



FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité : biologie et physiologie de la Reproduction

Sujet

Etude histologique comparative entre l'appareil génital mâle de la mangouste « *Herpestes ichneumon* » et du chat « *Félis catus* » et la position de chaque espèce dans l'arbre phylogénétique de l'ordre carnivora

Présenté par :

- GHADBANE Karima

-BOUADEL Amira

Soutenu publiquement le //2018 devant le jury composé de :

Président :	M^{elle} F.Z Kara	Prof	FSNV, USDB1
Promoteur :	M^{me} L. DEROUICHE	MCA	ESSAIA, Alger
Co-Promoteur :	M^{elle} Y. ZATRA	MCA	FSNV, USDB1
Examineur :	Mr M.A Bessaad	MCB	FSNV, USDB1

Promotion 2017-2018

USDB

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier infiniment notre Dieu, le tout puissant, qui nous a donné le courage et la volonté pour la réalisation de ce modeste travail.

Nous teins à remercier vivement ma promotrice M^{elle} DERUICHE, maitre assistante A, à l'université de USTHB pour son aide, sa générosité, sa disponibilité tout au long du travail et son soutien précieux, et pour le temps qu'elle m'a sacrifié.

Notre Co-promotrice Melle 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

Nous sommes très heureuses d'exprimer ici

Nous adresserons également mes vifs remerciements à tous les membres du jury :

Mme KARA F.Z : Professeur, qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider ce jury.

Mr BESSAD M.A : 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.

*Aussi, nous remercions vivement tous les enseignants et les enseignantes du
Département Biologie des Populations et des Organismes qui nous ont enseigné
durant notre cursus universitaire, plus particulièrement Mr. **BESSAAD M.A**
Nos profonds remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont
aidé et soutenu de près ou de loin ...*

*Nous remercions aussi à l'équipe de travail de laboratoire d'anatomo pathologie
de l'hôpital Beni massous.*

Résumé

Notre étude est basée sur la comparaison entre quatre types d'animaux, deux d'entre eux appartiennent à des animaux de compagnie et les deux autres sont des prédateurs. L'objectif de notre travail est de faire une comparaison entre l'appareil génital mâle des 4 espèces étudiées.

Nous nous référons à l'histologie de l'appareil génital mâle et plus précisément à l'histologie des testicules et de l'épididyme, des chats « *félis catus* » ramenés de la clinique vétérinaire TAGASTE de Dely Brahim et clinique vétérinaire de KOUBA., la mangouste « *Herpestes ichneumon* » récupérée morte dans la région de Souk-Ahras, le chien « *canis lupus familiaris* » ramenés de la clinique vétérinaire TAGASTE de Dely Brahim. Et l'autre la genette « *Genetta genetta* » récupérée morte au niveau de parc national de Belezma à Batna. Après l'étude histologique où nous avons utilisé trois colorations, hémalum éosine, trichrome de Masson et rouge congo, nous avons constaté qu'il y a des différences histologiques entre les espèces domestiques et les espèces sauvages au niveau des testicules. Notre travail encore basé sur la morphométrie des tubes séminifères à l'échelle Gx10, pour l'épididyme nous avons choisis l'échelle Gx10, Gx40, les résultats morphométriques ont montré les différences des tailles de la surface et de la lumière entre les 4 espèces, encore la différence de la hauteur de l'épithélium et du supra-noyau.

Enfin, les analyses phylogénétique obtenues dans ce travail ont été élaborées à l'aide de logiciel **MEGA5** pour la reconstruction de l'arbre phylogénétique, avec l'utilisation de différentes méthodes comme UPGMA, Kimura- 2 parameters ; ces analyses appliquée sur 40 séquences de cytochrome b de l'ADN mitochondrial de 4 espèces prises dans différentes régions géographiques. D'après notre arbre, les espèces *canis lupus familiaris* et *Genetta genetta* et *Herpestes ichneumon* sont plus proche les uns des autres, où trouvons-nous *Herpestes ichneumon* près du *Genetta genetta* et *canis lupus familiaris* et ils sont tous dans le clade 2, mais le chat, sa position est loin par rapport aux trois premiers.

Mots clés : *Félis catus*, *Herpestes ichneumon*, histologie, morphométrie, arbre phylogénétique, gène *cytb*.

Summary

Our study is based on the comparison of four types of animals, two of which belong to pets and the other two are predators. The objective of our work is to make a comparison between the male reproductive systems of four species studied.

We refer to the histology of the male genital tract and more specifically to the histology of the testes and epididymis, cat "*Felis catus*" brought from the veterinary clinic TAGASTE Dely Brahim and veterinary clinic KOUBA. The mongoose "*Herpestes ichneumon*" recovered dead in the region of Souk-Ahras, the dog "*canis lupus familiaris*" brought back from the veterinary clinic TAGASTE Dely Brahim. Moreover, genet "*Genetta Genetta*" recovered dead at Belezma National Park in Batna. After the histological study of which we have used three colors, hemalun eosine, Masson's trichrome and Congo red, we found that there are histological differences between the domestic species and the wild species in the testes. Our work still based on the morphometric of the seminiferous tubules at the Gx10 scale, for the epididymis, we chose the Gx10, Gx40 scale, the morphometric results showed the differences of the sizes of the surface and the light between the 4 species, still the difference in the height of the epithelium and supra-nucleus.

Finally, the phylogenetic analyzes obtained in this work were developed using MEGA5 software for the reconstruction of the phylogenetic tree, with the use of different methods like UPGMA, Kimura- 2 parameters; these analyzes applied on 40 cytochrome b sequences of mitochondrial DNA from 4 species taken in different geographical regions. According to our tree, the species *canis lupus familiaris* and *Genetta genetta* and *Herpestes ichneumon* are closer to each other, where do we find *Herpestes ichneumon* near *Genetta genetta* and *canis lupus familiaris* and they are all in clade 2, but the cat, his position is far from the first three

Key words: *Felis catus*, *Herpestes ichneumon*, histology, morphometric, phylogenetic tree, cytb gene.

ملخص

وتستند دراستنا على المقارنة بين أربعة أنواع من الحيوانات، اثنان منها تنتمي إلى الحيوانات الأليفة، والأخران إلى الحيوانات المقتترسة. الهدف من دراستنا هو إجراء مقارنة بين الأنظمة التناسلية الذكرية من الناحية النسيجية وبشكل أكثر تحديدا إلى الأنسجة من الخصيتين والبربخ، القط "Felis catus" جلبت من العيادة البيطرية TAGASTE في دالي براهيم والعيادة البيطرية بالقبة، جلب النمسا «Herpestes ichneumon» ميتا في منطقة سوق اهراس والكلب "canis lupus familiaris" جلب من العيادة البيطرية TAGASTE بدالي براهيم، علاوة على ذلك، انتشل القط البري "genetta genetta" ميتاً من الحضيرة الوطنية بلزمة بباتنة. بعد الدراسة النسيجية التي استخدمنا فيها ثلاثة ملونات، rouge congo، trichrome de Masson، hémalum، eosine، وجدنا أن هناك اختلاف في نسيج الخصيتين بين الحيوانات الأليفة والبرية. ولقد قمنا أيضا بحساب مساحة الأنابيب المنوية في مقياس 10Gx، ومن أجل البربخ، اخترنا مقياس 10Gx، Gx40، أظهرت النتائج المورفومترية اختلافات في المساحة والتجويف بين الأنواع الأربعة، والقرق في ارتعاع الظهارة وارتعاع فوق النواة. وأخيراً، تحليلات النشوء والتطور التي تم الحصول عليها في هذا العمل باستخدام برنامج MEGA.5 لرسم شجرة السلالات، مع استخدام طرق مختلفة مثل UPGMA، و Kimura-2 parameters؛ تطبق هذه التحليلات على 04 تسلسل ب cyt b من الحمض النووي للميتوكوندريا من 0 أنواع مأخوذة في مناطق جغرافية مختلفة. وفقا لشجرتنا، فإن *canis lupus familiaris* و *Genetta genetta* و *Herpestes ichneumon* قريبون لبعضهم البعض، حيث "Herpestes ichneumon" بالقرب من "Genetta genetta" و "canis lupus familiaris" وكلهم نجد

في clade 2، لكن القط، وضعه بعيد عن الثلاثة الأوائل.

الكلمات الرئيسية: *Félis catus*، *herpestes ichneumon*، الأنسجة، morphometric، شجرة السلالات، cyt b الجينات.



Je dédie ce mémoire à

Mes très chers parents

*qui sont toujours dans cœur, qui ont consacré leur vie à
mon éducation et ma réussite, qui m'ont encouragé dans
les moments les plus difficiles de ma vie.*

Que Dieu les garde et les protège pour nous.

Mes sœurs :

NASSIMA, NAWAL, IMANE ET MANAL.

Mes frères :

IBRAHIME ET BILEL.

Fils de mes sœurs :

INASSE, RITADJE et ADEM

Toutes mes amies en particulier :

*KENZA, AMINA, SALMA, ZAHIRA, KHAWLA ET
RANIA.*

*Mon binôme KARIMA à qui je souhaite une vie pleine de
bonheur et de succès.*

*Toutes les étudiantes de l'option Biologie et physiologie
promotion 2017.*

Tous ceux qui m'aiment et que j'aime.





Je dédie ce mémoire à

Ma mère Ismail FATMA

*Qui est toujours dans cœur, qui est consacré leur vie à
mon éducation et ma réussite, qui m'a encouragé dans les
moments les plus difficiles de ma vie.*

Que Dieu les garde et les protège pour nous.

Mes sœurs :

*FADILA, FATIHA, FAIZA, AICHA, CHEMSA,
KHADIDJA et F. ZAHRA.*

Mes frères :

ABOUBAKER, MOHAMED, BILEL ET OMAR,

Fils de mes frères et sœurs :

*AYA, MERJAME, KHADIDJA, SALSABIL, SOMIA,
RIMASE, RAHIL*

Mes amis :

*ASIA, IMANE, HIND, AMINA, KENZA, ZAHIRA,
KHAWLA ET RANIA.*

*Mon binôme AMIRA à qui je souhaite une vie pleine de
bonheur et de succès.*

*Toutes les étudiantes de l'option Biologie et physiologie
promotion 2017.*

Tous ceux qui m'aiment et que j'aime.



Liste des abréviations

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

Listes des figures

<i>Numéro</i>	<i>Titre</i>	Page
Figure 1 :	Chat (<i>félis catus</i>) (Original, 2018).	3
Figure 2 :	Répartition de chat (<i>Félis catus</i>) (Christophe, 2007).	4
Figure 3 :	Mangouste (<i>Herpestes ichneumon</i>).	5
Figure 4 :	Répartition de mangouste « <i>Herpestes ichneumon</i> » (IUCN, 2016).	5
Figure 5 :	Régions anatomiques du corps du chien (Cracken ; Kainer).	6
Figure 6 :	Chien (<i>canis lupus familiaris</i>) (Original).	6
Figure 7 :	Genette (<i>Genetta genetta</i>) (Original).	7
Figure 8 :	Appareil génital mâle (vue latérale gauche, en place) (Barone, 1990).	8
Figure 9 :	Anatomie de testicule (Barone, 2001).	10
Figure 10 :	Ultrastructure d'une portion de tube séminifère (Banks, 1993).	11
Figure 11 :	Pénis du chat, vue dorso-latérale (Getty, 1975).	13
Figure 12 :	Les huit étapes (I à VIII) de formation des spermatozoïdes dans les tubes séminifères (Costa ; Chiarini-garcia ; Morato ; Alvarenga ; França, 2008).	15
Figure 13 :	Exemple d'un arbre phylogénétique.	18
Figure 14 :	Photos représente la capture des images par un appareil photo numérique (HiROCAM, MA88-500, BME lab and Science, St. Paul, USA) connecté à un microscope photonique (Optika B 235, Italie) via le logiciel TS View.	23
Figure 15 :	Méthode de mesure la surface des tubes séminifères par logiciel "Axio Vision 4.6.3.0".	23
Figure 16 :	La page d'accueil de la GenBank.	25
Figure 17 :	Taxonomies des espèces de nos genres « <i>félis (A)</i> , <i>Herpestes(B)</i> , <i>canis (C)</i> , <i>Genetta (D)</i> » obtenues dans la GenBank.	26
Figure 18 :	Les données disponibles sur la GenBank concernant les espèces « <i>Félis catus</i> », « <i>Herpestes ichneumon</i> », « <i>canis lupus familiaris</i> », « <i>Genetta genetta</i> » (nucléotide, protéine, structure, génome.....etc.).	27
Figure 19 :	Exemple d'une séquence nucléotidique au format FASTA.	27

Figure 20 :	Barre d'outils de MEGA 5.	28
Figure 21 :	Le programme ClustalW utilisé pour l'alignement multiple des séquences du marqueur moléculaire choisi.	29
Figure 22 :	La méthode UPGMA utilisée pour la construction de l'arbre phylogénétique.	29
Figure 23 :	Les paramètres utilisés pour la reconstruction phylogénétique.	30
Figure 24 :	Représente la taille et la morphologie des différents testicules de chat, de mangouste, le chien et la genette organisée de manière décroissant.	31
Figure 25 :	Photos représentent une comparaison des tailles entre les testicules du chat « <i>Félis catus</i> » et du chien « <i>Canis lupus familiaris</i> ».	32
Figure 26 :	Représente la coupe longitudinale et transversale de testicules et l'épididyme de chat.	33
Figure 27 :	Aspect structural du tube séminifère chez <i>Félis catus</i> et <i>Herpestes ichneumon</i> , <i>Canis lupus familiaris</i> , <i>Genetta genetta</i> à faible grossissement Gx4 : (A, B, C, D, E, F, G, H, J, K, L, M), Colorées par hémalun éosine, Rouge congo, trichrome de Masson. TS : tube séminifère, L : lumière, TI : tissu interstitiel.	35
Figure 28 :	Aspect structural du tube séminifère chez <i>Félis catus</i> et <i>Herpestes ichneumon</i> , <i>Canis lupus familiaris</i> , <i>Genetta genetta</i> à faible grossissement Gx10 : (A, B, C, D, E, F, G, H, J, K, L, M), Colorées par hémalun éosine, Rouge congo, trichrome de Masson. Ept : épithélium, L : lumière, TI : tissu interstitiel, F : flagelle.	36
Figure 29 :	Morphométrie tissulaire du Tubes séminifères, <i>Félis catus</i> , <i>Herpestes ichneumon</i> , <i>canis lupus familiaris</i> , <i>Genetta genetta</i> , A : Surface, B : Lumière.	37
Figure 30 :	Morphométrie tissulaire des enveloppes du Tubes séminifères, <i>Herpestes ichneumon</i> , <i>Genetta genetta</i> .	38
Figure 31 :	Aspect structural du tube séminifère chez <i>Félis catus</i> et <i>Herpestes ichneumon</i> , <i>Canis lupus familiaris</i> , <i>Genetta genetta</i> à fort grossissement Gx40 : (A, B, C, D, E, F, G, H, J, K, L, M), Colorées par hémalun éosine, Rouge congo, trichrome de Masson. CL : cellule de Leydig, SPG : spermatogonie, SPCI : spermatocyte I, SPD : spermatide, SPZ : spermatozoïde.	39
Figure 32 :	Aspect structural du tube séminifère chez <i>Félis catus</i> et <i>Herpestes ichneumon</i> , <i>Canis lupus familiaris</i> , <i>Genetta genetta</i> à fort grossissement Gx100 : (A, B, C, D, E, F, G), Colorées par hémalun éosine, Rouge congo, trichrome de Masson. CL : cellule de Leydig, SPG : spermatogonie, SPCI : spermatocyte I, SPD : spermatide, SPZ : spermatozoïde, Lb : lame basal, VS : vaisseaux sanguins	41
Figure 33 :	Aspect structural du tube séminifère chez <i>Félis catus</i> et <i>Herpestes ichneumon</i> , <i>Canis lupus familiaris</i> , <i>Genetta genetta</i> à moyen grossissement Gx100 : (A, B, C, D, E, F,	43

	G, H, J), Colorées par hémalum éosine, rouge congo, trichrome de Masson, SPZ : spermatozoïdes, CE : canal épидидymaire, L : lumière, HE : hématoxyline éosine, RC : rouge congo, TM : trichrome de Masson	
Figure 34 :	La surface des épидидymes (A), la lumière des épидидymes (B), des 4 espèces étudiées, <i>félis catus</i> , <i>Herpestes ichneumon</i> , <i>Canis lupus familiaris</i> , <i>Genetta genetta</i> .	44
Figure 35 :	La comparaison de l'épididyme de trois sections chez <i>canis lupus familiaris</i> , épидидyme au niveau de la tête (A), épидидyme au niveau du corps (B), épидидyme au niveau de queue SPZ : spermatozoïdes, MV : microvillosités, NCM : noyau de cellules musculaire lumière, T.C : tissu Conjonctif, EPT : épithélium,	45
Figure 36 :	Aspect structural du l'épididyme chez <i>Félis catus</i> , <i>Canis lupus familiaris</i> , <i>Genetta genetta</i> au grossissement Gx40 : (a, b, c), Colorées par hémalum éosine, rouge congo, trichrome de Masson, SPZ : spermatozoïdes, CP : cellule principale, Cm : cellules musculaire, L : lumière, Mv : microvillosités, EPT : épithélium, Cb : cellule basal, Ept : épithélium, HE : hématoxyline éosine, RC : rouge congo, TM : trichrome de Masson	46
Figure 37 :	La hauteur de l'épithélium des épидидymes (A), la hauteur supra noyau des épидидymes (B), des 3 espèces étudiées, <i>félis catus</i> , <i>Herpestes ichneumon</i> , <i>Canis lupus familiaris</i> , <i>Genetta genetta</i> .	47
Figure 38 :	Aspect structural du l'épididyme chez <i>Félis catus</i> , <i>Canis lupus familiaris</i> , <i>Genetta genetta</i> au grossissement Gx100 : (a, b, c), Colorées par Trichrome de Masson.	47
Figure 39 :	Structure de l'ADN mitochondrial (Sanger et al., 1981).	49
Figure 40 :	Arbre phylogénétique des séquences cyt b de nos espèces <i>Félis catus</i> , <i>Herpestes ichneumon</i> , <i>Canis lupus familiaris</i> , <i>Genetta genetta</i> et en utilisant la méthode UPGMA par logiciel MEGA5.	51
Figure 41 :	Graphe des gènes les plus étudié sur <i>les 4 espèces</i> sur Excel 20013	58
Figure 42 :	Notre arbre phylogénétique basé sur la méthode UPGMA utilisant le gène cyt b (a) ; arbre phylogénétique de Gaubert (2006) basé sur la méthode parcimonie et ML utilisant le gène cyt b (b).	59

Liste des tableaux

<i>Numéro</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
Tableau I :	Les séquences d'ADN nucléaire et mitochondrial extraites de la GenBank pour les 4 espèces	44
Tableau II :	Les gènes mitochondriaux de nos espèces (<i>chat, chien, mangouste, genette</i>)	46
Tableau III :	Variation morphométrique tissulaire des tubes séminifères (surface) chez <i>Félis catus, Herpestes ichneumen, Canis lupus familiaris, Genetta genetta</i> .	ANNEXE II
Tableau IV :	Variation morphométrique tissulaire des tubes séminifères (lumière) chez <i>Félis catus, Herpestes ichneumen, Canis lupus familiaris, Genetta genetta</i> .	ANNEXE II
Tableau VI :	Variation morphométrique tissulaire des enveloppes des tubes séminifères, <i>Herpestes ichneumen, Genetta genetta</i>	ANNEXE II
Tableau VII :	Variation morphométrique de la surface des épидидymes chez les 4 espèces étudiées, <i>félis catus, Herpestes ichneumen, Canis lupus familiaris, Genetta genetta</i>	ANNEXE II
Tableau VIII :	Variation morphométrique de la lumière des épидидymes chez les 4 espèces étudiées, <i>félis catus, Herpestes ichneumen, Canis lupus familiaris, Genetta genetta</i>	ANNEXE II
Tableau IX :	La variation morphométrique de la hauteur de l'épithélium des épидидymes et la hauteur supra noyau des épидидymes, chez 3 espèces étudiées, <i>félis catus, Herpestes ichneumen, Canis lupus familiaris, Genetta genetta</i> .	ANNEXE II
Tableau X :	Variation de la surface des testicules, chez 4 espèces étudiées, <i>félis catus, Herpestes ichneumen, Canis lupus familiaris, Genetta genetta</i> , différences en pourcentage et signification statistique des différences.	ANNEXE II
Tableau XI :	Variation de la lumière des testicules, chez 4 espèces étudiées, <i>félis catus, Herpestes ichneumen, Canis lupus familiaris, Genetta genetta</i> , différences en pourcentage et signification statistique des différences.	ANNEXE II
Tableau XII :	Variation l'enveloppe testiculaire, chez 2 espèces sauvage : <i>Herpestes ichneumen, Genetta genetta</i> , Différences en pourcentage et signification statistique des différences	ANNEXE II
Tableau XIII :	Variation de la surface des épидидymes, chez 4 espèces étudiées, <i>félis catus, Herpestes ichneumen, Canis lupus familiaris, Genetta genetta</i> , différences en pourcentage et signification statistique des différences.	ANNEXE II
Tableau XIV :	Variation de la lumière des épидидymes, chez 4 espèces étudiées, <i>félis catus, Herpestes ichneumen, Canis lupus familiaris, Genetta genetta</i> , différences en pourcentage et signification statistique des différences.	ANNEXE II
Tableau XV :	La variation de la hauteur de l'épithélium des épидидymes, chez 3 espèces étudiées, <i>félis catus, Herpestes ichneumen, Canis lupus familiaris, Genetta genetta</i> .	ANNEXE II

Tableau XVI :	La variation de la hauteur supra noyau des épидидymes, chez 3 espèces étudiées, <i>félis catus</i> , <i>Herpestes ichneumen</i> , <i>Canis lupus familiaris</i> , <i>Genetta genetta</i> .	ANNEXE II
Tableau XVII :	Liste des séquences d'ADN trouvées dans la GenBank pour l'étude phylogénétique (code, nombre de base et leur origine géographique) chez les 4 espèces étudié, <i>félis catus</i> , <i>Herpestes ichneumen</i> , <i>Canis lupus familiaris</i> , <i>Genetta genetta</i> .	ANNEXE II

Sommaire

INTRODUCTION	01
CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	
I.1- PRESENTATION DES ESPECES ÉTUDIÉ	03
I.1.1. Chat (<i>Félis catus</i>)	03
I.1.1.1. Description.....	03
I.1.1.2. Classification de chat (<i>Félis catus</i>)	03
I.1.1.3. Répartition	04
I.1.2. Mangouste (<i>Herpestes ichneumon</i>)	04
I.1.2.1. Description.....	04
I.1.2.1. Classification de mangouste (<i>Herpestes ichneumon</i>)	05
I.1.2.3. Répartition.....	05
I.1.3. Chien (<i>Canis lupus familiaris</i>)	06
I.1.3.1. Description.....	06
I.1.3.2. Classification de chien (<i>Canis lupus familiaris</i>)	06
I.1.3.3. Répartition.....	06
I.1.4. Genette (<i>Genetta genetta</i>)	07
I.1.4.1. Description.....	07
I.1.4.2. Classification de genette (<i>Genetta genetta</i>)	07
I.1.4.3. Répartition.....	07
I.2. ANATOMIE DE L'APPAREIL GENITAL MALE DE CHAT.	08
I.2.1. Enveloppes testiculaires	10
I.2.2. Testicules	10
I.2.3. Voies spermatique	11
I.2.3.1. Epididyme	11
I.2.3.2. Canaux déférents.....	11
I.2.4. Urètre	12
I.2.4.1. Urètre pré prostatique	12
I.2.4.2. Urètre prostatique	12
I.2.4.3. Urètre postprostatique	12

I.2.4.4. Urètre bulbo-urétrale.....	12
I.2.4.5. Urètre pénien.....	12
I.2.5. Pénis.....	12
I.2.6. Glandes annexes.....	13
I.2.6.1. Prostate.....	13
I.2.6.2. Glande bulbo-urétrale.....	14
I.3. PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION DE CHAT	14
I.3.1. Gamétogenèse (ou spermatogenèse)	14
I.1.3.1. Spermacytogénèse.....	14
I.1.3.2. Spermiogénèse.....	14
I.1.3.3. Spermiation.....	14
I.3.2. Régulation hormonale.....	15
I.4. Définition de la phylogénie.....	16
I.5. Phylogénie moléculaire.....	16
I.6. Etude phylogénétique.....	17
I.7. Arbres phylogénétiques.....	18
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	
II.1. MATERIEL	19
II.1.1. Matériels non biologiques	19
II.1.2. Matériels biologiques	19
II.2. METHODES	19
II.2.1. Étude macroscopique.....	20
II.2.2. Technique Histologique.....	20
II.2.3. Étude morphométrique	22
II .2.4. Analyses moléculaires et phylogénique.....	24
II.2.4.1. Étapes d'analyses moléculaire	24
II.2.4.2. Étude de la GenBank.....	24
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	
III.1. RESULTATS	31
III.1.1. Résultat de l'étude morphologique.....	31
III.1.2. Résultat histo-morphométrique.....	32
III.1.2.1. Structure et morphométrie du testicule et d'épididyme.....	32
III.1.2.2. Aspect structural des tubes séminifères.....	33

III.1.2.3. Aspect structural des épидидymes chez les 3 espèces étudiées....	42
III.1.3. Résultat phylogénique	48
III.1.3.1. Analyses phylogénétiques	48
III.1.3.2. Construction des arbres phylogénétiques.....	51
III.2- Discussion.....	55

CONCLUSION

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

ANNAXES

Dans le cadre de ce mémoire, nous cherchons à trouver si il y'a des différences sur le plan histologique, morphométrique et phylogénétique et les similarités entre plusieurs espèces qui sont :

Le chat « *Félis catus* » espèce de la famille des félidés, l'une des mieux spécialisées parmi les carnivores pour la capture des proies vivantes. La plupart des membres de la famille des félidés (composés de 37 espèces) sont vulnérables, ils sont menacés et en voie de disparition.

La mangouste « *Herpestes ichneumon* », une créature sans prétention avec son manteau gris à long poils parsemés de taches brunâtres. Les mangoustes sont des habitants du sol qui préfèrent les régions avec des arbres près de l'eau. Elles se cachent et trouvent refuge dans des terriers, des bûches ou des arbres creux, des trous dans le sol et des crevasses rocheuses. Aujourd'hui, leur habitat comprend également des champs cultivés et des berges végétalisées (**Osborn, 1998**). La mangouste est présente en Espagne, au Portugal, et dans la majeure partie de l'Afrique (**Hinton et Dunn, 1967**).

