

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

Université de Blida -1-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie des Populations et Organismes

Mémoire de Fin d'Etude En vue de l'obtention du diplôme de

Master en Biologie

Option : Biologie et Physiologie de la Reproduction



Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Master II Académique

Intitulé :

Histologie de l'appareil génitale mâle de *Gerbillus tarabuli* ainsi que sa position dans l'arbre phylogénétique du genre *Gerbillus*.

Présenté par :

M^{lle} Brahim Djefal Rania & M^{lle} Ben Moussa Khaoula

Devant les jurys :

<i>Présidente :</i>	<i>Benmanssour N.</i>	<i>MCB</i>	<i>SNV Blida I</i>
<i>Examineur :</i>	<i>Larbi doukara K.</i>	<i>MCB</i>	<i>SNV Blida I</i>
<i>Promotrice :</i>	<i>Derouiche L.</i>	<i>MCA</i>	<i>ESSAIA Alger</i>
<i>Co-promotrice :</i>	<i>Zatra Y.</i>	<i>MCB</i>	<i>SNV Blida I</i>

Année universitaire : 2017/2018

Remerciements

Nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience ainsi que la force afin de réaliser ce travail.

Tous nos remerciements et notre profonde gratitude à Notre promotrice Mme DEROUICHE.L Maitre de conférence à l'Ecole préparatoire en sciences de la nature et de la vie –Alger Pour son dévouement incomparable, son orientation scientifique son encadrement et pour la confiance qu'elle nous accordé pour mener à bien ce travail.

Et

Notre Co-promotrice M elle ZATRA .Y Maitre assistante au département de biologie Pour son encadrement, aide, encouragement et la sympathie qu'elle nous a montrée et grâce à ces conseils que nous avons pu terminer et compléter notre mémoire

J'adresse également mes vifs remerciements à tous les membres du jury :

***Mme Benmanssour. N :** maitre de conférences B, qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider ce jury.*

***Mr Larbi doukara. K :** maitre de conférences B, à la faculté des sciences biologiques Blida 1, qui a eu l'amabilité d'examiner ce travail en participant au jury. Qu'elle soit vivement remerciée pour toutes les critiques constructives qu'elle ne manquera pas d'apporter.*

Nos remerciements les plus accordés vont également à Mme Amroussi Meriem ingénieur de laboratoire d'anatomo-pathologie d'hôpital Fares Yahia au Koléa. Ces conseils et ses optimistes critiques qui nous ont servi de bien durant ce travail.

Nous tenons également à remercier infiniment :

*Mme Akli docteur d'anatomie et pathologie d'hôpital Fares Yahia au Koléa
d'avoir accepté de nous accueillir dans son établissement, pour son aide précieux,
d'avoir mis à notre disposition tous les moyens afin de mener à bien ce travail.*

M elle Baudour, docteur d'anatomo-pathologie pour leur aide et soutien.

Qu'il trouve ici l'expression de nos remerciements les plus attribués :

*Je remercie chaleureusement tous les employés du laboratoire d'hôpital Fares
Yahia au Koléa et plus particulièrement : M elle Haddouche Fatima,*

Mme. Boudise, M elle Malika, ainsi que Samira et pour leur aide.

*Toute personne du laboratoire d'anatomo-pathologie qui nous soutenue et aidé le
long de notre présence à l'hôpital Fares Yahia au Koléa.*

*Aussi, je remercie vivement tous les enseignants et les enseignantes du
Département Biologie des Populations et des Organismes qui nous ont enseigné
durant notre cursus universitaire.*

*Mes profonds remerciements vont également à toutes les personnes qui m'ont
aidé et soutenu de près ou de loin ...*

Dédicace

Je dédie ce travail à :

A mes très chers parents qui ont consacré leur vie pour mon éducation et ma réussite, qui m'ont apporté leur soutien durant toutes mes études et m'ont incité à aller toujours vers l'avant, et qui n'ont jamais cessé de ménager leurs efforts pour m'épargner soucis et besoins. Que Dieu les garde et les protège pour moi.

A mes chères sœurs Noussaïba, Asma, Hafsa ,

Mes frères Abather et Amar

A mes chères tantes : Fouziya et Ghania.

Je leur souhaite une bonne vie pleine de joie et bonne heures pleine de santé

A mon binôme Rania et sa famille

Mes chères copines Galouze Hanane, Hadjer, Ibtissem, Karima, Amira, Khadidja et Rima.

Mes cousines : Roufaïda , Rawda.

Enfin je dédie ce modeste travail à tous mes amis, ...

Dédicace

Je dédie ce travail à :

A mes très chers parents qui ont consacré leur vie pour mon éducation et ma réussite, qui m'ont apporté leur soutien durant toutes mes études et m'ont incité à aller toujours vers l'avant, et qui n'ont jamais cessé de ménager leurs efforts pour m'épargner soucis et besoins. Que Dieu les garde et les protège pour moi.

A mes chères sœurs Noussaïba, Asma, Hafsa ,

Mes frères Abather et Amar

A mes chères tantes : Fouziya et Ghania.

Je leur souhaite une bonne vie pleine de joie et bonne heures pleine de santé

A mon binôme Rania et sa famille

Mes chères copines Galouze Hanane, Hadjer, Ibtissem, Karima, Amira, Khadidja et Rima.

Mes cousines : Roufaïda , Rawda.

Enfin je dédie ce modeste travail à tous mes amis, ...

Liste des abréviations

- CT : coupe transversal.
- CL : coupe longitudinale.
- Acp5 : acid phosphatase type V.
- Rbp3: interphotoreceptor retinoid-binding protein.
- Rag1: recombination activating protein 1.
- Ghr : growth hormone receptor.
- AVPR2 : arginine vasopressin receptor 2.
- Akr1b7 : aldo-keto reductase 1-B7.
- 18 Sr RNA : 18S ribosomal RNA.
- LCAT : cholesterol acyl transferase.
- Vwf gene : von willebrand factor gene.

Liste des figures :

N° de figure	Titre	Page
01	<i>Gerbillus tarabuli</i> (original., 2018).	03
02	Répartition de genre <i>Gerbillus tarabuli</i> dans l'Afrique (Duplantier et al., 1991).	04
03	Répartition géographique de genre <i>Gerbillus tarabuli</i> dans l'Algérie (Dekar et Benjelloul., 2002).	05
04	Schéma représentatif de l'appareil reproducteur mâle chez la souris (Roscoe et al , 1941).	07
05	Structure intra testiculaire (Muller et Clos ,1997).	09
06	Cavité abdominal d'un Souris mâle montre une partie de l'appareil urogénitale (Vernet ,2006).	10
07	Organisation anatomique des vésicules séminales et des lobes prostatiques au carrefour urogénital chez la souris(Oliveira et al, 2016).	11
08	Coupe transversale d'un testicule de souris (vernet ,2006).	12
09	coupe transversale d'un tube séminifère d'une souris adulte(Hôte, 2009).	12
10	Structure histologique de la vésicule séminale chez souris (alkarim et al, 2015).	13
11	Structure histologique des lobes prostatiques chez la souris(Oliveira et al, 2016).	14
12	Représente les différentes étapes de la spermatogenèse. Adaptée d' (Allais-Bonnet et Pailhoux., 2014).	15
13	Les différentes étapes de la spermiogénèse chez la souris (Yan, 2009).	16
14	Dessins d'un spermatozoïde de souris (Toshimori et Ito, 2003).	16
15	Représente la mise en place de l'animal et réalisation des incisions cutanées.	22
16	Appareil génitale mâle d'une souris disséquée.	22
17	Capture des images via logiciel TS View.	25
18	Méthode de mesure des surfaces cellulaires (exemple délimité par le tracé rouge) à l'aide de logiciel Axio Vision 4.6.3.0.	26
19	Les étapes initiales pour récupérer les séquences de la GenBank.	26
20	La taxonomie des espèces de nos genres <i>Gerbillus tarabuli</i> (A), <i>Mus musculus</i> (B) obtenu de la « GenBank ».	27
21	Les données disponibles sur la GenBank concernant les espèces <i>Gerbillus tarabuli</i> (A), <i>Mus musculus</i> (B).	27
22	Exemple d'une séquence nucléotidique au format FASTA.	28

23	Représente le logiciel de MEGA5.	29
24	Le programme ClustalW utilisé pour l'alignement multiple des séquences du marqueur moléculaire choisi.	29
25	La méthode UPGMA utilisée pour la construction de l'arbre phylogénétique.	30
26	Les paramètres utilisés pour la reconstruction phylogénétique.	30
27	Anatomie du testicule et épидидyme chez souris.	32
28	Aspect structural du tube séminifère chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> . Gx10, à coloration Hémalun éosine.	33
29	Morphométrie tissulaire de tube séminifère.	34
30	Aspect structural du tube séminifère chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> . Gx40, à coloration Hémalun éosine.	35
31	Les étapes de la spermatogénèse chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> . Gx100, coloration Hémalu néosine.	36
32	Aspect structural d'épididyme chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> Gx10, coloration hémalun éosine.	37
33	Morphométrie testiculaire d'épididyme chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> .	38
34	Aspect structural d'épididyme chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> Gx40, coloration Bleu alcain.	39
35	Morphométrie de la hauteur d'épididyme chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> .	39
36	Aspect structural d'épididyme chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> Gx100. coloration Bleu alcain.	40
37	Anatomie de la vésicule séminale chez souris.	41
38	Aspect structurale de la vésicule séminale chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> Gx40, coloration Hémalun éosine.	42
39	Aspect structural de la vésicule séminale chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> Gx40, coloration Bleu alcain.	42
40	Anatomie de la prostate chez souris.	43
41	Aspect structural des lobes prostatiques chez <i>Mus musculus</i> , Gx40 en appliquant différents colorants: Hémalin éosine, Bleu alcain, et Rouge congo.	44
42	Organisation du génome mitochondrial humain (Sanger et al., 1981).	46
43	Arbre phylogénétique des séquences cytb des genres <i>Gerbillus</i> et <i>Mus musculus</i> basée sur 85 en utilisant la méthode UPGMA par logiciel MEGA5.	49

Liste des tableaux:

N° de tableau :	Titre :	Page :
I	Représente les déférents organes de l'appareil reproducteur mâle chez souris (Originale, 2018).	07
II	Les séquences d'ADN nucléaire et mitochondrial sont obtenues à partir de la GenBank pour le genre <i>Gerbillus</i> et <i>Mus musculus</i> .	45
III	Présent les séquences d'ADN mitochondriaux extraits de la GenBank chez le genre <i>Gerbillus</i> et <i>Mus musculus</i> .	46
IV	Variation Morphométrique tissulaire du Tubes séminifères (surface) chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> .	Annexe II
V	Variation Morphométrique tissulaire du Tubes séminifères (lumière) chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> .	Annexe II
VI	Variation morphométrique de la surface des épидидymes chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> .	Annexe II
VII	Variation morphométrique de la lumière des épидидymes chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> .	Annexe II
VIII	La variation morphométrique de la hauteur de l'épithélium des épидидymes et la hauteur supra noyau des épидидymes chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> .	Annexe II
IX	Variation testiculaire, chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> . Différences en pourcentage et signification statistique des différences	Annexe II
X	Variation de la lumière des testicules chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> Différences en pourcentage et signification statistique des différences.	Annexe II
XI	Variation de la surface des épидидymes, chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> . Différences en pourcentage et signification statistique des différences.	Annexe II
XII	Variation de la lumière des épидидymes, chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> . Différences en pourcentage et signification statistique des différences.	Annexe II
XIII	La variation de la hauteur de l'épithélium des épидидymes chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> .	Annexe II
IVX	La variation de la hauteur supra noyau des épидидymes chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> .	Annexe II
XV	Liste des séquences d'ADN trouvées dans la GenBank pour l'étude phylogénétique (code, nombre de base et leur origine géographique) chez <i>Gerbillus tarabuli</i> et <i>Mus musculus</i> .	Annexe II

Glossaire

- **Spermatogénèse** : est un processus biologique complexe, qui a lieu dans les tubes séminifères des testicules. Elle consiste en la production des spermatozoïdes ou gamètes mâles haploïdes à partir des spermatogonies, cellules souches germinales diploïdes (**Tulsiani, 1998**).
- **ADN mitochondrial** : est présent dans la matrice des mitochondries. C'est une molécule circulaire bicaténaire et sa taille diffère selon les organismes (**Oudot-Le secq, 2000**).
- **FASTA** : algorithme proposé par Pearson basé sur l'identification rapide de fragments strictement identiques entre la séquence cible et les séquences de la banque (**Comet, 1998**).
- **Alignement de séquences** : est une des opérations fondamentales dans le processus de la reconstruction phylogénétique, puisque c'est sur elle que se base beaucoup de résultats comme les mesures d'identité et la recherche d'homologies entre séquences (**Comet, 1998**).
- **UPGMA** : une méthode utilisée pour construire des arbres phylogénétiques si les séquences ne sont pas trop divergentes (**Golding et Morton, 2003**).
- **Espèces soeurs** : ce sont des espèces où les mouvements recombinants violent les liens de parenté entre ces espèces: une espèce récupère une partie du génome d'une autre, n'ayant parfois qu'un lien de parenté très éloigné de la première (**Larson, 1998**).
- **Bootstrap** : est une méthode souvent utilisée pour tester la fiabilité des branches internes des arbres phylogénétiques (**Felsenstein, 1985**).

Résumé

L'objectif de notre travail est basé sur deux éléments : le premier élément réside sur le positionnement de notre espèce *Gerbillus tarabuli* par rapport aux autres espèces du genre *Gerbillus* et *Mus musculus* dans un arbre phylogénétique. Le deuxième élément réside sur la comparaison histologique et morphométrique de l'appareil reproducteur mâle de *Gerbillus tarabuli* capturé en mois d'Avril de l'année 2017 à Bénni Abbès et *Mus musculus* qui provient de l'institut Pasteur.

L'arbre phylogénétique obtenu dans ce travail a été élaboré à l'aide du logiciel MEGA5 avec la méthode UPGMA à partir de 66 séquences de cytb de l'ADNmt de 17 espèces qui appartiennent au genre *Gerbillus* et 18 séquences de *Mus musculus*. L'étude histologique est réalisée sur les différents organes de l'appareil reproducteur mâle fixés au formol à 10% ; les colorations réalisées dans ce travail sont l'hémalum éosine, le bleu d'alcan et le rouge congo.

L'ensemble des résultats phylogénétique nous a permis de caractériser d'une part les espèces les plus proches à notre modèle d'étude « *Gerbillus tarabuli* » et d'autre part les espèces sœurs (cas de complexe : (*G.nanus* / *G. amoenus*) ; (*G.pyramidum* / *G.floweri* / *G.perpallidus*) et (*Mus musculus* / *G. henlyi*)). Les résultats histologiques montrent une similitude entre *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus* pour le testicule et l'épididyme sur le plan structural et une différence sur le plan morphométrique, ces différences sont statistiquement hautement significatives pour la surface des tubes et pour l'épididyme. La structure des vésicules séminales de *Gerbillus tarabuli* est particulièrement développée avec une paroi fibromusculaire peu épaisse, alors que pour *Mus musculus* elle est moins développée avec une paroi fibromusculaire fine. Nous avons trouvé aussi que la prostate est multilobée chez *Mus musculus*.

Mots clés : *Gerbillus tarabuli*, *Mus musculus*, Appareil reproducteur mâle, morphométrie, phylogénétique.

ملخص

القوارض الصحراوي *Gerbillus tarabuli* من بين أفضل الحيوانات كنموذج مخبري بسبب سهولة التعامل مع تكاثرها. ويستند هدف عملنا على عنصرين: العنصر الأول يكمن في تحديد موقع نوعنا *Gerbillus tarabuli* مقارنة مع الأنواع الأخرى من بني جنسهم *Gerbillus* و *Mus Musculus* في شجرة التطور. تم تطوير شجرة النشوء التي تم الحصول عليها في هذا العمل باستخدام برنامج MEGA5 مع طريقة UPGMA من متواليات 66 mtDNA من 17 نوعاً تنتمي إلى جنس *Gerbillus* بالإضافة إلى 18 متواليات *Mus musculus*. العنصر الثاني يكمن في المقارنة النسيجية للجهاز التناسلي الذكري في *Gerbillus tarabuli* و *Mus Musculus*، حصلنا على الجهاز التناسلي الذكري *Gerbillus tarabuli* في أبريل 2017 من بيني عباس، حصلنا على *Mus musculus* من معهد باستور بالقبة، للحصول على الجهاز التناسلي الذكري يمكن تثبيته مع 10٪ فورمالين. لقد سمحت لنا مجموعة نتائج النشوء بتوصيف الأنواع الأقرب إلى نموذج دراستنا *Gerbillus tarabuli* من ناحية أخرى الأنواع الشقيقة (حالة معقدة: (*G.nanus /G.amoenus*) (*G. pyramidum / G. floweri*)) (*G. perpallidus* و (*Mus musculus* و *G.henleyi*). تشير النتائج النسيجية إلى وجود تشابه نسيجي بين النوعين لدينا، إلا أن الدراسة المورفومترية تظهر أن الفرق في خصية *Gerbillus tarabuli* ضخم بالمقارنة مع *Mus musculus*، الاختلافات ذات دلالة إحصائية عالية. تظهر نتائج البربخ أن نوعنا يتم تمثيله في التركيب التشريحي نفسه للبربخ في *Gerbillus tarabuli* و *Mus musculus* ووجد أن البربخ من *Gerbillus tarabuli* ضخم مقارنة مع *Mus musculus*، الاختلافات ذات دلالة إحصائية عالية. تم تطوير بنية الحويصلات المنوية في *Gerbillus tarabuli* بشكل خاص مع جدار ليفي عضلي رقيق، ولكننا وجدنا في *Mus musculus* أن الحويصلة المنوية أقل تطوراً مع جدار ليفي عضلي رقيق. وجدنا أن البروستات كان متعدد الزوايا.

الكلمات المفتاحية: *Musculus musculus*، *Gerbillus tarabuli* مورفومترية، فيلوجينية، الجهاز التناسلي الذكري.

Abstract

The Saharan rodent *Gerbillus tarabuli* among the best animals as laboratory model because of the ease of handling of their breeding. The aim of our work is based on two elements: the first element lies in the positioning of our species *Gerbillus tarabuli* compared to other species of the genus *Gerbillus* and *Mus musculus* in a phylogenetic tree.

The phylogenetic tree obtained in this work was developed using the MEGA5 software with the UPGMA method from 66 mtDNA cytb sequences of 17 species belonging to the genus *Gerbillus* and in addition the 18 sequences of *Mus musculus*. The second element lies in the histological comparison of the male reproductive system in *Gerbillus tarabuli* and *Mus musculus*, *Gerbillus tarabuli* are caught in the months of April 2017 from Benni Abbas, we obtained *Mus musculus* from the Institut Pasteur de Alkobba to obtain their male reproductive system which can be fixed with 10% formalin for structural study of the male genitalia and we applied different colorations.

The set of phylogenetic results allowed us to characterize on the one hand the species closest to our study model *Gerbillus tarabuli* on the other hand the sister species (case of complex: (*G.nanus* / *G.amoenus*) (*G.pyramidum* / *G.floweri* / *G.perpallidus*) and (*Mus musculus* / *G.henlyi*)). The histological results show that there is a histological similarity between our two species, except that the morphometric study shows that the difference in testis of *Gerbillus tarabuli* is voluminous compared to *Mus musculus*, the differences are statistically highly significant. The results of the epididymis show that our species is represented the same anatomical structure of the epididymis in *Gerbillus tarabuli* and *Mus musculus* found that the lepididyme of *Gerbillus tarabuli* is bulky compared to *Mus musculus*, the differences are statistically highly significant. The structure of the seminal vesicles of *Gerbillus tarabuli* is particularly developed with a thin fibromuscular wall, but we found in *Mus musculus* that the seminal vesicle is less developed with a thin fibromuscular wall. We found that the prostate was multilobed.

Key words: *Gerbillus tarabuli*, *Mus musculus*, the male reproductive system, morphometry, phylogenetics.

SOMMAIRE

Introduction	1
CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	
I.1. LA PRESENTATION DE L'ESPACE : «<i>Gerbillus tarabuli</i> »	3
I.1.1. Classification	3
I.1.2. Répartition des gerbilles « <i>G. tarabuli</i> ».....	3
I.1.3. Description morphologique	6
I.2. RAPPELS ANATOMO-PHYSIOLOGIQUES	7
I.2.1. Reproduction et abondance	7
I.2.2. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle.....	7
I.2.2.1. Testicule.....	8
I.2.2.2. Epididyme.....	8
I.2.2.3. Les glandes annexes.....	9
I.2.2.4. La vésicule séminale.....	10
I.2.2.5. La prostate.....	10
I.2.3.1. Histologie du testicule et l'épididyme.....	11
I.2.3.2. Histologie du tube séminifère.....	12
I.2.4. Histologie des glandes annexes.....	13
I.2.4.1. La vésicule séminale.....	13
I.2.4.2. La prostate.....	13
I.2.5. Description générale de la spermatogénèse.....	14
I.2.5.1. Le déroulement de la spermatogénèse.....	14-15
I.2.5.2. La description du spermatozoïde.....	16
I.3. IDENTIFICATION Phylogénique	17
I.3.1. Définition de la phylogénie.....	17
I.3.2. Phylogénie moléculaire	18
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	
II.1. MATERIEL	19
II.1.1. Matériel non biologique	19
II.1.2. Matériel biologique.....	19

II.2. METHODE.....	21
II.2. Technique histologique.....	22
CHPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	
III.1. RESULTAT HISTOLOGIQUE.....	31
III.1.1. Testicule et épидидyme	31
III .1.2.vésicules séminales.....	41
III .1.3. La prostate.....	43
III.3. RESULTATS PHYLOGENETIQUE.....	45
III.2. DISCUSSION.....	
III.2.1.Etude histo-morphométrie.....	50
III.2.2 .Etude phylogénétique.....	50
III.2.3. Discussion global.....	53
CONCLUSION.....	55
REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	57
ANNEXE I	
ANNEXE II	

Introduction

Les gerbilles du genre *Gerbillus* (*Rodentia*, *Gerbillinae*) peuplent dans les milieux arides et semi-arides sahariens, **Parmesan (1996)**, **Hughes (2000)** et **Walther et al. (2002)** indiquent que les aires de répartition d'un certain nombre d'espèces de ce genre est l'une des premières réponses, et la plus visible, aux fluctuations climatiques et/ou environnementale.

La large aire de répartition de ce groupe rend difficile de disposer d'échantillons représentatifs de ses différentes espèces en vue d'une étude systématique complète. Par ailleurs, beaucoup d'espèces ont une distribution réduite, voire ne sont connues que de la localité ou la région de description (**Granjon et Denys, 2006**). Malgré ces difficultés, quelques auteurs ont tenté de revoir l'ensemble de la systématique du genre, à l'échelle de toute sa distribution ou sur la partie africaine de celle-ci : **Petter, 1968** ; **Lay, 1983**; **Musser et Carleton, 2005**; **Granjon, 2013**. D'autres études se sont uniquement focalisées sur une aire géographique donnée (**Setzer, 1956** ; **1958** au Soudan et en Egypte respectivement ; **Saint-Girons et Petter, 1965**, **Lay, 1975**, **Aulagnier et Thévenot, 1986** au Maroc ; **Ranck, 1968** en Libye; **Wassif et al., 1969** et **Osborn et Helmy, 1980** en Egypte ; **Lay et Nadler, 1975** à l'Est de l'Euphrate en Irak; **Cockrum et al., 1976** en Tunisie ; **Yalden et al., 1996** en Ethiopie et Erythrée; **Granjon et al., 2002** au Mali, **Dobigny et al., 2002** au Niger).

Chez les mammifères sahariens en particulier, l'adaptation à l'environnement hostile du désert sec et chaud se manifeste par une activité sexuelle limitée à une période de l'année permettant la naissance des petits au moment le plus favorable à leur survie (**Baddouri et al., 1985**; **Ouali-Hassenaoui, 2006**). L'arrêt des parturitions permet d'échapper aux conditions défavorables à la survie des nouveaux nés (**Boubekri et Gernigon, 2013**). L'étude du développement sexuel de l'animal implique la connaissance des profils de croissance et de maturation des tissus ou parties du système reproductif liée à la capacité potentielle de reproduction spermatique (**Gracia-Tomas et al., 2007**).

Notre modèle d'étude *Gerbillus tarabuli* est une espèce qui fait partie de ce genre. Il est distribué dans tout le nord de l'Afrique, du Maroc à la Lybie, et de la Mauritanie au Tchad (**Granjon et al., 1999**). Arrivée récente au Sénégal interprétée comme une extension de distribution vers le sud, liée à la désertification (**Duplantier et al., 1991**) et ainsi dans la région semi désertique en l'Algérie (**Granjon et al., 1992** ; **Duplantier et al., 1991**).

Nous avons organisé notre travail en deux grandes parties ; la première partie consiste à faire une comparaison histologique et morphométrique entre l'appareil reproducteur mâle de *Gerbillus tarabuli* et de *Mus musculus* afin de voir s'il y a une différence entre ces deux espèces sur le plan histologique et morphométrique.

