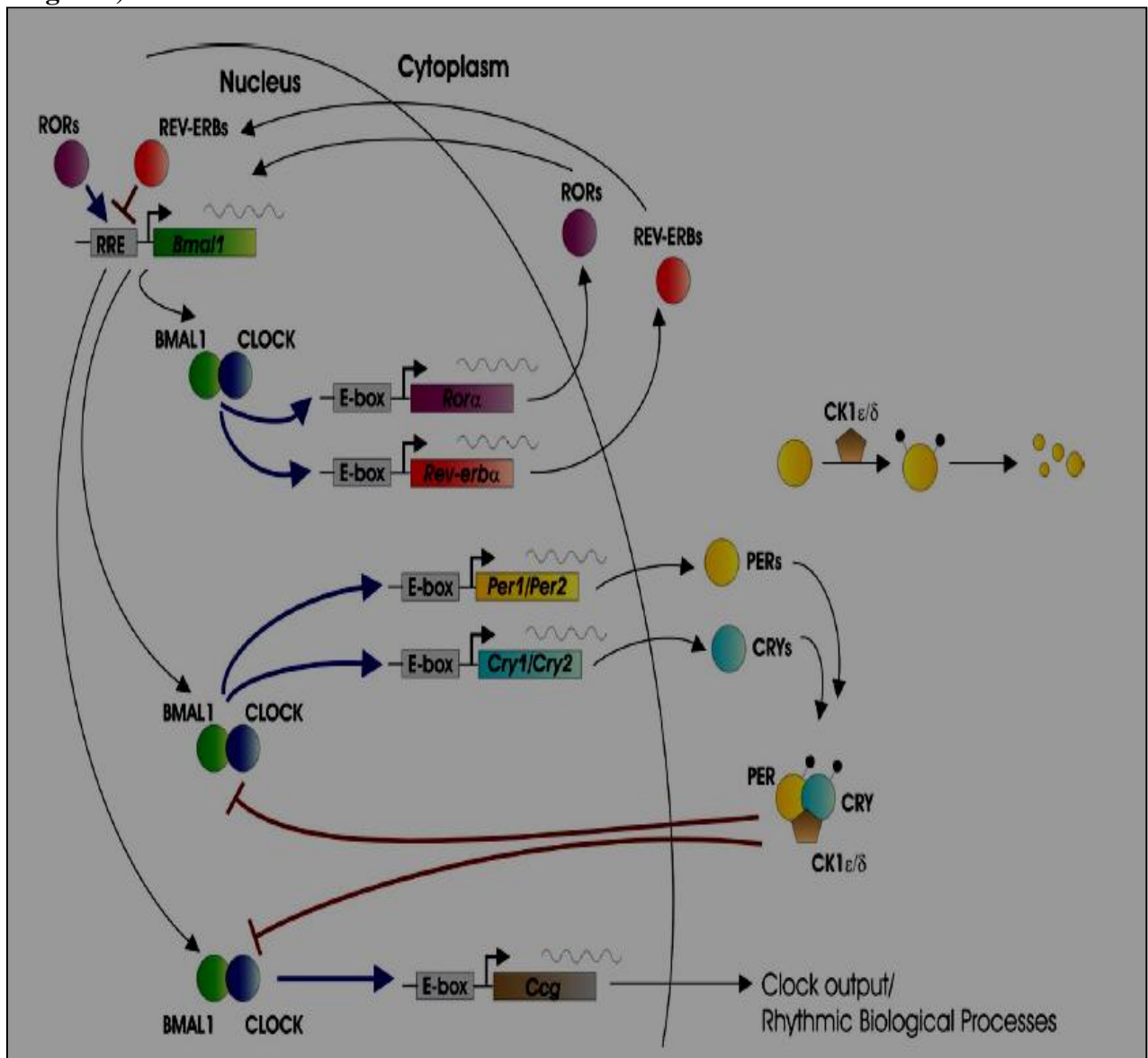


Figure 7 : The complex, interlocked autoregulatory transcription-translation feedback loops that produce a circadian period (Boden and Kennaway, 2006).

## VI . 2.La régulation transcriptionnelles

Les produits de ces gènes horloge (*Per1*, *Per2*, *Per3*, *Cry1*, *Cry2*, *Dec1*, *Dec2*, *Rev-erba*, *Rora*, *Clock* et *Bmal1*), interagissent et forment quatre boucles de régulations transcriptionnelles :

deux boucles positives et deux boucles négatives.

**La première boucle positive** est essentielle, car elle entraîne les autres boucles. Elle implique *Clock* et *Bmal1*. CLOCK et BMAL1 sont de la famille des protéines bHLH-PAS, elles possèdent, en effet, le domaine PAS (Period ARNt Sim) permettant la dimérisation (homo ou hétéro) entre protéines possédant ce domaine et le domaine bHLH (basic Helix Loop Helix) qui permet la fixation de ces protéines sur des séquences promotrices E-box (CACGTG) et de transactiver la transcription d'un certain nombre de gènes, incluant d'autres gènes horloge acteurs des autres boucles (Antoch *et al.*, 1997 ; Hogenesch *et al.*, 1997 ; 1998 ; Reppert & Weaver, 2002).

**La première boucle négative** implique les gènes *Period (Per)*, *Cryptochrome (Cry)* et *Dec* (human protein Differentially Expressed in Chondrocytes).

Les PER présentent un domaine PAS mais pas de domaine bHLH. Les ARNm des trois isoformes de *Per (Per1, Per2, Per3)* sont exprimés rythmiquement dans les NSC (Sun *et al.*, 1997), avec un niveau élevé le jour. Ainsi, les quantités de protéines PER présentent un pic dans les NSC en fin de jour (Hastings *et al.*, 1999 ; Field *et al.*, 2000).

Dans les NSC, les ARNm de *Cry1* et de *Cry2* sont exprimés de façon rythmique avec un pic à la transition jour/nuit (Miyamoto & Sancar, 1998 ; Kume *et al.*, 1999 ; Okamura *et al.*, 1999). La quantité de CRY1 et de CRY2 présente un pic en début de nuit (Kume *et al.*, 1999).

Les gènes *Dec (Dec1 et Dec2)* codent pour DEC1 et DEC2 qui possèdent un domaine bHLH mais pas de domaine PAS. Ils sont exprimés rythmiquement dans les NSC avec un pic d'expression en début de jour (Honma *et al.*, 2002).

La transcription de ces sept gènes (*Per1, Per2, Per3, Cry1, Cry2, Dec1 et Dec2*) est activée par la fixation du dimère CLOCK-BMAL1 sur leurs E-box. Les PER et les CRY forment des homodimères et des hétérodimères en fin de nuit qui inhibent leur propre transcription ainsi que celle de *Bmal1*, de *Rev-erba* et de *Rora* en se fixant au dimère CLOCK- BMAL1 (Kume *et al.*, 1999 ; Griffin *et al.*, 1999 ; Shearman *et al.*, 2000). Les DEC inhibent l'effet du dimère CLOCK-BMAL1 d'une part, par compétition sur leurs sites de fixation (Honma *et al.*, 2002) et, d'autre part, par liaison à la séquence N-terminale de BMAL1 qui empêche le recrutement de la machinerie transcriptionnelle.

**La deuxième boucle négative** implique *Rev-erba*, gène codant un récepteur nucléaire

orphelin. Dans les NSC, sa transcription est activée par le dimère CLOCK-BMAL1 et présente un pic en début de jour. REV-ERB $\alpha$ , inhibe la transcription de *Bmal1* (Preitner *et al.*, 2002).

**La deuxième boucle positive** mise en évidence récemment est composée des *Rora* (*Rora1* et *Rora4*), gènes de la famille des récepteurs nucléaires orphelins. Leur transcription activée par le dimère CLOCK-BMAL1 présente un pic en milieu de jour (Sato *et al.*, 2004). Les ROR $\alpha$ , stimulent la transcription de *Bmal1* (Ueda *et al.*, 2002 ; Sato *et al.*, 2004 ).

**Les quatre boucles de régulations transcriptionnelles vont entraîner l'expression rythmique de nombreux autres gènes** (Panda *et al.*, 2002). Les mécanismes impliqués dans le contrôle de l'expression des gènes régulés par l'horloge demeurent encore largement méconnus. Toutefois, le dimère CLOCK-BMAL1, a été proposé comme candidat pour contrôler l'expression rythmique d'autres gènes (Jin *et al.*, 1999). Un de ces gènes parfaitement caractérisé est l'*Ayp* dont l'expression est rythmique et dépend de la liaison du dimère CLOCK-BMAL1 sur l'E-box présente dans son promoteur (Jin *et al.*, 1999).

Pour réguler précisément la période d'oscillation de ces boucles, **les protéines horloges vont subir de nombreuses modifications post-traductionnelles**. En particulier la phosphorylation du dimère CLOCK-BMAL1 est importante, aussi bien pour sa translocation dans le noyau (Lee *et al.*, 2001) que pour son activité transcriptionnelle (Eide *et al.*, 2002 ; Sanada *et al.*, 2002).

PER1 et PER2, elles aussi sont phosphorylées, modifiant certainement l'inhibition du complexe PER-CRY sur leur propre transcription ainsi que sur celle de *Rev-erba* ou de *Rora*.

Une des kinases semble très importante dans cette boucle, c'est la Caseïne Kinase I $\epsilon$  (CKI $\epsilon$ ), elle phosphoryle les PER, les CRY et BMAL1 (Lowrey *et al.*, 2000). Par ailleurs l'état de phosphorylation des protéines horloges semble également jouer un rôle dans le contrôle de la dégradation de ces protéines par le protéasome (Akashi *et al.*, 2002 ; Yagita *et al.*, 2002) (Figure 8.9).

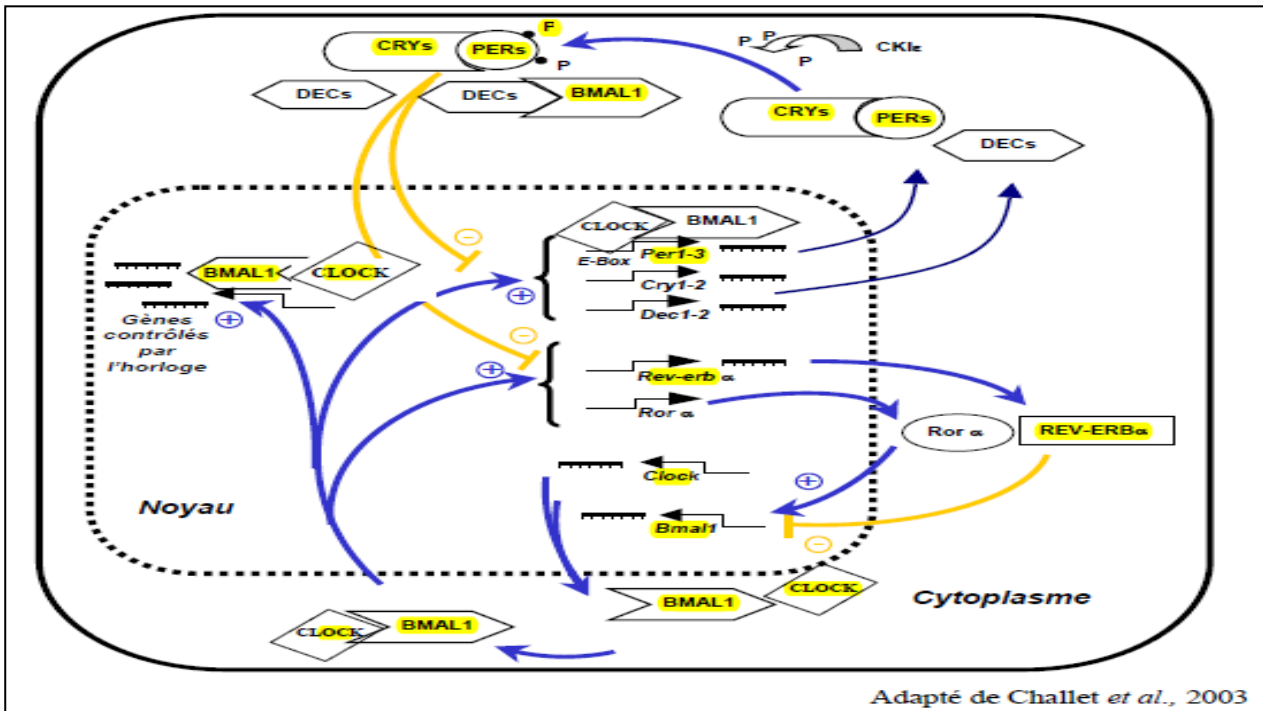


Figure .8. Boucle autorégulée de transcription-traduction des gènes horloge. (challet et al 2003).

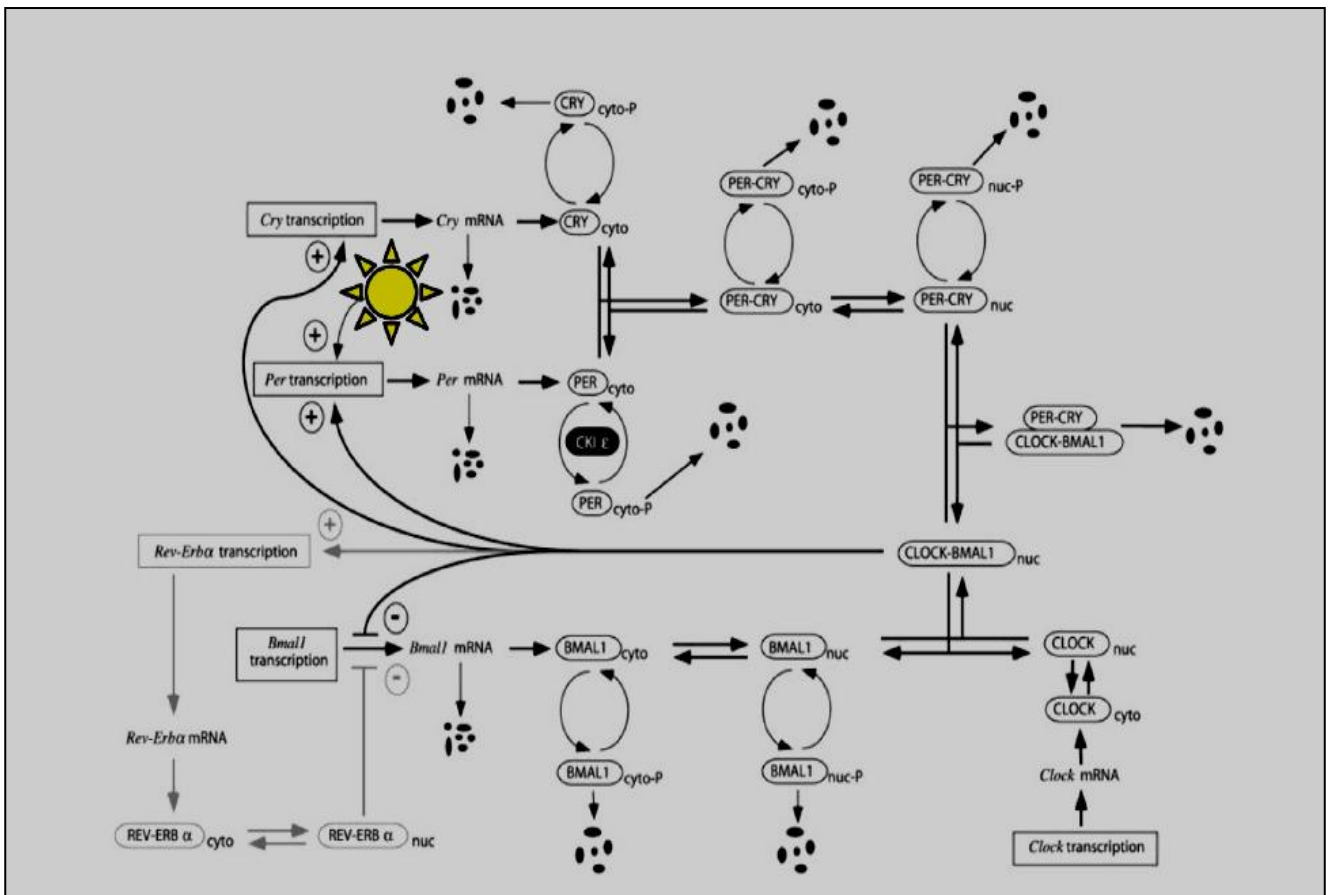


Figure 9 : Réseau contrôlant le rythme circadien des mammifères (Leloup et Goldbeter . ;2003)

Le présent travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Recherche sur les Zones Arides (LRZA), de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB). . Nous nous sommes intéressé à étudier la fonction corticosurrénalienne des béliers de races Ouled Djellal et D'Man adultes élevés dans la région d'EL-Méniaa en fonction de deux synchroniseurs importants : le cycle jour/nuit et la photopériode saisonnière. Pour cela nous avons réalisés 4 techniques :

1. Etude histologique de la surrénale portant sur la structure topographique utilisant trois colorations : Hémalum-éosine (HE) ; Azan Modifié (AZM) et Trichrome de Masson (TM).

2. Etude morpho métrique de la surrénale comportant :

- les mesures des épaisseurs du cortex surrénalien et de la zone fasciculée.
- les mesures de la surface cellulaire , noyau et des rapports nucléo- cytoplasmique de la ZF.

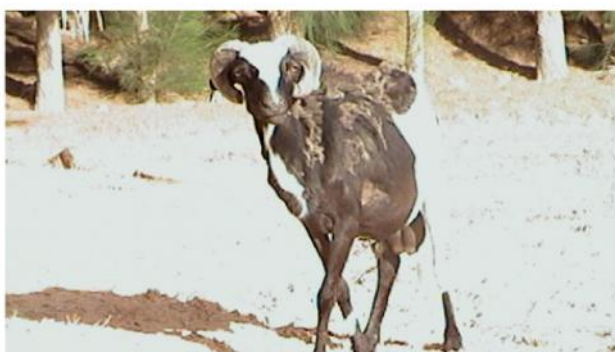
3. Mesure de l'activité glucocorticoïde de la corticosurrénale par le dosage plasmatique du cortisol utilisant la technique radio-immunologique.

4. L'expression des gènes contrôlant directement la production et la rythmicité des glucocorticoïdes au niveau surrénalien utilisant la q PCR (Syber Green).

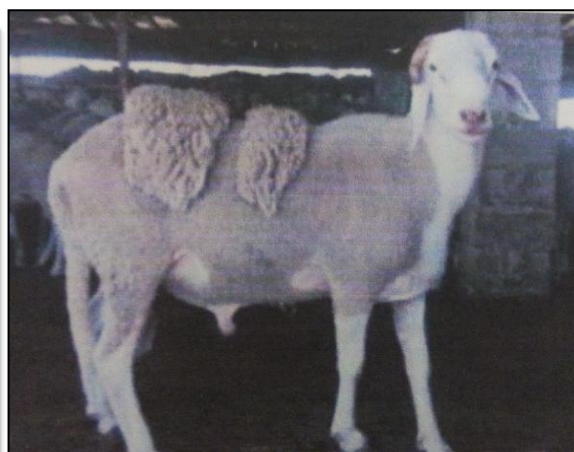
### I. Matériel biologique :

#### 1. le mouton :

Dans cette étude le choix du modèle a porté sur l'ovine, plus précisément sur les races D'man (**fig10**) et Ouled Djellal (**fig11**), dont la principale caractéristique est l'excellente résistance et l'adaptation aux conditions difficiles du milieu de steppe .



**Figure 10 : photographie représentant le Bilier D'Man à laine : couleur noire gardé en stabulation dans la station de recherche d'El Meniâa.**



**Figure 11: Belier Ouled Djellal (Ferrouk, 2008)**



Les ovins sont des animaux grégaire par excellence , ce caractère permet de constituer de troupeaux de plusieurs certaine des têtes .

Le mouton domestique semble dériver du mouton sauvage asiatique (Mouflon ).ils sont présents dans la zone saharienne depuis l'holocène (**Leberre ,1990**).

## **2. les ovins en Algérie :**

L'élevage du mouton est ancré dans la tradition algérienne (**chelling ,1992**) il joue un rôle économique social et rituel important dans notre pays(**Pierre , 2006**) et constitue toujours l'unique revenu de la population (**Mouloud J et Telli 2007**).

Le cheptel ovin se chiffre à environ 18 millions de têtes (**ministère d'agriculture ,2009**) en majorité concentré dans la zone des hautes plaines steppiques du sud Algérien (**Boukaboul ;2006**).

Il existe trois races principales et quatre races secondaires d'ovin en Algérie :

- Les races principales :

- **Arabe blanche (Ouled Djellal) .**

- Hamra (Béni-Ighil).

- Rumbi

- Les races secondaires :

- Berberes

- Barbearine

- **D'man**

- Targuia-Sidaou.

**Le tableau I** récapitule les principales caractéristiques de chaque race ovine en Algérie (Chellig ;1992)(annexes A).

### 3. Les caractéristiques de production chez la race D'man et la race Ouled Djellal :

Les variations de production entre la race Ouled Djellal et D'man sont présentées dans le tableau suivant :

**Tableau II :** les production chez la race D'man et la race Ouled Djellal.

<b>Production</b>	<b>D'man</b>	<b>Ouled Djellal</b>
<b>Production laitière :</b>	La brebis D'man a bonne aptitude de traite ,la production est de 70à80 kg pendant la période de lactation. Le lait est réservé aux agneaux étant donné leur nombre presque toujours en double ou triple à chaque portée.	La brebis Ouled Djellal se laisse traire facilement .La traite se fait surtout pendant le printemps ; la production est de 70 à80 kg en 6mois de lactations. Le lait de la traite sert pour la consommation familiale .
<b>Production De Viande :</b>		
Poids moyen de l'agneau à la naissance.	2.5 kg (1.8 kg pour les doubles et triples).	3.5 kg
Poids moyen au sevrage	15 kg à l'âge de 4 mois.	30 kg à l'âge de 4 mois .
Poids moyen de l'abattage	34 kg	45 à 48 kg
Qualité de viande :	Relativement médiocre, dure et difficile à mastiquer	Bonne, gout apprécié ,gigot long et plat
<b>Production de laine :</b>	Le poids moyen de la toison est de 0.5 kg avec une finesse moyenne de la mèche =32 $\mu$ , la laine est utilisée en artisanat le plus souvent .	Le poids moyen de la toison est de2.5 kg chez le bélier et 1.5 chez la brebis avec une finesse de la mèche =23 $\mu$

**Chellige ;1992**

#### 4 . Les caractéristiques de reproduction chez la race D'man et Ouled Djellal :

La reproduction présente des caractéristiques spécifiques à chaque race comme illustré dans le tableau ci-dessous :

**Tableau III** : La reproduction ovine (la race D'man et Ouled Djellal )

<b>Reproduction :</b>	<b>D'man</b>	<b>Ouled Djellal</b>
<b>Age du premier œstrus</b>	Agnelle pubère à 7 mois	Agnelle pubère 8 à 10 mois
<b>Saisonnalité de l'œstrus</b>	Toute l'année	Deux saisons : Avril-juillet et Octobre-novembre
<b>Mise Bas</b>	Les portées de 2 étant la moyenne , 3 étant fréquente , 4 n'étant pas exceptionnelles , alors que 5 à 6 agneaux sont rares	1 <sup>ière</sup> mise bas à 24 mois , Les portées de 1 agneau en moyenne
<b>Intervalle entre 2 agnelages</b>	6 mois et 10 jours	11-12 mois

(Barki ,1974 ; Bouix et Kadiri ,1975 ; Harouni 1977, Hadj-redjem, 1977 ; Arbouche , 1978 ; Elfakir et al ;1979 ; Boutgayourt , 1980 ; Lahlou et Marie , 1985 ; Chellig ,1992 ; Benmessaoud ,1992 ;feliachi ,2003)

#### 5. avenir de la race D'man :

La race D'man est une race rustique, supporte très bien les conditions sahariennes, elle présente une prolificité élevée par rapport aux autres races de mouton , la brebis peut avoir jusqu'à 5 agneaux en une seule portée (**chellig ; 1992**)

La race est destinée à augmenter, par croisement, la prolificité des races à viande (Ouled Djellal) elle est comparable sur le plan de prolificité aux races Chio et Romanov (**Chellig 1992**).



## 7 . Systématique des ovins

La classification systématique est la suivante :

- Embranchement : Vertèbres
- Classe : **Mammifères**
- **Super ordre** : **Ongulés**
- **Ordre** : **Artiodactyles**
- **Famille** : **Bovidae**
- **Genre** : **Ovis**
- **Espèce** : **Ovis aries (Linnaeus., 1758)**

$$O_i + O_C + 3P + 3m$$

Formule dentaire : -----

$$3i + 1c + 3p + 3m$$

♦ **Noms usuels :**

**Fr** : Mouton ; **An** : Domestic sheep ; **Ar** : كبش (LeBerre., 1990).

## II. Biotope :

### 1. Situation géographique :

Les béliers proviennent de la région d'El Méniâa (située 30° 34 Latitude Nord 02° 52 Longitude Est, Altitude 397m, Surface est 49 000 Km<sup>2</sup>, wilaya de GHARDAIA). A l'ouest de cette grande palmeraie, le Grand Erg Occidental contourné par une multitude d'oasis qui forme une boucle. A l'est, le Grand Erg Oriental (**PETTER, 1961**).

Les béliers Ouled Djellal caractérisés par un poids moyen de 48 Kg, sont maintenus en stabulation, isolés des femelles et soumis aux conditions climatiques naturelles. Ils se nourrissent de fourrage et reçoivent en période d'hiver du complément à base d'orge et foin.

## 2. Végétation :

Le couvert végétal est pauvre, la structure et la nature du sol ne sont pas favorables à l'existence d'une flore naturelle riche, la verdure est plutôt créée par l'Homme, cependant la région n'est pas dépourvue de végétation naturelle ; elle est concentrée dans les lits d'oueds (Berkat *et al.*, 2008)

## 3 . Condition climatique :

Le climat est de type aride avec des vents dominants de Nord et Nord-est, ceux venant de l'Est et du Sud-est, sont les plus dangereux car ils transportent des sables. Les périodes ventées sont novembre, décembre et mars. Les amplitudes entre les températures diurne et nocturne sont importantes, elles varient de 1 à 25°C en hiver et de 18 à 48°C en été (Chellig, 1992).

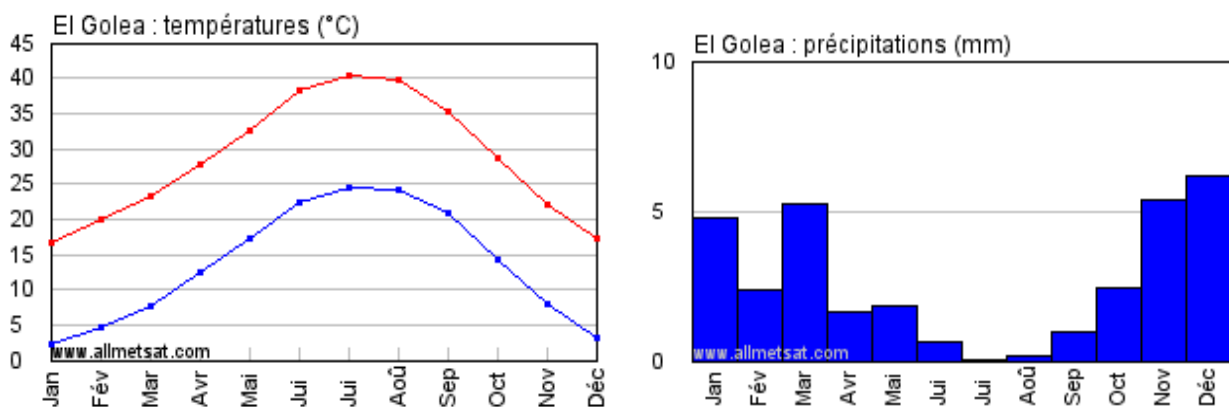


Figure 14 : Moyenne mensuelle des températures (°c) et des précipitations (mm) minimales et maximales quotidiennes

### **III. . Méthodes :**

#### **1. Technique histologique :**

##### **III..1.1. Prélèvement des organes**

Le prélèvement des glandes surréaliennes, a été effectué sur un lot de 56 béliers adultes de races D'Man et Ouled Djellal au cours des 5 saisons : équinoxes d'automne et du printemps, solstices d'été et d'hiver à raison de deux sacrifices par jour ; le premier en pleine phase claire (12h) et le deuxième en pleine phase sombre (00h)

Juste après le sacrifice, les glande surrénales sont prélevées, débarrassées de leurs tissus adipeux sur un lit de glace puis pesées et coupées en fragments.

Les fragments destinés à l'étude histologique, sont fixés immédiatement dans le fixateur Bouin-Holland.

##### **Principe :**

La confection de coupes histologiques permet l'observation des tissus au microscope photonique après une coloration spécifique. Elles comportent plusieurs étapes, rapportées essentiellement dans **MARTOJA (1967) et GABE (1968)**.

##### **III .1.2.La fixation :**

Cette étape a pour but d'immobiliser les structures en respectant dans la mesure du possible leur morphologie, de les conserver et permettre la confection de préparation permanente (**Gabe, 1968**). L'agent fixateur solidifie le gel protéique qui circule entre les mailles du réseau membranaire limitant le hyaloplasme et les organites.

Les organes sont plongés dans un volume (environ 60 fois supérieur à celui de l'organe) de Bouin-Hollande (annexe A :fiche technique n° 1), pendant 48h. Après fixation, les organes subissent un lavage à l'eau courante renouvelée plusieurs fois, puis transférés dans un liquide conservateur (alcool 70°) jusqu'à l'étape suivante. Chaque pièce est accompagnée d'une étiquette portant toutes les indications utiles (crayon sur fiche cartonnée).

### **III .1.3.Inclusion dans la paraffine :**

L'ensemble du processus d'inclusion comporte quatre étapes :

#### *A. Déshydratation :*

La pièce est trempée successivement dans l'alcool à 70°, l'alcool à 96° et enfin dans l'alcool absolu en respectant les temps (Annexe A :fiche technique n° 2).

#### *B. Eclaircissement :*

Il permet l'élimination complète des traces d'alcool et l'imprégnation par le butanol, solvant de la paraffine. La durée du premier bain est de 24 heures, le second bain est de durée illimitée.

#### *C. Pénétration des pièces par la paraffine :*

Le but de cette étape est d'obtenir une imprégnation aussi complète que possible des pièces par la paraffine. La pièce est passée successivement dans 3 bains de paraffine à la température de fusion de la paraffine (56 à 58°C) : le premier bain est formé d'un mélange de butanol et de la paraffine (v/v), d'une durée de 1 heure et deux autres de paraffine pure, le premier d'une durée de 4 heures et le deuxième d'une durée de 24 heures.

#### *D. Confection des blocs de paraffine :*

Dans cette étape, ont été utilisés des moules de métal (tissus-TEK111) et des cassettes en plastique sur lesquelles sont inscrites les indications de la pièce traitée. La paraffine fondue est versée dans les moules légèrement préchauffés à 45°C. La pièce à inclure est orientée et disposée dans la paraffine; on dépose ensuite la cassette correspondante, sur le moule. Le bloc est refroidi rapidement dans un bain de glace. Environ 5 min plus tard, le bloc à complètement durci. Détaché du moule, il est prêt à être débité au microtome selon l'épaisseur désirée.

##### *D.1. Confection des coupes :*

Après installation du bloc sur le microtome, le rabotage commence en ajustant l'échelle à 20 µm. Lorsque la pièce apparaît dans le plan de coupe, on ramène l'échelle à 5 µm pour obtenir des coupes fines sous forme de rubans.( figure 15).





**Figure 15** : Confection des coupes par le microtome (photo originale)

#### III.1.4.Étalement des coupes :

Chaque coupe est déposée sur une lame couverte d'eau gélatinée ou d'eau bidistillée et placée sur une plaque chauffante chauffée à 41°C pour permettre un bon étalement. Les indications de l'organe sont inscrites sur une étiquette collée à la périphérie de la lame.( figure 16).



**Figure 16** : Etalement des coupes sur plaque chauffante (photo originale)

### **III.1.5.La coloration :**

Le but de la coloration est de rendre plus évidents les différents constituants cellulaires et tissulaires. Ceci est obtenu à l'aide de trois colorations topographiques à l'Hémalun-éosine, l'Azan modifié et Trichrome de Masson.

Avant toute coloration, les coupes doivent être débarrassées de la paraffine et réhydratées. Le xylène est utilisé pour le déparaffinage (2 bains de 5 min). Le passage pendant 5 min dans les alcools de degré décroissant (absolu, 96° et 70°) permet la réhydratation.

L'Hémalun-éosine (Annexe A : fiche technique n°3) colore les noyaux en bleu noir et le cytoplasme acidophile en rose ; cette coloration a été utilisée à la fois pour l'étude morphométrique et la prise de photographies.

Le Trichrome de Masson (Annexe A : fiche technique n°4) 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.

L'Azan modifié (Annexe A : fiche technique n°5) colore les noyaux et certains cytoplasmes en rouge d'autres cytoplasmes en jaune ou gris. Le collagène est bleu. Les sécrétions peuvent être de différentes couleurs selon leur nature ; cette coloration a servi pour les prises de photographies.

### **III.1.6.Le montage :**

Une fois colorées, les lames doivent passer dans des bains d'alcool de concentration croissante de façon à éliminer l'eau restante dans les coupes (70°, 96°, 100°) et enfin dans 3 bains de xylène.

Le montage est l'opération qui consiste à fixer, à l'aide d'une substance appropriée (Eukit) au colorant utilisé, tout de suite une lamelle en verre est déposée sur l'échantillon histologique.

Les lames sont ensuite séchées à l'aire libre, nettoyées au xylène et enfin observées au microscope photonique (Zeiss).

### **III.2. Etude morphométrique :**

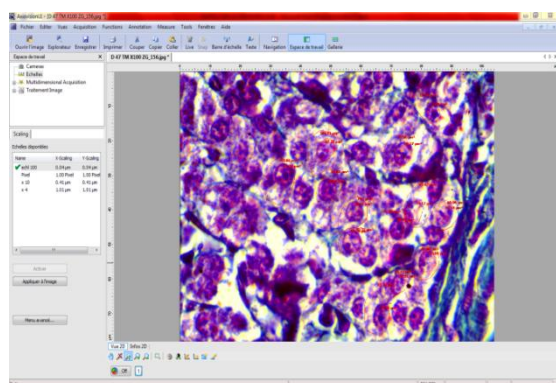
Les mesures ont été réalisées sur les coupes histologiques des glandes surrénales

appartenant aux deux races ovines étudiées, aussi bien pour les épaisseurs tissulaires que les hauteurs cellulaires des différentes zones de la corticosurrénale (zones glomérulée, fasciculée et réticulée), à l'aide d'un logiciel d'analyse et de traitement d'images « Axio vision 4.6.3 ». Concernant les épaisseurs tissulaires, les mesures sont faites sur dix coupes de surrénale en balayant toute la périphérie du cortex, tandis que les mesures cellulaires et nucléaires ont été réalisées sur 100 cellules randomisées au niveau de chaque zone du cortex surrénal.

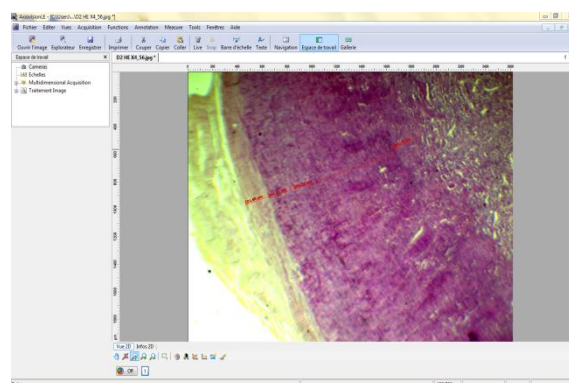
Les variations du volume nucléaire peuvent s'apprécier également par rapport à la taille de la cellule par l'évaluation du rapport nucléocytoplasmique qui correspond au rapport du volume nucléaire / (volume cellulaire – volume nucléaire) (**Hertwig, 1903**). Plus une cellule est différenciée, plus son noyau est petit par rapport au cytoplasme et donc plus le rapport nucléo-cytoplasmique est faible

**Rapport nucléo-cytoplasmique est calculé de la façon suivante :**

$$\text{Rapport nucléo-cytoplasmique} = \frac{S \text{ .noyau}}{S \text{ .cytoplasme} - S \text{ noyau}}$$



a)



b)

Figure17 : Mesures des surfaces cellulaires et nucléaires (a) et des épaisseurs tissulaires (b) à l'aide du logiciel Axio Vision.

Les photographies figurant dans ce mémoire ont été prises à l'aide d'un appareil photos numérique (KODAK) fixé sur microscope

### **III.3.Le dosage du cortisol plasmatique par la technique radioimmunologique**

#### **(RIA) :**

La deuxième partie de ce travail, porte sur le dosage plasmatique en cortisol (évalués par la technique radio immunologique), chez les béliers de races D'Man et Ouled Djellal élevés dans la région d'El Meniaa. Pour tous ces animaux, les prélèvements sanguins sont réalisés (un jour avant le sacrifice des béliers), chaque 15 à 30 minute pendant 25 heures aux équinoxes d'automne et du printemps et aux solstices d'hiver et d'été. Cependant les dosages sont réalisés sur les prélèvements de chaque 6 heures (à : 7h, 13h, 19h, 1h) durant le nyctémère de chaque saison.

A chaque prélèvement, on recueille par ponction au niveau de la veine jugulaire environ 5 ml de sang dans sur un vacutainer hépariné ; après centrifugation à 3000 tours/mn, les plasmas sont recueillis dans des tubes en plastique, aliquotés en fraction de 2ml environs et immédiatement congelés à -20 °C, puis ramenés à Alger dans de l'azote liquide.

#### **Principe :**

C'est une technique dans laquelle des molécules marquées (Ag\*) et non marquées (Ag) d'une même espèce entrent en compétition vis-à-vis d'un nombre limité de sites de liaison appartenant à un réactif spécifique (Ac).

Les échantillons à doser sont incubés dans des tubes recouverts d'anticorps monoclonal avec un traceur cortisol marqué à l'iode 125. Après incubation, le contenu du tube est vidé par aspiration, puis la radioactivité liée est mesurée. Une courbe d'étalonnage est établie. Les valeurs inconnues sont déterminées par interpolation à l'aide de cette courbe

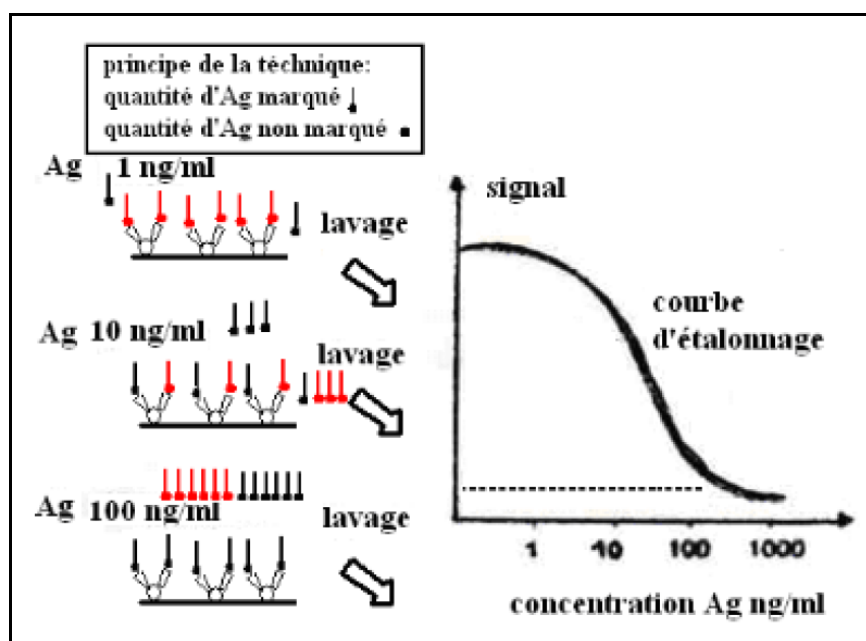


Figure 18 : Principe du dosage RIA

### Mode opératoire :

#### 1. Réactifs : (annexe A)

#### 2. Matériel nécessaire :

- Micropipettes de précision (50  $\mu$ l)
- Pipette semi-automatique de (500  $\mu$ l).
- Agitateur à mouvement de va et vient horizontal ou à plateau oscillant.
- Système d'aspiration
- Mélangeur de type Vortex.
- Compteur gamma réglé pour la mesure de l'Iode 125.

#### 3. Protocole :

Tous les réactifs doivent être équilibrés à la température du laboratoire avant leur utilisation. La distribution des réactifs dans les tubes revêtus s'effectue également à température ambiante. Le dosage nécessite les groupes de tubes suivants :

- Groupe Cpm T : pour la détermination de l'activité totale,
- Groupes Calibrateurs : pour l'établissement de la courbe d'étalonnage,
- Groupe Témoin pour le contrôle,
- Groupes Sx (plasma) : pour les échantillons à doser.