Afin d'enrichir notre étude nous avons introduit deux autre espèces, une domestique et une autre sauvage ; le chien « *Canis lupus familiaris* », l'une des espèces les plus largement distribuées à travers le globe. Sa présence est reconnue au côté de nombreuses civilisations et populations humaines, dont elle a suivi les flux migratoires sur les cinq continents. Le meilleur ami de l'homme est la plus ancienne espèce domestiquée (**Laurent, 2003**) ; la genette « *Genetta genetta* », est un petit animal élancé qui rappelle le chat par sa taille mais aussi par sa silhouette et son poil. Mammifère carnivore de la famille des viverridés ; la genette est originaire d'Afrique, plus spécifiquement du Maghreb.

Notre étude est basée sur la comparaison de l'appareil génital mâle entre ces espèces, le travail est subdivisé entre 3 volets, le premier concerne l'étude des aspects morphologiques des testicules des différentes espèces choisies, le second volet décrit l'aspect histologique et morphométrique des testicules et de l'épididyme, enfin le troisième volet rapporte l'étude phylogénétique à l'aide de logiciel **MEGA5** pour la reconstruction de l'arbre phylogénétique, avec l'utilisation de différentes méthodes comme UPGMA, Kimura- 2 parameters.

I.1.PRESENTATION DES ESPECES ÉTUDIÉ

Notre travailles consiste à faire une comparaison histologique et morphométrique de l'appareil génital mal entre le chat (*félis catus*) et la mangouste (*Herpestes ichneumon*) ; en même temps établir la carte phylogénique de ces deux espèces et voir la position de ces espèces dans cet arbre pour élargir notre étude et bien situer sur le plan morphologique et histologique et phylogénétique de ces deux espèces nous avons introduie deux autre espèces, la genette (*Genetta genetta*) et le chien (*Canis lupis familiaris*).

I.1.1. Chat (*Félis catus*)

I.1.1.1. Description

Le chat domestique (*Félis catus*) est le type de la famille des félidés, l'une des mieux spécialisées parmi les Carnivores pour la capture des proies vivantes. Il est digitigrade et ses griffes sont rétractiles et aiguës. Le pouce manque au pied. La face est courte, la tête globuleuse, à profil convexe avec des oreilles courtes et larges. Les dents sont aiguës et tranchantes ; le nombre des molaires est réduit. La queue est longue et forte (sauf particularités raciales), et la démarche très souple, élégante. Les testicules sont en situation sous-anale et le pénis est rétroflexe. Le chat possède 38 chromosomes, soit 19 paires.

I.1.1.2. Classification de chat (*Félis catus*) Linnaeus, 1758

Règne	Animalia
Embranchement	Chordata
Classe	Mammalia
Ordre	Carnivora
Famille	Felidae
Genre	<i>Félis</i>



Figure 1 : Photos du chat (*félis catus*) (Original).

I.1.1.3. Répartition

Le chat présent de manière général dans différent continents, il est distribué en Europe, au Asie, et dans la majeure partie de l'Afrique (Figure 2).

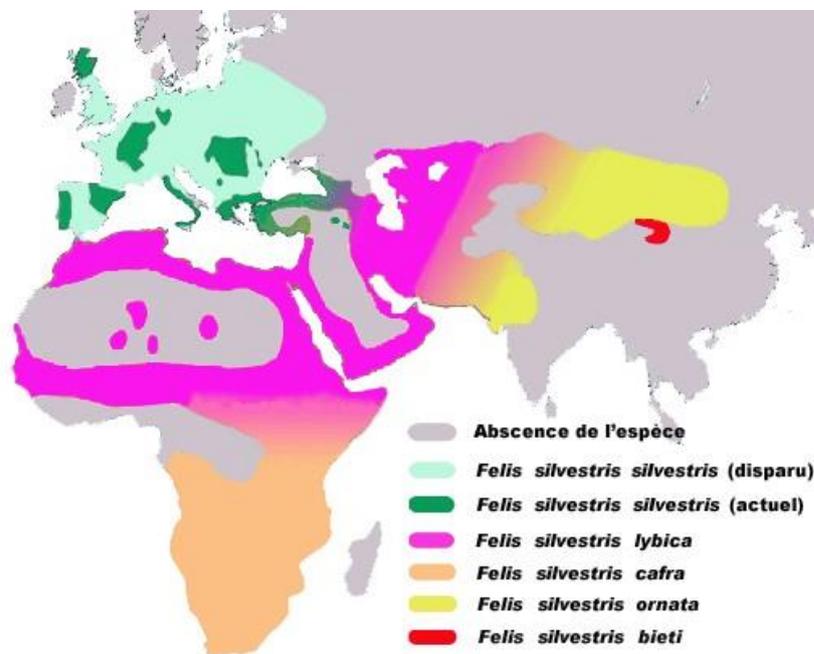


Figure 2 : Répartition de chat (*Félis catus*) (Christophe, 2007).

I.1.2. Mangouste (*Herpestes ichneumon*)

I.1.2.1. Description

Mangoustes est une créature sans prétention avec leurs manteaux gris à poil long parsemés de taches brunâtres ; parfois, le pelage est brun rougeâtre avec des taches jaunes mais cela est rare. Une étroite bande de peau nue entoure les yeux. Leur corps élancé contraste avec la longue queue touffue qui se termine par un pompon noir. Ils ont une forme longue et basse qui semble reptilienne à distance. La longueur du corps est de 48 à 60 cm avec la queue de 33 à 54 cm. Ils ont un long visage, de petites oreilles arrondies qui ne dépassent pas au-dessus de la tête, de courtes pattes à cinq doigts sur chaque membre, des pattes postérieures nues jusqu'au talon et des griffes acérées et incurvées à creuser. Une autre caractéristique très importante est l'existence d'un grand sac anal contenant deux ouvertures glandulaires. Ces animaux ont de 35 à 40 dents dont le carnassal est bien développé pour la chair effilée. S'il est excité, *H. ichneumon*

peut hérissier ses poils et cambrer son dos pour apparaître deux fois sa taille réelle. (Hayssen, 1993 ; Kingdon, 1977 ; Osborn, 1998)

La mangouste est des habitants du sol qui préfèrent les régions avec des arbres près de l'eau. Ils se cachent et trouvent refuge dans des terriers, des bûches ou des arbres creux, des trous dans le sol et des crevasses rocheuses, surtout pendant la nuit. Aujourd'hui, leur habitat comprend également des champs cultivés et des berges végétalisées (Osborn, 1998).

I.1.2.2. Classification de mangouste (*Herpestes ichneumon*) Linnaeus, 1758

Règne	Animalia
Embranchement	Chordata
Sous-embr	Vertebrata
Classe	Mammalia
Ordre	Carnivora
Famille	Herpestidae
Genre	<i>Herpestes</i>
Espèce	<i>Herpestes ichneumon</i>



Figure 3 : Mangouste (*Herpetes ichneumon*).

I.1.2.3. Répartition

Mangouste est distribuée en Espagne, au Portugal, et dans la majeure partie de l'Afrique, à l'exception du centre du Zaïre, des forêts de basse altitude d'Afrique de l'Ouest et du sud-est de l'Afrique du Sud. Il a été introduit à Madagascar et en Italie (Hinton et Dunn, 1967) (Figure 4).



Figure 4 : Répartition de mangouste « *Herpestes ichneumon* » (IUCN, 2016)

I.1.3. Chien (*Canis lupus familiaris*)

I.1.3.1. Description

Le corps du chien est découpé en trois régions, l'avant-train (tête, encolure, membres antérieurs), le corps (dos, rein, cage thoracique, abdomen) et l'arrière-train (croupe, membres postérieurs, queue) (Figure 5).

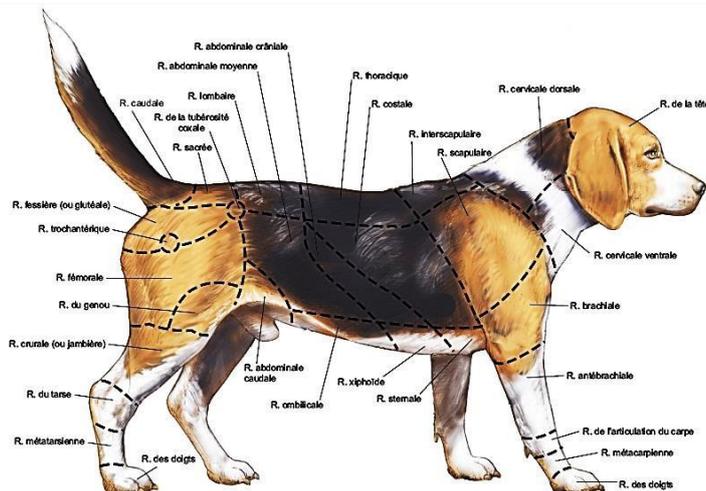


Figure 5 : Régions anatomiques du corps du chien (Cracken ; Kainer).

I.1.3.2. Classification de chien (*canis lupus familiaris*) (Laurent ; Sylvain ; NEAUL, 2003).

Règne	Animalia
Embranchement	Chordata
Sous-embr	Vertebrata
Classe	Mammalia
Ordre	Carnivora
Famille	canidés
Genre	<i>canis</i>
Espèce	<i>Canis lupus familiaris</i>



Figure 6 : Chien (*canis lupus familiaris*) (Original).

I.1.3.3 Répartition

Le chien « *Canis lupus familiaris* », est l'une des espèces les plus largement distribuées à travers le globe. Sa présence est reconnue au côté de nombreuses civilisations et populations humaines, dont elle a suivi les flux migratoires sur les cinq continents (Laurent ; Sylvain ; NEAUL, 2003).

I.1.4. Genette (*Genetta genetta*)

I.1.4.1. Description

La genette se distingue du chat sauvage, avec lequel la confusion est possible, par : un museau pointu, un corps fin, des pattes courtes et la queue longue. Son pelage est caractéristique avec un fond gris clair, une raie noire continue tout le long de l'épine dorsale et 4 ou 5 rangées de taches noires sur les flancs. La queue est barrée d'anneaux noirs, les oreilles sont plutôt grandes.

I.1.4.2. Classification de genette (*Genetta genetta*)

Embranchement	Chordata
Sous-embr	Vertebrata
Classe	Mammalia
Ordre	Carnivora
Famille	viverridés
Genre	<i>Genetta</i>
Espèce	<i>Genetta genetta</i>



Figure 7 : Genette (*Genetta genetta*) (**Original**)

I.1.4.3 Répartition

La genette semble s'acclimater à un bon nombre de milieux très différents, de la futaie de chêne vert au sol calcaire à la garrigue basse et sèche, en passant par les zones rocheuses boisées de chênes et châtaigniers.

Le relief ne semble pas indispensable puisqu'on la retrouve dans les forêts de pins maritimes des Landes et le bocage de l'ouest.

I.2. Anatomie de l'appareil génital mâle de chat

Sachant que notre travail est un travail comparatif entre l'appareil génital mâle de chat et de mangouste, mais nous n'avons pas trouvé des travaux sur l'appareil génital mâle de mangouste. Pour cela, nous avons basée dans la partie bibliographique sur l'appareil génital mâle du chat.

Les organes génitaux externes du chat sont situés en région périnéale haute. Leur appareil génital est simplifié par rapport aux autres mammifères. Il comprend des testicules Protégés dans leur scrotum. Ceux-ci sont prolongés par l'épididyme et le canal déférent jusque l'urètre où viennent s'aboucher les glandes annexes. Puis l'urètre se termine dans le pénis. Le tout est sous l'innervation provenant de la moelle épinière, parfois consciente mais le plus souvent réflexe (**Barone, 1978 ; Pierard, 1972 ; Getty, 1975**) (Figure 8).

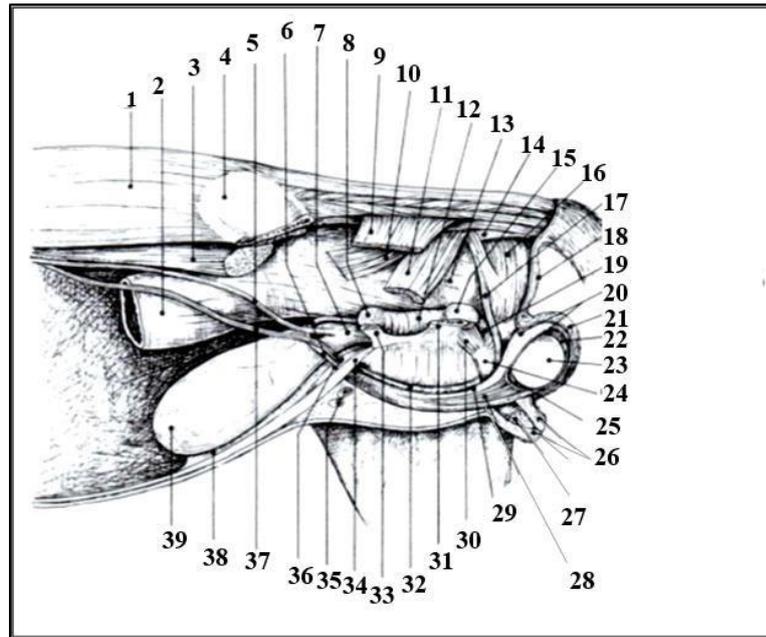


Figure 8 : Schéma d'un appareil génital mâle (vue latérale gauche, en place) (Barone, 1990).

- | | | |
|--------------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------------------|
| 1 : M.erector spinae | 2 : Colon descendant | 3 : M. grand psias |
| 4 : aile de l'os ilium (coupée) | 5 : uretère gauche | 6 : conduit déférant gauche |
| 7 : col de la vessie | 8 : prostate | 9 : M. coccygien |
| 10 : faisceau iliaque | 11 : faisceau ischio-pub | 12 : partie membrancée de l'urètre et M. urétral |
| 13 : rectum | 14 : M. recto-coccygien | 15 : glande bulbo-urétrale |
| 16 : M. spincter externe de l'anus | 17 : M. retractor pénis | 18 : Anus |
| 19 : Bulbe du pénis et M. bulbo- spongieux | 20 : Fascia spermatique interne | 21 : Scrotum |
| 22 : Queue de l'épididyme | 23 : Testicule gauche | 24 : Partie fixé du pénis |
| 25 : tête de l'épididyme | 26 : Prépuce (ouvert) | 27 : gland du pénis |
| 28 : M. crémaster gauche (coupé) | 29 : Fascia spermatique interne gauche | 30 : M. ischio-caverneux et pilier gauche du pénis |
| 31 : Os ischium (coupé) | 32 : Fascia spermatique interne droit | 33 : Os pubis (coupé) |
| 34 : Tendon prépubien | 35 : N. lymph. Inguinal superficiel | 36 : Anneau vaginal |
| 37 : A et V testiculaire gauches | 38 : Ligament médian de la vessie | 39 : Apes de la vessie |

I.2.1. Enveloppes testiculaires

-Scrotum : Elle est mince, élastique, très souple et séparée en son milieu par un raphé médian. Sa Pigmentation importante, la pilosité fine et courte (Barone, 2001 ; Collin, 2003).

-Dartos : Adhérent intimement au scrotum, il est une tunique musculo-élastique enveloppant chaque testicule jusqu'à l'anneau inguinal superficiel ; il forme ainsi le septum du scrotum.

C'est lui qui assure le maintien des testicules et de ses enveloppes (Barone, 2001 ; Collin, 2003).

-Fascia spermatique externe : Une couche conjonctive se trouve entre le scrotum et les enveloppes profondes. Ce tissu en continuité avec le tissu conjonctif de l'espace inguinal est constitué de plusieurs lames glissant les unes sur les autres et permettant ainsi une certaine mobilité du testicule dans le scrotum (Barone, 2001 ; Collin, 2003).

-Muscle crémaster : Issu du ligament inguinal près du muscle oblique interne, il longe le fascia spermatique pour se terminer en regard de l'épididyme. Ce muscle strié permet l'ascension des testicules vers la région inguinale, volontairement ou pas (**Baronne, 2001 ; Collin, 2003**). - **Fascia spermatique interne** : Le fascia spermatique interne est une tunique fibreuse, en continuité avec le fascia transversales de l'abdomen, qui forme un « sac » dont la face interne est adhérente à la lame pariétale de la tunique vaginale (**Barone, 2001 ; Collin, 2003**). - **Tunique vaginale (plus profonde)** : La tunique vaginale est une séreuse issue du péritoine, avec lequel elle communique par le canal vaginal, donc constitué d'une lame pariétale (dont nous venons de parler), d'une lame viscérale recouvrant étroitement le testicule, l'épididyme et les éléments du cordon spermatique et d'un méso unissant les deux lames : le mésorchium (**Barone, 2001 ; Collin, 2003**).

I.2.2. Testicules

De forme ovoïde à sphérique, blanc rosé, le testicule est aplati latéro-latéralement. Il reçoit sur son bord dorsal l'épididyme et au niveau de l'extrémité capitée l'attache du cône vasculaire. Le testicule est uni par le ligament propre du testicule à la queue de l'épididyme qui elle-même est unie à la tunique vaginale par le ligament de la queue de l'épididyme (Figure 6) (**Collin, 2003**).

Le tissu ou plutôt les tissus propres du testicule sont contenus dans la tunique albuginée qui est une membrane fibreuse épaisse logeant des divisions sinueuses des vaisseaux testiculaires (**Barone, 2001, Collin, 2003**).

La face postérieure du testicule mature est en rapport avec l'épididyme. Le testicule et l'épididyme sont tous deux suspendus dans le sac scrotal par le cordon spermatique qui contient le canal déférent, l'artère spermatique et les plexus veineux et lymphatique.

Le testicule est enveloppé d'une tunique, l'albuginée, qui s'épaissit pour former le médiastin du testicule ou corps d'Highmore au niveau du rete testis (Figure 9).

La structure histologique de tube séminifère (Figure 10) est constituée d'une lumière centrale bordée par un épithélium séminifère spécialisé contenant deux populations cellulaires distinctes :

- ✓ Les cellules somatiques de Sertoli.
- ✓ Les cellules germinales.

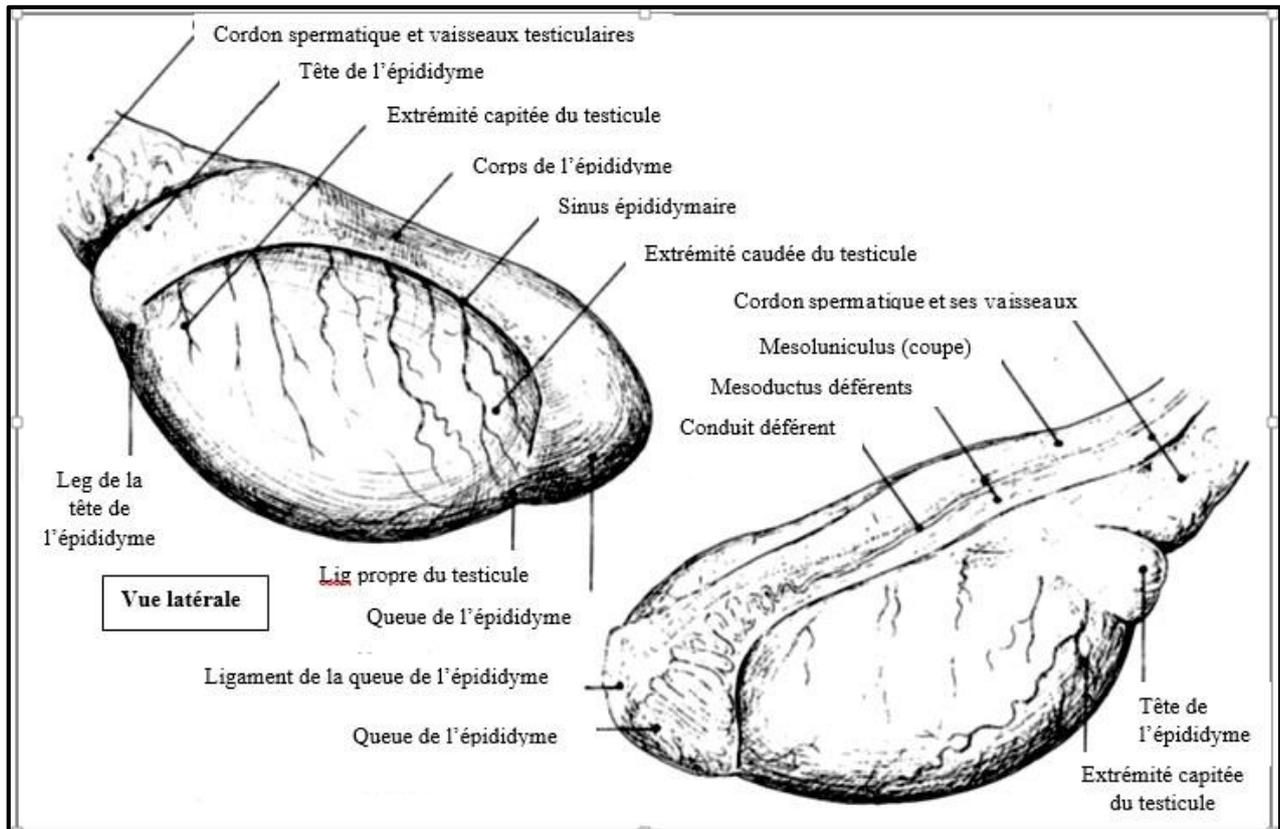


Figure 9 : Shéma anatomique de testicule (Barone, 2001).

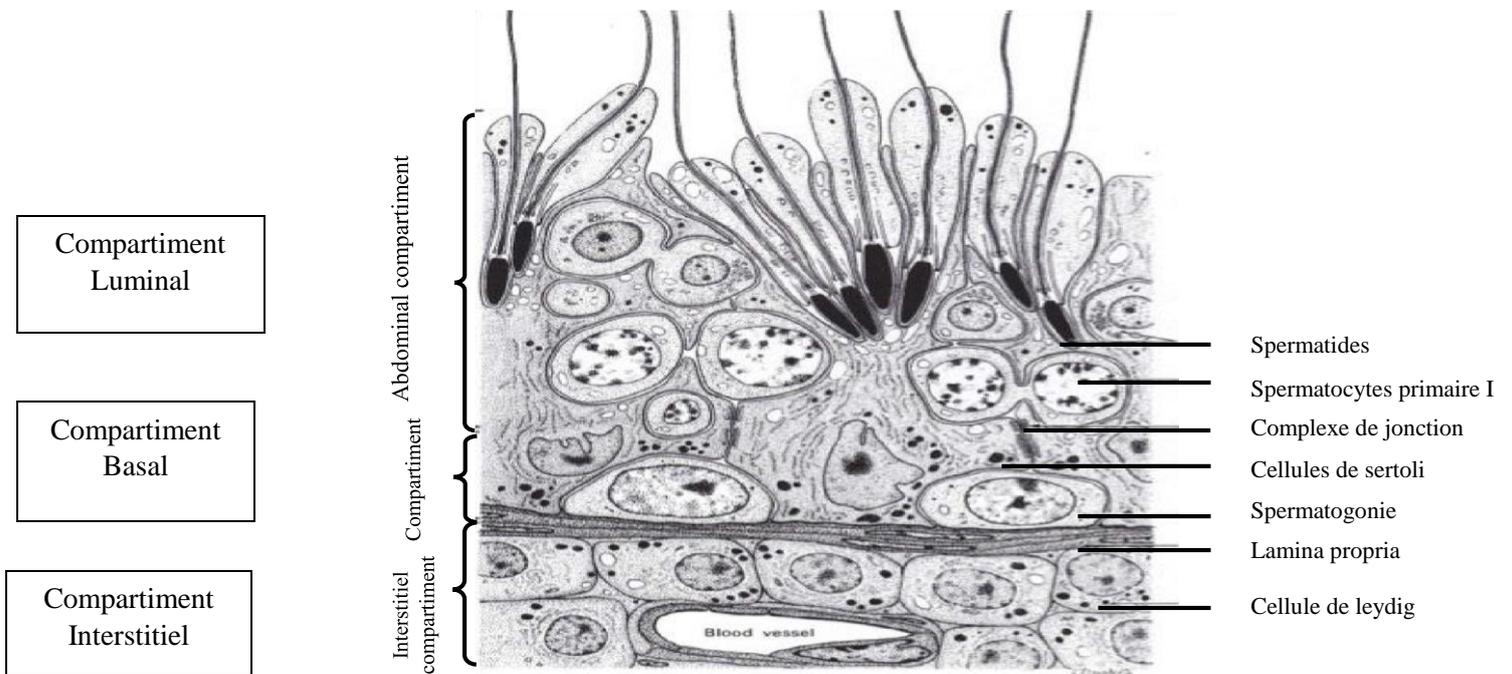


Figure 10 : Shéma d'une coupe transversale de tube séminifère (Banks, 1993).

I.2.3. Voies spermatiques

I.2.3.1. Epididyme

C'est un organe allongé, solidarisé au testicule, contre lequel il s'applique latéralement. Son rôle est de stocker les spermatozoïdes qui y acquièrent leur maturation et leur pouvoir fécondant. Sa musculature permet de les chasser pendant la première phase de l'éjaculation. Son épithélium semble en outre capable d'en résorber une partie (**Laloi-travaglini, 2011**).

I.2.3.2. Canaux déférents

Les canaux déférents prennent naissance à la queue de l'épididyme. Ils entrent dans l'abdomen au niveau des anneaux inguinaux et cheminent au sein des cordons spermatiques qui contiennent également les nerfs et vaisseaux testiculaires. Les veines testiculaires, tortueuses, forment les plexus pampiniformes qui permettent de refroidir le sang arrivant aux testicules afin d'assurer une production optimale de spermatozoïdes. Les canaux déférents, une fois dans l'abdomen, contournent les uretères, traversent la prostate et rejoignent l'urètre pelvien dorsalement à celui-ci, au niveau du *colliculus seminalis* qui forme une petite proéminence (**Smith, 1993**).

I.2.4. Urètre

Il mesure 8.5 à 10.5 cm, et peut être divisée en cinq parties.

I.2.4.1. Urètre pré prostatique

D'un diamètre de 0.9 à 2.0 mm, et d'une longueur de 3 à 5 cm, il comprend entre la vessie et la prostate. Il n'a normalement aucun rôle dans la reproduction (il peut être néanmoins être impliqué dans les éjaculations rétrogrades) (**Wang et Coll, 1999**).

I.2.4.2. Urètre prostatique

Il mesure 1.5 à 1.9 cm de long, et passe ventralement à la prostate. C'est au milieu de la prostate environ que s'abouchent les canaux déférent (**Wang et Coll, 1999**).

I.2.4.3. Urètre postprostatique

Avec un diamètre de 1.9 à 2.6 mm, pour une longueur de 1.2 à 1.8 mm, cette structure est comprise entre la prostate et les glandes bulbouretrales (Wang et Coll, 1999).

