

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة باجي مختار – عنابه

Badji Mokhtar University
-Annaba-



Université Badji Mokhtar
-Annaba-

Faculté des Sciences
Département de Biologie

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de
Magister en Biologie Animale
Option : Ecophysiologie de la reproduction

THÈME

Effet de la mélatonine sur la reproduction chez
le pigeon domestique : *Columba livia*



Par : M. **MEDDOUR Zahreddine**

Devant le jury composé de :

Directeur de recherches: M. BOULAKOUD M.S.

Pr. Univ. Annaba

Président: M. Khalili K.

Pr. Univ. Annaba

Examinatrice: Mme. BOUSLAMA Z.

M.C. Univ. Annaba

Examineur: M. BAIRI A.

M.C. Univ. Annaba

Année : 2009-2010

Dédicace

Je dédie ce modeste travail en signe de respect et d'éternelle reconnaissance à ceux qui me sont les plus chers au monde.

- ✚ À la personne que j'ai tant aimé qu'elle assiste à cette réussite, malheureusement, elle a quitté ce monde un peu trop tôt: ma chère sœur imene, que dieu t'offre sa miséricorde.
- ✚ À la mémoire de mon cher grand père défunt, qui a toujours rêvé de me voir un jour réussir, que dieu l'accueille dans son vaste paradis.
- ✚ À ma chère **Maman** qui m'a donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance, je le remercie pour son soutien moral et ses sacrifices le long de ma formation, et à mon père , j'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance.
- ✚ À ma sœur **Sara** qui a toujours été là pour me soutenir dans mes moments les plus difficiles, que dieu te garde pour moi.
- ✚ À mon cher frère **Mohamed Ali**, je lui dis que je l'adore.
- ✚ À ma belle sœur **Nadia**, que je souhaite qu'elle aura son bébé dans la meilleure forme.
- ✚ À mes chères tantes : Louiza, Rym, Salima, et à ma grand-mère je leur dis que je les adore.
- ✚ À ma très chère tante **Nassima** et ma cousine **Sabrina**.
- ✚ À **Labozza** exceptionnellement qui m'a supporté tout au long de la rédaction de ce mémoire et pour le soutien et l'encouragement qu'elle m'a prodiguée. Qu'elle en soit remerciée par cette modeste dédicace.
- ✚ À mes chers cousins et mes chères cousines : Houcine, Ahcène , Didine, Hamza, Nihad, Doussa
- ✚ À Mon meilleure ami et frère Derradji Houcine, je te suis très reconnaissant. Sans oublier son épouse et ses deux enfant.

✚ À mes chers amis : **Abd Latif, Saadeddine, Tati, popo, Samad, Azzou, Kasis, Kamalou, Mounir, Midou** je vous souhaite tout le bonheur du monde.

✚ À tous ceux qui portent les noms **Meddour** et **Ahcène Djaballah**.

✚ Enfin, je n'oublierai pas de le dédier à Mme Douini Leila et Lechkhreb Youssria , Mr Boujlida pour leurs soutien moral tout au long de mon cursus.
Je vous suis très reconnaissant.

Zahrou

Remerciements

La réalisation de ce mémoire fut une occasion merveilleuse pour remercier toutes les personnes que je ne saurais pas les citer toutes. Je reconnais que chacune a, à des degrés divers, mais avec une égale bienveillance, apporté une contribution positive à sa finalisation. Mes dettes de reconnaissance sont, à ce point de vue, énormes à leur égard.

Je tiens à remercier chaleureusement Mr **Khalili Kmael**, Professeur à l'université d'Annaba, pour m'avoir fait l'honneur d'être président du jury de ce mémoire.

Mes remerciements iront aussi à Madame **Bouslama Zihad**, Maître de conférences à l'université de Annaba, d'avoir pris de son temps et d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Comme je tiens à remercier Monsieur **Bairi Abdelmajid**, Maître de conférences à l'université d'Annaba, d'avoir pris de son temps malgré ses responsabilités pour examiner ce mémoire.