#### 4. Mesure du cortisol dans le plasma:

- a. **Distribuer** 50 µl de calibrateur, de contrôle ou d'échantillons dans les tubes revêtus correspondants.
- b. **Ajouter** 500 µl de 125I-cortisol dans tous les tubes, y compris les tubes T.
- c. **Mélanger** le contenu de chaque tube avec un appareil de type vortex.
- d. **Recouvrir** les tubes avec la parafilm.
- e. **Incuber** : 1heure à 18 -25°C avec agitation (≥400 rpm).
- f. **Éliminer** le surnageant par aspiration. Sauf les deux tubes (T).
- g. **Ajouter** 1 ml d'eau distillée (sauf les tubes T) et agiter les tubes manuellement.
- h. **Éliminer** la solution par aspiration (sauf les tubes T).
- i. **Mesurer** la radioactivité liée aux tubes revêtus à l'aide d'un compteur gamma calibré pour l'Iode 125.

#### 5. Résultats :

Pour chaque groupe de tubes faire la moyenne des comptages.

- Calculer les B/Bo% =  $\frac{\text{moyenne des cpm (échantillon)}}{\text{moyenne des cpm (CALO)}} \times 100$
- Construire la courbe d'étalonnage en exprimant les B/Bo des calibrateurs en fonction de leur concentration.
- Lire les valeurs des échantillons à partir de la courbe d'étalonnage.
- La conversion de nmol/l en ng/ml peut être calculée en utilisant la formule suivante :  
Cortisol (ng/ml) = Cortisol (nmol/l) x 0,3625.

**Tableau IV :** Mode opératoire du dosage du cortisol plasmatique par RIA

	Calibrateur contrôle	et Plasma (Sx)	Tubes (totaux) (T)
1. Répartition : Dans des tubes recouverts d'anticorps, distribué :			
➤ Les calibrateurs, contrôle	50µl	-	-
➤ Le plasma	-	50µl	-
➤ Traceur	500µl	500µl	500µl
Agiter à l'aide d'un vortex			
2. Incubation : 1heure à 18-25°C avec agitation ( $\geq 400$ rpm)			
3. Comptage : calculer les B/Bo%			

### 5. Caractéristiques du dosage :

**Sensibilité analytique :** 5nM

#### A. Spécificité

L'anticorps utilisé dans ce dosage est hautement spécifique du cortisol. Des réactivités croisées extrêmement basses ont été obtenues vis de nombreux stéroïdes naturels (Aldostérone, corticostérone, cortisone ,11-desoxycortisol, progestérone,etc...)

#### B. Précision

##### ➤ Intra-essai

Des échantillons ont été dosés 10resp.25fois dans une même série. Les coefficients de variation obtenus étaient inférieurs ou égales à 5.8% pour les sérums.

##### ➤ Inter-essais

Des échantillons ont été dosés en doublet dans 17 resp. 10 séries différentes .Les coefficients de variation obtenus étaient inférieures ou égales à 9.2% pour les sérums.

### **C .Exactitude**

#### ➤ **Epreuve de dilutions**

Des échantillons de concentration élevée ont été dilués dans le calibrateur zéro de la trousses. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 86% et 115% pour les sérums.

#### ➤ **Epreuve de surcharge**

Des quantités connus de cortisol ont été ajoutées à des sérums humains. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 95% et 113% pour les sérums.

**D. Plage de mesure** (de la sensibilité analytique au calibrateur le plus élevé) : 5 à environ 2000nM.

### **III. 4. La Q PCR (Syber Green) :**

#### **4.1 Prélèvement des organes**

Le prélèvement des glandes surrénaliennes a été effectué sur un lot de 7 béliers adultes, appartenant aux deux races D'Man et Ouled Djellal, au cours de l'équinoxe d'automne à raison de deux sacrifices par jour ; le premier en pleine phase claire (12h) et le deuxième en pleine phase sombre (00h).

Juste après le sacrifice, les glandes surrénales sont prélevées, débarrassées de leurs tissus adipeux sur un lit de glace puis pesées et coupées en fragments et immédiatement mis dans de l'azote liquide et transportés à Alger et enfin placés au congélateur à  $-80^{\circ}\text{C}$ .

#### **4.2 .Extraction d'ARN**

Les corticosurrénales congelées sont séparées des médullosurrénales par dissection puis :

- Couper en petits fragments de 40 mg dans de la carboglace,
- Broyer le tissu dans un homogénéisateur de Potter
- Ajouter 355  $\mu\text{l}$  de RA1  $\beta$ mercaptoethanol continuer à pottériser entre 2000 à 3000 t/min jusqu'à ce que la solution soit limpide.
- Mesurer la concentration d'ARN par spectrophotomètre Nanodrop (Eppendorf).

L'extraction de l'ARN se fait par le kit de Macherey Nagel.



**Tableau V :1RT avec l'AMMLV**

MMLV	NG/ $\mu$ L	$\mu$ L ARN	$\mu$ L H2O
OJ24	122	4	1
OJ29	138.5	3.6	1.4
OJ31	189.9	2.6	2.4
D43	116.4	4.3	0.7
D44	110.3	4.5	0.5
D45	59.8	5	/
D64	34.5	5	/

**Mix 1 :**

Randon primer 0.9  $\mu$ L

Dntp 15.4 $\mu$ l

H2O 91.37 $\mu$ l

ARN 5 $\mu$ l (100ng/ $\mu$ l)  $\rightarrow$ 500ng+7 $\mu$ l de mix, laisser 5 min à 65°C puis dans la glace.

**Mix 2:**

Buffer 5x 61.6 $\mu$ l

DTT 30.8 $\mu$ L

RNase out 15.4 $\mu$ L

MMLV 15.4  $\mu$ l

5 min à 25°C

1heure à 37°C

5 min à 70°C

Répartir les extraits des sept béliers dans la plaque QPCR, on rajoutant les primer spécifiques pour les gènes étudiés (Bmal, Clock, Per2, Reverb, 3 $\beta$ hsd et Star) de plus le gène de référence (GAPDH).

Référence du kit pour extraction d'ARN : nucleic acid and protein purification

Ref 740955.50

Nucleo spin RNA II

Made in germany

#### **4. 3.La PCR quantitative (SYBER Green)**

L'utilisation de cette technique permet de quantifier le niveau de transcription de gènes cibles, ce qui présente un rôle majeure dans la régulation interne des systèmes endocriniens. La quantification relative avec la transcription inverse (Reverse Transcription, RT) suivie d'une q PCR est devenue une méthode de choix pour mesurer le niveau d'expression de gènes d'intérêt. La quantification relative consiste à comparer des échantillons inconnus à des échantillons de référence pour mettre en évidence des augmentations ou des diminutions du nombre de transcrits. On peut ainsi estimer l'expression relative d'un gène cible entre différents échantillons biologiques, différentes conditions expérimentales, ou différents états physiologiques.

Sensible, spécifique et reproductible la QPCR permet de détecter les faibles variations de l'expression des gènes

##### **Principe :**

La PCR est une technique utilisée pour la détection de l'ADN et de l'ARN. À partir d'une simple copie d'une séquence particulière d'acides nucléiques, cette séquence peut être spécifiquement amplifiée et détectée. Sa nature exponentielle rend cette technique attrayante pour des analyses quantitatives.

La PCR est une suite de cycles, qui se répètent en boucle, comportant chacun trois paliers de température, chacun de ces paliers est caractérisé par une réaction chimique distincte. C'est une réaction d'amplification artificielle in vitro à partir d'amorces. La structure des amorces délimite la longueur de la séquence à amplifier. La réaction se produit grâce à un petit appareil qui est capable de changer vite de température.

Chaque cycle est donc constitué de trois périodes différentes :

##### 1-Dénaturation :

- ⊙ La température dans le tube est réglée à 95°C. A ce moment là, l'ADN se dénature.
- ⊙ En effet, l'ADN perd sa structure caractéristique en double hélice, les liaisons hydrogène reliant les bases de chaque brin d'ADN étant instables à cette température. L'ADN double-brin (2 brins) est dénaturé en ADN simple brin (1 brin).

### 2-Hybridation:

- ⊙ la température descend à une température dite d'hybridation. qui permet la fixation des amorces à l'ADN simple brin sans permettre la reformation d'une double hélice entre les brins matrice
- ⊙ Cette dernière est généralement comprise entre 40°C et 60°C et elle est fonction de la composition en désoxyribonucléotides (dATP, dTTP, dGTP, et dCTP) des amorces.
- ⊙ Les amorces reconnaissent et se fixent à leurs séquences complémentaires en reformant des liaisons hydrogène.
- ⊙ On dit que les amorces s'hybrident au brin d'ADN.

### 3- Elongation

- ⊙ Cette étape se déroule à une température qui assure une activité optimale de l'ADN polymérase.
- ⊙ L'ADN polymérase, guidée par les amorces, copie la séquence cible en utilisant l'ADN simple brin comme matrice.

Un total de 20 à 40 cycles est mené à bien, en fonction de l'abondance initiale de la séquence cible.

- Pour le SYBR Green I, son émission fluorescente augmente lorsque qu'il est lié à l'ADN double brin. Pour être utilisés dans une réaction de PCR en temps réel, cet agent doit rencontrer deux exigences :

Augmenter en fluorescence lorsqu'il est lié à l'ADN double brin et ne pas inhiber la réaction de PCR. Le SYBR Green I, dont le mécanisme de liaison n'est pas bien défini, est l'agent le plus fréquemment utilisé. Ses avantages sont qu'il est économique, facile à utiliser et est très sensible sans inhiber la réaction d'amplification.

Lors de la réaction d'amplification par PCR, le colorant libre en solution exhibe peu de fluorescence. Durant l'étape d'élongation, une augmentation de la fluorescence est associée à la quantité de colorant se fixant à l'ADN double brin naissant. Lorsque on fait le suivi en temps réel, l'augmentation du signal de fluorescence est observée pendant l'étape de polymérisation et l'émission fluorescente décroît complètement lorsque l'ADN est dénaturé à

l'étape suivante. Conséquemment, l'émission de fluorescence est mesurée à la fin de chaque étape d'élongation pour chacun des cycles par un système de lecture intégré à l'appareil de PCR en temps réel qui permet de suivre l'augmentation de la quantité d'ADN amplifié durant la réaction (**Bustin, 2000**) (figure 19). La technologie basée sur le SYBR Green I ne nécessite aucune sonde fluorescente mais sa spécificité repose entièrement sur ses amorces (**Bustin, 2000**). Elle ne requiert donc aucune expertise particulière pour le design des sondes fluorescentes et n'est pas affectée par des mutations dans l'ADN cible qui influencent l'hybridation des sondes spécifiques (**Mackay et al, 2002**).

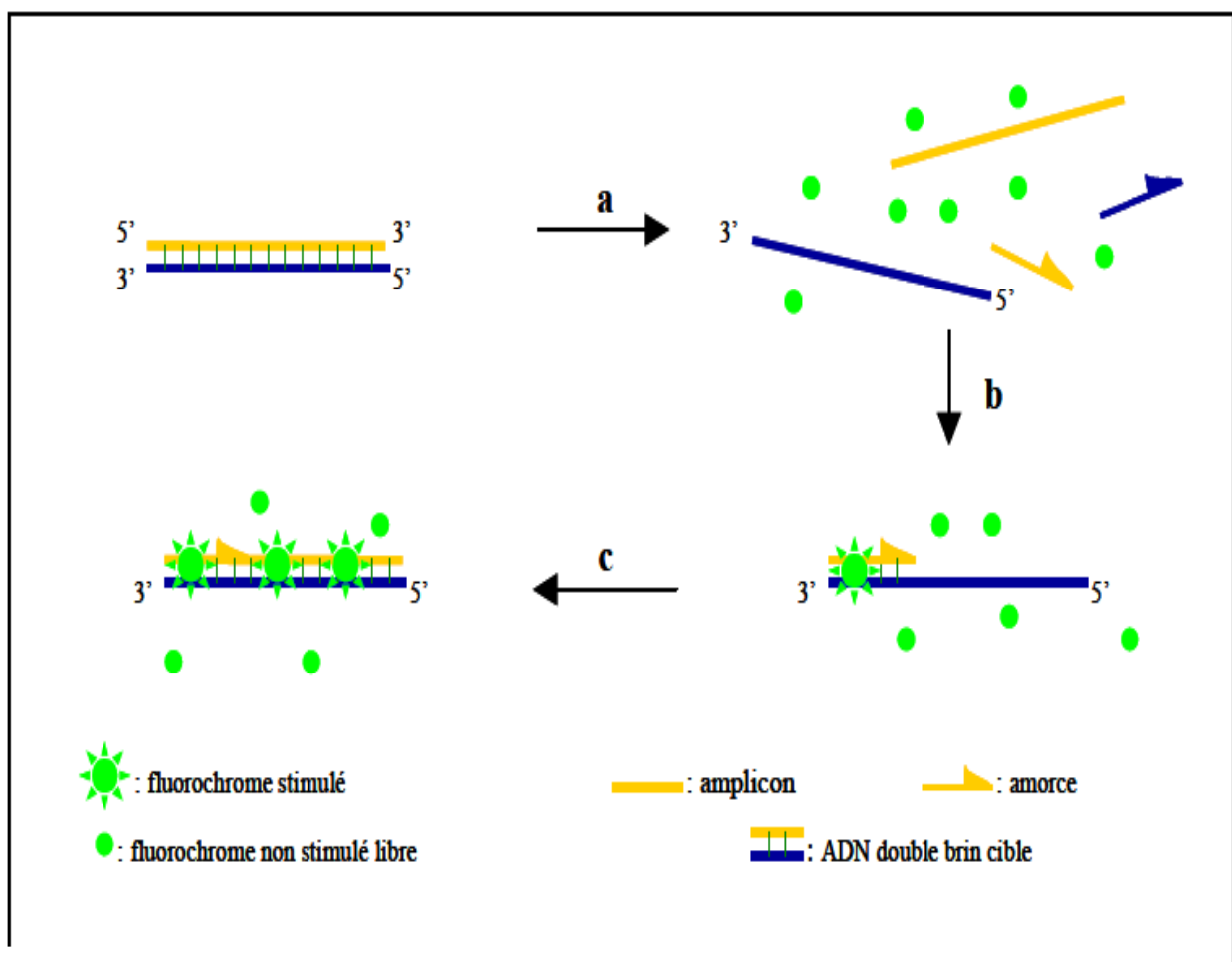


Figure : 19 :

Agents se liant à l'ADN double brin (Double-stranded DNA binding dyes: Lightcycler assay). (a) Durant la dénaturation, le SYBR Green I libre exhibe peu de fluorescence. (b) À la température d'appariement, quelques molécules se lient au double brin d'ADN naissant résultant en une émission de fluorescence lors de l'excitation. (c) Durant la phase de polymérisation, de plus en plus de molécules se lient au brin naissant et l'accroissement de la fluorescence peut-être suivi en temps réel.

**IV. Analyse statistique :**

Les résultats obtenus sont présentés sous forme de moyennes  $\pm$  ESM ; une analyse de variance par Excel 2010 puis un test "t" de Student par Statistica 2008 a été effectué pour la comparaison.

- **Moyenne arithmétique ( $\bar{x}$ ) des valeurs individuelles**

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

$\sum x_i$  : Somme des valeurs individuelles  
 $n$  : Nombre de valeurs

- **Erreur Standard à la Moyenne (ESM)**

$$ESM = \frac{\delta}{\sqrt{n}} \quad \text{avec} \quad \delta = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$\delta$  : écart type

$x_i$  : Valeurs individuelles

- **Coefficient de corrélation**

$$r = \frac{p}{\delta x \delta y} \quad p = \frac{1}{n} \sum x_i y_i - \bar{x} \bar{y}$$

$$(\delta x)^2 = \frac{1}{n} \sum (x_i - \bar{x})^2 \quad (\delta y)^2 = \frac{1}{n} \sum (y_i - \bar{y})^2$$

$x_i$  et  $y_i$  : Valeurs individuelles comparées

$\bar{x}$  et  $\bar{y}$  : moyenne des valeurs individuelles comparées

- Validité statistique

La signification statistique des différences est évaluée par le test " t " de Fisher-Student.

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}} \quad S^2 = \frac{\sum (x_1 - \bar{x}_1)^2 + (x_2 - \bar{x}_2)^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

La différence entre deux moyennes comparées est statistiquement significative si la probabilité "p", lue en fonction du nombre de degrés de liberté

(*d.d.l* =  $n_1 + n_2 - 2$ ) est égale ou inférieure à 5%.

Si  $p > 0,05$  : la différence n'est pas significative.

Si  $0,01 < p < 0,05$  : elle est significative.

Si  $0,001 < p < 0,01$  : elle est très significative.

Si  $p < 0,001$  : elle est hautement significative.

↳ Pourcentage des zones du cortex :

L'épaisseur du cortex ( $\mu\text{m}$ )  $\longrightarrow$  100%

L'épaisseur de la zone ( $\mu\text{m}$ )  $\longrightarrow$  X%

$$X\% = \frac{\text{épaisseur de la zone } (\mu\text{m}) \times 100}{\text{épaisseur du cortex } (\mu\text{m})}$$

Les résultats rapportés dans ce travail, concernant les effets du nyctémère et de la saison sur la corticosurrénale, chez deux races de béliers adultes : D'Man et Ouled Djellal élevés dans la région d'El Meniâa sont présentés comme suit :

1- les mesures morphométriques de la surrénale, en insistant sur le cortex et la zone fasciculée ainsi que les mesures de la surface cellulaire (C) et nucléaire (N) de la ZF, ce qui nous a permis par la suite de calculer le rapport nucléo-cytoplasmique (N/C).

2- la concentration du cortisol plasmatique ; d'abords les variations nyctémérales ensuite les variations saisonnières.

3- l'étude de l'expression des gènes horloge et des gènes des enzymes clés de la biosynthèse du cortisol au niveau de la corticosurrénale.

- Ces résultats nous ont permis de rechercher d'éventuelles différences morphologiques du cortex surrénalien, de l'activité glucocorticoïde ainsi que l'expression des gènes contrôlant directement la sécrétion et la rythmicité du cortisol en fonction des facteurs externes de l'environnement : le cycle jour/nuit et la photopériode saisonnière.

- Nous avons essayé aussi d'établir des interrelations entre : la structure, l'activité et l'expression des gènes de la corticosurrénale.

- Et enfin, nous avons réalisé une comparaison de l'étude corticosurrénalienne chez les deux races ovines D'Man et Ouled Djellal.

**A- La race D'Man****I . Les variations histo-morphométriques de la corticosurrénale en fonction du cycle lumière/obscurité**

Dans cette partie, notre objectif s'est posé sur la recherche d'éventuelles variations histo-morphométrique de la corticosurrénale entre la phase claire et la phase sombre et entre les saisons de prélèvements.

L'étude histologique révèle une organisation structurale typique de la glande surrénale ; formée par l'association de deux tissus glandulaire : le cortex, limité par une capsule fibrocollagène et une médullaire centrale.

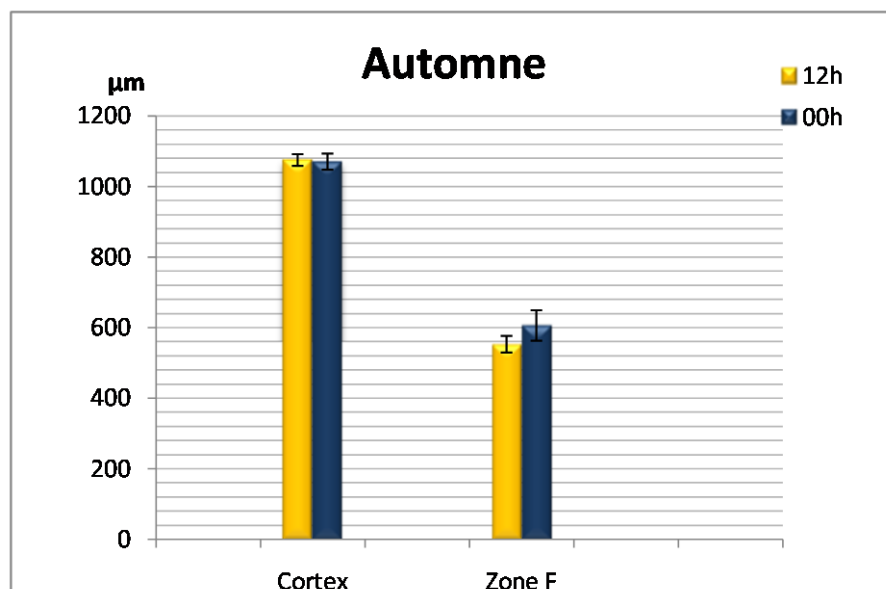
Le cortex surrénalien, est subdivisé en trois zones : la zone glomérulée qui constitue une mince zone sous capsulaire, suivie d'une large couche de cellules fasciculaires disposées en cordon rectilignes orientés vers le centre de la glande, perpendiculaire à la capsule conjonctive et enfin la zone réticulée dont les cellules sont agencées en petits amas anastomosés qui se terminent par du tissu conjonctif la séparant de la médullosurrénale.

**1.1. L'équinoxe d'automne**

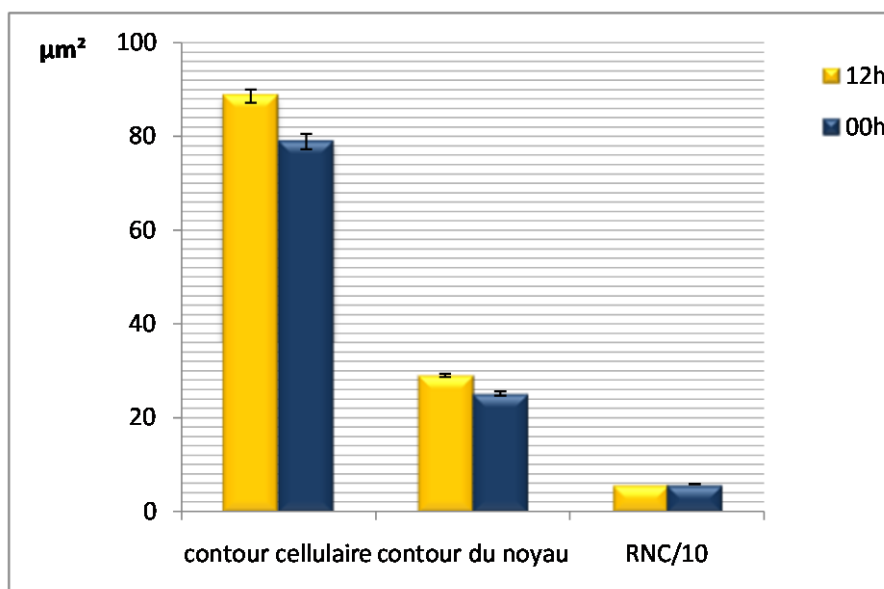
Durant cette équinoxe, l'épaisseur du cortex ne varie pas entre phases claire et sombre (respectivement  $1075.67\mu\text{m}\pm 16.82$  et  $1075.92\mu\text{m}\pm 22.31$ ).

Par contre, on observe une augmentation (0.44%) significative ( $p=0.03$ ) de la ZF à la phase sombre (figure 20). Et une diminution hautement significative ( $p<0.001$ ) des surfaces cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée (figure 21) (Annexes B1 Tableau 6,7, 8,9,27).





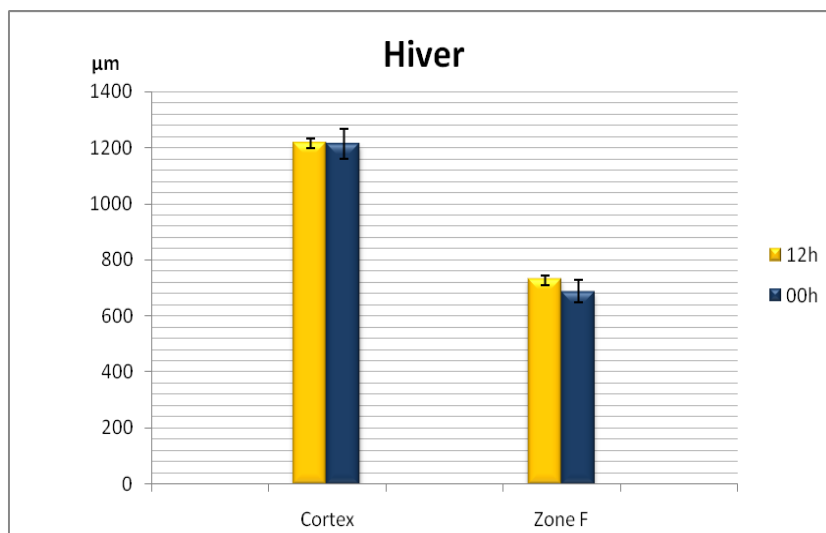
**Figure 20:** la hauteur du cortex et de la ZF en phases claire et sombre de l'équinoxe d'automne chez le bélier de race D'Man élevé dans la région d'EL Meniaa.



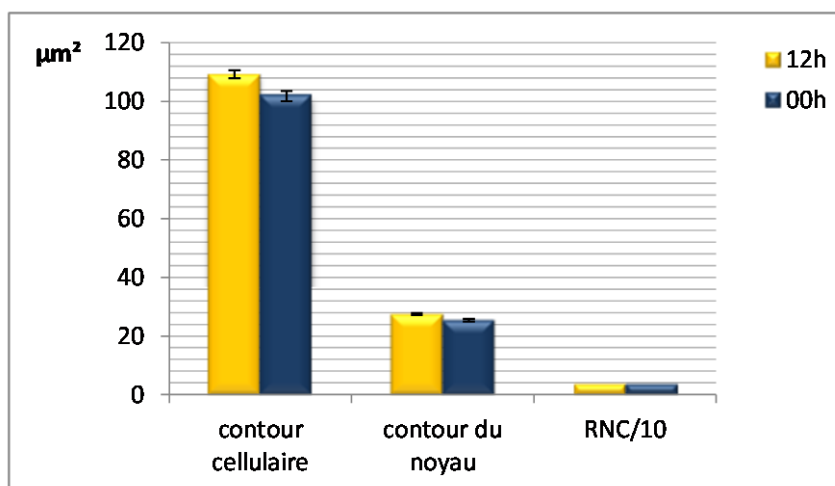
**Figure 21:** les variations des surfaces cellulaire et nucléaire de la ZF et le rapport N/C en phases claire et sombre de l'équinoxe d'automne chez le bélier de la race D'Man élevé dans la région d'El Meniaa

### 1.2 Le solstice d'hiver

Comme pour la saison d'automne, l'épaisseur du cortex à la saison d'hiver ne présente pas de variation apparente. En effet, l'épaisseur du cortex surrénalien ne montre pas de différence entre les deux phases claire et sombre, même chose pour la ZF qui présente approximativement la même épaisseur que celle observée à la phase claire (figure 22)( Annexes B1 :tableau 10,11 ). Par contre, les surfaces cellulaires et nucléaires de la zone fasciculée ont subi une diminution hautement significative ( $p < 0.001$ ) par rapport à ceux de la phase claire (figure 23) (Annexes B1 :tableau12,13 ;28).



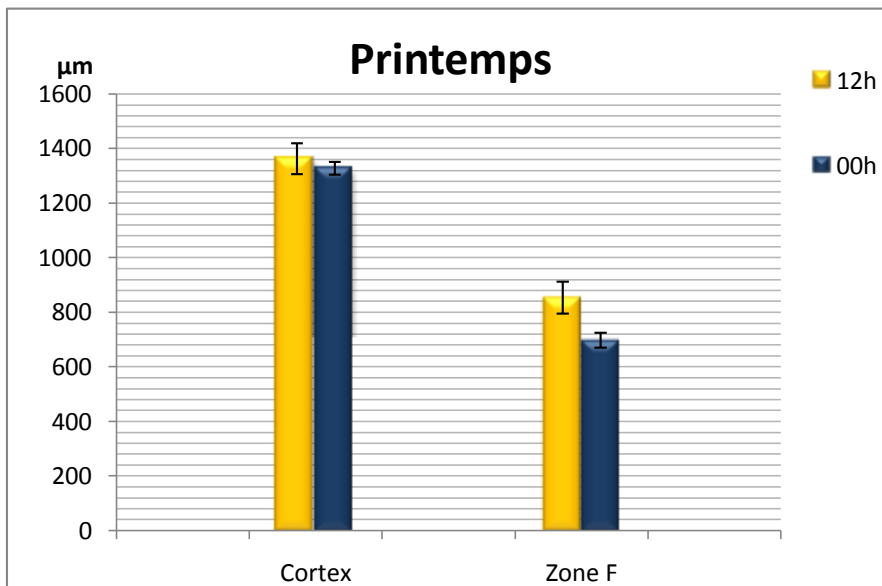
**Figure 22:** la hauteur du cortex et de la ZF en phases claire et sombre au solstice d'hiver chez le bélier de race D'Man élevé dans la région d'EL Meniaa.



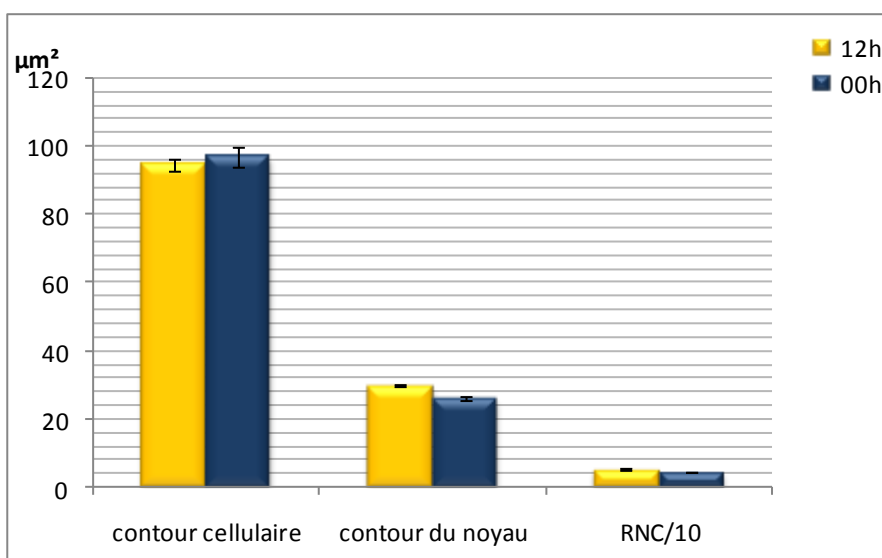
**Figure 23:** les variations des surfaces cellulaire et nucléaire de la ZF et le rapport N/C en phases claire et sombre au solstice d'hiver chez le bélier de la race D'Man élevé dans la région d'El Meniaa .

### 1.3 L'équinoxe du printemps

L'épaisseur du cortex se trouve légèrement diminuée durant la phase sombre, cette variation est due à la diminution de l'épaisseur de la zone fasciculée (qui passe de  $853.354\mu\text{m} \pm 2.792$  en phase claire à  $697.42\mu\text{m} \pm 26.47$  en phase sombre) quoique cette différence est non significative ( $p < 0.62$ ) (figure 24) (Annexes B1 : tableau 14,15 ;29). Par contre la surface nucléaire ( $29.85\mu\text{m}^2 \pm 0.37$ ) diminue significativement ( $p < 0.001$ ) en phase sombre ( $26.25\mu\text{m}^2 \pm 0.49$ ) (figure 25) (Annexes B1 : tableau 16,17).



**Figure 24:** la hauteur du cortex et de la ZF en phases claire et sombre de l'équinoxe du printemps chez le bélier de race D'Man élevé dans la région d'EL Meniaa.



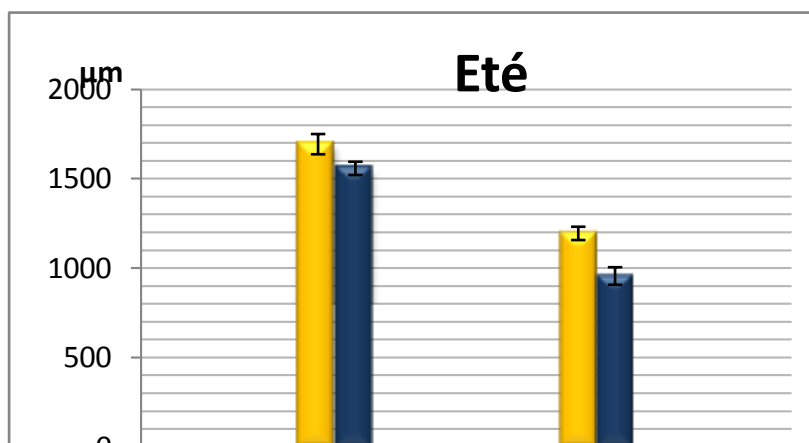
**Figure 25:** les variations des surfaces cellulaire et nucléaire de la ZF et le rapport N/C en phases claire et sombre de l'équinoxe du printemps chez le bélier de la race D'Man élevé dans la région d'El Meniaa.

### 1.4 Le solstice d'été

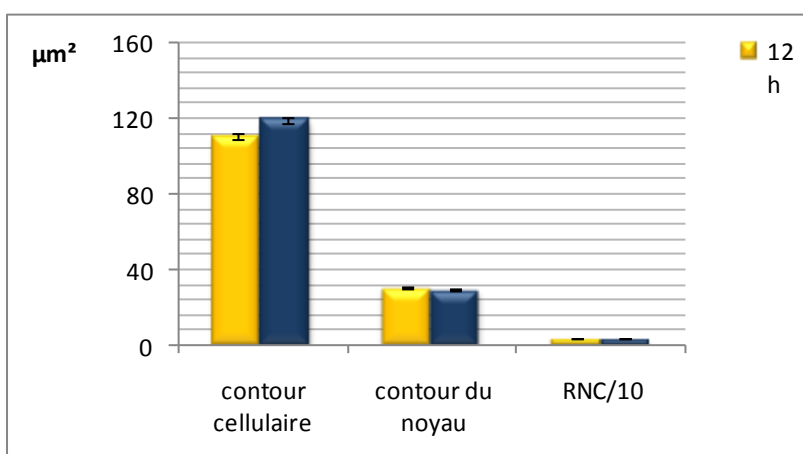
Durant cette saison, le cortex surrénalien se montre très épais par rapport à toutes les autres saisons.

**En phase claire**, l'épaisseur du cortex surrénalien est très développée ( $1694.52\mu\text{m}\pm 57.21$ ) due à l'importance de la zone fasciculée ( $1196.26\mu\text{m}\pm 36.52$ ) (figure 26).

**En phase sombre**, on observe une diminution très significative ( $p=0.001$ ) de l'épaisseur corticale ( $1559.80\mu\text{m}\pm 36.65$ ) due à la diminution hautement significative ( $p<0.001$ ) de l'épaisseur de la zone fasciculée ( $958.14\mu\text{m}^2\pm 49.01$ ) (Annexes B1 :tableau 19 ,20 ;30). Par contre, la surface des cellules de la zone fasciculée présente une augmentation hautement significative ( $p<0.001$ ) par rapport à la phase claire (Figure 27)( Annexes B1 :tableau 21,22).



**Figure 26:** la hauteur du cortex et de la ZF en phases claire et sombre au solstice d'été chez le bélier de race D'Man élevé dans la région d'El Meniaa.

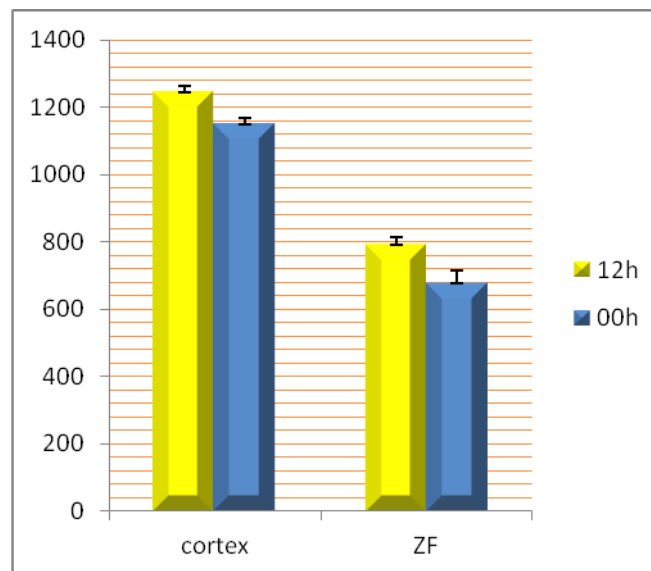


**Figure 27:** les variations des surfaces cellulaire et nucléaire de la ZF et le rapport N/C en phases claire et sombre de l'équinoxe du printemps chez le bélier de la race D'Man élevé dans la région d'El Meniaa.

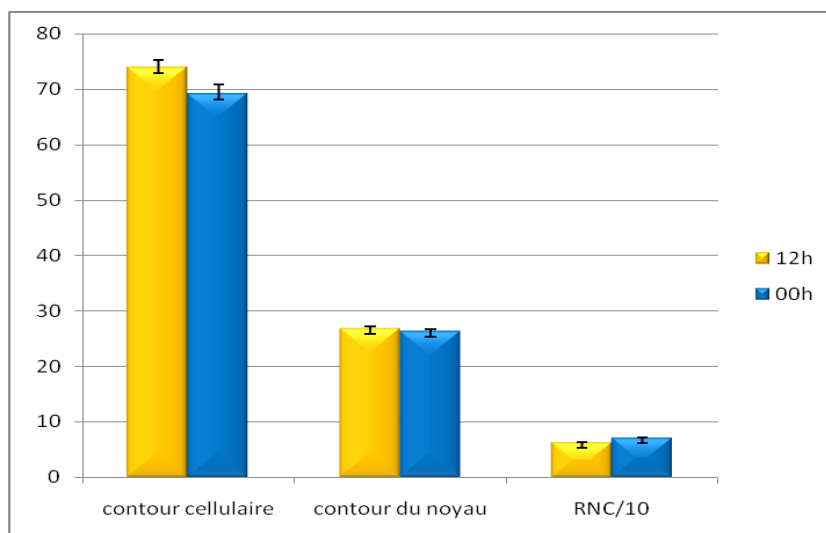
### 1.5 L'équinoxe d'automne 2

Le cortex surrénalien et la zone fasciculée présentent des variations morphométriques plus ou moins importantes entre les deux phases claire et sombre (figure 28)( Annexes B1 :tableau 23,24)

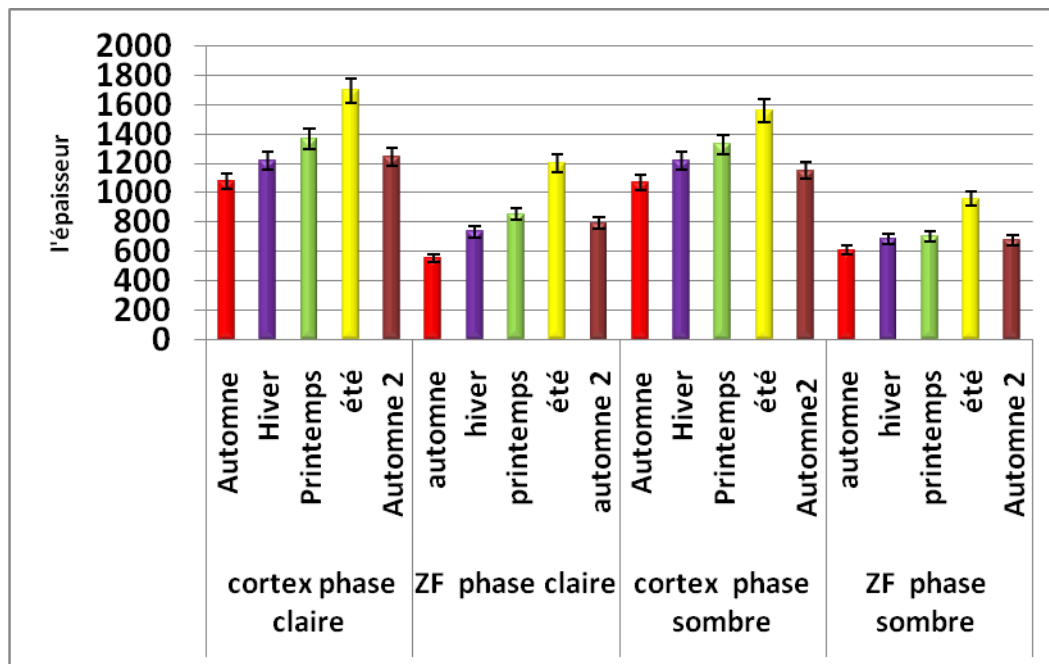
Une diminution significative ( $p=0.02$ ) de l'épaisseur de la ZF et une diminution hautement significative ( $p<0.001$ ) (Annexes B1 :Tableau31)des surfaces cellulaire et nucléaire sont observées à la phase sombre par rapport à la phase claire(figure 29).



**Figure28** : la hauteur du cortex et de la ZF en phases claire et sombre au solstice d'été chez le bélier de race D'Man élevé dans la région d'El Meniaa .



**Figure 29** : les variations des surfaces cellulaire et nucléaire de la ZF et le rapport N/C en phases claire et sombre de l'équinoxe du printemps chez le bélier de la race D'Man élevé dans la région d'El Meniaa .