I.2.4.4. Urètre bulbouretrale

Il mesure 1.2 à 1.5 cm de long. Des fibres musculaires circulaires forment le sphincter externe de l'urètre. Les muscles ischio-caverneux sont en face ventrale, et les muscles bulbocaverneux en face dorsale. Les glandes bulbouretrales sont en position dorsale à l'urètre (Wang et Coll, 1999).

I.2.4.5. Urètre pénien

Long de 0.8 à 1 cm, il est entouré en région distale dorsale par les corps caverneux (Wang et Coll, 1999).

I.2.5. Pénis

Le pénis est court (8 à 10 mm), cylindroïde, et dirigé caudalement, avec sa face urétrale en situation dorsale. Lors de l'érection il se redresse et se dirige ventralement (Barone, 1990).

Le pénis est constitué d'une racine entourée de muscles ischio-caverneux, d'un corps et d'un gland recouvert d'un prépuce (Liège, 1991).

Le gland est court et conique et relié au pénis par un frein. Sa surface est hérissée chez l'adulte de fortes papilles à épithélium kératinisé et épais. Ces papilles dont le développement est hormono-dépendant, manquent toutefois au niveau de l'apex et du raphé du pénis (Barone, 1990).

Une coupe transversale réalisée au niveau de la base du pénis met en évidence l'urètre entouré du corps spongieux, avec de part et d'autre, les muscles bulbo-spongieux et les corps caverneux séparés d'un septum. Au niveau du gland, les corps spongieux du gland entourent l'urètre et l'os pénien, court (4 mm de long) et d'ossification tardive (Liège, 1991).

Et les corps caverneux séparés d'un septum. Au niveau du gland, les corps spongieux du gland entourent l'urètre et l'os pénien, court (4 mm de long) et d'ossification tardive (Liège, 1991).

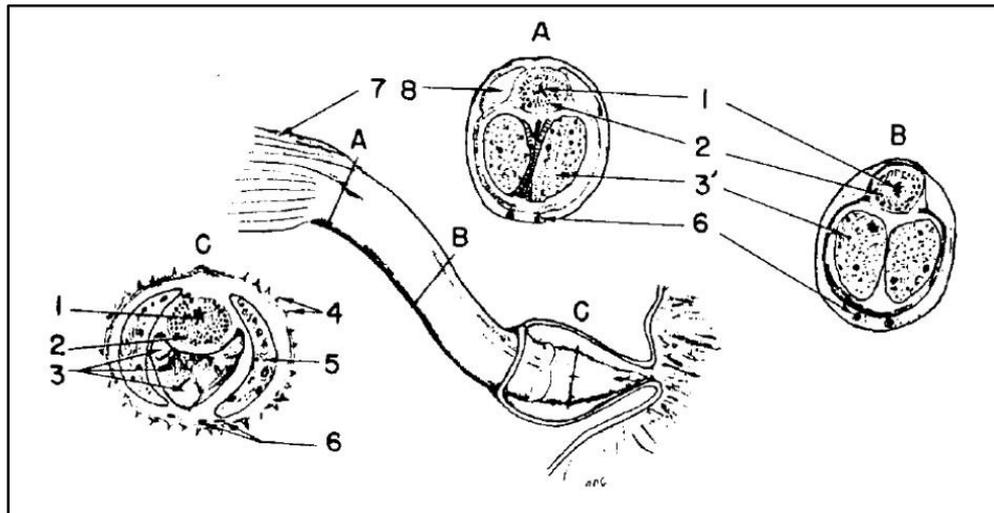


Figure 11 : Pénis du chat, vue dorso-latérale (Getty, 1975)

A, B et C sont les sites des coupes transversales

- | | | | |
|-----------------------------|------------------------------|-----------------------|------------------------------|
| 1 : Urètre | 2 : Corps spongieux | 3 : Os pénien | 3 : Corps caverneux du pénis |
| 4 : Papilles cornées | 5 : Corps spongieux du gland | 6 : Vaisseaux dorsaux | 7 : Muscles ischio-caverneux |
| 8 : Muscles bulbo-caverneux | | | |

I.2.6. Glandes annexes

L'appareil génital mâle du chat se distingue de celui des autres mammifères domestiques par l'absence de vésicules séminales, d'ampoule et de glandes sur ses conduits déférents (Liège, 1991).

Les seules glandes annexes présentes sont la prostate et les glandes bulbo-urétrales.

I.2.6.1. Prostate

La prostate est intimement associée à l'urètre juste en arrière du col vésical. La partie compacte de la prostate se présente sous forme de deux lobes allongés (5 mm sur 2 mm) séparés par un sillon médian. Elle recouvre les parties dorsales et latérales de l'urètre laissant libre la partie ventrale. La partie disséminée de la prostate est située dans le tissu conjonctif péri-urétral compris entre le col vésical et les glandes bulbo-urétrales (Liège, 1991).

I.2.6.2. Glande bulbo-urétrale

Les glandes bulbo-urétrales sont bien développées. Sphéroïdes, leur diamètre est de 5 à 6 mm. Elles sont situées dorso-latéralement à la base du pénis. Entourées par le muscle bulbo-urétral, elles sont jointes par un tissu conjonctif (Liège, 1991).

I.3. PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION DE CHAT

I.3.1. Gamétogenèse (ou spermatogenèse)

La spermatogenèse est le processus de différenciation des cellules souches en spermatozoïdes. Elle se déroule dans les tubes séminifères (**Paragon, Malandain, Kretz ; 2000**) (Figure 12).

Chez le chat européen, la spermatogenèse débute vers 5 mois mais les spermatozoïdes ne sont présents dans les tubes séminifères qu'à partir de 7 à 9 mois (**Bosse, Chaffaux, Kretz ; 1990**).

I.3.1.1. Spermacytogénèse

Les cellules primordiales sont les gonocytes. Pendant la croissance, ces gonocytes vont se transformer en spermatogonies qui vont proliférer au moment de la puberté de façon massive et continue. On distingue les spermatogonies A qui se multiplient mais ne se différencient pas et les spermatogonies B qui vont subir l'évolution suivante.

Les spermatogonies B donnent en se multipliant les spermatocytes I à l'origine des spermatocytes II après la première division de méiose et des spermatides après la seconde.

I.3.1.2. Spermiogénèse

Les spermatides sont donc haploïdes et ne contiennent qu'un seul chromatide. Ce sont eux qui vont subir la spermiogénèse. Ils vont subir des transformations pour aboutir aux spermatozoïdes.

I.3.1.3. Spermiation

Correspond à la libération des spermatozoïdes. Le corps résiduel est phagocyté par les cellules de Sertoli et seule une gouttelette proximale persiste sur le spermatozoïde.

Le spermatozoïde est alors composé d'une tête contenant l'ADN condensé protégé par l'acrosome dans sa région proximale, d'une pièce intermédiaire contenant les mitochondries nécessaires à l'énergie et d'un flagelle assurant la mobilité.

Les spermatozoïdes immobiles sont transportés dans le rete testis via les sécrétions des cellules de Sertoli, des glandes du rete testis, et des glandes annexes. Ils acquièrent leur mobilité et leur pouvoir fécondant au cours de leur trajet dans l'épididyme où ils perdent leur gouttelette protoplasmique.

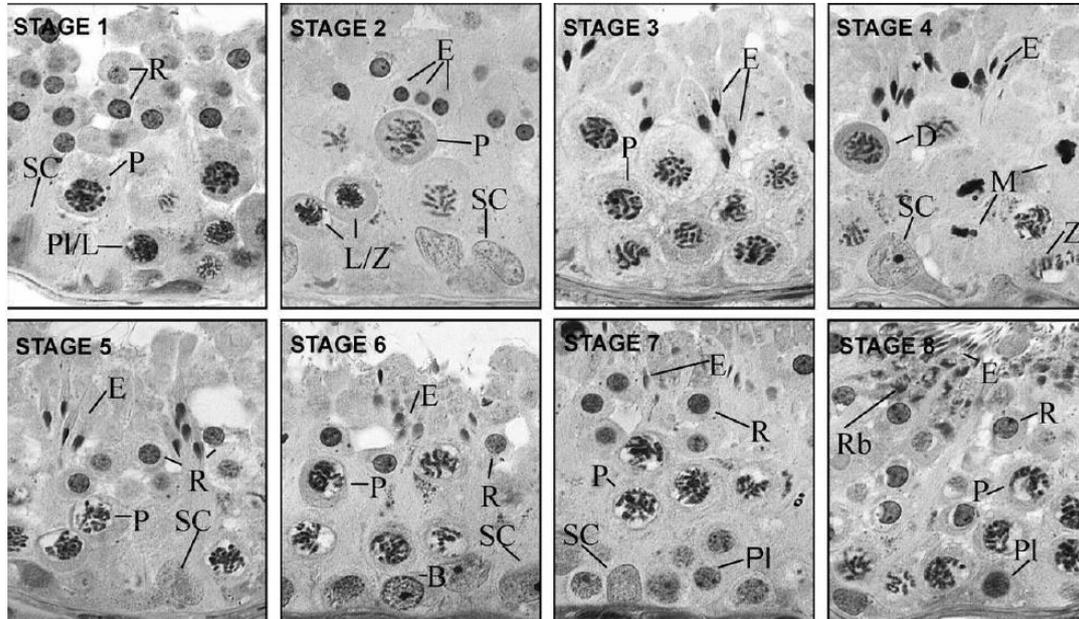


Figure 12 : Les huit étapes (I à VIII) de formation des spermatozoïdes dans les tubes séminifères (Costa ; Chiarini-garcia ; Morato ; Alvarenga ; França, 2008). (B) Spermatogonies de type B ; (PI) Spermatocytes au stade préleptotène ; (L) Spermatocytes au stade leptotène ; (Z) Stade pachytène primaire ; (D) Stade diplotène ; (M) Figure de méiose ; € Spermatozoïdes ronds ; € Spermatozoïdes élongés ; (SC) cellules de Sertoli.

I.3.2. Régulation hormonale

Chez le chat domestique, le plus étudié, on sait que la spermatogenèse débute vers 5 mois, mais que les spermatozoïdes ne sont présents dans les tubes séminifères qu'à partir de 7 à 9 mois. Cela correspond à un poids des deux testicules supérieurs à 1g (Kirkpatrick, 1985).

Sur le plan endocrinien, les noyaux sécrétoires de l'hypothalamus sécrètent des quantités progressivement croissantes d'hormones hypothalamiques qui provoquent une maturation des Cellules gonadotropes de l'antéhypophyse. Ces dernières élaborent à leur tour des taux croissants de gonadotrophines (FSH et LH).

La FSH sensibilise les testicules à l'action de la LH. Sous l'action de la LH, se produit une maturation des cellules de Leydig qui vont sécréter de la testostérone à des taux de plus en plus importants. L'imprégnation de l'organisme par la testostérone provoque le développement

des caractères sexuels secondaires. De plus, cette hormone provoque la maturation des cellules de Sertoli, et sous l'action conjuguée de la LH, de la testostérone et de la FSH, la spermatogenèse se déclenche à son tour.

I.4. Définition de la phylogénie

Le terme « phylogénie » dont phylum désigne en latin race ou tribu, il fut inventé par Ernst Haeckel en 1866 pour définir l'enchaînement des espèces animales et végétales au cours du temps (**Darlu et Tassy, 2004**). Et il l'a défini comme « l'histoire de développement paléontologique des organismes par analogie avec l'ontogénie ou histoire de développement individuel » (**Gallut, 2001**).

Afin de déterminer les relations entre les espèces, celles-ci sont comparées en fonction de différents caractères. Toute la difficulté de cette comparaison est la distinction entre analogie et homologie. L'homologie est la ressemblance entre des espèces attribuable à un ancêtre commun. Cette notion d'ancêtre commun est importante, car une ressemblance entre deux espèces n'implique pas que ces espèces soient apparentées. En effet, des espèces peuvent acquérir un trait commun par sélection naturelle. Telles espèces sont le fruit d'évolution convergente et les ressemblances, dans ce cas, on parle d'analogies (**Chapus, 2005**).

I.5. Phylogénie moléculaire

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

La phylogénie moléculaire est basée sur les principes suivants :

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

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

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

Les polymorphismes ADN peuvent être détectés dans l'ADN nucléaire et l'ADN d'organites, trouvé dans les mitochondries et les chloroplastes. Les marqueurs moléculaires

Concernent la molécule d'ADN elle-même, et, comme tels, sont considérés comme des mesures objectives de la variation (**Vicente et Fulton, 2003**).

1. Marqueurs d'ADN nucléaire :

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

2. Marqueurs d'ADN mitochondrial :

Les polymorphismes d'ADN mitochondrial (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.6. Etude phylogénétique

L'élaboration de technologies à haut débit serait inutile si l'on ne disposait pas des capacités d'analyse des données biologiques en croissance exponentielle. Ces données doivent se stocker dans des bases de données électroniques associées à des logiciels spécialement conçus pour la mise à jour, l'interrogation et l'extraction. Les informations doivent être

facilement accessibles et flexibles aux interrogations pour faciliter l'extraction des informations pouvant être analysées pour éclaircir les voies métaboliques et le rôle des protéines et des gènes impliqués (**Rischkowsky et Pilling, 2008**).

La bioinformatique est fondamentale pour associer les informations provenant de sources différentes et générer une connaissance nouvelle à partir de données existantes. Elle dispose également des potentialités pour simuler la structure, la fonction et la dynamique des systèmes moléculaires et est donc utile pour la formulation des hypothèses et pour la conduite du travail expérimental (**Rischkowsky et Pilling, 2008**).

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

I.7. Arbres phylogénétiques

La phylogénie est représentée sous la forme d'un arbre – avec un tronc, des branches, des rameaux qui se lient de bas en haut. La seule illustration incluse dans l'origine des espèces est une image de filiation entre espèces hypothétiques situées dans un contexte stratigraphique : le temps géologique se lit de bas en haut (**Darlu et Tassy, 2004**).

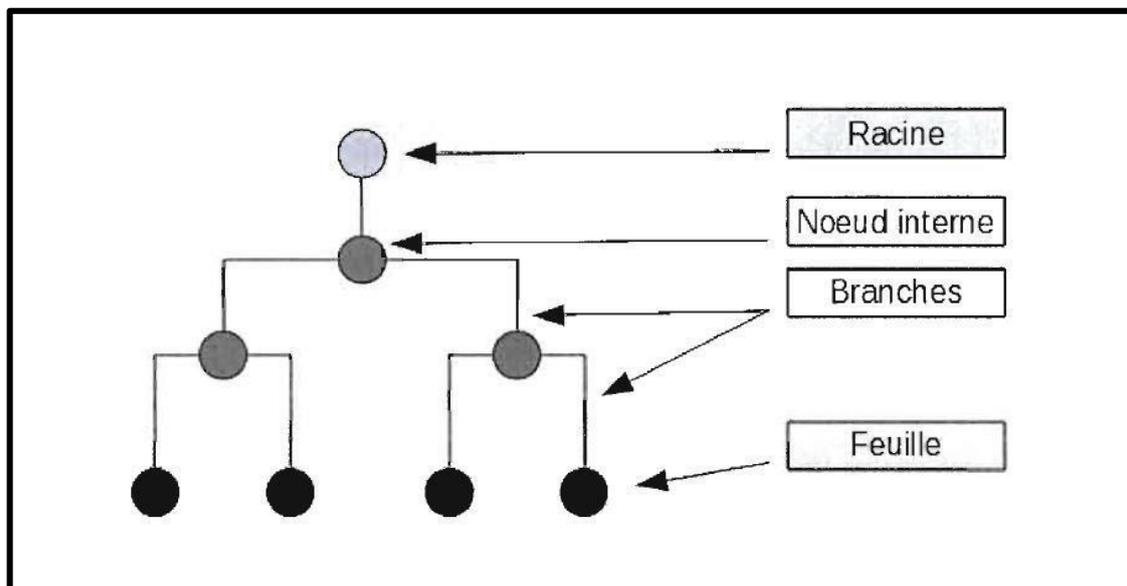


Figure 13 : Exemple d'un arbre phylogénétique

I.8. ANALYSES MOLECULAIRES

II.8.1. Etapes d'Analyses Moléculaires

L'objectif de cette partie repose essentiellement sur l'utilisation des logiciels de bio-informatique afin d'étudier une base de données de biologie moléculaire pour tracer l'arbre phylogénétique afin de trouver la position génétique des différentes espèces. Les différentes étapes d'analyse moléculaire suivie pour avoir des séquences d'ADN sont :

-Echantillonnage

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

-Extraction et quantification de l'ADN

L'extraction d'acides nucléiques d'un matériel biologique requiert la lyse cellulaire, l'inactivation des nucléases cellulaires et la séparation de l'acide nucléique souhaité de débris cellulaires. Il existe beaucoup de kits d'extraction et de purification de l'ADN qui sont commercialisés. Cependant il a été montré que la sensibilité de détection par PCR de l'ADN extrait varie selon le kit utilisé (**Yoshikawa et al. 2011**).

-Amplification de l'ADN par PCR

La Polymérase Chain 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'amplifier une séquence spécifique d'ADN dans un mélange réactionnel approprié.

-Séquençage : 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 (**Sanger en 1977**) repose sur l'utilisation de didésoxynucléotides, qui bloquent la synthèse de l'ADN après leur incorporation.

Notre étude a été réalisée sur une période étalée du mois de de Février au mois de Septembre. L'étude sera présentée en deux parties :

✚ Une partie histologique, dont l'intérêt est de comparer et d'étudier l'aspect histologique de l'appareil génital mâle du chat « *félis catus* » et de la mangouste « *Herpestes ichneumen* ».

C'est une étude prospective menée dans le service d'Anatomie Pathologique du centre hospitalier universitaire Issad Hassani de Beni Messous d'Alger ; l'interprétation des lames a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche sur les zones arides (LRZA).

✚ Une partie génétique, dont l'intérêt est d'étudier la phylogénie des genres « *Félis catus* » et « *Herpestes ichneumon* », afin de trouver la position exacte des espèces dans l'arbre phylogénétique réalisée dans laboratoire de biodiversité et l'environnement : interaction, génome (LBEIG) FSB-USTHB, Alger.

II.1. MATERIEL

II.1.1. Matériel non Biologique L'ensemble du matériel non biologique utilisé dans ce mémoire est présenté en annexe.

II.1.2. Matériel Biologique

Dans le cadre de notre expérimentation, qui consistent à faire une comparaison entre le chat et la mangouste nous avons étudié les testicules et l'épididyme des chats et des mangoustes :

✓ Chat « *Félis catus* » ramenés de la clinique vétérinaire TAGASTE de Dely Brahim et clinique vétérinaire de KOUBA.

✓ Mangouste « *Herpestes ichneumon* » récupérée mort dans la région de Souk-Ahras. Pour bien située ces deux espèces, nous avons fait une comparaison avec des échantillons de chien et de genette :

✓ Chien « *Canis lupus familiaris* » ramenés de la clinique vétérinaire TAGASTE de Dely Brahim.

✓ Genette « *Genetta genetta* » récupérée mort au niveau de parc national de Belezma à Batna.

II.2. Méthodes

Ablation des testicules

La castration est une technique chirurgicale qui consiste en l'ablation définitive des testicules et de l'épididyme afin de pouvoir étudier aspect histologique de chaque espèce. Les animaux sont anesthésiés à la télétamine (50mg/ml) diluée dans du sérum physiologique (9%) et injectée à raison de 10mg /ml/100g de poids corporel par voie intra péritonéale ; une incision de la peau et du muscle est réalisée juste au-dessus du pénis afin d'extirper les testicules et l'épididyme ; une ligature de l'artère spermatique est nécessaire avant l'ablation pour éviter toute hémorragie. Les plans musculaire et cutané sont refermés par des nœuds serrés entre lesquels on saupoudre de la poudre antibiotique. La plaie est cicatrisée par ajout de l'éosine.

II. 2. 1. Étude macroscopique

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

II.2.2. Étude histologique

La confection de coupes histologiques permet l'observation des tissus au microscope photonique après une coloration spécifique. Elles comportent plusieurs étapes.

Les différents prélèvements reçus au service, passent par une série de préparation ; Le matériel spécifique utilisé pour la technique histologique est présenté en annexe I.

1. Obtention des coupes

❖ Fixation :

Etape primordiale, elle permet d'immobiliser et conserver les structures cellulaires et tissulaires dans un état aussi proche que possible du vivant. En effet, le prélèvement des tissus provoque leur mort : les cellules déversent leurs enzymes (autodigestion des tissus) ; Les organes sont plongés dans un volume de fixateur (formol à 10%, annexe I) environ 60 fois supérieur à celui de l'organe. Chaque pièce est accompagnée d'une étiquette portant toutes les indications utiles.

❖ **Inclusion :**

Ce processus comporte quatre étapes :

1. **Déshydratation :** L'inclusion dans la paraffine nécessite au préalable la déshydratation des pièces histologique (bains successifs d'éthanol de degrés croissants, jusqu'à l'absolu, (annexe I). La paraffine étant insoluble dans l'eau et soluble dans les hydrocarbures benzéniques benzène, toluène ou xylène.
2. **Eclaircissement :** il permet l'élimination complète des traces d'alcool et l'imprégnation par les 5 bains de xylène, solvant de la paraffine. La durée du chaque bain est 1 heure.
3. **Pénétration des pièces par la paraffine :** cette étape consiste à éliminer le xylène et à le remplacer par 2 bains de paraffine.
4. **Confection des blocs de paraffine :** dans cette étape, ont été utilisés des moules de métal (tissus-TEK111) et des cassettes en plastique sur lesquelles sont inscrites les indications de la pièce traitée. La paraffine fondue est versée dans les moules légèrement préchauffés à 45°C où on dépose délicatement l'organe imprégné. La cassette est déposée sur le moule. Le bloc n'est démoulé qu'après refroidissement totale sur une plaque froide et il est conservé à la congélation à une température de -4°C jusqu'à la réalisation des coupes.

❖ **Microtomie :**

1. Confection des coupes

Tout d'abord, installer le bloc sur le porte bloc du microtome qui est réglé à 20 µm à fin d'éliminer le surplus de la paraffine. Lorsque la pièce apparaît dans le plan de coupes, on ramène l'échelle à 2 µm pour obtenir des coupes fines sous forme de rubans.

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 45°C. A l'aide d'un diamant, les indications de l'organe sont gravées sur la lame correspondante.

❖ **Coloration**

Le but de la coloration est de rendre plus évidents les différents constituants cellulaires et tissulaires. Ceci est obtenu à l'aide de colorations topographiques : coloration de routine et

trichrome de Masson et rouge Congo. Les coupes ne seront prêtes à recevoir les colorants qu'après les trois étapes suivantes :

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

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

3. Coloration :

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

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

- Rouge Congo : Cette coloration marque en rouge les dépôts d'amylose.

❖ 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 (*leica*).

❖ Étude en microscope photonique

L'observation des coupes colorées est effectuée à l'aide d'un microscope optique. Cet appareil permet d'obtenir une image agrandie (20 à 1000 fois) par une combinaison optique de la coupe éclairée par une lumière qui la traverse.

II.2.3. Etude Morphométrique

Afin de tracer des histogrammes pour faire une comparaison entre les tailles des tubes séminifères et des épидидymes de notre espèces qui sont le chat « *Félis catus* », mangouste « *Herpestes ichneumen* », le chien « *canis lupus familiaris* » et enfin le Genette « *Genetta genetta* », les mesures ont été réalisées sur des coupes histologiques des animaux étudiés. Les images sont capturées par un appareil photo numérique (HiROCAM, MA88-500, BME lab and Science, St. Paul, USA) connecté à un microscope photonique (Optika B 235, Italie) via le logiciel TS View (Microscopes America, Cumming, GA, USA).

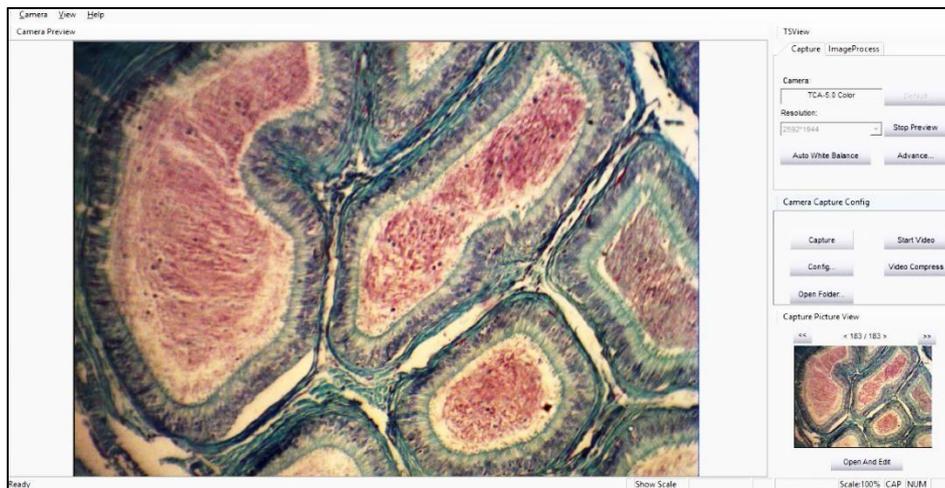


Figure 14 : photos représentant la capture des images par un appareil photo numérique (HiROCAM, MA88-500, BME lab and Science, St. Paul, USA) connecté à un microscope photonique (Optika B 235, Italie) via le logiciel TS View (**Original**).

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

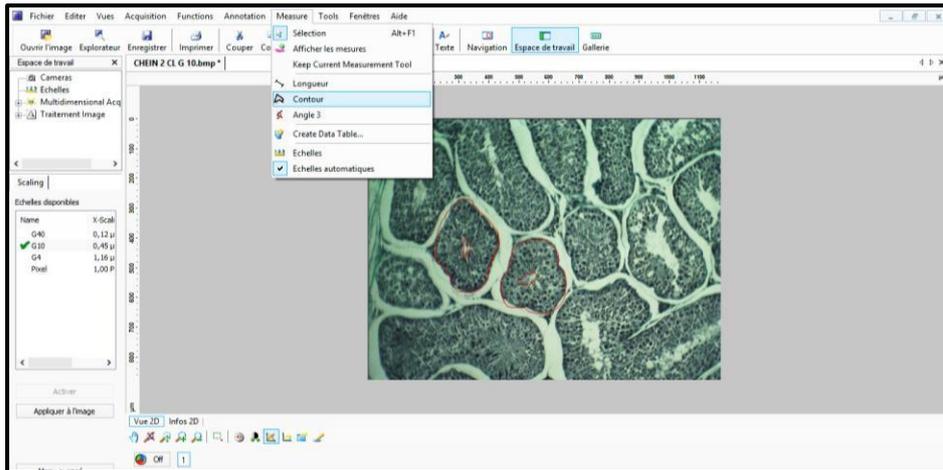


Figure 15 : Méthode de mesure la surface des tubes séminifères par logiciel "Axio Vision 4.6.3.0" (original).