Je remercie particulièrement Monsieur **Boulaakoud Med Saleh**, Professeur à l'université d'Annaba, mon promoteur, pour la finesse de ses attitudes sur le plan aussi bien humain que scientifique. Ses remarques successives ont permis d'améliorer ce travail. Il a toujours trouvé comme promoteur le juste équilibre entre la liberté qu'il m'a laissée dans le choix des grandes orientations et dans la détermination des pistes à suivre, d'une part, et un soutien total et sans faille dans les moments délicats, d'autre part tant sur le plan théorique qu'expérimental, pour ses conseils précieux, et pour m'avoir fait confiance tout au long de ce travail.

Comme je tiens à remercier Monsieur **Djinidi**, Maître de conférences à l'université d'Annaba, d'avoir pris de son temps malgré ses responsabilités pour finaliser ce mémoire.

Je n'oublierai pas de remercier Melle **Assia**, étudiante en 3^{ème} année doctorat à l'université d'Annaba qui m'a vraiment aidé à réaliser ce mémoire.

Résumé

La plupart des effets de la mélatonine, chez les Vertébrés sont en relation avec la lumière, ou plus exactement avec l'absence de lumière. La mélatonine est directement impliquée dans les mécanismes d'adaptation des photorécepteurs rétiniens aux changements de l'intensité de la lumière ambiante. En plus de son rôle dans la médiation des effets directs de la lumière, la mélatonine intervient aussi dans l'ajustement des rythmes circadiens et saisonniers par le cycle lumière / obscurité, les rythmes circadiens étant dirigés par l'horloge interne.

Cette étude a pour but d'étudier l'effet de deux doses de mélatonine exogène administrées à des pigeons mâles élevés sous différents régimes photopériodiques : jours longs et éclairage continu. Nous nous sommes proposé d'évaluer l'impact de la mélatonine sur le développement de la gonade mâle, le poids corporel des animaux, les paramètres biochimiques (glucose, cholestérol et triglycérides), et d'étudier le profil de la thyroxine durant la phase photoréfractaire, en fonction de la dose de mélatonine et du programme lumineux. Des coupes histologiques des testicules ont servi à appuyer les différentes hypothèses proposées quant au rôle cumulatif de la lumière et de la mélatonine sur la reproduction du pigeon mâle.

Les résultats montrent que le traitement à la mélatonine, provoque une augmentation du poids corporel pour tous les lots expérimentaux par rapport aux Témoins. Le poids des testicules augmente régulièrement chez tous les individus, et il a été observé un effet dose pour la mélatonine (Lots 3 et 6) où le poids des testicules est plus élevé que pour les Lots 2 et 5 traités à la dose de 3 mg/ml de mélatonine.

L'éclairage continu a provoqué un effet de photoréfraction chez le Lot 6 où la taille des testicules commence à diminuer, chose qui n'est pas atteinte pour les jours longs. Le taux plasmatique de thyroxine le plus élevé se note chez les Lots 5 et 6 élevés en éclairage continu, ce qui marque le début de la phase photoréfractaire.

Enfin, le traitement à la mélatonine ne semble n'avoir aucun effet sur le taux de glucose plasmatique, quel que soit régime photopériodique, pour les 2 doses.

Les taux de cholestérol plasmatique diminue chez les pigeons des Lots 2 et 3, mais les baisses les plus remarquables de ces taux s'observent chez les Lots 5 et 6.

Summary

Most of the effects of melatonin in vertebrates are related to light, or more exactly with the absence of light. Melatonin is directly involved in the adaptation mechanisms of retinal photoreceptors to changes in the intensity of ambient light. In addition to its role in mediating the direct effects of light, melatonin is also involved in adjusting circadian rhythms and the seasonal light-dark cycle, circadian rhythms are run by the biological clock.

This study aims to investigate the effect of two doses of melatonin administered to male pigeons reared under different photoperiod: long days photoperiod and continuous light. We aimed to assess the impact of melatonin on the development of the male gonad, body weight, biochemical parameters (glucose, cholesterol and triglycerides), and the profile of thyroxin during photorefractoriness, depending on the dose of melatonin and lighting program.

Histological sections of testes were used to support the various hypotheses proposed about the role of cumulative light and melatonin on reproduction of male pigeon.