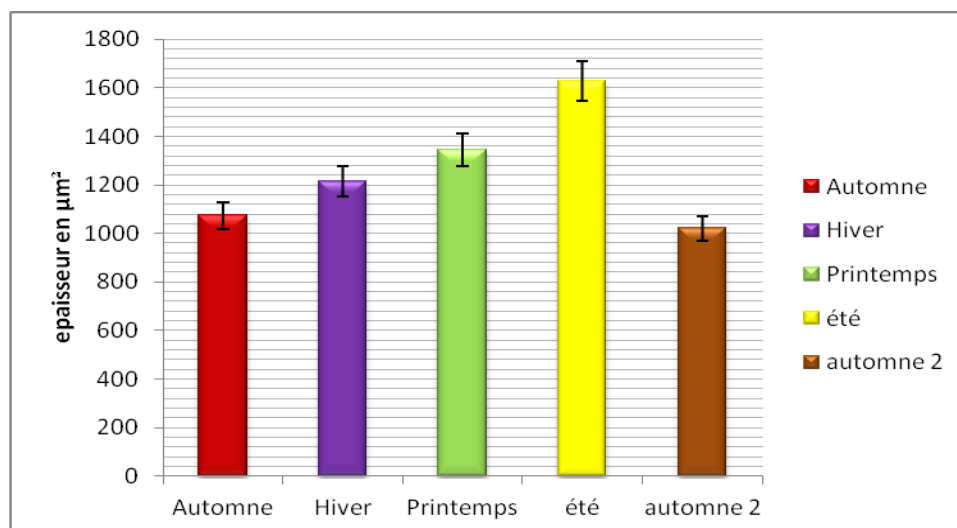


**Figure 30:** Histogramme récapitulatif du cortex surrénalien et la zone fasciculaire pendant la phase claire et la phase sombre des différentes saisons chez le bélier de race d'Man élevé dans la région d'El Meniaa.

La figure ci-dessus, montre clairement que l'épaisseur de la zone fasciculée suit parfaitement celle du cortex surrénalien au cours de toutes les saisons étudiées, témoignant leur intime dépendance ; l'augmentation de l'épaisseur de la zone fasciculée au solstice d'été est suivie par l'augmentation de l'épaisseur corticale. De même, la diminution de l'épaisseur de la zone fasciculée durant l'équinoxe d'automne est simultanée à la diminution de l'épaisseur du cortex surrénalien. On note, aussi bien le cortex que la ZF sont plus développés en phase claire qu'en phase obscure des cinq saisons étudiées.

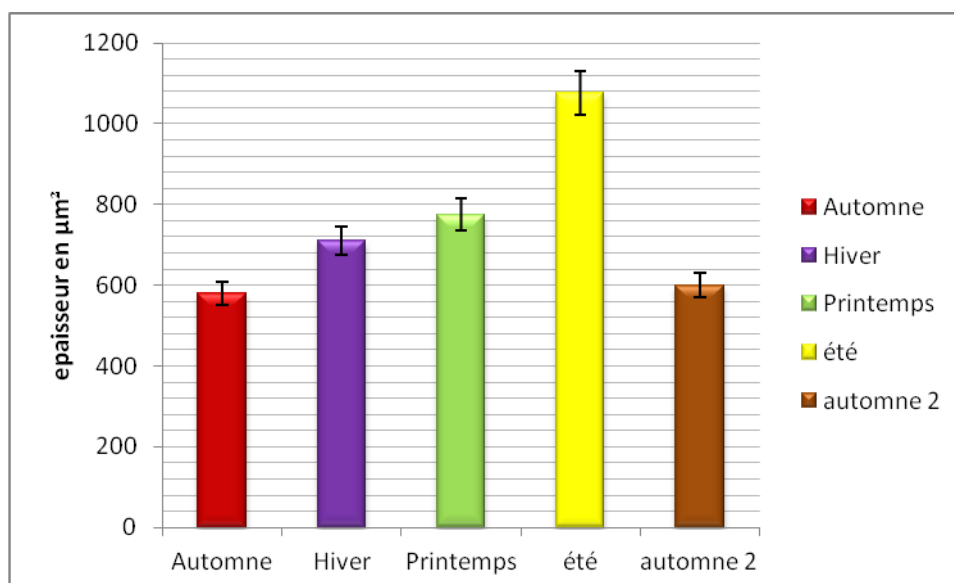
## 2.1 Les variations morphométriques de la corticosurrénale au cours des saisons

Dans cette partie, on a tenté de rechercher d'éventuelles variations de la corticosurrénale entre les saisons.



**Figure 31:** l'épaisseur du cortex surrénalien durant les différentes saisons chez le bélier de race d'Man élevé dans la région d'El Meniaa

La figure ci-dessus, montre une épaisseur corticale très développée en été (1627.16 $\mu\text{m}\pm$ 46.93), relativement faible au printemps (1344.68 $\mu\text{m}\pm$ 39.94) et en hiver (1214.41 $\mu\text{m}\pm$ 35.82) et très faible en automne1(1073.30 $\mu\text{m}\pm$ 19.56) et automne2 (1095.643 $\mu\text{m}\pm$ 20.56)( Annexes B1 :tableau32).



**Figure 32:** l'épaisseur de la zone fasciculée durant les différentes saisons chez le bélier de race d'Man élevé dans la région d'El Meniaa.

-la figure : montre clairement que l'épaisseur de la zone fasciculée présente des variations semblables à celles du cortex surrénalien. En effet, son épaisseur augmente durant la saison estivale ( $1077.20\mu\text{m}\pm 42.79$ ), diminue relativement au printemps et en hiver et atteint son minimum en automne 1 et automne 2 ( $580.24\mu\text{m}\pm 33.46$ ) (Annexes B1 :tableau33).

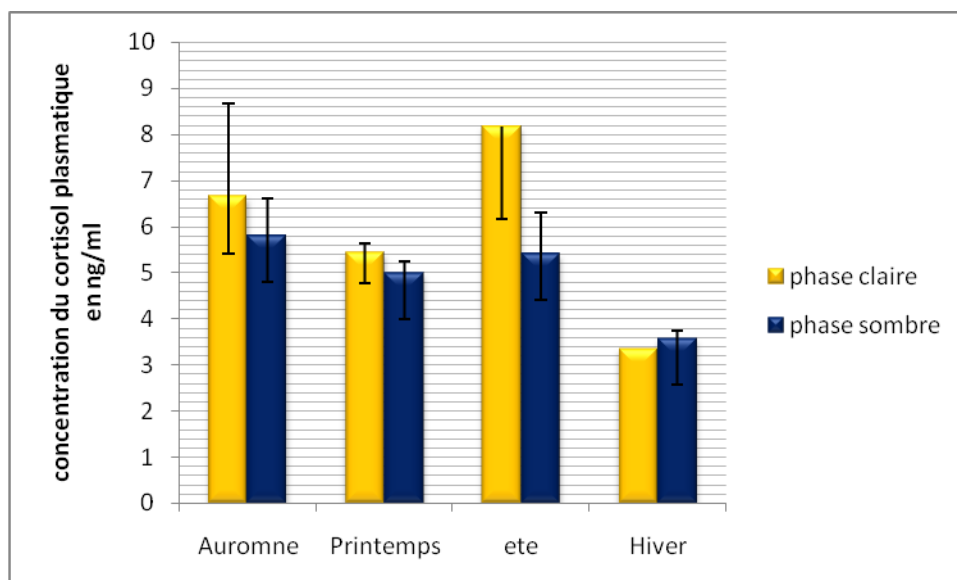
## II. Concentration plasmatique du cortisol durant le cycle lumière/obscurité

Dans cette partie, nous présenterons les variations de la concentration du cortisol plasmatique durant la phase claire et la phase sombre au cours des saisons étudiées.

### 1. En phases claire et sombre

Les concentrations du cortisol sont toujours plus élevées durant la phase claire sauf pour la saison d'hiver qui semble légèrement plus élevées en phase sombre ( $3.56\text{ng/ml}\pm 0.176354$ ).

On observe une augmentation très importante de la concentration du cortisol plasmatique en phase claire de la saison d'été ( $8.16\text{ng/ml}\pm 2.01$ ), suivi de l'automne ( $6.64\text{ng/ml}\pm 1.23$ ), puis le printemps ( $5.42\text{ng/ml}\pm 0.64$ ) par rapport à la phase sombre et une diminution de la concentration du cortisol en phase claire de l'hiver ( $3.35\text{ng/ml}\pm 0.20$ ).



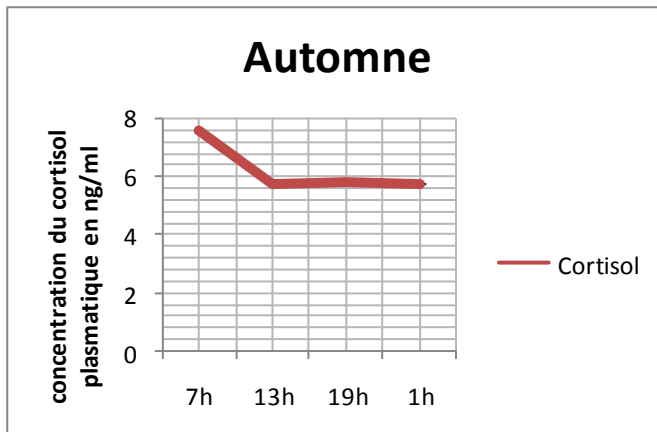
**Figure 33:** variations de la concentration du cortisol plasmatique durant le cycle lumière/obscurité au cours des différentes saisons chez le bélier de race d'Man élevé dans la région d'El Meniaa



## II- Concentrations plasmatiques du cortisol durant les différentes saisons

Dans cette partie, notre objectif est d'étudier les variations de la concentration du cortisol plasmatique durant les saisons.

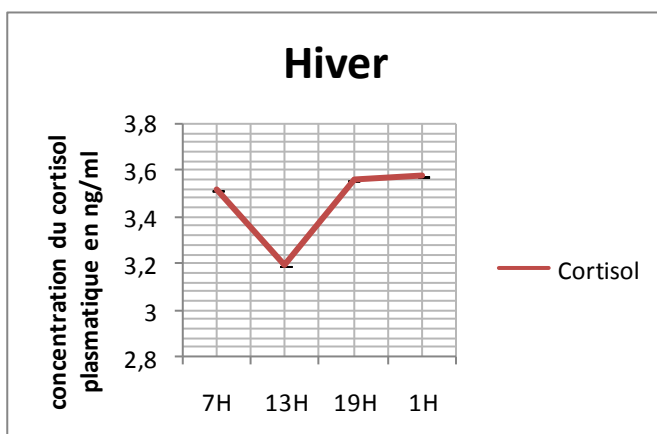
### II.1 L'équinoxe d'automne



A l'équinoxe d'automne, les concentrations du cortisol sont assez fortes, caractérisée par une élévation importante à 7h du matin (7.55ng/ml±1.34), diminue à 13h (5.73ng/ml±1.11), et relativement les mêmes concentrations sont observées à 19h (5.81ng/ml±0.96) et à 1h du matin (5.75ng/ml±0.67)(Annexes B1 :tableau36).

**Figure 34:** variations de la concentration du cortisol plasmatique durant l'équinoxe d'automne chez le bélier de race D'Man élevé dans la région d'El Meniaa.

### II.2 Le solstice d'hiver

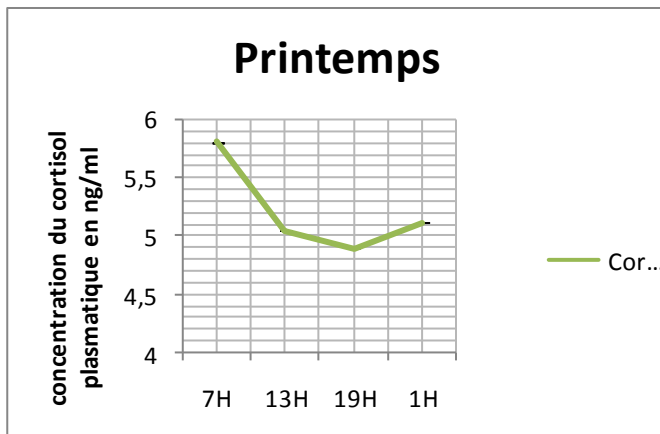


Durant la saison d'hiver, les concentrations du cortisol sont relativement les plus faibles par rapport aux autres saisons et varient dans un intervalle étroit ( $\approx 3\text{ng/ml} \pm 0.4$ ).

Même si la concentration la plus faible semble coïncider avec l'après midi (13h) ; la concentration du cortisol ne varie que dans un intervalle très étroit (3.2 ng/ml et 3.6 ng/ml)( Annexes B1 :tableau 37).

**Figure 35:** variations de la concentration du cortisol plasmatique durant le solstice d'hiver chez le bélier de race D'Man élevé dans la région d'El Meniaa.

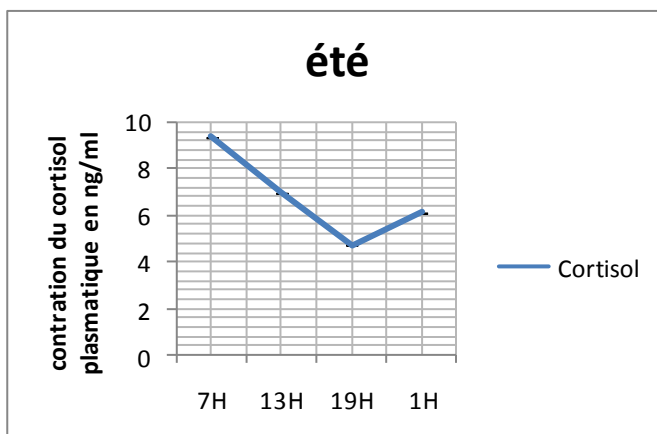
## II.3 L'équinoxe du printemps



A l'équinoxe du printemps, les concentrations moyennes du cortisol ré-augmentent par rapport à la saison d'hiver. Le taux de cortisol est élevé le matin à 7h (5.80ng/ml± 0.88), diminue légèrement durant la journée (13h : 5.043ng/ml±0.40; 19h : 4.89 ±0.14; 1h : 5.11 ng/ml±0.35)(Annexes B1 :tableau 38).

**Figure 36:** variations de la concentration du cortisol plasmatique l'équinoxe printemps chez le bélier de race D'Man élevé dans la région d'El Meniaa.

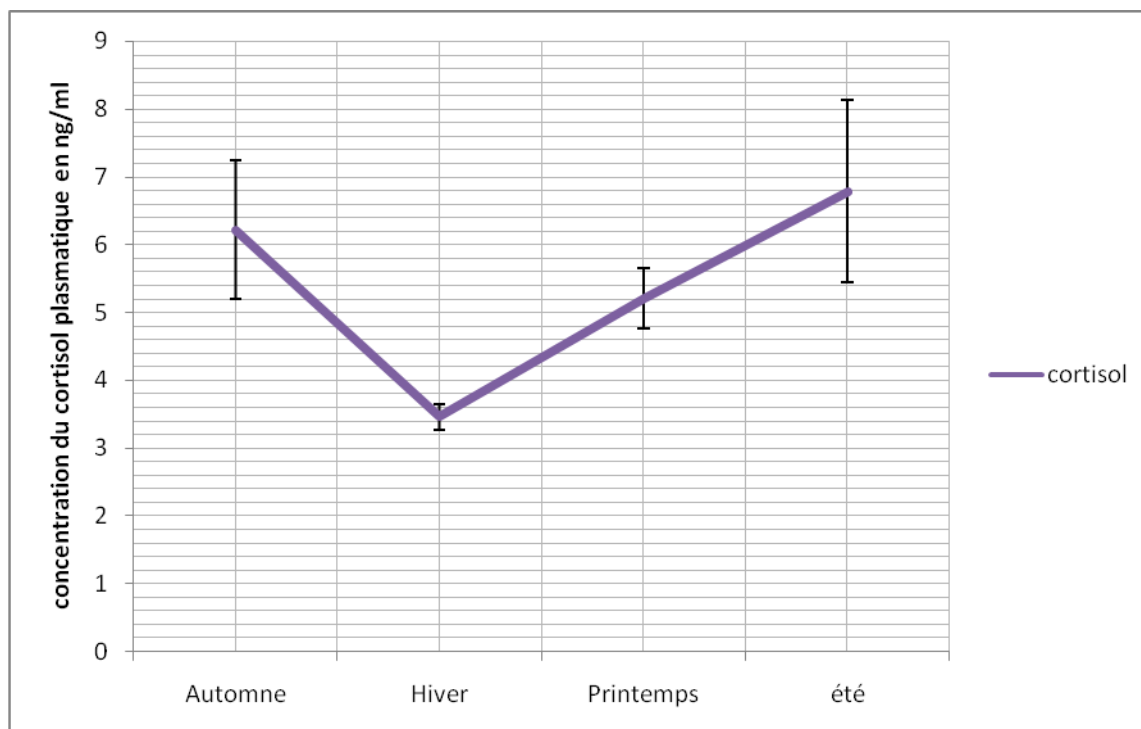
## II.4 Le solstice d'été



C'est au solstice d'été que les concentrations du cortisol sont les plus élevées. Le profil du cortisol présente des variations assez importantes, caractérisé par un pic très important à 7h du matin (9.34ng/ml±2.91), diminue à 13h (6.98ng/ml±1.10), continue à baisser à 19h (4.70ng/ml±1.56) puis réaugmente légèrement à 1h du matin (6.10ng/ml±0.63)(Annexes B1 :tableau 39).

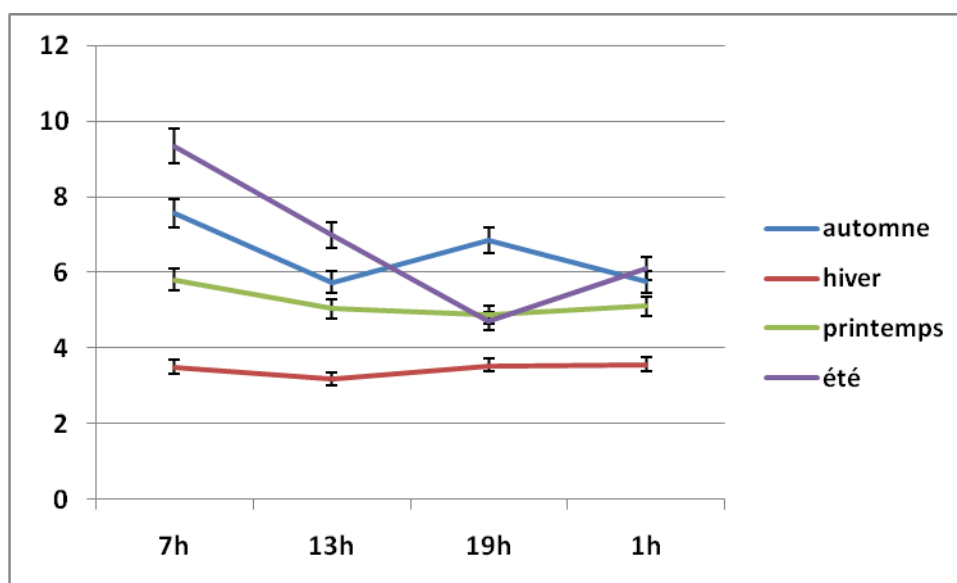
**Figure 37:** variations de la concentration du cortisol plasmatique au solstice d'été chez le bélier de race D'Man élevé dans la région d'El Meniaa.

## II.3 Les variations saisonnières du cortisol plasmatique



**Figure 38:** Variations saisonnières du cortisol plasmatique chez le bélier D'Man élevé dans la région d'El Menia.

Le graphe ci-dessus, témoigne l'existence des variations saisonnières du cortisol plasmatique, caractérisée par une activité importante durant l'été et faible en hiver.



**Figure 39 :** Variations nycthémérales de la cortisolémie au cours des équinoxes et solstices chez le bélier D'man élevé dans la région d'El Méniaa

La courbe moyenne du cortisol plasmatique au cours des saisons, fait clairement ressortir l'existence de variations nyctémérales de la cortisolémie, elle est importante le matin (7h) en : été, automne, printemps et hiver, et basse l'après midi (13h) en automne et hiver et le soir (19h) en été et printemps ; et à la plus faible cortisolémie est noté pendant le solstice d'hiver.

La valeur maximale du cortisol plasmatique est observé le matin (7h) ; en été (9,34 ng/ml) suivi de l'automne (7.55 ng/ml) ; puis le printemps (5.80 ng/ml). Avec une différence significative entre l'été et le reste des saisons: hiver ( $p < 0,001$ ), printemps ( $p < 0,03$ ).

Une différence significative existe aussi entre le reste des saisons : automne/d'hiver ( $p < 0.0097$ ) ; et hiver/printemps ( $p < 0.022$ ).

Une diminution de la concentration du cortisol plasmatique observée dans l'après midi (13h) pour toutes les saisons avec une différence significative entre l'hiver et les autres saisons : été/hiver ( $p = 0.016$ ), hiver/automne ( $p = 0.006$ ), hiver/printemps ( $p = 0.0013$ ).

Cette diminution continue le soir (19h) du printemps et d'été. Avec une différence significative : hiver/printemps ( $p = 0.00009$ ), hiver/automne ( $p = 0.04$ ), automne/printemps ( $p = 0.036$ ) automne/été ( $p = 0.039$ ).

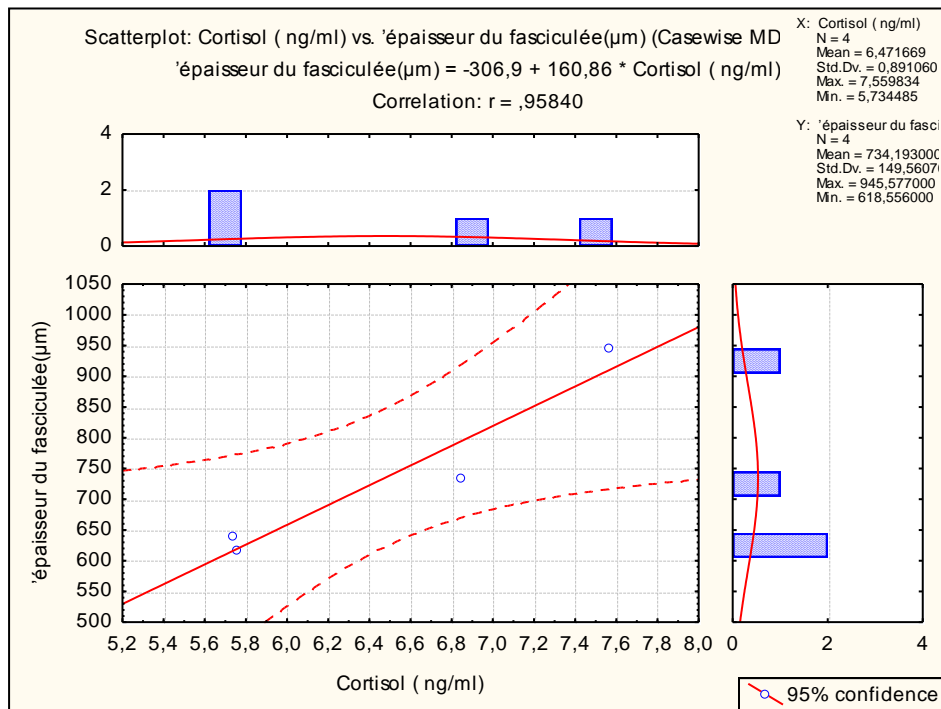
Durant la nuit (1h), une diminution de la cortisolémie est noté en automne (5.75 ng/ml) et une augmentation en été (6.10 ng/ml) ; et une élévation clairement visible au printemps et en hiver.

La valeur minimale du cortisol plasmatique est observé en hiver (3.57 ng/ml) marquant des différences significatives par rapport à : l'été ( $p = 0.005$ ) ; l'automne ( $p = 0.008$ ) et le printemps ( $p = 0.004$ ) (Annexes B1 :tableau 41).

À partir de l'ensemble des résultats, la corticosurrénale du bélier d'Man adulte présente des variations importantes en fonction du nyctémère et de la saison :

- L'épaisseur du cortex est plus développée en phase claire durant les différentes saisons, cette épaisseur est relative à celle de la zone fasciculée.
- La glande surrénale du bélier D'Man adulte, subit des variations morphométriques entre les solstices et les équinoxes. Son cycle saisonnier est caractérisé essentiellement par un maximum en été et un minimum en automne
- La concentration du cortisol est élevée durant le jour au cours des différentes saisons sauf la saison d'hiver ou elle est légèrement diminuée par rapport à la phase obscure.
- Le profil du cortisol montre des variations saisonnières définies par un maximum durant le solstice d'été et un minimum au solstice d'hiver.

## II.4 Corrélation entre l'activité glucocorticoïde et l'épaisseur de la zone fasciculée



**Figure 40** : corrélation entre la concentration du cortisol plasmatique et l'épaisseur de la zone fasciculée

Le coefficient de corrélation ( $r=0,95840$ ) est très proche de 1, indiquant une excellente corrélation linéaire positive entre la concentration plasmatique du cortisol et l'épaisseur de la fasciculée.

### III- L'expression des gènes horloge et les gènes impliqués dans la biosynthèse de cortisol au niveau de la surrénale :

Dans cette partie, nous allons présenter les éventuelles corrélations existantes entre l'expression des gènes exprimés au niveau de la corticosurrénale (Bmal1, Clock, Per2, Reverb, Star et la 3  $\beta$ hsd ; impliqués dans la régulation de la biosynthèse et la rythmicité du cortisol) ainsi que le cycle jour/nuit, la morphométrie corticosurrénalienne et l'activité glucocorticoïde de la surrénale.

L'étude statistique est réalisée par **le test de coefficient de corrélation  $r$**  (de Bravais-Pearson) à l'aide du logiciel Statistica (les tableaux sont placés dans l'annexeC1).

1. Corrélation entre l'expression des gènes et le cycle jour/nuit

Les graphes A et B pour l'ensemble des figures ci-dessous, montrent des coefficients de corrélation très rapprochés ( $r_1 \approx r_2$ ), indiquant que l'expression des gènes varie de la même manière pour les deux références étudiés (D45 et D64).

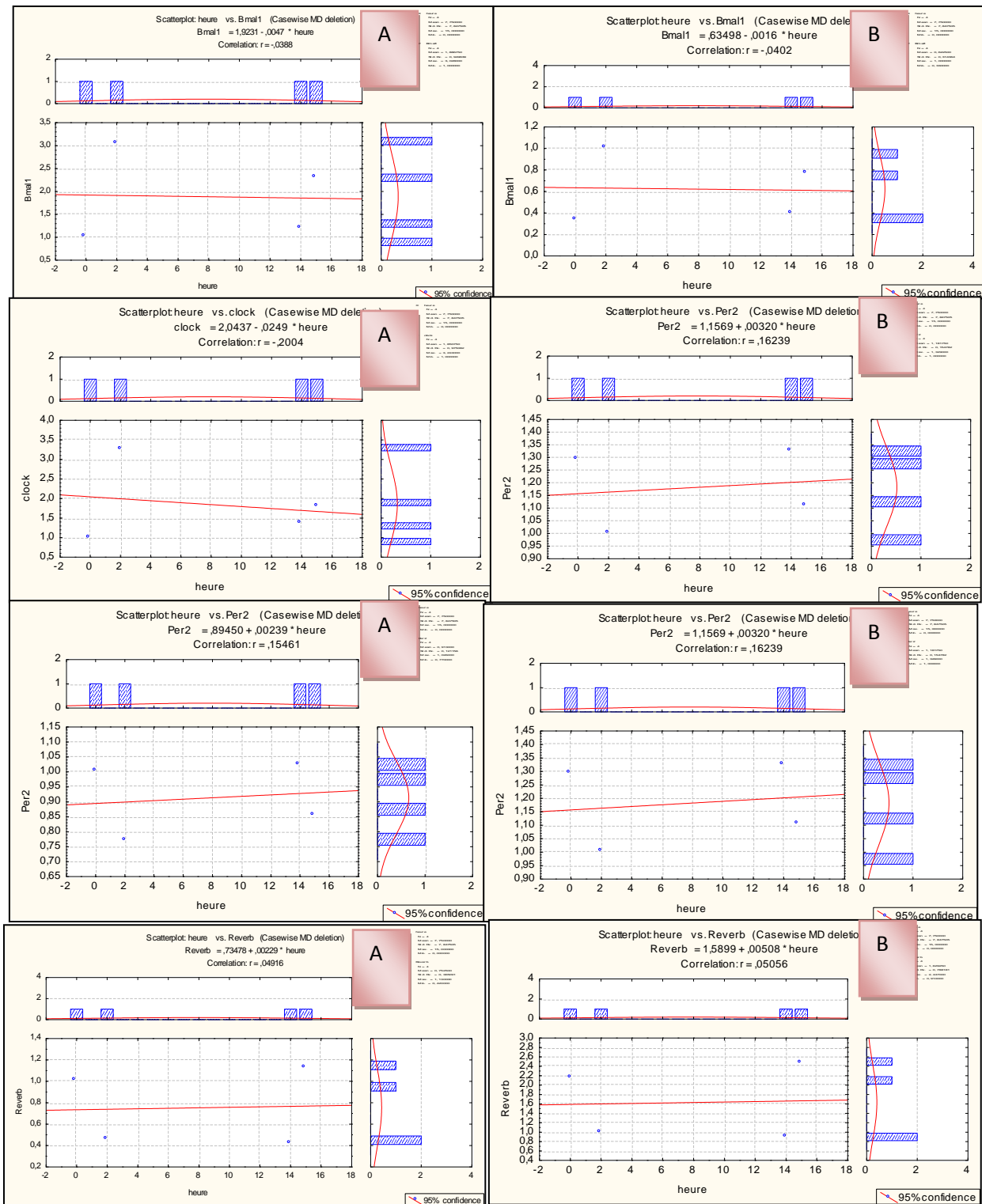


Figure 41 : Corrélation entre l'expression des gènes horloge et le cycle jour/nuit chez le bélier de race D'Man adulte.



**Bmal1 :**

Le coefficient de corrélation ( $r_1=-0,0388$  et  $r_2=-0.0402$  respectivement pour les références D45 et D64) est proche de 0; cela signifie qu'il n'existe pas de corrélation linéaire entre l'expression de Bmal1 et le cycle jour/nuit.

**Clock :**

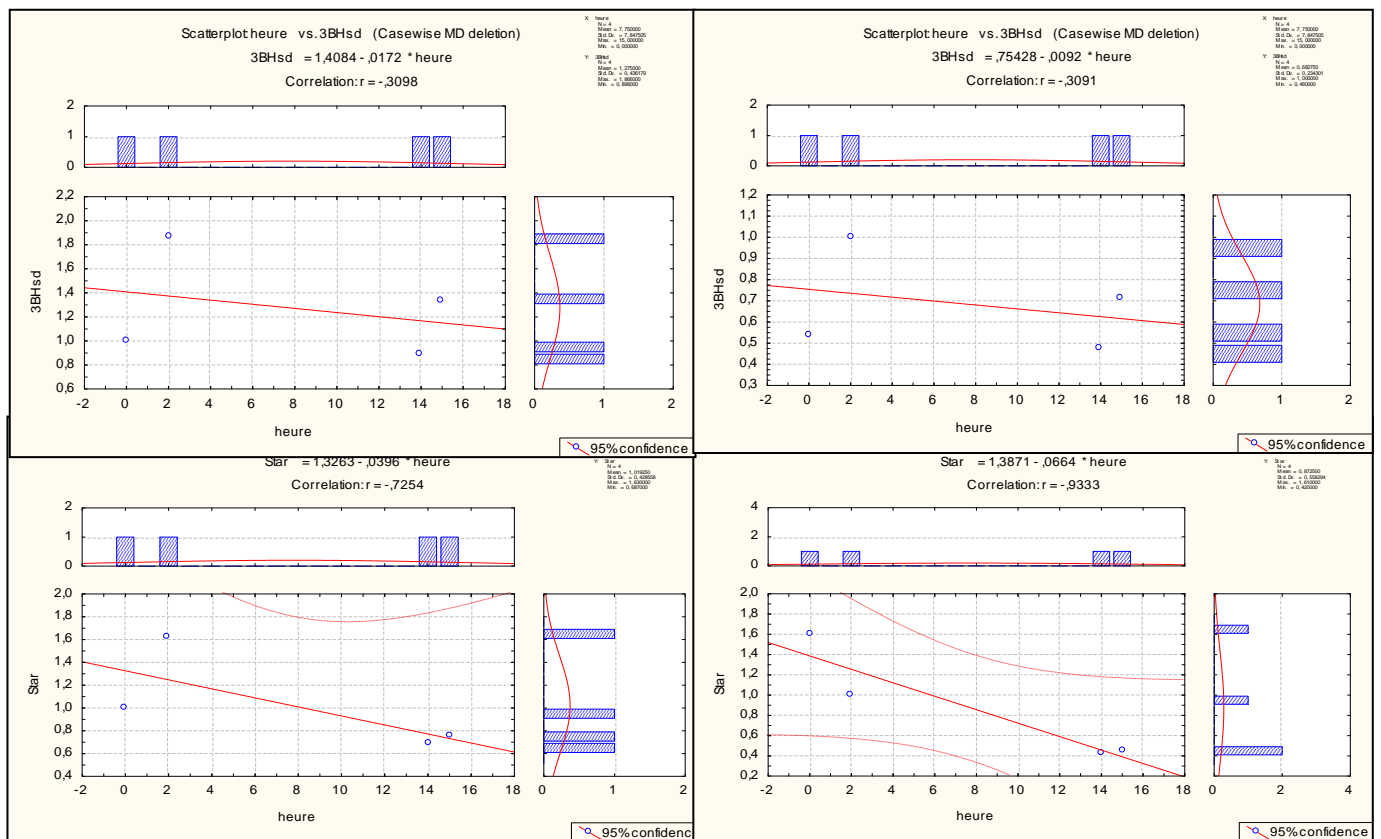
Le coefficient de corrélation ( $r_1=-0,2004$  et  $r_2=-0.2059$  respectivement pour les références D45 et D64) n'est pas proche de 1; cela indique une **faible corrélation** linéaire négative entre l'expression de Clock et le cycle jour/nuit.

**Per2 :**

Le coefficient de corrélation ( $r_1= 0,15461$  et  $r_2=0,16239$  respectivement pour les références D45 et D64) n'est pas proche de 1; cela indique une **faible corrélation** linéaire positive entre l'expression de Per2 et le cycle jour/nuit.

**Reverb :**

Le coefficient de corrélation ( $r_1= 0,04918$  et  $r_2=0,05058$  respectivement pour les références D45 et D64) est proche de 0 ; cela signifie qu'il n'existe pas de corrélation linéaire entre l'expression de Reverb et le cycle jour/nuit.



**Figure 42 :** Corrélation entre l'expression des gènes impliqués dans la biosynthèse du cortisol et le cycle jour/nuit chez le bélier race D'Man adulte

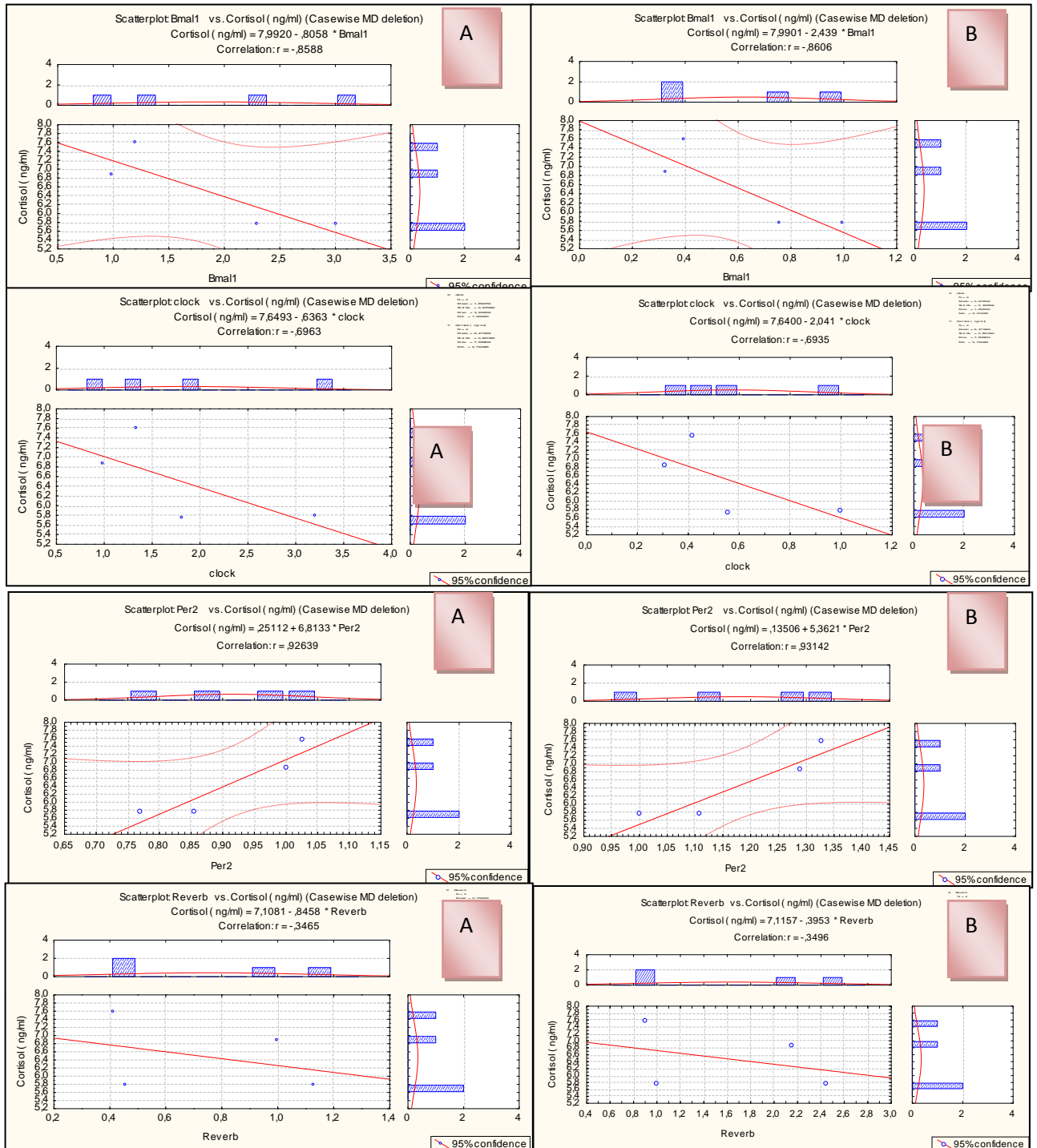
### 3βhsd :

Le coefficient de corrélation ( $r_1 = -0,3098$  et  $r_2 = -0,3091$  respectivement pour les références D45 et D64) n'est pas proche de 1; cela indique une **faible corrélation** linéaire négative entre l'expression de **3βhsd** et le cycle jour/nuit.

### Star :

Le coefficient de corrélation ( $r_1 = -0,7254$  et  $r_2 = -0,9333$  respectivement pour les références D45 et D64) est très proche de 1; cela indique une **très forte corrélation** linéaire négative entre l'expression de **Star** et le cycle jour/nuit.

2. Corrélation entre l'expression des gènes et l'activité glucocorticoïde



**Figure43 :** Corrélation entre l'expression des gènes horloge et l'activité glucocorticoïde de la surrénale chez le bélier de race D'Man adulte.

**Bmal1**

Les figures A et B, montrent un coefficient de corrélation ( $r_1=-0,8588$  et  $r_2=0,8606$  respectivement pour les références D45 et D64) proche de -1, ce qui indique une très forte corrélation linéaire négative entre le gène Bmal1 et la concentration plasmatique du cortisol.

**Clock**

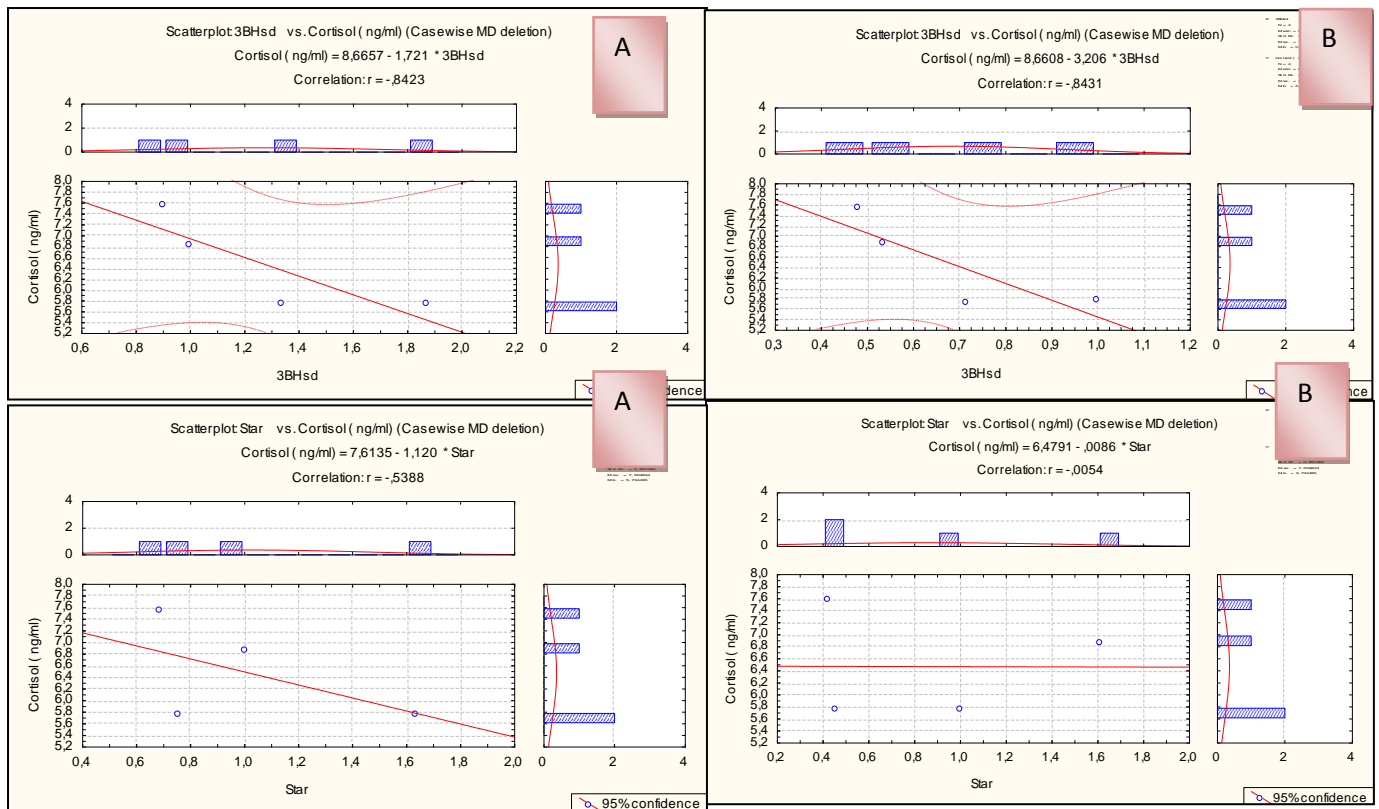
Les figures A et B, montrent un coefficient de corrélation ( $r_1=-0,6963$  et  $r_2=0,6935$  respectivement pour les références D45 et D64) proche de -1, ce qui indique une très forte corrélation linéaire négative entre le gène Clock et la concentration plasmatique du cortisol.