La deuxième partie de notre travail consiste à faire une étude phylogénétique basée sur la comparaison de « *Gerbillus tarabuli* » avec d'autres espèces du genre *Gerbillus* et l'espèce « *Mus musculus* » à partir des données qui se trouvent au niveau de la GenBank, afin de positionner cette espèce dans un arbre phylogénétique par rapport aux autres espèces qui appartiennent au même genre « *Gerbillus* » et aussi par rapport au *mus musculus*.

L'objectif de notre travail c'est : l'étude histologique et morphométrique de l'appareil génital mâle ; la construction de l'arbre phylogénétique et voir la position de nos espèces

I.1. PRESENTATION DE L'ESPECE

I.1.1. Classification

Gerbillus tarabuli (Figure 1) est une espèce qui fait partie du genre *Gerbillus*, et considérée comme valide, distincte de *G. pyramidum* (Lya, 1983), qui regroupe des rongeurs de la famille des Muridés que l'on trouve dans les zones arides et dans presque tout le nord-ouest de l'Afrique (Granjon et al., 1999). Selon Thomas (1902), la classification systématique de ce petit mammifère est la suivante (Figure 1) :

Embranchement	Vertèbres
Classe	Mammifères
Sous/Classe	Placentaires
Ordre	Rodentia
Super famille	Muridae
Famille	Gerbillidae
Genre	<i>Gerbillus</i>
Espèce	<i>G. tarabuli</i>



Figure 1 : *Gerbillus tarabuli* (Originale, 2018).

I.1.2. Répartition des *Gerbillus tarabuli*

Gerbillus tarabuli, cette espèce est capable d'occuper une large gamme d'habitats naturelles à anthropisés sur substrat sableux (Petter, 1961 ; Granjon, 2009). En Mauritanie, on les trouve au niveau des dunes fixes et des plaines sablo-argileuses (Klein et al., 1975 ; Granjon et al., 1997), caractérisées par l'association *Capparis-Panicum* dans la région d'Azzefal (Klein et al., 1975). Au Mali et au Niger, elle fréquente des dunes de sable avec *Acacia spp* ou *Prosopis africana*. (Granjon et Duplantier, 2009).

a) Distribution en Afrique :

Largement distribuée dans tout le nord de l'Afrique, du Maroc à la Lybie, et du Mauritanie au Tchad (Granjon *et al.*, 1999). Arrivée récente au Sénégal interprétée comme une extension de distribution vers le sud, liée à la désertification (Duplantier *et al.*, 1991) (Figure 2).

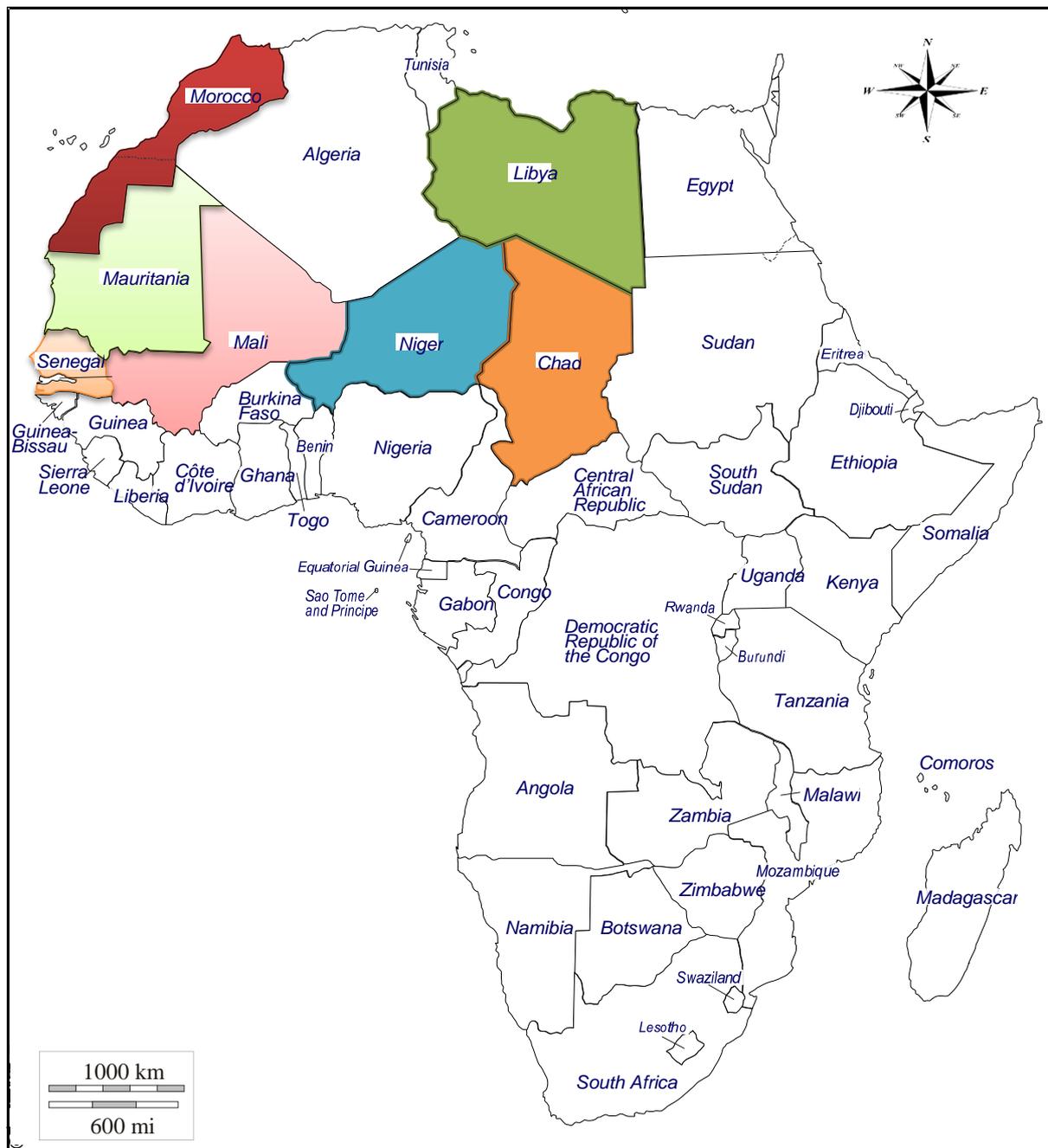


Figure 2 : Répartition de genre *Gerbillus tarabuli* dans l'Afrique (Duplantier *et al.*, 1991).

b) Distribution en Algérie

Gerbillus tarabuli colonisé dans la région semi désertique en Algérie (**Granjon et al., 1992 ; Duplantier et al., 1991**). Ce genre provenant de la région de Béni-Abbés (à 263 Km au Sud-ouest de Béchar) situant en bordure ouest du grand erg occidental sur la rive gauche de l'Oued Saoura, à une altitude moyenne de 400 à 500 m, à 30°7' de l'altitude Nord et 2°10' de longitude Ouest. Elle regroupe différents paysages typiquement sahariens : l'Erg, la Hamada, et l'Oued (**Dekar et Benjelloul, 2002**) (Figure 3).



Figure 3 : Répartition géographique de genre *Gerbillus tarabuli* dans l'Algérie (Dakar et Benjelloul, 2002).

c) Description morphologique :

Gerbillus tarabuli est une grande gerbille à pelage dorsal variant de la couleur sable à orange brun claire, plus claire sur les flancs. Pelage ventral blanchâtre à blanc pur, avec une ligne de démarcation plus ou moins nette entre flancs et ventre. Les taches pré-orbitaires, supra-orbitaires, post-auriculaires et les pieds et mains sont blancs. Les pieds longs à soles plantaires sont couverts de poils de longueur variable suivant les individus et les populations (**Granjon et Duplantier, 2009**). La tête est plus ou moins inclinée et dirigée vers l'avant, portant de gros yeux globulaires et de grandes oreilles pigmentés. Les pattes postérieures et antérieures sont blanches, la longueur de la patte postérieure est généralement supérieure à 32 mm (**Berre, 1990**). *Gerbillus tarabuli* est caractérisée par un caryotype (2n=40) qui la distingue d'une autre espèce très semblable, *Gerbillus pyramidum* (2n=38) (**Granjon et al., 1999 ; Dobigny et al., 2002**). Les caractéristiques dentaires sont les suivant :

Formule dentaire : $\frac{1i-0c-0p-3m}{1i-0c-0p-3m}$ pour l'identification d'un espèce

Les mensurations suivantes servent à reconnaître cette espèce : (**Granjon et Dobigny, 2002**)

(TC): la longueur totale tête-corps : 94,9 mm (76 - 109).

(Q): la longueur de la queue: 132,3mm (110 - 148).

(P): la longueur du pied postérieur est mesurée depuis le talon jusqu'à l'extrémité des griffes : 28.6 mm (26 - 31).

(O) : la mesure de l'oreille depuis la base de l'échancrure jusqu'au bord libre du pavillon : 13,5mm (11,5 - 14,5).

Le poids corporel chez l'adulte est de 30 à 56 g.

(ON): la longueur occipito-nasale est mesurée depuis le bord supérieur du trou occipital Jusqu'à l'extrémité antérieure des os nasaux.

(m) : la rangée molaire supérieure.

I.2. RAPPEL ANATOMO- PHYSIOLOGIQUE

I.2.1 Reproduction et abondance

Principale période de reproduction entre avril et novembre, et repos sexuel en janvier-février, sur la côte mauritanienne ; nombre moyen d'embryons par femelle entre 3 et 6 (Klein et al., 1975). Nombre moyen d'embryons par femelle sur notre zone : 4,1 (2 - 6; n = 29). Densités variant entre 0,2 et 2 individus / ha au cours de l'année (Klein et al., 1975) et taux de captures variant de 3 à 5,3 individus / 100 nuit. Pièges en mars 1995 (Granjon et al., 1997), sur le littoral mauritanien. Représente 20 à 30% des rongeurs consommés par la chouette effraie dans le nord du Sénégal (Thiam, 2007) et 10 individus sur 210 proies en Mauritanie (Granjon et al., 2002b).

I .2.2. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle

L'appareil reproducteur mâle se compose de deux gonades (testicules), des conduits excréteurs (*Rete testis*, canaux efférents, épидидymes, canaux déférents, et urètre) et des glandes annexes (vésicules séminales, prostate, glandes bulbo-urétrales et préputiales ou glande de Tyson) (Figure 4, tableau I).

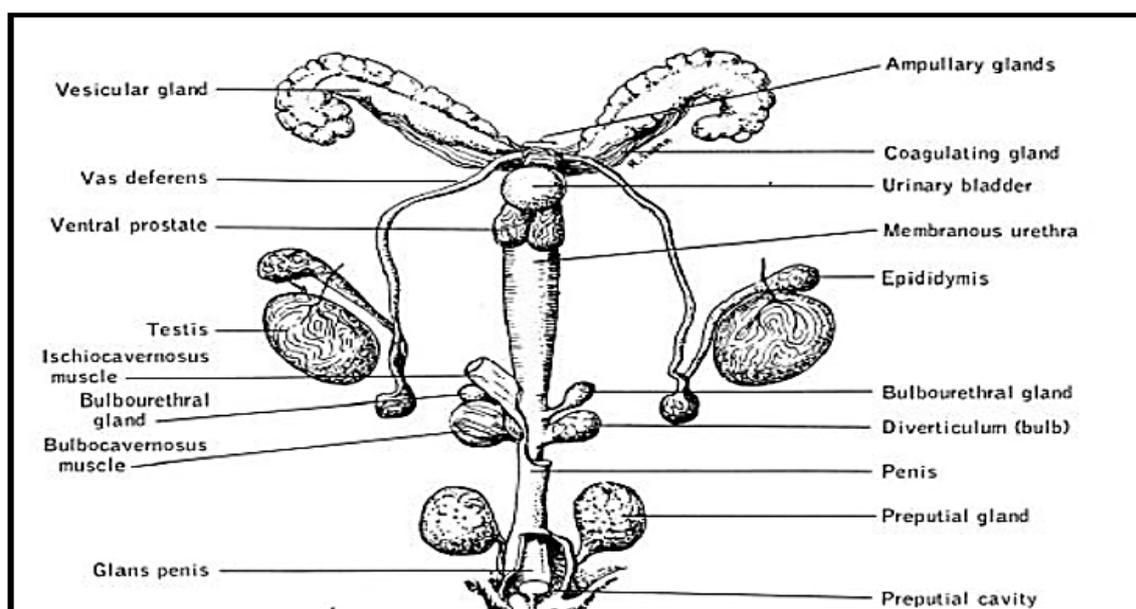


Figure 4 : Schéma représentatif de l'appareil reproducteur mâle chez la souris (Roscoe et al., 1941).

Les organes génitaux sont présentés dans le tableau1 suivant :

Tableau I : Représente les différents organes de l'appareil reproducteur mâle chez la souris (**Originale, 2018**).

Nom d'organe	Photo d'organe
<p>Testicule et épидидyme</p>	
<p>Vésicules séminales</p>	
<p>La prostate</p>	
<p>La glandes se tayson</p>	
<p>Le pénis</p>	

I.2.2.1. Testicule

Les testicules sont des organes pairs dotés d'une double structure, compartiment tubulaire et compartiment interstitiel. Ils ont une double fonction : endocrine correspondant à la synthèse et la sécrétion d'hormones principalement la testostérone et exocrine, en rapport avec la production de spermatozoïdes (Muller et clos, 1997).

I.2.2.2. Epididyme

L'épididyme coiffe le testicule et présente à partir du pôle supérieur, trois parties anatomique et fonctionnelles d'épaisseur décroissantes : la tête « caput », qui reçoit les spermatozoïdes des canaux efférents, est située à la face supérieure du testicule, le corps « corpus » et la queue « cauda » qui reposent sur la face postéro-latérale du testicule (Figure 5). Il contient deux types de canaux : les cônes efférents. Ce canal occupe le corps et la queue et se prolonge hors de l'épididyme par le canal déférent. Chez les mammifères, la durée de séjour le plus long correspond au temps de résidence dans la queue de l'épididyme (Aitken et De Iuiis, 2010).

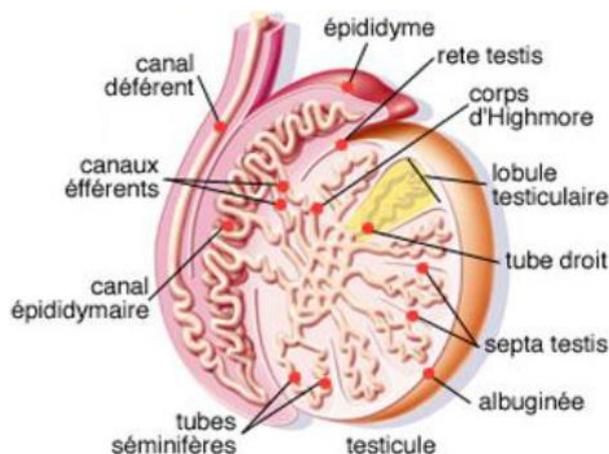


Figure 5 : Structure intra testiculaire (Muller et Clos, 1997).

I.2.2.3. Les glandes annexes

Les sécrétions des glandes annexes participent à la formation du plasma séminal et représentent 50 à 95% du volume total du plasma séminal. Les glandes les plus actives sont les vésicules séminales et la prostate.

I.2.2.4. Les vésicules séminales

Chez les rongeurs, ce sont les glandes annexes les plus évidentes par leur grand développement et leur lobulation caractéristique. Elles se présentent sous forme de deux sacs lobulés enroulés en cornes de bélier. La lobulation est due aux excroissances alvéolaires d'une vaste cavité centrale (**Beaumont et Cassier, 1998**) (Figure 6).

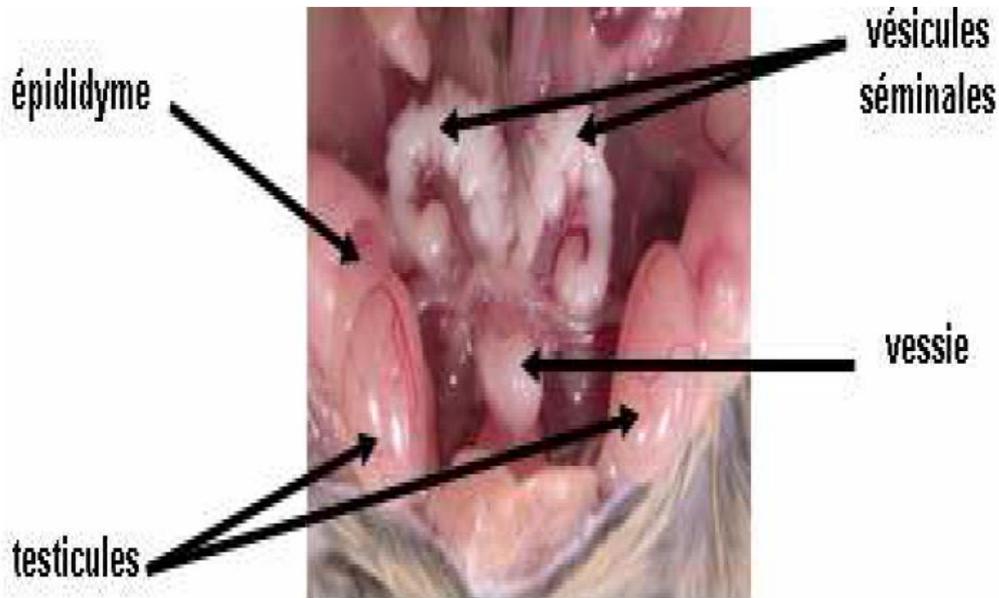


Figure 6 : Représente la cavité abdominal d'un souris mâle montre une partie de l'appareil uro-génitale (**Vernet, 2006**).

1.2.2.5. La prostate

Chez les rongeurs, la glande prostatique se présente sous forme d'une structure multilobée, entourant l'urètre à la base de la vessie. On parle habituellement de complexe prostatique, composé de quatre lobes distincts selon leur disposition autour de la vessie (Figure 7).

La prostate antérieure ou glande coagulante (AP, Anterior Prostate), étroitement apposée le long de la courbure intérieure de la vésicule séminale la prostate ventrale (VP, Ventral Prostate), la prostate dorsale (DP, Dorsal Prostate), la prostate latérale (LP, Latéral Prostate). Le lobe dorsal et le lobe latéral sont souvent réunis sous le terme de prostate dorso-latérale (DLP, Dorso-Latéral Prostate) (**Oliveira et al., 2016**).

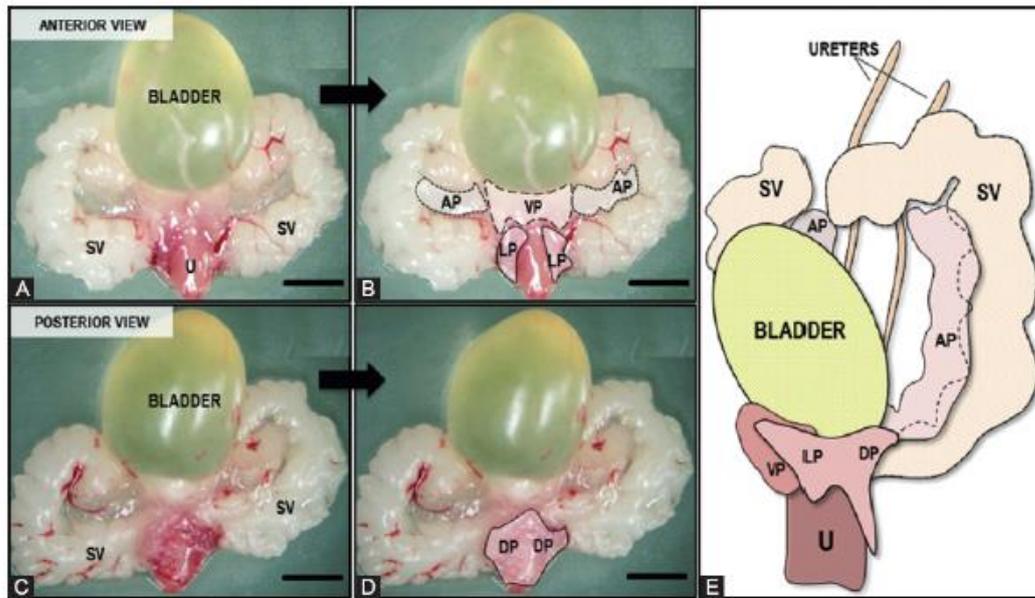


Figure 7 : Organisation anatomique des vésicules séminales et des lobes prostatiques au carrefour urogénital chez la souris, vues antérieure et postérieure (**Oliveira et al, 2016**). Urètre (U), vésicules séminales (SV); (B) et (D) montrent les mêmes images avec des lignes et pointillés délimitant les lobes prostatiques ventraux (VP), latéraux (LP), antérieurs (AP) et dorsaux (DP). Vue antérolatérale (E) (côté gauche) des lobes prostatiques par rapport à la vessie (bladder), l'uretère (ureters).Barre d'échelle est de 1 cm.

I.2.3. Histologie de testicule et l'épididyme

I.2.3.1. Histologie du testicule

Le testicule est entouré d'une capsule conjonctive, fibreuse, épaisse et résistante, appelée albuginée. Cette dernière s'épaissit encore au niveau de la coiffe épидидymaire et s'enfonce à l'intérieur du testicule pour former un cône fibreux ; le corps d'Highmore, parcouru par un réseau de canalicules, le rete testis.

selon Vacheret (1999) et Siffroi (2001), des cloisons conjonctives partent du corps d'Highmore, constituant des septa testis, qui délimitent 200 à 300 lobules intra-testiculaires. Chaque lobule contient 2 à 3 tubes séminifères ou séminipares très long qui débouchent par de courts segments rectilignes, les tubes droits, dans le rete testis (Figure 8) ; les testicules sont nourris par les artères spermatiques internes.

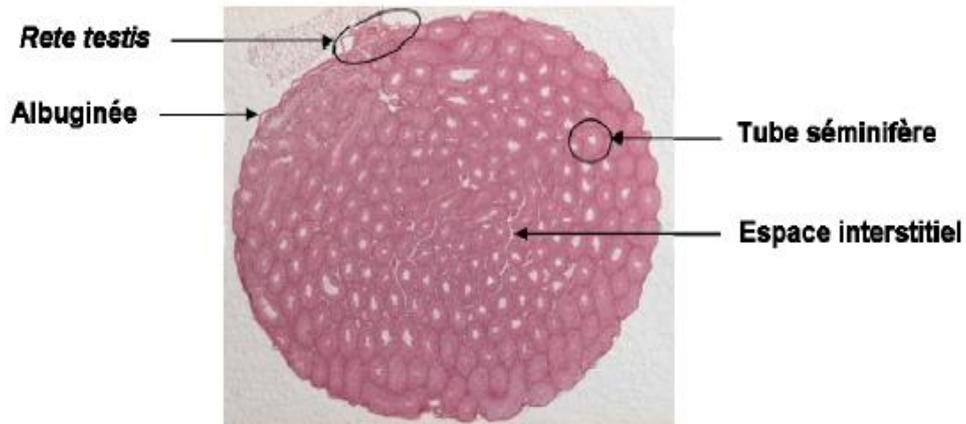


Figure 8 : Coupe transversale d'un testicule de souris (vernet, 2006).

I.2.3.2. Histologie des tubes séminifères

Les tubes séminifères contiennent des cellules germinales à différents stades leur développements ainsi que des cellules somatiques, les cellules de sertoli (**Dadoune et Demoulin, 1991 ; Brennan et al., 2003 ; Jeays-Ward et al., 2003**), cette association de cellules germinales et de cellules de sertoli forme l'épithélium séminifère (Figure 9).

Les cellules germinales sont hautement organisée dans l'épithélium séminifère.les cellules les moins différenciées sont situées du coté basal du tube séminifère (vers la lame basale) et les cellules les plus matures sont situées du coté apical du tube séminifère vers la lumière l'épithélium séminifère

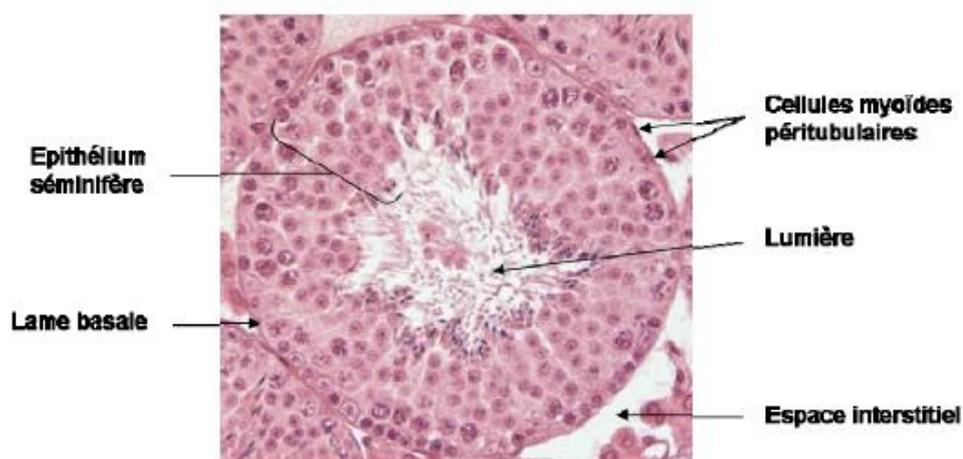


Figure 9 : Coupe transversale d'un tube séminifère d'une souris adulte (**Hôte, 2009**).