Ce système d'analyse d'images a été étalonné à l'aide d'une lame micrométrique graduée. Afin d'obtenir les mesures des diamètres (petite et grande axe) et périmètre en µm et les surfaces en µm². Dans notre étude morphométrique sur 3 animaux de chaque espèce, et pour chaque coupe on a effectué 50 mesures pour la surface, le diamètre et le périmètre au grossissement G×10 ; pour les tubes séminifères ainsi que 20 mesures au grossissement G×40 afin de mesurer le contour des épидидymes. Les hauteurs des cellules principales de l'épididyme

II.2.4. Analyse statistique

Les résultats obtenus sont présentés sous forme de moyennes ± ESM. □ **Moyenne arithmétique (x) des valeurs individuelles**

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

Σ x : Somme des valeurs individuelles

N : nombre de valeurs

• **Erreur Standard à la Moyenne (E.S.M)**

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

δ :Écart type

x_i : Valeur individuelle

- **Coefficient de corrélation**

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

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

x_i et y_i : valeur individuelle comparées x et y :
moyenne des valeurs individuelle comparées

□ Validité statistique

La validité statistique des différences est calculée par student et test de Student en utilisant le logiciel **statistica**.

La différence entre deux moyennes comparées est statistiquement significative si la probabilité "p", lue en fonction du nombre de degrés de liberté ($d.d.l = n1+n2 -2$) est égale ou inférieure à 5%.

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

$0,01 < p < 0,05$: elle est significative (*).

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

Si $p < 0,001$: elle est hautement significative (***)

II.2.5. ANALYSES PHYLOGENETIQUES

II.2.5.1. Utilisation des données de la GenBank

Tous les travaux réalisés sur les espèces qu'on a étudié (chat, mangouste, chien, genette) sont représentés aux niveaux de la GenBank sous format des séquences d'ADN, pour cela nous avons étudiée cette base de données pour positionnée sur le plan phylogénétiques les deux espèces.

II.2.5.2.1. Présentation de la GenBank

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

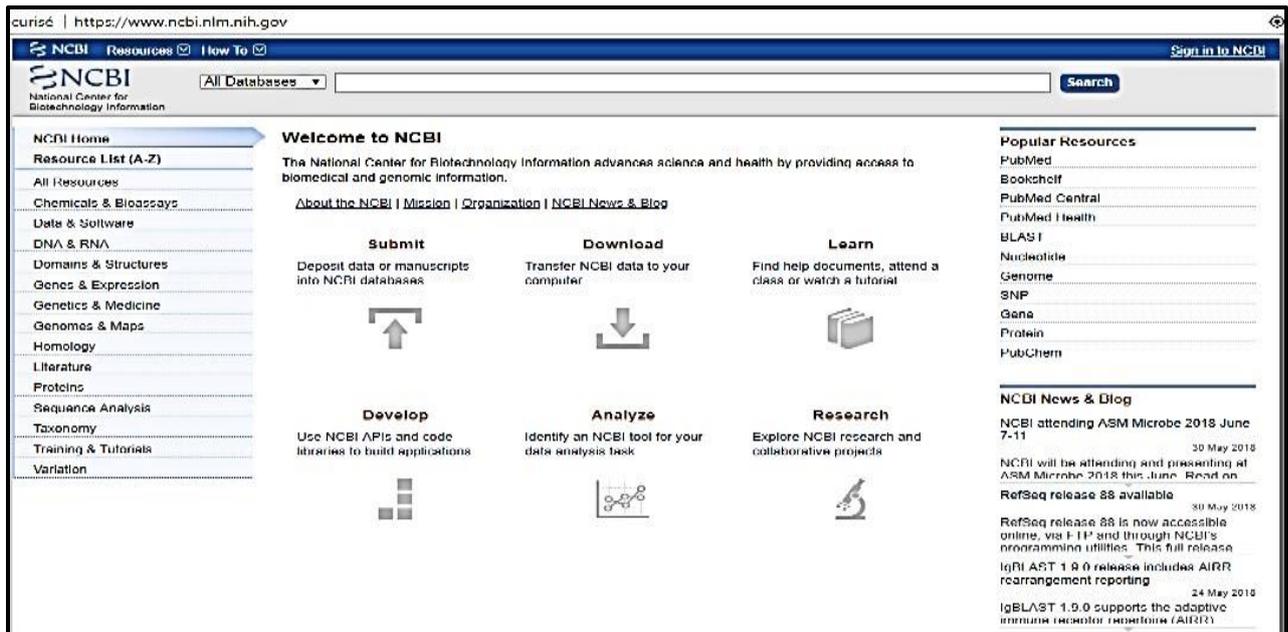


Figure 16 : La page d'accueil de la GenBank(Original).

II.2.5.2.2. Extraction des données de la GenBank

Afin d'une reconstruction phylogénétique, nous avons récupérées les séquences qui se trouvent au niveau de la GenBank, nous avons passé par plusieurs étapes distinctes :

1. Nous avons construit l'URL suivante : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>
2. Nous avons choisi recherche par taxonomie.
3. Nous avons écrit le nom de notre genre (par exemple : *Félis*).

1. En entrant sur nos espèces, nous obtenons toutes les espèces qui appartiennent à ces genres.

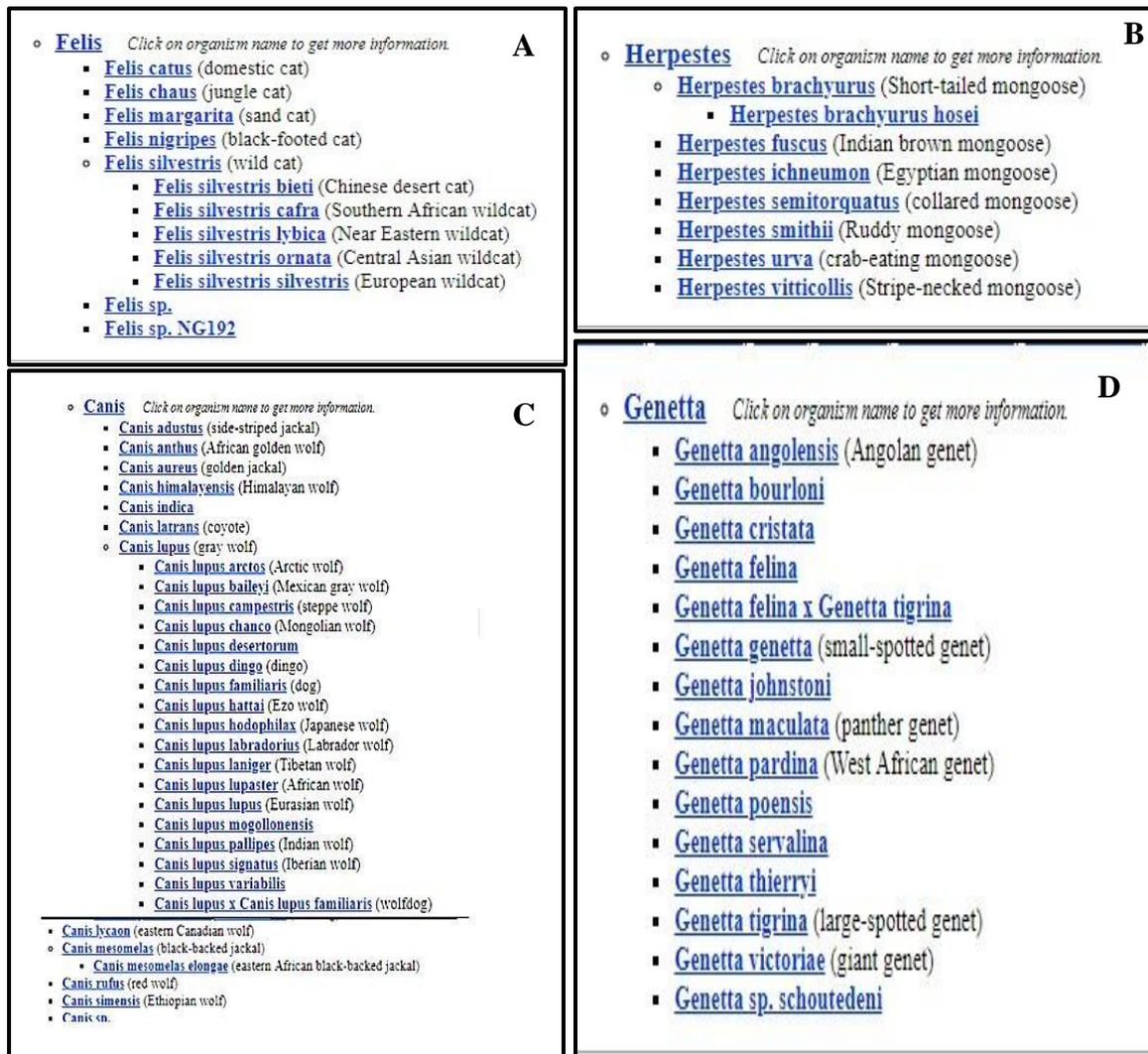


Figure 17 : Taxonomies des espèces de nos genres «*félis (A)*, *Herpestes(B)*, *canis(C)*, *Genetta (D)* » obtenues dans la GenBank (**Original**).

5. Nous avons analysé nos espèces pour identifier le nombre des séquences nucléotidiques trouvées dans cette banque (Figure 18).

A		B		C		D	
Entrez records		Entrez records		Entrez records		Entrez records	
Database name	Direct links						
Nucleotide	86,970	Nucleotide	92	Nucleotide	318,392	Nucleotide	240
Nucleotide EST	919	Protein	36	Nucleotide EST	382,638	Protein	112
Nucleotide GSS	3,107	Popset	17	Nucleotide GSS	853,938	Popset	67
Protein	57,640	PubMed Central	43	Protein	85,280	PubMed Central	55
Structure	14	Taxonomy	1	Structure	122	Taxonomy	1
Genome	1			Genome	1		
Popset	182			Popset	310		
GEO Datasets	104			GEO Datasets	8,210		
PubMed Central	1,969			UniGene	23,847		
Gene	46,020			PubMed Central	4,151		
SRA Experiments	556			Gene	51,497		
Protein Clusters	12			HomoloGene	17,434		
Bio Project	45			SRA Experiments	5,369		
Bio Sample	464			GEO Profiles	205,497		
Bio Systems	495			Protein Clusters	13		
Assembly	5			Bio Project	394		
Clone DB	239,767			Bio Sample	5,833		
Probe	2,877			Bio Systems	1,984		
PubChem BioAssay	1,097			Assembly	6		
Taxonomy	1			Clone DB	202,745		
				Probe	65,011		
				PubChem BioAssay	18,651		
				Taxonomy	1		

Figure 18 : Les données disponibles sur la GenBank concernant les espèces « *Félis catus* », « *Herpestes ichneumen* », « *canis lupus familiaris* », « *Genetta genetta* » (nucléotide, protéine, s 19structure, génome.....ect) (Original).

6. Les séquences représentatives de chacune des différentes espèces ont été téléchargées sous format FASTA à partir de la "GenBank"(Figure 19)

```

Felis catus cytochrome oxidase subunit 1 (COI)
gene, partial cds; mitochondrial
GenBank: KY661882.1
GenBank Graphics PopSet
>KY661882.1 Felis catus cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene,
partial cds; mitochondrial
TCTTTACCTTTTATTCGGTGCCTGAGCTGGCATGGTGGGGACTGCTCTTAGTCTTCTAATCCGGGCCGAC
TGGGCCAACCTGGTACACTACTAGGAGATGATCAGATTTACAATGTAATCGTCAC TGCCCATGCTTTTGA
TGATCTTTTTATGGTGATGCCTATTATAATTGGAGGGTTCGGAAACTGATTGGTCCCATTAATAATTGA
GCTCCTGACATAGCATTTCCCGAATAAAACAACATGAGCTTCTGACTCCTCCCTCCATCCTTTCTACTCT
ACTCGCCTCATCTATGGTGAAGCCGGAGCGGGAAGCTGGAACAGTATACCCACCCCTAGCCGGCAAC
CTGGCTCATGCAGGAGCATCCGTAGACCTAACTATTTTTTCTACTACACCTGGCAGGTGTCTCTCAATCT
TGGGTGCTATTAATTTCTACTACTATTATTAATAAAAACCTCCTGCCATGTCCCAATATCAAACACC
TCTATTCTGCTGATCAGTCTTAATCACTGCTGTCTTACTACTTCTATCACTTCCAGTCTTAGCAGCGGGA
ATCACTATATTATTAACAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGACCCCGCTGGGGGAGGAGATCCTA
TCTTATACCAACACTTATTC
    
```

Figure 19 : Exemple d'une séquence nucléotidique au format FASTA (Original).

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

Le MEGA est conçu pour réaliser de diverses analyses statistiques dans un programme et pour produire des résultats dans des sorties de publication de qualité (Kumara et al., 1994). Nous avons alors procédé à l'analyse phylogénétique à partir des séquences nucléotidiques de chaque espèce du genre «*Felis*», «*Herpestes*», «*Canis*», «*Genetta*» par différentes étapes :

1. Les alignements multiples des séquences nucléotidiques et protéiques ont été réalisés au moyen du logiciel MEGA version 5 (Tamura et al., 2011) (Figure 20) par la méthode d'alignement progressif ClustalW (Thompson et al., 1994), nous avons choisi ce type d'alignement par ce qu'il est très utile et permet d'étudier les différences et les similitudes entre les séquences d'un même marqueur moléculaire (Figure 21).

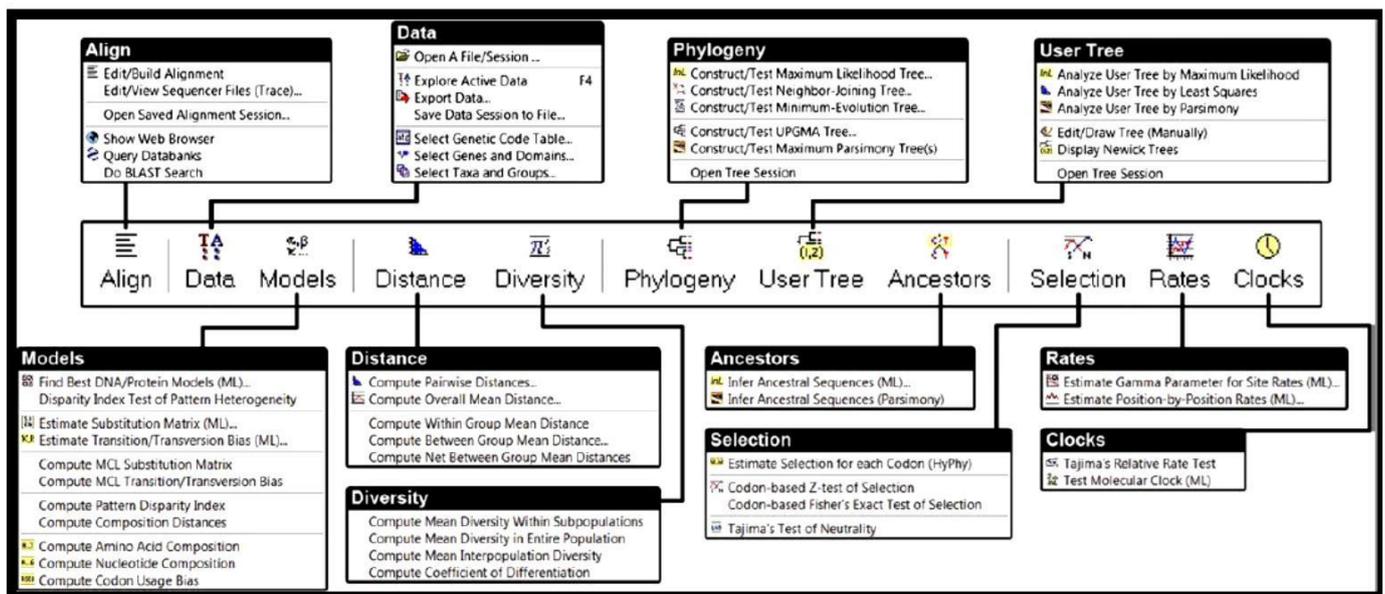


Figure 20 : Barre d'outils de MEGA 5 (Original).

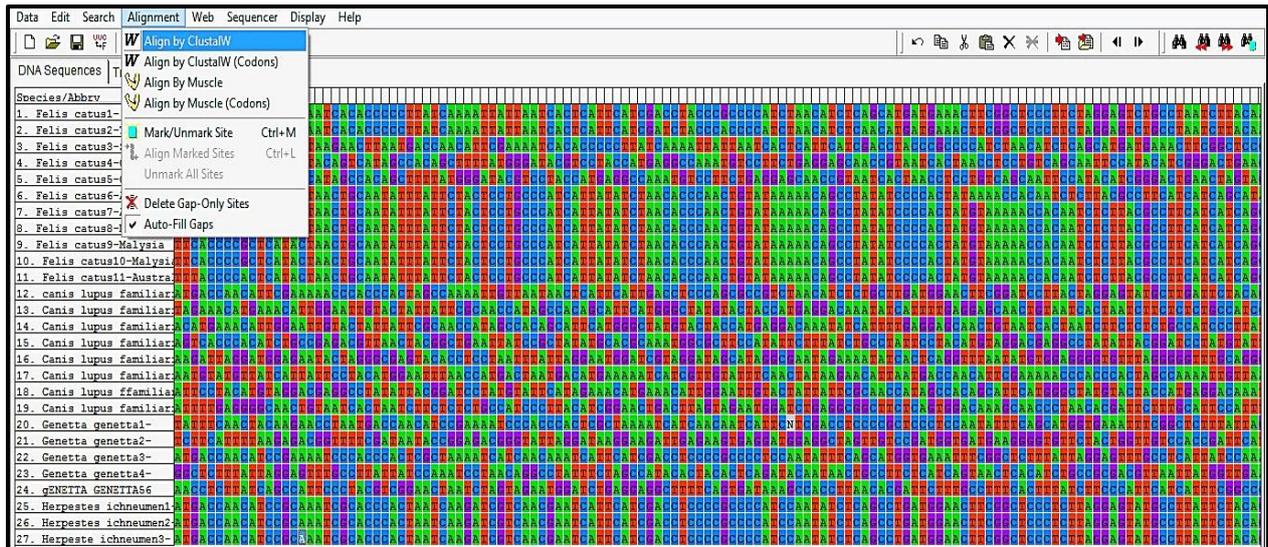


Figure 21 : Fenêtre de programme ClustalW utilisé pour l'alignement multiple des séquences du marqueur moléculaire choisi (**Original**).

Une fois les séquences alignées 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 22), la plus simple, basée sur l'hypothèse que les taux de mutation et donc les vitesses d'évolution sont identiques sur les différentes branches de l'arbre.

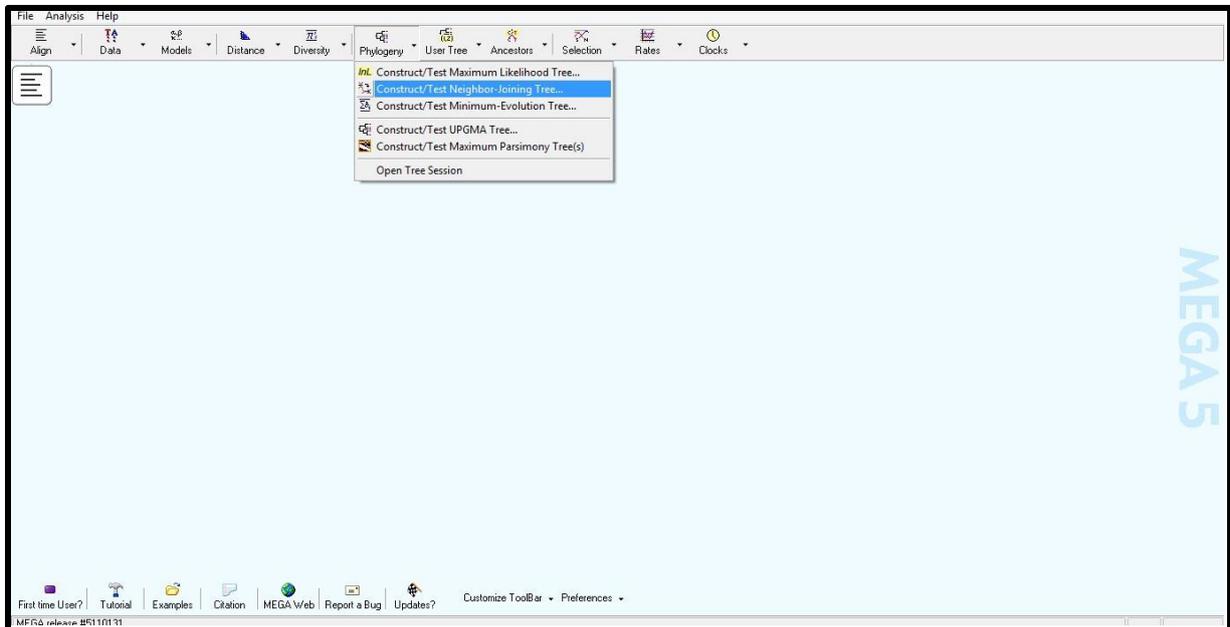


Figure 22 : La méthode UPGMA utilisée pour la construction de l'arbre phylogénétique (**Original**).

Dans ce modèle, les transitions et les transversions ne sont pas équivalentes en termes de proportions et leur fiabilité a été évaluée par le programme "Bootstrap" qui a été appliqué avec un nombre de répétitions égal à 1000 (Figure 23). Les répliques sont ramenées en pourcentages et ils sont indiqués au niveau des nœuds.

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

Compute Cancel Help

Figure 23 : Les paramètres utilisés pour la reconstruction phylogénétique (Original).

III.1. RESULTATS

Notre études est basées sur la comparaison de l'appareil génital mâle du chat « *Félis catus* » et du mangouste « *Herpestes ichneumon* » avec deux autres espèces, la genette « *Genetta genetta* » et le chien « *canis lupus familiaris* », les résultats sont subdivisées entre 3 volets, Le premier concerne l'études des aspects morphologiques des testicules (macroscopique), le second volet décrit l'aspect histologique et morphométrique des testicules et de l'épididyme et enfin le dernier volet rapporte l'études phylogénétique.

III.1.1. Résultat de l'étude morphologique

Avant de réaliser les coupes histologiques, nous avons faits une comparaison morphologique des testicules.

Nous avons remarqué que la taille des testicules du chien est plus élevée que celle des 3 autres espèces notamment la mangouste, le chat et la genette et la même chose pour la morphologie des testicules (Figure 24).

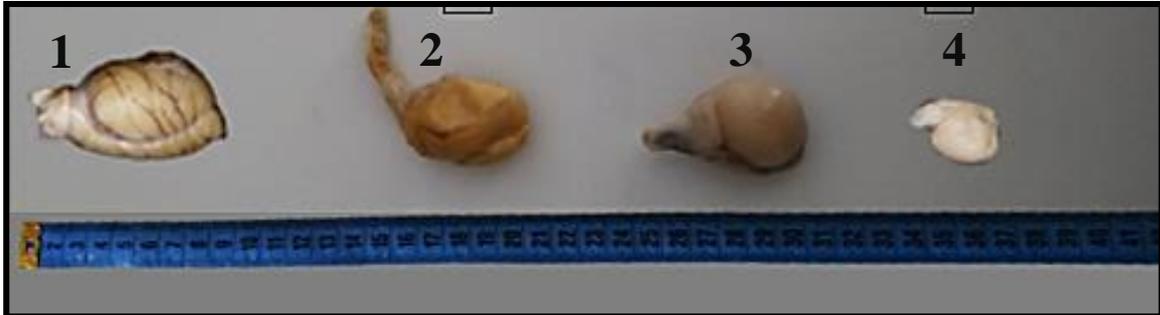


Figure 24 : Représente la taille et la morphologie des différents testicules de chat, de mangouste, le chien et la genette organisée de manière décroissant.

1 : testicule du chien, 2 : testicule de la mangouste, 3 : testicule du chat, 4 : testicule de la genette

Nous avons fait une comparaison morphologique entre la taille des testicules du chat et du chien au période de repos, la figure 25 montre que la taille des testicules du chien et plus grande que celle du chat.



Figure 25 : Photos représentent une comparaison des tailles entre les testicules du chat « *Félis catus* » et du chien « *Canis lupus familiaris* ».

III.1.2. Résultat histo-morphométrique

III.1.2.1. Structure et morphométrie du testicule et d'épididyme

Nous avons réalisé des coupes transversales et longitudinales des testicules et des épидидymes du chat « *Félis catus* », chien « *canis lupus familiaris* », mangouste « *Herpestes ichneumon* » et de genette « *Genetta genetta* » (Figure 26), ces coupes sont colorées avec 3 colorations :

- Coloration de routine (hémalum éosine) : Cette coloration colore le cytoplasme en rose grâce à l'éosine, et le noyau en violet grâce à l'hématéine.
- Trichrome de Masson : La coloration trichrome de Masson est utilisée pour différencier les fibres de collagène et le tissu musculaire dans des coupes histologiques. Cette coloration associe trois colorants, hématoxyline (un colorant nucléaire violet), fuchsine ponceau (un colorant cytoplasmique rouge), vert lumière (un colorant des fibres de collagène vert).
- Rouge congo : Cette coloration marque en rouge les dépôts d'amylose.

Les lames histologiques ont été observées sous microscope photonique à différents grossissements pour voire à :

- Gx4 : pour voir la forme générale des tubes séminifères au niveau de testicule.
- Gx10 : la forme et la distribution des tubes séminifères et des épидидymes.
- Gx40 : Toutes les cellules contenant dans le tube séminifère et l'épididyme.
- Gx100 : Le déroulement du processus spermatogénèse.

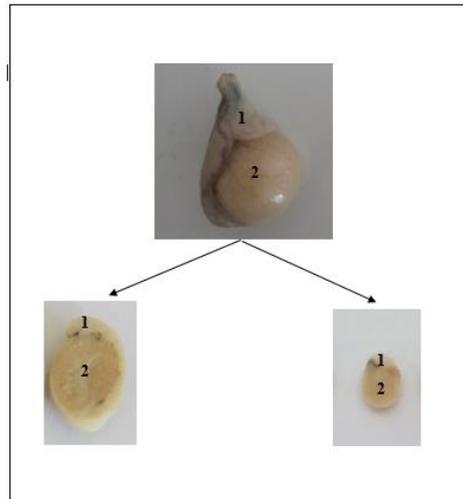


Figure 26 : Représente la coupe longitudinale et transversale du testicule et de l'épididyme du chat
1 : Epididyme, 2 : Testicule

III.1.2.1.1. Aspect structural et morphométrie des tubes séminifères

✓ Observation au faible grossissement

+ Au grossissement Gx 4 :

+ **Chez *félis catus* et le *canis lupus familiaris* :** Les tubes séminifères sont soudés les uns aux autres avec une lumière centrale (Figure 27 : A, B, C, D, E, F).