The results show that treatment with melatonin, causes an increase in body weight for all experimental groups compared to the Witnesses. The testicular weight increased steadily in all individuals, and it has been observed for a dose effect of melatonin (groups 3 and 6) where the testes were higher than for 2 and 5 groups treated with a dose of 3 mg / ml of melatonin.

The continuous illumination caused a photorefractive effect in group 6 where the size of the testes started to decline, this state wasn't reached by animals reared under long days. The plasma levels of thyroxin is highest in 5 and 6 groups reared in continuous light, and shows the beginning of photorefractoriness phase.

Treatment with melatonin seems to have no effect on plasma glucose levels, regardless of photoperiod regime, for the 2 doses tested. The plasma cholesterol levels decreased in pigeons of groups 2 and 3, but the most notable decreases in these rates are found among groups 5 and 6.

ملخص

تتعلق معظم آثار الميلاتونين في الفقاريات للضوء ، أو بشكل أكثر دقة مع عدم وجود ضوء .وتشارك مباشرة الميلاتونين في آليات التكيف من خلايا مستقبلية للضوء في الشبكية للتغيرات في شدة الإضاءة المحيطة .وبالإضافة إلى دوره في التوسط في الآثار المباشرة للضوء ، كما يشارك الميلاتونين في ضبط الإيقاع اليومي ودورة موسمية للضوء الظلام ، وتدار من قبل الإيقاع اليومي على مدار الساعة .

تهدف هذه الدراسة إلى دراسة تأثير جرعتين من الميلاتونين تدار لتربية الحمام الذكور تحت يوما : الضوئية مختلفة طويلة وضوء مستمر .ونحن نهدف الى تقييم تأثير الميلاتونين على تطوير غدة تناسلة الذكور ، ووزن جسم الحيوان ، البيوكيميائية (الجلوكوز والكوليسترول والدهون الثلاثية)، ودراسة ملف المرحلة هرمون الغدة الدرقية photorefractoriness ، اعتمادا على جرعة من الميلاتونين وبرنامج الإضاءة .واستخدمت المقاطع النسيجية من الخصيتين لدعم مختلف الفرضيات المقترحة حول دور ضوء التراكمي والميلاتونين على التناسل حمامة الذكور .

وتبين النتائج أن المعاملة مع الميلاتونين ، يسبب زيادة في وزن الجسم لجميع المجموعات التجريبية مقارنة مع شهود . زيادة وزن الخصية بشكل مطرد في جميع الأفراد ، ولقد لوحظ جرعة من الميلاتونين (الكثير 3 و 6) حيث الخصيتين أعلى من أجل الكثير 2 و 5 تعامل مع جرعة من 3 ملغ / مل من الميلاتونين .

وتسبب الإضاءة المستمرة له أثر في photorefractive لوط 6 حيث حجم الخصيتين بدأت في الانخفاض ، وهو ما لم يتحقق لأيام طويلة .مستويات البلازما من هرمون الغدة الدرقية هو أعلى تصنيف بين الكثير 5 و 6 مستويات في ضوء المستمر ، الذي يمثل بداية مرحلة photorefractoriness .

وأخيرا ، والمعاملة مع الميلاتونين ويبدو أن يكون له تأثير على مستويات الجلوكوز في البلازما ، وبغض النظر عن النظام الضوئية ، لجرعات 2 .

ويمكن العثور على مستويات الكوليسترول في بلازما انخفض في الحمام الكثير 2 و 3 ، ولكن انخفاض ملحوظ في معظم هذه المعدلات من بين الكثير 5 و 6.

Introduction générale :

Chez les oiseaux, les facteurs qui influent sur le déclenchement et le déroulement de la reproduction sont soit des facteurs externes, comme les changements saisonniers : température et photopériode, soit des facteurs internes, comme le déterminisme génétique, l'horloge interne, et les facteurs hormonaux. La photopériode, étant l'inducteur de la fonction de reproduction chez certains animaux, ceux-ci sont donc capables de mesurer le temps photopériodique. Plusieurs hypothèses, classées en deux groupes, sont avancées pour expliquer la lecture de la durée du jour. Dans le premier groupe, la mesure de la photopériode se fait à partir de la durée absolue de la phase claire et/ou de la phase sombre, ou du rapport phase claire / phase obscure du nyctémère. Le deuxième groupe d'hypothèse s'appuie sur l'existence d'un rythme endogène circadien de photosensibilité (**Bünning, 1960**). La réponse à une photopériode donnée ne se produit que lorsqu'il y a coïncidence entre l'éclairement et la phase de photosensibilité. Ainsi, par rapport à des jours courts, les jours longs doublent la vitesse de croissance testiculaire et avancent la maturité sexuelle.