**Per2**

Les figures A et B, montrent un coefficient de corrélation ( $r_1=-0,92639$  et  $r_2=0,6935$  respectivement pour les références D45 et D64) proche de -1, ce qui indique une excellente corrélation linéaire négative entre le gène Per2 et la concentration plasmatique du cortisol.

**Reverb**

Les figures A et B, montrent un coefficient de corrélation ( $r_1=-0,3465$  et  $r_2=0,3496$  respectivement pour les références D45 et D64) faible indiquant une faible corrélation linéaire négative entre le gène Reverb et la concentration plasmatique du cortisol.



**Figure 44** : Corrélation entre l'expression des gènes impliqués dans la biosynthèse du cortisol et l'activité glucocorticoïde de la surrénale chez le bélien de race D'Man adulte .

### 3βhsd

Les figures A et B, montrent un coefficient de corrélation ( $r_1 = -0,8423$  et  $r_2 = -0,8431$  respectivement pour les références D45 et D64) indiquant une très forte corrélation linéaire négative entre le gène **3βhsd** et la concentration plasmatique du cortisol.

### Star

Les figures A et B, montrent un coefficient de corrélation ( $r_1 = -0,5388$  et  $r_2 = -0,0054$  respectivement pour les références D45 et D64)  $r_2$  est proche de 0; cela signifie **qu'il n'existe pas** de relation linéaire indiquant une très forte corrélation linéaire négative entre le gène **Star** et la concentration plasmatique du cortisol.

3. Corrélation entre l'expression des gènes et l'épaisseur de la zone fasciculée

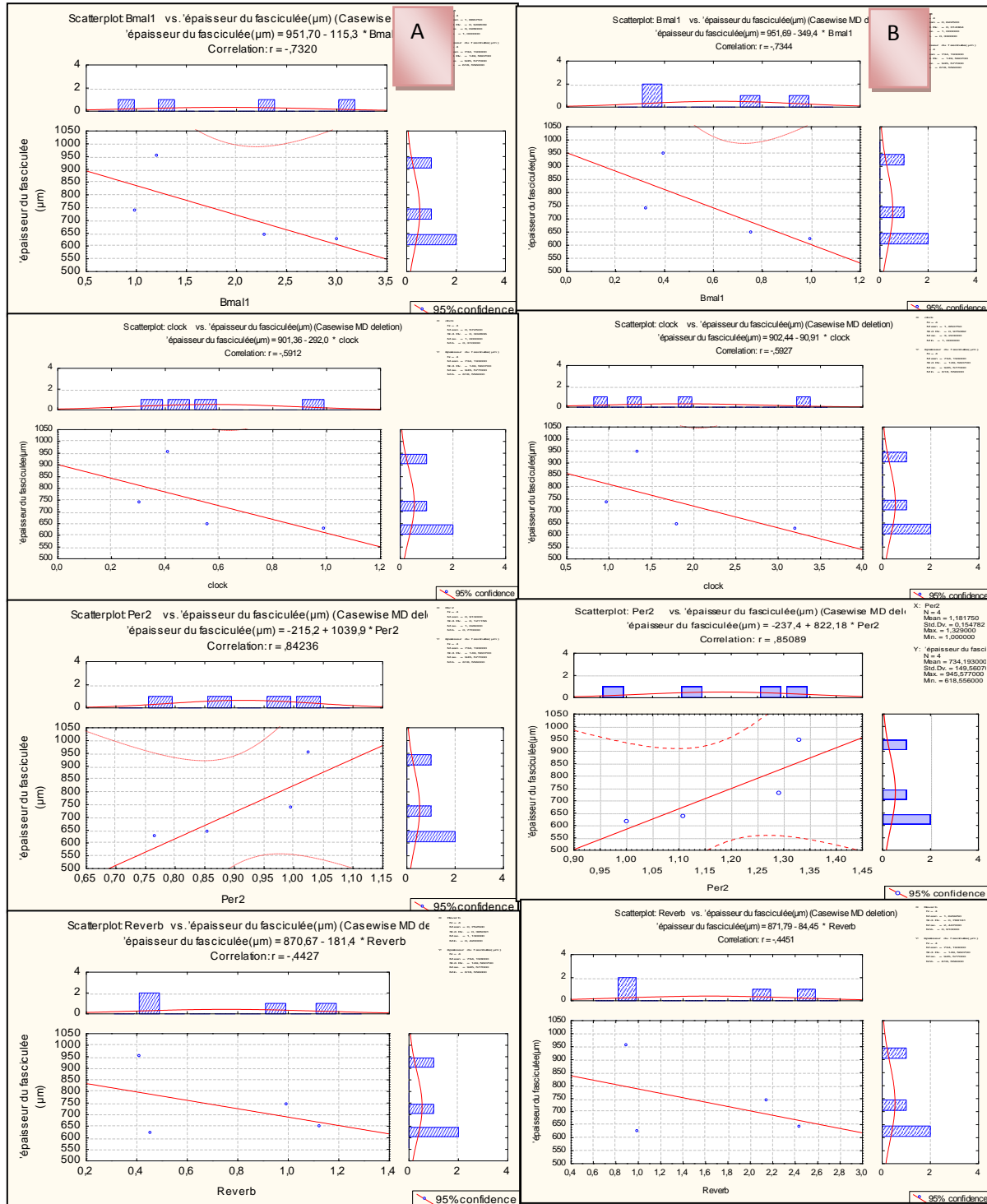


Figure 45 : Corrélation entre l'expression des gènes horloge et l'épaisseur de la fasciculée

(A : référence D45, B : référence D64)

**Bmal1**

Les figures A et B, montrent un coefficient de corrélation ( $r_1=-0,7320$  et  $r_2=-0,7344$  respectivement pour les références D45 et D64) le r est proche de 1; cela indique une très forte corrélation linéaire négative entre le gène **Bmal1** et la concentration plasmatique du cortisol.

**Clock**

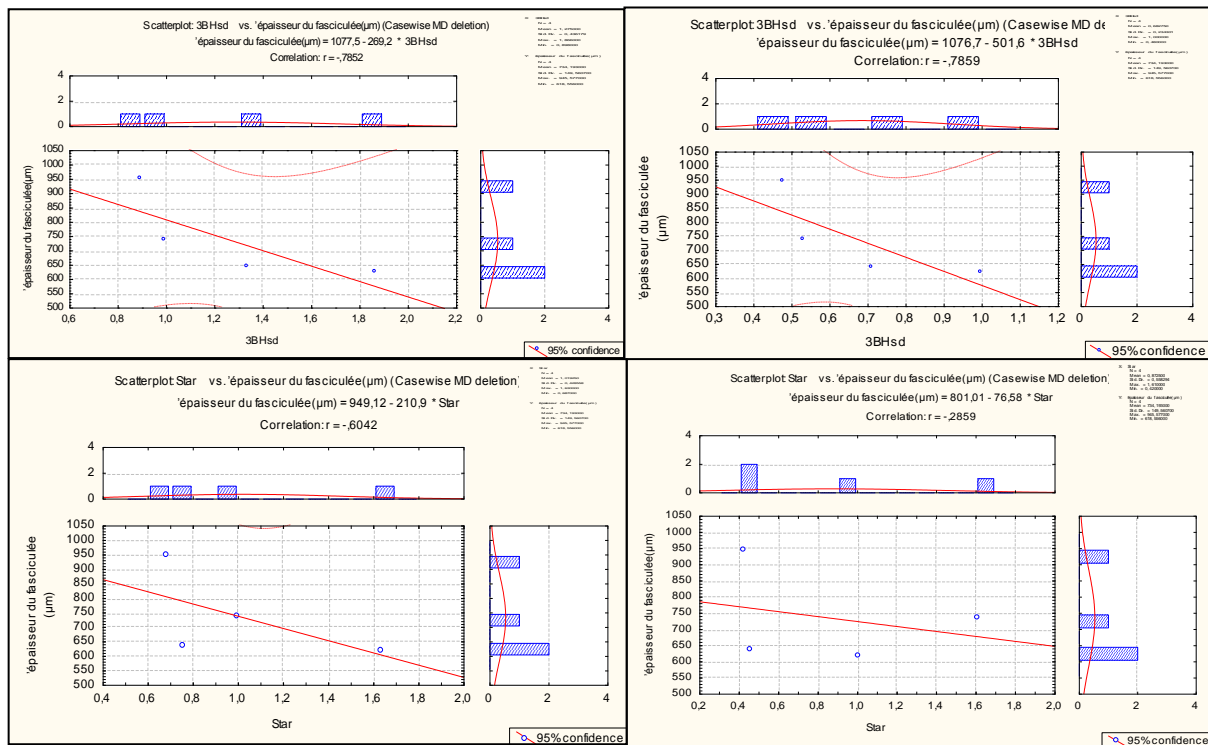
Les figures A et B, montrent un coefficient de corrélation ( $r_1=-0,5927$  et  $r_2=-0,5912$  respectivement pour les références D45 et D64) le r est proche de 1; cela indique une très forte corrélation linéaire négative entre le gène **Clock** et l'épaisseur de la fasciculée.

**Per2**

Les figures A et B, montrent un coefficient de corrélation ( $r_1=-0,84236$  et  $r_2=-0,85089$  respectivement pour les références D45 et D64) le r est proche de 1; cela indique une très forte corrélation linéaire négative entre le gène **Per2** et l'épaisseur de la fasciculée.

**Reverb**

Les figures A et B, montrent un coefficient de corrélation ( $r_1=-0,4427$  et  $r_2=-0,4451$  respectivement pour les références D45 et D64) le r est proche de 1; cela indique une très forte corrélation linéaire négative entre le gène **Reverb** et l'épaisseur de la fasciculée.



**Figure 46 :**Corrélation entre l'expression des gènes impliqués dans la biosynthèse du cortisol et l'épaisseur de la fasciculée (A : référence D45, B : référence D64)

### 3 $\beta$ hsd

Les figures A et B, montrent un coefficient de corrélation ( $r_1 = -0,7852$  et  $r_2 = -0,7859$  respectivement pour les références D45 et D64) le r est proche de 1; cela indique une très forte corrélation linéaire négative entre le gène **3 $\beta$ hsd** et l'épaisseur de la fasciculée.

### Star

Les figures A et B, montrent un coefficient de corrélation ( $r_1 = -0,6042$  et  $r_2 = -0,2859$  respectivement pour les références D45 et D64) le r est proche de 1; cela indique une très forte corrélation linéaire négative entre le gène **Star** et l'épaisseur de la fasciculée.



## **B. La race Ouled Djellal**

### **I. Etude histo-morphométrique de la surrénale**

Nos résultats sont présentés en deux parties ; la première sur les variations surrénales en phase claire et en phase sombre ; la deuxième rapporte les variations saisonnières.

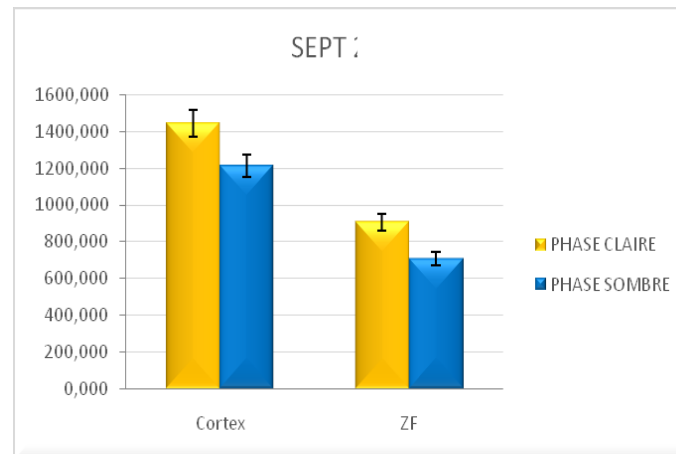
#### **I. 1- les variations de la surrénale en phase claire et en phase sombre :**

Nous avons commencé par l'étude des variations morphométriques de la surrénale en phase claire et en phase sombre pour chaque saison séparément.

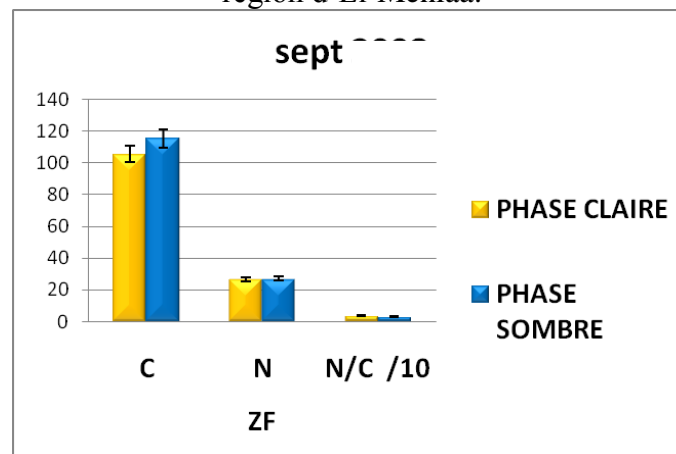
Nous avons effectué aussi des mesures de la surface cellulaire (C) et celle du noyau (N) de la zone fasciculée, ce qui nous a permis par la suite de calculer le rapport nucléocytoplasmique (N /C).

### I. 1.1 L'équinoxe d'automne :

Durant cette saison, l'épaisseur du cortex passe de 998,664 $\mu$ m en phase sombre à 1599,992 $\mu$ m en phase claire, cette augmentation très significative ( $p=0,003$ ) ; est due à l'élévation très significative de l'épaisseur de la zone fasciculée (0,008) qui présente **61%** du volume totale du cortex (figure 47,48 )(Annexe B2 : 42,43,44,45 ;66).



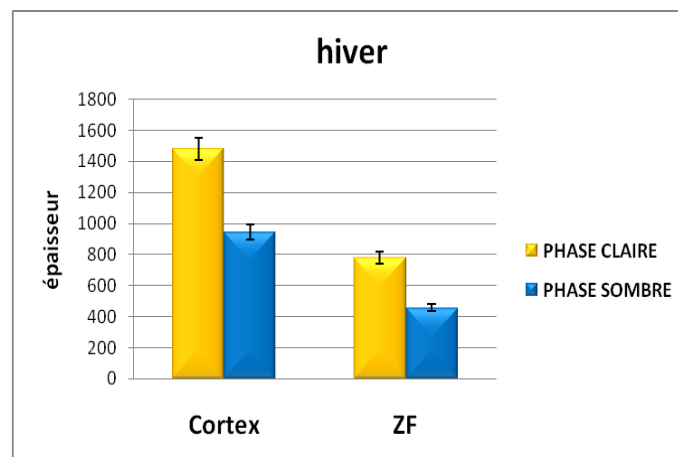
**Figure 47:** les variations morphométriques du cortex de la surrénale et de la ZF en phases claire et sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.



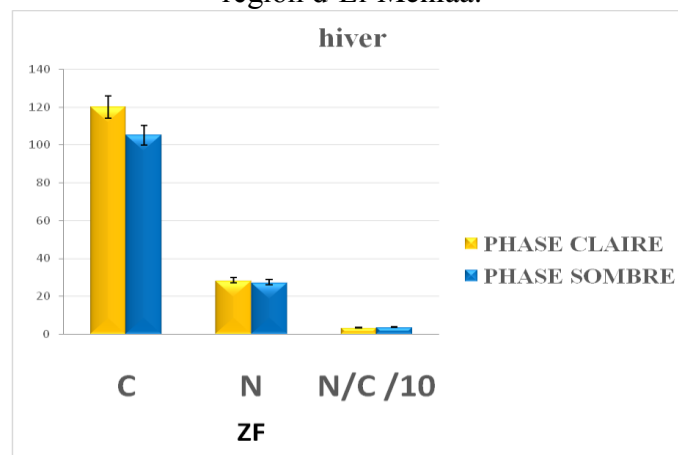
**Figure 48 :** les variations des surfaces cellulaire et nucléaire de la ZF en phases claire et sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

### I.1. 2. Solstice d'hiver :

Durant le solstice d'hiver, l'épaisseur du cortex surrénale est plus élevée en phase claire (1480,123  $\mu\text{m}$ ). Les données morphométriques en phase claire, indiquent une augmentation hautement significative ( $p=0,0007$ ) de la zone fasciculée qui représente 53% du volume cortical. Cette augmentation est la conséquence de l'augmentation des surfaces cellulaire et nucléaire (Annexes B2 : tableau 46,47,48,49 ; 67)(figure 49,50).



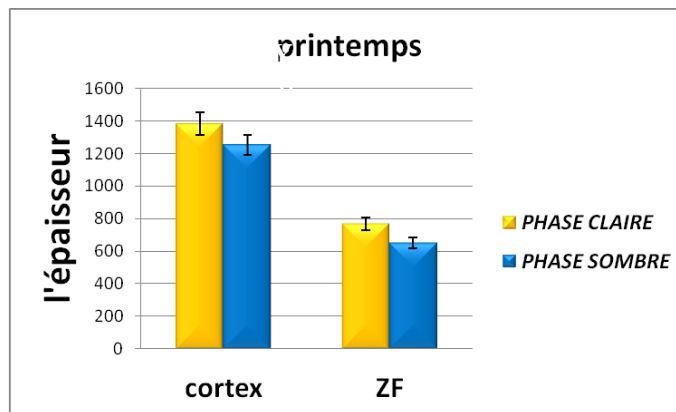
**Figure 49:** les variations morphométriques du cortex de la surrénale et de la ZF en phases claire et sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.



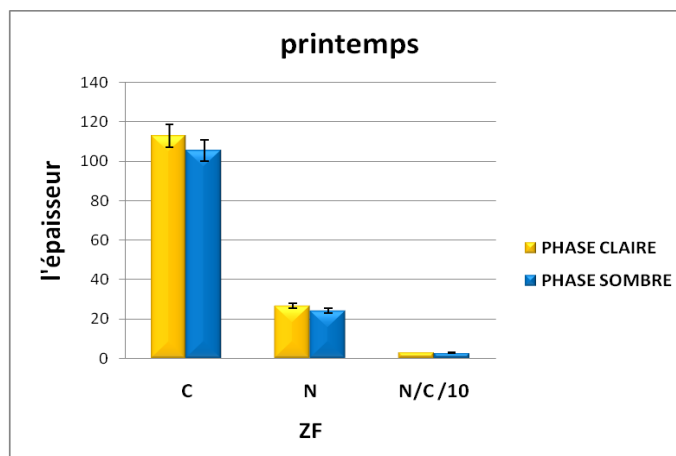
**Figure 50 :** les variations des surfaces cellulaire et nucléaire de la ZF en phases claire et sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

### I.1.3. L'équinoxe du printemps :

Le cortex surrénalien présente des variations morphométriques plus ou moins importantes entre les deux phases claire et sombre. En effet, le cortex paraît plus volumineux durant cette phase lumineuse (1531,1226 $\mu$ m), cette élévation est hautement significative ( $p=0,000047$ ), à cause de l'augmentation hautement significative de la ZF ( $P=0,000914$ ); Cette dernière est due à l'augmentation des surfaces cellulaire et nucléaire (Annexe B 2 : tableau :50,51,52,53 ; 68)(figure : 51,52).



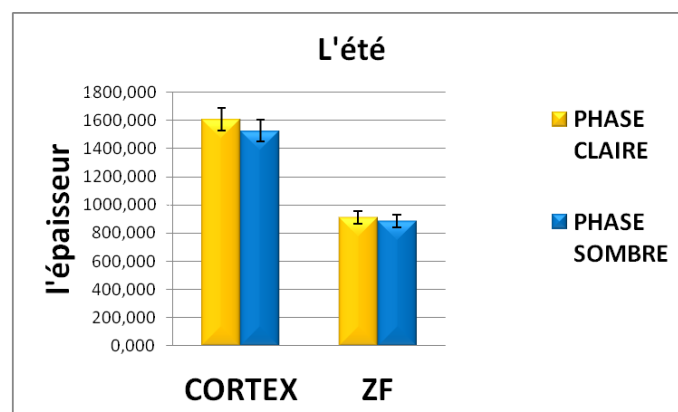
**Figure 51:** les variations morphométriques du cortex de la surrénale et de la ZF en phases claire et sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.



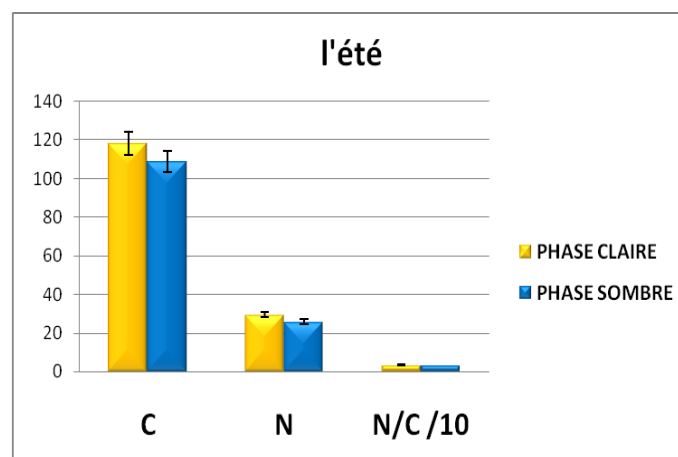
**Figure 52 :** les variations des surfaces cellulaire et nucléaire de la ZF en phases claire et sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa

### III.1.4- Solstice d'été :

Durant la saison estivale ; l'épaisseur du cortex est plus développée en phase claire (1655,056 $\mu\text{m}$ ) par rapport à la phase sombre (1525,550 $\mu\text{m}$ ), avec une différence hautement significative ( $P=0,0007$ ) ; ces variations du cortex sont dues à l'augmentation hautement significative de l'épaisseur fasciculaire en phase claire ( $P=0,00005$ ) qui représente 70% du volume cortical. L'augmentation de cette dernière, incrimine directement l'augmentation des surfaces cellulaire et nucléaire. (AnnexeB2 : 54,55,56,57 ;69)(figure 53,54).



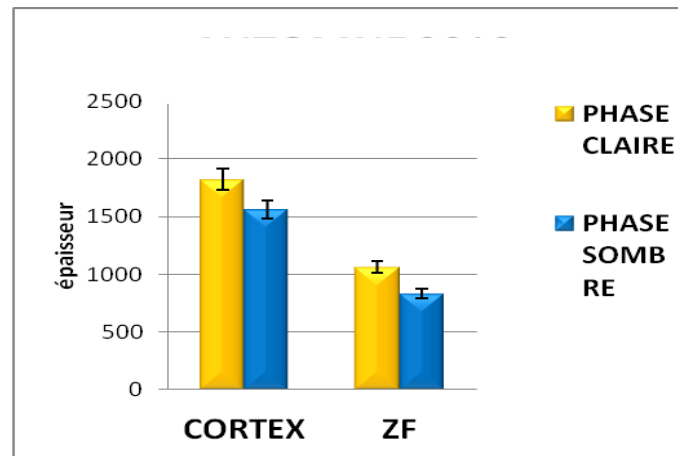
**Figure 53** : les variations morphométriques du cortex de la surrénale et de la ZF en phases claire et sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.



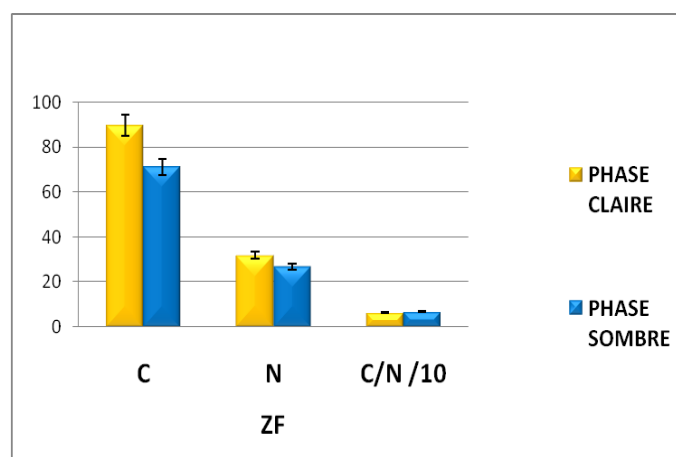
**Figure 54** : les variations des surfaces cellulaire et nucléaire de la ZF en phases claire et sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

### III.1.5- l'équinoxe de l'automne 2 :

Durant cette saison, l'épaisseur du cortex passe de 1560,55  $\mu\text{m}$  en phase sombre à 1822,372 $\mu\text{m}$  en phase claire, cette augmentation très significative ( $p=0,002$ ); est due à l'élévation très significative (0,0005) de l'épaisseur de la zone fasciculée qui représente 61% du volume totale du cortex (annexes B2 : tableau 58,59,60,61 ;70).



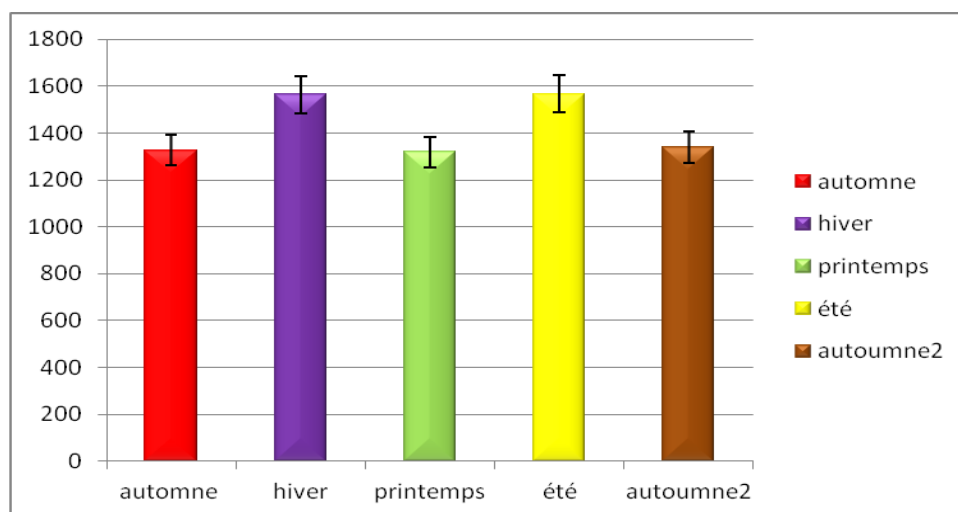
**Figure 55** : les variations morphométriques du cortex de la surrénale et de la ZF en phases claire et sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.



**Figure 56** : les variations des surfaces cellulaire et nucléaire de la ZF en phases claire et sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

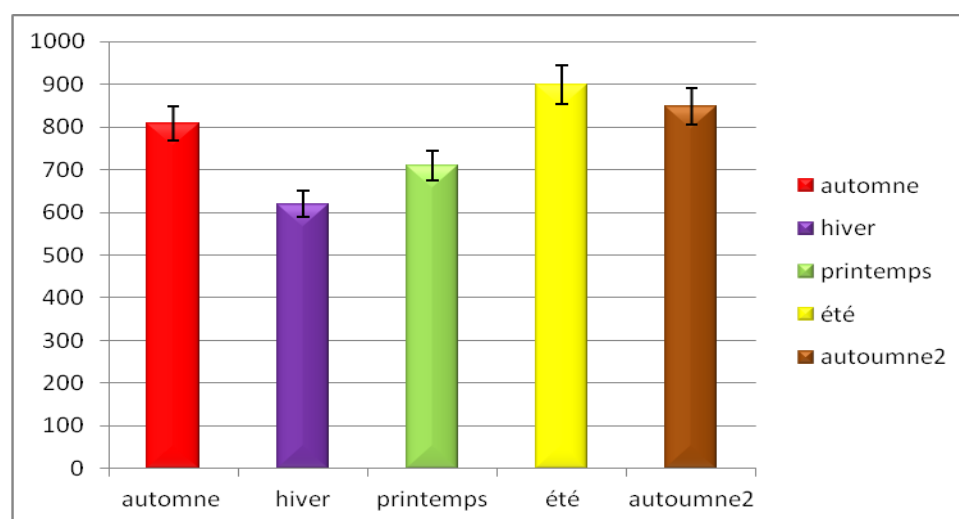
### I.2 Les variations morphométriques de la corticosurrénale au cours des saisons

Dans cette partie, on a tenté de rechercher d'éventuelles variations de la corticosurrénale entre les saisons.



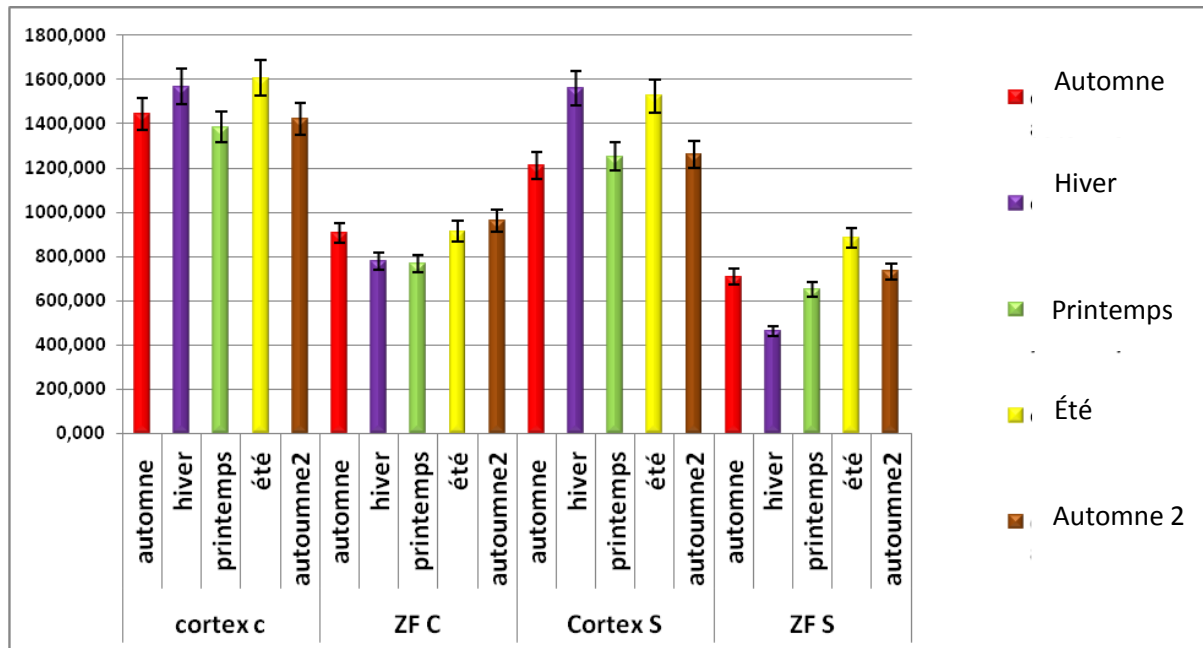
**Figure 57:** l'épaisseur du cortex surrénalien au cours des différentes saisons chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El Meniaa

La figure ci-dessus, montre une épaisseur corticale très développée en été (1566.16µm±46.93), et hiver (1563.91µm±16.83) relativement faible au printemps (1330.68µm±39.94) et en automne (1327.41µm±35.82).



**Figure 58:** l'épaisseur de la zone fasciculée au cours des différentes saisons chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El Meniaa.

-la figure : montre clairement que l'épaisseur de la zone fasciculée présente des variations semblables à celles du cortex surrénalien. En effet, son épaisseur augmente durant la saison estivale ( $900\mu\text{m}\pm 42.79$ ), diminue relativement au printemps et en automne 2 et automne ( $810.24\mu\text{m}\pm 33.46$ ) et atteint son minimum en hiver.



**Figure 59:** Histogramme récapitulatif du cortex surrénalien et la zone fasciculaire en phases claire et sombre des différentes saisons chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El Meniaa..

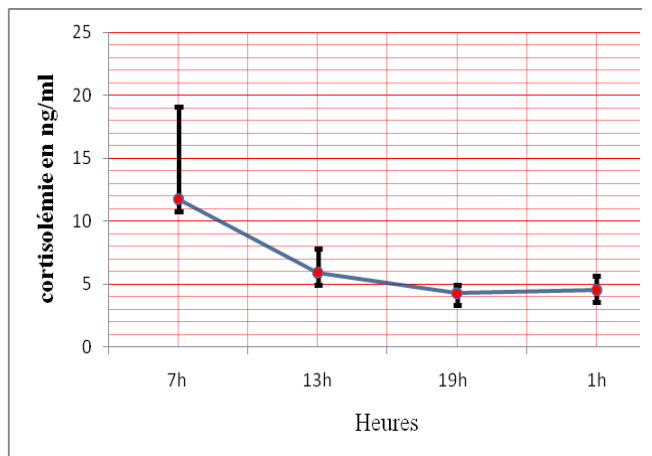
La figure ci-dessus, montre clairement que l'épaisseur de la zone fasciculée suit parfaitement celle du cortex surrénalien au cours de toutes les saisons étudiées sauf le solstice d'hiver, témoignant leur intime dépendance ; l'augmentation de l'épaisseur de la zone fasciculée au solstice d'été est suivie par l'augmentation de l'épaisseur corticale. De même, la diminution de l'épaisseur de la zone fasciculée durant l'équinoxe d'automne est simultanée à la diminution de l'épaisseur du cortex surrénalien. La figure ci-dessus, montrent que aussi bien le cortex que la fasciculée sont plus développés en phase claire des quatre saisons.(Annexes B2 : tableau 72).



## II. Les variations nycthémerales de la cortisolémie au cours des différentes saisons:

La deuxième partie des résultats rapportés dans ce travail, porte sur les variations nycthémerales et saisonnières des teneurs plasmatiques en cortisol (évalués par la technique radio immunologique), chez le bélier Ouled Djellal élevé dans la région d'El Meniaa.

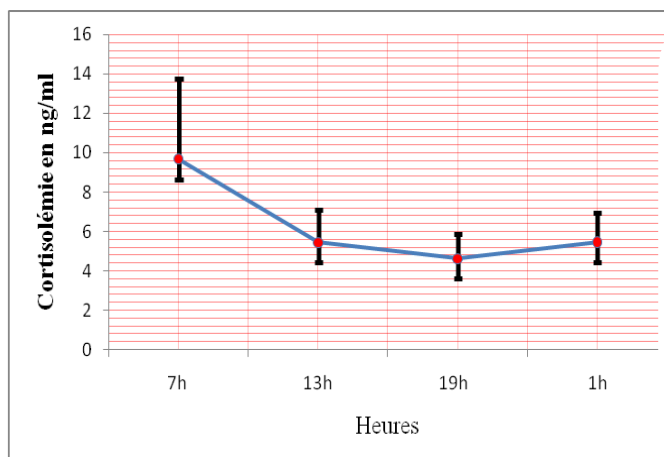
### 1. L'équinoxe d'automne :



La courbe moyenne d'évolution du cortisol (figure 60) montre que les teneurs plasmatiques durant ce nyctémère varient entre 4,3 et 11,7ng/ml. Cette variation de la cortisolémie est statistiquement significative ( $0,003 < P < 0,05$ ). Un taux important (11,76ng/ml) est observé le matin (7h); une diminution très significative de la cortisolémie est observée entre 7h et 19 h passant de 11,76 ng/ml à 4,30 ng/ml ( $0,0003 < P < 0,05$ ); il semble que le taux de cortisol plasmatique est aussi bas à 1h du matin qu'à 19h (le tableau 76 statistique dans l'annexe B2).

**Figure 60** : variations nycthémerales moyennes de la cortisolémie à l'équinoxe d'automne chez le bélier Ouled Djellal élevé dans la région d'El Méniaa

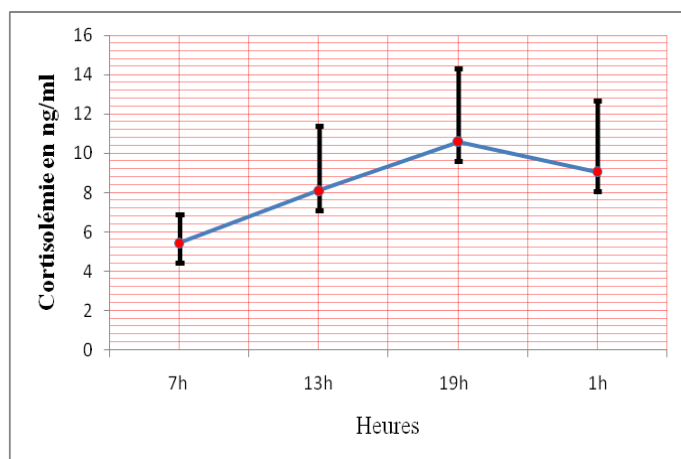
### 4. Le solstice d'hiver :



En hiver, les teneurs plasmatiques en cortisol sont plus élevées à 7h (9,65 ng/ml), elles diminuent ensuite de manière hautement significative ( $0,000284 < P < 0,037541$ ) à 19h (4,623 ng/ml) puis remontent encore significativement ( $0,000284 < P < 0,000298$ ) à 1h pour atteindre 5,463 ng/ml (tableau 77 Annexe B2).

**Figure 61** : variations nycthémerales moyennes de la cortisolémie au solstice d'hiver chez le bélier Ouled Djellal élevé dans la région d'El Méniaa

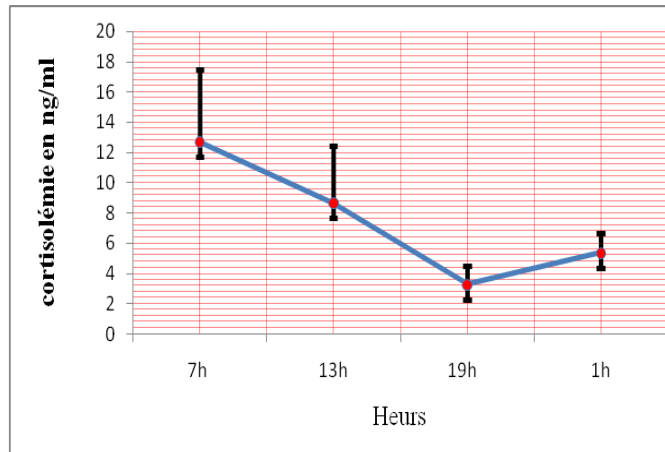
## 2. L'équinoxe de printemps :



**Figure 62** : Variations nycthémerales moyennes de la cortisolémie à l'équinoxe du printemps chez le bélier Ouled Djellal élevé dans la région d'El Méniaa

Au printemps (figure.62), les teneurs plasmatiques en cortisol varient significativement ( $0,0003 < P < 0,00882$ ) de 7h (5,463 ng/ml) à 19h (10,59 ng/ml). La concentration plasmatique du cortisol est aussi élevée à 1h du matin qu'à 19h. ( le tableau 78 statistique dans l'annexe B2).

## 3. Le solstice d'été :

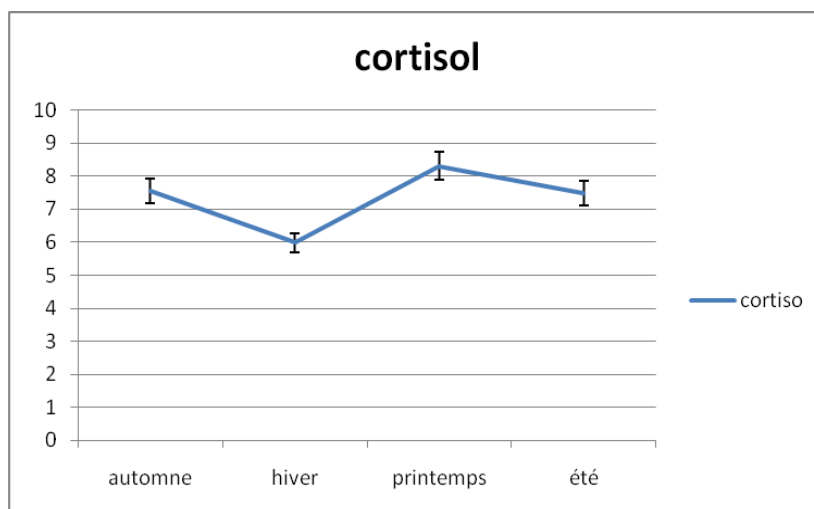


**Figure 63** : Variations nycthémerales moyennes de la cortisolémie au solstice d'été chez le bélier Ouled Djellal élevé dans la région d'El Méniaa.