+ **Chez *Herpestes ichneumon* et *Genetta genetta* :** les tubes séminifères sont dispersés avec une lumière invisible, l'espaces extra-tubulaire est occupées par un tissu interstitiel (Figure 27 : G, H, J, K, L, M).

+ Au grossissement Gx 10 :

+ **Chez *félis catus* et le *canis lupus familiaris* :** Nous avons observées un réseau de canaux qui recueillent les produits de l'épithélium séminifère. Les tubes séminifères sont constitués d'une lumière centrale par fois occupées par des spermatozoïdes, elle est bordée par un épithélium séminifère, les tubes séminifères sont soudés les uns aux autres, entre les tubes nous avons trouvées des espaces occupées par le tissu interstitiel (Figure 28 : A, B, C, D, E, F).

+ **Chez *Herpestes ichneumon* et *Genetta genetta* :** Les tubes séminifères sont séparés les uns aux autres avec un tissu interstitiel bien développées, la lumière est invisible et pleine de spermatozoïdes. Nous avons remarqué aussi la présence des enveloppes situées entre le tube séminifère et le tissu interstitiel (Figure 28 : G, H, J, K, L, M).

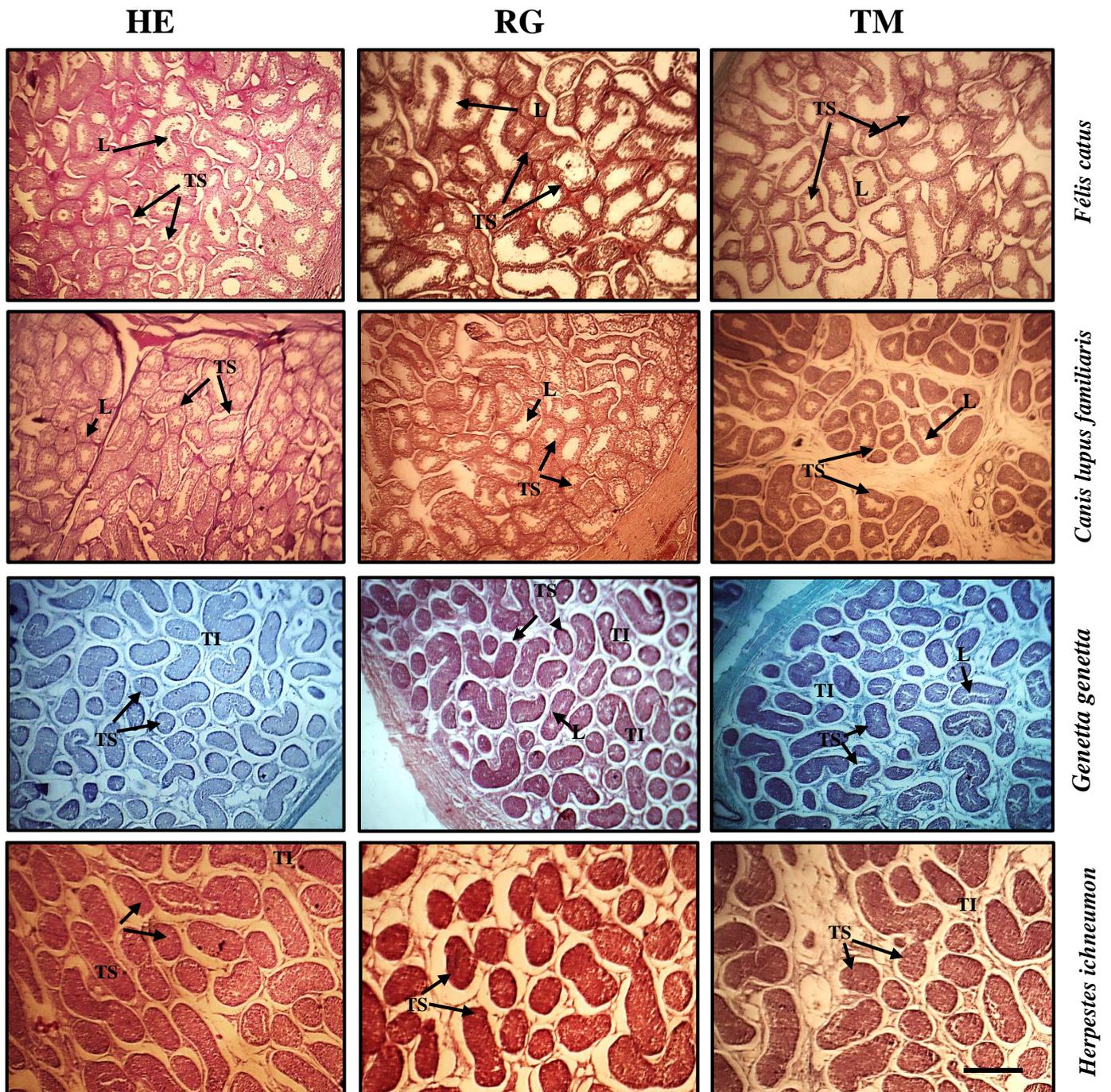


Figure 27 : Aspect structural du tube séminifère chez *Féelis catus* et *Herpestes ichneumon*, *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta* au grossissement Gx4 : Colorées à hémalum éosine, Rouge congo, trichrome de Masson, Scal bar : 200µm.
 TS : tube séminifère, L : lumière, TI : tissu interstitiel

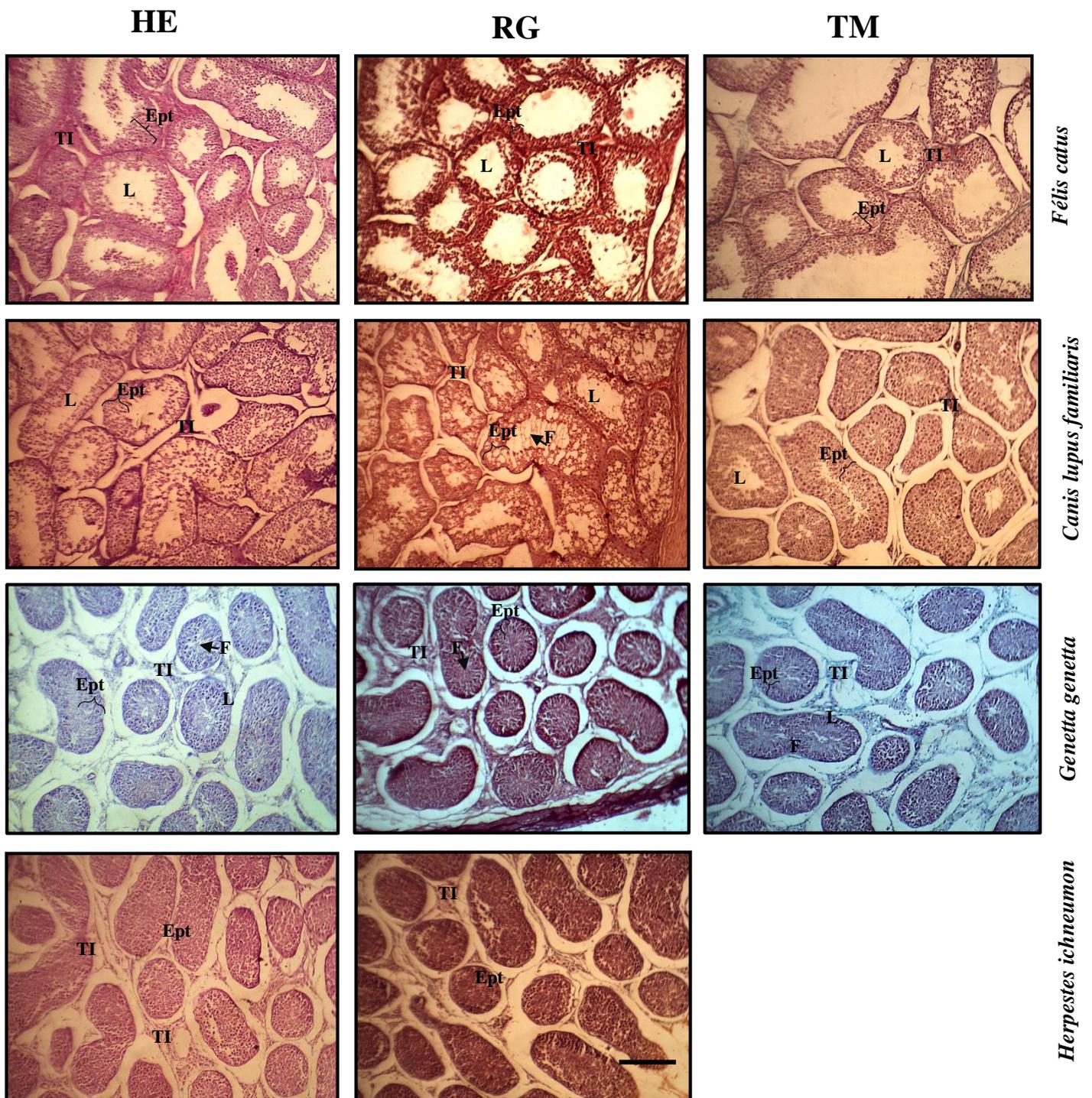


Figure 28 : Aspect structural du tube séminifère chez *Félis catus* et *Herpestes ichneumon*, *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta* au grossissement Gx10 : Colorées à hémalun éosine, Rouge congo, trichrome de Masson, Scal bar : 100µm.
 Ept : épithélium, L : lumière, TI : tissu interstitiel, F : flagelle

L'étude morphométrique a été portée sur la surface et la lumière des tubes séminifères chez les quatre espèces étudiées c'est ainsi que nous avons noté que :

✚ Chez *Felis catus* et le *canis lupus familiaris* :

Les tubes séminifères sont volumineux chez le chat et le chien, ils sont soudés d'une façon anarchique. Une lumière visible pauvre en de spermatozoïdes (Figure 28 : B) laquelle est large chez le chat. L'étude morphométrique à montrer que la surface de ces tubes est respectivement chez le chat et le chien $57704,5 \pm 1464,2$; $33482,8 \pm 818,5$ et la lumière de ces tubes est de $16251 \pm 871,6$; $5513 \pm 247,3$ respectivement (Figure 29 : A, B).

L'étude statistique a montré qu'il existe une différence statistiquement hautement significative entre ces deux espèces étudiées en faveur de *Felis catus* la différence est de 72,34% ; $p=0,000000$ pour la surface des tubes et de 66,07% ; $p=0,000000$ pour la lumière de ces tubes.

✚ Chez *Herpestes ichneumon* et *Genetta genetta* :

Les tubes séminifères sont de petite taille et sont dispersés. Une lumière invisible et pleine de spermatozoïdes lequel est large chez *Genetta genetta*. On a noté aussi la présence d'une large enveloppe entourant les tubes séminifères.

L'étude morphométrique a montré que la surface de ces tubes est respectivement $21728,4 \pm 524,3$; $20191,1 \pm 1335,4$, la lumière est de $(364,7 \pm 13,7$; $9366,3 \pm 1054,8)$ (Figure 29 : A, B). La surface de l'enveloppe est de $54530,9 \pm 1262,8$ chez *Genetta genetta* et $40548,4801 \pm 1007,11657$ chez *Herpestes ichneumon* (Figure 30).

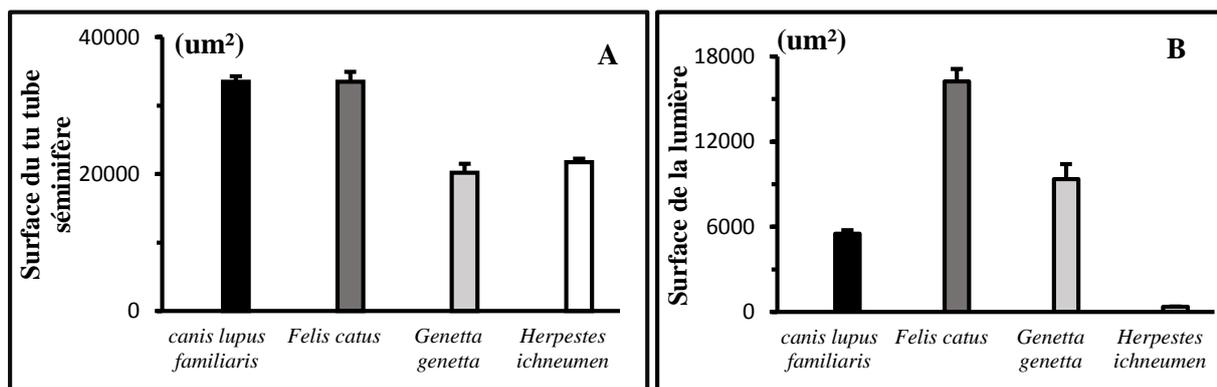


Figure 29 : Morphométrie tissulaire du Tubes séminifères, *Felis catus*, *Herpestes ichneumon*, *canis lupus familiaris*, *Genetta genetta*, A : Surface des tubes séminifères, B : Surface de la lumière

L'étude statistique a montré l'absence de différence significative entre les deux espèces étudiées pour la surface, puisque la différence n'est que 7,6% ; $p= 0,2831$ alors que pour la

surface, la différence est statistiquement hautement significative pour la lumière de ces tubes (-96,1% ; $p=0.000000$) et pour (-25,9031%, $p=0,000000$).

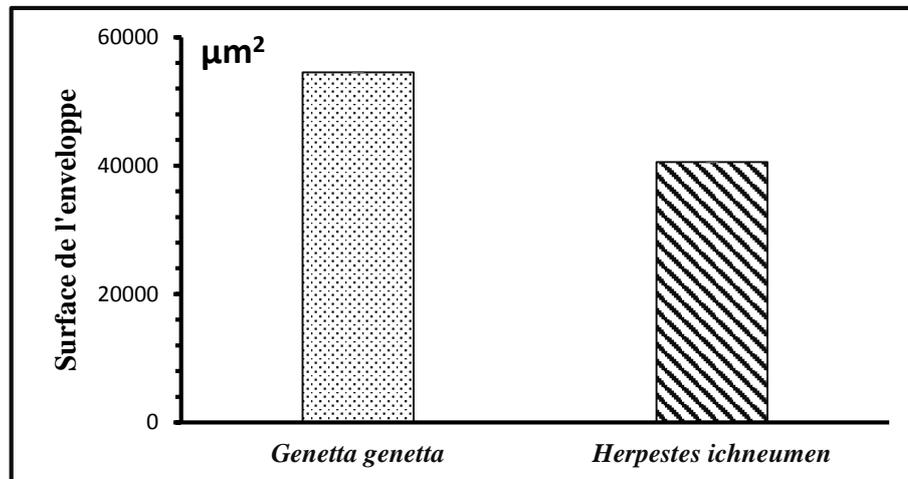


Figure 30 : Morphométrie tissulaire des enveloppes du Tubes séminifères, *Herpestes ichneumon*, *Genetta genetta*.

✓ Observation au fort grossissement

✚ Au grossissement G×40

✚ Chez *félis catus* et le *canis lupus familiaris* :

L'épithélium séminifère délimitant une lumière centrale montre que l'épithélium est constitué d'une fine tunique fibreuse périphérique et de plusieurs couches de cellules. Les cellules les plus matures sont localisées à proximité de la lumière alors que les cellules les moins matures sont proches de la tunique externe. Elles correspondent à quatre générations cellulaires ayant débuté leurs évolutions. Les tailles et les formes des cellules varient de la périphérie vers la lumière en relation avec la taille et l'aspect de noyau. Le tissu occupe une petite surface et contient des cellules de grandes tailles soit isolées soit en amas, en relation étroite avec les réseaux capillaires sanguins et lymphatiques, en outre, il est lié avec le tube séminifère (Figure 31 : A, B, C, D, E, F).

✚ Chez *Herpestes ichneumon* et *Genetta gennetta* :

La lumière est occupée par les spermatozoïdes, l'épithélium séminifère contient des cellules à différents stade de maturation distribuées le long de l'épithélium de manière non organisée, le tissu interstitiel occupe une grande surface et contient des cellules de grandes tailles soit isolées soit en amas (Figure 31 : G, H, J, K, L).

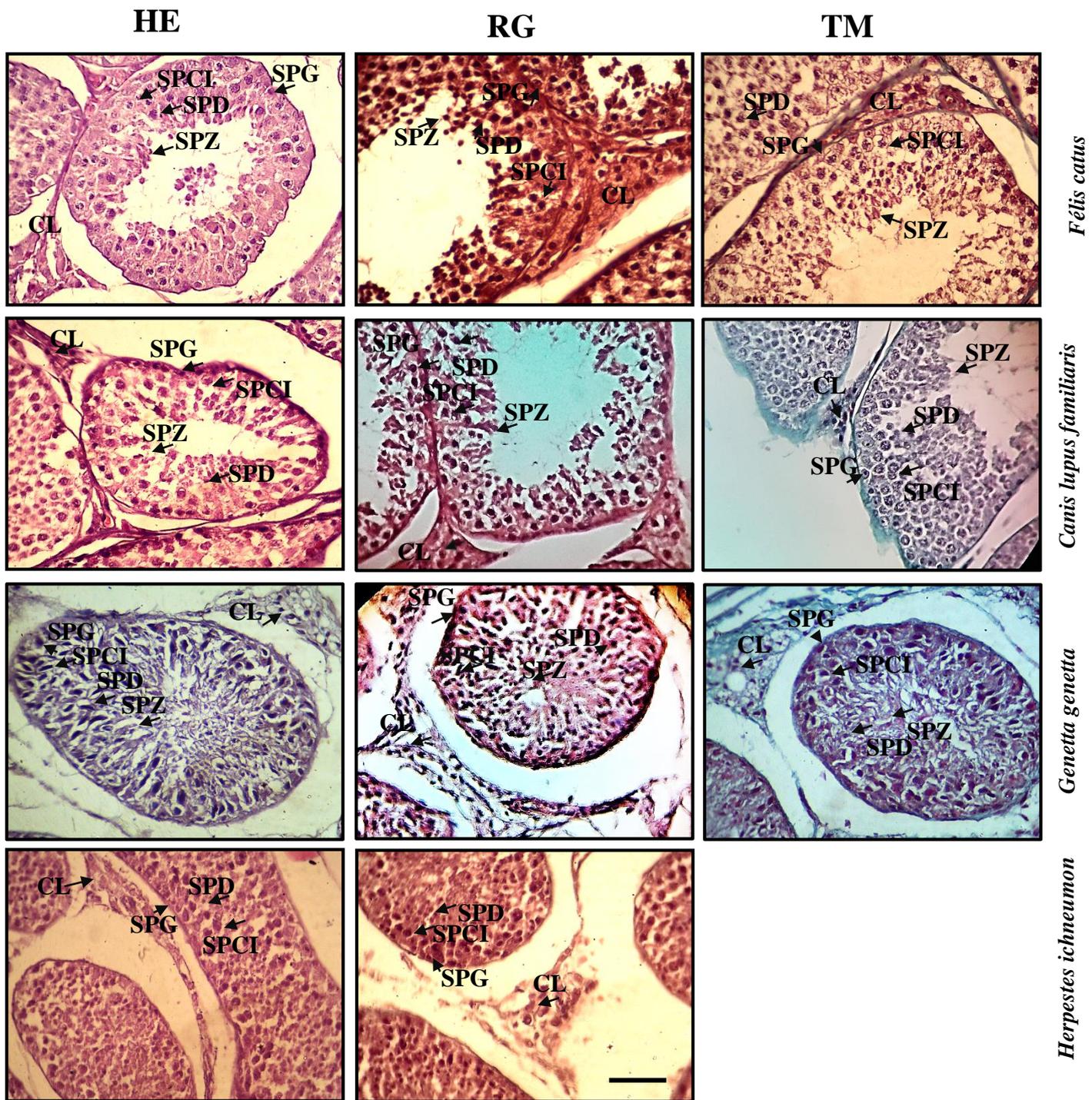


Figure 31 : Aspect structural du tube séminifère chez *Felis catus* et *Herpestes ichneumon*, *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta* au grossissement Gx40 : colorées à hémalum éosine, Rouge congo, trichrome de Masson. Scal bar : 50µm.

CL : cellule de Leydig, SPG : spermatogonie, SPCI : spermatocyte I, SPD : spermatide, SPZ : spermatozoïde

Au grossissement G×100

• Chez *félis catus* et le *canis lupus familiaris* :

L'épithélium séminifère est constitué de cellules ayant atteint différents stades de différenciation, en particulier les caractéristiques des cellules, de la périphérie vers la lumière sont successivement observées des cellules :

- De petite taille et de forme ovale, possédant un volumineux noyau (spermatogonie).
- De dimensions légèrement supérieures aux précédentes et circulaires, présentant un gros noyau rond et volumineux contenant une chromatine disposée en amas grossiers ou en fins filaments (spermatocytes)
- De taille similaire à celle des précédentes, comportant un noyau relativement moins volumineux et dense, ainsi qu'un cytoplasme homogène finement granuleux, leur situation proche à la lumière, ces sont des spermatides.
- Allongées, en forme de goutte possédant un flagelle situé du côté de la lumière du tube et contenant un noyau également long et légèrement courbé, de coloration uniforme. Les cellules décrites sont les cellules de Sertoli (Figure 32 : A, B, E, F).

Chez *Herpestes ichneumon* et *Genetta genetta* :

Les cellules germinales (Les spermatogonies, les spermatocytes I et II, les spermatides, les spermatozoïdes) sont difficiles à identifier, de plus leur taille est petit, Le processus de la spermatogénèse est élevé, nous avons observées aussi que la quantité des spermatozoïdes est plus grandes et les cellules de Leydig ont une forme allongée (Figure 32 : C, D, G, H).

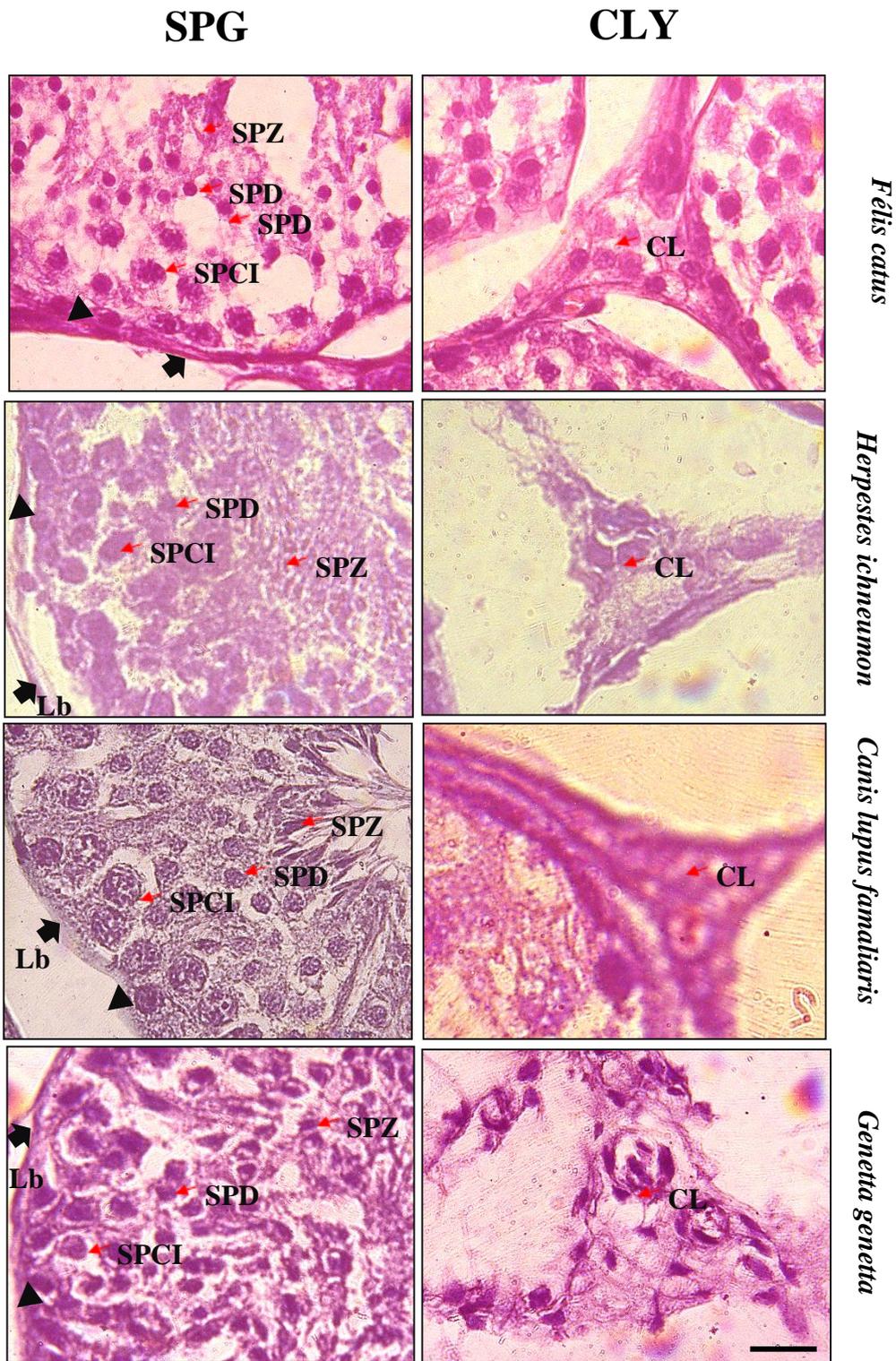


Figure 32 : Aspect structural du tube séminifère chez *Félis catus* et *Herpestes ichneumon*, *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta* au grossissement Gx100 : (A, B, C, D, E, F, G), Colorées par hémalum éosine, Rouge congo, trichrome de Masson. Scal bar : 10µm.

CL : cellule de Leydig, SPG : spermatogonie, SPCI : spermatocyte I, SPD : spermatide, SPZ : spermatozoïde, Lb : lame basal, VS : vaisseaux sanguins

III.1.2.1.2. Aspect structural des épидидymes Chez les 3 espèces étudiées

✓ Observation au faible grossissement

✚ Au grossissement Gx 10 :

- Chez *félis catus* et le *canis lupus familiaris* :

L'épithélium de l'épididyme est de type cylindrique pseudostratifié et les cellules sont munies de longs stéréocils. L'épididyme est entouré d'une couche circulaire de cellules musculaires lisses. La lumière est parfois occupée par des spermatozoïdes (F33 : A, B, C, D, E, F).

- Chez *Genetta genetta* :

L'épithélium est de type cylindrique pseudostratifié avec la présence des stéréocils au niveau du pôle apical, l'espace extra-tubulaire est occupée par les cellules musculaires lisses (F33 : G, H, J).