I.2.4. Histologie des glandes annexes

I.2.4.1. Vésicule séminales

Chez la souris, les vésicules séminales sont formées de deux compartiments : le compartiment épithélial et le stroma. L'épithélium de revêtement est prismatique, haut, constitué de cellules sécrétoires ou glandulaires entre lesquelles s'intercalent des cellules basales de remplacement. Le stroma des vésicules séminales renferme les cellules conjonctives logées dans la matrice extracellulaire et les cellules musculaires lisses qui forment la paroi fibro-musculaire (**alkarim et al., 2011**) (Figure 10).

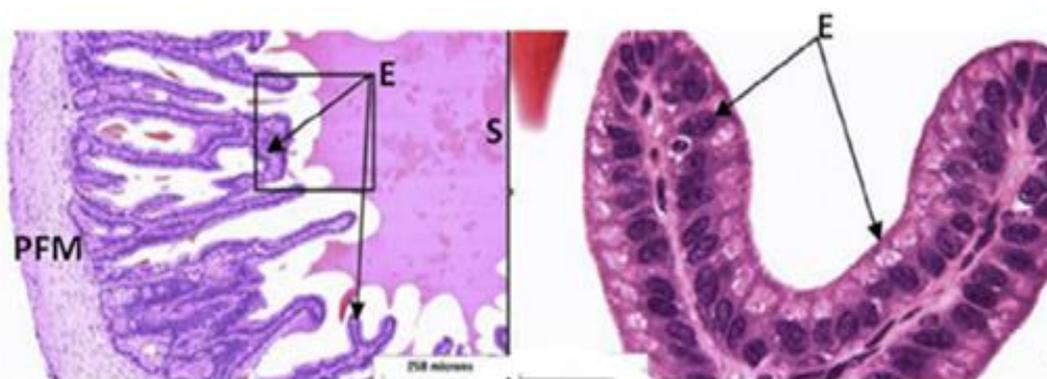


Figure 10 : Structure histologique des vésicules séminales chez souris (**Alkarim et al., 2011**). PFM : paroi fibromusculaire ; E : épithélium ; S : sécrétion coloration à Hématoxyline.

I.2.4.2. La prostate

Au niveau histologique, la prostate est constituée de glandes tubulo-alvéolaires ou acini entourés de stroma musculaire lisse (Figure 11) (**Jesik et al., 1982 ; Marker et al., 2003**). Chez la souris, les cellules épithéliales sécrétoires responsables de l'activité exocrine correspondent aux cellules majoritaires des acini. Il existe deux autres types cellulaires plus rares dispersés dans l'épithélium glandulaire : les cellules neuroendocrines et les cellules épithéliales basales à l'origine du renouvellement de l'épithélium sécrétoire. Cet ensemble cellulaire est entouré d'une lame basale qui marque la délimitation avec le stroma conjonctif constitué de fibroblastes, de fibres de collagène et élastiques, de cellules musculaires lisses, de nerfs et de vaisseaux sanguins et lymphatiques (**Collins et al., 2001 ; Wang et al., 2001**).

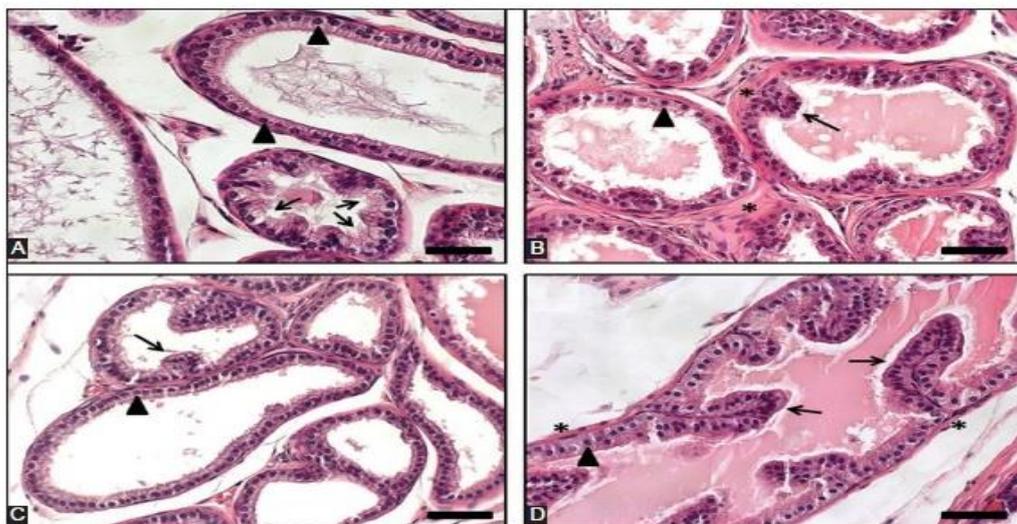


Figure 11 : Structure histologique des lobes prostatiques chez la souris (Oliveira et *al.*, 2016). A: Prostate ventrale ; B : Prostate dorsale ; C : Prostate latéral ; D : Prostate antérieure. (▼): Noyaux ; (→): replis épithéliaux ; (*) stroma. Coloration Hématoxyline et éosine. Barre d'échelle, 100 μ m.

I.2.5. Description générale de la spermatogénèse

La spermatogénèse est un processus biologique complexe, qui a lieu dans les tubes séminifères des testicules. Elle consiste en la production des spermatozoïdes ou gamètes mâles haploïdes à partir des spermatogonies, cellules souches germinales diploïdes (Tulsiani et *al.*, 1998).

I .2.5.1. Le déroulement de la spermatogénèse

Au niveau fonctionnel, la spermatogénèse se déroule en trois phases : la phase proliférative, la phase méiotique et la spermiogénèse (Hess et Renato, 2008) (Figure 12, 13). La phase proliférative dure 8 jours et concerne les spermatogonies, qui se divisent par des mitoses classiques mais dont la cytokine n'est pas complète ; ainsi, les cellules forment un syncytium à l'intérieur duquel elles poursuivent leur processus de maturation de façon synchronisée, grâce au pont cytoplasmique qui les relie et leur permettent de communiquer entre elles (Dym et Fawcett, 1971). Il existe plusieurs types de spermatogonies, classés d'après leur stade d'avancement dans le processus de différenciation ; les principaux sont les types A et B (Rooji, 2001 ; Dym, 1994), ces derniers ayant la capacité de se différencier en spermatozoïdes primaires. La seconde phase de la spermatogénèse est une phase méiotique de 13 jours touchant les spermatozoïdes primaires et secondaires. Chaque spermatozoïde primaire, cellule germinale contenant deux chromosomes à deux chromatides de chaque paire de chromosomes homologues ($2 \times 2n$),

subit la méiose pour engendrer quatre spermatides rondes haploïdes reliées au cœur d'un syncytium par des ponts cytoplasmiques, qui contiennent un chromosome à une chromatide de chaque paire (n) (**Hess et Renato, 2008**), la dernière phase de la spermatogénèse est une phase de différenciation de 13,5 jours aussi appelée spermiogénèse, qui permet la formation des cellules germinales les plus matures : les spermatozoïdes, Durant la spermiogénèse, une réorganisation cytoplasmique majeur et un remodelage chromatinien complexe se déroulent au niveau des spermatides rondes et allongées. En effet, les spermatides perdent leur connections cytoplasmique et les flagelles commencent à se former ; au cours des derniers stades de la spermiogénèse, le noyau des cellules s'aplatit et s'affine et le cytoplasme résiduel est éliminé.

A la fin de la spermiogénèse se produit la spermiation, qui permet la libération des spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères.

La spermatogénèse est un processus cyclique (**Dadoune et Démolin, 1991**), et sa durée correspond au temps nécessaire à la maturation des gamètes mâle pour qu'une spermatogonie de type A se différencier en spermatozoïdes : cette durée est de 34,5 jours chez la souris.

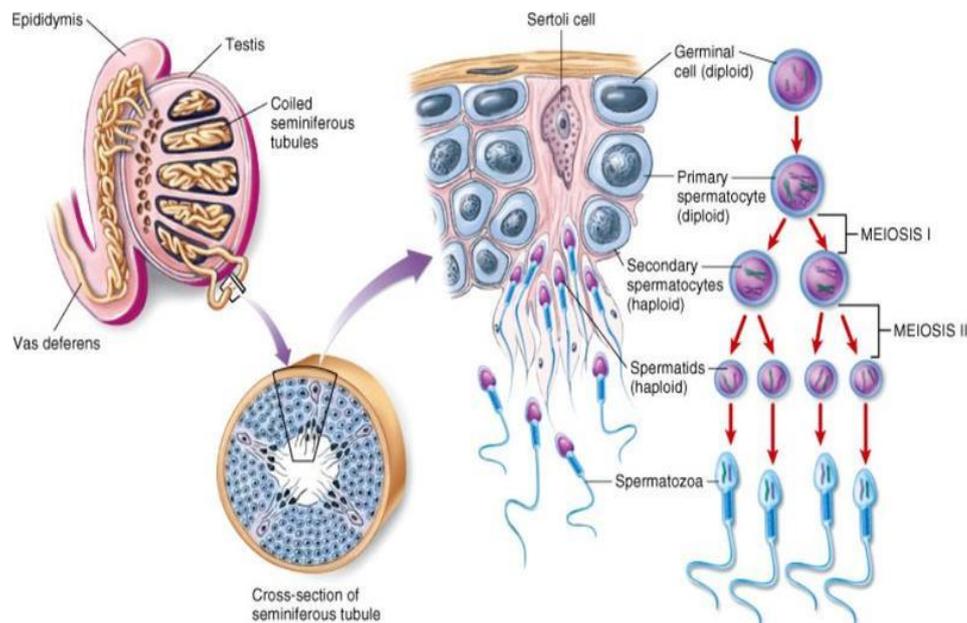


Figure 12 : Représente les différentes étapes de la spermatogénèse (**Allais-Bonnet et Pailhoux, 2014**).

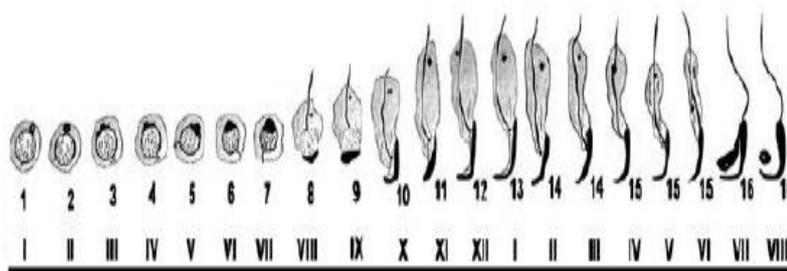


Figure 13: Les différentes étapes de la spermiogénèse chez la souris. Les chiffres arabes correspondent aux différentes étapes de la différenciation de la spermatide ronde en spermatozoïde allongé. Les chiffres romains correspondent aux différents stades du cycle de l'épithélium séminifère. Au cours de la spermiogénèse, des événements majeurs prennent lieu tels que la biogénèse de l'acrosome, la mise en forme du noyau spermatique/élongation de la tête, la compaction de la chromatine et finalement la mise en place du flagelle (Yan, 2009).

I .2.5.3. Description du spermatozoïde

Le spermatozoïde des mammifères (Figure 14) est une cellule hautement différencié et mobile. Il est divisé en deux grandes parties, la tête et le flagelle, reliées par une pièce connective ou col (Berruti et Paiardi, 2011). La tête est occupée essentiellement par : le noyau renfermant sous une forme extrêmement condensée le génome paternel et l'acrosome. Le flagelle, représente l'appareil propulseur, indispensable à la mobilité du spermatozoïde. Il est divisé en 3 parties qui sont respectivement : la pièce intermédiaire, la pièce principale et la pièce terminale.

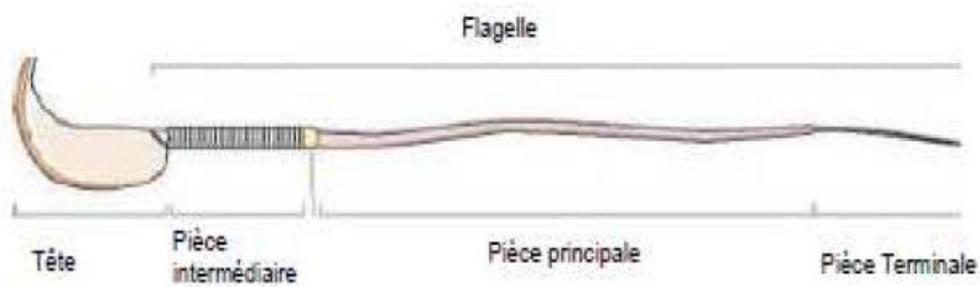


Figure 14 : Dessins d'un spermatozoïde de souris (Toshimori et Ito, 2003).

I.3. IDENTIFICATION PHYLOGENIQUE

I.3.1. Définition phylogénique

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

I.3.2. Phylogénie moléculaire

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

La phylogénie moléculaire est basée sur les principes suivants :

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

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

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

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

I .3.2.1. Marqueurs d'ADN nucléaire

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

I .3.2.2. Marqueurs d'ADN mitochondrial

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

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

I .3.3. Etapes d'analyses moléculaires

L'objectif de cette partie repose sur le positionnement de différentes espèces de genre *Gerbillus*, dans un arbre phylogénétique général réalisé à partir des séquences d'ADN traitées par des logiciels de la bio-informatique, expliquant l'importance de ces rongeurs comme modèle de laboratoire d'étude privilégié, pour aborder les différentes facettes d'autres recherches scientifiques. Les différentes étapes d'analyse moléculaire sont les suivantes :

-Echantillonnage représentatif

Les prélèvements utilisés pour les analyses moléculaires sont des tissus frais (par exemple : bout d'oreille) prélevés lors de la dissection de l'animal.

-Extraction et quantification de l'ADN

L'extraction de l'ADN est une technique permettant d'isoler l'ADN de cellules ou de tissus, l'ADN ainsi extrait peut ensuite être utilisé pour des recherches de biologie moléculaire, telles que le séquençage ou la PCR grâce à des kits qui facilitent le travail, par exemple QiAamp DNA Mini Kit (Qiagen®, Courtaboeuf, France) contenant les différents tampons pré préparés.

La qualité de l'ADN extrait est contrôlée et quantifiée par le spectrophotométrie (Nanodrop). Cette extraction permet d'obtenir un ADN pur et intacte.

-Amplification de l'ADN par PCR

La polymérase chaine réaction (PCR) (**Kleppe et al., 1971**) est une méthode *in vitro* d'amplification de séquences spécifiques d'ADN en un très grand nombre de copies. Elle permet d'obtenir un très grand nombre de copies d'une séquence d'ADN choisie.

Chaque cycle de PCR est constitué de trois étapes successives :

- La dénaturation de l'ADN par chauffage pour séparer les deux brins qui le composent.
- L'hybridation des amorces aux extrémités de la séquence recherchée.
- L'élongation grâce à l'action de la Taq polymérase.

-Electrophorèse des produits de PCR

L'électrophorèse est une méthode pour séparer des produits de PCR et permettre leur visualisation et/ou leur identification. La présence des amplicons est révélée sur gel d'agarose. Il est constitué de trois étapes :

- ✓ Préparation des gels d'agarose et des échantillons pour l'électrophorèse.
- ✓ Dépôt des échantillons dans les puits du gel.
- ✓ La migration électro-phorétique par la migration de l'ADN dans le gel est possible grâce à sa charge négative. Il va se déplacer dans un champ électrique, du pôle négatif vers le pôle positif.
- ✓ La visualisation des échantillons sont après migration, le gel est placé sur une table à UV pour révéler l'ADN (qui apparaît sous forme de bandes fluorescentes) et le photographier.

-Séquençage des fragments amplifiés

Le séquençage de l'ADN consiste à déterminer l'ordre des nucléotides sur la molécule d'ADN précédemment amplifié par PCR. La méthode utilisée aujourd'hui (établie par Sanger en 1977) repose sur l'utilisation de didésoxynucléotides, qui bloquent la synthèse de l'ADN après leur incorporation.

Le séquençage de produits de PCR se déroule en trois étapes :

- ✓ Purification des produits de PCR : après vérification sur gel, les produits de PCR sont purifiés via des kits (exemple : Mini kit Qiagen®).
- ✓ Réaction de séquençage : elle repose sur la méthode de SANGER ou méthode des interrupteurs de chaîne, adaptée à la fluorescence.

RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE

Aujourd'hui, la plupart des séquençages sont réalisés par des séquenceurs industriels entièrement automatisés (par exemple : Eurofins MWG Operon, Génome Express). Par la suite, pour chaque échantillon, les séquences obtenues vont être alignées et corrigées à l'aide du programme spécifique (par exemple : BioEdit version 7.0.5).

- Les séquences d'ADN obtenues dans les différents laboratoires de biologie moléculaire à travers le monde vont être déposées dans des banques publiques comme la GenBank (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>) pour être à la disposition des recherches scientifiques entre autres les séquences d'espèces de gerbilles.

Notre étude est réalisée durant une période allant de février à septembre. Le sujet qui est proposé à l'option biologie et physiologie de la reproduction de l'université de Blida 1, se divise en deux parties :

- ✚ Partie histologique : consiste à faire une étude histologique de l'appareil génitale male de l'espèce «*Gerbillus tarabuli*» :
 - Le travail est réalisé au niveau du laboratoire de l'hôpital Farès Yahia à Koléa pour faire : la technique histologique, la coloration et la prise des photos.
 - L'étude morphométrique est réalisée au niveau du laboratoire de recherche sur les zones arides (LRZA), USTHB, Alger.
- ✚ Partie phylogénique est réalisée au niveau du laboratoire de biodiversité et environnement : interactions, génomes (LBEIG), USTHB, Alger.

II.1. MATERIEL ET METHODES PHYSIOLOGIQUES

II.1.1.MATERIEL

II.1.1.1. Matériel non Biologique

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

II.1.1.2.Matériel Biologique

II.1.1.2.1.Animal étudié

Notre travail est basé sur l'étude histologique de l'appareil reproducteur mâle, nous avons utilisé comme modèle la gerbille saharienne (*Gerbillus tarabuli*) ; afin de comparer cette espèce dans son état histologique nous avons étudié la souris blanche de laboratoire (*Mus musculus*).

Concernant les animaux que nous avons utilisés :

- Les gerbilles étudiées sont capturées au mois d'Avril de l'année 2017, par piégeage dans la région de Marhouma et autour de la palmeraie Kraa situées à Béni-Abbès. La pose des pièges se déroule généralement en fin de journée, à l'entrée des orifices après avoir repéré des terriers peuplés reconnus par la présence de traces fraîches, puis récupérés le lendemain dès l'aube avant le lever du soleil. Les animaux sont ramenés au laboratoire de la station expérimentale de Béni-Abbès. Ils sont triés par sexe puis isolés dans des cages individuelles.
- Nous avons acheté 4 souris blanches au niveau de l'institut Pasteur de Kouba.

II.1.1.2.2. La dissection des animaux

Nous avons disséqué ces animaux en suivant ces étapes :

- ✓ Fixer l'animal bien tendu sur le dos à l'aide d'épingles enfoncées dans les pattes (Figure 15).

- ✓ Faire des incisions dans la peau suivant l'axe des membres. Rabattre les volets cutanés vers l'extérieur et fixer l'ensemble à l'aide d'épingles.
- ✓ Réaliser une seconde boutonnière dans la paroi musculaire de l'abdomen et inciser cette paroi suivant la ligne médiane jusqu'à la pointe du sternum.
- ✓ Découper un plastron thoracique, puis détacher doucement ce plastron en incisant le diaphragme, ainsi que les attaches conjonctives (Figure 16).

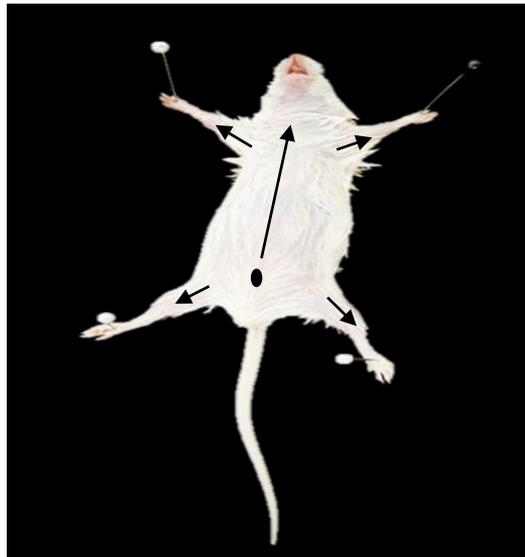
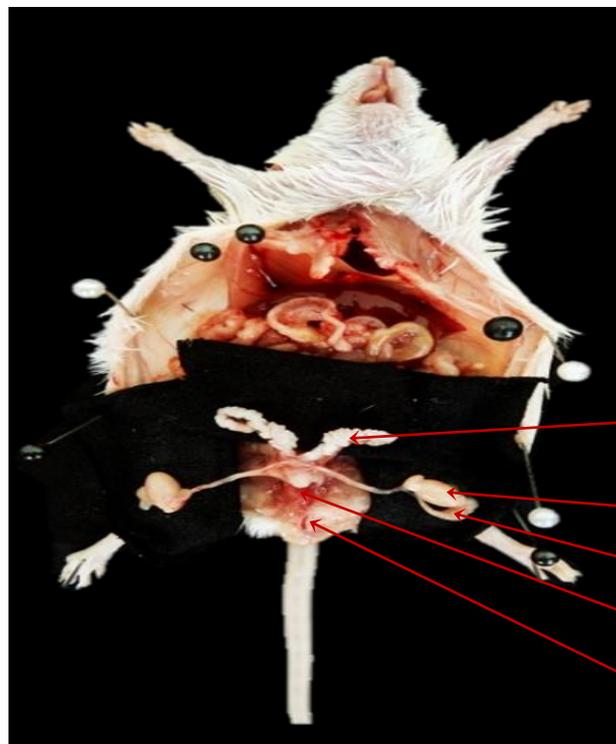


Figure 15 : Représente la mise en place de l'animal et réalisation des incisions cutanées.



**Vésicules
séminales**

Testicule

Epididyme

Prostate

Pénis

Figure 16 : Appareil génital male d'une souris disséquée.

Après avoir disséqué les animaux, nous avons pris les différents organes, et nous les avons

mis dans le formol à 10%.

II.1.2.MÉTHODES

II.1.2.Technique histologique

Pour rendre visible ce que l'on veut observer, il est nécessaire de mettre en œuvre des techniques diverses (préparation des échantillons) que l'on applique au matériel. Pour l'observation au microscope photonique, les coupes examinées sont le fruit de procédures techniques qui requièrent plusieurs étapes successives.

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

Les mesures que nous prenons pour obtenir des lames histologiques sont les suivantes :

II.1.2.1.Fixation

Etape primordiale, elle permet d'immobiliser et conserver les structures cellulaires et tissulaires dans un état aussi proche que possible du vivant ; les organes sont plongés dans un volume de fixateur (formol à 10%) environ 60 fois supérieur à celui de l'organe. Chaque pièce est accompagnée d'une étiquette portant toutes les indications utiles.

II.1.2.2.Inclusion

Ce processus comporte quatre étapes :

II.1.2.2.1. Déshydratation : L'inclusion dans la paraffine nécessite au préalable la déshydratation des pièces histologique (bains successifs d'alcool de degrés croissants, jusqu'à l'absolu (Annexe). La paraffine étant insoluble dans l'eau et soluble dans les hydrocarbures benzéniques benzène, xylène.

II.1.2.2.2. Eclaircissement : Il permet l'élimination complète des traces d'alcool et l'imprégnation par xylène, solvant de la paraffine. La durée du premier bain est de 1 heure, le second bain est de 1 heure, et le troisième est aussi de 1 heure.

II.1.2.2.3. Pénétration des pièces par la paraffine : Cette étape consiste à éliminer l'alcool et le remplacer par la paraffine. Les pièces sont placées successivement dans deux bains chacun à l'étuve à 58°C :

- ✓ Le premier bain composé de paraffine dure 1heure.
- ✓ L'autre bain de paraffine pure, dure 1heure.

II.1.2.2.4. Confection des blocs de paraffine : Dans cette étape on utilise 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 67°C où on dépose délicatement l'organe imprégné. La cassette est déposée

sur le moule. Le bloc n'est démoulé qu'après refroidissement total sur une plaque froide et il est conservé à la congélation à une température de -14°C jusqu'à la réalisation des coupes.

II.1.2.3. Microtomie

II.1.2.3.1. Confection des coupes : Tout d'abord, installer le bloc sur le porte bloc du microtome qui est réglé à $20\ \mu\text{m}$ afin d'éliminer le surplus de la paraffine. Lorsque la pièce apparaît dans le plan de coupes, on ramène l'échelle à $3\ \mu\text{m}$ pour obtenir des coupes fines sous forme de rubans.

II.1.2.3.2. Etalement des coupes : On dépose les rubans obtenus sur des lames nettoyées à l'alcool, contenant de l'eau distillée chauffée sur une plaque chauffante réglée à 43°C . A l'aide d'un diamant, les indications de l'organe sont gravées sur la lame correspondante.