La courbe moyenne montre que ; la concentration plasmatique en cortisol est nettement élevée le matin (7h) (12,695 ng/ml), elle diminue significativement ( $0,002441 < P < 0,005371$ ) à 19h (3,281 ng/ml) puis remonte significativement ( $0,00008 < P < 0,005371$ ) atteignant 5,366 ng/ml à 1h. (tableau 79 annexes B2)

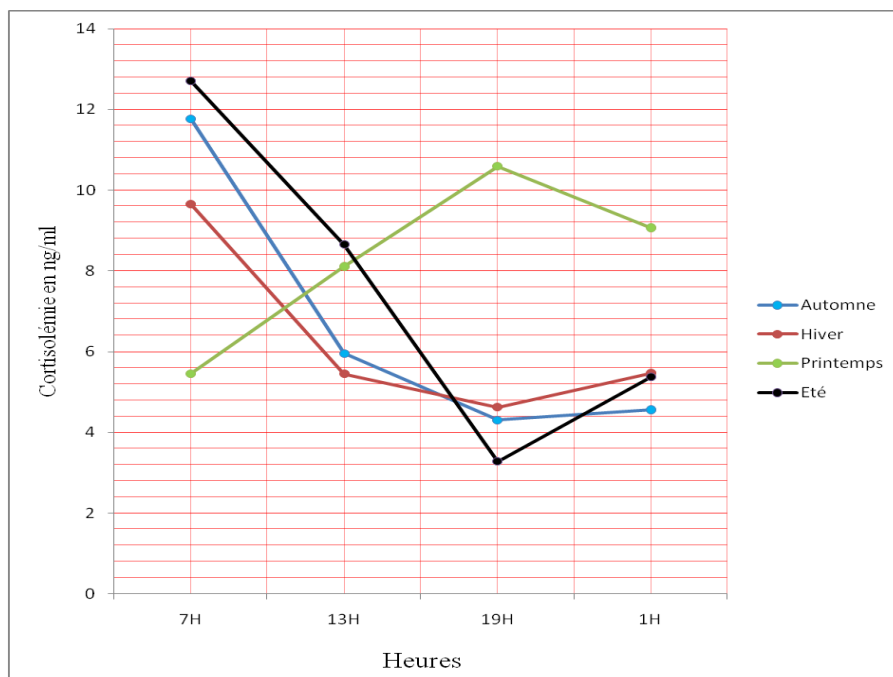
### 5. Les variations saisonnières de la cortisolémie chez le bélier Ouled Djellal:

Tous les tableaux des variations saisonnières de la cortisolémie et la signification statistique des variations saisonnières de la cortisolémie au cours du nyctémère chez le bélier Ouled Djellal sont dans l'annexe B2.



**Figure 64 :** Variations saisonnières du cortisol plasmatique chez le bélier Ouled Djellal élevé dans la région d'El Menia.

Le profil du cortisol plasmatique au cours de l'année plaide en faveur de l'existence d'un rythme saisonnier ; important au solstice du printemps et faible au solstice d'hiver.



**Figure 65 :** Variations nyctémérales de la cortisolémie chez le bélier Ouled Djellal élevé dans la région d'El Méniaa au cours des saisons.

La courbe moyenne du cortisol plasmatique au cours des saisons, fait clairement ressortir l'existence de variations nyctémérales de la cortisolémie :

La valeur maximale du cortisol plasmatique est observée le matin (7h) en été (12,69ng/ml) suivi de l'automne (11,76 ng/ml), puis l'hiver (9,65ng/ml).

Une chute du cortisol plasmatique située le soir (19h) pour les saisons : été, automne et hiver, contrairement au printemps qui marque une élévation clairement visible à cette même heure. La valeur la plus basse ( $p < 0,0002$ ) est observée en été (3,28ng/ml), suivie de l'automne (4,30 ng/ml) ( $p < 0,0003$ ), puis l'hiver (4,62 ng/ml) ( $p < 0,05$ ).

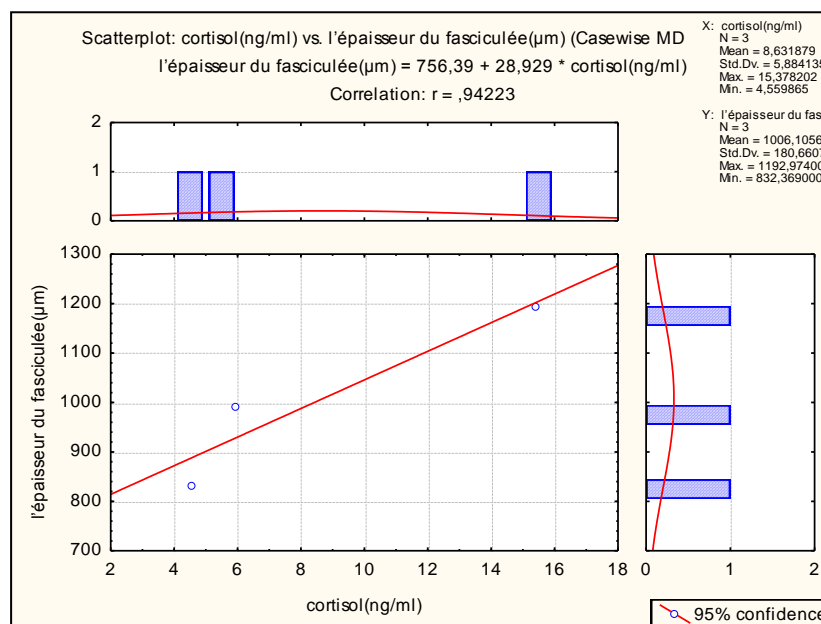
Une remonté du cortisol plasmatique est observée pour l'été et l'hiver le soir après 19h pour atteindre des concentrations similaires ( $\approx 5,4$  ng/ml) en pleins nuit (1h).

Par contre, ces teneurs en cortisol plasmatiques baissent durant le printemps après 19h (9,07ng/ml), mais reste significativement plus élevée que le reste des saisons ( $p < 0,0002$ ).

Pour la saison d'automne la cortisolémie reste pratiquement stationnaire de 19 h jusqu'à 1h, et présente la plus faible ( $p < 0,000295$ ) concentration (4,55ng/ml) parmi les quatre saisons (annexes B2 : tableau 81).

#### 1.6. Corrélation entre sécrétion du cortisol la morphométrie de la fasciculée :

Dans cette étape Nous voulons savoir y a-t-il une relation entre la concentration du cortisol plasmatique et l'épaisseur de la zone fasciculée durant la phase claire et la phase sombre.



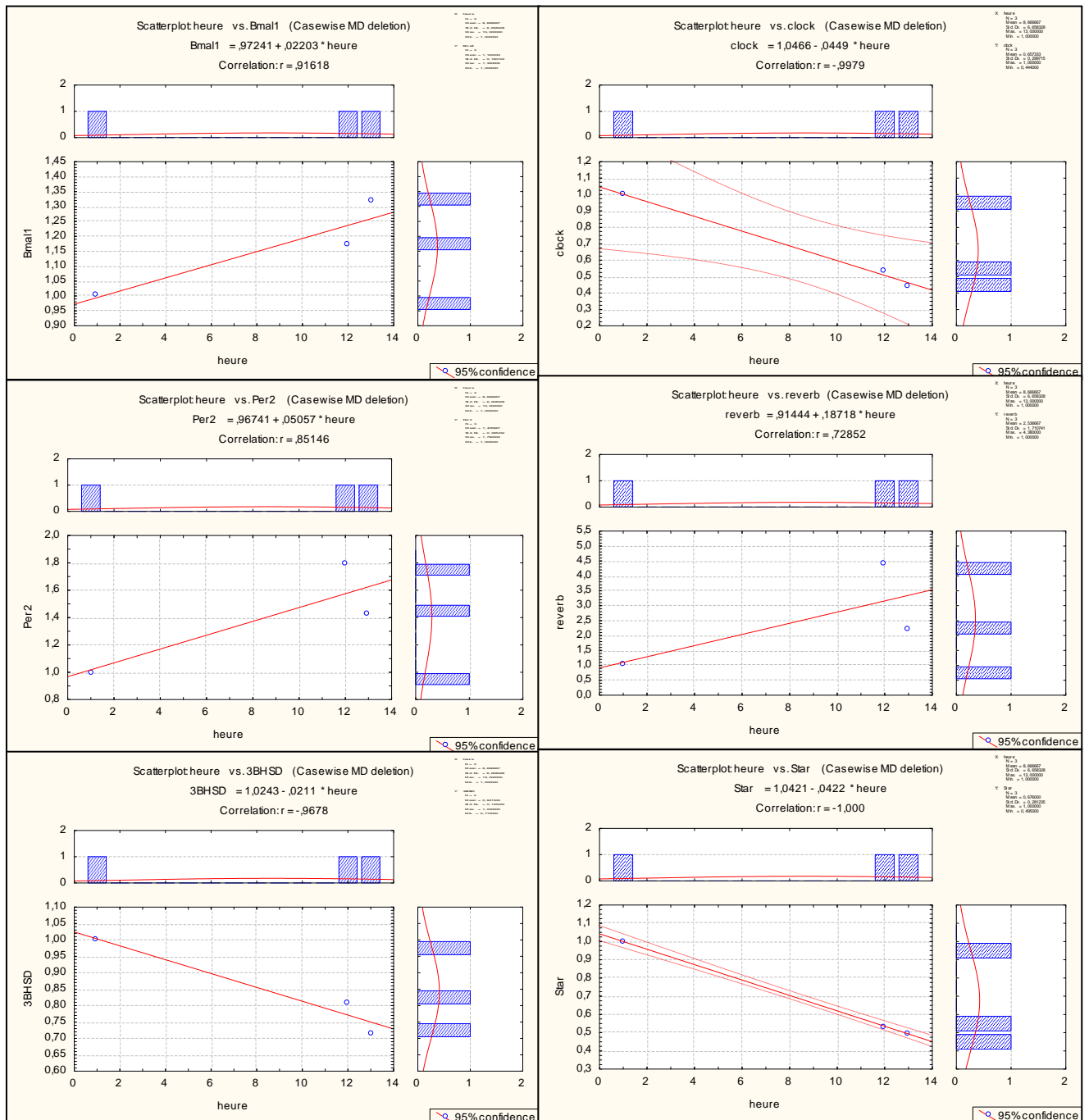
**Figure 66:** corrélation entre la concentration plasmatique du cortisol et l'épaisseur de la zone fasciculée chez le bélier de race Ouled Djellal.

**Le coefficient de corrélation  $r=0.94223$ , est proche de 1, ce qui indique une excellente corrélation linéaire positive entre la sécrétion du cortisol et l'épaisseur de la fasciculée.**

#### IV- L'expression des gènes horloge et les gènes impliqués dans la biosynthèse du cortisol au niveau de la surrénale :

Dans cette partie, nous allons présenter les éventuelles corrélations excitantes entre l'expression des gènes exprimés au niveau de la corticosurrénale (Bmal1, Clock, Per2, Reverb, Star et la 3 $\beta$ hsd ; contrôlant directement la biosynthèse et la rythmicité du cortisol) avec la morphométrie corticosurrénalienne ainsi que l'activité glucocorticoïde de la surrénale (tableau 93 , annexes C1)

##### 1. Corrélation entre l'expression des gènes et le cycle jour/nuit :



**Figure 67 :** Corrélation entre l'expression des gènes et le cycle jour/nuit chez le bélier Ouled Djellal adulte (référence OJ31)

**Bmal1 :**

Le coefficient de corrélation  $r=0,91618$ , est très proche de 1 ce qui indique une excellente corrélation linéaire positive entre l'expression de Bmal1 et le cycle lumière/obscurité.

**Clock :**

Le coefficient de corrélation  $r=-0,9979$ , est très proche de -1 ce qui indique une excellente corrélation linéaire négative entre l'expression de Clock et le cycle lumière/obscurité.

**Per2 :**

Le coefficient de corrélation  $r=0,85146$ , est très proche de 1 et indique une très forte corrélation linéaire positive entre l'expression de Per2 et le cycle lumière/obscurité.

**Reverb :**

Le coefficient de corrélation  $r=0,72852$ , est proche de 1 ce qui indique une forte corrélation linéaire positive entre l'expression de Reverb et le cycle lumière/obscurité.

**3Bhsd :**

Le coefficient de corrélation  $r=-0,9678$ , est très proche de -1 ce qui indique une excellente corrélation linéaire négative entre l'expression de la 3  $\beta$ hsd et le cycle lumière/obscurité.

**Star :**

Le coefficient de corrélation  $r=-0,1$ , est très proche de -1 ce qui indique une excellente corrélation linéaire négative entre l'expression de Star et le cycle lumière/obscurité.

2. Corrélation entre l'expression des gènes et la concentration plasmatique du cortisol :

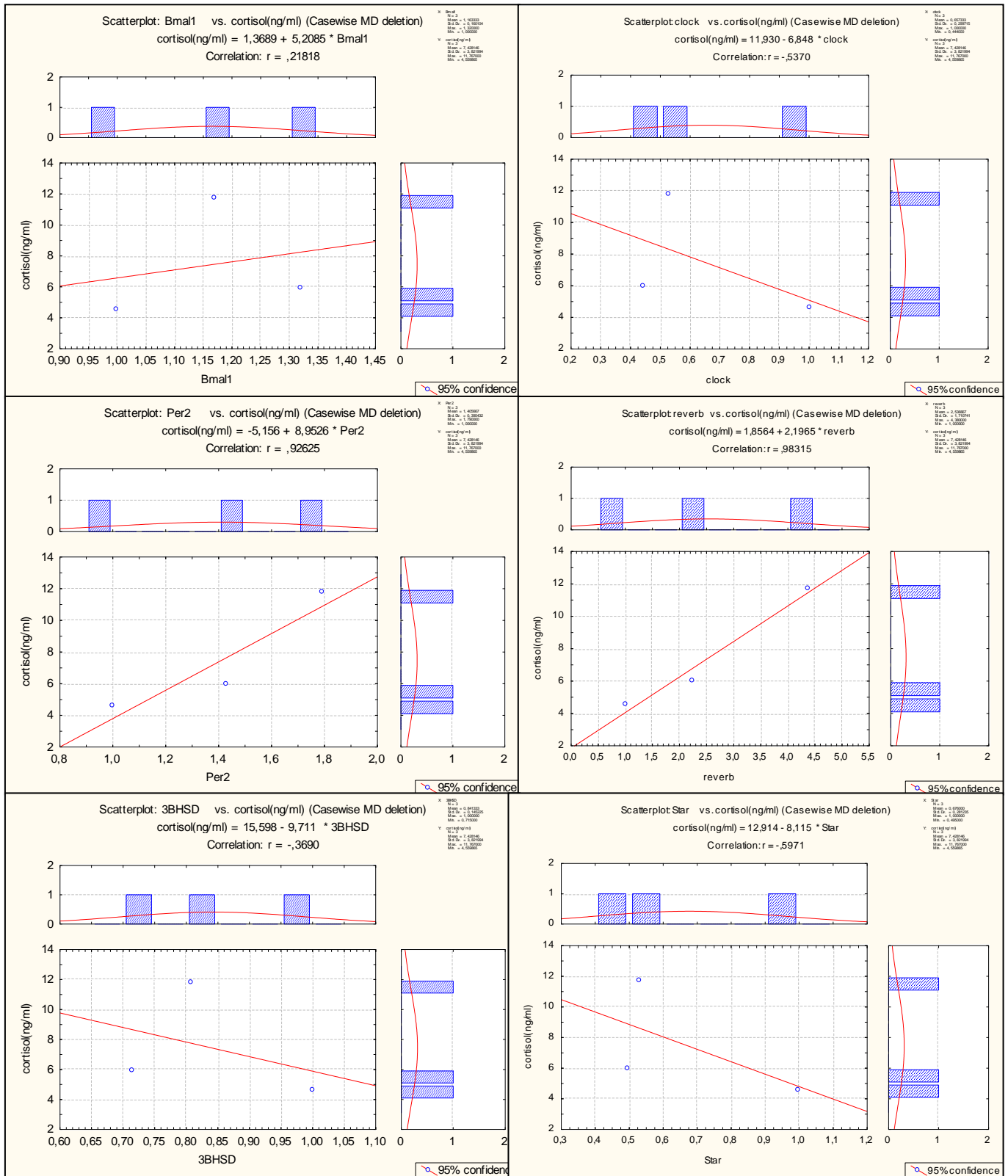


Figure 68 : Corrélation entre l'expression des gènes et la concentration plasmatique du cortisol

**Clock :**

Le coefficient de corrélation  $r=-0,5370$ , est proche de 1 ce qui indique une forte corrélation linéaire négative entre l'expression de Clock et le cycle lumière/obscurité.

**Per2 :**

Le coefficient de corrélation  $r= 0,92625$ , est très proche de 1 et indique une excellente corrélation linéaire positive entre l'expression de Per2 et le cycle lumière/obscurité.

**Reverb :**

Le coefficient de corrélation  $r=0,98315$ , est très proche de 1 ce qui indique une excellente corrélation linéaire positive entre l'expression de Reverb et le cycle lumière/obscurité.

**3Bhsd :**

Le coefficient de corrélation  $r=-0,3690$  est proche de -1 ce qui indique une faible corrélation linéaire négative entre l'expression de la 3  $\beta$ hsd et le cycle lumière/obscurité.

**Star :**

Le coefficient de corrélation  $r=-0,5971$ , est très proche de -1 ce qui indique une forte corrélation linéaire négative entre l'expression de Star et le cycle lumière/obscurité.



3. Corrélation entre l'expression des gènes et la morphométrie de la fasciculée :

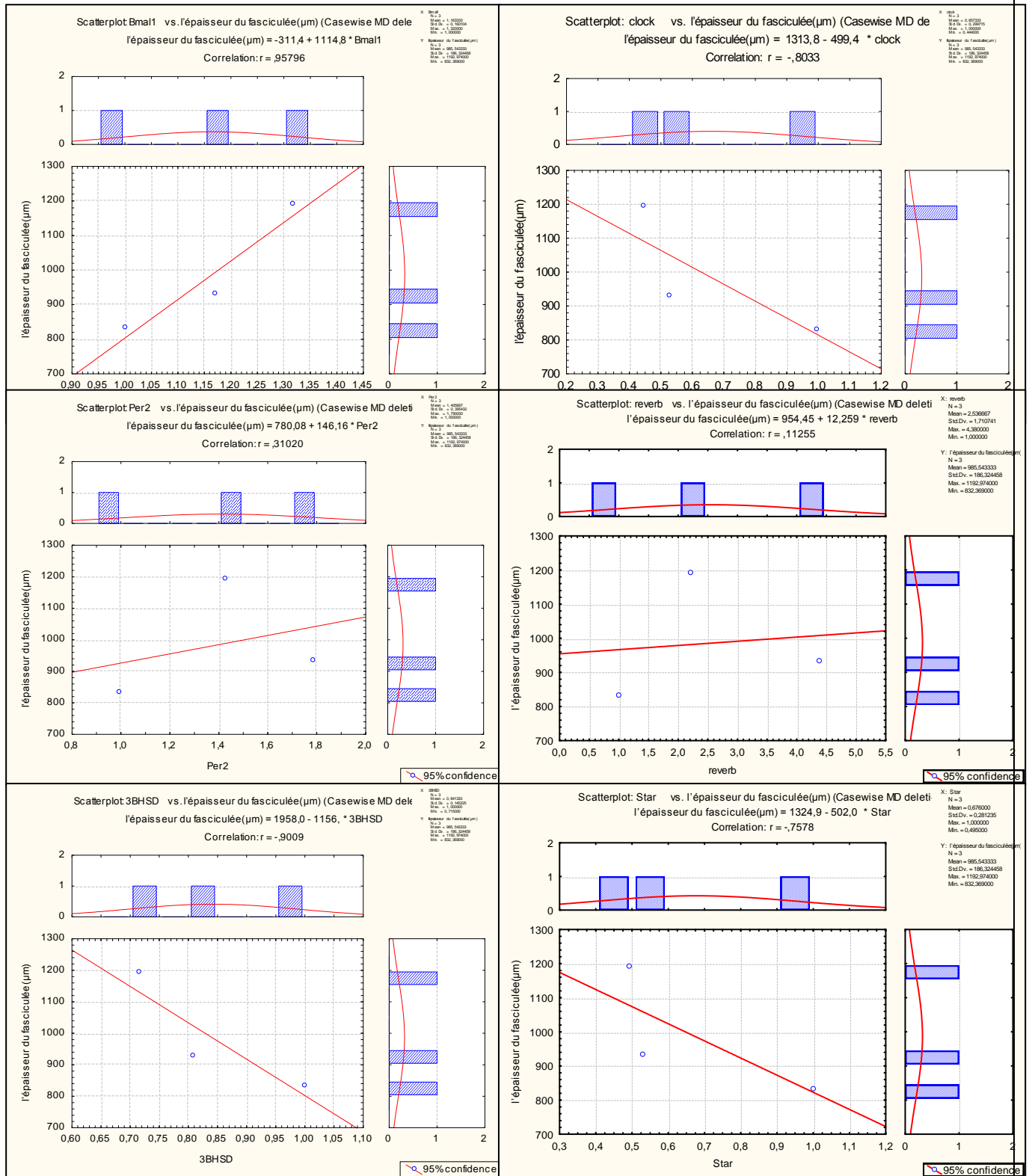


Figure 69 : Corrélation entre l'expression des gènes et la morphométrie de la fasciculée .

**Bmal1**

Le coefficient de corrélation  $r=0,95796$ , est proche de 1 ce qui indique une faible corrélation linéaire positive entre l'expression de Bmal1 et l'épaisseur de la fasciculée.

**Clock :**

Le coefficient de corrélation  $r=-0,8033$ , est proche de 1 ce qui indique une forte corrélation linéaire négative entre l'expression de Clock et l'épaisseur de la fasciculée.

**Per2 :**

Le coefficient de corrélation  $r= 0,1020$ , est proche de 1 et indique une faible corrélation linéaire positive entre l'expression de Per2 et l'épaisseur de la fasciculée.

**Reverb :**

Le coefficient de corrélation  $r=0,11255$ , est proche de 1 ce qui indique une faible corrélation linéaire positive entre l'expression de Reverb et l'épaisseur de la fasciculée.

**3Bhsd :**

Le coefficient de corrélation  $r=-0,9009$  est très proche de -1 ce qui indique une excellente corrélation linéaire négative entre l'expression de la 3  $\beta$ hsd et l'épaisseur de la fasciculée.

**Star :**

Le coefficient de corrélation  $r=-0,7578$ , est proche de -1 ce qui indique une forte corrélation linéaire négative entre l'expression de Star et l'épaisseur de la fasciculée.

### **C. Étude comparative de la corticosurrénale chez les deux races ovines D'Man et Ouled Djellal**

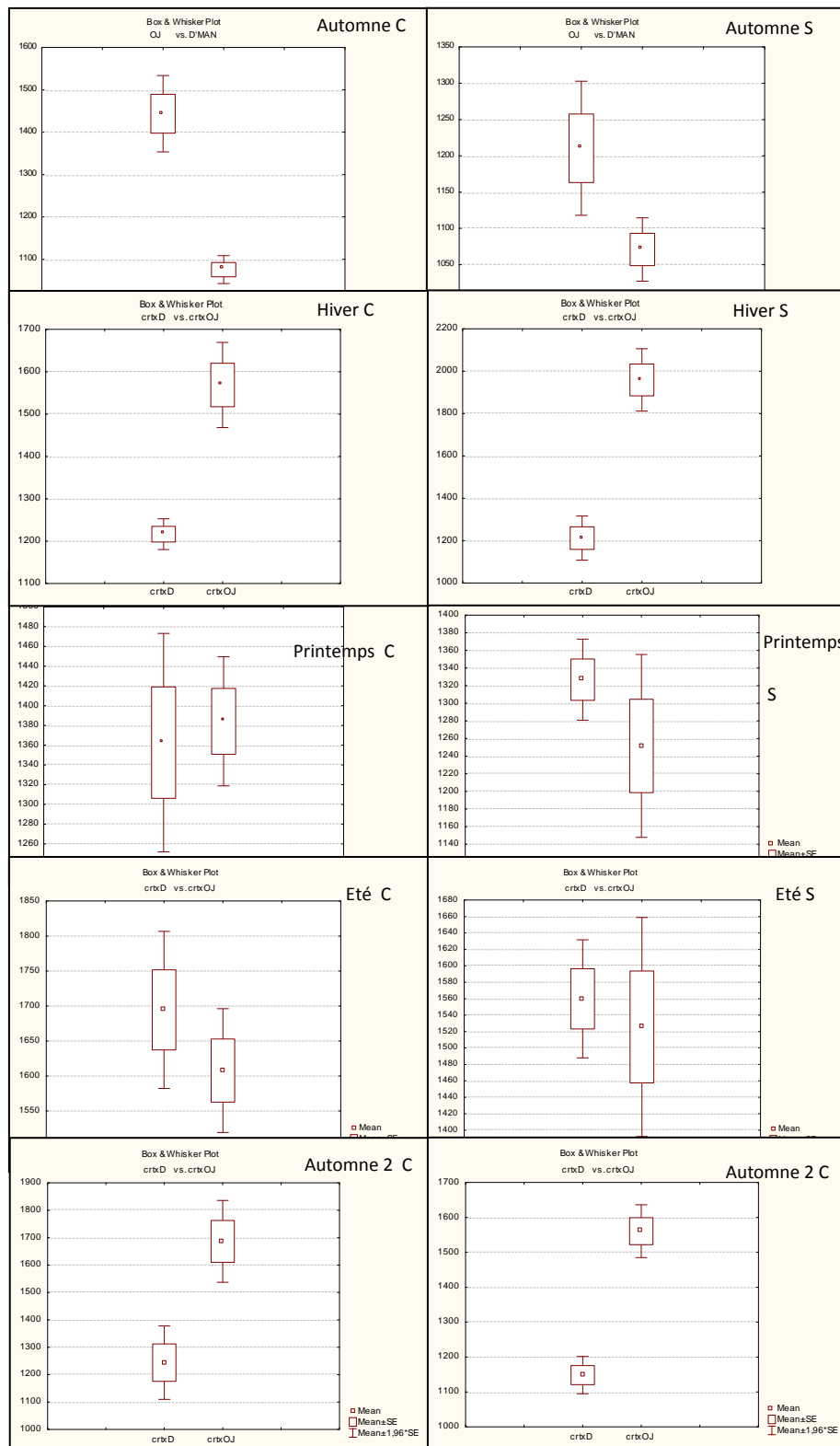
Dans cette partie, nous allons comparer la morphométrie et l'activité glucocorticoïde de la surrénale chez les deux races ovines D'Man et Ouled Djellal, au cours du nyctémère des différentes saisons.

#### **I- Étude histo-morphométrique de la surrénale**

##### **1- Le cortex :**

La figure ci-dessous montre une corticosurrénale du bélier Ouled Djellal beaucoup plus volumineuse que celle du bélier D'Man signalant une différence hautement significative ( $p=0.0000$ ) pour l'équinoxe d'automne et le solstice d'hiver au cours des deux phases claire et sombre.

Par contre, au solstice d'été et à l'équinoxe du printemps l'épaisseur de la corticosurrénale du bélier D'Man augmente de taille pour atteindre celle du bélier Ouled Djellal durant les deux phases lumineuses (les tableaux : 82,83,84,85,86 ; annexes B3)



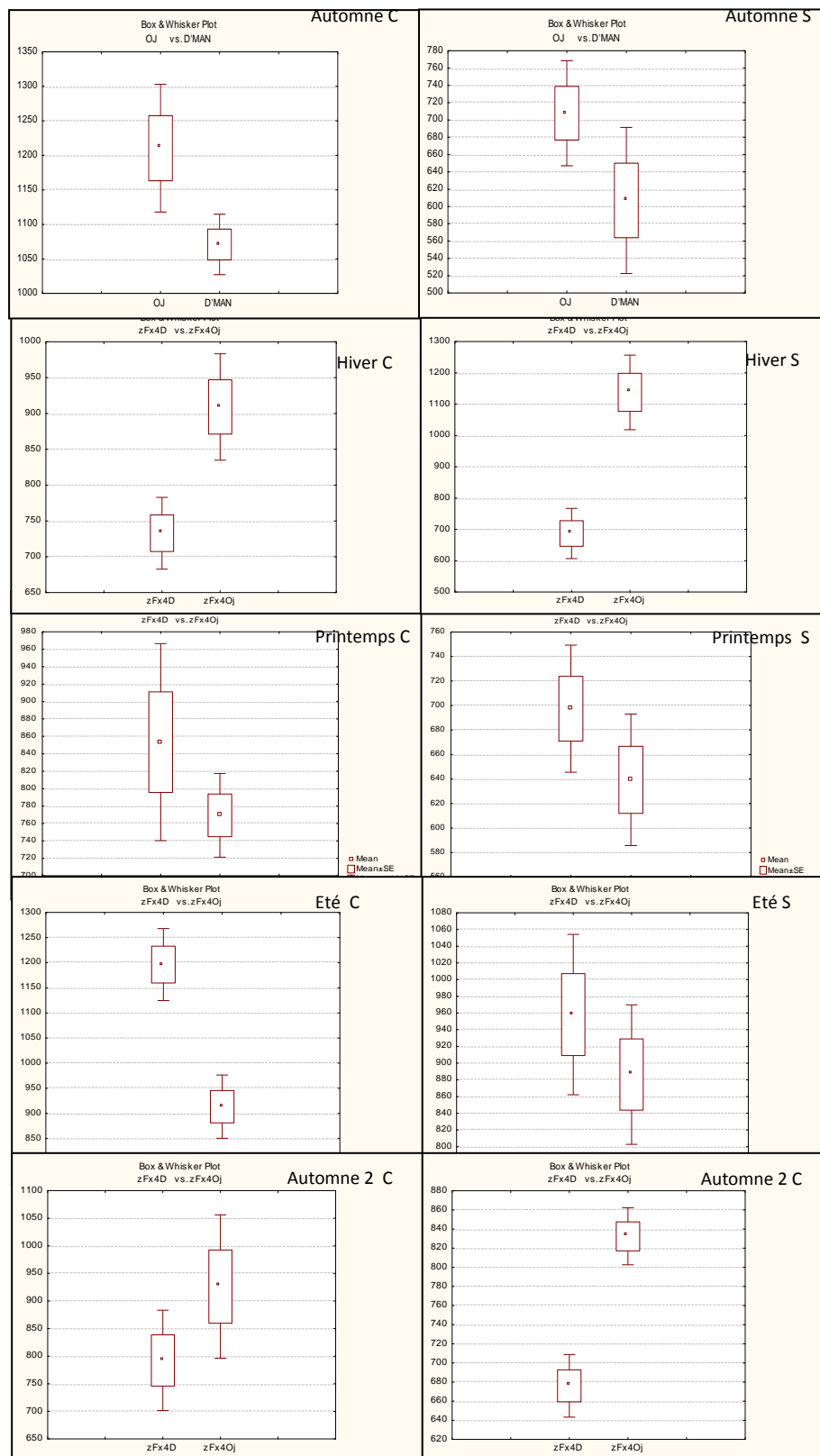
**Figure 70:** les variations morphométriques du cortex surrénalien en phases claire et sombre au cours des saisons chez les béliers de race Ouled Djellal et D'man élevés dans la région d'El Meniaa.

## 2- La zone fasciculée

Les résultats morphométriques de la corticosurrénale chez les deux races ovines montrent, l'intime relation entre l'épaisseur corticale et l'épaisseur de la zone fasciculée. En effet, c'est la variation de l'épaisseur fasciculaire qui induit la variation de la l'épaisseur corticale et cela dans le sens augmentation ou diminution.

Comme déjà souligné pour l'épaisseur du cortex, celle de la fasciculaire se trouve plus importante chez la race Ouled Djellal par rapport à la fasciculaire de la race D'Man et cela pour les mêmes saisons déjà signalés (automne et hiver) avec une différence hautement significative au cours des deux phases lumière/obscurité.

Toute fois, la zone fasciculaire du bélier D'Man semble augmenter de taille pour atteindre celle du bélier Ouled Djellal durant l'équinoxe du printemps et le dépasse significativement ( $p=0.0000$ ) à la phase claire du solstice d'été(les tableaux : 82,83,84,85,86 ; annexes B3).

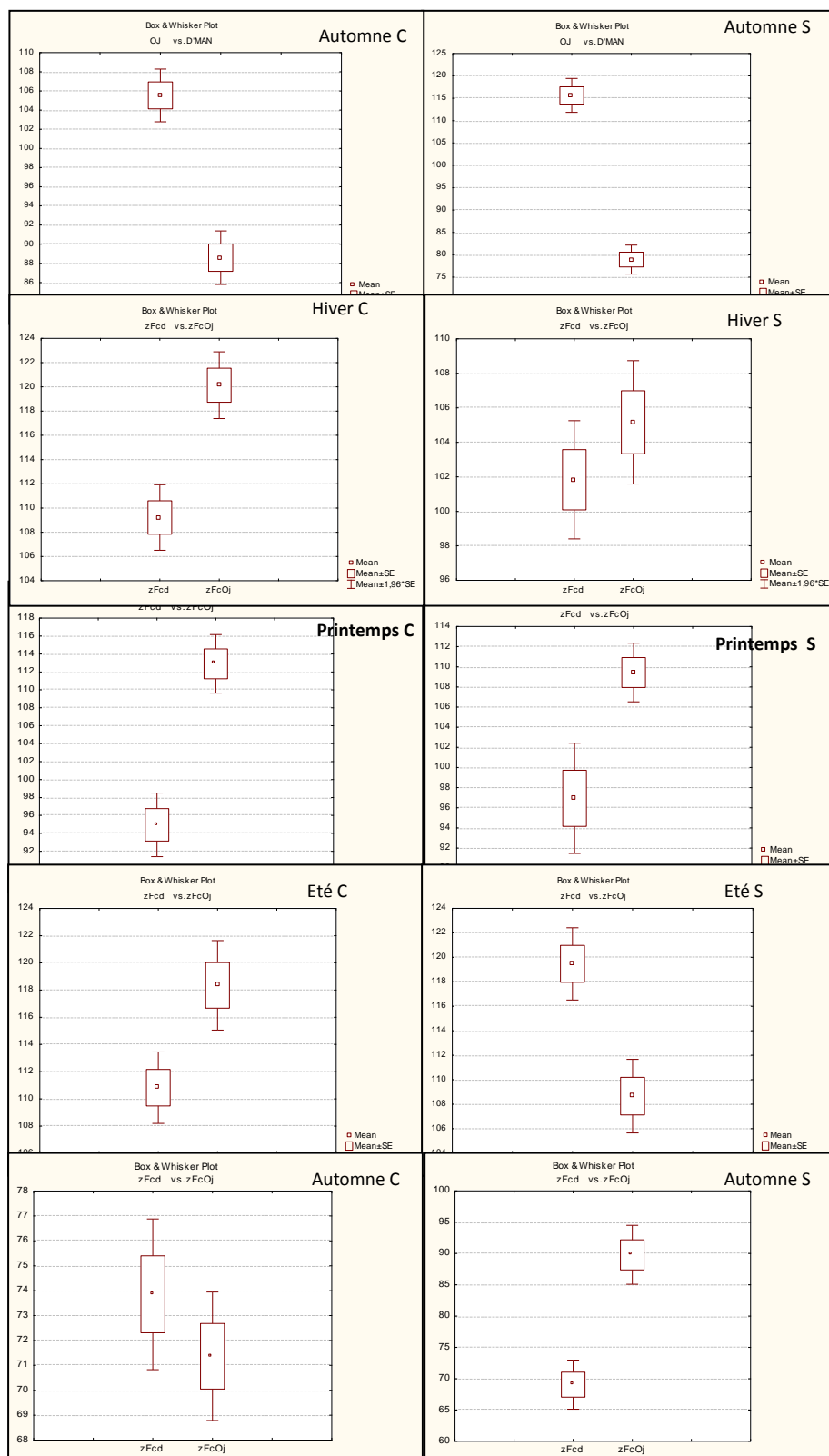


**Figure 71:** les variations morphométriques de la ZF en phases claire et sombre et au cours des saisons chez les béliers de race Ouled Djellal et D'man élevés dans la région d'El-Méniaa.

### 3- La surface cellulaire

Nos résultats, indiquent que la variation de l'épaisseur fasciculaire serait due essentiellement à la variation de la surface cellulaire. Ceci dit, la cellule fasciculaire du bélier Ouled Djellal présente une surface plus importante que celle du bélier D'Man ; en équinoxe d'automne ( $p=0.0000$ ), au solstice d'hiver ( $p=0.0000$ ), à l'équinoxe du printemps ( $p=0.0000$ ) et à la phase claire du solstice d'été.

Cependant, durant la phase sombre du solstice d'été, la cellule de la fasciculée du bélier D'Man augmente significativement ( $p=0.0000$ ) (les tableaux : 82,83,84,85,86 ; annexes B3).



**Figure 72:** les variations morphométriques de la surface cellulaire de la ZF en phase claire et en phase au cours des saisons chez les béliers de race Ouled Djellal et D'man élevés dans la région d'El-Méniaa.



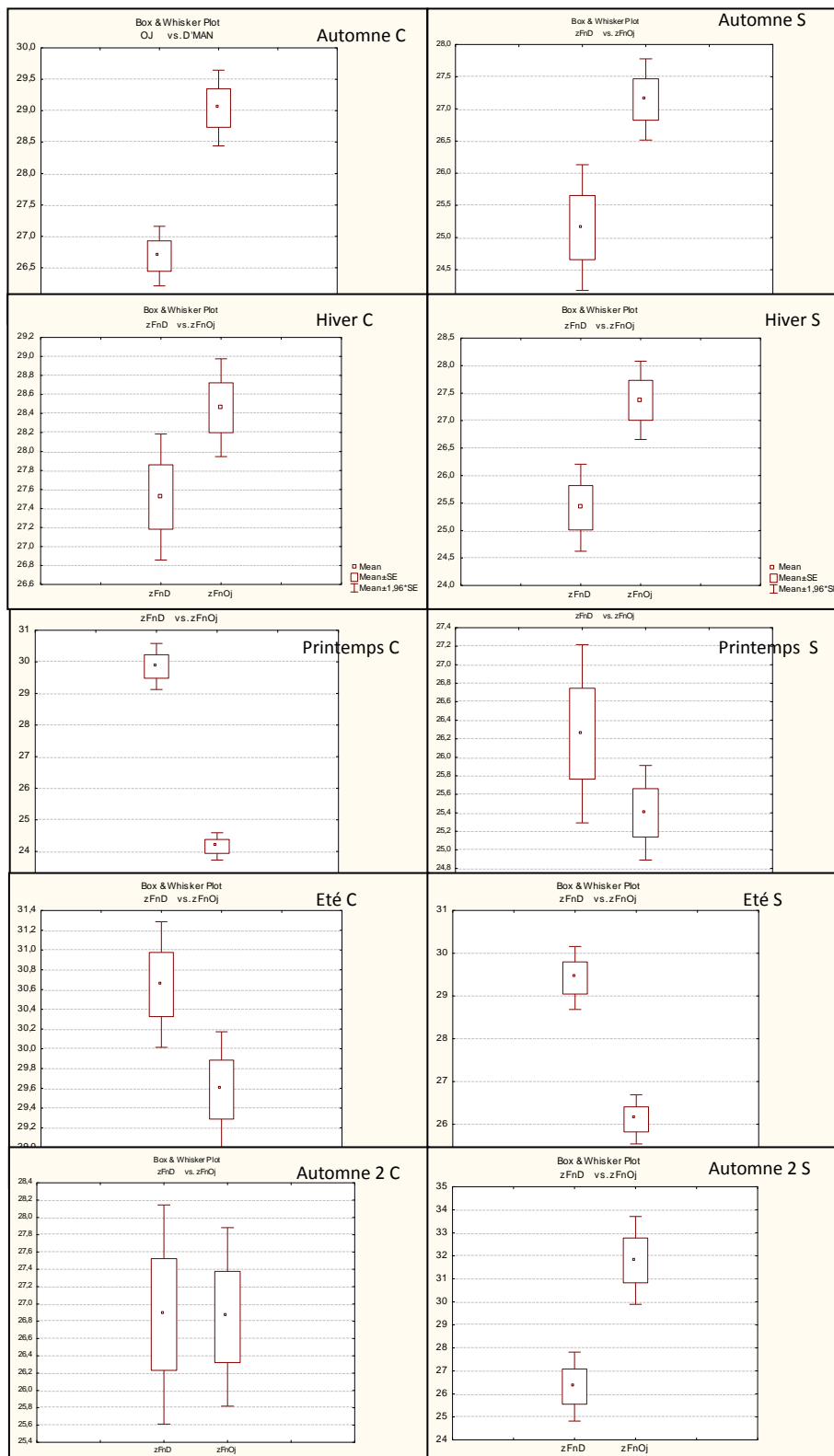
#### 4- La surface du noyau

L'activation cellulaire se traduit par l'augmentation nucléaire, dans ce sens l'augmentation de la cellule fasciculaire est accompagnée de l'augmentation de son noyau.

Des variations importantes sont perçues dans la taille nucléaire en fonction du cycle jour/nuit et en fonction des saisons. De plus, ces variations existent entre les deux races ovines.

A l'équinoxe d'automne le noyau du bélier Ouled djellal ne varie pas en fonction du cycle jour/nuit par contre le noyau du bélier D'Man augmente significativement ( $p=0.0000$ ) en phase claire dépassant la taille nucléaire du bélier Ouled Djellal.