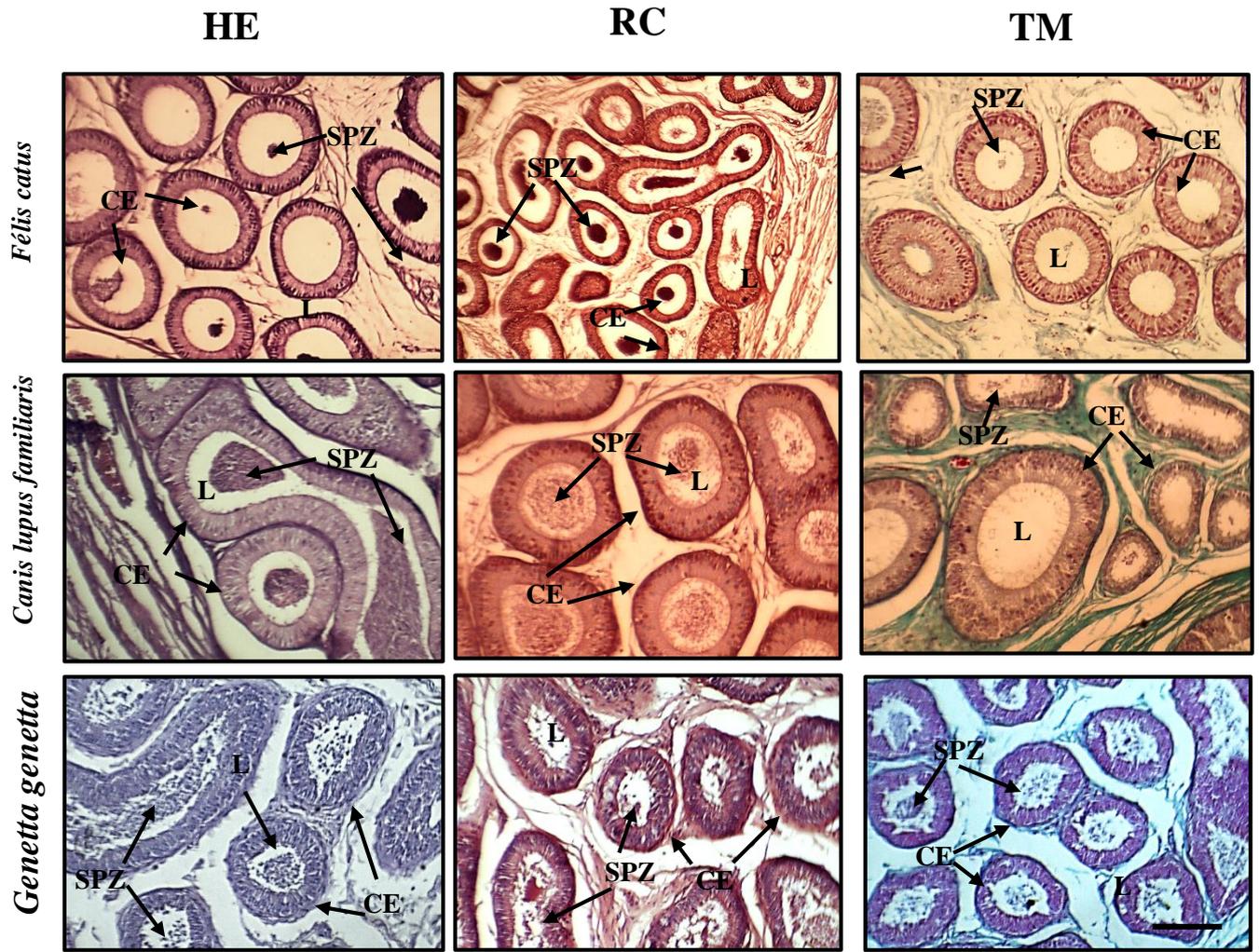


Figure 33 : Aspect structural du tube séminifère chez *Félis catus* et *Herpestes ichneumon*, *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta* au grossissement Gx100 : Colorées à hémalum éosine, rouge congo, trichrome de Masson, Scal bar : 100µm.
 SPZ : spermatozoïdes, CE : canal épидидymaire, L : lumière, HE : hématoxyline éosine, RC : rouge congo, TM : trichrome de Masson

L'étude morphométrique a porté sur la surface et la lumière de l'épididyme ainsi qu'à la hauteur des cellules principale de l'épithélium et la zone supra nucléaire chez les quatre espèces étudiées :

- **Chez *Felis catus* et le *canis lupus familiaris* :**

La surface de l'épididyme est de respectivement chez le chat et le chien $7356,7 \pm 545,8$; $39628,6 \pm 1995,2$), celle de la lumière est de $(8138,56 \pm 332,3$; $14227,42 \pm 973,2)$ (Figure 34 : A, B) donc il existe une différence statistiquement hautement significative entre ces deux espèces en faveur de *Felis catus* et *Canis lupus familiaris*, la différence est de 438,7% ; $p=0,000000$ pour la surface des tubes et de 74,8% ; $p=0,000000$ pour la lumière d'épididyme en faveur du chien.

- **Chez *Herpestes ichneumon* et *Genetta genetta* :**

La surface de l'épididyme est élevée chez la mangouste ($116379,7 \pm 2800,4$), par rapport à la genette ($34,7 \pm 1995,2$), il en est de même chose pour la lumière, qui est visible et parfois pleine de spermatozoïdes (Figure 34 : A, B). Ainsi l'étude statistique montre une différence statistiquement hautement significative entre ces deux espèces en faveur de *Herpestes ichneumon*, la différence est de 482,6% ; $p=0,000000$ pour la surface des tubes et de 1165,5% ; $p=0,000000$ pour la lumière d'épididyme.

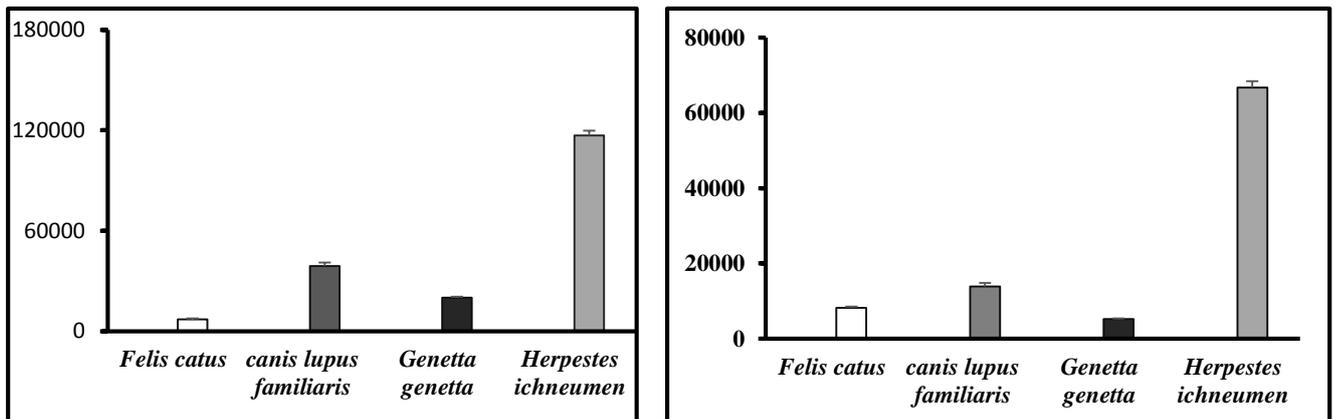


Figure 34 : la surface des épидидymes (A), la lumière des épидидymes (B), des 4 espèces étudiées, *félis catus*, *Herpestes ichneumon*, *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta*

Le canal épидидymaire est subdivisé en trois segments principaux : nous avons distinguées 3 régions : la tête, le corps et la queue dans laquelle existe souvent une réserve importante de spermatozoïdes, l'espèce indiquée est *canis lupus familiaris*.

La hauteur de l'épithélium varie en fonction du segment épидидymaire considéré. Épithélium est plus haut dans la région de la tête et plus bas dans celle de la queue. En revanche, le calibre de l'épididyme est étroit au niveau de la tête et plus large au niveau de la queue. Une couche de muscle lisse circulaire interne, dont l'épaisseur augmente de la tête vers la queue, et une couche longitudinale externe, visible à partir du corps, entourent l'épithélium et la lame basale. La couche musculaire est animée de mouvements péristaltiques facilitant le transport des spermatozoïdes le long du canal épидидymaire. Les stéréocils sont longs et ramifiés au niveau de la tête de l'épididyme. Leur hauteur diminue au niveau de la queue (Figure 35).

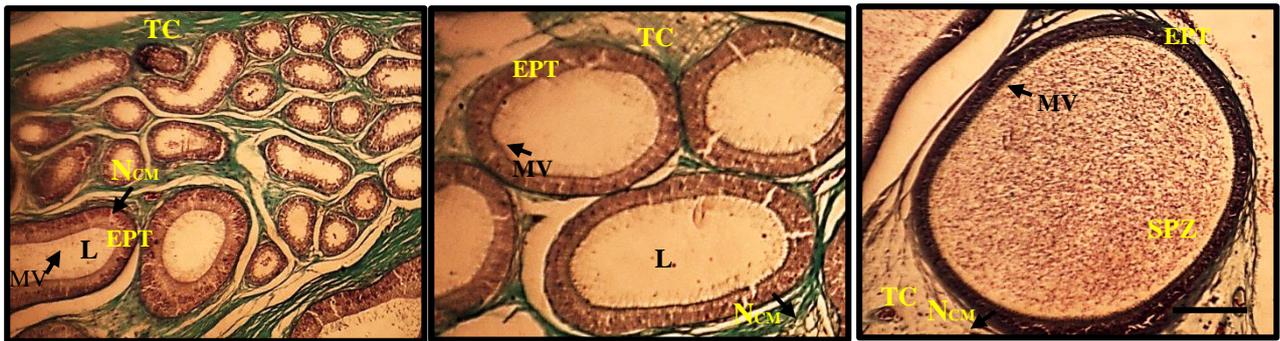


Figure 35 : La comparaison de l'épididyme de trois sections chez *canis lupus familiaris*, épидидyme au niveau de la tête (A), épидидyme au niveau du corps (B), épидидyme au niveau de queue (C), au grossissement Gx100, Scal bar : 100µm.

SPZ : spermatozoïdes, MV : microvillosités, NCM : noyau de cellules musculaire, L : lumière, T.C : tissu Conjonctif, EPT : épithélium,

✓ Observation au fort grossissement

✚ Au grossissement Gx40

• Chez les 4 espèces étudiées :

La paroi du canal épидидymaire est constituée d'un épithélium de hauteur constante non festonné reposant par l'intermédiaire d'une membrane basale sur une couche conjonctivo-musculaire. La lumière circulaire contient de nombreux spermatozoïdes. Nous avons observé aussi des cellules reposant sur la lame basale dans la partie profonde de l'épithélium, et des cellules principales prismatique présentant au niveau du pôle apical des stéréocils, et un chorion contenant des fibres musculaires lisses circulaires (Figure 36).

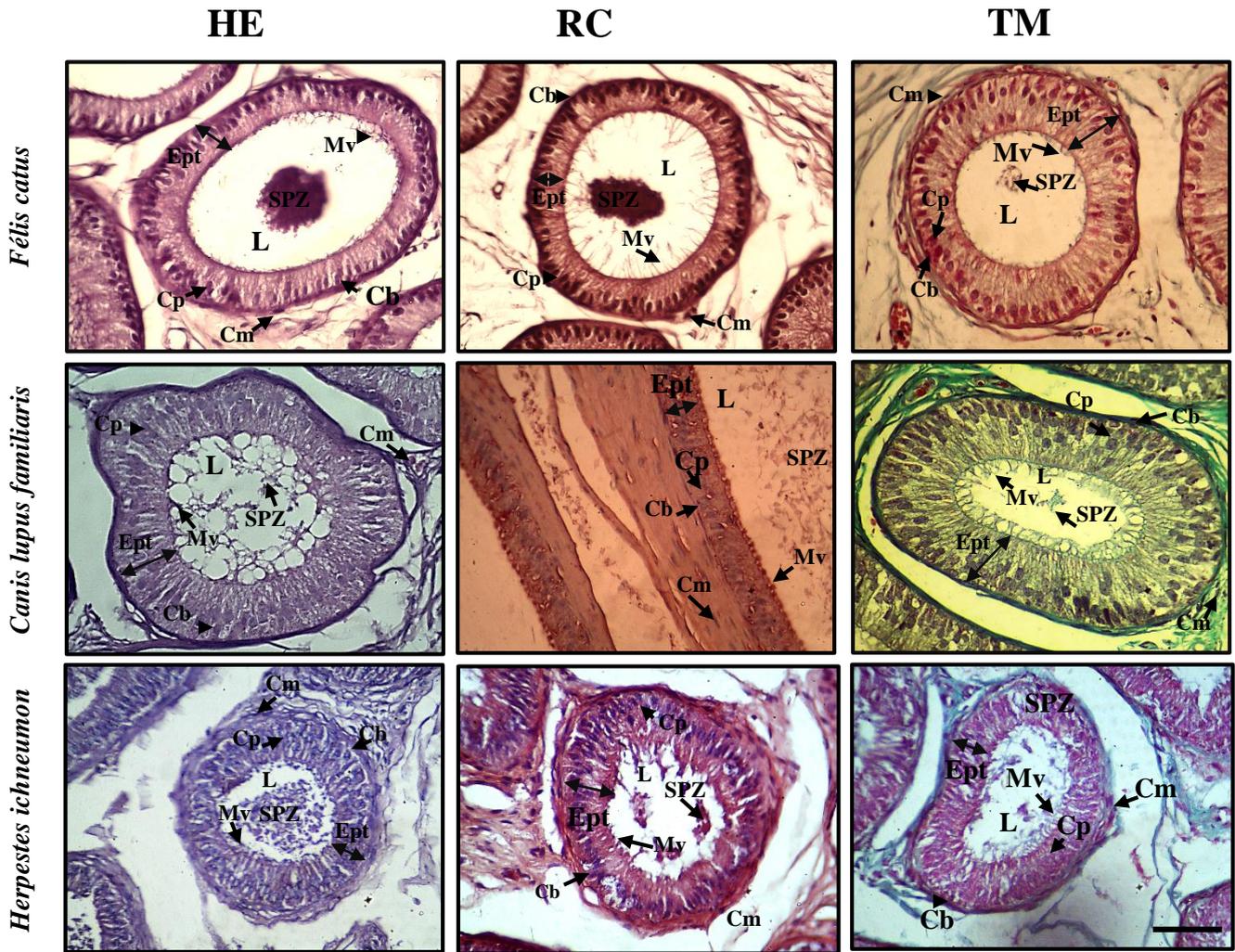


Figure 36 : Aspect structural du l'épididyme chez *Félis catus*, *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta* au grossissement Gx40 : (a, b, c), Colorées par hémalun éosine, rouge congo, trichrome de Masson, Scal bar : 50µm.

SPZ : spermatozoïdes, CP : cellule principale, Cm : cellules musculaire, L : lumière, Mv : microvillosités, EPT : épithélium, Cb : cellule basal, EPT : épithélium, HE : hématoxyline éosine, RC : rouge congo, TM : trichrome de Masson

L'étude morphométrique montre la hauteur de l'épithélium et du supra-noyau du canal épидидymaire chez *félis catus*, *canis lupus familiaris* et *genetta genetta*.

- **Chez *félis catus* et le *canis lupus familiaris* :**

Les hauteurs de l'épithélium et celles la zone supra nucléaire sont respectivement de (33,9± 0,6 ; 40,28± 1,8) et (19,3± 0,5 ; 28,6± 0,8) chez le chien et le chat (Figure 37 : A, B), on constate donc il les cellules du chien sont plus élevés les différences sont 18,78% ; p= 0,002241 pour la hauteur de l'épithélium et de 48,12% ; p=0.000000 pour la hauteur de supra-noyau.

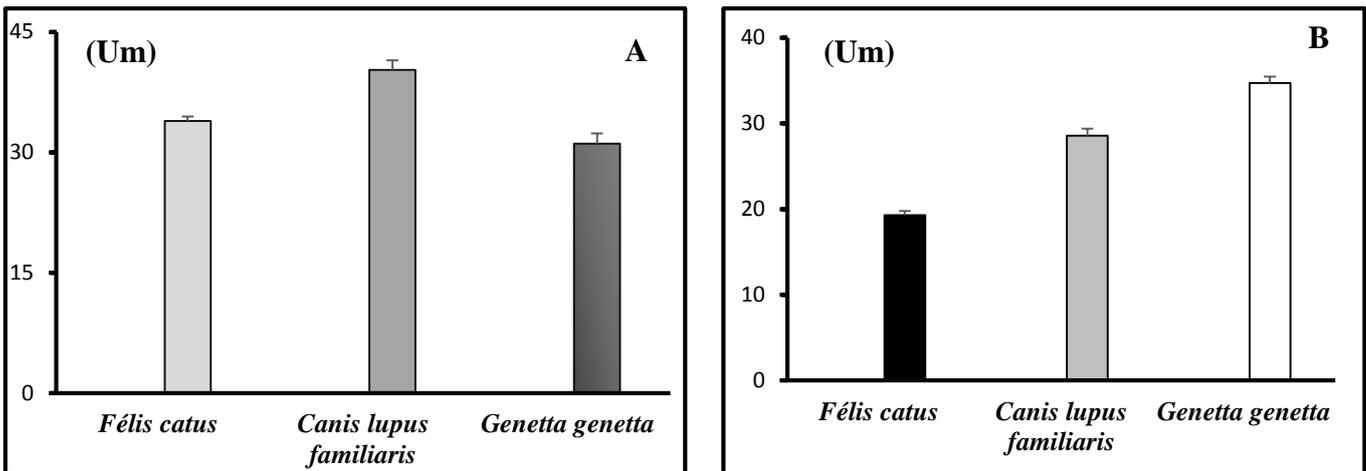


Figure 37 : La hauteur de l'épithélium des épидидymes (A), la hauteur supra noyau des épидидymes (B), des 3 espèces étudiées, *félis catus*, *Herpestes ichneumon*, *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta*

✚ Au plus fort grossissement Gx100 :

Nous avons remarqué que les cellules principales ont des stéréocils longs chez *canis lupus familiaris* avec une lumière pleine de spermatozoïdes avec une hauteur de l'épithélium est plus haute et des cellules principales reposent sur la lame basale jusqu'à le pôle apical (Figure 38 : C) et des cellules basales reposent sur la lame basale.

Chez *Félis catus* et *Genetta genetta* ont des stéréocils courts (Figure 38 : A, B), la figure montre aussi deux types de cellules principale et basale comme le chien.

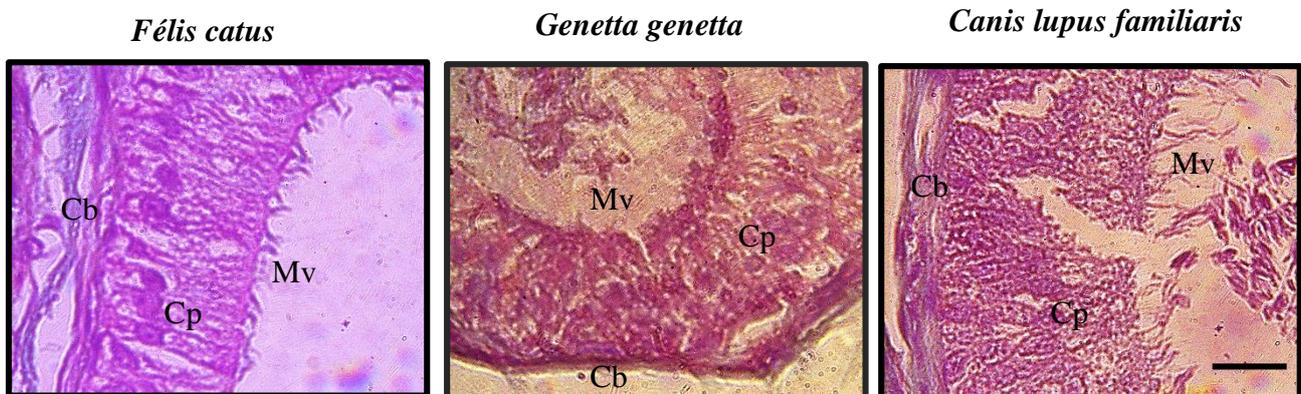


Figure 38 : Aspect structural du l'épididyme chez *Félis catus*, *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta* au grossissement Gx100 : (a, b, c), Colorées par Trichrome de Masson Scal bar : 10µm.

Cp : cellule principal, Cb : cellule basal, Mv : microvillosités.

III.3. Résultat phylogénétique

Le but de l'étude phylogénétique est de faire une comparaison entre 4 espèces, le chat « *Félis catus* », la mangouste « *Herpestes ichneumon* », le chien « *Canis lupus familiaris* », et la genette « *Genetta genetta* », afin de trouver s'ils sont proches ou non sur le plan moléculaire.

III.3.1. Analyse des séquences de la GenBank

Notre étude est basée sur la reconstruction phylogénétique à partir de séquences d'ADN de 4 espèces récupérées auprès de la GenBank. Les espèces qui ont été utilisées dans ces analyses phylogénétiques sont, le chat « *Félis catus* », la mangouste « *Herpestesichneumon* », la genette « *Genetta genetta* » et le chien « *Canis lupus familiaris* ».

Tableau I : Les séquences d'ADN nucléaire et mitochondrial extraites de la GenBank pour les 4 espèces.

Espèces ADN	<i>Félis catus</i>	<i>Herpestes ichneumon</i>	<i>Canis lupus familiaris</i>	<i>Genetta genetta</i>
ADN génomique	610	73	5720	136
ADN mitochondrial	611	73	5721	136

Nous nous sommes basées dans l'étude phylogénétique sur l'ADN mitochondrial pour établir des liens de parenté entre nos espèces (Figure 39), parce que en général les taux de mutation de l'ADN mitochondrial sont plus grands que ceux de l'ADN nucléaire (Ballard et al., 2004).

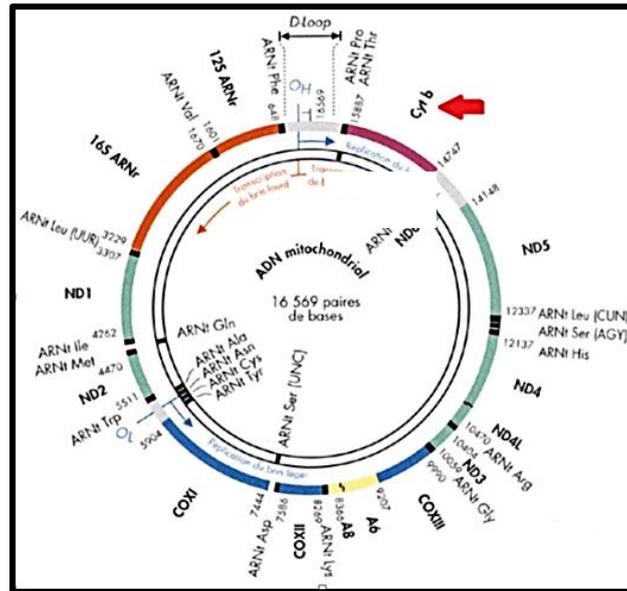


Figure 39 : Structure de l'ADN mitochondrial (Rustin et al., 1995).

Nous avons récupéré toutes les séquences d'ADN mitochondrial pour les 4 espèces afin de choisir les séquences représentatives pour construire l'arbre phylogénétique. Les résultats sont représentés dans le tableau III :

Après analyse du tableau III, nous constatons que le gène le plus utilisé c'est le gène du cytochrome b qui est présent dans les 4 espèces étudiées (sélectionnées en rouge dans le tableau), les séquences correspondant à ce gène-là sont récupérées et analysées (voir le tableau dans l'annexe II).

Tableau II : Les gènes mitochondriaux de nos espèces (*chat, chien, mangouste, genette*)

Espèces Gene	<i>Félis catus</i>	<i>Herpestes ichneumon</i>	<i>Canis lupus familiaris</i>	<i>Genetta Genetta</i>
COI	119	487	72	-
ATPase 6 and ATPase 8-like	2	25	-	-
12S ribosomal ARN	10	3	1059	-
D-loop	260	8	3669	28
Cytochrome b	194	28	1676	28
Cytochrome c	245	-	1751	-
NADH 5	186	-	1542	-
Cytochrome c oxidase subunit 2	24	-	1357	-
ND2	9	1	1331	1
ND1	-	-	-	-
ATPase 8	2	-	4	-
ND5; ND6; Cyt B; ARNt-GLX	138	-	-	-
NADH 5, NADH 6	6	-	-	-
ND5; ARNt-GLX; Cyt b	-	-	-	-
12S ribosomal ARN	10	3	1059	-
16S Ribosomal ARN	18	5	1403	-
COI	64	487	107	-
Mitochondrion	110	-	1643	-
D-loop; ARNt-pro; ARNt-thr	41	-	176	-
D-loop; ARNt-pro	42	7	1803	7
ARNt-Glu	6	-	1392	-
ARNt-leucine	1	-	1545	-
ARNt acid aspartique	1	-	1	-
ARNt-Glu; ARNt-met	5	-	1391	-
COII; Cytochrome c; ARNt-Lys	1	-	1	-
ATPase 8; ATPase 6	20	-	5	-
CHR NA7	-	1	-	-
IRBP	-	1	-	-
AchR	-	1	-	-
Clone TAGA4-76	-	1	-	-
Clone CTAT4-59 sequence microsatellite	-	1	-	-
Clone TCTA4-47 sequence microsatellite	-	1	-	-
Clone TGTA430 sequence microsatellite	-	1	-	-
Clone TAGA3-27 sequence microsatellite	-	1	-	-
Clone CAGA3-22 sequence microsatellite	-	1	-	-
Clone TATC3-19 sequence microsatellite	-	1	-	-
Clone TCTA3-16 sequence microsatellite	-	1	-	-
Clone TAGA2-52 sequence microsatellite	-	1	-	-
Clone TATC2-30 sequence microsatellite	-	1	-	-
C21 transtherine sequence microsatellite	-	1	-	-
FGB5(beta fibrinogene)	-	1	-	-
Transtheretine	-	1	-	-

III.3.2. Construction des arbres phylogénétiques

La construction de l'arbre phylogénétique a été réalisée à l'aide du programme MEGA5 et nous avons choisi la méthode UPGMA. Premièrement, nous avons choisi les séquences représentatives de cyt b :

- 1. Pour l'espèce *Genetta genetta* :** Au total, nous avons 12 séquences de cyt b, 9 séquences sont de l'Afrique de différentes tailles (entre 276pb à 1140pb), une séquence du Oman (403pb), une séquence du Maroc (277pb) et une seule séquence du Benin (278pb), nous avons choisi 6 séquence de l'Afrique de différentes tailles (412pb à 1140pb).
- 2. Pour l'espèce *Canis lupus familiaris* :** il y a 51 séquences au total, 21 séquences de l'Europe de taille (396pb à 1453pb), 5 séquences de Taiwan de taille (351pb à 383pb), 4 séquences de la l'Allemagne de taille (280pb à 406pb), 2 séquences du Portugal (885pb et 886pb), 2 séquences du Mexique (467pb et 560pb), 2 séquences de l'Espagne (148 et 424pb), 2 séquences de l'Australie (277pb et 300pb), 2 séquences de la Chine (582pb et 1140pb), 2 séquences du Japon (229pb et 1190pb), 2 séquences de Thaïlande (200pb et 829pb) et une seule séquence pour les pays suivants : Pologne (490pb), Australie (1029pb), Turquie (200pb), Eurasie et Amérique de Nord (507pb), Nouvelle Zélande (376pb), Inde (? pb), Corée (380pb), nous avons choisi 8 séquences, une seule séquence de Chine (1140pb), Mexique (560pb), Australie (1029pb), Eurasie et Amérique du Nord (507pb), Espagne (424pb), Australie (300pb), Nouvelle Zélande (376pb), Corée (380pb) .
- 3. Pour l'espèce *Herpestes ichneumon* :** Nous avons trouvée 6 séquences dont 3 séquences de France de taille (124pb à 350pb), 2 séquences du Portugal (402pb et 1140pb) et une seule séquence de l'Espagne de taille 423pb, nous avons choisi la séquence du Portugal de taille (402 pb) et la séquence de l'Espagne (426 pb).
- 4. Pour l'espèce *Felis catus* :** Au total nous avons 44 séquences dont ; 24 séquences de l'Australie (1140pb à 2581pb), et 9 séquences de l'Allemagne (149pb à 415pb), 3 séquences de Malaisie de taille (2556pb à 2590pb), 3 séquences de Thaïlande (402pb à 549pb), une seul séquence de chacun des pays suivants : Taiwan (402pb), Espagne (428pb), Chine(536pb) , USA (226pb), nous avons choisi les séquences de l'Australie de taille (1140pb à 2603pb).