II.1.2.4. Coloration :

Le but de la coloration est de rendre plus évidents les différents constituants cellulaires et tissulaires. Ceci est obtenu à l'aide de coloration topographique : Hémato-seine. Les coupes ne seront prêtes à recevoir les colorants qu'après les trois étapes suivantes :

II.1.2.4.1. Déparaffinage : Le déparaffinage sert à enlever la paraffine du tissu pour que les colorants puissent pénétrer. Le réactif utilisé est le xylène. Les coupes sont passées dans 3 bains de xylène pendant 5 à 10 min chacun.

II.1.2.4.2. Réhydratation : Elle a pour objet de retirer le xylène du tissu et le remplacer par l'eau. Les lames sont passées dans les trois bains successifs d'alcool de degrés décroissants (100° , 96° , 70°) d'une durée de 5min chacun. Les pièces sont enfin lavées à l'eau distillée pendant 5 min environ avant coloration.

II.1.2.4.3. Coloration : Hémato- seine est utilisée couramment en histologie et en histopathologie, bleu de alcian est utilisé en histologie pour mettre en évidence le mucus et le cartilage sur des coupes de tissus, et le Trichrome de Masson est utilisé en histologie pour différencier les fibres de collagène et musculaires sur des coupes tissulaires (Annexe).

II.1.2.5. Montage et observation

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

II.1.3. Etude Morphométrique

L'analyse morphométrique a été réalisée sur des coupes histologiques du tube séminifère et l'épididyme chez *Mus musculus* et *Gerbillus tarabuli* dans le but de tracer des histogrammes. Les images sont capturées par un appareil photo numérique (HiROCAM, MA88-500, BME lab and Science, St. Paul, USA) connecté à un microscope photonique (Optika B 235, Italie) via le logiciel TS View (Microscopes America, Cumming, GA, USA), puis ces images sont enregistrées et soumises aux différentes mesures morphométriques (Figure 17).

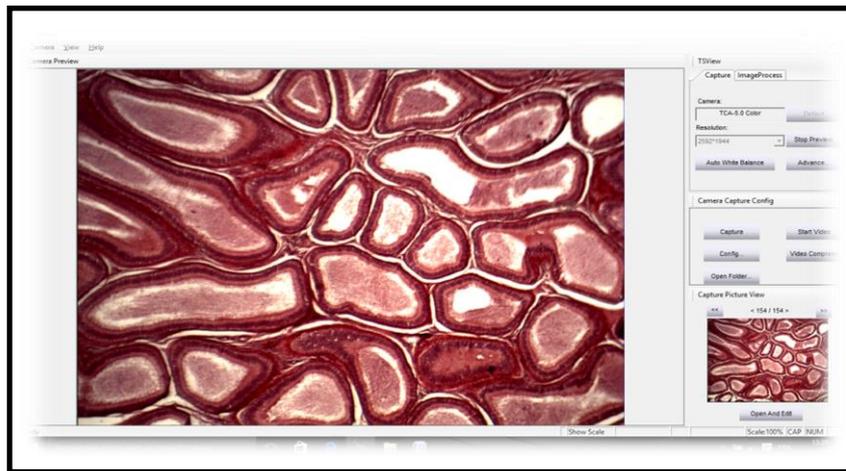


Figure 17 : capture des images via logiciel TS View.

La surface, le diamètre pour les tubes séminifères et les épидидymes à Gx10 et les longueurs des épидидymes à Gx40 ont été mesuré via un logiciel d'analyse et de traitement d'images « Axio Vision 4.6.3.0 » développé par la société Carl Zeiss : utilisé pour mesurer les surfaces des cellules et des noyaux. Ce système d'analyse d'images a été étalonné à l'aide d'une lame micrométrique graduée, afin d'obtenir la mesure des surfaces en μm^2 . Sur chaque coupe sélectionnée, ont été effectuées des mesures de surfaces cellulaires et nucléaires dont le contour a été délimité manuellement (Figure 18).

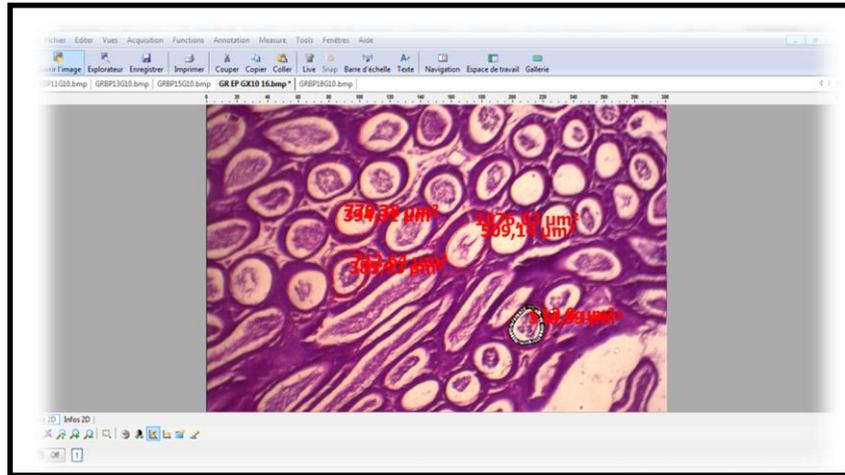


Figure 18 : Méthode de mesure des surfaces cellulaires (exemple délimité par le tracé rouge) à l'aide du logiciel Axio Vision 4.6.3.0.

II.2. ANALYSES PHYLOGENETIQUES

II.2.1. Etude de la GenBank

II.2.1.1. Présentation du la GenBank

La GenBank est une collection annotée de toutes les séquences d'ADN publiquement disponibles. Cette banque est mise à jour régulièrement grâce à des échanges quotidiens de séquences avec la banque européenne EMBL (European Molecular Biology Laboratory) et la banque japonaise DDBJ (DNA Data Bank of Japan) (Figure 19).

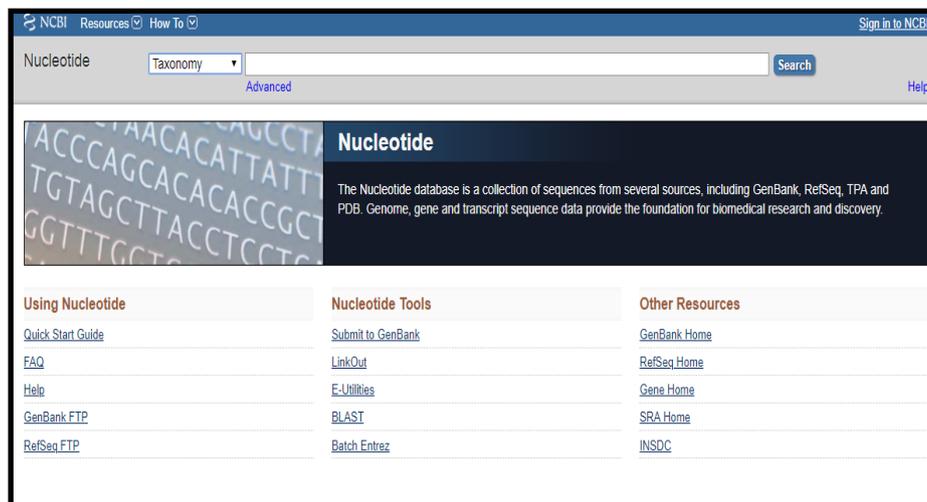


Figure 19: Page d'accueil de la GenBank.

II.2.1.2. Les différentes étapes d'utilisation de la GenBank

Nous avons utilisé la GenBank pour obtenir les séquences nucléotidiques de différentes espèces que nous avons utilisées pour la reconstruction d'un arbre phylogénétique.

Pour tracer l'arbre phylogénétique nous avons récupéré les séquences qui se trouvent au niveau de la GenBank pour cela nous sommes passé par plusieurs étapes distinctes :

- 1- Nous avons utilisé l'URL suivant : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>
- 2- Nous avons choisi recherche par taxonomie.
- 3- Nous avons choisi les genres étudiés (Figure 20).

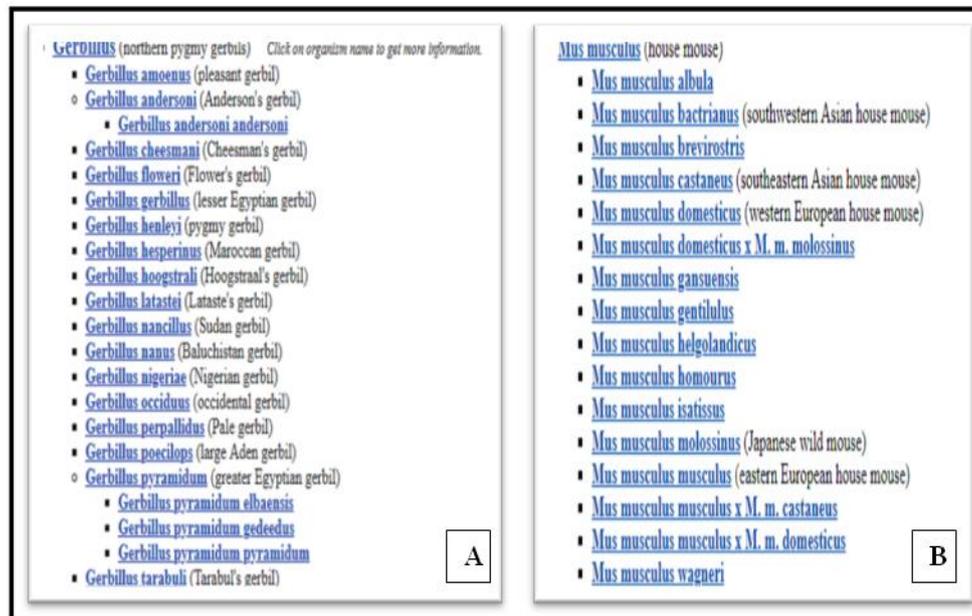


Figure 20 : Les espèces de genres *Gerbillus* (A) et de genre *Mus* (B) obtenu de la « GenBank ».

4-En choisissant les deux espèces étudiées nous avons obtenu les deux tableaux suivants qui représentent les nombres des séquences nucléotidiques trouvées pour chaque espèce (A : *Gerbillus tarabuli*, B : *Mus musculus*) (Figure 21).

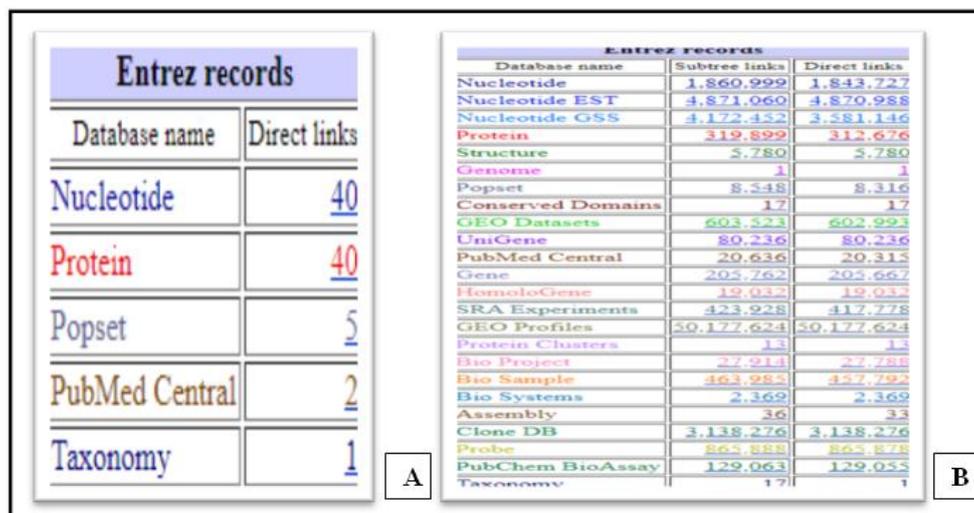


Figure 21 : Les données disponibles sur la GenBank concernant les espèces *Gerbillus tarabuli*(A), *Mus musculus*(B).

5-Les séquences représentatives de chacune des espèces ont été téléchargées sous format FASTA (Figure 22) à partir de la "GenBank".

```

Gerbillus tarabuli isolate 2D cytochrome b gene, partial cds; mitochondrial
GenBank: GU356576.1
GenBank Graphics PopSet
>GU356576.1 Gerbillus tarabuli isolate 2D cytochrome b gene, partial cds; mitochondrial
TTCGCCCTCGTACTACGGATGGTGGACCACTCATTATCGACCTCCCCACTCTCCAACATCTCATCCTG
ATGAACTTTGGCTCACTTCTAGGAATTTGCTTAGTAATCAAATGTACAGGACTTTTCTAGCCATA
CATTATACAGCAGACACAACAGCATTTCATCAGTATCCCATATCTGCCGAGAGCTAAATTACGGAT
GACTAATCCGTTATATACACGCAACCGGAGCCTCACTATCTTCATCTGCCTATTCATCCATATCGGACG
AGGCATTACTACGGATCCTACATCTTCCAAGAAACATGAAACATCGGTGAATCCTCCTATTGGCGTA
ATAGTACCAGCATTATAGGATACGCTCCTACCATGAGGACAAATATCCTTCTGAGGAGCCACAGTGATTA
CAATCTCCTCTCAGCAATCCCGTATATTGGTCCAACAATTGTAGAATGAATCTGAGGGGGTTCTCAGT
AGACAAAGCCACCCTAACACGATTTTTCGATTCCATTTATTCTCCCTTTATTATTACAGCCCTGTG
CTAGTCCACCTCCTATTTTTCACGAAACCGGATCCAATAACCCCTAGGAGTAAACTCTAATGACAGACA
AAATCCCTTTCACCCCTATTACACAGTAAAAGATTTTCTCGGAGTAATTTACTACTTCTATTCTCAT
AATCTAGTTCTCTTCTTCTGACCTACTGAGACCCAGACAATTACACACCTGTCAACCCACTCAAC
ACACCTCCCATATTAACCGAATGATATTTCTTATTGCTACGCTATTCTCGGTTCCATCCCACAATA
AACTAGGTGGAGTACTAGCCTTAGTATTATCAATCCTCATTCTAATTTTCTACCACTAATCCATACATC
AAAACAACGAAGCCTAATATCCGACCAATTTCAACAATCTTACTGAATTTAATCGTAACTGCTT
ATCCTTACATGAATCGGGGGCAACAGTAGAACACCCATTATCATTATTGGCCAACCTAGCCTCAATTA
GCTATTTTCTATCATCTAATCTTTCTACCAATTGCCGGAATCATCGAAGACAAAATATTAATAAT

```

Figure 22: Exemple d'une séquence nucléotidique au format FASTA.

II.2.2. Traitement des données par logiciel MEGA5

II.2.2.1. Présentation du MEGA5

Le logiciel MEGA5 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) est une application de bureau conçue pour l'analyse comparative de séquences de gènes homologues provenant de familles multigéniques ou d'espèces différentes avec une emphase particulière sur les relations évolutives et les modèles d'évolution de l'ADN et des protéines. En plus des outils d'analyses statistiques des données, MEGA fournit de nombreuses installations pratiques pour l'assemblage de fichiers de séquences à partir de fichiers ou de référentiels Web, et comprend des outils de présentation visuelle des résultats obtenus sous la forme d'arbres phylogénétiques interactifs et matrices de distances évolutives (Figure 23).

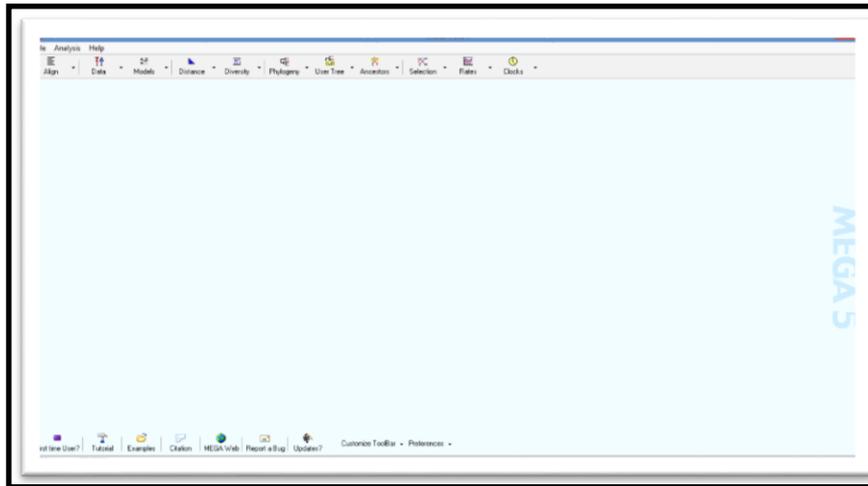


Figure 23 : Représente le logiciel de MEGA5.

II.2.2.2. Les différentes étapes d'utilisation de MEGA5

1-L'insertion des séquences nucléotidiques au forme FASTA de la "GenBank" dans le logiciel MEGA5, un alignement multiple est réalisé en utilisant le programme ClustalW (Figure 24).

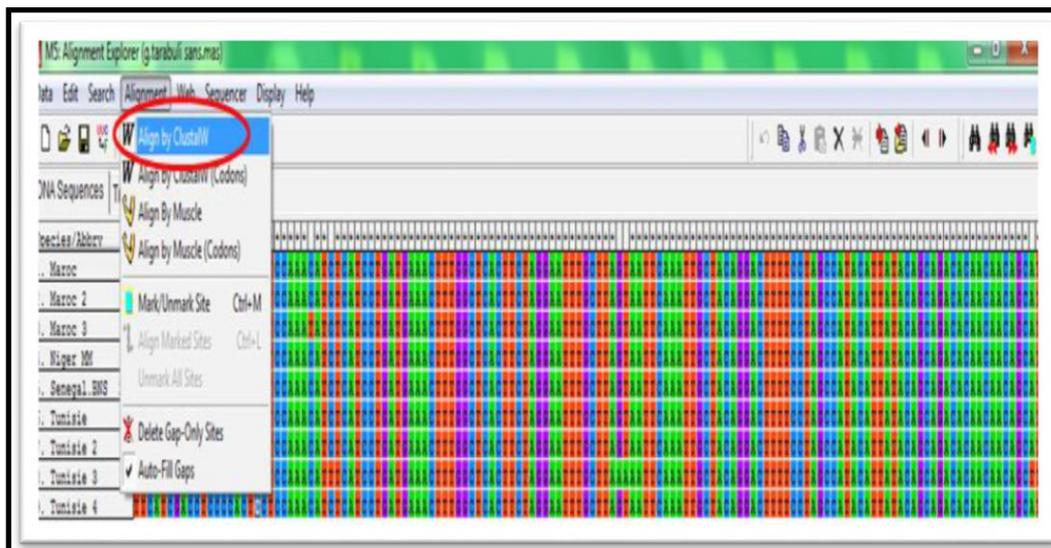


Figure 24 : Le programme ClustalW utilisé pour l'alignement multiple des séquences du marqueur moléculaire choisi.

2-Une fois les séquences alignées elles sont ensuite comparées et servent à la construction d'arbres phylogénétiques en utilisant l'une des méthodes fondées sur les distances, la méthode UPGMA (Figure 25).

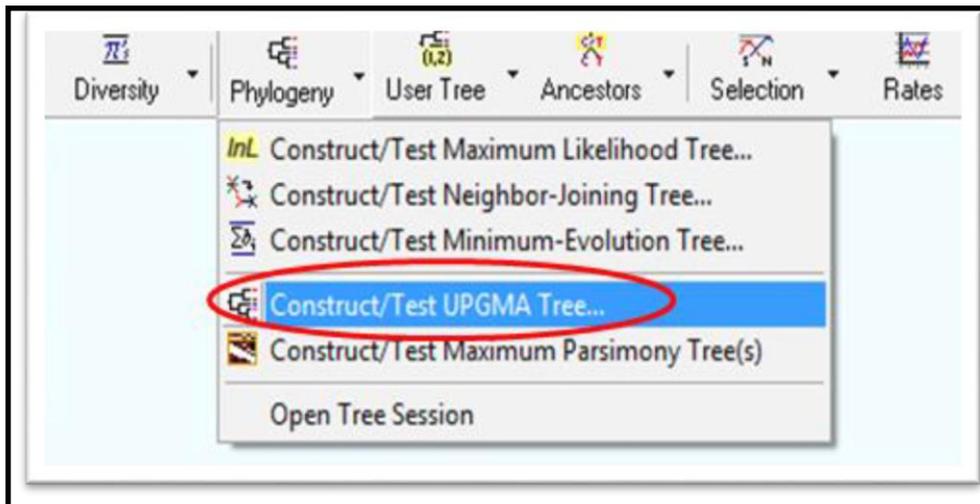


Figure 25 : La méthode UPGMA utilisée pour la construction de l'arbre phylogénétique.

3-Pour la construction de l'arbre phylogénique ; nous avons utilisé la méthode de « Bootstrap », nous avons choisi la valeur 1000, et nous avons utilisé aussi le modèle « Kimura 2-parameter », (Figure 26).

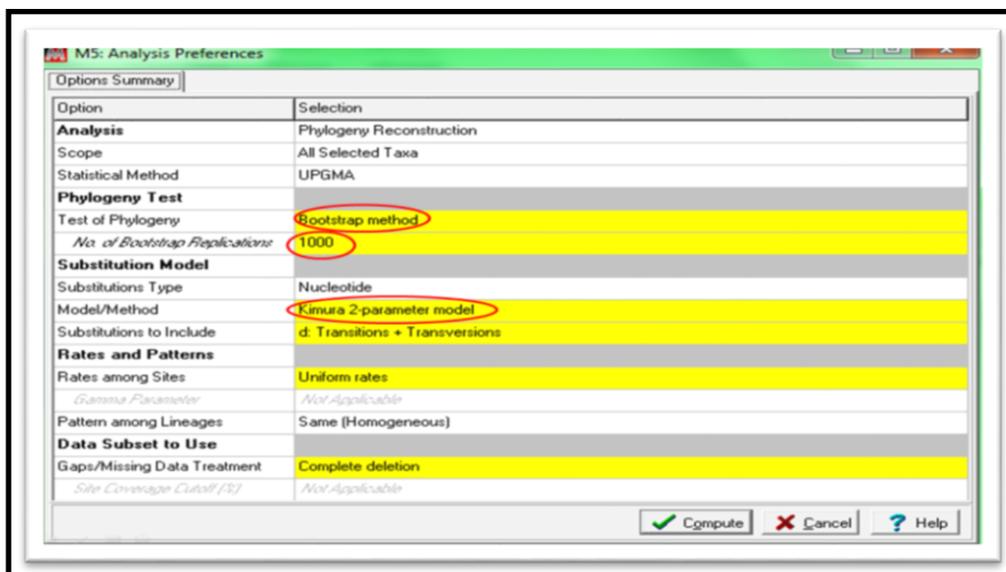


Figure 26 : Les paramètres utilisés pour la reconstruction phylogénétique.

Notre étude porte sur la comparaison entre deux espèces appartenant à la même famille des muridés qui sont : *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus*. Nos résultats sont présentés en deux parties : la première concerne l'étude histologique et morphométrique de l'appareil reproducteur mâle *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus*, la seconde concerne l'étude phylogénétique des deux espèces.

III.1. RESULTAT HISTOLOGIQUE

Nous avons effectué des coupes transversales et longitudinales sur les différents composants de l'appareil reproducteur mâle (testicule, épидидyme, vésicules séminales, prostate), chez la souris blanche (*Mus musculus*) et la gerbille du désert (*Gerbillus tarabuli*) sur lesquelles nous avons appliqué différentes colorations à savoir la coloration à Hémalun éosine, celle de bleu alcian et de rouge congo.

III.1.1. Testicule et épидидyme

Dans cette partie nous avons étudié l'anatomie et l'histologie du testicule et de l'épididyme, nous avons réalisé des coupes transversales et longitudinales colorées à l'hémalun éosine pour le testicule et hémalun éosine et bleu alcian pour l'épididyme.

III .1.1.1. Anatomie du testicule et de l'épididyme

✚ Le testicule présente deux faces : une face latérale et une face médiale lisses et arrondie, deux bords ; un bord libre, convexe et lisse et un bord épидидymaire moins convexe et un peu plus court sur lequel est annexé l'épididyme ; deux extrémités : une extrémité capitée en continuité de substance avec la tête de l'épididyme. Une extrémité caudée))) s'unit à la queue de l'épididyme par le ligament propre du testicule.

✚ L'épididyme est relié à l'extrémité dorsale du testicule. C'est un organe allongé, plus ou moins incurvé qui présente trois parties : une tête volumineuse qui coiffe largement l'extrémité dorsale du testicule ; elle est soutenue par le ligament de la tête de l'épididyme ; un corps court et épais ; une queue mince et libre de laquelle se démarque un conduit déférent ; celle-ci est rattachée au testicule par un ligament qui est le ligament de la queue de l'épididyme (Figure 27).