La surface nucléaire du bélier D'Man demeure significativement plus importante par rapport à celle du bélier Ouled Djellal pour l'ensemble des saisons, hormis la phase sombre de l'automne et la saison d'hiver (les tableaux : 82,83,84,85,86 ; annexes B3).

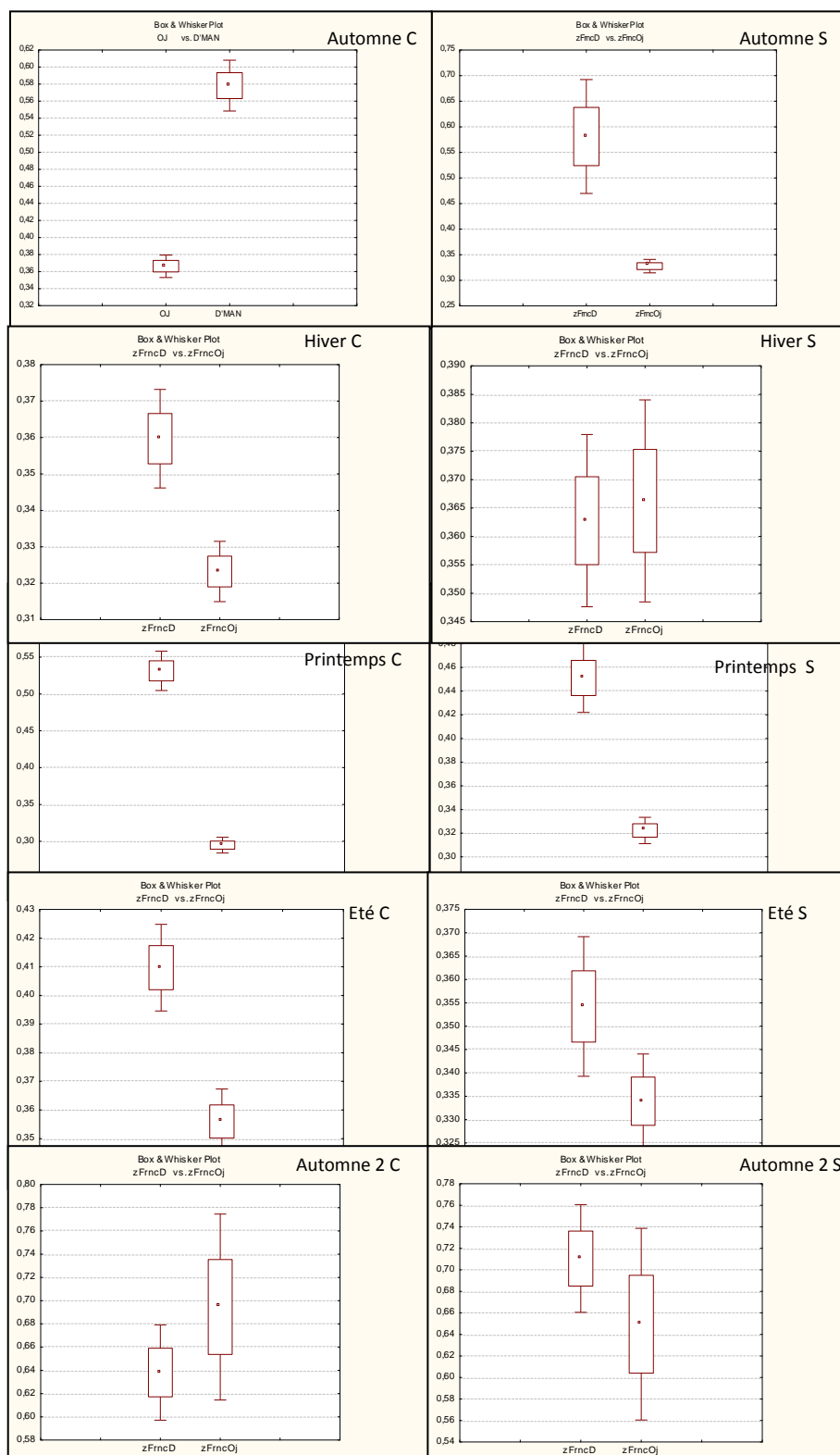


**Figure 73:** les variations morphométriques de la surface du noyau de la cellule fasciculaire en phases claire et sombre et au cours des saisons chez les béliers de races Ouled Djellal et D'man élevés dans la région d'El-Méniaa.

### 5- Le rapport nucléo-cytoplasmique

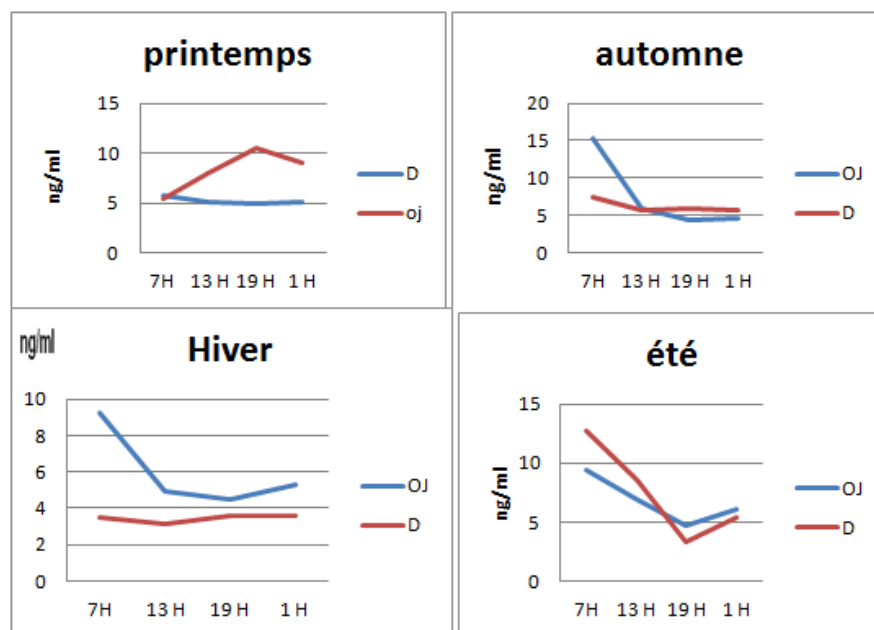
Plus le rapport nucléo-cytoplasmique est petit plus la cellule est active.

Le rapport nucléocytoplasmique de la cellule fasciculaire du bélier Ouled Djellal se trouve plus petit que celui du bélier D'Man pour l'ensemble des saisons , sauf durant la phase claire de l'automne 2 (les tableaux : 82,83,84,85,86 ; annexes B3).



**Figure 74:** les variations du rapport N/C de la ZF en phases claire et sombre au cours des saisons chez les béliers de races Ouled Djellal et D'man élevés dans la région d'El-Méniaa.

## II- Activité glucocorticoïde de la surrénale

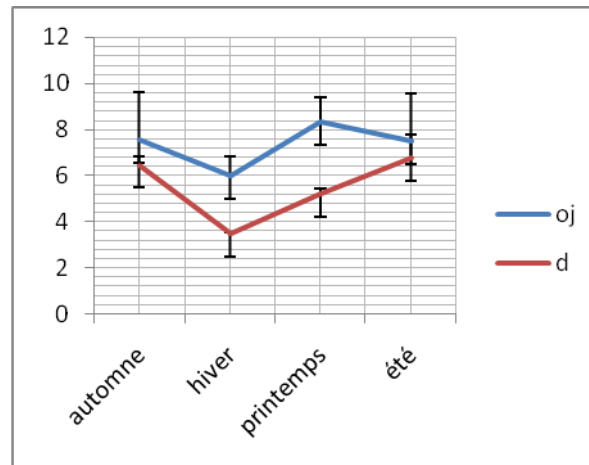


**Figure 75** : Variations du cortisol plasmatique en fonction du cycle jour/nuit chez les béliers de races D'Man et Ouled Djellal élevés dans la région d'El Meniaa.

La race Ouled Djellal, montre un profil constant du cortisol plasmatique caractérisé par une valeur élevée le matin (7h) diminue l'après midi (13h) et reste basse le reste du nyctémère. les variations de la cortisolémie sont plus évidente durant l'automne, l'hiver et l'été. Par contre il semble exister un décalage dans le rythme de sécrétion du cortisol à l'équinoxe du printemps (pic au alentour du crépuscule).

Pour la race D'Man, durant les équinoxes de l'automne et du printemps et le solstice hivernale aucune variation n'est noté. Alors qu'un rythme de sécrétion du cortisol est

bien défini durant le solstice d'été et semblable à celui du bélier Ouled Djellal, marqué par une élévation remarquable la matin qui diminue le reste du nyctémère.



**Figure 76 :** Variations saisonnières du cortisol plasmatique chez les béliers de races D'Man et Ouled Djellal élevés dans la région d'El Meniaa

Les deux courbes saisonnières de la cortisolémie sont presque similaires chez les deux races ovines. Toute fois, l'activité glucocorticoïde la race Ouled Djellal est caractérisée par un rythme saisonnier important à l'équinoxe du printemps et faible au solstice d'hiver.

La race D'Man se caractérise par une activité glucocorticoïde importante au solstice d'été et très faible au solstice d'hiver.

Il est remarquable de signaler que l'activité glucocorticoïde de la surrénale du bélier Ouled Djellal demeure significativement importante par rapport à celle du bélier D'Man au cours de toutes les saisons.

Les résultats de ce travail, portent sur l'étude de l'influence des facteurs exogènes (l'intensité lumineuse et la photopériode) et endogènes (gènes exprimés dans la surrénale) sur l'activité corticosurrénalienne chez les béliers de races D'man et Ouled Djellal adultes élevés dans la région d'El Meniaa.

Les résultats obtenus concernent :

- La morphométrie du cortex surrénalien,
- Le profil du cortisol plasmatique et,
- L'expression des gènes horloge et les gènes des enzymes de biosynthèse du cortisol.

**1. L'épaisseur du cortex surrénalien**, est plus développée en phase claire qu'en phase obscure au cours des équinoxes et solstice caractérisée ; caractérisé par une épaisseur maximale, en été/printemps et relativement faible en automne/hiver chez les races D'man et Ouled Djellal. L'augmentation de l'épaisseur du cortex est due essentiellement, à celle de l'épaisseur fasciculaire puisque elle occupe le plus grand pourcentage. Alors que l'augmentation de cette dernière, suit parfaitement l'augmentation des surfaces de ses cellules et noyaux.

Il paraît que ces variations, peuvent être entraînées par la lumière et la photopériode chez la plus part des espèces vertébrés (**Woodly et al., 1973**). L'épaisseur du cortex varie en fonction de la saison en relation avec la durée du jour : elle est très développée quand la photopériode est longue (été), et plus faible quand la photopériode est courte (hiver), nos résultats sont similaires aux résultats retrouvés chez le porc (**Becker et al., 1985**) et la chèvre (**Alila-Johanasson et al., 2003**). Et se trouvent opposés à ceux de **Malpaux et al., (1996)** qui

rapporte que chez le bélier, l'épaisseur du cortex est très importante au automne et faible en printemps.

**De cette étude nous signalons, l'intime relation entre l'épaisseur corticosurrénalienne et l'épaisseur de la zone fasciculée dont l'activité glucocorticoïde.**

**2- l'activité glucocorticoïde se trouve très importante durant la phase claire pour tous les solstices et équinoxes.**

Chez le lapin viscacha (*Lagostomus maximus maximus*), plusieurs études admettent que la phase et la période du rythme biologique interne entrainées au cycle normal de 24h jour-nuit par le synchroniseur le plus puissant, la lumière du jour (**Challet, 2004**).

Les résultats de **Mesbah (1978)**, rapportent que l'activité glucocorticoïde était soumise à d'importantes variations nyctémérales, caractérisées par des valeurs importantes la matinée (6 h) et en début d'après-midi (12h) entre et des valeurs plus basses la nuit, quelles que soit la saison (début de l'été ou fin de l'automne) et quelles que soit la race (Ouled Djellal, Tadmit ou croisés).

Chez l'ovin, (**Mc Natty et al., 1975**) décèlent en un pic à 16 heures, toutefois, chez le bovin, **Wagner et al., (1972)** mettent en évidence des faibles teneurs entre 18 et 20 heures. En **1972, Mc Adam et al.**, observent un pic sécrétoire au début de la matinée entre 4 heures et demie et 6 heures et demie ; ces valeurs tendent ensuite à diminuer au cours de l'après-midi et le soir. Le profil d'évolution hormonale du mouton est analogue à celui des autres espèces à activité diurne. Des rythmes circadiens de la cortisolémie identiques à celui du mouton, avec valeurs élevées le matin et basse en fin d'après-midi, ont été décrites chez le chien (**Rijnberk et al, 1968**), le porc (**Whipp et al., 1970 ; Topel et al., 1973**) , le cheval (**Zolovick et al., 1966 ; James et al., 1970 ; Hoffis et al., 1970 ; Bottoms et al., 1972**) , et l'homme (**Fatman**



*et al.*, 1971 ; Krieger *et al.*, 1971 ; Weitzman *et al.*, 1971 ; Gallagher *et al.*, 1973 ; West *et al.*, 1973).

L'augmentation de la concentration du cortisol suggère que l'activité de la zone fasciculée est en relation directe, avec la lumière durant la phase claire. Ceci a été déjà signalé par les travaux de **Amokrane (2005)** qui a rapporté que la concentration des glucocorticoïdes est relativement élevée le jour et faible la nuit chez le bélier D'Man. suggérant que la lumière agirait comme stimulateur sur l'activité glucocorticoïde et que l'obscurité l'inhibe efficacement à différents moments de l'année.

**De plus, l'activité glucocorticoïde est caractérisée par un rythme saisonnier :**

- **Important à l'équinoxe du printemps et faible au solstice d'hiver pour la race Ouled Djellal**
- **Important au solstice d'été et très faible au solstice d'hiver pour la race D'Man.**

Au Sahara algérien, le rat des sables *Psammomysobesus* est caractérisé par une activité glucocorticoïde maximale en automne (**Amirat *et al.*, 1980 ; Amirat et Brudieux, 1993**). Au niveau de la même région saharienne, le dromadaire *Camelus dromedarius* présente un rythme saisonnier de l'activité glucocorticoïde importante en été, en automne et en hiver et des valeurs plus basses au printemps (**Khaldoun *et al.*, 1999**).

**Les variations saisonnières en glucocorticoïdes totaux plasmatiques chez le bélier de race Ouled Djellal, sont caractérisées par des valeurs fortes au printemps-été, diminuées en automne et relativement faibles en hiver.** Nos résultats concordent avec ceux de **Khammar, (1977)** qui rapporte que les mammifères des zones désertiques étudiés semblent présenter pour la plupart, des variations saisonnières de la fonction surrénalienne avec un minimum en automne-hiver et maximum au printemps-été.

Contrairement chez le Renne, les valeurs en glucocorticoïdes sont plus élevées en hiver qu'en été (**Ringberglund-Larsen et al., 1977**). chez le cerf à queue blanche (**Bubenick et al., 1975, 1983, 1984**), chez le mérion (**Bennani-Kabchi, 1988**) et chez le rat des sables (**Amirat, 1989**) ; ces variations peuvent être dues aux variations des facteurs climatiques et photopériodiques.

- **En outre, l'activité glucocorticoïde de la surrénale du bélier Ouled Djellal demeure significativement importante par rapport à celle du bélier D'Man au cours de toutes les saisons. Ceci est confirmé par la réduction du rapport nucléocytoplasmique chez la race Ouled Djellal et son augmentation chez la race D'Man.**

D'après nos résultats, les teneurs plasmatiques retrouvées chez la race D'Man varient entre 3.1 et 9.3ng/ml, chez la race Ouled Djellal elles varient entre 3.2 et 13 ng/ml. Des valeurs nettement plus élevées (15.4ng/ml) sont retrouvées chez le bélier de race Tadmit (**Mesbah, 1978**), alors qu'elles sont nettement plus élevées (60.3 ng/ml) chez le bélier issu de croisement Romanov-Ouled Djallal (**Mesbah, 1978**). D'autres auteurs signalent des valeurs plus faibles que celles retrouvées chez le bélier d'Man: entre 0.2 et 10ng/ml, (**Mc Natty et al., 1972**) et entre 3.54 et 5.94 ng/ml (**Holley et al., 1975**) ; comparées à celles de la plupart des autres espèces, elles sont nettement plus faibles : 73.6 ng/ml chez le chevreuil (**Seal et al., 1983**), 9.6 à 45 ng/ml chez le dromadaire (**Ait-Iftene, 1986**) et entre 25 et 42 ng/ml chez la gazelle (**Howard et al., 1983**).

**Les résultats de l'expression génique montrent :**

- **Une forte expression de : Clock, Bmal1, 3βhsd et Star pendant la phase nocturne**
- **Une importante expression de Per2 et de Reverb pendant la phase diurne.**

Dans la présente étude, nous avons réalisé l'expression des gènes :  $3\beta$ hsd et Star impliqués dans la synthèse du cortisol, qui indiquent une expression maximale à 2h du matin (respectivement : 1.88 ng/ $\mu$ g, 1.63 ng/ $\mu$ g) chez la race D'Man ; et (1ng/ $\mu$ g, 1 ng/ $\mu$ g) chez Ouled Djellal. Des résultats similaires ont été signalés chez le capucin (**Torres-Farfan, Valenzuela, 2008**).

**Nous rapportons aussi, l'existence de corrélations significatives entre le facteur externe, l'expression génique, la structure surrénalienne et l'activité glucocorticoïde de la surrénale chez les deux races ovines.**

Les deux races D'man et Ouled Djellal montrent une expression relativement élevée du gène Clock pendant l'obscurité : 1ng/ $\mu$ g (1h) chez l'Ouled Djellal et 3.32 ng/ $\mu$ g (2h) chez la D'man.

Et plutôt une faible expression pendant la phase claire : 0.44ng/ $\mu$ g chez Ouled Djellal et 1.35 ng/ $\mu$ g chez la D'Man. Ces résultats se rapprochent avec ceux de **Valenzuela et Torres Farfan, (2008)** qui signalent une forte expression du gène Clock pendant l'obscurité chez le capucin adulte. Sont rapportés aussi chez la drosophile (**Knopka et Benzer, 1971**), chez la souris (**Vitateretna et al., 1994**), chez le rat, la souris et le hamster doré (**Tei et al., 1997**), et chez les souris mutant (**Doi et al., 2006**).

L'expression de Bmal1 se trouve relativement importante pendant l'obscurité (1.32 ng/ $\mu$ g) à chez la Ouled Djellal (1h) et (3.028 ng/ $\mu$ g) chez la D'man (2h). ce qui a déjà été montré chez les rates et les souris (**Honma et al., 1998 ; Tamau et al., 2000 ; Maywood et al., 2003**) ainsi que chez la mouche et les mammifère (**Yuanq et al., 2007**).

La présente étude montre aussi une expression élevée des gènes Per2 et Reverb pendant la phase claire chez les 2 races D'Man et Ouled Djellal, des résultats comparables

ont été signalé chez la souris (Bittman EL et al. ;2003 ; Watanabe T et al . ;2006) et chez les capucins (Valenzuela et Torres, 2008). Chez les rongeurs l'ARNm de Per2 est exprimé rythmiquement dans les NSC avec un niveau élevé le Jour (Sun et al., 1997 ; Maywood et al ., 2003 ; Mendoza et al., 2007 ; Ansari et al., 2009).

**Nous rapportons aussi, l'existence de corrélations significatives entre le facteur externe, l'expression génique, la structure surrénalienne et l'activité glucocorticoïde de la surrénale.**

D'autres parts, nos résultats montrent, que la concentration du cortisol est très importante en saison estival dont une épaisseur importante de la ZF, faible au printemps et très faible en automne et hiver (épaisseur réduite de la ZF) chez la D'man. Une forte concentration le matin en saison estival et le soir en printemps chez la Ouled Djellal qui coïncide avec une épaisseur importante de la zone fasciculée, ce qui met en évidence l'interrelation entre l'hyper trophie de la ZF et l'augmentation de la sécrétion du cortisol.

Il est bien établi que, en fonction des saisons, les variations de l'ensoleillement sont capables de modifier le rythme de sécrétion des glucocorticoïdes (Cutalo et al., 2005). Il y a une densité très importante de récepteurs aux glucocorticoïdes au niveau des NSC. Ainsi, la glande surrénale est un organe intéressant pour étudier l'effet des variations nyctémérales et saisonnières de la sécrétion des glucocorticoïdes aussi bien du point de vue moléculaire que physiologique. En effet, l'expression des gènes horloge dans cet organe est contrôlée par les SCN *via* un message humoral (Guo et al., 2005) qui pourrait être responsable de la sécrétion rythmique des glucocorticoïdes (Balsalobre et al., 2000).

Le présent travail porte sur la régulation exercées par les facteurs internes (gènes de contrôle de la biosynthèse et de la rythmicité du cortisol) et les facteurs externes, représentés essentiellement par le cycle lumière/obscurité et la photopériode saisonnière, sur la fonction corticosurrénalienne des deux races ovines D'Man et Ouled Djellal élevé dans la région d'El Meniaa, espèce particulièrement adaptée au climat saharien.

**1-** D'abord les résultats de l'expression génique montrent :

- Une forte expression de : Clock, Bmal1, 3βhsd et Star pendant la phase nocturne
- Une importante expression de Per2 et de Reverb pendant la phase diurne.

**2-** Ensuite, les résultats morphométriques rapportent :

- Des variations de l'épaisseur de la corticosurrénale qui se trouve plus développée en phase claire qu'en phase sombre pour l'ensemble des équinoxes et solstices.
- Le cortex surrénalien subit aussi des variations morphométriques au cours de l'année caractérisées par : un maximum en été/printemps et un minimum en hiver/automne chez les deux races ovines D'Man et Ouled Djellal.
- Toutes fois, il est important de signaler que le volume corticale, la fasciculaire ainsi que la surface de la cellule fasciculaire se trouvent significativement plus importants chez la race Ouled Djellal par rapport à la race D'Man au cours du nyctémère et de la saison.
- D'autre part, nous confirmons l'intime relation de l'épaisseur du cortex surrénalien et celle de la ZF dont l'activité glucocorticoïde ; la ZF occupe la plus grande surface du cortex surrénalien et elle est responsable de la production et la sécrétion du cortisol.

**3-** l'activité glucocorticoïde se trouve très importante durant la phase claire pour tous les solstices et équinoxes.

De plus, l'activité glucocorticoïde est caractérisée par un rythme saisonnier :

- Important à l'équinoxe du printemps et faible au solstice d'hiver pour la race Ouled Djellal
- Important au solstice d'été et très faible au solstice d'hiver pour la race D'Man.
- Il est remarquable de constater que l'activité glucocorticoïde de la surrénale du bélier Ouled Djellal demeure significativement importante par rapport à celle du bélier D'Man au cours de toutes les saisons. Ceci est confirmé par la réduction du rapport nucléo- cytoplasmique chez la race Ouled Djellal et son augmentation chez la race D'Man.

**4-** Enfin, nous rapportons l'existence de corrélations significatives entre le facteur externe, l'expression génique, la structure surrénalienne et l'activité glucocorticoïde de la surrénale.

A partir de ces résultats, il semble que l'intensité lumineuse et la photopériode présentent un puissant effet sur la synchronisation des gènes exprimés au niveau de la corticosurrénale, qui se manifeste par des changements de l'aspect histologique de la surrénale et de son activité glucocorticoïde.

Afin que notre investigation soit plus approfondie, l'étude des rythmes nycthémeraux et saisonniers de la corticosurrénale pourrait être complétée par :

- ✚ L'activité enzymatique des cellules fasciculées
- ✚ Déterminer les facteurs hormonaux hiérarchiques régulant l'activité glucocorticoïde tels que l'hormone corticotrope et la vasopressine par dosage plasmatique.
- ✚ Localisation des récepteurs androgéniques et mélatoniques au niveau de la corticosurrénale.

- **Akashi M, Tsuchiya Y, Yoshino T, Nishida E . ; 2002-** Control of intracellular dynamics of mammalian period proteins by casein kinase I epsilon (CKIepsilon) and CKIdelta in cultured cells. *Mol. Cell. Biol.* 22:1693-1703.
- **Alila-Johanasson A., Erikson L., Soveri T and Laakso M. M : 2003-** Serum cortisol levels in goats exhibit seasonal but not daily rhythmicity. *Chronobiol Int.* 20: 65-79.
- **Amirat Z., Khammar F and Brudieux R. : 1980-** Seasonal changes in plasma and adrenal concentration of cortisol, corticosterone, aldosterone and electrolytes in the adulte male sand rat (*Psammomysobesus*), *Gen. Comp. Endocrinol.*, 40: 36-43
- **AmiratetBrudieux R. : 1993-** Seasonal changes in vivo cortisol response to ACTH and in plasma and pituitary concentrations of ACTH in a desert rodent, the sand rat (*Psammomysobesus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 104 A: 29-34.
- **Amokrane A ; 2005-** Variation nycthemérales et saisonnaire de l'activité corticossurnalienne chez le bélier de race D'man élever a EL-Meniaa Alger ;145p.
- **Ansari, N., Agathagelidis, M., Lee, C., Korf, H.W. & von Gall, C. ; 2009-** Differential maturation of circadian rhythms in clock gene proteins in the suprachiasmatic nucleus and the pars tuberalis during mouse ontogeny. *Eur J Neurosci*, 29, 477-489.
- **Antoch MP, Song EJ, Chang AM, Vitaterna MH, Zhao Y, Wilsbacher LD, Sangoram AM, King DP, Pinto LH, Takahashi JS . ; 1997 -** Functional identification of the mouse circadian Clock gene by transgenic BAC rescue. *Cell* 89:655-667.
- **Antoine L., Williams RH ., Mitani F.,1993 ;** The biology of incretin hormones. *Cell Metab* 3:153-165
- **Arbouche F. ; 1978-** la race ovine D'man I :monographie de son élevage en zone saharienne II : analyse comparative de quelque parmmètre zootechnique entre la race d'man et Ouled Djellal ;84 P.



- **Barbara JG, Takeda K . ; 1995** -Voltage-dependent currents and modulation of calcium channel expression in zona fasciculata cells from rat adrenal gland. *J Physiol*; 488 ( Pt 3): 609-22.
- **Barki L 1974** – contribution à l'étude de la race D'man ,analyse des structures ovines dans les zones de Goulmima et jorf .Mémoire de fin d'étude ,école nationale d'agriculture , Meknés (Maroc).
- **Becker B. A., Nienaber J. A., Christenson R. K., Menak R. C., Deshazer J. A and Hahn G. L., 1985-** Peripheral concentrations of cortisol as indicator of stress in the pig.*Am. J. Vet. Res.*, 46: 1034.
- **Benmessaoud N . ;1992-** étude saisonnière ,par radio-immunologie de la progesteronémie et par endoscopie , de l'activité ovarienne de la brebis D'man .En Algérie ,thèse de magistère :131P.
- **Bennani-Kabchi N., 1988-** Etude saisonniere, par radioimmunologie de la progesteronémie et par endoscopie, de l'activité ovarienne de la brebis D'Man. En Algérie, These de Magister, INA, Alger : 131p.
- **Bittman EL, Doherty L, Huang L, Paroskie A . ;2003** -Period gene expression inmouse endocrine tissues. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 285:R561–R569.
- **BODEN, M. J. & KENNAWAY, D. J. ; 2006** - Circadian rhythms and reproduction. *Reproduction*, 132, 379-92.
- **Bottoms G.D., Roessrel O.F., Rausch F. et Athins E.L., 1972** - Circadian variation in plasma cortisol and corticosterone in pigs and mares .*Amer.J.Vet .Res.*, 33,963-966
- **Bouix J . ;Kadiri M . ; 1975-** un des éléments majeurs de la mise en valeur des palmeraies : la race D'man .In L'aménagement des zones arides .Paris :CHAM. Options Méditerranéennes n°26 ,87-93.

- **Boukaboul A et Moulaye K . ; 2006** – Parasitisme interne du mouton de race Ouled Djellal en zone semi-aride d'Algérie .Revue Elev. Méd.Vét.Pay Trop p : 59(1-4) :23-29.
- **Boutgayout MY A. ; 1980** – Bilan de reproduction et contrôle des deux troupeaux ovins D'man et Sardi .Thèse de doctorat vétérinaire IAV, Rabat ,Maroc . P :18,32,89.
- **Buijs RM, Kalsbeek A, van der Woude TP, van Heerikhuize JJ, Shinn S . ; 1993 a -** Suprachiasmatic nucleus lesion increases corticosterone secretion. Am. J. Physiol. 264:R1186-R1192.
- **Buijs RM, Markman M, Nunes-Cardoso B, Hou YX, Shinn S . ; 1993b-** Projections of the suprachiasmatic nucleus to stress-related areas in the rat hypothalamus: a light and electron microscopic study. J. Comp. Neurol. 335:42-54.
- **Buijs RM, Wortel J, Van Heerikhuize JJ, Feenstra MG, Ter Horst GJ, Romijn HJ, Kalsbeek A . ;1999** - Anatomical and functional demonstration of a multisynaptic suprachiasmatic nucleus adrenal (cortex) pathway. Eur. J. Neurosci. 11:1535-1544.
- **Cgellig R . ; 1992** –Les races ovines algériennes .Edition OPU, p :76.
- **Challet E, Caldelas I, Graff C, Pevet P . ; 2003** -Synchronization of the molecular clockwork by light- and food-related cues in mammals. Biol. Chem. 384:711-719.
- **Challet F., 2004-** Synchronisation des noyaux suprachiasmatiques. I. les signaux lumineux. Buletin du groupe d'étude des rythmes biologiques de la SFC, Rythmes tome., 35, n° 5 : 6-20
- **Cherradi N, Rossier MF, Vallotton MB, et J Biol Chem . ; 1997-** Submitochondrial distribution of three key steroidogenicproteins (steroidogenic acute regulatory protein andcytochrome p450scc and 3beta-hydroxysteroid dehydrogenaseisomerase enzymes) up on stimulation by intracellular calcium in adrenal glomerulosa cells.; 272: 7899-907.

- **Chorvatova A, Gendron L, Bilodeau L, Gallo-Payet N, Payet MD . ; 2000** - A Ras-dependent chloride current activated by adrenocorticotropin in rat adrenal zona glomerulosa cells. *Endocrinology*; 141: 684-92.
- **Côté M, Guillon G, Payet M, Gallo-Payet N. ; 2001** - Expression and regulation of adenylyl cyclase isoforms in the human adrenal gland. *J Clin Endocrinol Metab*; 86: 4495-503.
- **Delmas V, Brémonal-Gingnac D, Dovard R, Dupont S , Latremouille C, Le Minor J-M, Pirro N , Sebe P , Vacher C , et Yiou R .;2008** - anatomie générale .Edition 4 de Masson et Elsevier :265.
- **Doi, M., Hirayama, J., and Sassone-Corsi, P. ;2006-**. Circadian regulator CLOCK is a histone acetyltransferase. *Cell* 125, 497-508.
- **Durroux T, Gallo-Payet N, Payet MD . ; 1991** - Effects of adrenocorticotropin on action potential and calcium currents in cultured rat and bovine glomerulosa cells. *Endocrinology*; 129: 2139-47.
- **Eide EJ, Vielhaber EL, Hinz WA, Virshup DM . ;2002-** The circadian regulatory proteins BMAL1 and cryptochromes are substrates of casein kinase Iepsilon. *J. Biol. Chem.* 277:17248-17254.
- **Elfakire et al. ; 1979-** la race à l'échelle de la station et à l'échelle de la vallée du draa, problème de vulgarisation stage de développement (MAROC).
- **Enyeart JA, Liu H, Enyeart JJ. ; 2010** - cAMP analogs and their metabolites enhance TREK-1 mRNA and K<sup>+</sup> current expression in adrenocortical cells. *Mol Pharmacol*; 77: 469-82.
- **Enyeart JJ . ; 2005** - Biochemical and Ionic signaling mechanisms for ACTH-stimulated cortisol production. *Vitam Horm*; 70: 265-79.

- **Fakunding J, Chow R, Catt K. ; 1979** - The role of calcium in the stimulation of aldosterone production by adrenocorticotropin, angiotensin II, and potassium in isolated glomerulosa cells. *Endocrinology*,; 105: 327-33.
- **Fatman C. and Winter J. S., 1971** - Diurnal cycles in plasma FSH, testosterone and cortisol in men. *J.Clin.Endoor.*, **33**:186-192.
- **Feliachi K ;2003** –Rapport National sur les ressources Génétiques Animales :p 25.
- **Ferouk M. ;2008**- Cours de zootechnie générale.Les races ovines en Algérie.p 1-2.
- **Field MD, Maywood ES, O'Brien JA, Weaver DR, Reppert SM, Hastings MH . ; 2000**- Analysis of clock proteins in mouse SCN demonstrates phylogenetic divergence of the circadian clockwork and resetting mechanisms. *Neuron* 25:437-447.
- **Folligan K., Bouvier R., Targe F, Morel Y. et Trouillas J., 2005** - Le développement de la surrénale humaine. *Annales d'Endocrinologie.*, **66**: 325-332.
- **Gallagher T. F., Yoshida K., Roffwarg H.D., Fukushima D. K., Wetzman E.D. and Hellman L., 1973.** - ACTH and cortisol secretory patterns in man. *J.Clin.Endoor .Metad .* **36**: 1058-1065
- **Gallo-Payet N, Grazzini E, Côté M, et al. ; 1996** - Role of calcium in the mechanism of action of ACTH in human adrenocortical cells. *J Clin Invest*; 98: 460-6.
- **Gallo-Payet N, Payet MD . ; 2003** - Mechanism of action of ACTH: beyond cAMP. *Microsc Res Tech*; 61:275-87.
- **Gallo-Payet N, Payet MD, J Endocrinol 1989** - Excitation-secretion coupling: involvement of potassium channels in ACTHstimulated rat adrenocortical cells.; 120: 409-21.
- **Gallo-Payet N., 1993** - Nouveaux concepts sur la régulation de la sécrétion d'aldostérone ; interactions endocrines, paracrines, autocrines et neurocrines. *Med Sci.*, **9** : 943-51.

- **Gibbs, J.E., and Ray, D.W. ;2013-** The role of the circadian clock in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 15, 205.
- **Gilles R, Anctil M, Plumier J-C , Baguet F , Charmantier G , Gilles R Jr , Péqueux A, Séber P . ; 2006 -** *Physiologie animale* : 553-557,170-174.
- **Griffin EA Jr, Staknis D, Weitz CJ . ; 1999-** Light-independent role of CRY1 and CRY2 in the mammalian circadian clock. *Science* 286:768-771.
- **Guillaumond, F., Dardente, H., Giguere, V. & Cermakian, N. ; 2005-** Differential control of Bmal1 circadian transcription by REV-ERB and ROR nuclear receptors. *J Biol Rhythms*, 20, 391-403.
- **Hadj Rejem ,1977-**Premier observation sur les performances d'élevage de la race D'man .Thèse d'ingénieur p60.
- **Harouni M ,1977-** étude de quelques paramètres de reproduction chez la brebis de race D'man en berceau .thèse de doctorat vétérinaire institue agronomique et vétérinaire Hassan II , Rabat (Maroc).
- **Hastings MH, Field MD, Maywood ES, Weaver DR, Reppert SM . ;1999 -**Differential regulation of mPER1 and mTIM proteins in the mouse suprachiasmatic nuclei: new insights into a core clock mechanism. *J. Neurosci.* 19:RC11.
- **Hensleigh, E., and Pritchard, L.M. ; 2013 -** Glucocorticoïde receptor expression and sub-cellular localization in dopamine neurons of the rat midbrain. *Neurosci Lett* 556, 191-195.
- **Herman, J.P., McKlveen, J.M., Solomon, M.B., Carvalho-Netto, E., and Myers, B. . ; 2012-** Neural régulation of the stress réponse: glucocorticoïde feedback mechanisms. *Braz J Med Biol Res* 45, 292-298.
- **Hoffis G .F. Murdick P.W., Tharp V.L. and Ault K., 1970 -** Plasma corcentration of cortisol and corticosterone in the normal horse .*Am .J.Vet.Res.* 31:1379-1387

- **Hogenesch JB, Chan WK, Jackiw VH, Brown RC, Gu YZ, Pray-Grant M, Perdew GH, Bradfield CA 1997** -Characterization of a subset of the basic-helix-loop-helix-PAS superfamily that interacts with components of the dioxin signaling pathway. *J. Biol. Chem.* 272:8581-8593.
- **Hogenesch JB, Gu YZ, Jain S, Bradfield CA . ; 1998-** The basic-helix-loop-helix-PAS orphan MOP3 forms transcriptionally active complexes with circadian and hypoxia factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95:5474-5479.
- **Holley D. C., Beckman D. A. and Evans J. W., 1975** - Effects of confinement on the circadian rythme of ovine cortisol *.J. Endocr ; 65 : 147- 148.*
- **Honma S, Ikeda M, Abe H, Tanahashi Y, Namihira M, Honma K, Nomura M . ; 1998-** Circadian oscillation of BMAL1, a partner of a mammalian clock gene Clock, in rat suprachiasmatic nucleus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 250:83-87.
- **Honma S, Kawamoto T, Takagi Y, Fujimoto K, Sato F, Noshiro M, Kato Y, Honma K . ; 2002** -Dec1 and Dec2 are regulators of the mammalian molecular clock. *Nature* 419:841-844.
- **Howard, J.G., Wildt, D. E., Chakraborty, P. K., Bush, M., 1983-**Reproductive traits in including seasonal observations on semen quality and serum hormone concentration in the Dorcas gazelle. *Physiolo. Reprod.* 20, 2, 230.
- **Hu, J., Zhang, Z., Shen, W.J., and Azhar, S. ;2010** - Cellular cholesterol delivery, intracellular processing and utilization for biosynthesis of steroid hormones. *Nutr Metab (Lond)* 7, 47.
- **James V.H.T., Horner M.W., Moss M.S. et Rippon A.E., 1970** - Adrenocortical function in the horse *.J.Endoor .18:* 319-335

- **Jasper MS, Engeland WC . ; 1994** -Splanchnic neural activity modulates ultradian and circadian rhythms in adrenocortical secretion in awake rats. *Neuroendocrinology* 59:97-109.
- **Jasper MS, Engeland WC . ; 1997**- Splanchnicotomy increases adrenal sensitivity to ACTH in nonstressed rats. *Am. J. Physiol.* 273:E363-E368.
- **Jin X, Shearman LP, Weaver DR, Zylka MJ, de Vries GJ, Reppert SM . ;1999**- A molecular mechanism regulating rhythmic output from the suprachiasmatic circadian clock. *Cell* 96:57-68.
- **Johnson CH et al. ;2011**- *Annu Rev Biophys* 40, 143-6.
- **Johnston, J.D. ;2005**- Measuring seasonal time within the circadian system: regulation of the suprachiasmatic nuclei by photoperiod. *J Neuroendocrinol*, 17, 459-465.
- **Kaneko M, Kaneko K, Shinsako J, Dallman MF . ; 1981**- Adrenal sensitivity to adrenocorticotropin varies diurnally. *Endocrinology* 109:70-75.
- **Keller-Wood ME, Dallman MF . ; 1984** - Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. *Endocr. Rev.* 5:1-24.
- **Khaldoun M., Khaldoun T et Brudieux R., 1999**- Activité glucocorticoïdes et mineralocorticoïdes chez le dromadaire adulte male. *Seminaire National : Adaptation des organismes aux milieux steppique et saharien.* USTHB, Alger, 24-25 Novembre
- **Khammar F., 1977** - Variation saisonnière de l'activité glucocorticoïde de la surrénale en rapport avec l'activité sexuelle chez le rat des sables. *Thèse de 3ème cycle, USTHB, Alger.*
- **Ko, C.H. & Takahashi, J.S. ;2006**- Molecular components of the mammalian circadian clock. *Hum Mol Genet*, 15 Spec No 2, R271-277.
- **Kojima I, Kojima K, Rasmussen H, J Biol Chem . ;1985**- Role of calcium and cAMP in the action of adrenocorticotropin on aldosterone secretion.; 260: 4248-

- **Krieger D.T., 1975** - Rythms of ACTH and corticostéroïdes sécrétion in health and disease, and their experimental modification. *J. Steroid . Biochem.* **6** : 785- 793
- **Kume K, Zylka MJ, Sriram S, Shearman LP, Weaver DR, Jin X, Maywood ES, Hastings MH, Reppert SM . ; 1999-** mCRY1 and mCRY2 are essential components of the negative limb of the circadian clock feedback loop. *Cell* 98:193-205.
- **Lahlou kassi A et Marie . ; 1985** – sexual and ovarian function of the D’man ewe . in genetic of reproduction in sheep p 260.
- **Leberre ,1990-**Faune du Sahara2.mammifères .Le Chevalier et Chaboud ,P :218-220.
- **Lee C, Etchegaray JP, Cagampang FR, Loudon AS, Reppert SM . ; 2001-** Posttranslational mechanisms regulate the mammalian circadian clock. *Cell* 107:855-867.
- **Leloup and Goldbeter . ;2003-** *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 100(12):7051-7056
- **Li, S.X., Liu, L.J., Xu, L.Z., Gao, L., Wang, X.F., Zhang, J.T., and Lu, L. (2013).** Diurnal alterations in circadian genes and peptides in major depressive disorder before and after escitalopram treatment. *Psychoneuroendocrinology* 38, 2789-2799.
- **Lightman, S.L., and Conway-Campbell, B.L. ; 2010-** The crucial role of pulsatile activity of the HPA axis for continuous dynamic equilibration. *Nat Rev Neurosci* 11, 710-718.
- **Liu H, Enyeart JA, Enyeart JJ . ; 2010** - ACTH induces Cav3.2 current and mRNA by cAMP-dependent and cAMPindependent mechanisms. *J Biol Chem*; 285: 20040-50.
- **Liu J., Heikkila P., Kahri A. and Voutilainen R., 1996** - Expression of the steroidogenic acute regulatory protein mRNA in adrenal tumors and cultured adrenal cells. *J. Endocrinol.*, **150** :43-50.