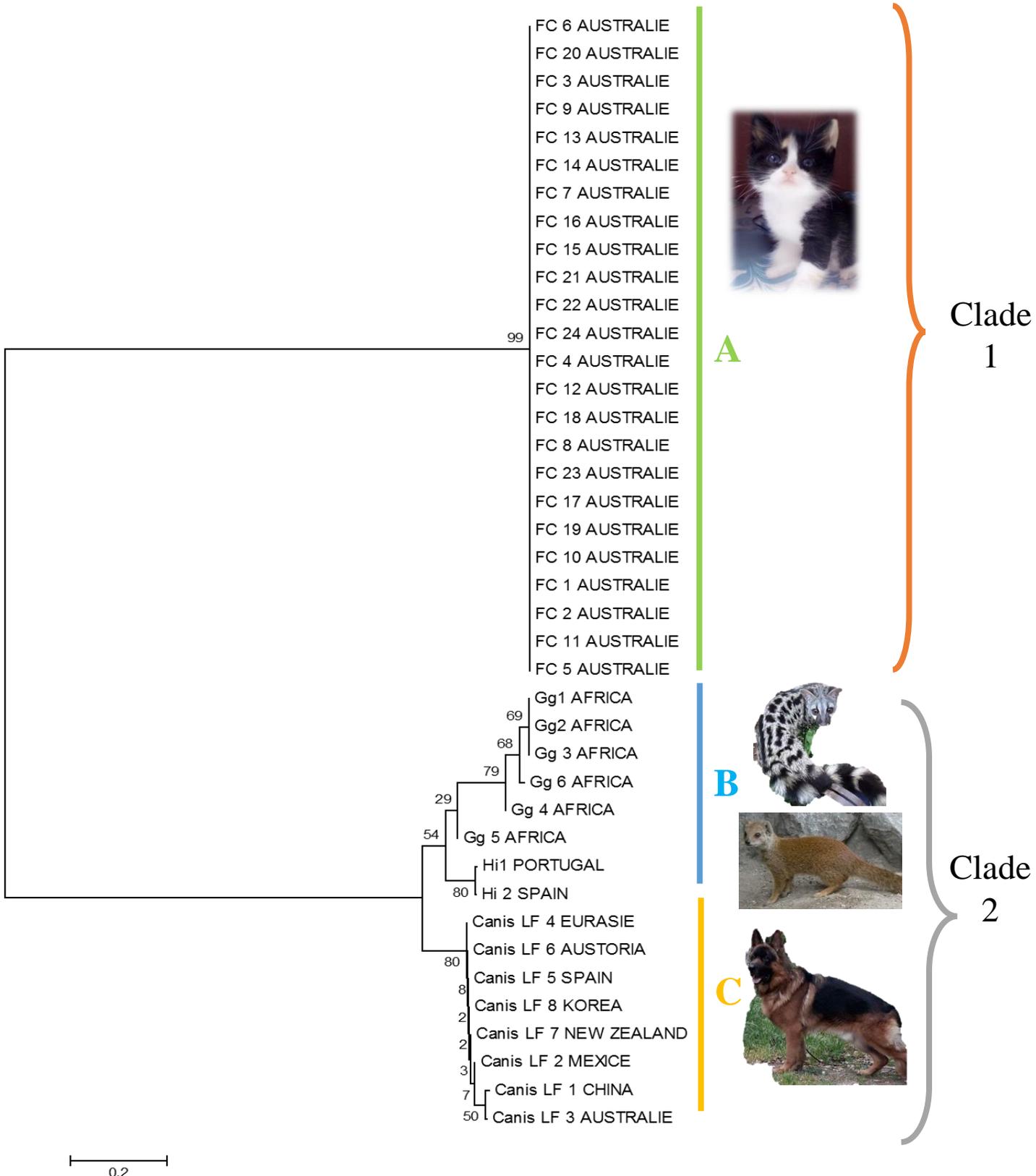


Figure 40 : Arbre phylogénétique obtenu des séquences de cytb des 4 espèces (*Félis catus*, *Herpestes ichneumon*, *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta*) en utilisant la méthode UPGMA par logiciel MEGA5.

L'arbre phylogénétique obtenu est présenté dans la figure ci-dessous. Une reconstruction phylogénétique est alors faite à partir de chaque alignement chimérique généré, et la valeur associée à chaque nœud dans l'arbre correspond au nombre de fois sur 1000 répliquions où cette même topologie a été trouvée. D'après l'arbre, les séquences de *cytb* se répartissent en 2 clades principaux :

Clade 1 : Il comprend le sous clade *Félis catus* seulement.

Clade 2 : Il comprend *Genetta genetta*, *Herpestes ichneumon* et *Canis lupus familiaris*, il est subdivisé en 3 sous-clades :

- Sous Clade B : représenté par les 2 espèces, *Genetta genetta* et *Herpestes ichneumon*.
- Sous Clade C : comprend *Canis lupus familiaris*.

III.2. Discussion

Les résultats rapportés dans cette étude seront rappelés brièvement puis comparés aux données de la littérature, notamment chez le chat, le chien, la mangouste et la genette. Ils concernent dans un premier temps l'étude morphologique et dans un deuxième temps ils portent sur l'histo-morphométrie des testicules et des épидидymes. Les résultats sont discutés et comparés avec d'autres études.

III.2.1. Etude morphologique

Nous avons comparé la taille des testicules du chat et du chien qui ont été ramenés de la clinique vétérinaire TAGASTE de Dely Brahim et la clinique vétérinaire de KOUBA avec les testicules de la mangouste récupérée morte dans la région de Souk-Ahras et de la genette récupérée morte au niveau du parc national de Belezma à Batna. Nous avons constaté que le testicule du chien est plus grand que celui du chat et de la mangouste. Où le testicule du chien vient en premier, puis la mangouste, puis directement derrière le testicule du chat et en dernier la genette. Nous avons également fait une comparaison entre le testicule du chien et celui du chat, en notant qu'il existe une différence de taille entre eux, où le testicule du chien reste le plus grand. Cela veut dire qu'il y'a une similarité entre le poids du testicule et le poids corporel de l'animal, nos résultats se diffèrent aux résultats de **França (2003)** qui a trouvé que le poids moyen des testicules du chat est de 1,2g et qu'il n'existe aucune corrélation significative entre le poids des testicules et le poids corporel ($r = 0,36$), par contre, il a trouvé qu'il y a une similarité entre les deux testicules ($P > 0,05$).

Nos résultats sont basés aussi sur la morphologie des épидидymes des 4 espèces, nous avons trouvées que, 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 rattaché au testicule par un ligament qui est le ligament de la queue de l'épididyme, **Mahmud (2015)** a confirmé ces résultats chez le chameau et le taureau.

III.2.2. Etude histo-morphométrie III.2.2.1.

Testicules

En comparant les 4 espèces étudiées, nous avons trouvé que les tubules séminifères du

Félis catus et *Canis lupus familiaris* sont soudés les uns aux autres avec une taille volumineuse, entre les tubes se trouve l'espace interstitiel, coloré en vert avec le trichrome de Masson, cet espace est réduit. Alors que chez la mangouste et la genette, les tubes séminifères sont dispersés et séparés les uns des autres par un tissu interstitiel (la coloration verte est très attirante) sous forme d'un réseau, ce dernier prend un large espace, et elle est pleine de cellules, ces sont les cellules de Leydig, les tubes sont petits par rapport aux premiers. Les tubes séminifères sont entourés par des enveloppes situées entre le tube séminifère et le tissu interstitiel. Ces enveloppes testiculaires sont plus larges chez *Genetta genetta* par rapport au *Herpestes ichneumon*.

L'étude morphométrique montre que la surface du tube séminifère chez le chien et le chat est presque la même. En revanche, chez *Félis catus*, la lumière est vaste par rapport aux autres. D'après **Setchell (1982)**, chez les chevaux Crioulo, les tubules séminifères occupaient 78% du parenchyme testiculaire, cette proportion se situe dans la fourchette indiquée pour la plupart des espèces, qui se situe entre 60% et 90%, selon **Figueiró (2016)**, le diamètre tubulaire moyen et la hauteur de l'épithélium sont respectivement de 223 et 81 μm . Chez le chat domestique, **França et Godinho (2003)** ont trouvé que la densité volumique des tubes séminifères et des cellules de Leydig est respectivement d'environ 90% et 6%. Cela signifie que les cellules de Leydig occupent 50% du compartiment inter-tubulaire. La longueur totale des tubes séminifères par testicule et la densité volumique des cellules de Leydig ont montré une corrélation significative ($P < 0,05$) avec le poids des testicules ($r = 0,99$ et $r = 0,80$, respectivement). Cependant, aucune corrélation significative ($P > 0,05$) n'a été observée entre le diamètre tubulaire et le poids des testicules ($r = 0,11$) (**França et Godinho, 2003**).

La distribution des cellules germinales dans l'épithélium séminifère (spermatogonies, spermatocytes I, spermatocytes II, spermatides) est bien organisée dans épithélium séminifères chez *Félis catus* et même chez *Canis lupus familiaris*, nos résultats sont similaires aux résultats de **França et Godinho** qui a montré des cellules germinales à différents stades, par contre chez *Genetta genetta* et *Herpestes ichneumon*, il est difficile d'identifier le type des cellules germinales, ces dernières possèdent un noyau de forme allongée, la lumière devient invisible car elle est pleine de spermatozoïdes ce qui signifie qu'elles sont en période de reproduction.

III.2.2.2.Epididyme

La paroi du canal épидидymaire est constituée d'un épithélium de hauteur constante non festonné reposant par l'intermédiaire d'une membrane basale sur une couche conjonctivo-

musculaire, avec une lumière circulaire contenant de nombreux spermatozoïdes. Nous avons observées aussi des cellules reposant sur la lame basale dans la partie profonde de l'épithélium, et des cellules principales prismatique présentant au niveau du pole apical des stéréocils longs, et un chorion contenant des fibres musculaires lisses circulaires. En comparant avec le cobaye, selon **Hoffer et Greenberg (1972)**, le segment initial ou zone I de l'épithélium du canal épидидymaire diffère de celle des conduits efférents, dans ces derniers il y a une colonne pseudo-stratifiée. Dans l'initial segment du cobaye les quatre types de cellules distinctes peuvent être observées : cellules principales, cellules basales, cellules apicales et leucocytes intraépithéliaux ; la présente étude démontre que l'épididyme du cobaye se compose de sept zones morphologiquement distinctes, les caractéristiques qui différencient une zone de l'autre incluent des variations dans : le type de cellules, différence dans les régions de distribution, caractéristiques cytologiques distinctifs de la cellule principale, changement de la hauteur des cellules et du diamètre tubulaire.

Chez *Canis lupus familiaris*, la hauteur de l'épithélium varie en fonction du segment épидидymaire considéré, l'épithélium est plus haut dans la région de la tête et plus bas dans celle de la queue. En revanche, le calibre de l'épididyme est étroit au niveau de la tête et plus large au niveau de la queue. Une couche de muscles lisse circulaire interne, dont l'épaisseur augmente de la tête vers la queue, et une couche longitudinale externe, visible à partir du corps, entourent l'épithélium et la lame basale. Les stéréocils sont longs et ramifiés au niveau de la tête de l'épididyme. Leur hauteur diminue au niveau de la queue, l'histologie de différentes sections de l'épididyme a également été rapporté chez le lapin (**Nicander, 1973**), étalons, taureaux et béliers (**Nicander, 1973**), rats (**Reid et Cleland, 1957**) (**Hamilton, 1972**), souris (**Allen et Slater, 1957**), hamsters (**Nicander et Glover, 1973**), taupes (**Suzuki et Racey, 1976**) et l'homme (**Holstein, 1969**).

Nous avons calculé la hauteur de l'épithélium avec la hauteur du supra noyau, nous avons trouvé que l'épithélium de *Canis lupus familiaris* est plus haut que celui de *Félis catus* et *Genetta genetta*, il est de $(40,28 \pm 1,17860783)$ alors que la hauteur supra noyau est grande chez *Genetta genetta* $(31,1 \pm 1,2)$.

III.2.3. Etude phylogénique

Le but de cette partie est la construction de l'arbre phylogénique pour classer nos espèces, pour cela nous avons ciblé la banque de données « GenBank » disponible sur internet pour chercher les séquences d'ADN mitochondriales correspondant à nos espèces, *Félis catus*, *herpestes ichneumon*, *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta*. Nous avons choisis l'ADN mitochondrial par ce que les taux de mutation de l'ADN mitochondrial sont plus grands que ceux de l'ADN nucléaire (Ballard et al., 2004). Après analyse du tableau I, parmi les gènes mitochondriaux notre choix s'est porté sur le cytochrome b (cytb), le cytochrome b est un gène présent en de nombreuses copies dans la cellule et est considéré comme clonal et rarement ou jamais soumis à la recombinaison (Le B. M., 1990 et al., 2000). Il est transmis maternellement (hérédité cytoplasmique) (Gyllensten et al., 1991). Enfin il a un taux de mutation plus élevé que les gènes nucléaires. La figure 40 ci-dessous résume le tableau II.

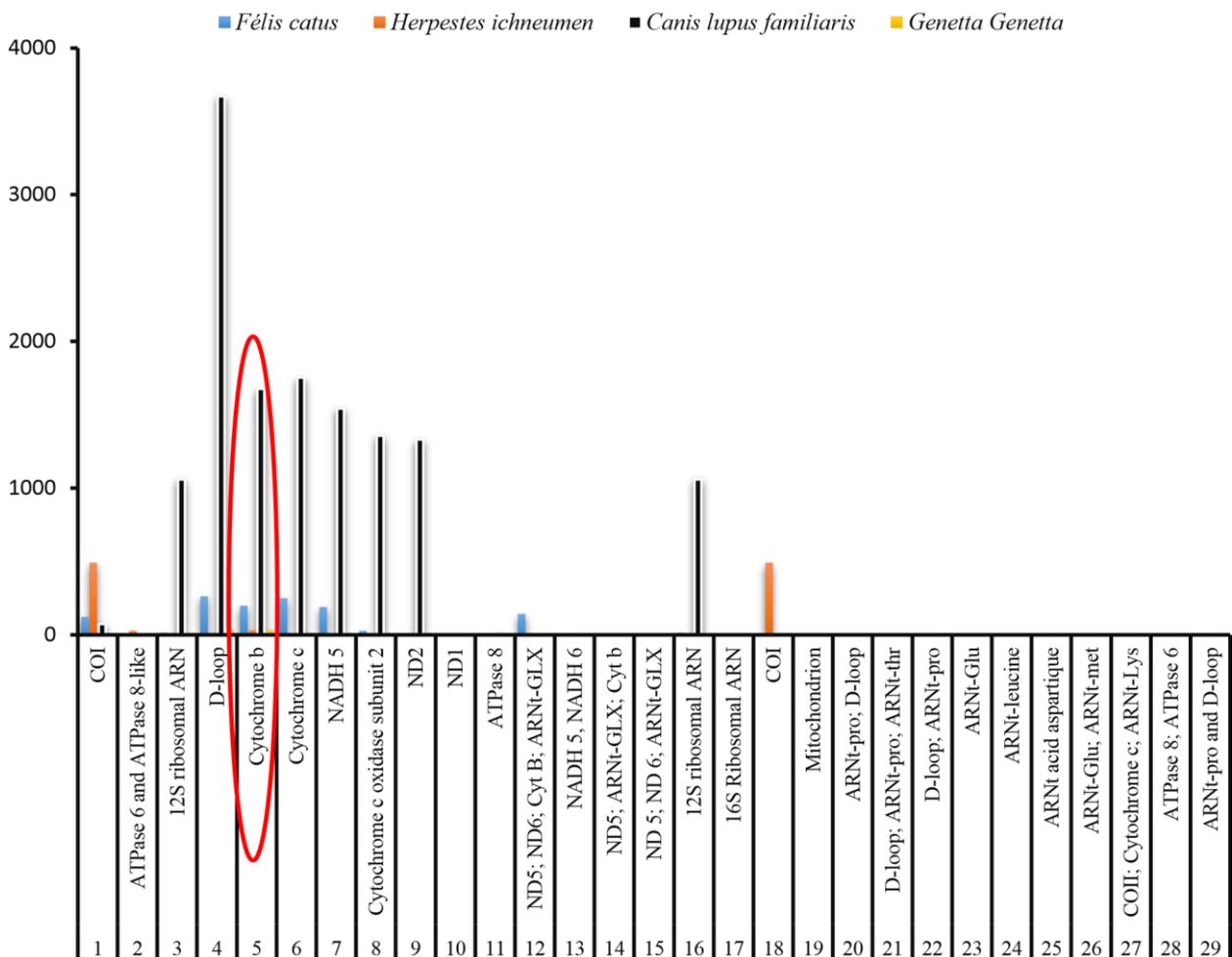
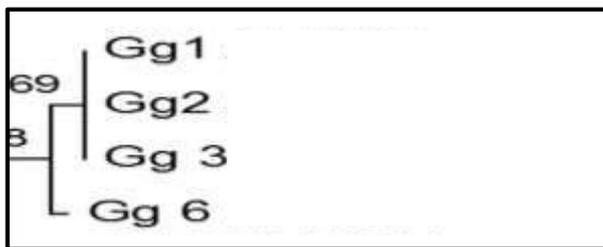


Figure 40 : Graphe des gènes les plus étudiés des 4 espèces (Excel, 20013).

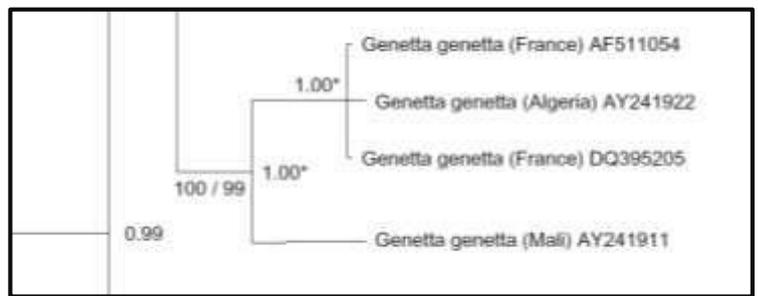
RESULTAT ET DISCUSION

Notre arbre phylogénétique est divisé en 2 clades selon l'origine géographique et les tailles des séquences que nous avons prises. D'après cet arbre, les espèces *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta* et *Herpestes ichneumon* sont plus proches les unes des autres, où nous avons trouvé *Herpestes ichneumon* près de *Genetta genetta* et *Canis lupus familiaris* et ils sont tous dans le même clade 2, alors que le chat, sa position est loin par rapport aux trois premiers, il est retrouvé dans le clade 1.

Il y a très peu d'études phylogénétiques des espèces sauvages spécialement la mangouste « *Herpestes ichneumon* » et la genette « *Genetta genetta* », mais notre travail concernant la distribution phylogénétique (figure 41 a) de la genette est similaire aux travaux de **Gaubert (2006)** qui a travaillé sur la phylogénie moléculaire et le scénario évolutif de la genette (figure 41 b).



(a)



(b)

Figure 41 : Notre arbre phylogénétique basé sur la méthode UPGMA utilisant le gène *cyt b* (a) ; arbre phylogénétique de Gaubert (2006) basé sur la méthode parcimonie et ML utilisant le gène *cyt b* (b).

Après avoir analysé les résultats, nous avons constaté qu'il y avait un rapprochement entre les animaux sauvages (la mangouste et la genette) et le chien sur le plan moléculaire à partir des données de la GenBank, par contre il n'y a aucune corrélation avec le chat, alors que, sur le plan histologique, il n'y a pas de convergence entre les deux animaux sauvages et domestiques.

Au terme de ce travail portant sur la comparaison entre l'appareil génital mâle chez le chat, le chien, la mangouste, la genette au cours du cycle sexuel, il ressort que l'aspect histologique et la distribution des tubes séminifères est différente chez les animaux sauvages que celle des animaux domestique. En revanche, l'aspect histologique de l'épididyme est le même chez les 2 types d'animaux. En effet :

➤ **Pour les données morphologiques :**

- Le poids des testicules est plus élevé en printemps qu'en automne.
- Pour le poids des testicules est plus élevé en printemps qu'en automne

➤ **Pour les données histo-morphométriques :**

- les tubules séminifères du *Félis catus* et *canis lupus familiaris* sont soudés les uns aux autres avec une taille volumineux, entre les tubes se trouve l'espace interstitiel, cet espace est réduit. Alors que chez la mangouste et la genette, les tubes séminifères sont dispersés et séparés les uns aux autres par un tissu interstitiel sous forme d'un réseau.
- La distribution des cellules germinales est bien organisée dans l'épithélium séminifère chez *Félis catus* et *canis lupus familiaris*, par contre, chez *Genetta genetta* et *Herpestes ichneumon*, il est difficile d'identifier le type des cellules germinales, ces derniers, leur noyau est de forme allongée. La lumière devient invisible car elle est pleine de spermatozoïdes.
- L'étude morphométrique montre qu'il existe de différences statistiques entre les espèces.

➤ **Pour les données phylogénétiques :**

D'après notre arbre, les espèces *canis lupus familiaris* et *Genetta genetta* et *Herpestes ichneumon* sont plus proches les uns des autres, où trouvons-nous *Herpestes ichneumon* près de *Genetta genetta* et *canis lupus familiaris* et ils sont tous dans le clade 2, mais le chat, sa position est loin par rapport aux trois premiers, il est trouvé dans le clade 1

En perspective

- ✚ Réaliser une étude approfondie en comparant chaque espèce entre la période de repos et l'activité sexuelle.
- ✚ Augmenter l'effectif d'individu
- ✚ Doser les hormones de l'axe gonadotrope notamment la LH et la FSH.