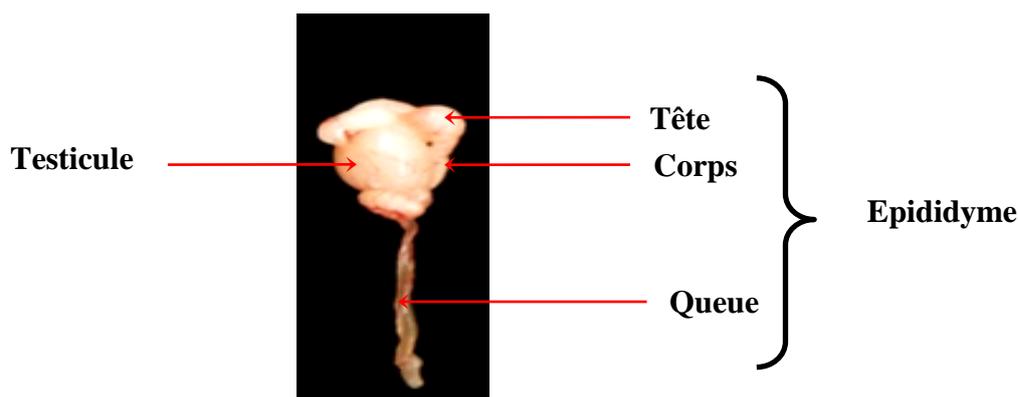


Figure 27 : Anatomie du testicule et de l'épididyme de la souris blanc.

III.1.1.2. Structure du testicule

Nous avons étudié la structure du testicule de *Gerbillus tarabuliet* et *Mus musculus*. Pour cet organe nous avons choisi la coloration Hémalun éosine à différent grossissement 10, 40 et 100.

✓ **Vue au faible grossissement Gx10 :**

Le testicule est entouré d'une capsule conjonctive, fibreuse, épaisse et résistante, appelée albuginée. Dans chaque lobule, sont pelotonnés plusieurs tubes séminifères contournés. Ils sont délimités par une lame basale fine et entourés par une fine couche très cellulaire. Chaque tube séminifère présente une lumière centrale bordée par un épithélium prismatique. Les tubes séminifères contiennent des cellules germinales à différents stades de spermatogénèse qui sont hautement organisées dans l'épithélium séminifère. Les cellules les moins différenciées sont situées du coté basal du tube séminifère (vers la lame basale) et les cellules les plus matures sont situées du coté apical du tube séminifère vers la lumière.

➤ *Gerbillus tarabuli*

Les tubes séminifères sont volumineux séparés les uns des autres d'une façon organisée, avec un espace interstitiel, présence d'une large lumière))) pleine des spermatozoïdes (Figure 28). L'étude morphométrique a montré que la surface de ces tubes est de $32364 \pm 1308, \mu\text{m}^2$ le grand et le petit axe sont respectivement de $221,3 \pm 6,5, 192,3 \pm 4,7 \mu\text{m}$, et le périmètre est de $677,6 \pm 17,1 \mu\text{m}$ (Figure 29).

➤ *Mus musculus*

Les tubes séminifères sont volumineux et soudés d'une façon anarchique avec une lumière réduite avec peu de spermatozoïdes (Figure 28). L'étude morphométrique a montré que la surface de ces tubes est de $25706 \pm 1030 \mu\text{m}^2$ le grand et le petit axe sont respectivement de $194,0 \pm 5,5$, $187,9 \pm 5,2 \mu\text{m}$ le périmètre est de $615,6 \pm 14,6$ (Figure 29).

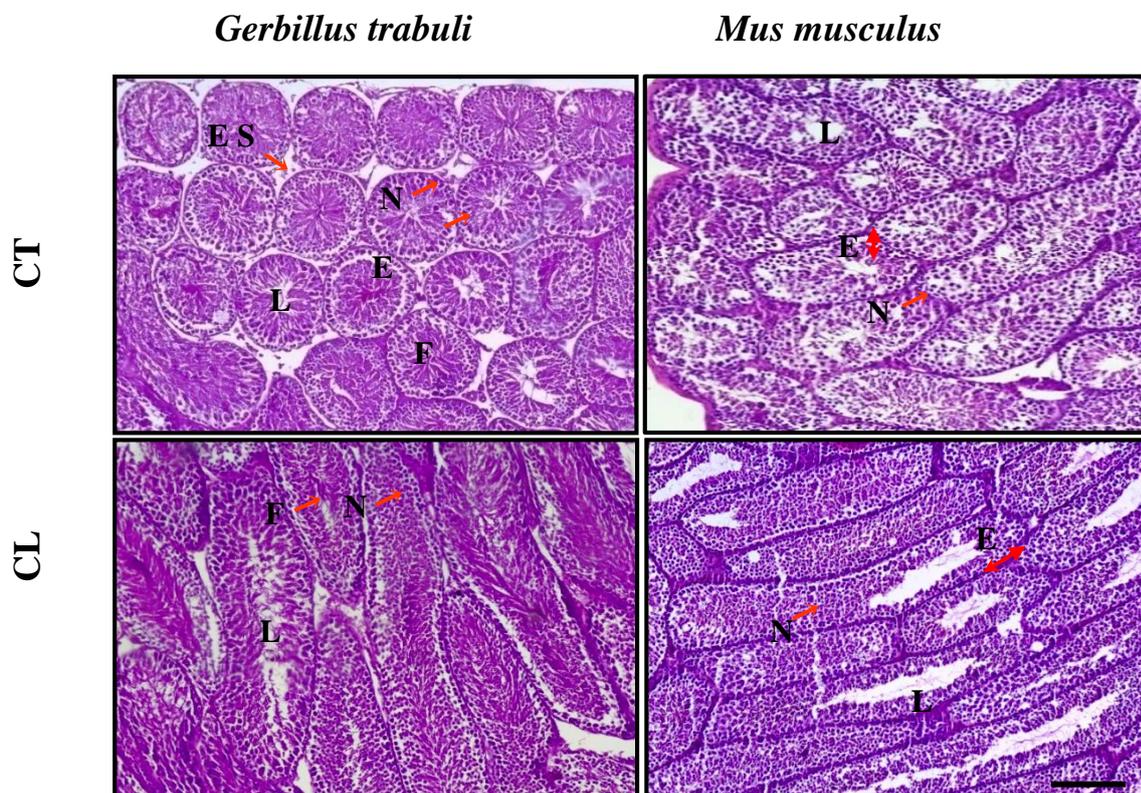


Figure 28: Aspect structural du tube séminifère chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus* coloré à Hémalun éosine Gx10. Scal bar : 100 μm .

L : Lumière, N : Noyau, E : épithélium, F : flagelle, ES : espace interstitiel.

Les résultats morphométriques ont montré qu'il existe une différence statistique hautement significative entre les deux espèces étudiées en faveur de *Gerbillus tarabuli*, la différence est de 25,9% ; $p=0,000076$ pour la surface des tubes et de 95.3% ; $p=0.000000$ pour la lumière de ces tubes.

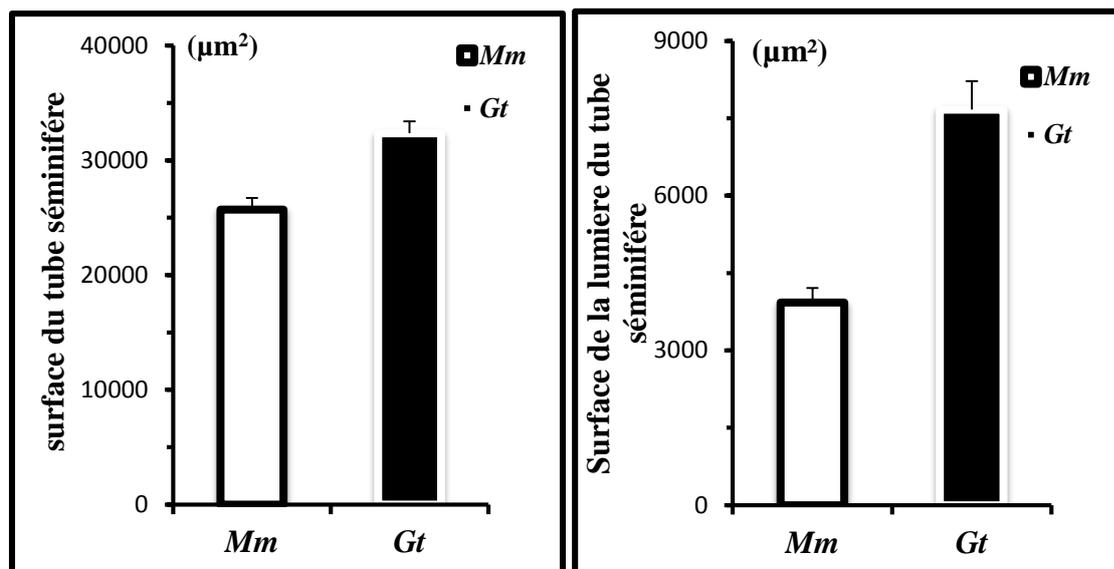


Figure 29 : Morphométrie tissulaire du testicule chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus*.

✓ Vu au fort grossissement Gx40 :

➤ *Gerbillus tarabuli*

La figure 30 montre la présence de deux types de tissu parenchymateux : le tissu interstitiel et l'épithélium séminifère. Les tubes séminifères sont entourés d'une seule couche de cellules myoïdespéritubulaires ou cellules péritubulaires avec des caractéristiques musculaires lisses qui entourent les tubes séminifères. Une population de cellules à noyaux plus pâles et cytoplasme peu abondant et une lumière bordée par des cellules à différents stades de maturation avec présence de spermatozoïdes.

➤ *Mus musculus*

La figure 30 montre qu'il y a 2 types de tissu parenchymateux : tissu interstitiel et épithélium séminifères. Le tube séminifère présente une lumière bordée par des cellules à différents stades de maturation : ce sont les cellules de la lignée germinale. A la base des tubes séminifères, on a des cellules à cytoplasme abondant et à noyau densément coloré. Ensuite, entre ces différentes structures, on trouve d'autres cellules à noyaux ovales. Enfin, on y trouve d'autres cellules aux noyaux denses qui sont plus proches de la lumière. Cet ensemble de cellules constitue l'épithélium germinatif. Dans la lumière, on observe quelques spermatozoïdes.

Gerbillus tarabuli

Mus musculus

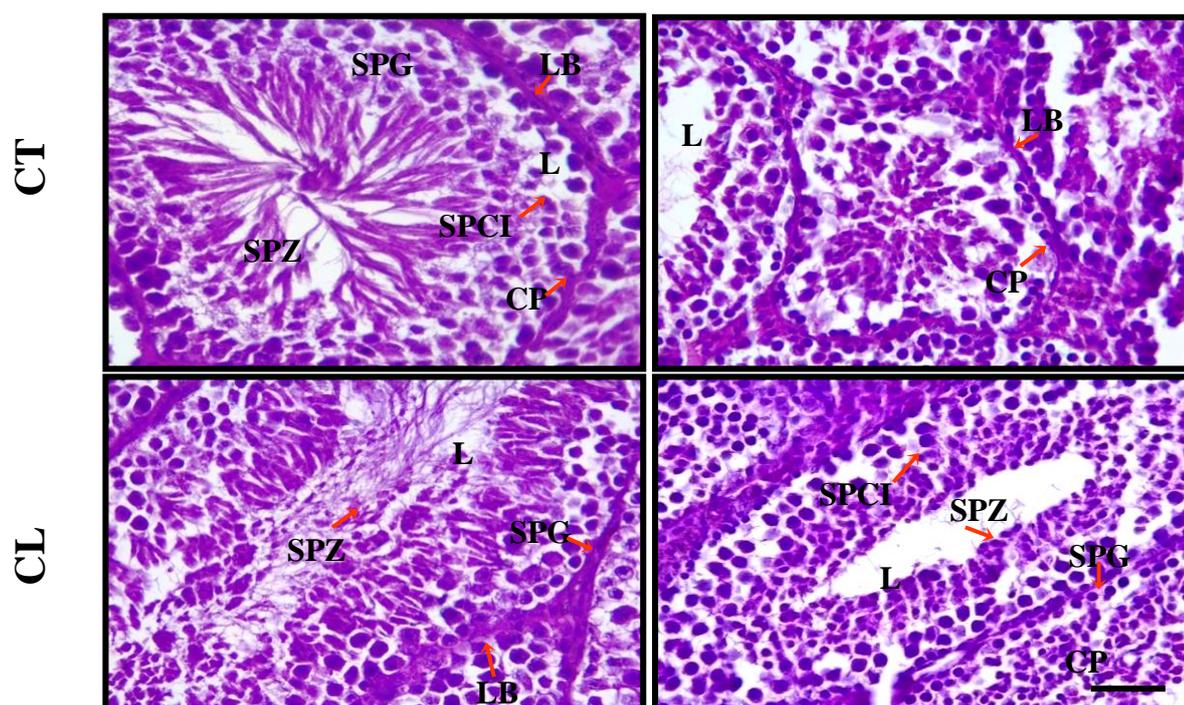


Figure 30 : Aspect structural du testicule chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus* Gx40 coloré à Hémalun éosine. Scal bar : 50µm.

SPZ : spermatozoïde, SPG : spermatogonie, SPCI :spermatocyte,L :lumière, LB : lame basale, CP :cellulepéritubulaire

✓ Au fort grossissement (Gx100), la figure 31 montre les étapes de la spermatogénèse :

➤ *Gerbillus tarabuli*

Tous les tubes séminifères des cellules de Sertoli matures et des cellules de la spermatogénèse (spermatogonies, spermatocytes primaire et secondaire, spermatides et spermatozoïdes) de la périphérie jusqu'à la lumière des tubes séminifères et entre les tubes séminifères, apparaissent des petits amas de cellules entourés par un tissu conjonctivaux vasculaire : ce sont les cellules de Leydig.

Les caractéristiques histologiques de chaque type de cellule observée dans un épithélium séminifère sont présentées dans la cellule de Sertoli, caractérisée par un noyau clair et une position plus avancée dans l'épithélium et parfois collées à la lame basale.

❖ **Spermatogonies** : sont retrouvées à la périphérie.

- ❖ **Spermatocytes** : on les distingue par leur grande taille du noyau et une position plus avancée dans l'épithélium séminifère.
 - ❖ **Spermatides** : on distingue deux catégories.
 - **Spermatides rondes** : ce sont les plus petites cellules rondes observées dans l'épithélium séminifère.
 - ❖ **Spermatides allongées** : ce sont des petites cellules ovale et allongée avec une tête sombre et longue, avec un flagelle qui fait saillie dans la lumière appelées spermatozoïdes. (Figure 31).
- *Mus musculus*

Les tubes séminifères sont formés de cellules de Sertoli matures et des cellules de la spermatogénèse (spermatogonies, spermatocytes primaire et secondaire, spermatides et spermatozoïdes) de la périphérie jusqu'à la lumière des tubes séminifères, entre les tubes séminifères, apparaissent de petits amas de cellules entourées par un tissu interstitiel ce sont les cellules de Leydig (Figure 31).

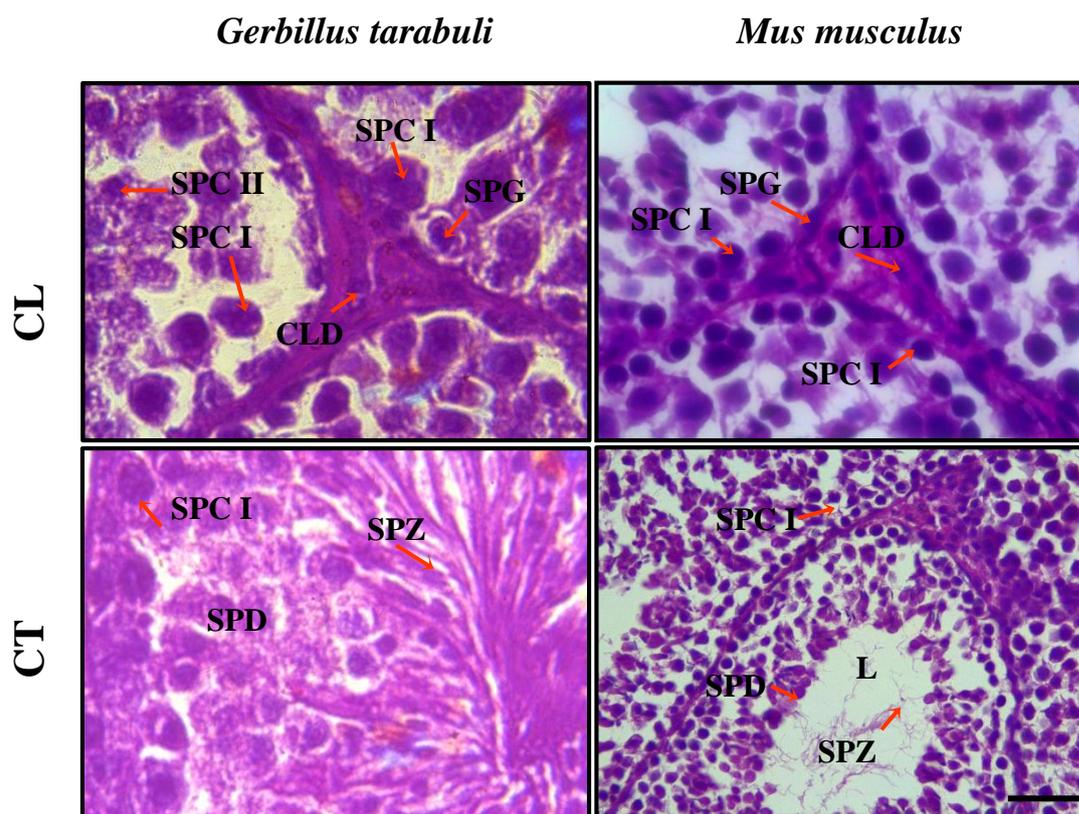


Figure 31 : Les différentes étapes de la spermatogénèse chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus*

Gx100 à coloration Hémalun éosine. Scal bar : 10µm.

SPG: spermatogonie ; SPCI: spermatocyte I ; SPCII: spermatocyte II ; SPD: spermatide ; SPZ: spermatozoïde.

III.1.1.3. Structure de l'épididyme

Dans cette étude nous avons réalisé des coupes au niveau de l'épididyme chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus*, nous avons choisi deux colorations : coloration à l'hémato-éosine qui nous a permis de voir la structure générale de l'épididyme et le bleu alcain qui nous permet de colorer le tissu conjonctif en bleu.

✓ Vu au faible grossissement Gx10 :

➤ *Gerbillus tarabuli*

La figure (32) montre l'aspect de l'épididyme, avec présence de trois segments anatomiques formés de lobules volumineux séparés par des travées conjonctives, ces tubules sont larges au niveau de la tête puis s'élargissent plus au niveau du corps et de la queue. Cet épithélium fin contient deux types de cellules : des petites cellules basales et des grandes cellules principales. La surface de ces tubes est de $11704 \pm 1000 \mu\text{m}^2$.

➤ *Mus musculus*

La figure 32 nous montre l'aspect de l'épididyme, formé de petits lobules séparés par des travées conjonctives présence d'un épithélium épais. Cet épithélium contient deux types de cellules : des petites cellules basales et des grandes cellules principales. La surface est de $8247 \pm 362 \mu\text{m}^2$, la lumière est de $1731 \pm 110 \mu\text{m}$.

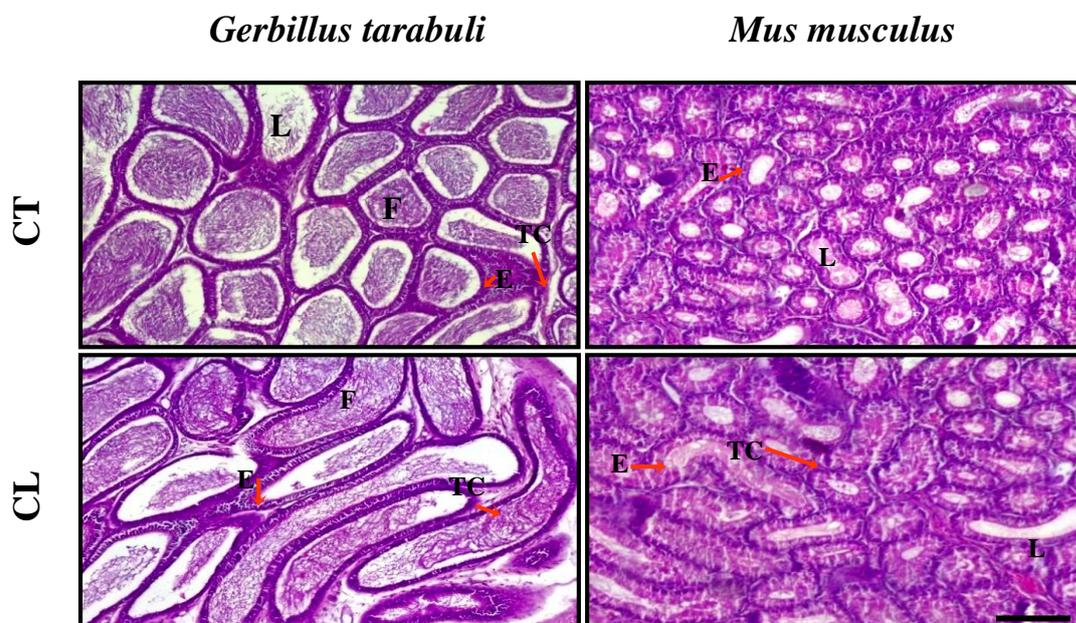


Figure 32 : Aspect structural d'épididyme chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus* ; coloré à Hémalun éosine Gx10. Scal bar : 100 μm .

L : lumière, E : épithélium, F : flagelle, TC : tissu conjonctif

Les résultats morphométriques renforcent les résultats structuraux (Figure 34). En effet l'étude morphométrique montre que, quel que soit le paramètre la différence est statistiquement hautement significative entre *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus* ($M_1=1730$, 941 , $M_2=11704$, 14 , 57.617% , $P=0,000000$).

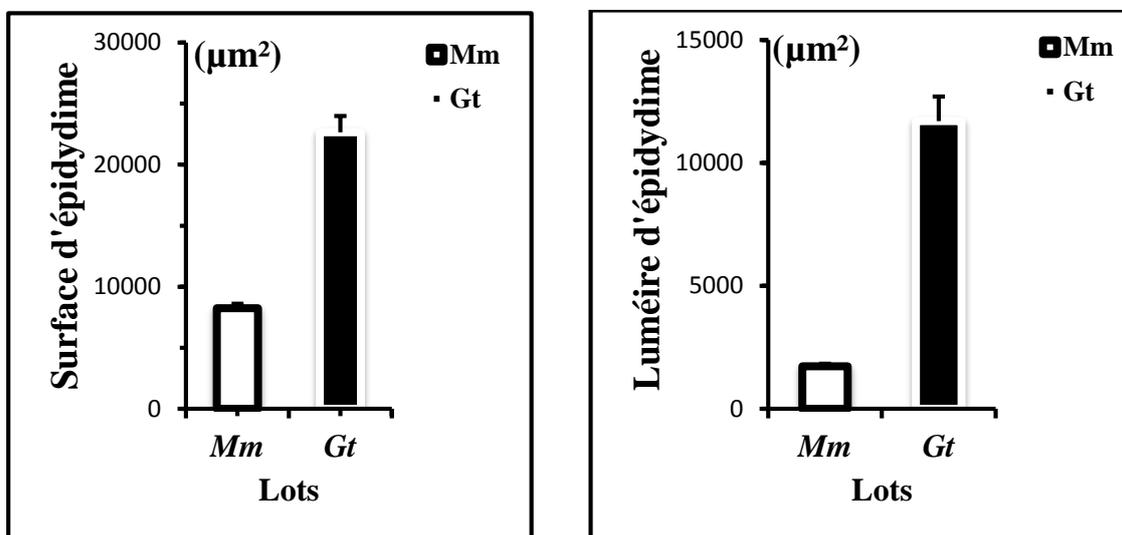


Figure33 : Morphométrie tissulaire de l'épididyme chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus*.

✓ Vu au fort grossissement (Gx40) :

➤ *Gerbillus tarabuli*

Dans le corps et la queue de l'épididyme (Figure 34) se trouvent des canaux épидидymaires de forme irrégulière avec présence des spermatozoïdes dans leur lumière. La paroi de la lumière des canaux épидидymaires est bordée par un épithélium pseudo-stratifié entouré de fibres musculaires lisses présentant des cellules épithéliales qui partent de la membrane basale. Ces dernières sont superposées et de taille variable. La hauteur des cellules épithéliales est de $(13,7 \pm 0,4)$ et celles de leurs noyaux basales est de $(10,9 \pm 0,6)$.

➤ *Mus musculus*

Comme pour la gerbille dans le corps et la queue de l'épididyme de la souris (Figure 34) se trouvent des canaux épидидymaires de forme irrégulière avec présence de quelques spermatozoïdes dans leur lumière. La paroi de la lumière des canaux épидидymaires est bordée par un épithélium pseudo-stratifié entouré de fibres musculaires lisses présentant des cellules épithéliales qui partent de la membrane basale. Ces dernières sont superposées, de taille variable. La hauteur des cellules épithélial est de $(28,9 \pm 0,7)$ et celles de leurs noyaux basales est de $(21,8 \pm 0,7)$.