- **Liu, A.C., Tran, H.G., Zhang, E.E., Priest, A.A., Welsh, D.K. & Kay, S.A. ; 2008-** Redundant function of REV-ERB $\alpha$  and  $\beta$  and non-essential role for Bmal1 cycling in transcriptional regulation of intracellular circadian rhythms. PLoS Genet, 4, e1000023
- **Lowrey PL, Shimomura K, Antoch MP, Yamazaki S, Zemenides PD, Ralph MR, Menaker M, Takahashi JS . ; 2000 -** Positional syntenic cloning and functional characterization of the mammalian circadian mutation tau. Science 288:483-492.
- **Martoja R et Martoja M. 1967-** Initiation aux techniques de l'histologie.
- **Maywood ES, O'Brien JA, Hastings MH ;2003-** Expression of mCLOCK and other circadian clock-relevant proteins in the mouse suprachiasmatic nuclei. J. Neuroendocrinol. 15:329-334.
- **Maywood, E.S., O'Brien, J.A. & Hastings, M.H. ;2003-** Expression of mCLOCK and other circadian clock-relevant proteins in the mouse suprachiasmatic nuclei. J Neuroendocrinol, 15, 329-334.
- **Mc Natty, K. P., Casthmore, M. et Young, A., 1972-** Diurnal variations in plasma cortisol levels in sheep. J. Endocrn. 54, 3619-362.
- **Mendoza, J., Pevet, P. & Challet, E. ;2007-** Circadian and photic regulation of clock and clock-controlled proteins in the suprachiasmatic nuclei of calorie-restricted mice. Eur J Neurosci, 25, 3691-3701.
- **Mesbah S., 1978 –** Variation nyctémérales comparées de l'activité corticosurrenaliene chez le Rat et le belier. These 3eme cycle.P. 169.
- **Miyamoto, Y. & Sancar, A. ; 1998 -** Vitamin B2-based blue-light photoreceptors in the retinohypothalamic tract as the photoactive pigments for setting the circadian clock in mammals. Proc Natl Acad Sci U S A, 95, 6097-6102.
- **Mlinar B, Biagi BA, Enyeart JJ. ; 1993 -** Voltage-gated transient currents in bovine adrenal fasciculata cells. I. Ttype Ca $^{2+}$  current. J Gen Physiol; 102: 217-37.

- **Mlinar B, Enyeart JJ . ; 1993** - Voltage-gated transient currents in bovine adrenal fasciculata cells. II. A-type K<sup>+</sup> current. *J Gen Physiol*; 102: 239-55.
- **Moore RY, Eichler VB . ; 1972**- Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Res.* 42:201-206.
- **Morin, L.P. & Wood, R.I. ; 2001** -A Stereotaxic Atlas of the Golden Hamster Brain. Academic Press, San Diego, CA
- **Mouloudj Aet Talli T . ;2007**- La conduite d'élevage ovin : cas de la région de Ain Oussera .Thèse de docteur vétérinaire . Saad Dahleb P :3.
- **Nicolaidis ; 2004**- l'eau hydratation et santé .danone Nutritoppics, ;p31.2-17.
- **Oishi, K., Fukui, H. & Ishida, N. ; 2000** -Rhythmic expression of BMAL1 mRNA is altered in Clock mutant mice: differential regulation in the suprachiasmatic nucleus and peripheral tissues. *Biochem Biophys Res Commun*, 268, 164-171.
- **Okamura H, Miyake S, Sumi Y, Yamaguchi S, Yasui A, Muijtjens M, Hoeijmakers JH, van der Horst GT . ;1999** -Photic induction of mPer1 and mPer2 in cry-deficient mice lacking a biological clock. *Science* 286:2531-2534.
- **Oudet B., Rigabert J., Young J. et Raffin-Sanson M. L., 2010** - Physiologie et exploration des sécrétions de cortisol et d'androgènes par la surrénale. *Endocrinologie-Nutrition.*, 10-014-B-10.
- **Panagiotakopoulos L. and Neigh G. N., 2014** – Development of the HPA axis: Where and when do sex differences manifest?. *Front. Neuroendocrinol.*, **35** : 285-302.
- **Panda S, Antoch MP, Miller BH, Su AI, Schook AB, Straume M, Schultz PG, Kay SA, Takahashi JS, Hogenesch JB . ; 2002**- Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock. *Cell* 109:307-320.

- **Panda S, Provencio I, Tu DC, Pires SS, Rollag MD, Castrucci AM, Pletcher MT, Sato TK, Wiltshire T, Andahazy M, Kay SA, Van Gelder RN, Hogenesch JB . ;2003-** Melanopsin is required for non-image-forming photic responses in blind mice. *Science* 301:525-527.
- **Panda S, Sato TK, Castrucci AM, Rollag MD, DeGrip WJ, Hogenesch JB, Provencio I, Kay SA . ;2002** -Melanopsin (Opn4) requirement for normal light-induced circadian phase shifting. *Science* 298:2213-2216.
- **Payet MD, Benabderrazik M, Gallo-Payet N. ; 1987** - Excitation- secretion coupling: ionic currents in glomerulosa cells: effects of adrenocorticotropin and K<sup>+</sup> channel blockers. *Endocrinology* ; 121: 875-82.
- **Pevet, P., Pitrosky, B., Vuillez, P., Jacob, N., Teclemariam-Mesbah, R., Kirsch, R., Vivien-Roels, B., Lakhdar-Ghazal, N., Canguilhem, B. & Masson-Pevet, M. ;1996** - The suprachiasmatic nucleus: the biological clock of all seasons. *Prog Brain Res*, 111, 369-384.
- **Pierre R . ;2006** – Aperçu de l'élevage ovin en Afrique du Nord .CRA-W Département Production et nutritions animales .Filière ovine et caprine n°18.
- **Poirier B J , Milsire J ,Dsley FA ;2006** - anatomie médicale ; Aspects :178-197.
- **Preitner, N., Damiola, F., Lopez-Molina, L., Zakany, J., Duboule, D., Albrecht, U. & Schibler, U. ; 2002** -The orphan nuclear receptor REV-ERB $\alpha$  controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator. *Cell*, 110, 251-260.
- **Raux Demay M.C., 2010** - Corticosurrénales : physiologie et exploration. *Pédiatrie.*, 4-170-A-15.
- **Reppert SM, Weaver DR . ; 2002-** Coordination of circadian timing in mammals. *Nature* 418:935-941.

- **Rijnberk A., Der Kinderen P. J. et Thijssen J.M.M., 1968** -Investigations on the adrenocortical function of normal dogs .*J.Endo.*,**41**: 387-395.
- **Ringberg Lund- Larsen T., Kofstad J. and Aakvaag A., 1978** - Seasonal changes in serum levels of aldostérone, cortisol and inorganic ions in the rein deer (*Rangifer tarandus*).
- **Sage D, Maurel D, Bosler O .; 2002-** Corticosterone-dependent driving influence of the suprachiasmatic nucleus on adrenal sensitivity to ACTH. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 282:E458-E465.
- **Sanada K, Okano T, Fukada Y . ;2002-** Mitogen-activated protein kinase phosphorylates and negatively regulates basic helix-loop-helix-PAS transcription factor BMAL1. *J. Biol. Chem.* 277:267-271.
- **Sato TK, Panda S, Miraglia LJ, Reyes TM, Rudic RD, McNamara P, Naik KA, FitzGerald GA, Kay SA, Hogenesch JB . ; 2004** - A functional genomics strategy reveals Rora as a component of the mammalian circadian clock. *Neuron* 43:527-537.
- **Sato, T.K., Panda, S., Miraglia, L.J., Reyes, T.M., Rudic, R.D., McNamara, P., Naik, K.A., FitzGerald, G.A., Kay, S.A. & Hogenesch, J.B. ; 2004-** A functional genomics strategy reveals Rora as a component of the mammalian circadian clock. *Neuron*, 43, 527-537.
- **Schwartz J and Vale W., 1988** - Dissociation of the adrenocorticotropin secretory responses to corticotropin-releasing factor (CRF) and vasopressin or oxytocin by using a specific cytotoxic analog of CRF. *Endocrinology.*, **122**:1695-1700
- **Shearman LP, Sriram S, Weaver DR, Maywood ES, Chaves I, Zheng B, Kume K, Lee CC, van der Horst GT, Hastings MH, Reppert SM . ; 2000-** Interacting molecular loops in the mammalian circadian clock. *Science* 288:1013-1019.

- **Shearman, L.P., Zylka, M.J., Weaver, D.R., Kolakowski, L.F., Jr. & Reppert, S.M. . ; 1997-** Two period homologs: circadian expression and photic regulation in the suprachiasmatic nuclei. *Neuron*, 19, 1261-1269.
- **Steinmayr, M., Andre, E., Conquet, F., Rondi-Reig, L., Delhaye-Bouchaud, N., Auclair, N., Daniel, H., Crepel, F., Mariani, J., Sotelo, C. & Becker- Andre, M. ; 1998** -staggerer phenotype in retinoid-related orphan receptor alpha-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95, 3960-3965.
- **Stevens A et Lowz J, ; 1997** - Histologie humaine ; édition 2 de Deboeck et Larcier , ;p : 511,514, 516,264-267.
- **Sumi, Y., Yagita, K., Yamaguchi, S., Ishida, Y., Kuroda, Y. & Okamura, H. ; 2002-** Rhythmic expression of ROR beta mRNA in the mice suprachiasmatic nucleus. *Neurosci Lett*, 320, 13-16.
- **Sumova, A., Travnickova, Z., Peters, R., Schwartz, W.J. & Illnerova, H. ;1995b** - The rat suprachiasmatic nucleus is a clock for all seasons. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 92, 7754-7758.
- **Sun, Z.S., Albrecht, U., Zhuchenko, O., Bailey, J., Eichele, G. & Lee, C.C. ;1997-** RIGUI, a putative mammalian ortholog of the *Drosophila* period gene. *Cell*, 90, 1003-1011.
- **Szafarczyk A., Ixart G, Alonso G, Malaval F, Nougier-Soule J, Assenmacher I . : 1981-** Neural control of circadian rhythms in plasma ACTH, plasma corticosterone and motor activity. *J. Physiol. (Paris)*. 77:969-976.
- **Tamaru, T., Isojima, Y., Yamada, T., Okada, M., Nagai, K. & Takamatsu, K. ;2000-** Light and glutamate-induced degradation of the circadian oscillating protein BMAL1 during the mammalian clock resetting. *J Neurosci*, 20, 7525-7530.

- **Tei H, Okamura H, Shigeyoshi Y, Fukuhara C, Ozawa R, Hirose M, Sakaki Y . ;1997-** Circadian oscillation of a mammalian homologue of the *Drosophila* period gene. *Nature* 389:512-516.
- **Tei, H., Okamura, H., Shigeyoshi, Y., Fukuhara, C., Ozawa, R., Hirose, M. & Sakaki, Y. ; 1997-** Circadian oscillation of a mammalian homologue of the *Drosophila* period gene. *Nature*, 389, 512-516 .
- **Topel G. D., Weiss E. M., Siers D. G. and Magilton I. H., 1973 -** Comparaison of blood source diurnal variation on blood hydrocortisone, growth hormone, lactate, glucose and electrolytes in swine. *J. Animal. Science.*, **36** :531-534.
- **Torres-Farfan C, Richter HG, Rojas-Garcia P, Vergara M, Forcelledo ML, Valladares LE, Torrealba F, Valenzuela GJ, Seron-Ferre M . ;2003-** mt1 melatonin receptor in the primate adrenal gland: inhibition of adrenocorticotropin-stimulated cortisol production by melatonin. *J Clin Endocrinol Metab* 88:450–45.
- **Torres-Farfan C, Valenzuela FJ, Ebensperger R, Mendez N, Campino C, Richter HG, Valenzuela GJ, Seron-Ferre M. ; 2008-** Circadian cortisol secretion and circadian adrenal responses to ACTH are maintained in dexamethasone-suppressed capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Am J Primatol* 70:93–100.
- **Touitou Y. and Bogdan A., 1994 -** Endocrine and Neuroendocrine Axis Testing in Clinical Medicine: Evidence for Time Dependency. *Biologic Rhythms in Clinical and Laboratory Medicine.*, pp 386-402 .
- **Tremblay E, Payet MD, Gallo-Payet N . ; 1991 -** Effects of ACTH and angiotensin II on cytosolic calcium in cultured adrenal glomerulosa cells. Role of cAMP production in the ACTH effect. *Cell Calcium*; 12:655-73.

- **Tritschelle L.** ; 2006- comprendre le fonctionnement de l'horloge circadien par l'étude de trois sorties.P3.
- **Ueda, H.R., Chen, W., Adachi, A., Wakamatsu, H., Hayashi, S., Takasugi, T., Nagano, M., Nakahama, K., Suzuki, Y., Sugano, S., Iino, M., Shigeyoshi, Y. & Hashimoto, S.** ; 2002 -A transcription factor response element for gene expression during circadian night. *Nature*, 418, 534-539.
- **Valenzuela, F. J.; C. Torres-Farfan, H. G.; Richter, N. Mendez, C. Campino, F. Torrealba, G. J. Valenzuela, and M. Sero'n-Ferre'.** ;2008- clock adrenalectomy .
- **Van de Pavert S. A., Clarke I. J., Rao A., Vrana K.E., and Schwartz J., 1997** - Effects of vasopressin and elimination of corticotropin-releasing hormone-target cells on pro-opiomelanocortin mRNA levels and adrenocorticotropin secretion in ovine anterior pituitary cells. *J. Endocrinol.*, **154**: 139 – 147.
- **Vitaterna, M.H., King, D.P., Chang, A.M., Kornhauser, J.M., Lowrey, P.L., McDonald, J.D., Dove, W.F., Pinto, L.H., Turek, F.W. & Takahashi, J.S.** ;1994 - Mutagenesis and mapping of a mouse gene, Clock, essential for circadian behavior. *Science*, 264, 719-725.
- **Watanabe T, Kojima M, Tomida S, Nakamura TJ, Yamamura T, Nakao N, Yasuo S, Yoshimura T, Ebihara S .** ;2006 -Peripheral clock gene expression in C57BL/6 mice with bimodal locomotor rhythms. *Neurosci Res* 54:295–301.
- **West C.D., Mahajan D.K., Chavre V.J., NABORS C.J. et Tyler F.H., 1973** - Simultaneous measurement of multiple plasma steroids by radioimmunoassay demonstrating episodic secretion. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **36**: 1230-1236.

- **Wetzman E.D., Fukushima D., Nogeire C. H., Roffwarg H., Gallagher T.F. and HEELMAN L., 1971** - Twenty four hour pattern of the episodic secretion of cortisol in normal subjects. *J.Clin.Endoor.*, **33**:14-22
- **Wheater PR , Young et JW. ;2004** - histologie fonctionnelle : 319 -320.
- **Whipp S.C., Wood R.L., M. S et Lyon N.C., 1970** - Diurnal variation in concentration of hydrocortisone in plasma of swine *.Am.J.Vet.Res.* **31**: 2105-2107.
- **Woodley S.K., Painter D.L., Moore MC., Wikelski M. and Romero L.M., 2003** - Effect of tidal cycle and food intake on the baseline plasma corticosterone rhythm in intertidally foraging marine iguanas. *Gen. Com. Endocrinol.*, **132** : 216-222.
- **Yagita K, Tamanini F, Yasuda M, Hoeijmakers JH, van der Horst GT, Okamura H . ; 2002-** Nucleocytoplasmic shuttling and mCRY-dependent inhibition of ubiquitylation of the mPER2 clock protein. *EMBO J.* 21:1301-1314.
- **Yuan Q et al. ; 2007** -*Mol Biol Evol* 24, 948-55.
- **Zolovick A., Upson D.W. et Eleftherious B.E., 1966** - Diurnal variation in plasma glucocorticoids levels in the horse.*Endocrinol .*, **35**: 249-253 .
- **Zylka, M.J., Shearman, L.P., Weaver, D.R. & Reppert, S.M. ; 1998-** Three period homologs in mammals: differential light responses in the suprachiasmatic circadian clock and oscillating transcripts outside of brain. *Neuron*, 20, 1103-1110.



## APPAREILLAGE ET REACTIFS

## 1. Appareillage :



**Figure 59:** Etuve de séchage E28 BINDER (photo originale)



**Figure 60:** Microtome SLEE CUT 6062 (photo originale)



**Figure 61:** Plaque chauffante Leica HI 1210 (photo originale)



**Figure 62:** Microscope Konus 5306 Campus (photo originale)



**Figure 63:** Microscope Optika B-352A (photo originale)

## 2. Réactifs :

### ↳ Technique histologique :

#### Fiche technique N°1 :

Fixateur topographique : Liquide de **Bouin-Holland**

- Eau distillée..... 100 ml
- Acétate de cuivre..... 2.5 ml
- Formol du commerce ..... 10 ml
- Acide acétique..... 1 ml
- Acide picrique ..... 4g

#### Fiche technique N°2 :

Déshydratation :

- Un bain d'eau.
- Un bain d'alcool 70° de 30minutes.
- Un bain d'alcool 96° jusqu'au lendemain.
- Un bain d'alcool 96° de 30minutes.
- Deux bains d'alcool 100° de 30minutes pour chacun.
- Un bain d'alcool 100° jusqu'au lendemain.

#### Fiche technique N°3 : Coloration Topographique à l'**Hémalun-Eosine**

##### 1. Réactifs :

##### *1.1. Hématoxyline de Groat :*

- Acide sulfurique concentré ..... 0.8 ml
- Alun de fer..... 1g
- Eau distillée..... 50 ml
- Hématoxyline ..... 0.5g
- Alcool 95° ..... 50ml

Laisser reposer pendant une heure et filtrer

*(Se conserver pendant trois mois environ)*

### 1.2. *Eosine* :

- Eosine (Y, G ou J)..... 1g
- Eau distillée..... 100ml

(Se conserve indéfiniment)

### 2. Mode opératoire :

- Déparaffiner, hydrater
- Colorer par l'Héματοxyline de Groat 5min
- Laver à l'eau courante pendant 5 min
- Colorer par l'Eosine 30 s
- Rincer à l'eau
- Déshydrater, monter



**Figure 64:** Batterie de la coloration à l'Hémalum-Eosine (photo originale)

### 3. Résultats :

Les noyaux sont coloré en bleu-noire (en marron si l'héματοxyline est épuisée), les cytoplasmes acidophile en rose. Certain sécrétions restent incolores.

### Fiche technique N°4 : Coloration Topographique au *Trichrome de Masson*

#### 1. Réactifs :

##### 1.1. *Héματοxyline de Groat* : (fiche technique n°3)

**1.2. Fuchsine acide-ponceau :**

- Fuchsine acide.....0.1 g
- Ponceau .....0.2 g
- Eau distillée.....300 ml

Après dissolution, ajouter :

- Acide acétique.....0.6 ml

*(Se conserve indéfiniment)*

**1.3. Orange G phosphomolybdique :**

- Orange G .....2g
- Acide phosphomolybdique .....1g
- Eau distillée.....100 ml

*(Se conserve indéfiniment)*

**1.4. Vert lumière acétique :**

- Vert lumière .....0.1g
- Eau distillée.....100ml

Ajouter après dissolution :

- Acide acétique.....2ml

*(Se conserve indéfiniment)*

**2. Mode opératoire :**

- Déparaffiner, hydrater
- Colorer par l'Héματοxyline de Groat 3 min
- Laver à l'eau courante pendant 5 min
- Colorer par le mélange fuchsine ponceau pendant 5 min environ
- Rincer à l'eau acétique à 1%
- Colorer par l'orange G phosphomolybdique (passage)
- Rincer à l'eau acétique à 1%
- Colorer par le vert lumière pendant 9 min environ
- Rincer à l'eau acétique à 1%
- Déshydrater et monter



**Figure 65:** Batterie de la coloration au Trichrome de Masson (photo originale)

### 3. Résultats :

Les noyaux sont noire, les cytoplasmes en rouge et le tissu conjonctif en vert ou bleu.

#### Fiche technique N°5 : Coloration à l'*Azan modifié*

##### 1. Réactifs :

###### 1.1. *Rouge nucléaire :*

- Rouge nucléaire (*Nuclear fast red ou Kernechtrot*) .....0.1g
- Sulfate d'aluminium .....5g
- Eau distillée ..... 100ml

Porter à ébullition, laisser refroidir, filtrer.

(Se conserve plusieurs semaines à +4°C)

###### 1.2. *Bleu d'aniline :*

###### Solution mère

- Bleu d'aniline ..... 0.5 g
- Eau distillée ..... 100ml

Porter à ébullition, laisser refroidir, filtrer, ajouter :

- Acide acétique..... 8ml

(La solution mère se conserve indéfiniment)

### Solution de travail

Au moment de l'emploi, diluer :

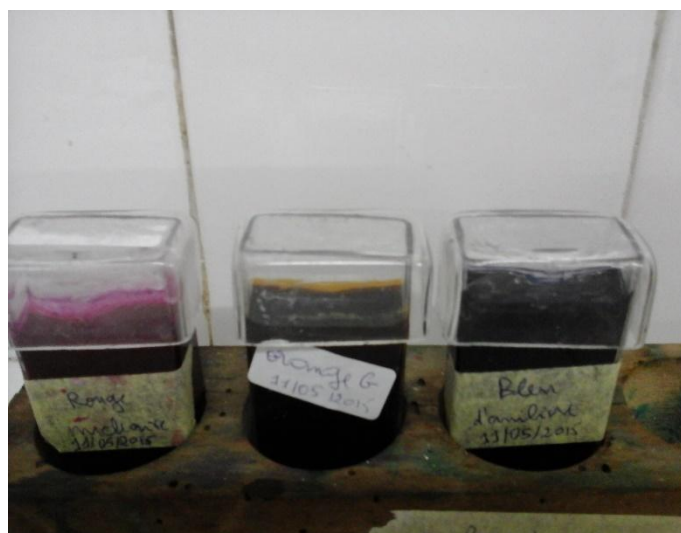
- Solution mère ..... 1 volume
- Eau distillée ..... 2 volumes

(La solution de travail se conserve plusieurs mois)

### **1.3. Orange G phosphomolybdique : (fiche technique n°4)**

### **2. Mode opératoire :**

- Déparaffiner, hydrater
- Colorer par le rouge nucléaire (30 min)
- Rincer à l'eau courante
- Colorer par l'orange G phosphomolybdique (40 min)
- Rincer à l'eau courante
- Colorer par le bleu d'aniline (10 min)
- Rincer à l'eau distillée (pour éliminer du bleu)
- Déshydrater et montrer



**Figure 66:** Batterie de la coloration à l'Azan modifié (photo originale)

### **3. Résultats :**

Les noyaux et certains cytoplasmes sont rouges, d'autres cytoplasmes sont jaunes ou gris. Le collagène est bleu. Les sécrétions peuvent être de différents couleurs selon leur nature.

**↳ Dosage du cortisol :**

**1. Tubes revêtus d'un anticorps monoclonal anti-cortisol : 2 x 50 tubes** (prêts à l'emploi)

**2. Traceur cortisol marqué à l'iode 125 : 1 flacon de 55 mL** (prêt à l'emploi)

Le flacon contient 185 kBq, en début de lot, de cortisol marqué à l'iode 125 dans un tampon contenant de l'albumine bovine sérique, de l'azide de sodium (<0,1%) et un colorant vert.

**3. Calibrateurs : 5 flacons de 0,5 mL + 1 flacon «zéro» de 5 mL** (prêts à l'emploi)

Les flacons de calibrateurs contiennent entre 0 à 2000 nM de cortisol dans un tampon contenant de l'albumine sérique bovine en présence d'azide de sodium (<0,1% ; voir § Précautions). La concentration exacte est indiquée sur l'étiquette de chaque flacon. Les calibrateurs ont été calibrés par rapport aux solutions de référence ERM®-DA193.

Le calibrateur «zéro» peut être commandé séparément (réf. IM1959 – 10 mL ou IM3444 – 250 mL).

**4. Echantillon de contrôle : 1 flacon de 0,5 mL** (prêt à l'emploi)

Le flacon contient du cortisol dans un tampon contenant de l'albumine bovine sérique et de l'azide de sodium (< 0,1%). Les valeurs attendues sont comprises dans la fourchette de concentrations indiquée sur l'étiquette du flacon.



### RESULTATS INDIVIDUEL(D'man)

**Tableau 6:** Les variations morphométriques de la surrénal en phase claire à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>Cortex</b>	<b>ZG</b>	<b>ZF</b>	<b>ZR</b>
<b>D12</b>	994,183	202,08	658,984	256,12
<b>D38</b>	1048,961	183,198	387,477	187,02
<b>D50</b>	1183,872	193,756	613,98	296,595
<b>MOY</b>	<b>1075,672</b>	<b>193,0113</b>	<b>553,4803</b>	<b>246,5783</b>
<b>Ecart</b>	<b>92,15324</b>	<b>33,04179</b>	<b>130,6765</b>	<b>64,7387</b>
<b>ESM</b>	<b>16,8248</b>	<b>6,032579</b>	<b>23,85816</b>	<b>11,81961</b>

**Tableau 7:** Les variations morphométriques de la surrénal en phase sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>Cortex</b>	<b>ZG</b>	<b>ZF</b>	<b>ZR</b>
<b>D 47</b>	1228,719	189,214	662,42	323,236
<b>D 32</b>	1029,744	240,372	833,269	267,114
<b>D 15</b>	954,323	171,314	325,32	278,43
<b>MOY</b>	<b>1071</b>	<b>200</b>	<b>607</b>	<b>290</b>
<b>Ecart</b>	<b>122</b>	<b>36</b>	<b>236</b>	<b>84,8</b>
<b>ESM</b>	<b>22,3</b>	<b>6,57</b>	<b>43,1</b>	<b>15,5</b>

**Tableau 8:** Le moyen des variations nycthémérales de la surface cellulaire et celle du noyau de la ZF en phase claire à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	C	N	N/C
<b>MOY</b>	<b>88,5944</b>	<b>29,04257</b>	<b>0,578226</b>
<b>Ecart</b>	<b>24,67669</b>	<b>5,327171</b>	<b>0,26331</b>
<b>ESM</b>	<b>1,42471</b>	<b>0,307564</b>	<b>0,015202</b>

**Tableau 9:** Le moyen des variations nycthémérales de la surface cellulaire et celle du noyau de la ZF en phase sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	C	N	N/C
<b>MOY</b>	<b>78,92957</b>	<b>25,15437</b>	<b>0,581046</b>
<b>Ecart</b>	<b>28,60666</b>	<b>8,63701</b>	<b>0,983458</b>
<b>ESM</b>	<b>1,651606</b>	<b>0,498658</b>	<b>0,05678</b>

**Tableau 10:** Les variations morphométriques de la surrénal en phase claire au solstice d'hiver chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.(N=2)

	cortex	ZG	ZF	ZR
<b>MOY</b>	<b>1216,486</b>	<b>229,4023</b>	<b>732,816</b>	<b>244,9833</b>
<b>Ecart</b>	<b>101,5603</b>	<b>51,01966</b>	<b>139,9791</b>	<b>42,38028</b>
<b>ESM</b>	<b>18,54228</b>	<b>9,314873</b>	<b>25,55656</b>	<b>7,737545</b>

**Tableau 11:** Les variations morphométriques de la surrénal en phase sombre au solstice d'hiver chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa. (N=2)

	<b>cortex</b>	<b>ZG</b>	<b>ZF</b>	<b>ZR</b>
<b>Moy</b>	<b>1212,341</b>	<b>200,0463</b>	<b>687,018</b>	<b>260,717</b>
<b>ecart</b>	<b>290,8578</b>	<b>33,27556</b>	<b>223,6572</b>	<b>113,8504</b>
<b>ESM</b>	<b>53,10313</b>	<b>6,075258</b>	<b>40,83404</b>	<b>20,78614</b>

**Tableau 12:** Les variations nycthémerales de la surface cellulaire et celle du noyau de la ZF en phase claire au solstice d'hiver chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>C</b>	<b>N</b>	<b>N/C</b>
<b>MOY</b>	<b>109,2183</b>	<b>27,52063</b>	<b>0,359674</b>
<b>Ecart</b>	<b>23,89212</b>	<b>5,862228</b>	<b>0,119602</b>
<b>ESM</b>	<b>1,379412</b>	<b>0,338456</b>	<b>0,006905</b>

**Tableau 13:** Les variations nycthémerales de la surface cellulaire et celle du noyau de la ZF en phase sombre au solstice d'hiver chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>C</b>	<b>N</b>	<b>N/C</b>
<b>MOY</b>	<b>101,8339</b>	<b>25,41437</b>	<b>0,362775</b>
<b>Ecart</b>	<b>30,25856</b>	<b>7,00248</b>	<b>0,133921</b>
<b>ESM</b>	<b>1,746979</b>	<b>0,404288</b>	<b>0,007732</b>

**Tableau 14:** Les variations morphométriques de la surrénal en phase claire à l'équinoxe du printemps chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>Cortex</b>	<b>ZG</b>	<b>ZF</b>	<b>ZR</b>
<b>MOY</b>	<b>1362,58</b>	<b>198,33</b>	<b>853,354</b>	<b>308,682</b>
<b>ECART</b>	<b>309,0751</b>	<b>40,47246</b>	<b>315,9567</b>	<b>81,67591</b>
<b>ESM</b>	<b>56,42914</b>	<b>7,389226</b>	<b>57,68554</b>	<b>14,91191</b>

**Tableau 15:** Les variations morphométriques de la surrénal en phase sombre à l'équinoxe du printemps chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>Cortex</b>	<b>ZG</b>	<b>ZF</b>	<b>ZR</b>
<b>MOY</b>	<b>1327</b>	<b>225,1</b>	<b>697,4</b>	<b>303,6</b>
<b>ECART</b>	<b>104,9</b>	<b>37,44</b>	<b>118,4</b>	<b>61,63</b>
<b>ESM</b>	<b>23,46</b>	<b>8,371</b>	<b>26,48</b>	<b>13,78</b>

**Tableau 16:** Les variations nycthémerales de la surface cellulaire et celle du noyau de la ZF en phase claire à l'équinoxe du printemps chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>C</b>	<b>N</b>	<b>N/C</b>
<b>MOY</b>	<b>94,95047</b>	<b>29,85473</b>	<b>0,531377</b>
<b>ECART</b>	<b>31,33385</b>	<b>6,434985</b>	<b>0,236258</b>
<b>ESM</b>	<b>1,809061</b>	<b>0,371524</b>	<b>0,01364</b>

**Tableau 17:** Les variations nycthémerales de la surface cellulaire et celle du noyau de la ZF en phase sombre à l'équinoxe du printemps chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	C	N	N/C
MOY	96,9383	26,25445	0,451139
ECART	39,49699	6,944934	0,210076
ESM	2,792859	0,491081	0,014855

**Tableau 19:** Les variations morphométriques de la surrénal en phase claire au solstice d'été chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa

	Cortex	ZG	ZF	ZR
MOY	1694,521	171,132	1196,263	302,0787
ECART	313,371	31,38384	200,3651	56,13416
ESM	57,21345	5,72988	36,58149	10,24865

**Tableau 20:** Les variations morphométriques de la surrénal en phase sombre au solstice d'été chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	Cortex	ZG	ZF	ZR
MOY	1559,806	185,989	958,1417	325,6997
ECART	200,7644	50,4384	268,4395	128,1478
ESM	36,6544	9,208751	49,01012	23,39648

**Tableau 21:** Les variations nycthémerales de la surface cellulaire et celle du noyau de la ZF en phase claire au solstice d'été chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>C</b>	<b>N</b>	<b>N/C</b>
<b>MOY</b>	<b>110,8223</b>	<b>30,6508</b>	<b>0,409686</b>
<b>Ecart</b>	<b>23,21182</b>	<b>5,621646</b>	<b>0,133599</b>
<b>ESM</b>	<b>1,340135</b>	<b>0,324566</b>	<b>0,007713</b>

**Tableau 22:** Les variations nycthémerales de la surface cellulaire et celle du noyau de la ZF en phase sombre au solstice d'été chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>C</b>	<b>N</b>	<b>N/C</b>
<b>MOY</b>	<b>119,4688</b>	<b>29,42157</b>	<b>0,354224</b>
<b>Ecart</b>	<b>26,09765</b>	<b>6,514921</b>	<b>0,132024</b>
<b>ESM</b>	<b>1,506749</b>	<b>0,376139</b>	<b>0,007622</b>

**Tableau 23:** Les variations morphométriques de la surrenal en phase claire à l'équinoxe d'automne 2 chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>Cortex</b>	<b>ZG</b>	<b>ZF</b>	<b>ZR</b>
<b>MOY</b>	1243,882	249,75581	792,32	209,634524
<b>Ecart</b>	34,37	40,093	26,1933	72,62529
<b>ESM</b>	506,9894	56,9844	295,8735	122,372

**Tableau 24:** Les variations morphométriques de la surrénal en phase sombre à l'équinoxe d'automne 2 chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>Cortex</b>	<b>ZG</b>	<b>ZF</b>	<b>ZR</b>
<b>MOY</b>	1148,3425	246,6	676.066	391,334
<b>ECART</b>	<b>200,7644</b>	<b>50,4384</b>	<b>268,4395</b>	<b>128,1478</b>
<b>ESM</b>	<b>36,6544</b>	<b>9,208751</b>	<b>49,01012</b>	<b>23,39648</b>

**Tableau 25:** Les variations nycthémerales de la surface cellulaire et celle du noyau de la ZF en phase claire à l'équinoxe d'automne 2 chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>C</b>	<b>N</b>	<b>N/C</b>
<b>MOY</b>	73,85365	26,8777	6,38139606
<b>Ecart</b>	6,17045996	1,29114615	0,01644169
<b>ESM</b>	36,8940583	8,7782145	0,10131172

**Tableau 26:** Les variations nycthémerales de la surface cellulaire et celle du noyau de la ZF en phase sombre à l'équinoxe d'automne 2 chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>C</b>	<b>N</b>	<b>N/C</b>
<b>Moy</b>	69,0505	26,3168	7,10486069
<b>ECART</b>	<b>31,33385</b>	<b>6,434985</b>	<b>0,236258</b>
<b>ESM</b>	<b>1,809061</b>	<b>0,371524</b>	<b>0,01364</b>

## LES SIGNIFICATIONS STATISTIQUES

**Tableau 27:** Les significations statistiques des résultats morphométriques de la surrénale en phase claire et en phase sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>T</b>	<b>P</b>	<b>LES RESULTATS STATISTIQUES</b>
<b>Cortex</b>	14,96915	0.03	Différence très significative
<b>Zone fasciculée</b>	9,00627	0,0081	Différence très significative

**Tableau 28 :** Les significations statistiques des résultats morphométriques de la surrénale en phase claire et en phase sombre au solstice d'hiver chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>T</b>	<b>P</b>	<b>LES RESULTATS STATISTIQUES</b>
<b>Cortex</b>	108,0474	0.9	Différence non significative
<b>Zone fasciculée</b>	37,06342	0.08	Différence non significative

**Tableau 29 :** Les significations statistiques des résultats morphométriques de la surrénale en phase claire et en phase sombre à l'équinoxe du printemps chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>T</b>	<b>P</b>	<b>LES RESULTATS STATISTIQUES</b>
<b>Cortex</b>	145,3579	0.62	Différence non significative
<b>Zone fasciculée</b>	33,05718	2.05	Différence non significative



**Tableau 30 :** Les significations statistiques des résultats morphométriques de la surrénale en phase claire et on phase sombre au solstice d’été chez le bélier de race D’man élevé dans la région d’El-Méniaa.

	<b>T</b>	<b>P</b>	<b>LES RESULTATS STATISTIQUES</b>
<b>Cortex</b>	37,58092	0.001	Différence hautement significative
<b>Zone fasciculée</b>	132,9047	0.001	Différence hautement significative

**Tableau 31:** Les significations statistiques des résultats morphométriques de la surrénale en phase claire et en phase sombre à l’équinoxe d’automne2 chez le bélier de race D’man élevé dans la région d’El-Méniaa.

	<b>T</b>	<b>P</b>	<b>LES RESULTATS STATISTIQUES</b>
<b>Cortex</b>	3,26798	0,0235	Différence non significative
<b>Zone fasciculée</b>	3.915870	0,202	Différence non significative

**Tableau 32 :** Les significations statistiques des variations morphométriques saisonnières de la surrénal durant la phase claire chez le bélier de race D’man élevé dans la région d’EL-Méniaa

	<b>été/automne</b>	
	<b>T</b>	<b>P</b>
<b>Cortex</b>	16,96915	0,003455
<b>ZF</b>	11,0063	0,008154

	<b>été/printemps</b>	
	<b>T</b>	<b>P</b>
<b>Cortex</b>	12,736934	0,005207
<b>ZF</b>	8,064142	0,001284

	<b>automne/hiver</b>	
	<b>T</b>	<b>P</b>
<b>Cortex</b>	22,92274	0,0048
<b>ZF</b>	15,0027	0,0054

	<b>hiver/printemps</b>	
	<b>T</b>	<b>P</b>
<b>Cortex</b>	25,9227	0,001
<b>ZF</b>	-4,14448	0,00324

	été/hiver			automne/printemps	
	T	P		T	P
<b>Cortex</b>	58,092	0,006	<b>Cortex</b>	7,258932	0,050810
<b>ZF</b>	17,4369	0,0075	<b>ZF</b>	61,7704	0,70202

**Tableau 33** : Les significations statistiques des variations morphométriques saisonnières de la surrenal durant la phase sombre chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'EL-Méniaa

	été/automne			été/printemps	
	T	P		T	P
<b>Cortex</b>	6,12899	0,026820	<b>Cortex</b>	71,2440	0,01
<b>ZF</b>	4,52124	0,027535	<b>ZF</b>	85,31370	0,013

	automne/printemps	
	T	P
<b>Cortex</b>	76,12899	0,03820
<b>ZF</b>	60,96027	0,030451

**Tableau 34** : Les pourcentages des différentes zones de la corticosurrénale durant la phase claire chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El Méniaa

phase claire					
	Automne	Hiver	Printemps	Eté	Automne 2
<b>ZF</b>	56%	60%	62%	70%	70%

**Tableau 35** : Les pourcentages des différentes zones de la corticosurrénale durant la phase sombre chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El Méniaa

phase Sombre					
	Automne	Hiver	Printemps	Eté	Automne 2
<b>ZF</b>	51%	56%	52%	58%	61 %

**Tableau 36 :** La signification statistique des variations nyctémérales de la cortisolémie à l'équinoxe d'automne chez le bélier D'man élevé dans la région d'El -Méniaa (N=5).

Stades comparés	Cortisolémie en (ng/ml)	
	Probabilités	
	T	P
7h/19h	17,500	0,0003 < P< 0,05
7h/1h	68,330	0,003 < P< 0,05
13h/19h	4,68689	P> 0,005
19h/1h	6,3700	P> 0,005

**Tableau 37:** La signification statistique des variations nyctémérales de la cortisolémie au solstice d'hiver chez le bélier D'man élevé dans la région d'El -Méniaa (N=4).

Stades comparés	Cortisolémie en (ng/ml)	
	Probabilités	
	T	P
7h/13h	5,70431	P>0,05
7h/1h	43,379	P >0,05
13h/19h	3,602	P>0,05
13h/1h	36,02	P >0,05
19h/1h	75,119	P > 0,05

**Tableau 38 :** La signification statistique des variations nyctémérales de la cortisolémie à l'équinoxe du printemps chez le bélier D'man élevé dans la région d'El –Méniaa (N=5).

	Cortisolémie en (ng/ml)	
	Probabilités	
Stades comparés	T	P
7h/19h	4,77197	0,0003<P<0,00882
7h/1h	11,72156	0,0003 < P < 0,01273
19h/1h	4,291700	0,0088 < P < 0,01273

**Tableau 39:** La signification statistique des variations nyctémérales de la cortisolémie au solstice d'été chez le bélier D'man élevé dans la région d'El –Méniaa (N=6).

	Cortisolémie en (ng/ml)	
	Probabilités	
Stades comparés	T	P
7h/19h	8.47788	P>0,005
7h/1h	12,545646	P > 0,05
13h/19h	2.346	P>0,05
19h/1h	2,55469289	P > 0,05

**Tableau 40 :** La signification statistique des variations nyctémérales moyenne de la cortisolémie au cour des saisons chez le bélier D'man élevé dans la région d'El Méniaa (N=20).

	Cortisolémie (ng/ml)	
	probabilité	
Stades comparés	T	P
7h/1h	5,1638	P > 0,05
7h/19h	34,02	P > 0,05
13h/19h	83,06	P > 0,05
19h/1h	69,50	P > 0,05
7h/13h	12,082	P > 0,05
13h/1h	14,274	P > 0,05

**Tableau 41** : La signification statistique des variations saisonnières de la cortisolémie au cours du nyctémère chez le bélier D'man élevé dans la région d'El Méniaa .