CONCLUSION

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

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Alauzet C.**, 2009-Taxonomie des bactéries anaérobies : de la reclassification a la découverte de nouveaux pathogènes. *Thèse doctorat, université de Nancy.*
- **Allen, J. M., and J. J. Slater.**, 1957- A chemical and histochemical study of alkaline phosphatase and aliesterase in the epididymis of normal and castrate mice. *Anat. Rec.*
- **Ballard J. W. O and MC Whitlock.**, 2004. The incomplete natural history of mitochondria.” *Molecular Ecology* 13:729-744.
- **Banks W.J.**, 1993-*Applied Veterinary Histology, and Third edition*, Missouri: Mosby Year Book, 527 p., ISBN-10: 0801666804.
- **Barone R.**, 1978-Anatomie comparée des animaux domestiques. Tome 3, fascicule 2, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon : Laboratoire d'Anatomie, 128-259.
- **Barone R.**, 1990- Splanchnologie II, appareil urogénital, péritoine et topographie abdominale, Paris.
- **Barone R.**, 2001-Anatomie comparée des mammifères domestiques, *Troisième édition*.Paris : Vigot. Vol. 4, Splanchnologie II, 896 p.
- **Beaulieu.**, 2007-*Caractérisation moléculaire des champignons ophiostomatoïdes associés à quatre espèces de scolytes de l'écorce colonisa l'épinette, blanche au Québec et phylogénie multigénique d'une nouvelle espèce de leptographium. Thèse doctorat, Université Laval, Québec.*
- **Bosse PH., Chaffaux S et Kretz C.**, 1990-Eléments de maîtrise de la physiologie sexuelle chez le chat domestique en vue d'améliorer sa reproduction. *Rec Méd Vét*, 166, 573-591.
- **Chapus.**, 2005-Analyse de données phylogénétiques à l'aide de la signature génomique. Aspects méthodologiques et application aux procaryotes. *Thèse de doctorat U.F.R. de Biologie l'université Paris VII.*, 206p
- **Cheikhrouhou.**, 2006- évaluation des classifications phylogénétiques des bacillaceae basées sur les gènes de l'opéron rrn et de gènes de ménage. *Universite Du Quebec A Montreal.*, 126p.
- **Collin B.**, 2003-Anatomie du chien. Liège: Derouaux Ordina. 562 p.
- **Costa; Chiarini-garcia; Morato; Alvarenga; França.** 2008-Duration of Spermatogenesis and Daily Sperm Production in the Jaguar (Panthera Onca). *Theriogenology*, 2008. 70(7) : p. 1136-1146.
- **Darlu et Tassy**, 2004-La reconstruction phylogénétique : concepts et méthodes. *Ed. Masson, Paris.*, 258p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Diallo, 2009** : Bio-informatique avancée. Université du Québec à Montréal. Canada.
- **Do Linh San, E., Maddock, A.H., Gaubert, P. & Palomares, F., 2016**-Herpestes ichneumon. The IUCN Red List of Threatened Species, e.T41613A45207211.
- **Flora laloi-travaglini., 2011**-Amélioration de la technique d'électroéjaculation chez les félinés, la faculté de médecine de créteil.
- **Gallut, 2001**-Codage et traitement phylogénétique de caractères structuraux de génomes entiers. *Thèse Doctorat en Sciences de la Vie*. Dir. *Thèse* : G. Gachelin. Univ. Pierre et Marie Curie, Paris., 6 : 23-32
- **Getty, 1975 R.**, 1975-The anatomy of the domestic animals. Philadelphia: W.B. Saunders C., *Firth Ed*, 884 p.
- **Giuliano M. Figueiró a, Mara I.B. Rubin b, Fábio J.C. Faria c, Marcelo D. Santos d, Carlos A.C. Fernandes e, Fernando H.G. Furtado c, Deiler S. Costa c .,** 2016- Morphology and Morphometry of Seminiferous Tubules in Crioulo Horses.
- **Hamilton, D. W., 1972**- The mammalian epididymis. In: Biology of Reproduction, H. Balin and S. Glasser, eds. Excerpta Medical Foundation, Amsterdam, New York, pp.268-337.
- **Hayssen A., 1993**-Asdell's patterns of mammalian reproduction. Cornell University: Comstock Publishing Company.
- **Hinton, H., A. Dunn., 1967**-Mongoose: Their Natural History and Behavior. Edinburgh and London: Oliver and Boyd LTD.
- **Hoffer et Greenberg. 1978**- The Structure of the Epididymis, Efferent Ductules and Ductus Deferens of the Guinea Pig: A Light Microscope Study.
- **Hoffer, A. P., 1972**-The fine structure of the ductuli efferentes in mouse and rat. *Anat. Rec., 172*: 331-332.
- **Holstein, A. F., 1969**-Morphologische studien am Nebenhoden des Menschen. *Zwanglose Abhandl. Gebiet Norm. Pathol. Anat., 20*: 1-91.
- **Kingdon, J., 1977**- East African Mammals. New York, New York: Academic Press Inc...
- **KIRKPATRICK J.F., 1985**-Seasonal Testosterone Levels, Testosterone Clearance, and Testicular Weights in Male Domestic Cats. *Canadian journal of zoology*, 1985. **63**(6) : p. 1285-1287.
- **Laurent, Sylvain, Patrice Neault., 2003**-entre chien et loup : étude biologique et comportementale. *Thèse Doctorat en vétérinaire*. Dir de *thèse* : M. le Professeur Roland DARRE Laurent, Sylvain, Patrice Neault Univ. Paul-Sabatier de Toulouse.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **LIÈGE. P.**, 1991-Techniques de reproduction artificielle chez le chat domestique. *Thèse Méd. Vét.*, Alfort, 1991, 117 p.
- **Linnaeus.**, 1758-UICN : Espèce Herpestes ichneumon.
- **Luiz R. França; Christiane L. Godinho.**, 2003- Testis Morphometry, Seminiferous Epithelium Cycle Length, and Daily Sperm Production in Domestic Cats (*Felis catus*); *Biology of Reproduction*, Volume 68, Issue 5, 1 May 2003, Pages 1554–1561.
- **Muhammad Abdullahi Mahmud1, Josephat Onu, Sani Abdullahi Shehu, Aminu Umaru, Abubakar Danmaigoro, Mohammed Shaibu Atabo.**, 2015-Morphological Studies on Epididymis and Vas Deferens of One - Humped Camel Bull (*Camelus dromedarius*), Uda Ram and Red Sokoto Buck.
- **Nicander, L., T. D. Glover.**, 1973- Regional histology and fine structure of the epididymal duct in the golden hamster (*M. auratus*). *J. Anat.*, 114: 347-364.
- **Nijman I. J., Otsen M., Verkaar E. L., Ruijter C. and Hanekamp E.**, 2003-Hybridization of banteng (*Bos javanicus*) and zebu (*Bos indicus*) revealed by mitochondrial DNA, satellite DNA, AFLP and microsatellites. *Heredity*, 90: 10–16.
- **Osborn, D.**, 1998-The Mammals of Ancient Egypt. Warminster: Aris and Phillips Ltd...
- **PARAGON P-M, MALANDAIN E et KRETZ C.**, 2000-Guide pratique de l'élevage félin. Royal Canin, Paris, 2000, 296 p.
- **Philippe Gaubert, Colleen M. Begg.**, 2006- Re-assessed molecular phylogeny and evolutionary scenario within genets (Carnivora, Viverridae, Genettinae).
- **Pierard J . 1972-** *Anatomie appliquée du chien et du chat*. Paris: Maloine, 1° Ed, 1972, 228-230.
- **Reid, B. L., Cleland K. W.**, 1957-The structure and function of epididymis. I. The histology of the rat epididymis. *Aust. J. Zool.*, 5: 223-246.
- **Rischkowsky et Pilling, 2008** : -L'Etat des Ressources Zoogénétiques pour l'Alimentation et l'Agriculture dans le Monde, pp393-410.
- **Setchell BP.**, 1982-Spermatogenesis and spermatozoa. In: Austin CR, Short RV, editors. *Reproduction in mammals: germ cells and fertilization*. p. 63–101. Cambridge University Press, New York.
- **Smith. BJ.** 1993-Urogenital system. In: HUDSON, LC and HAMILTON, WP, *editors*. *Atlas of feline anatomy for veterinarians*, Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- **Suzuki, F., and P. A. Racey.**, 1976- Fine structural changes in the epididymal epithelium of moles (*T. europaea*) throughout the year. *J. Reprod. Fert.*, 47: 47-54.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Vicente et Fulton, 2003**-Utilisation des marqueurs moléculaires pour l'étude de la diversité génétique végétale. International Plant Genetic Institute for Genomic Diversity Resources Institute.
- **Wang. Coll, 1999**-Functional anatomy of the male feline urethra: morphological and physiological correlations, journal of urology, 1999.161/654-659.

Annexes

FICHE TECHNIQUE N°1 : DÉSHYDRATATION

<u>Degré des bains d'alcool</u>	<u>durée</u>
1 : bain de formol	(1h)
2 : bain d'alcool 70°	(1h)
3 : bain d'alcool 70°	(1h)
4 : bain d'alcool 96°	(1h)
5 : bain d'alcool 100°	(1h)

FICHE TECHNIQUE N°2 : ECLAIRCISSEMENT

	<u>Durée</u>
1 : Bain xylène.....	(1h) 2 :
Bain xylène.....	(1h) 3 :
Bain xylène.....	(1h)
4 : Bain xylène.....	(1h)
5 : Bain xylène.....	(1h)

FICHE TECHNIQUE N°3 : IMPREGNATION (Pénétration Des Pièces Par Paraffinage)

	<u>Durée</u>
1 : Bain de paraffine.....	(1h)
2 : bain de paraffine.....	(1h)

FICHE TECHNIQUE N°4 : COLORATION TOPOGRAPHIQUE DE ROUTINE (H&E)

<u>Réactifs</u>	<u>Durée</u>
1 : Hématoxyline de Groat	(5min) 2 :
L'éosine à 1%	(1min)

□ Mode opératoire

<u>hydratation</u>	<u>durée</u>
3 bains xylène	(20min)

3 bains alcool..... (passage)
L'eau (rinçage)

coloration

Colorer par Hématoxyline de Goat (5 min)
L'eau (rincer)
L'éosine (1 min)
L'eau (rinçage)

déshydratation

3 bains alcool (passage)
3bains xylène (passage)
Monter à l'Eukit

□ Résultats

Noyaux bleus à bleus-noirs, cytoplasmes roses à rouges, hématies roses vifs, collagène roses très pâle, fibres élastiques roses vifs.

FICHE TECHNIQUE N°5 : COLORATION TOPOGRAPHIQUE AU TRICROME DE MASSON

□ Réactifs

-Eau acétifiée à 1 %

-Mélange ponceau-Fuchsine (se prépare à l'avance et se conserve indéfiniment) a-

Solution du Fuchsine*1 partie b-Solution de ponceau*2 parties

a- **Fuchsine acide** : 1g ; **b -ponceau de xylidine** : 1g - eau distillée 100ml - Acide acétique 0.5ml - Acide acétique 0.5ml - **vert lumière** 1ml -Eau distillée - Acide acétique 0.5ml

□ mode opératoire

- ✓ Hydrater ;
- ✓ Colorer par Hématoxyline de Goat 1 min 30S ;
- ✓ Laver à l'eau courante pendant 5 min ;
- ✓ Colorer par le mélange fuchsine Ponceau pendant 5 min environ ;
- ✓ Rincer à l'eau acétifier à 1% ;
- ✓ Colorer par l'acide phosphomolybdique pendant 5 min ;
- ✓ Rincer à l'eau acétifier à 1% ;
- ✓ Colorer par vert lumière pendant 5 min environ ;

- ✓ Laver à l'eau acétifier à 1% ;
- ✓ Déshydrater et monter à l'Eukit.

□ Résultat

Les noyaux sont colorés en noir, le cytoplasme en rouge le tissu conjonctif en vert.

FICHE TECHNIQUE N°5 : COLORATION TOPOGRAPHIQUE AU ROUGE CONGO

Réactifs

- 1 : Hématoxyline de Groat..... (1min 30s)
2 : Le Rouge Congo (30min)

Mode opératoire :

<u>Déparaffinage Alcool absolu Eau</u>	<u>durée</u>
3 bains xylène.....	(20min)
3 bains d'alcool	(Passage)
Le Rouge Congo.....	(30 min)
L'eau	(10 min)
Hématoxyline	(1min30s)
Le Rouge Congo.....	(1 min)
L'eau	(rinçage)
3 bains d'alcool.....	(passage)
3 bains xylène	(passage)
Monter à l'Eukit	

Résultats :

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

MATERIEL NECESSAIRE POUR L'HISTOLOGIE



Déshydratation des pièces histologiques après fixation (automate)



Station d'enrobage de marque Leica (Leica EG 1150 H)



Collage des cassettes en plastique sur les moules de métal



Microtome



Etuve de séchage à 58°



Hydratation et déshydratation des coupes histologique



Coloration topographique de ROUTINE



Coloration topographique trichrome de



Coloration

H.E

MASSON

topographique de
Rouge Congo

Figure : Les donner du logiciel Axion-vesion 4.6.3.0 dans l'étude morphométrique

Surfaces des tubes séminifères																		
CHAT				CHIEN				MANGOUSTE				GENETTE						
surface	D	d	p	1 surface	D	d	p	Surface	D	d	p	Surface	D	d	p			
69520,21	341,01	303,97	1021,28	3	38552,6	195,68	287	805,83	1	21341,53	138,66	211,83	554,48	1	34628,98	212,74	205,96	675,66
77798,99	352,3	297,2	1037,25	5	35742,25	182,19	269,01	720,79	3	15219,19	116,08	170,73	460,16	3	48629,94	288,17	219,51	836
49766,77	247,06	285,46	867,83	7	43107,58	209,18	275,3	802,98	5	20917,8	163,05	173,89	526,16	5	25265,18	215	141,82	605,71
81736,52	350,04	347,33	1108,56	1	31912,11	179,94	232,12	675,76	7	15482,56	112,92	181,12	473,35	7	35667,17	189,7	258,36	729,86
54971,38	224,03	310,75	878,86	3	29404,69	157	245,61	665,93	9	20629,95	125,11	219,51	554,5	9	13842,66	153,12	125,56	446,54
77214,31	327,01	297,2	1046,59	5	28545,78	165,99	250,11	675,44	11	15743,38	126,47	156,73	472,24	11	29132,43	208,22	187,9	642,85
34966	262,87	171,63	715,95	7	35951,08	205,13	248,31	725,96	13	18191,56	169,38	148,15	510,94	13	33118,72	228,55	224,03	711,65
43746,84	249,32	253,84	795,68	9	28540,92	184,44	227,62	683,46	15	20912,19	176,6	153,57	544,19	15	13795,22	164,86	100,27	444,96
69913,94	308,49	340,56	1048,23	11	24030,25	145,75	225,82	609	17	13580,41	152,66	121,95	438,1	17	31093,75	240,29	162,15	663,08
61403,3	276,87	306,23	921,03	13	26419,8	175,44	205,13	615,73	19	18970,97	152,66	157,18	507,34	19	12027,61	109,76	148,6	428,87
46950,05	271,91	226,29	813,3	15	34782,56	200,18	252,81	760,8	21	18320,8	146,34	164,41	494,66	21	22533,94	187,44	150,86	560,77
49664,05	249,32	256,1	862,6	1	30868,75	175,44	218,62	671,01	23	18169,43	176,6	137,31	525,1	23	30738,68	217,25	191,96	655,05
48192,35	256,1	242,55	826,23	3	41663,96	207,38	277,55	819,49	25	26742,8	215	168,02	640,07	25	27473,25	178,41	212,74	622,15
47130,5	265,13	226,74	784,49	5	33033,48	191,18	230,32	714,75	27	14374,4	157,63	112,01	446,23	27	13663,44	132,79	128,27	430,66
44191,58	235,77	235,32	771,11	7	30771,52	209,18	220,87	675,75	29	16599,4	182,93	118,79	483,86	29	29155,48	242,55	157,63	647,62
115330,58	468,38	315,72	1278,9	9	36386,46	198,38	259,56	791,24	31	19234,55	173,89	146,34	514,27	31	55807,4	341,01	248,87	965,78
77039,99	395,21	306,23	1101,97	11	32255,92	214,13	239,32	724,27	33	18502,37	191,96	125,56	510,99	33	45968,17	221,77	294,94	835,91
63006,38	292,68	302,17	941,57	13	24097,54	157	234,82	660,01	35	15802,34	210,03	91,24	543,99	35	26620,4	224,48	150,86	617,91
51401,47	253,84	278,68	1014,03	1	27737,66	193,43	191,18	636,31	37	20799,91	219,51	150,86	572,56	37	25749,39	205,51	157,63	591,77

Tableau III : Variation Morphométrique tissulaire du Tubes séminifères (surface) chez *Félis catus*, *Herpestes ichneumen*, *canis lupus familiaris*, *Genetta genetta*.

	S	D	d	P
<i>Canis lupus familiaris</i>	33482,9±818,5	214,3±3,6	218,6±3,1	711,2±8,6
<i>Felis catus</i>	57704,5±1464,2	284±4,8	274,2±4,4	907,6±11,9
<i>Gennetta genetta</i>	20191,1±1335,4	147,8±7,6	141,2±7	472,7±22,7
<i>Herpestes ichneumon</i>	21728,4±524,3	168,1±3,4	175,4±2,6	557,8±7,2

Tableau IV : Variation Morphométrique tissulaire du Tubes séminifères (lumière) chez *Félis catus*, *Herpestes ichneumen*, *canis lupus familiaris*, *Genetta genetta*.

	S	D	d	P
<i>Canis lupus familiaris</i>	5513±247,3	87,2±2,3	89±2,4	295,6±6,8
<i>Felis catus</i>	16251±871,6	146,5±4,7	141,3±4,1	471±12,5
<i>Genetta genetta</i>	9366,3±1054,8	88, ±6,6	85,1±6,5	284,2±20,5
<i>Herpestes ichneumon</i>	364,8±13,7	22,6±0,7	23,9±0,6	78,8±1,6

Tableau V : Variation Morphométrique tissulaire des enveloppes du Tubes séminifères, *Herpestes ichneumen*, *Genetta genetta*

	Moy±ESM
<i>Genetta genetta</i>	54530,9±1262,8
<i>Herpestes ichneumon</i>	40548,5 ±1007,1

Tableau VI : Variation morphométrique de la surface des épидидymes chez les 4 espèces étudiées, *Felis catus*, *Herpestes ichneumon*, *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta*

	S	D	d	P
<i>Canis lupus familiaris</i>	38951,9±1995,2	228,4±7	213,6±6,7	723,7±20,9
<i>Felis catus</i>	7058,9±545,8	83,2±3,6	92,3±3,8	290,8±11,7
<i>Genetta genetta</i>	20024±533,1	162,2±3,2	163,9±2,3	544,9±7,4
<i>Herpestes ichneumon</i>	431,3±9,3	412,1±9	1368,1±21,9	1368,1±21,9

Tableau VII : Variation morphométrique de la lumière des épидидymes chez les 4 espèces étudiées, *Felis catus*, *Herpestes ichneumon*, *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta*

	S	D	d	P
<i>Canis lupus familiaris</i>	13869±973,2	132,3±5,1	126,5±4,9	423,4±15,2
<i>Felis catus</i>	8202,1±332,3	96,6±2,4	106,6±2,7	334,5±7,6
<i>Genetta genetta</i>	523±172	85,8±1,9	83,7±1,9	282,7±4,9
<i>Herpestes ichneumon</i>	116990,5±2800,4	431,3±9,3	412,1±9	1368,1±21,9

Tableau VIII : La variation morphométrique de la hauteur de l'épithélium des épидидymes et la hauteur supra noyau des épидидymes, chez 3 espèces étudiées, *Felis catus*, *Herpestes ichneumon*, *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta*

	Moy±ESM		Moy±ESM
<i>Canis lupus familiaris</i>	40,2±1,1	<i>Canis lupus familiaris</i>	28,6±0,8
<i>Felis catus</i>	33,9±0,6	<i>Felis catus</i>	19,3±0,5
<i>Genetta genetta</i>	31,1±1,2	<i>Genetta genetta</i>	34,7±0,7

Tableau IX : Variation testiculaire, chez 4 espèces étudiées, *Felis catus*, *Herpestes ichneumon*, *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta*, Différences en pourcentage et signification statistique des différences

		M1	M2	Différence en %	P
S	C vs. CH	33482,81	57704,47	-41,9754	0,000000
	C vs. G	33482,81	20191,06	-39,6972	0,000000
	C vs. M	33482,81	21728,38	-35,1059	0,000000
	CH vs. G	57704,47	20191,06	-65,0095	0,000000

	CH vs. M	57704,47	21728,38	-62,3454	0,000000
	G vs. M	20191,06	21728,38	7,6139	0,283165
D	C vs. CH	214,3213	283,9776	32,5008	0,000000
	C vs. G	214,3213	147,7688	-31,0527	0,000000
	C vs. M	214,3213	168,0877	-21,5721	0,000000
	CH vs. G	283,9776	147,7688	-47,9646	0,000000
	CH vs. M	283,9776	168,0877	-40,8095	0,000000
	G vs. M	147,7688	168,0877	13,7505	0,014709
	d	C vs. CH	218,5813	274,2429	25,4649
C vs. G		218,5813	141,2109	-35,3966	0,000000
C vs. M		218,5813	175,4284	-19,7423	0,000000
CH vs. G		274,2429	141,2109	-48,5088	0,000000
CH vs. M		274,2429	175,4284	-36,0317	0,000000
G vs. M		141,2109	175,4284	24,2315	0,000006
P	C vs. CH	711,1711	907,1522	27,5575	0,000000
	C vs. G	711,1711	472,6545	-33,5386	0,000000
	C vs. M	711,1711	557,7703	-21,5702	0,000000
	CH vs. G	907,1522	472,6545	-47,8969	0,000000
	CH vs. M	907,1522	557,7703	-38,5141	0,000000
	G vs. M	472,6545	557,7703	18,0080	0,000384

Tableau X : Variation de la lumière des testicules, chez 4 espèces étudiées, *félis catus*, *Herpestes ichneumen*, *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta*, Différences en pourcentage et signification statistique des différences

	M1	M2	Différence en %	P
C vs. CH	5513,02	16251,02	-66,1	0,000000
C vs. G	5513,02	9366,27	69,8936	0,000455
C vs. M	5513,02	364,75	-93,3838	0,000000
CH vs. G	16251,02	9366,27	-42,3651	0,000001
CH vs. M	16251,02	364,75	-97,7555	0,000000
G vs. M	9366,27	364,75	-96,1057	0,000000

Tableau XI : Variation l'enveloppe testiculaire, chez 2 espèces sauvage : *Herpestes ichneumen*, *Genetta genetta*, Différences en pourcentage et signification statistique des différences

	M1	M2	Différence en %	P
--	----	----	-----------------	---

G vs M	54530,86	40405,66	-25,9031	0,000000
--------	----------	----------	----------	----------

Tableau XII : Variation de la surface des épидидymes, chez 4 espèces étudiées, *félis catus*, *Herpestes ichneumen*, *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta*, Différences en pourcentage et signification statistique des différences

		M1	M2	Différence en %	P
S	SCh vs. SC	7356,7	39628,6	438,6714	0,000000
	SCh vs. SG	7356,7	19975,7	171,5300	0,000000
	SCh vs. SM	7356,7	116379,7	1481,9476	0,000000
	SC vs. SG	39628,6	19975,7	-49,5927	0,000000
	SC vs. SM	39628,6	116379,7	193,6758	0,000000
	SG vs. SM	19975,7	116379,7	482,6052	0,000000

Tableau XIII : Variation de la lumière des épидидymes, chez 4 espèces étudiées, *félis catus*, *Herpestes ichneumen*, *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta*, Différences en pourcentage et signification statistique des différences

		M1	M2	Différence en %	P
L	SCh vs. SC	8138,56	14227,42	74,8149	0,000998
	SCh vs. SG	8138,56	5226,06	-35,7865	0,000016
	SCh vs. SM	8138,56	66137,67	712,6460	0,000000
	SC vs. SG	14227,42	5226,06	-63,2677	0,000001
	SC vs. SM	14227,42	66137,67	364,8608	0,000000
	SG vs. SM	5226,06	66137,67	1165,5366	0,000000

Tableau XIV : La variation de la hauteur de l'épithélium des épидидymes, chez 3 espèces étudiées, *félis catus*, *Herpestes ichneumen*, *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta*

		M1	M2	Différence en %	P
Ept	C vs. CH	33,91016	40,28000	18,7844	0,002241
	C vs. G	33,91016	20,84115	-38,5401	0,000000
	CH vs. G	40,28000	20,84115	-48,2593	0,000000

Tableau XV : La variation de la hauteur supra noyau des épидидymes, chez 3 espèces étudiées, *félis catus*, *Herpestes ichneumen*, *Canis lupus familiaris*, *Genetta genetta*

		M1	M2	Différence en %	P
SN®	C vs. CH	19,28131	28,56131	48,1295	0,000000
	C vs. G	19,28131	34,74852	80,2187	0,000000
	CH vs. G	28,56131	34,74852	21,6629	0,000446

Tableau XVI : Liste des séquences d'ADN trouvées dans la GenBank pour l'étude phylogénétique (code, nombre de base et leur origine géographique) chez les 4 espèces étudié :

Herpestes ichneumon :

N°	Code	Pair de basse	Payé
1	AF5223371.1	1140	Portugal
2	KP878523.1	402	Portugal
3	GU183533.1	350	France
4	GU183530.1	124	France
5	KF860894.1	294	France
6	AJ441338.1	423	Spain

Genetta genetta :

N°	Code	Pair de base	Payé
1	AJ441337.1	412	Africain
2	AY241922.1	1140	Africain
3	DQ395205.1	1125	Africain
4	AY241886.1	858	Africain
5	GU220370.1	407	Africain
6	AF125153.1	664	Africain
7	AY241879.1	912	Africain
8	EF371654.1	278	Bénin
9	EF371651.1	277	Morocco
10	EF371649.1	403	Oman
11	GU183545.1	402	Africain

ANNEXES 2

12	GU183544.1	276	Africain
----	------------	-----	----------

Canis lupus familiaris

N°	Code	Pair de base	Payé
1	EU352854.1	1140	China
2	KM224354.1	437	Europe
3	KM224352.1	396	Europe
4	FJ160760.1	560	Mexico
5	KC985187.1	490	Poland
6	KC346426.1	1029	Australie
7	KC561820.1	829	Thaïlande
8	AB605797.1	229	Japan
9	KM224353.1	280	Germany
10	KM224351.1	289	Germany
11	KM224350.1	331	Germany
12	KM224348.1	406	Germany
13	KC545614.1	582	China
14	AB048590.1	1190	Japan
15	KY996532.1	507	Eurasie et Amérique du nord
16	KX348256.1	200	Turk
17	KX874598.1	467	Mexico
18	JN182120.1	1432	Europe
19	JN182119.1	1433	Europe
20	JN182117.1	1443	Europe
21	JN182116.1	1373	Europe
22	JN182115.1	1363	Europe
23	JN182114.1	1402	Europe
24	JN182113.1	1423	Europe
25	JN182112.1	1400	Europe
26	JN182111.1	1453	Europe
27	JN182110.1	1413	Europe
28	JN182098.1	1343	Europe
29	JN182097.1	1403	Europe
30	KT008998.1	148	Spain
31	AJ441333.1	424	Spain
32	AF172357.1	300	Austria
33	DQ236096.1	277	Austria
34	AY275640.1	200	Austria
35	U12829.1		Thaïlande
36	AF064587.1	376	India
37	AY706524.1	380	New Zélande
38	AY706520.1	886	Korea
39	AY706497.1	885	Portugal
40	JN182137.1	1402	Portugal
41	JN182136.1	1392	Europe
42	JN182135.1	1315	Europe
43	JN182132.1	1302	Europe
44	JN182126.1	1393	Europe
45	JN182123.1	1452	Europe

ANNEXES 2

46	JN182122.1	1412	Europe
47	JX849675.1	351	Europe
48	JX849656.1	372	Europe
49	JX849655.1	371	Europe
50	JX849650.1	370	Europe
51	JX849648.1	383	Europe

ANNEXES 2

N°	Code	Pair de base	Payé
1	AB004238.1	1140	Australie
2	AJ300702.1	402	Taiwan
3	AJ441328.1	428	Spain
4	KM2243380.1	375	Germany
5	KM224378.1	387	Germany
6	KP279600.1	2542	Australie
7	KP279592.1	2495	Australie
8	KP279581.1	2590	Malaisie
9	KP279575.1	2589	Malaisie
10	KP279570.1	2556	Malaisie
11	KP279547.1	2496	Australie
12	KP279536.1	2568	Australie
13	KP279532.1	2542	Australie
14	KP279531.1	2567	Australie
15	KP279527.1	2571	Australie
16	KP279516.1	2569	Australie
17	KP279512.1	2547	Australie
18	KP279496.1	2583	Australie
19	KP279495.1	2582	Australie
20	KP279494.1	2581	Australie
21	KP279487.1	2566	Australie
22	KP279480.1	2533	Australie
23	KP279479.1	2602	Australie
24	AY509646.1	358	Germany
25	AF172359.1	300	Germany
26	KM224374.1	403	Germany
27	DQ20116.1	223	Germany
28	HM473192.1	.149	Germany
29	EF437592.1	415	Germany
30	DQ471830.1	226	USA : Southeastern AZ
31	KP279629.1	2603	Australie
32	KP279474.1	2533	Australie
33	KP279473.1	2594	Australie
34	KP279471.1	2597	Australie
35	KP279468.1	2602	Australie
36	KP279467.1	2599	Australie
37	KC561819.1	528	Thaïlande
38	D28903.1	402	Thaïlande
39	KP279492.1	2483	Australie
40	KP279537.1	2415	Australie
41	KX348261.1	358	Australie
42	AB743574.1	299	Australie
43	JQ8673357.1	366	China HKSAR
44	KP871713.1	549	Thaïlande