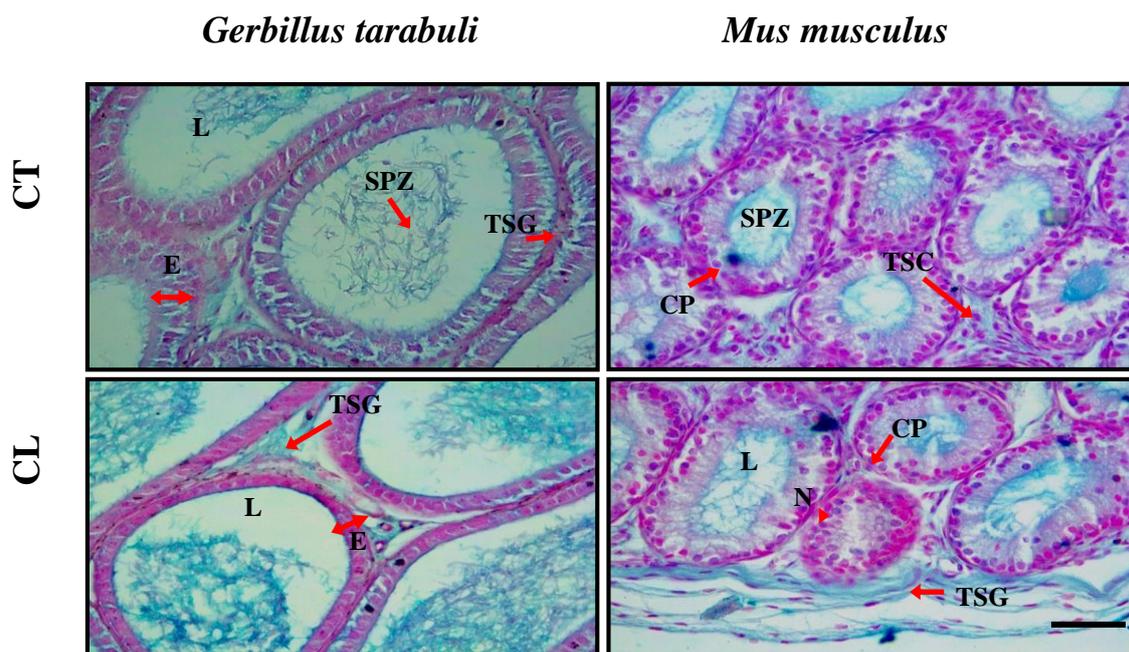


Figure 34 : Aspect structural de l'épididyme chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus* Gx40. Coloré au bleu alcian. Scal bar : 50µm.

L : lumière, CP : cellule pèritubulaire TSG : tissu conjonctif, SPZ : spermatozoïde. N : noyau.

Les résultats morphométriques renforcent les résultats structurales (Figure 35). En effet l'étude morphométriques montre que, quel que soit le paramètre étudié la hauteur d'épithélium. La différence statistiquement hautement significative chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus* (-52,68653%, $p= 0,00$) la hauteur de celles de leurs noyaux basale est de (-50,09585%, $p=0,000000$).

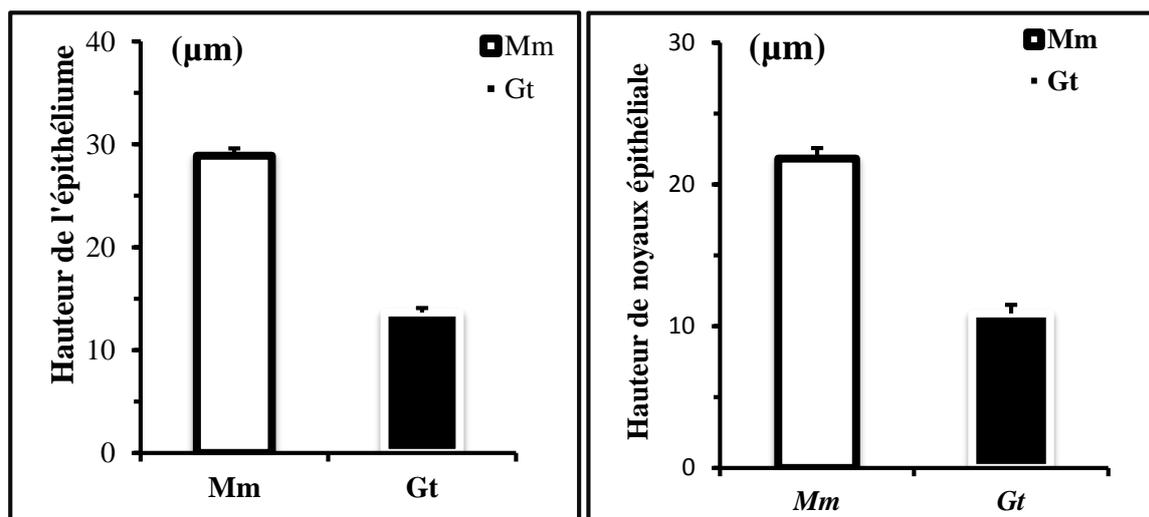


Figure 35 : Morphométrie tissulaire de l'épididyme chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus*.

✓ Au fort grossissement (Gx100) :

➤ *Gerbillus tarabuli* :

L'épididyme est formé par un épithélium simple stratifié (Figure 36), présenté par des canaux épидидymaire volumineux, séparés par un amas de cellules, contient un tissu conjonctif avec une large lumière pleine des spermatozoïdes.

➤ *Mus musculus*

L'épididyme est formé par un épithélium simple stratifié, présenté par des canaux épидидymaire soudé, séparé par un amas de cellules, il contient un tissu conjonctif, avec une lumière réduite présenté par un nombre insuffisant de spermatozoïdes (Figure 36).

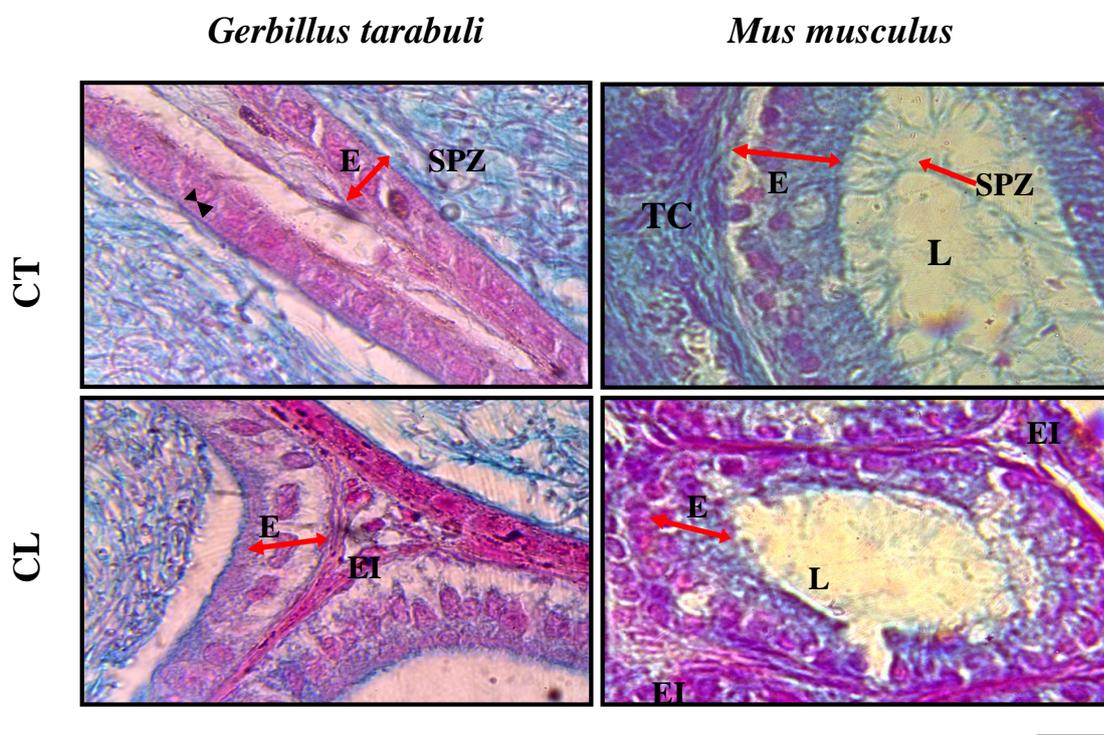


Figure 36 : Aspect structural de l'épididyme chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus* Gx100. Coloré au bleu alcain. Scal bar : 10µm.

E : épithélium, L : lumière, EI : espace interstitiel, SPZ : spermatozoïde. N : Noyau. TC : Tissu conjonctif.

III .1.2.Vésicules séminales

Dans cette partie nous avons étudié l'anatomie et l'histologie de la vésicule séminale chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus*, en appliquant deux colorations : hémalun-éosine, le bleu alcian.

III .1.2.1. Anatomie des vésicules séminales

Les vésicules séminales, sont deux sacs constitués de lobes multiples qui s'ouvrent soit dans la partie terminale des canaux déférents soit dans l'urètre (Figure 37), chez les rongeurs, ce sont les glandes annexes les plus évidentes par leur grand développement et leur lobulation caractéristique. Elles se présentent sous forme de deux sacs lobulés enroulés en cornes de bélier. La lobulation est due à l'excroissance alvéolaire d'une vaste cavité centrale.

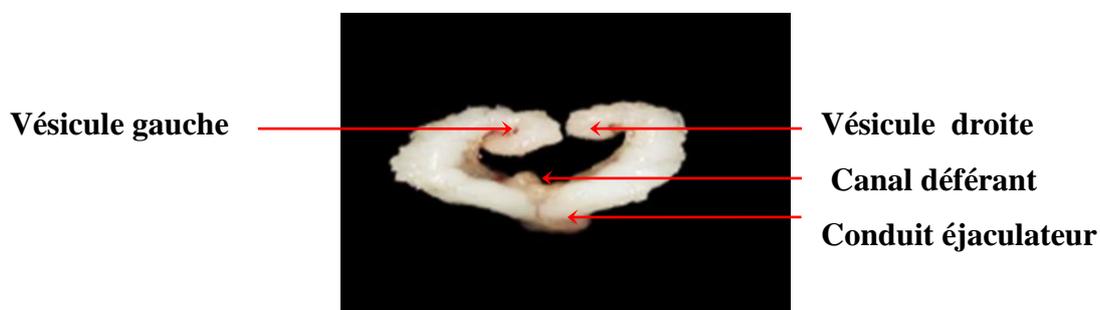


Figure 37 : Anatomie de la vésicule séminale chez la souris.

✓ Vu au faible grossissement Gx10 :

➤ *Gerbillus tarabuli*

Les vésicules séminales présentent une paroi fibromusculaire; le tissu conjonctif la séparant de l'épithélium consiste en quelques fibres conjonctives séparées. L'épithélium développe des replis épithéliaux très longs qui s'enfoncent en convergeant au centre d'une lumière très large remplie d'une sécrétion très abondante. L'axe conjonctif de ces replis épithéliaux est très fin. L'épithélium est cylindrique haut, pseudo stratifié (Figure 38) constitué par une importante couche musculaire lisse.

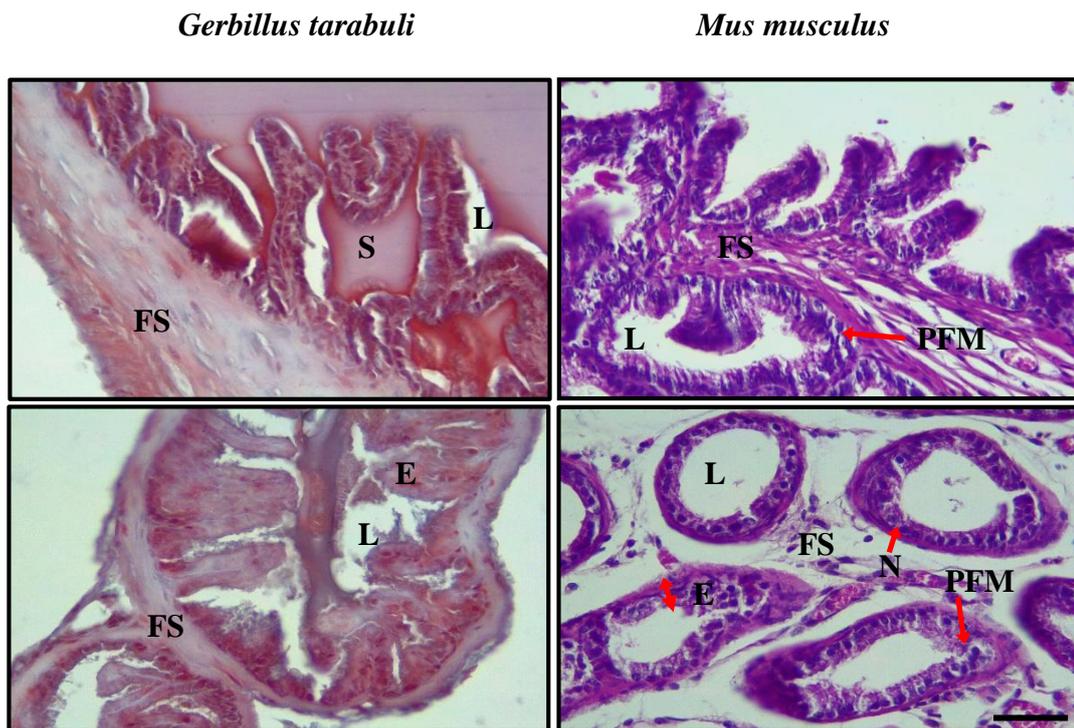


Figure 38: Aspect structural de la vésicule séminale chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus*. Gx40 coloré à Hémalum éosine. Scal bar : 50µm.
 L : lumière, S : sécrétion, FS : fibre musculaire ; PFM ; E : épithélium.

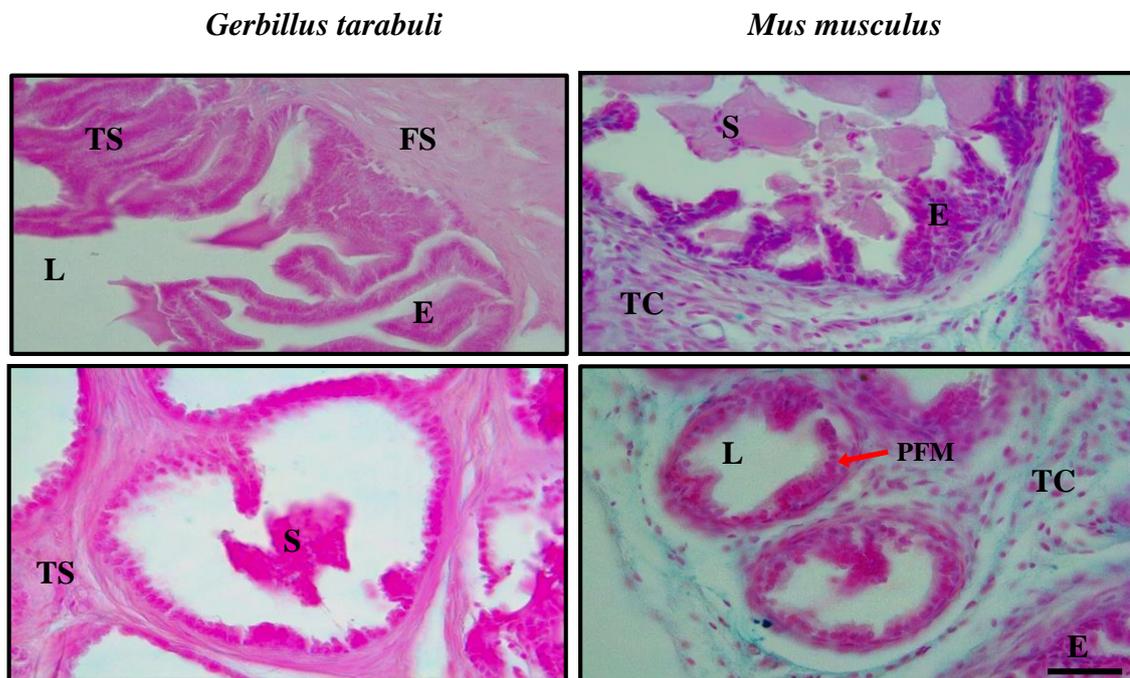


Figure 39 : Aspect structural de la vésicule séminale chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus*. Gx40 coloré à Hémalum éosine. Scal bar : 50µm.
 L : lumière, S : sécrétion, FS : fibre musculaire ; PFM ; E : épithélium.

➤ *Mus musculus*

Les vésicules séminales sont formées de deux compartiments : Le compartiment épithélial et le stroma. L'épithélium de revêtement est prismatique, haut, constitué de cellules sécrétoires ou glandulaires entre lesquelles s'intercalent des cellules basales de remplacement. Le stroma des vésicules séminales renferme les cellules conjonctives logées dans la matrice extracellulaire et les cellules musculaires lisses qui forment la paroi fibro-musculaire.

Une structure glandulaire sous forme de gros canal pelotonné ce sont des glandes de nature tubulo-alvéolaires ramifiées à la surface, s'observe un épithélium formé d'une seule assise de cellules cylindriques (Figure 38), une musculuse.

III .1.3. La prostate :

Dans cette partie nous avons étudié l'anatomie et l'histologie de la prostate chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus*, nous avons choisi différentes colorations : hématoxyline qui nous permet de voir l'aspect structurale, le bleu alcian pour colorer le tissu conjonctif en bleu, et le rouge congo pour faciliter l'observation, en faible grossissement (Gx10) qui nous permet de voir la structure générale de la prostate et fort grossissement (Gx40) pour voir le détail de la structure de prostate.

III .1.3.1. Anatomie de la prostate :

La glande prostatique se présente sous forme d'une structure multilobée, entourant l'urètre à la base de la vessie. On parle habituellement de complexe prostatique, composé de quatre lobes distincts selon leur disposition autour de la vessie, qui sont : lobe latérale, lobe dorsale, lobe ventrale, lobe antérieur (Figure 39).

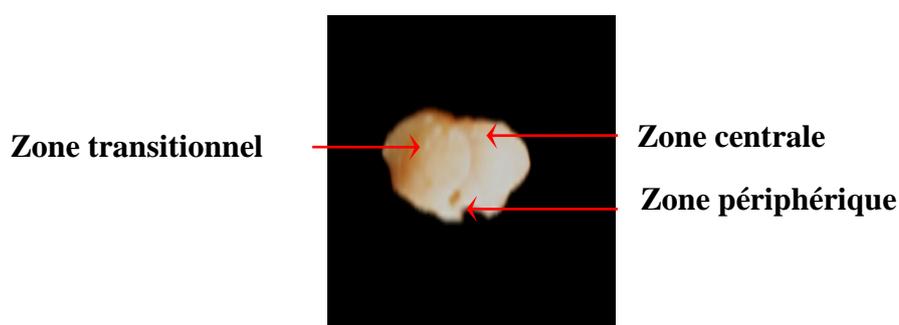


Figure 40 : Anatomie de la prostate chez la souris.

✓ Vu au fort grossissement Gx40 :

➤ *Mus musculus* :

La figure 40 A, B, montre que la prostate est constituée de glandes tubulo-alvéolaires ou acini entourés de stroma musculaire lisse, une lame basale sur laquelle repose des structures glandulaires. Chacune de ces glandes présente une lumière de largeurs variables, une muqueuse entourée par un tissu conjonctivo-musculaire, un chorion qui entoure les structures glandulaires et présentant de nombreux septa de tissu conjonctif avec des cordons de fibres musculaires lisses, les acini des lobes antérieurs (Figure 40A), sont formés d'une muqueuse présentant des replis épithéliaux qui s'enfoncent dans une lumière très large remplie d'une sécrétion abondante. L'épithélium est de forme cubique et parfois cylindrique avec un noyau central de forme ovale. Le lobe ventral durant la période de reproduction (Figure 40B) révèle une muqueuse très développée avec un épithélium glandulaire cylindrique simple qui entoure de larges cavités sécrétoires. Le stroma adjacent est très mince. Le lobe dorsal est similaire au lobe ventral (Figure 40 C), les acini sont formés d'un épithélium cubique ou cylindrique simple avec un noyau basal ovulaire. L'épithélium entoure une cavité large où se trouvent des sécrétions, le lobe dorsal est bordé par une paroi fibromusculaire mince.

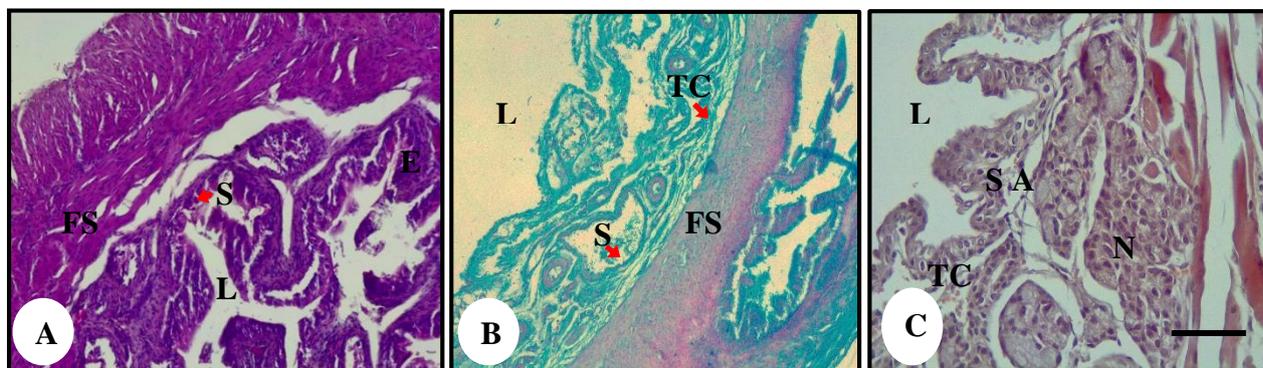


Figure 41 : Aspect structural des différents lobes prostatiques chez *Mus musculus*, en différentes colorations, Gx40. A : lobe antérieur, coloré à Hémaluméosine; B : lobe ventral, coloré au bleu alcian et C : lobe dorsal, coloré au rouge congo Scal bar : 50µm.

L : lumière, FS : stroma fibromusculaire, TC : tissu conjonctif, E : épithélium, N : noyau, SA : zone supranucléaire, S : sécrétion.

III.3.RESULTATS PHYLOGENETIQUES :

Les espèces de genre *Gerbillus* ont été l'objectif d'un grand nombre d'affectation morphologiques, cytogénétiques et enzymatiques au sujet de leur taxonomie et leur systématique (Chibani et Cheniti, 1982 ; Lay, 1983 ; Chetoui et al., 2002 ; Aniskin et al., 2006). Cependant, plusieurs espèces de ce genre sont toujours sous la discussion taxonomique (Chevret et Dobigny, 2005 ; Abiadh et al., 2010 ; Alhajeri et al., 2015 ; Ndiaye et al., 2016). Par conséquent, le but de notre étude est de comparer ces espèces avec l'espèce *Mus musculus*. En outre, beaucoup d'axes restent à étudier sur la distribution, l'écologie et l'évolution de ces rongeurs en Afrique du Nord et dans le monde.

III.3.1.Extraction des résultats de la GenBank :

Notre étude est basée sur le relèvement phylogénétique à partir de 444 séquences (gène : *cytb*, *IRBP*,.....etc) de 17 espèces appartenant au genre *Gerbillus* et 1565972 séquences de *Mus musculus*, récupérées auprès de la GenBank. Les espèces qui ont été utilisé dans ces analyses phylogénétiques sont : *G. poecilops*; *G. henleyi*; *G. occiduus*; *G. gerbillus*; *G. nanus* ; *G. amoenus* ; *G.andersoni* ; *G.cheesmani* ; *G.floweri* ; *G.latastei* ; *G.nancillus* ; *G.nigeriae* ; *G.perpallidus* ; *G.pyramidum* ; *G.tarabuli* ; *G.hoogstrali* et *G.hosperinus* localisées dans différentes régions géographiques.

Les séquences de chaque espèce retirées à partir de la GenBank, leur type de gène et leur origine géographique sont montrées dans le tableau en annexe II. Il faut signaler qu'il y a plusieurs séquences identiques à 100 % (haplotypes), pour cela nous ne prendrons en considération qu'une seule séquence représentative.

Tableau II : Les séquences d'ADN nucléaire et mitochondrial obtenues à partir de la GenBank pour le genre *Gerbillus* et *Mus musculus*.

	<i>Gerbillus</i>	<i>Mus musculus</i>
ADN génomique	444	1 565 972
ADN mitochondrial	332	4 628

Nous avons choisi dans l'étude phylogénétique l'ADN mitochondrial (Figure 41) pour établir des liens de parenté entre nos espèces, parce que ce dernier est très largement utilisé dans les études de phylogénie et il est donc bien documenté pour de nombreux groupes de mammifères (Sanger et al., 1981) (Tableau III).