	été/automne	
	T	P<
7H	0,505932	0,626548
19H	0,896236	0,039629
1H	0,367099	0,723066
13H	0,580845	0,577337

	été/printemps	
	T	P<
7H	1,047970	0,032528
19H	0,232720	0,821822
1H	1,252954	0,245604
13H	1,655558	0,132195

	automne/printemps	
	T	P<
7H	1,090131	0,307399
19H	9,519368	0,036900
1H	0,838911	0,425875
13H	0,759404	0,467035

	été/hiver	
	T	P<
7H	7,813354	0,001127
19H	-1,45306	0,184277
1H	3,685016	0,005036
13H	3,027592	0,016369

	automne/hiver	
	T	P<
7H	3,263102	0,009790
19H	2,332657	0,047962
1H	3,322042	0,008911
13H	2,149428	0,006383

	hiver/printemps	
	T	P<
7H	-2,75597	0,022258
19H	7,231169	0,000090
1H	-3,74551	0,004586
13H	-4,54800	0,001390

### RESULTATS INDIVIDUEL(Ouled Djellal)

**Tableau 42:** Les variations morphométriques de la surrénal en phase claire à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>Cortex</b>	<b>ZG</b>	<b>ZF</b>	<b>ZR</b>
<b>OJ 8</b>	1411,97	195,239	826,571	380,157
<b>OJ 9</b>	1706,48	190,275	1135,66	370,546
<b>OJ 10</b>	1681,53	158,232	984,108	529,188
<b>MOY</b>	1599,99	181,249	982,113	426,63
<b>Ecart</b>	133,3437	16,40093	126,1933	72,62529
<b>ESM</b>	506,9894	56,9844	295,8735	122,372

**Tableau 43:** Les variations morphométriques de la surrénal en phase sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>Cortex</b>	<b>ZG</b>	<b>ZF</b>	<b>ZR</b>
<b>OJ 1</b>	401,27	195,202	418,713	270,461
<b>OJ 2</b>	1596,06	233,057	583,042	296,856
<b>MOY</b>	998,664	214,13	500,877	283,658
<b>Ecart</b>	597,394	18,9275	82,1645	13,1975
<b>ESM</b>	439,6382	79,67433	170,9031	110,392

**Tableau 44:** Les variations nyctémérales de la surface cellulaire et celle du noyau de la ZF en phase claire à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>C</b>	<b>N</b>	<b>N/C</b>
<b>OJ 8</b>	104,2126	25,1821	0,32020353
<b>OJ 9</b>	116,5273	28,3346	0,32206767
<b>OJ 10</b>	117,9592	26,5391	0,28629489
<b>MOY</b>	112,8997	26,6852667	0,30952203
<b>Ecart</b>	6,17045996	1,29114615	0,01644169
<b>ESM</b>	36,8940583	8,7782145	0,10131172

**Tableau 45:** Les variations nycthémerales de la surface cellulaire et celle du noyau de la ZF en phase sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>C</b>	<b>N</b>	<b>N/C</b>
<b>OJ 1</b>	105,588	24,7563167	0,30750641
<b>OJ 2</b>	105,4794	23,5638167	0,28629936
<b>MOY</b>	105,5337	24,1600667	0,29690288
<b>Ecart</b>	0,0543	0,59625	0,01060353
<b>ESM</b>	43,0528163	9,61788436	0,11685688

**Tableau 46 :** Les variations morphométriques de la surréal en phase claire au solstice d'hiver chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>Cortex</b>	<b>ZG</b>	<b>ZF</b>	<b>ZR</b>
<b>OJ 23</b>	1401,53	272,772	739,626	389,13
<b>OJ 25</b>	1591,17	272,822	811,168	507,176
<b>OJ 26</b>	1447,67	280,442	787,259	379,972
<b>MOY</b>	1480,12	275,345	779,351	425,426
<b>Ecart</b>	80,74801	3,603945	29,73737	57,92676
<b>ESM</b>	483,7344	93,93529	259,1257	127,0369

**Tableau 47:** Les variations morphométriques de la surréal en phase sombre au solstice d'hiver chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>Cortex</b>	<b>ZG</b>	<b>ZF</b>	<b>ZR</b>
<b>OJ 30</b>	946,895	220,411	460,117	266,367
<b>MOY</b>	946,895	220,411	460,117	266,367

**Tableau 48:** Les variations nycthémerales de la surface cellulaire et celle du noyau de la ZF en phase claire au solstice d'hiver chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>C</b>	<b>N</b>	<b>N/C</b>
<b>OJ 23</b>	112,284233	29,9286	0,36552156
<b>OJ 25</b>	105,456133	28,0384	0,36509603
<b>OJ 26</b>	97,7507333	27,4144	0,38252192
<b>MOY</b>	105,1637	28,4604667	0,3710465
<b>Ecart</b>	5,93687873	1,06892644	0,0081162
<b>ESM</b>	34,3006296	9,46868057	0,12545739

**Tableau 49:** Les variations nycthémerales de la surface cellulaire et celle du noyau de la ZF en phase sombre au solstice d'hiver chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>C</b>	<b>N</b>	<b>N/C</b>
<b>OJ 30</b>	100,139467	27,3691	0,37610227

**Tableau 50 :** Les variations morphométriques de la surrénal en phase claire à l'équinoxe du printemps chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>Cortex</b>	<b>ZG</b>	<b>ZF</b>	<b>ZR</b>
<b>OJ 3</b>	1547,96	215,201	874,289	458,466
<b>OJ 12</b>	1533,68	185,659	970,969	377,048
<b>OJ 13</b>	1511,74	245,476	927,795	338,465
<b>MOY</b>	1531,12	215,445	924,351	391,326
<b>ECART</b>	14,89657	24,4208	39,5445	50,01975
<b>ESM</b>	524,1275	66,03317	305,859	117,9825

**Tableau 51 :** Les variations morphométriques de la surrénal en phase sombre à l'équinoxe du printemps chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>Cortex</b>	<b>ZG</b>	<b>ZF</b>	<b>ZR</b>
<b>OJ 14</b>	1174,48	216,106	522,053	250,084
<b>OJ 15</b>	988,243	192,942	778,812	620,164
<b>OJ 5</b>	1591,92	192,248	617,217	365,016
<b>MOY</b>	1251,55	200,432	639,361	411,755
<b>ECART</b>	252,4022	11,08681	105,9844	154,657
<b>ESM</b>	363,7267	65,45266	184,377	135,3345



**Tableau 52 :** Les variations nycthémerales de la surface cellulaire et celle du noyau de la ZF en phase claire à l'équinoxe du printemps chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	C	N	N/C
<b>OJ 3</b>	118,4463	27,0401833	0,29366651
<b>OJ 12</b>	109,608	26,4317833	0,31868614
<b>OJ 13</b>	118,8414	27,9655833	0,30799072
<b>MOY</b>	115,6319	27,14585	0,30678113
<b>ECART</b>	4,26259345	0,6306133	0,01024997
<b>ESM</b>	38,4980319	9,16576083	0,1025046

**Tableau 53 :** Les variations nycthémerales de la surface cellulaire et celle du noyau de la ZF en phase sombre à l'équinoxe du printemps chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	C	N	N/C
<b>OJ 14</b>	101,6023	22,5695	0,30705079
<b>OJ 15</b>	103,9095	26,3753	0,36364726
<b>OJ 5</b>	122,7095	27,28	0,29675384
<b>MOY</b>	109,4071	25,4082667	0,32248396
<b>ECART</b>	9,45325966	2,04100754	0,02940884
<b>ESM</b>	34,5519448	8,07757106	0,10130992

**Tableau 54 :** Les variations morphométriques de la surrénal en phase claire au solstice d'été chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa

	Cortex	ZG	ZF	ZR
<b>OJ 20</b>	1652,51815	203,551	1153,4181	295,549
<b>OJ 21</b>	1732,57315	194,989	1177,9581	359,626
<b>OJ 22</b>	1580,07815	207,491	1150,3701	222,217
<b>MOY</b>	1655,05648	202,010333	1160,5821	292,464
<b>ECART</b>	62,2816913	5,21889141	12,3495373	56,1393875
<b>ESM</b>	550,588816	68,0266713	396,919898	89,5726451

**Tableau 55:** Les variations morphométriques de la surrénal en phase sombre au solstice d'été chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	Cortex	ZG	ZF	ZR
<b>OJ 17</b>	1145,048	159,951	666,744	312,353
<b>OJ 18</b>	1824,807	218,974	1074,589	525,244
<b>OJ 19</b>	1606,795	208,72	899,612	492,463
<b>MOY</b>	1525,55	195,881667	880,315	443,353333
<b>ECART</b>	283,394468	25,7493784	167,060202	93,5929627
<b>ESM</b>	475,81707	58,8111614	271,03274	144,582956

**Tableau 56:** Les variations nycthémérales de la surface cellulaire et celle du noyau de la ZF en phase claire au solstice d'été chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	C	N	N/C
<b>OJ 20</b>	113,015	29,7432	0,38067656
<b>OJ 21</b>	103,3846	26,5532	0,36689728
<b>OJ 22</b>	138,6402	32,4641	0,32043087
<b>MOY</b>	118,3466	29,5868333	0,33333609
<b>Ecart</b>	14,8785932	2,41564658	0,0271601
<b>ESM</b>	35,7667184	9,392509	0,11255431

**Tableau 57:** Les variations nycthémérales de la surface cellulaire et celle du noyau de la ZF en phase sombre au solstice d'été chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	C	N	N/C
<b>OJ 17</b>	93,888	23,4683	0,34562048
<b>OJ 18</b>	117,7239	27,6578	0,32851025
<b>OJ 19</b>	114,3633	27,2177	0,32772517
<b>MOY</b>	108,6584	26,1146	0,33395197
<b>Ecart</b>	10,533975	1,87982265	0,00825711
<b>ESM</b>	33,9195543	8,3774539	0,11258588

**Tableau 58:** Les variations morphométriques de la surrénal en phase claire à l'équinoxe d'automne 2 chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	Cortex	ZG	ZF	ZR
<b>OJ 24</b>	1673,654	355,482	931,287	386,885
<b>OJ 29</b>	1971,09	343,457	1192,974	434,659
<b>MOY</b>	1815,29019	349,75581	1055,89986	409,634524
<b>Ecart</b>	34,37	40,093	26,1933	72,62529
<b>ESM</b>	506,9894	56,9844	295,8735	122,372

**Tableau 59:** Les variations morphométriques de la surréal en phase sombre à l'équinoxe d'automne 2 chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>Cortex</b>	<b>ZG</b>	<b>ZF</b>	<b>ZR</b>
<b>OJ 31</b>	1560,55	336,847	832,369	391,334
<b>MOY</b>	1560,55	336,847	832,369	391,334

**Tableau 60:** Les variations nyctémérales de la surface cellulaire et celle du noyau de la ZF en phase claire à l'équinoxe d'automne 2 chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>C</b>	<b>N</b>	<b>N/C</b>
<b>OJ 24</b>	70,5114	27,6657	0,74407913
<b>OJ 29</b>	72,2213	26,0346	0,64499981
<b>MOY</b>	89,7808	31,7995	0.649483761
<b>Ecart</b>	6,17045996	1,29114615	0,01644169
<b>ESM</b>	36,8940583	8,7782145	0,10131172

**Tableau 61:** Les variations nyctémérales de la surface cellulaire et celle du noyau de la ZF en phase sombre à l'équinoxe d'automne 2 chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>C</b>	<b>N</b>	<b>N/C</b>
<b>OJ 31</b>	89,7808	31,7995	0,64948376
<b>MOY</b>	89,7808	31,7995	0,64948376

**Tableau 62:** Variations nycthémérales individuelles de la cortisolémie à l'équinoxe d'automne chez le bélier Ouled Djellal élevé dans la région d'Al-Méniaa

	7h	13h	19h	1h
<b>OJ 7</b>	14,443981	4,6729856	4,4524552	5,2583034
<b>OJ 8</b>	0,00985599	4,6095994	4,6993392	3,2651133
<b>OJ 9</b>	5,74675	4,6715014	3,4173343	2,92757002
<b>OJ 10</b>	29,1511722	11,040638	5,4697476	6,9531512
<b>OJ 1</b>	9,4819022	4,7931334	3,49789378	4,3951868
<b>MOY</b>	11,7667323	5,95757156	4,30735402	4,55986494
<b>ECART</b>	9,89010806	2,54222922	0,77113249	1,45488988
<b>ESM</b>	7,29515951	1,8483878	0,61799271	1,12426353

**Tableau 63:** Variations nycthémérales individuelles de la cortisolémie au solstice d'hiver chez le bélier Ouled Djellal élevé dans la région d'Al-Méniaa

	7h	13h	19h	1h
<b>OJ 23</b>	15,1659538	3,54103332	4,2419522	5,8825724
<b>OJ 25</b>	3,7279484	6,5792052	5,3056892	4,6415278
<b>OJ 26</b>	13,1759312	7,068231	4,4869176	5,7551122
<b>OJ 27</b>	6,53048	4,570069	4,4568716	5,5729538
<b>MOY</b>	9,65007835	5,43963463	4,62285765	5,46304155
<b>ECART</b>	4,68134696	1,44150776	0,40539455	0,48689756
<b>ESM</b>	4,10917912	1,66745358	1,25478241	1,48050565

**Tableau 64:** Variations nycthémérales individuelles de la cortisolémie à l'équinoxe de printemps chez le bélier Ouled Djellal élevé dans la région d'Al-Méniaa

	7h	13h	19h	1h
<b>OJ 3</b>	4,2240694	9,2737522	6,306221	6,1041164
<b>OJ 5</b>	4,4745734	5,3321514	18,173631	5,0531218
<b>OJ 12</b>	6,183503	16,127498	12,174132	12,209029
<b>OJ 14</b>	5,921777	5,7646328	6,123773	6,1370584
<b>OJ 15</b>	6,5135022	4,065984	10,171259	15,848432
<b>MOY</b>	5,463485	8,11280372	10,5898032	9,07035164
<b>ECART</b>	0,93221143	4,36361806	4,43833802	4,2269273
<b>ESM</b>	1,43638269	3,26696537	3,71136609	3,62449656

**Tableau 65:** Variations nycthémerales individuelles de la cortisolémie au solstice d'été chez le bélier Ouled Djellal élevé dans la région d'Al-Méniaa

	<b>7h</b>	<b>13h</b>	<b>19h</b>	<b>1h</b>
<b>OJ 17</b>	5,4831778	4,976052	3,6282536	5,7196
<b>OJ 18</b>	19,8236992	13,874374	4,980577	4,976052
<b>OJ 19</b>	11,8655274	12,2551118	4,036119	3,6282536
<b>OJ 20</b>	7,3144634	4,9350736	0,01464927	5,7558
<b>OJ 21</b>	15,9612316	11,059462	3,9051474	5,1077838
<b>OJ 22</b>	15,7200672	4,8235052	3,1209649	7,0055688
<b>MOY</b>	12,6946944	8,65392977	3,28095186	5,3655097
<b>ECART</b>	5,51880839	3,83051267	1,56330686	1,01682996
<b>ESM</b>	4,76921542	3,79838207	1,20690905	1,31367678

## LES SIGNIFICATIONS STATISTIQUES

**Tableau 66** : Les significations statistiques des résultats morphométriques de la surrénale en phase claire et en phase sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>T</b>	<b>P</b>	<b>LES RESULTATS STATISTIQUES</b>
<b>Cortex</b>	16,96915	0,003455	Différence très significative
<b>Zone fasciculée</b>	11,00627	0,008154	Différence très significative

**Tableau 67** : Les significations statistiques des résultats morphométriques de la surrénale en phase claire et en phase sombre au solstice d'hiver chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>T</b>	<b>P</b>	<b>LES RESULTATS STATISTIQUES</b>
<b>Cortex</b>	108,0474	0,000086	Différence hautement significative
<b>Zone fasciculée</b>	37,06342	0,000727	Différence hautement significative

**Tableau 68** : Les significations statistiques des résultats morphométriques de la surrénale en phase claire et en phase sombre à l'équinoxe du printemps chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>T</b>	<b>P</b>	<b>LES RESULTATS STATISTIQUES</b>
<b>Cortex</b>	145,3579	0,000047	Différence hautement significative
<b>Zone fasciculée</b>	33,05718	0,000914	Différence hautement significative

**Tableau 69** : Les significations statistiques des résultats morphométriques de la surrénale en phase claire et on phase sombre au solstice d'été chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>T</b>	<b>P</b>	<b>LES RESULTATS STATISTIQUES</b>
<b>Cortex</b>	37,58092	0,000707	Différence hautement significative
<b>Zone fasciculée</b>	132,9047	0,000057	Différence hautement significative

**Tableau 70** : Les significations statistiques des résultats morphométriques de la surrénale en phase claire et en phase sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>T</b>	<b>P</b>	<b>LES RESULTATS STATISTIQUES</b>
<b>Cortex</b>	3,26798	0,00286	Différence hautement significative
<b>Zone fasciculée</b>	3.915870	0.000526	Différence hautement significative

**Tableau 71** : La signification statistique des variations morphométriques saisonnière moyenne de la surrénal en phase claire et en phase sombre chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El-Méniaa.

	<b>T</b>	<b>P</b>	<b>LES RESULTATS STATISTIQUES</b>
<b>Cortex</b>	8,88818	0,003003	Différence très significative
<b>Zone fasciculée</b>	12,19456	0,001187	Différence très significative

**Tableau 72** : Les significations statistiques des variations morphométriques saisonnières de la surrénal durant la phase claire chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'EL-Méniaa

	<b>été/automne</b>	
	<b>T</b>	<b>P</b>
<b>Cortex</b>	16,96915	0,003455
<b>ZF</b>	11,0063	0,008154

	<b>été/printemps</b>	
	<b>T</b>	<b>P</b>
<b>Cortex</b>	12,736934	0,005207
<b>ZF</b>	8,064142	0,001284

	<b>automne/hiver</b>	
	<b>T</b>	<b>P</b>
<b>Cortex</b>	25,92274	0,001485
<b>ZF</b>	11,00627	0,008154

	<b>hiver/printemps</b>	
	<b>T</b>	<b>P</b>
<b>Cortex</b>	25,9227	0,001485
<b>ZF</b>	-4,14448	0,014324

	été/hiver	
	T	P
<b>Cortex</b>	37,58092	0,000707
<b>ZF</b>	16,74369	0,000075

	automne/printemps	
	T	P
<b>Cortex</b>	7,258932	0,050810
<b>ZF</b>	0,617704	0,570202

**Tableau 73** : Les significations statistiques des variations morphométriques saisonnières de la surrenal durant la phase sombre chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'EL-Méniaa

	été/automne	
	T	P
<b>Cortex</b>	7,612899	0,016820
<b>ZF</b>	7,452124	0,017535

	été/printemps	
	T	P
<b>Cortex</b>	7,012440	0,019736
<b>ZF</b>	8,531370	0,013462

	automne/printemps	
	T	P
<b>Cortex</b>	7,612899	0,016820
<b>ZF</b>	6,096027	0,010351

**Tableau 74**: Les pourcentages des différentes zones de la corticosurrénale durant la phase claire chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El Méniaa

phase claire					
	Automne	Hiver	Printemps	Eté	Automne 2
<b>ZF</b>	61%	53%	60%	70%	58 %

**Tableau 75** : Les pourcentages des différentes zones de la corticosurrénale durant la phase sombre chez le bélier de race Ouled Djellal élevé dans la région d'El Méniaa

phase Sombre					
	Automne	Hiver	Printemps	Eté	Automne 2
<b>ZF</b>	50%	49%	51%	58%	53 %



**Tableau 76 :** La signification statistique des variations nyctémérales de la cortisolémie à l'équinoxe d'automne chez le bélier Ouled Djellal élevé dans la région d'El -Méniaa (N=5).

Stades comparés	Cortisolémie en (ng/ml)	
	Probabilités	
	T	P
7h/19h	11,171500	0,0003 < P < 0,05
7h/1h	6,268330	0,003 < P < 0,05
13h/19h	4,68689	0,0003 < P < 0,009
19h/1h	6,3700	0,0003 < P < 0,003

**Tableau 77 :** La signification statistique des variations nyctémérales de la cortisolémie au solstice d'hiver chez le bélier Ouled Djellal élevé dans la région d'El -Méniaa (N=4).

Stades comparés	Cortisolémie en (ng/ml)	
	Probabilités	
	T	P
7h/13h	3,570431	0,007279 < P < 0,037541
7h/1h	19,43379	0,000298 < P < 0,037541
13h/19h	6,53602	0,000284 < P < 0,007279
13h/1h	6,63602	0,000298 < P < 0,007279
19h/1h	19,75119	0,000284 < P < 0,000298

**Tableau 78 :** La signification statistique des variations nyctémérales de la cortisolémie à l'équinoxe du printemps chez le bélier Ouled Djellal élevé dans la région d'El -Méniaa (N=5).

Stades comparés	Cortisolémie en (ng/ml)	
	Probabilités	
	T	P
7h/19h	4,77197	0,0003 < P < 0,00882

7h/1h	11,72156	0,0003 < P < 0,01273
19h/1h	4,291700	0,0088 < P < 0,01273

**Tableau 79** : La signification statistique des variations nyctémérales de la cortisolémie au solstice d'été chez le bélier Ouled Djellal élevé dans la région d'El -Méniaa (N=6).

Stades comparés	Cortisolémie en (ng/ml)	
	Probabilités	
	T	P
7h/19h	5,63446	0,002441 < P < 0,005371
7h/1h	11,79907	0,00008 < P < 0,002441
13h/19h	5,051746	0,003927 < P < 0,005371
19h/1h	4,69289	0,00008 < P < 0,005371

**Tableau 80** : La signification statistique des variations nyctémérales moyenne de la cortisolémie au cour des saisons chez le bélier Ouled Djellal élevé dans la région d'El Méniaa (N=20).

Stades comparés	Cortisolémie (ng/ml)	
	probabilité	
	T	P
7h/1h	6,151638	0,008643 < P < 0,008935
7h/19h	3,444602	0,008643 < P < 0,041098
13h/19h	8,91306	0,002979 < P < 0,041098
19h/1h	6,07950	0,046098 < P < 0,837620
7h/13h	1,592082	0,002979 < P < 0,008643
13h/1h	10,724274	0,002979 < P < 0,008935

**Tableau 81** : La signification statistique des variations saisonnières de la cortisolémie au cours du nyctémère chez le bélier Ouled Djellal élevé dans la région d'El Méniaa (N=20).

	été/automne	
	T	P<
7H	2,379495	0,076031
19H	4,69289	0,005371
1H	6,26833	0,003305

	été/printemps	
	T	P<
7H	11,72156	0,000303
19H	19,75119	0,000284
1H	9,76843	0,000810

	été/hiver	
	T	P<
7H	5,634463	0,002441
19H	4,771968	0,008827
1H	-0,1598	0,87699

	automne/printemps	
	T	P<
7H	10,62156	0,000703
19H	11,17150	0,000365

1H	11,79907	0,000295
----	----------	----------

	automne/hiver	
	T	P<
7H	3,570431	0,037541
19H	-0,65306	0,53456
1H	4,291700	0,012729

	hiver/printemps	
	T	P<
7H	2,57043	0,047541
19H	2,363442	0,050087
1H	19,43379	0,000298

## LES SIGNIFICATIONS STATISTIQUES

(comparaison des deux races )

**Tableau 82** : Les significations statistiques des résultats morphométriques de la surrenale entre la race D'man et Ouled Djaellal en phase claire et en phase sombre à l'équinoxe d'automne .

			T	p
PHASE CL	la ZF X100	cellule	8,460815	0,000000
		noyau	-6,02501	0,000000
		n/c	-12,7427	0,00
	X40	ZF	7,663508	0,000000
		CORTEX	7,519445	0,000000
PHASE SOM	la ZF X100	cellule	14,30798	0,00
		noyau	-2,99397	0,002891
		n/c	3,631062	0,000311
	X40	ZF	1,719700	0,091930
		CORTEX	2,960506	0,004761

**Tableau 83**: Les significations statistiques des résultats morphométriques de la surrenale entre la race D'man et Ouled Djaellal en phase claire et en phase sombre en solstice d'hiver

			T	p
PHASE CL	la ZF X100	cellule	-5,54603	0,000000
		noyau	-2,19413	0,028610
		n/c	4,505456	0,000008
	X40	ZF	-3,85658	0,000291
		CORTEX	-6,45450	0,000000
PHASE SOM	la ZF X100	cellule	-1,03880	0,299528
		noyau	-2,67273	0,007833
		n/c	-0,241546	0,809257
	X40	ZF	-5,69870	0,000001
		CORTEX	-7,32646	0,000000

**Tableau 84** : Les significations statistiques des résultats morphométriques de la surrénale entre la race D'man et Ouled Djaellal en phase claire et en phase sombre à l'équinoxe De printemps .

			T	p
PHASE CL	la ZF X100	cellule	-7,30214	0,000000
		noyau	13,17892	0,00
		n/c	16,10049	0,00
	X40	ZF	1,340621	0,185271
		CORTEX	-0,328711	0,743558
PHASE SOM	la ZF X100	cellule	-4,28070	0,000022
		noyau	1,665625	0,096418
		n/c	9,220061	0,000000
	X40	ZF	1,109573	0,272711
		CORTEX	2,960506	0,004761

**Tableau 85**: Les significations statistiques des résultats morphométriques de la surrénale entre la race D'man et Oule Djaellal en phase claire et en phase sombre en solstice d'été :

			T	p
PHASE CL	la ZF X100	cellule	-3,50459	0,000492
		noyau	2,412048	0,016163
		n/c	5,568250	0,000000
	X40	ZF	5,808362	0,000000
		CORTEX	1,189940	0,238918
PHASE SOM	la ZF X100	cellule	5,026243	0,000001
		noyau	6,940741	0,000000
		n/c	2,202954	0,027979
	X40	ZF	1,105839	0,273362
		CORTEX	0,443237	0,659244

**Tableau 86** : Les significations statistiques des résultats morphométriques de la surrenale entre la race D'man et Ouled Djaellal en phase claire et en phase sombre à l'équinoxe d'automne 2.

			T	p
PHASE CL	la ZF X100	cellule	1,226465	0,220749
		noyau	0,033051	0,973650
		n/c	-1,22940	0,219650
	X40	ZF	-1,65413	0,106339
		CORTEX	-4,32279	0,000107
PHASE SOM	la ZF X100	cellule	-6,28763	0,000000
		noyau	-4,27904	0,000025
		n/c	1,262802	0,207647
	X40	ZF	-6,00210	0,000002
		CORTEX	-8,72063	0,000000

**Tableau 87** : Les significations statistiques des résultats nycthémérales de dosage de cortisol entre la race D'man et Ouled Djaellal à l'équinoxe d'automne.

	oj/d'man	
	T	P
7h	5,607100	0,004969
13h	5,154462	0,006724
19h	11,17150	0,000365
1h	8,583922	0,001012

**Tableau 88** : Les significations statistiques des résultats nycthémérales de dosage de cortisol entre la race D'man et Ouled Djaellal à solstice d'hiver :

	oj/d'man	
	T	P
7h	-2,64819	0,029338
13h	2,089335	0,070091
19h	3,458526	0,008586
1h	4,461862	0,002106

**Tableau 89** : Les significations statistiques des résultats nyctémérales de dosage de cortisol entre la race D'man et Ouled Djaellal à l'équinoxe de printemps .

	oj/d'man	
	T	P
7h	-0,340760	0,742061
13h	1,383405	0,203918
19h	-2,56257	0,033513
1h	-1,84554	0,102173

**Tableau 90** : Les significations statistiques des résultats nyctémérales de dosage de cortisol entre la race D'man et Ouled Djaellal à solstice d'été:

	oj/d'man	
	T	P
7h	-0,867921	0,040798
13h	-0,757686	0,468013
19h	-1,35939	0,207106
1h	0,914581	0,384260

**Tableau 91** : Les significations statistiques des résultats saisonnières de dosage de cortisol entre la race D'man et Ouled Djaellal

	OJ/D	
	T	P
SEP	0,403896	0,700291
DéC	2,306067	0,060595
MARS	2,825553	0,030133
JUIN	0,312822	0,765004

**Les Tableaux 92:** les résultats de QPCR de la race D'man par le référence ( D45 et D64) :

réf d45			Réf D64		
	Reverb	heure		Reverb	Heure
D43	0,42	14	D43	0,91	14
D44	1,13	15	D44	2,447	15
D45	1	0	D45	2,16	0
D64	0,46	2	D64	1	2

réf d45			Réf D64		
	Per2	heure		Per2	Heure
D43	1,026	14	D43	1,329	14
D44	0,856	15	D44	1,108	15
D45	1	0	D45	1,29	0
D64	0,77	2	D64	1	2

réf d45			Réf D64		
	Bmal1	heure		Bmal1	Heure
D43	1,219	14	D43	0,4	14
D44	2,3	15	D44	0,76	15
D45	1	0	D45	0,33	0
D64	3,028	2	D64	1	2

réf d45			Réf D64		
	clock	heure		clock	Heure
D43	1,359	14	D43	0,42	14
D44	1,82	15	D44	0,56	15
D45	1	0	D45	0,31	0
D64	3,224	2	D64	1	2

réf d45			Réf D64		
	3BHsd	heure		3BHSD	Heure
D43	0,898	14	D43	0,48	14
D44	1,336	15	D44	0,716	15
D45	1	0	D45	0,535	0
D64	1,866	2	D64	1	2



	réf d45			RÉF D64	
	Star	heure		Star	Heure
D43	0,687	14	D43	0,42	14
D44	0,76	15	D44	0,46	15
D45	1	0	D45	1,61	0
D64	1,63	2	D64	1	2

**LES Tableaux93:**les résultats de QPCR de la race Ouled Djellal par le référence ( OJ 31) :

	réf oj31	
	reverb	heure
OJ24	4,38	12
OJ29	2,23	13
OJ31	1	1

	réf oj31	
	Per2	heure
OJ24	1,79	12
OJ29	1,427	13
OJ31	1	1

	réf oj31	
	Bmal1	heure
OJ24	1,17	12
OJ29	1,32	13
OJ31	1	1

	réf oj31	
	clock	heure
OJ24	0,528	12
OJ29	0,444	13
OJ31	1	1

	réf oj31	
	3BHSD	heure
OJ24	0,809	12
OJ29	0,715	13
OJ31	1	1

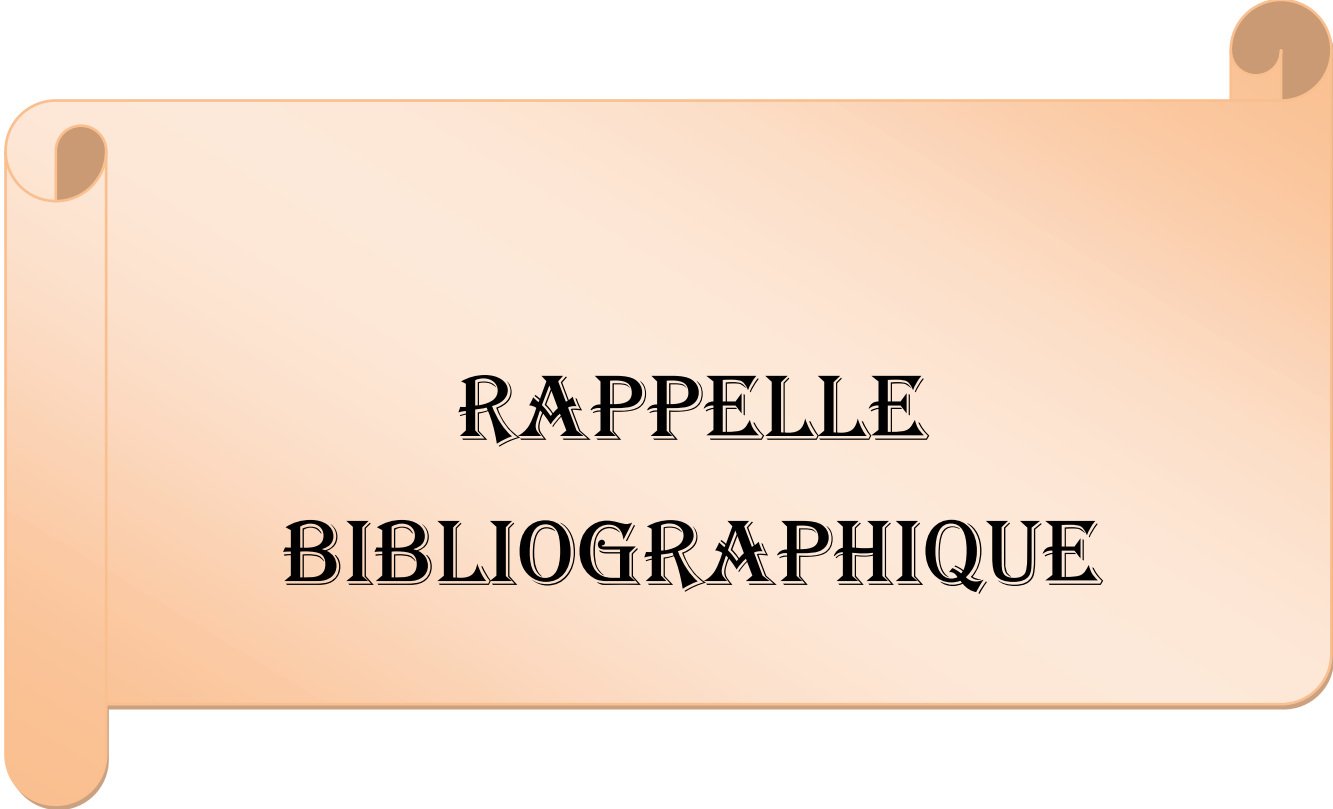
	réf oj31	
	Star	heure
OJ24	0,533	12
OJ29	0,495	13
OJ31	1	1



# SOMMAIRE



# PRÉAMBULE



**RAPPELLE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**



**MATÉRIEL ET  
MÉTHODES**



# RÉSULTATS

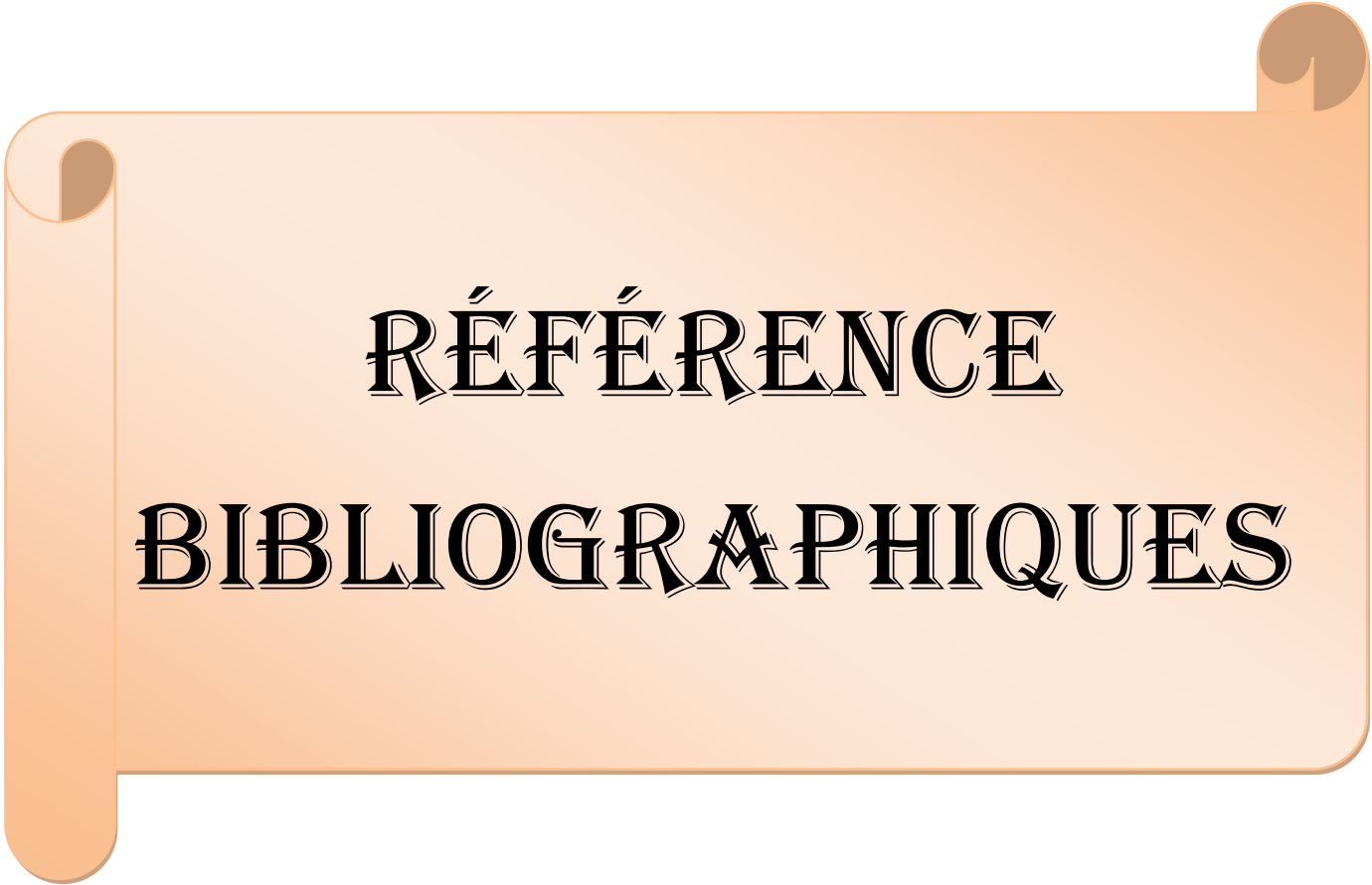


# DISCUSSION





**CONCLUSION ET  
PERSPECTIVES**



**RÉFÉRENCE**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**



# ANNEXES

Races Caractères	Ouled-Djellel	Béni-Iguile	Rumbi	Berbère	Barbarine	D'man	Targui-sidaou							
Berceau des races :	Centre et l'est Algérien, vaste zone allant de l'Oued Touil (Laghouat) à la frontière tunisienne.	Maroc orientale, haut atlas marocain en Algérie : du Chotte Chergui à la frontière marocain.	L'Oued Touil à l'est au Chotte Chergui à l'ouest.	Atlas Tallien du Nord d'Algérie et d'Afrique du nord.	La frontière tunisienne dans l'erg oriental (OUED-SOUF)	Sahara du sud ouest algérien, erg occidental et sud marocain.	La grande Sahara du sud Algérien.							
Caractéristique physique :														
-Conformation :	Bien proportionnée, taille élevée, l'hauteur égale la longueur.	Corps petit mais court trapu et large, squelette fine.	Bon conformation, squelette massif.	Race de petite taille.	Bonne, corps ramassé, poitrine large et profonde.	Petites corps, conformation défectueuse.	Etriqué d'une façon générale, poitrine étroite.							
-Corne :	Moyennes et spiralées, absent chez les brebis.	Moyennes et spiralées.	Spiralées, massives.	Petites et spiralées.	Développées chez le male, absent chez la femelle.	Petites, fines ou n'existent pas.	Sans cornes ou de petites cornes courbées chez les males.							
-Couleur :	Blanche.	La tête et les pattes sont brunes, la peau est brune, la laine est blanche au jarre.	Peau pigmenté de brun mais la laine est blanche.	Blanche sur tout le corps.	Corps blanche sauf la tête qui peut être brune ou noire.	Noire ou brun foncé.	Noire et jaune claire.							
-Oreille :	Moyennes et tombantes placées en haut de la tête.	Moyennes et pendantes.	Moyennes et tombantes.	Moyennes.	Moyenne et pendantes.	Grandes et pendantes.	Grandes et pendantes.							
-Queue :	Fine de longueur moyenne.	Fine de longueur moyenne.	Mince et moyenne.	Fine de longueur moyenne s'arrête au jarret.	Grosse 1à2kg et 3à4kg après l'engraissement.	Fine, longue à extrémité blanche.	Mince et longue.							
Effectif : (ministère d'agriculture algérienne).	63%	0,31%	11,1%	25%	0,27%	0,19%	0, 13%							
Mensuration du corps : (	Béliers	Brebis	Béliers	Brebis	Béliers	Brebis	Béliers	Brebis	Béliers	Brebis	Béliers	Brebis		
-Hauteur (m) :	0,84	0,74	0,76	0,67	0,77	0,71	0,65	0,60	0,70	0,64	0,75	0,60	0,77	0,76
-Longueur (m) :	0,84	0,67	0,71	0,70	0,81	0,76	0,78	0,64	0,66	0,65	0,74	0,64	0,64	0,64
-Profondeur(m) :	0,40	0,35	0,36	0,25	0,33	0,33	0,37	0,30	0,32	0,29	0,34	0,32	0,33	0,32
-Poids du corps (kg) :	81	49	71	40	80	62	45	35	45	37	46	36	41	33
Saison d'agnelage :	Principalement en automne et pour petite partie au printemps.	Principalement en automne.	De septembre à décembre et de février à avril	Printemps et début d'été.	Se déroule entre janvier et mars.	Toute l'année.								
Saison de pâturages :	En hiver et au printemps sur les steppes. En été et en automne sur les hauts plateaux à céréales.	En hiver et au printemps sur les steppes	En hiver et au printemps sur les steppes. En été et en automne sur les hauts plateaux à céréales.	Toute l'année.										

(Chellig, 1992, Modifiée)