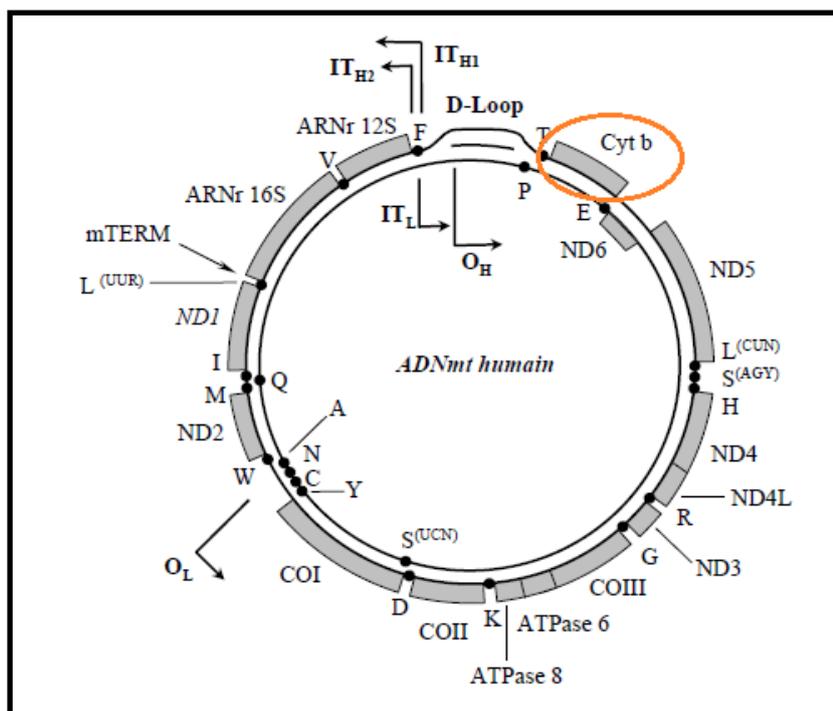


Figure 42 : Organisation du génome mitochondrial humain (Sanger et al., 1981).

Tableau III: Présente les séquences d'ADN mitochondriaux extraites de la GenBank chez le genre *Gerbillus* et *Mus musculus*.

	Cytb	Cyt oxidase	12Sr ARN	16Sr ARN	D- IOOP	NADH déhydrogénase	Génom complet	18Sr ARN
<i>G. amœnus</i>	6	---	---	---	---	---	---	---
<i>G. andersoni</i>	4	---	---	---	---	---	---	---
<i>G. cheesmani</i>	3	---	---	---	---	---	---	---
<i>G. flowri</i>	5	---	---	---	---	---	---	---
<i>G. gerbillus</i>	31	1	1	---	---	---	---	2
<i>G. henleyi</i>	24	---	---	---	---	---	---	---
<i>G. hesperinus</i>	1	---	---	---	---	---	---	---
<i>G. hoogstrali</i>	9	---	---	---	---	---	---	---
<i>G. latastia</i>	15	---	---	---	---	---	---	---
<i>G. nancillus</i>	44	---	---	---	---	---	---	---
<i>G. nanus</i>	33	5	1	2	---	---	---	---
<i>G. nigerea</i>	12	---	1	1	---	---	---	---
<i>G. occiduus</i>	25	---	---	---	---	---	---	---
<i>G. perpallidus</i>	6	---	---	---	---	---	---	---
<i>G. pœcilps</i>	1	---	---	---	---	---	---	---
<i>G. pyramidum</i>	13	---	1	---	---	---	---	---
<i>G. tarabuli</i>	35	---	---	---	---	---	---	---
<i>Mus musculus</i>	1290	361	412	429	2276	80	211	---

Le tableau III montre que le gène le plus utilisé est le cytochrome b qui est présent dans les 2 espèces étudiées, les séquences correspondant à ce gène sont récupérées et analysées (Annexe II).

III.3.2. Élaboration de l'arbre phylogénétique:

L'élaboration de l'arbre phylogénétique a été réalisé à l'aide du programme MEGA5. Tout d'abord, nous avons choisi les séquences représentatives de *cytb* en se basant sur leurs origines géographiques et leurs tailles :

1. **Pour l'espèce *G. amoenus*:** Au total, nous avons 6 séquences de *cytb* pour onstruire l'arbre, 5 séquences sont de l'Egypte , de différentes tailles (entre 228pb à 942pb) et une séquence de Burkina-Faso (1140pb).
2. **Pour l'espèce *G. andesoni* :** Nous avons choisi 2 séquences de *cytb*, une séquence de Mali (1140) et une séquence de l'Egypte (942).
3. **Pour l'espèce *G. cheesmani* :** Nous avons choisi 2 séquences de *cytb*, une séquence de Mali (1140) et une séquence de l'Egypte (1115).
4. **Pour l'espèce *G. floweri* :** Nous avons choisi 3 séquences de *cytb*, les 3 séquences sont de l'Egypte et de différentes tailles (entre 225pb à 232).
5. **Pour l'espèce *G. gerbillus* :** Nous avons choisi 8 séquences de *cytb*, 4 de l'Egypte de différentes tailles (entre 220pb à 942pb), 2 séquences de Tunisie (1006pb et 1071pb), une séquence de Kuweit (1121pb) et une séquence de Mali (1140pb).
6. **Pour l'espèce *G. henleyi* :** Nous avons choisi 6 séquences de *cytb*, 2 séquences de Niger (1113pb et 1114pb), 2 séquences de Burkina-Faso (1132pb et 1140pb), une séquence de l'Egypte (1115pb) et une séquence de Bénin (831pb).
7. **Pour l'espèce *G. latastei* :** Nous avons choisi 14 séquences de *cytb*, 9 séquences de Tunisie (entre 1055pb à 1140pb), 4 séquences de l'Algérie (entre 539pb à 912pb) et une séquence de Soudan (1115pb).
8. **Pour l'espèce *G. nancillus* :** Nous avons choisi 5 séquences de *cytb*, 4 séquences de Sénégal (entre 1115pb à 1140pb) et une séquence de Soudan (1140pb).

9. Pour l'espèce *G. nanus* : Nous avons choisi 7 séquences de *cytb*, 3 séquences de l'Égypte (entre 228pb à 238pb), 2 séquences de Mali (1113pb à 1140pb), une séquence de Niger (1115pb) et une séquence de l'Arabie Saoudite (237pb).

10. Pour l'espèce *G. nigerie* : Nous avons choisi 3 séquences de *cytb*, 2 séquences de Mali (1134pb à 1140pb) et une séquence de l'Égypte (1115pb).

11. Pour l'espèce *G. occidus* : Nous avons choisi une séquence de *cytb* de l'Égypte (1140pb).

12. Pour l'espèce *G. perpallidus* : Nous avons choisi 2 séquences de *cytb*, les 2 séquences de Maroc (239pb et 1130pb).

13. Pour l'espèce *G. pyramidum* : Nous avons choisi une séquence de *cytb*, la séquence de l'Égypte (1115pb).

14. Pour l'espèce *G. tarabuli* : Nous avons choisi 4 séquences de *cytb* de Tunisie (entre 1097pb à 1140pb).

15. Pour les espèces *G. poecilops*, *G. hoogstrali* et *G. hesperinus* : Une seule séquence de taille 1140pb a été considéré comme une séquence représentative pour chacune de ces espèces.

16. Pour l'espèce *Mus musculus* : Nous avons choisi 18 séquences de *cytb*, 2 séquences du Pakistan (868pb et 920pb), 2 séquences des États-Unis (1134pb et 1146pb), une séquence de l'Allemagne (702pb), 6 séquences de l'Amérique-Centrale (entre 670pb à 727pb), une séquence de Corée (860pb), une séquence de Suède (1123pb), une séquence de l'Iran (495pb), une séquence de Chine (1143pb), une séquence de l'Eurasie (1140pb), une séquence de l'Espagne (1128pb), une séquence de Japon (775pb).

L'arbre phylogénétique a été construit avec la méthode UPGMA sur le gène *cytb* de l'ADNmt des 17 espèces de *Gerbillus* et de *Mus musculus*, en utilisant le modèle Kimura-2 paramètres (Kimura, 1980). On considère généralement que les branches définies par une valeur de "Bootstrap" supérieure à 50% sont fiables. Il faut 1000 répliquions de "Bootstrap" pour que cette méthode soit statistiquement valable.

Les arbres phylogénétiques obtenus sont présentés dans la figure 42.

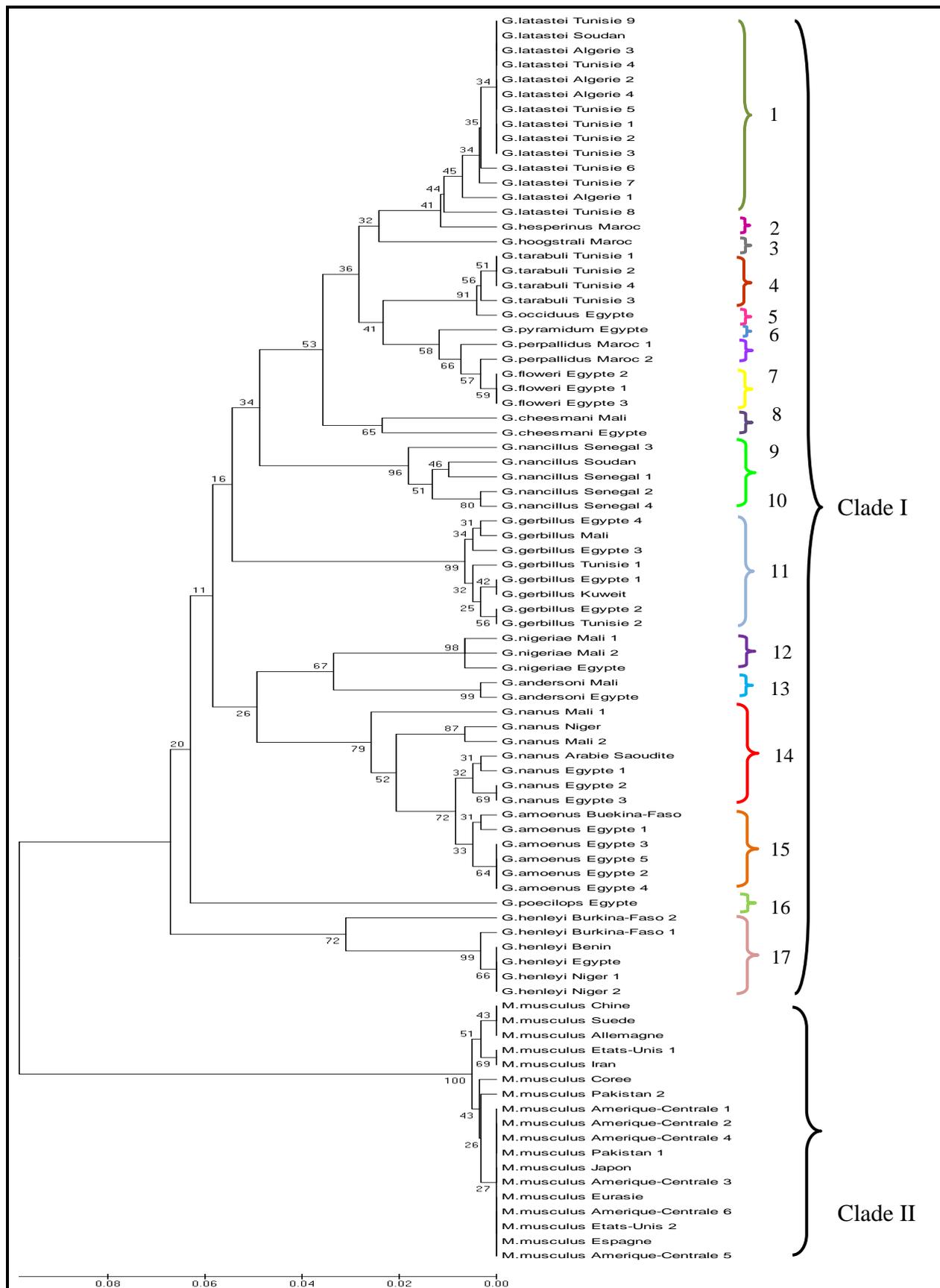


Figure 43 : Arbre phylogénétique des séquences de cyt b des genres *Gerbillus* et *Mus musculus* basée sur 85 en utilisant la méthode UPGMA par logiciel MEGA5.

D'après l'arbre, les séquences de cyt b se divisent en 2 clades principaux :

Clade I : Il comprend toutes les séquences de cytb de genre *Gerbillus* : *G. poecilops*; *G. henleyi*; *G. occiduus*; *G. gerbillus*; *G. nanus* ; *G. amoenus* ; *G. andersoni* ; *G. cheesmani* ; *G. floweri* ; *G. latastei* ; *G. nancillus* ; *G. nigeriae* ; *G. perpallidus* ; *G. pyramidum* ; *G. tarabuli* ; *G. hoogstrali* et *G. hosperinus*.

Ce clade est subdivisé en 17 sous-clades selon les espèces que nous avons étudié de genre *Gerbillus*.

Clade II : Il comprend les séquences de cyt b de *Mus musculus*.

III. 2. DISCUSSION :

Notre étude a été réalisé sur l'appareil reproducteur mâle chez deux espèces : *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus* dans pour but de faire une comparaison sur le plan histologique, morphométrique et phylogénétique. Nous allons discuter nos résultats et faire une comparaison avec ceux des autres auteurs.

III.2.1. Etudehisto-morphométrique :

III.2.1.1. Testicule :

L'observation des coupes histologiques de la structure du testicule au microscope photonique Gx100 coloré par hémalin-éosine présente le même aspect général d'une coupe histologique chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus*, en parallèle nos résultats sont similaires à ceux de **Belhoucine(2008)**. Chez le mérion qui est une espèce nocturne et cohabite avec la gerbille mais sont différent selon l'aulacode qui montre que le parenchyme contient 10 à 12 tubes séminifères par lobule par contre chez nos espèces il ne contient que 2à 4 tubes séminifères décrits aussi par **Lebas (1996)**. Nos résultats qui montrent que l'épithélium séminifère est de type pluristratifié avec plusieurs cellules germinales à différents stades d'évolution sont similaire à la description de **Beaumont et Cassier (1998) et Welsch (2002)**.

Chez les souris les cellules basales à noyau densément coloré seront des spermatogonies de type A ; celles à noyau plus pâle et au cytoplasme abondant seront appelé spermatogonie de type B ; les cellules à noyau ovale seront des cellules de Leydig, les cellules à noyau dense plus proche de la lumière seront des spermatides qui, une fois dans la lumière du tube séminifère, se transformeront en spermatozoïdes ; les spermatogonies sont plus concentrées dans les tubes séminifères des souris étudiées(**Maekawa, 1996**) et les résultats sont similaires

chez *Gerbillus tarabuli* alors que dans ceux d'aulacode, ils sont dispersés ; la taille des testicules de nos espèces est identique par contre chez l'aulacode elle est plus grande.

Nos résultats chez *Mus musculus* sont similaires de ceux de **Sebbagh, (1983)** qui décrit que chez l'aulacode un nombre réduit de spermatozoïdes présent dans la lumière des tubes séminifères, de l'épididyme et des canaux déférents, ce qui est le cas aussi chez le lapin (**Grasse, 1969 ; Sebbagh, 1983**), par contre chez *Gerbillus tarabuli* nous avons constaté un nombre important de spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères

III.2.1.2. Epididyme :

L'observation des coupe histologique au microscope photonique Gx100 au niveau épидидyme par coloration bleu alcain .coloré en vert qui a mes en évidence le tissu conjonctif

Notre analyse histomorphométrique montre que nos espèces représentent la même structure anatomique de l'épididyme chez *Gerbillustarabuli* et *Mus musculus*, mais on a remarqué une particularité sur le plan histologie, l'épithélium d'épididyme chez *Gerbillus tarabuli* est volumineux par apport au *Mus musculus*. La différence s'observe dans leur étude morphométrique, on trouve que la hauteur de cellule épithéliale chez *Mus musculus* est de $(28,9 \pm 0,7 \mu\text{m})$, elle est grande par apport au *Gerbillus tarabuli* $(13,7 \pm 0,4)$. Ces résultats sont similaires à ceux de **Adebayo et Olurode (2010)**. Pour ces deux auteurs, l'épididyme de l'aulacode présente une structure histologique similaire à celui du rat de Gambie (*Cricetomys gambiensis*) et différent de ceux du lapin, nos résultats morphométrique de l'épididymes sont similaires de ceux observés chez la chauve-souris, le diamètre canalaire de chaque région de l'épididyme a été obtenu en mesurant aléatoirement des canaux coupes transversales, aussi circulaires que possible, par animal. Ces sections ont également été utilisé pour mesurer le diamètre lumineuse et la hauteur de l'épithélium (**Castro et al., 2017**) chez la chauve souris, la proportion volumétrique de composants épидидymaires (épithélium, lumière interstitium) dans chaque région a été obtenu en comptant 2660 points projetés sur 10 images, capturées en histologie diapositives par animal. Cet auteur a obtenu des résultats différents des nôtres, nos résultats sont similaires à **Menad (2014)** chez le rat des sables (*Psammomys obesus*) espèce diurne cohabitant avec *Gerbillus tarabuli*, l'épididyme est constitué de plusieurs sections contenant des spermatozoïdes entourés de tissu conjonctif intertubulaire composé de fibres conjonctives dispersées, le tube est entouré d'une mince couche de tissu musculaire lisse avec un épithélium pseudostratifié adhérent composé principalement de cellules principales $(19,7 \pm 0,5 \mu\text{m}$ de hauteur) avec des microvillosités. Cet

épithélium comprenait également des cellules basales, des cellules apicales, des cellules claires et des cellules halo. Cependant, les cellules principales étaient les plus nombreuses et occupaient presque tout l'épithélium. Les cellules basales, caractérisées par un noyau ovoïde dense, distribuées de manière discontinue et irrégulière (**Menad, 2014**).

III.1.3. Vésicule séminale :

L'observation des coupes histologiques de la structure du testicule au microscope photonique Gx40 coloré par hémalin-éosine et bleu alcain au niveau des vésicule séminale. Glande fondamental dans la reproduction (**Thibault et Levasseur, 2001**). La morphologie des vésicules séminales varie selon les espèces. Chez l'homme, le cheval et le rat, elles sont de forme sacculaire ; chez le porc et le taureau, elles sont compactes multilobulées(**Badia et al., 2006**), et chez certains rongeurs elles présentent une structure tubulaire ramifiée (**Mollineau et al., 2009**). Chez les chats, les marsupiaux, les cétacés et certains primates insectivores, les vésicules séminales sont absentes(**Setchell et al.,1994;Strzezek et al., 2000**).Chez les gerbilles sahariennes, les vésicules séminales sont paires et de forme tortueuse telle qu'observée chez tous les rongeurs. La structure des vésicules séminales de *Gerbillus tarabuli* est particulièrement développée avec une paroi fibromusculaire peu épaisse, et un compartiment épithélial très étendu formant de nombreux replis convergeant à l'intérieur d'une lumière large et rempli d'une sécrétion très abondante. Nos résultats vont dans le même sens de ceux de **Khaddache(2018)** chez la même espèce et différente de celle retrouvée chez *Mus musculus* où nous avons remarqué que la vésicule séminale est moins développée avec une paroi fibromusculaire fine, présentant une lumière réduite avec une faible sécrétion .

Les mêmes constatations que ceux de la gerbille *Gerbillus tarabuli* ont été observés chez la petite gerbille (*Gerbillus gerbillus*), le rat des sables (*Psammomys obesus*) (**Gernigon-Spychalowicz, 1992**) et du mérion (*Meriones crassus* et *Meriones libycus*) (**Belhocine et al., 1998 et 2008**).

La vésicule séminale chez *Mus musculus* est similaire à l'aulacode et le lapin qui est de type tubulo-alvéolaire, elle a une paroi mince constituée principalement de tissu conjonctif lâche ce qui est en accord avec les résultats d'Adoumbene(1996) et d'Adebayo (2009).

III.2.1.3. Prostate :

L'observation des coupes histologiques de la prostate au microscope photonique Gx40 coloré par trois coloration hémalum éosine et bleu alcian, rouge congo. Nos avons effectué l'étude de la prostate de *Mus musculus* seulement car nous n'avons pas pu avoir de belles coupes histologique interprétable pour *Gerbillus tarabuli* donc on va faire une comparaison entre nos résultat et ceux de **Khaddache(2018)**.

Chez la gerbille, *Gerbillus tarabuli*, le complexe prostatique est formé de quatre lobes pairs attachés à l'urètre antérieur. Selon la disposition des lobes prostatiques par rapport à la vessie et à l'urètre, on distingue quatre types de lobes : lobes antérieurs (ALs), lobes ventraux (VLs), lobes dorsaux (DLs) et lobes dorsolatéraux (DLLs). La glande prostatique se présente sous la forme d'une structure multilobée, entourant l'urètre à la base de la vessie chez tous les rongeurs étudiés à ce jour, une organisation anatomique similaire à la gerbille a été observée chez tous les rongeurs sahariens nocturnes *Meriones sylvicus*, *Meriones crassus*, *Gerbillus gerbillus* et *Gerbillus nanus*. Une description identique est donnée par **Rochel et al., (2007)** sur le complexe prostatique de la gerbille de Mongolie (*Meriones unguiculatus*), gerbille du genre *Meriones*.

III.2.2 .Etude phylogénique :

Notre arbre phylogénétique a été divisé en 2 clades principaux selon l'origine géographique et les tailles des séquences que nous avons pris.

La position de *G. tarabuli* est proche de *G. occidus*, d'après notre arbre, les espèces *G. tarabuli* et *G. occidus* apparaissent comme deux espèces sœurs ces résultats sont similaires à ceux de **Ndiaye (2012)**.

Les espèces de genre *Gerbillus* sont appariées dans le même clade (**Clade I**), ces résultats sont identiques aux résultats de **Chevret et Dobigny (2005)** qui ont estimés dans leur étude que l'apparition du genre *Gerbillus* s'est produite entre le Miocène tardif et le Pliocène inférieur.

Nous avons trouvé que *G. perpallidus* et *G. pyramidum* forment ensemble un groupe sœur, alors que le groupe des trois espèces : *G. latastei*, *G. hesperinus* et *G. hoogstrali* est un groupe sœur du groupe *G. tarabuli*, *G. occidus*, *G. pyramidum* et *G. perpallidus*, ce qui confirme les

résultats de **Ndiaye (2012)**. Les deux espèces *G. hoogstraliet* *G. hesperinus* sont génétiquement proches de l'espèce *G. latastei* (**Musser et Carleton, 2005**).

Le genre *Gerbillus* (**Musser et Carleton, 2005**), inféodé aux milieux désertiques et subdésertiques du nord de l'Afrique, du Proche et Moyen-Orient, représente l'exemple d'un groupe dont la systématique a été parmi les plus fluctuantes chez les rongeurs : le nombre d'espèces de ce genre ainsi que leur distribution en sous-genres, voir en genres distincts ont beaucoup varié selon les auteurs (**Lay, 1983 ; Pavlinov, 2001 ; Musser et Carleton, 2005**).

Nos résultats indiquent que *Mus musculus* est proche de *G. henlyi*, résultats similaires à ceux de **Robinson (1997)**.

Conclusion

Notre travail portant sur la comparaison entre deux espèces l'une désertique *Gerbillus tarabuli* (Thomas, 1902) capturée dans la région de Béni Abbès (30°07' lat. N., 2°10' long. O. ; altitude (495m ; Wilaya de Béchar), et l'autre une souris de laboratoire *Mus musculus*. Nous avons comparé sur le plan histologique et morphométrique l'appareil reproducteur mâle chez ces deux espèces et nous avons étudié le positionnement de ces deux espèces dans un arbre phylogénétique, ainsi nous pouvons conclure :

Sur le plan histologique et morphométrique : le testicule une similitude d'aspect anatomique et structurale de l'organisation des tubes séminifères chez les deux espèces ; la différence s'observe dans le rapprochement de ces tubes de façon anarchique et une lumière réduite et peu de spermatozoïdes chez *Mus musculus* par rapport à *Gerbillus tarabuli*. Ces tubes séminifères sont plus volumineux chez *Gerbillus tarabuli*.

L'épididyme une similitude d'aspect anatomique et structurale de l'organisation des canaux épидидymaires chez les deux espèces. Les lobules de l'épididyme sont volumineux présentant un épithélium fin avec une lumière large et pleine des spermatozoïdes, avec la présence d'un tissu conjonctif, chez *Gerbillus tarabuli* alors qu'il est petit et épais avec une lumière réduite et un peu de spermatozoïdes chez *Mus musculus*.

Les vésicules séminales sont développées avec une paroi fibromusculaire peu épaisse et une sécrétion très abondante chez *Gerbillus tarabuli*, alors qu'elles sont moins développées, avec une paroi fibromusculaire fine, et présence d'une lumière réduite ainsi qu'une faible sécrétion chez *Mus musculus*.

Sur le plan phylogénétique : Pour la reconstruction des relations phylogénétiques du genre *Gerbillus*, nous avons :

- ✚ Tenté de résoudre (au moins en partie) les nombreuses controverses liées à la subdivision en espèces de ce genre par rapport au *Mus musculus*.
- ✚ Trouver les caractéristiques des espèces les plus proches d'une part à notre modèle d'étude *Gerbillus tarabuli* et à *Mus musculus* et d'autre part trouver les espèces sœurs (cas de complexe : (*G. nanus* / *G. amoenus*) ; (*G. pyramidum* / *G. floweri* / *G. perpallidus*) et (*Mus musculus* / *G. henlyi*)).

- ✚ Nous avons trouvé que *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus* sont éloignées.
- ✚ Démontrer la présence de deux principaux clades génétiques le premier contient toutes les espèces de genre *Gerbillus* et le deuxième clade contient *Mus musculus*.

- **Adoumbene J.1991.**l'appareil reproducteur mâle de l'aulacode (*Thryonomys swinderianus*, **Temminck, 1827**) étude anatomo-histologique.- *Thèse : Méd. Vêt : Dakar*; 22.
- **Alkarim, C.E, lAssouliS.AliS.AyuobN and El Assouli Z., 2015.**Effects of low dose acrylamide on the rat reproductive organs structure, fertility and gene integrity. *Asian Pacific*.
- **Aulagnier S. Thévenot M., 1986.** Catalogue des Mammifères sauvages du Maroc. *Travaux de l'Institut Scientifique, Série zool.*, **41:1-164.**
- **Beaumont A. and Cassier P., 1998.** Travaux pratiques de biologie animale. *Eds Dunod P: 101-115.*
- **Belhocine M., 1998.** Étude histologique et cytologique de l'appareil reproducteur mâle d'un rongeur saharien nocturne, le mérion de Libye (*Meriones libycus*) et de l'espèce sympatrique, le mérion de désert (*Meriones crassus*). *Thèse de Magister, I.S.N., U.S.T.H.B., Alger, 175p.*
- **Belhocine M. Robert A.M. Schevaert D. Khammar F. Exbrayat J.M.Benazzoug Y. et Gernigon-Spychalowicz T.H., 2006.** Étude histologique morphométrique et immunohistochimique des vésicules séminales du mérion de Libye (*Meriones libycus*).*Société d'Histoire Naturelle d'Afrique du Nord, 73 : 141-155.,*
- **Castro M. Mariana M. Mariella B., 2017.** Dietary Exposure to Tebuconazole Affects Testicular and Epididymal Histomorphometry in Frugivorous Bats.
- **Chevret P. and Dobigny G., 2005.**Systematics and evolution of the subfamily Gerbillinae (Mammalia, Rodentia, Muridae), *Mol. Phylogenet.Evol.*,
- **Collins A.T. Habib F.K. Maitland N.J. and Neal D.E., 2001.** Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on alpha (2) beta (1)-integrin expression. *J. CellSci.*, **114, 3865–3872.**
- **Dadoune J.P; Démolin A., 1991.** Structura et fonction du testicule. In la reproduction chez les Mammifère.
- **Dekar A. and Benjelloul M., 2002.** The pin ealgl and of the Gerbil: *Gerbillus pyramidum* ultra structural study of long and short photoperiods. *Congrès: Journées annuelles de la Société zoologique de France, Le Havre., 127(2): 103-119.* Mammifère et l'homme. pp.221-250.Ellipses.

- **De Rooiji-DG.** Proliferation and differentiation of spermatogonial stem cells reproduction **2001**, 121,347-54.
- **Dobigny G., Granjon L., Aniskin V., Bâ K. and Volobouev V., 2003.** A new sibling species of *Taterillus* (Muridae, Gerbillinae) from West Africa. *Mammalia Biology.*, 68: 299-316.
- **Duplantier, J. M., Granjon, L. & Ba K. 1991.** Découverte de trois espèces de rongeurs nouvelles pour le Sénégal: un indicateur supplémentaire de la désertification dans le nord du pays. *Mammalia*, 55: 313-315.
- **Dym.M, Faweett D.W., 1971.** Further observation on the number of spermatogonie spermatocyte and spermatids connected by intercellular bridges in the mammalian testis bio reprod 4,195-215.
- **Dym M., 1994.** Spermatogonie stem cells of the testis. *Proc Natl Acadsci* **91**, 11287-11289. **Galan M., Pagès M., Cosson J. F., 2012.** Next-Generation Sequencing for Rodent Barcoding: Species Identification from Fresh, Degraded and Environmental Samples. *Plos One*, **7**: 48374, doi: 10.1371/japans.
- **Gernigon - Spychalowicz T.H., 1992.** Étude cytologique et biochimique des variations saisonnières de l'appareil génital mâle d'un rongeur saharien diurne, le rat des sables (*Psammomysobesus*). *Thèse Doctorat d'Etat, I.S.N., U.S.T.H.B., Alger.180p.*
- **Grasse. P.P., 1969.** Traité de Zoologie : Tome 17, Fasc 6 : Mamelles, Appareil génital, Gamétogenèse, Fécondation, Gestation.- *Paris : Masson et Cie.1156 p.*
- **Granjon L., Bruderer C., Cosson J. F., Dia, A. T. et Colas F., 1992.** In press - The small mammal community of a coastal site of South West Mauritania. *African J. Ecole.*
- **Granjon L., Cosson J. F., Cuisin J., Tranier, M. et Colas F. 1997.** Les Mammifères du littoral mauritanien, 2. Biogéographie et écologie. *In : Environnement et littoral mauritanien (ed.F. Colas). CIRAD (Collection Colloques), Montpellier, France. pp.73*
- **Granjon L., Bonnet A., Hamdine W. et Volobouev V. 1999.** Reevaluation of the taxonomic status of North African gerbils usually referred to as *Gerbillus pyramidum* (*Gerbillinae, Rodentia*): Chromosomal and biometrical data. *Z. Säugetier kunde*, **64**: 298-307.

- **Granjon L., Dobigny G., 2003.**The importance of cytotaxonomy in understanding the biogeography of African rodents: Lake Chad murids as an example. *Mammal Review*, **33**: 77–91.
- **Granjon L., et Duplantier J. M., 2009.** les rongeurs de l’Afrique sahélo-soudanienne : institut de recherche pour le développement Publication scientifiques du Muséum, collection faune et flore tropicales 43 Marseille.
- **Granjon L., Colangelo P., Tatard C., Colyn M., Dobigny G and Nicolas V., 2012.** Intrageneric relationships within *Gerbillus* (Rodentia, Muridae, Gerbillinae), with characterization of an additional West African species, *Zootaxa*, **3325**: 1–25.
- **Hajibabaei M., Alex S.M., Janzen D.H., Rodriguez J.J., Whitfield J.B., Hebert Paul D.N., 2006.**A minimal barcode can identify a specimen whose DNA is degraded. *Molecular Ecology*.**6**:959–964.*doi: 10.1111/j.1471-8286.2006.01470.*
- **Hess R.A, Franca L.R., 2008.**Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium.*AdvMoodBiol* **636**, 1-15.
- **Jesik C.J. Holland J.M. and Lee C., 1982.** Anatomic and histologic study of the rat. Prostate: **3(1)**:81-97.
- **Jourdan H., 2006.** Méthode comparative: Evolution d’une méthode vers un noeud interdisciplinaire. *Thèse doctorat, University of British Columbia.*
- **Keddache A., 2018** Variations Morphophysiologiques Saisonnières des Glandes Annexes (Prostate et Vésicules Sémiales) chez un Rongeur Saharien, *Gerbillus tarabuli Journal of Reproduction*; **4(3)**: 179–187.
- **Kimura M., 1980.** A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.*, **16**: 111–120.
- **Klein, J. M., Poulet, A. R., and Simonkovich E., 1975.**Observations écologiques dans une zone enzootique de peste en Mauritanie. 1. Les rongeurs, et en particulier *Gerbillus gerbillus* Olivier, 1801(Rodentia, Gerbillinae).*Cahiers de l'ORSTOM, Série Entomo. Médic. et Parasito.*, **13**: 13-28.
- **Lay D. M., 1983.** Taxonomy of the genus *Gerbillus* (Rodentia: Gerbillinae) with comments on the applications of generic and subgeneric names and an annotated list of species. *Z.Säugetierkunde*.

- **Lebas F., 1996.** Document Cuniculture : Biologie des lapins. Recherche INRA. [En ligne]. Accès internet : www.cuniculture.info/Docs/.../biologie-01.htm (page consulté le 10/06/2010).
- **Le Berre M., 1990.** Faune du Sahara. Tome 2 : Mammifères . *Le chevalier. Paris.* Pp 360.
- **Marker P.C., Donjacour A.A. Dahiya R. and Cunha G.R., 2003.** Hormonal, cellular, and molecular control of prostatic development. *Dev Biol* **253(2): 165-174. *athan, Paris: 9-31.***
- **Menad R. Smaï S. Moudilou E. Khammar F. Exbrayat J.M. and Gernigon-Spychalowicz T., 2014.** Immunolocalization of estrogen and androgen receptors in the caput epididymidis of the fat sand rat (*Psammomys obesus*): Effects of seasonal variations, castration and efferent duct ligation. *Acta Histochem.* **116(4):559-69.**
- **Mollineau W.M. Adogwa A.O. and Garcia G.W., 2009.** The gross and micro anatomy of the accessory sex glands of the male agouti (*Dasy proctaleporina*). *Anat Histol Embryol*, **38:204–207.**
- **Muller Y. at Clos J., 1997.** La reproduction (Gonades, gamètes et fécondation). *Paris : Masson et Cie.*
- **Musser G. G. and Carleton M. D., 2005.** Super family muridea. In D.E.wilson et D. M. reeder (Eds) Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference, Vols. 1 and 2. Baltimore, MD: *John Hopkins University Press*, **894–1531.**
- **Ndiaye A., Bâ K., Aniskin V., Benazzou T., Chevret P., Konecny A., Sembene M., Tatard C., Kergoat G. J. and Granjon L., 2012.** Evolutionary systematics and biogeography of endemic gerbils (Rodentia, Muridae) from Morocco: an integrative approach. *Zoolo.Scripta.*
- **Ndiaye A., Shanas U., Chevret P., and Granjon L., 2013.** Molecular variation and chromosomal stability within *Gerbillus nanus* (Rodentia, Gerbillinae): taxonomic and biogeographic implications. *Mammalia.*, **77: 105-111.**
- **Ndiaye A., Hima k., Dobigny G., Sow A., Dalecky A., Bâ K., Thiam M., Granjon L., 2014.** Integrative taxonomy of a poorly known Sahelian rodent, *Gerbillus nancillus*

(*Muridae, Gerbillinae*), *Zoologis Cher Anzeiger-A Journal of Comparative Zoology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcz.2014.03.004>.

- **Olurode S.A. et Adebayo A.O, 2010.** The morphology and morphometry of the epididymis in the greater cane rat (*Thryonomys swinderianus* **Temminck., 1827**). [EnLigne]. Accès internet www.fm.viamedica.pl/darmowy_pdf.phtml?indeks=54&indeks_art (Consulté le 05 Mars 2011).
- **Parmesan C., 1996.** Climate and Species' range. *Nature.*, **382: 499-511.**
- **Pavlinov I. J. A., 2001.** Current concepts of *Gerbillids phylogeny* and classification. In: African small mammals (C. Denys, L. Granjon, and A. Poulet, Eds.). *IRD Éditions, Coll. Colloq. Sémin.*, Paris.
- **Petter F., 1961** -Répartition géographique et écologie des Rongeurs désertiques (du Sahara occidental à l'Iran oriental). *Mammalia*25 (N° spécial): **1-222.**
- **Petter F., 1975.** Preliminary identification Manual for African mammals, Chapitre 17 Rodentia: Gerbillinae. *Smithsonian Institution, Washington.*
- **Petter F., 1968.** Rodentia: Gerbillinae (excluding the genera *Tatera* and *Gerbillurus*). In: Meester J. (Ed.), Preliminary identification manual for African mammals. *Smithsonian Institution, Washington.*
- **Robinson M., Catzeflis F., Briolay J., Mouchiroud D., 1997.** Molecular Phylogeny of Rodents, with Special Emphasis on Murids: Evidence from Nuclear Gene LCAT, **423–434.**
- **Rochel S.S. Bruni-Cardoso A. Taboga S.R. Vilamaior P.S.L. and Goes R.M., 2007.** Lobe identity in the Mongolian Gerbil prostatic complex: a new rodent model for prostate study. *Anat. Rec.* 290 (10): **1233-1247.**
- **Sebbagh M., 1983.** Etude de la sexualité et de la reproduction du lapin domestique (*Oryctolagus cuniculus*) à des températures élevées en corrélation avec la régulation thermique, le comportement alimentaire et le fonctionnement thyroïdien et surrénalien en période d'adaptation au stress thermique. *Thèse : Médevét : Dakar ; 33.*
- **Setchel B.P. Maddocks S. and Brooks DE., 1994** Anatomy, vasculature, innervations, and fluids of the male reproductive tract. In: Knobil E, Neill JD, editors. The physiology of reproduction. *New York: Raven Press.* p **1063–1175.**
- **Setzer, Henry W., 1956.** Mammals of the Anglo-Egyptian Sudan. *Smithsonian Institution, United States National Museum, Washington, DC.*

- **Thibault C. and Levasseur M.C., 2001.** La reproduction chez les Mammifères et l'homme. *Eds Ellipses Marketing s.a:* **290-315.**
- **Wang Y. Hayward S. Cao M. Thayer K. and Cunha G., 2001.** Cell differentiation lineage in the prostate. *Différentiation*, **68**, 270–279.
- **Welche U, 2002.** Précis d'histologie. Cytologie, Histologie, Anatomie Microscopique.- Tournai (Belgique) : *éd Médicales internationales.- 260 p.*

ANNEXE I

FICHE TECHNIQUE N°1: DÉSHYDRATATION

<i>N°</i>	<i>Degré des bains d'alcool</i>	<i>Durée</i>
1	Bain d'alcool 70°	1H
2	Bain d'alcool 80°	1H
3	Bain d'alcool 96°	1H
4	Bain d'alcool 96°	1H
	Bain d'alcool 96°	1H
	Bain d'alcool 96°	1H

FICHE TECHNIQUE N°2: ECLAIRCISSEMENT

<i>N°</i>		<i>Durée</i>
1	Bain de Xylène	1H
2	Bain de Xylène	1H
3	Bain de Xylène	1H

FICHE TECHNIQUE N°3 : PENETRARTION DES PIECES PAR PARAFFINAGE

<i>N°</i>		<i>Durée</i>
1	Bain de paraffine	1H
2	Bain de paraffine	1H

FICHE TECHNIQUE N°4 : COLORATION HEMATOXYLINE-EOSINE :

A) Hématoxyline :

✚ Solution A

Hématoxyline	5 g
Alcool 95°	50 ml

✚ Solution B

Alun de potasse	25 g
Eau ordinaire	50 ml

B) Eosine Y :

Eosine Y aqueuse à 3%	10 ml
Alcool à 95%	125 ml
Acide acétique glacial	2 gouttes

PREPARATION :

❖ Hématoxyline :

- ✓ Dissoudre les deux solutions A et B à chaud.
- ✓ Verser A dans B.
- ✓ Conserver en flacon bouché.
- ✓ La solution obtenue est violette foncée utilisable le lendemain.

❖ **Eosine :**

- ✓ Mélanger tous les réactifs, vous obtenez une solution de couleur rouge.

MODE D'EMPLOI :

- ✓ Colorer pendant 5 mn par l' hématoxyline.
- ✓ Rincer à l'eau distillée pendant 2 à 3 mn.
- ✓ Laver à l'eau du robinet pendant 2 à 3 mn.
- ✓ Colorer pendant 5 mn à l'éosine Y.
- ✓ Rincer à l'eau courante.
- ✓ Poursuivre par les opérations de déshydratation.

RESULTATS :

- ✓ Noyaux en bleu violet.
- ✓ Cytoplasme en rose.
- ✓ Les fibres de collagène en rose virant vers l'orange.

FICHE TECHNIQUE N°5 : COLORATION ROUGE CONGO

REACTIFS :

- ❖ Hématoxyline de Groat.
- ❖ Le Rouge Congo.

MODE D'EMPLOI :

Hydratation	Durée
3 bains xylène	20 min
3 bains d'alcool	Passage
L'eau	Rinçage

Coloration	Durée
Le Rouge Congo	30 min
L'eau	10 min
Colorer par Hématoxyline de Goat	1 min
L'eau	Rinçage

Déshydratation	Durée
3 bains d'alcool	Passage
3 bains xylène	Passage

- Monter à l'Eukit.

RESULTATS :

Amylose rouge (biréfringence en lumière polarisée) Fibres rouges (équivalent d'une réticuline) Polynucléaires éosinophiles rouges. Nécessaire

FICHE TECHNIQUE N°6 : COLORATION BLEU D'ALCIAN

REACTIFS :

- ❖ Réactif A : Bleu alcian.
- ❖ Réactif B : Carbonet de sodium.
- ❖ Réactif C : Coleman.

MODE D'EMPLOI :

Hydratation	Durée
2 bains xylène	15 min
3 bains d'alcool	Passage (15 min) (100° ;90°;80°)
2 bains de l'eau distillée	6 min

Coloration	Durée
10gouttes de réactif A	10 min
10 gouttes de réactif B	10min
L'eau distillée	Rinçage
10gouttes de réactif C	10 Min
L'eau distillée	Rinçage

Hydratation	Durée
3 bains d'alcool	Passage (15 min) (80° ; 90°;100°)
3 bains xylène	15 min

- Monter à l'Eukit.

RESULTATS :

Les mucosubstances acides deviennent bleues sur fond rosé.

MATERIEL NECESSAIRE POUR LA METHODE HISTOLOGIQUE



Automate de marque LEIKA



Appareil de l'enrobage



Plaque de refroidissement



Appareil de l'enrobage



Microtome de marque LEIKA



Bain marine de marque SLEE



**Automate de coloration HE de
marque SLEE**



**Étuve de Séchage à 58° de marque
Binder**



La haute de montage



Cassette en plastique



Moule de métal



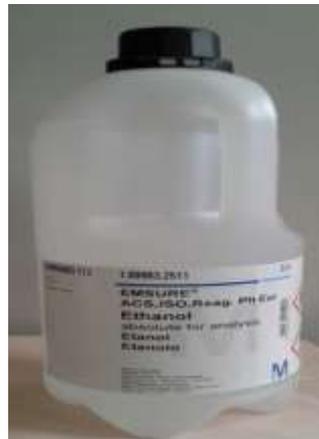
Coloration topographique au Rouge congo



Eukit



Paraffine solide



Alcool Éthanol



Xylène

Annex II

Tableau IV : Variation morphométrique tissulaire du tubes séminifères (surface) chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus* :

	S	D	d	p
<i>Mus musculus</i>	25706±1030	194,0±5,5	187,9±5,2	615,6±14,6
<i>Gerbillus tarabuli</i>	32364±1308	221,3±6,5	192,3±4,7	677,6±17,1

Tableau V : Variation morphométrique tissulaire du tubes séminifères (lumière) chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus* :

	S	D	d	P
<i>Mus musculus</i>	3928±285	79,6±4,0	74,5±3,1	252,0±10,3
<i>Gerbillus tarabuli</i>	7671±552	109,7±4,7	93,5±3,9	335,3±13,5

Tableau VI : Variation morphométrique de la surface des épидидymes chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus* :

	S	D	d	P
<i>Mus musculus</i>	8247±362	105,1±2,8	105,0±2,8	339,3±9,0
<i>Gerbillus tarabuli</i>	22649±1337	164,2±5,4	164,5±6,1	539,3±18,2

Tableau VII : Variation morphométrique de la lumière des épидидymes chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus* :

	Surface	D	d	P
<i>Mus musculus</i>	1731±110	47,8±2,0	49,6±2,3	159,1±6,4
<i>Gerbillus tarabuli</i>	11704±1000	110,34±5,6	111,3±6,0	366,4±18,7

Tableau VIII : La variation morphométrique de la hauteur de l'épithélium des épидидymes et la hauteur supra noyau des épидидymes chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus* :

	Hauteur d'épithélium	Hauteur supra noyau
<i>Mus musculus</i>	21,8±0,7	28,9±0,7
<i>Gerbillus tarabuli</i>	10,9±0,6	13,7±0,4

Tableau IX : Variation testiculaire, chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus*. Différences en pourcentage et signification statistique des différences :

	M1	M2	différence en%	p
S vs. GT S	25705,74	32364,34	25,9032	0,000076
D vs. GT D	194,02	221,30	14,0590	0,001482
d vs. GT d	187,90	192,25	2,3166	0,534467
p vs. GT P	615,64	677,63	10,0691	0,006008

Tableau X : Variation de la lumière des testicules chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus*. Différences en pourcentage et signification statistique des différences :

	M1	M2	différence en%	p
Mm vs. GT S	3927,573	7671,078	95,31345	0,000000

Tableau XI : Variation de la surface des épидидymes, chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus*. Différences en pourcentage et signification statistique des différences :

	M1	M2	différence en%	p
Mm vs. GT S	8246,912	22648,57	174,63088	0,000000

Tableau XII : Variation de la lumière des épидидymes, chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus*. Différences en pourcentage et signification statistique des différences :

	M1	M2	différence en%	p
Mm s vs Gt S	1730,941	11704,14	576,1719	0,000000

Tableau XIII : La variation de la hauteur de l'épithélium des épидидymes chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus* :

	M1	M2	différence en%	p
Mm vs Gt	28,89100	13,66933	-52,68653	0,00

Tableau IVX : La variation de la hauteur supra noyau des épидидymes chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus* :

	M1	M2	différence en%	p
Mm vs Gt	21,82183	10,89000	-50,09585	0,000000

Tableau XV : Liste des séquences d'ADN trouvées dans la GenBank pour l'étude phylogénétique (code, nombre de base et leur origine géographique) chez *Gerbillus tarabuli* et *Mus musculus* :

Espèces	Pays	Pb	Code
<i>Gerbillus amoenus</i>	Egypte	942	KX786153.1
	Egypte	238	KT721325.1
	Egypte	237	KT721324.1
	Egypte	228	KT721322.1
	Egypte	236	KT721323.1
	Burkina-Faso	1140	KM236112.1
<i>Gerbillus andersoni</i>	Mali	1140	KF496286.1
	Egypte	942	KX792467.1
<i>Gerbillus cheesmani</i>	Mali	1140	KM236118.1
	Egypte	1115	LN606676.1
<i>Gerbillus floweri</i>	Egypte	225	KT721349.1
	Egypte	229	KT721347.1
	Egypte	226	KT721348.1
<i>Gerbillus gerbillus</i>	Kuweit	1121	KR089023.1
	Tunisie	1071	GU356564.1
	Tunisie	1006	GU356563.1
	Mali	1140	AJ851269.1
	Egypte	228	KT721334.1
	Egypte	226	KT721332.1
	Egypte	220	KT721331.1
	Egypte	942	KX792476.1
	Egypte	1115	LN606682.1
	Bénin	831	JF704121.1
	Burkina Faso	1132	KF496236.1
	Burkina Faso	1140	KF496227.1
	Niger	1114	KF496226.1
	Niger	1113	KF496225.1
<i>Gerbillus hesperinus</i>	Maroc	1140	JN652803.1
<i>Gerbillus hoogstrali</i>	Maroc	1140	JN021412.1
<i>Gerbillus latastei</i>	Tunisie	1111	GU356562.1
	Tunisie	1106	GU356561.1
	Tunisie	1076	GU356560.1
	Tunisie	1131	GU356559.1
	Tunisie	1038	GU356558.1
	Tunisie	1055	GU356557.1
	Tunisie	1130	GU356556.1
	Tunisie	1140	GU356554.1
	Tunisie	1119	GU356553.1
	Tunisie	1130	GU356552.1
	Soudan	1115	LN606683.1
	Algérie	903	KC866587.1
	Algérie	912	KC866586.1

	Algérie	885	KC866585.1
	Algérie	539	KC866584.1
<i>Gerbillus nancillus</i>	Soudan	1140	KF496275.1
	Sénégal	1119	KF496273.1
	Sénégal	1115	KF496254.1
	Sénégal	1127	KF496249.1
	Sénégal	1122	KF496264.1
	<i>Gerbillus nanus</i>	Niger	1115
Mali		1140	JQ753061.1
Mali		1130	JQ753051.1
Arabie Saoudite		237	KT721338.1
Egypte		238	KT721337.1
Egypte		228	KT721336.1
Egypte		236	KT721335.1
<i>Gerbillus nigeriae</i>	Mali	1134	AF141226.1
	Mali	1140	KM236138.1
	Egypte	1115	LN606687.1
<i>Gerbillus occiduus</i>	Egypte	1140	LN606689.1
<i>Gerbillus perpallidus</i>	Maroc	239	KT721343.1
	Maroc	1130	JN652806.1
<i>Gerbillus poecilops</i>	Egypte	1115	JQ753064.1
<i>Gerbillus pyramidum</i>	Egypte	1115	LN606690.1
<i>Gerbillus tarabuli</i>	Tunisie	1116	GU356576.1
	Tunisie	1097	GU356575.1
	Tunisie	1103	GU356574.1
	Tunisie	1140	GU356573.1
<i>Mus musculus</i>	Pakistan	868	KX790793.1
	Japon	775	AB451020.1
	Eurasie	1140	AB820918.1
	Etats Unis	1134	KF839611.1
	Iran	495	HM222981.1
	Chine	1143	KC735128.1
	Espagne	1128	JX457715.1
	Etats Unis	1146	HM222709.1
	Amérique centrale	700	KJ526421.1
	Amérique Centrale	682	KJ526420.1
	Amérique Centrale	684	KJ526416.1
	Amérique Centrale	670	KJ526414.1
	Amérique Centrale	727	KJ526411.1
	Amérique Centrale	702	KJ526409.1
	Allemagne	702	JF318982.1
	Suède	1123	KF697054.1
	Korea	860	KY418176.1
	Pakistan	920	KY661845.1