Il est d'autre part établi chez les Mammifères que la glande pinéale a un rapport étroit avec les mécanismes qui interviennent dans la synchronisation de certains rythmes nyctéméraux (alternance jour nuit), et que la mélatonine qu'elle sécrète joue un rôle dans la reproduction, la spermatogenèse chez l'homme, dans le cycle menstruel chez la femme, l'adaptation des animaux à leur environnement, la synchronisation des cycles saisonniers de reproduction, la synchronisation d'un certain nombre de rythmes nyctéméraux, la thermorégulation (régulation la température du corps). La synthèse de mélatonine est contrôlée par l'alternance jour / nuit.

Par contre, chez les Oiseaux, le rôle de la mélatonine n'est pas clairement établi, bien que leur reproduction soit sous la dépendance de l'alternance jour/nuit, de la longueur de nyctémères, et de l'intensité lumineuse, qui sont justement, chez les Mammifères, en relation avec la glande pinéale, et liés à la sécrétion de mélatonine.

La plupart des effets de la mélatonine, chez les Vertébrés sont en relation avec la lumière, ou plus exactement avec l'absence de lumière. La mélatonine est directement impliquée dans les mécanismes d'adaptation des photorécepteurs rétiniens aux changements de l'intensité de la lumière ambiante. En plus de son rôle dans la médiation des effets directs de la lumière, la mélatonine intervient aussi dans l'ajustement des rythmes circadiens et

saisonniers par le cycle lumière / obscurité, les rythmes circadiens étant dirigés par l'horloge interne (**Vanecek, 1998**).

A cet égard, la reproduction se manifeste chez les Oiseaux d'une manière périodique ou saisonnière (**Rowan, 1925; Bissonnette, 1930; Wolfson, 1966; Follet et Gwinner, 1981; Dawson et al., 1985 a**). Elle représente une part importante dans la vie de la plupart des Oiseaux. Bien que le printemps, avec les jours qui s'allongent, soit le signal pour les Oiseaux qu'il est temps de se reproduire, la période de reproduction varie d'une espèce à l'autre et dépend également des conditions locales (**Rowan, 1925**). Mais avant de pouvoir se reproduire, les organes sexuels des Oiseaux doivent se développer de manière importante pour la saison de reproduction.

Durant notre étude, nous avons testé les effets de deux doses de mélatonine exogène administrées à des pigeons mâles élevés sous différents régimes photopériodiques : jours longs et éclairage continu. Nous nous sommes proposé d'évaluer l'impact de la mélatonine sur le développement de la gonade mâle, le poids corporel des animaux, les paramètres biochimiques (glucose, cholestérol et triglycérides), et d'étudier le profil de la thyroxine durant la phase photoréfractaire, en fonction de la dose de mélatonine et du programme lumineux. Enfin, des coupes histologiques des testicules serviront à illustrer les différents cas de figure, et à appuyer les différentes hypothèses proposées quant au rôle combiné de la lumière et de la mélatonine.

Contrôle photopériodique de la reproduction

La durée du jour est responsable du saisonnement de la reproduction dans de nombreuses espèces. Le cheminement du signal photopériodique de l'œil aux gonades fait intervenir des mécanismes variés, nerveux et endocriniens.

L'existence de saisons, avec les variations associées des facteurs climatiques, est l'un des principaux défis auxquels les organismes vivants sont confrontés dans les zones tempérées. Différents processus physiologiques existent qui permettent de moduler les fonctions physiologiques de l'organisme en fonction des saisons. Parmi ceux-ci, on peut citer, selon les espèces, l'hibernation, les variations de croissance du poil et la mue, la mise en réserve d'énergie dans le tissu adipeux brun, la migration... (Gwinner 1986). Toutefois, un processus commun à la majorité des espèces animales est la mise en sommeil de la fonction de reproduction quand une fécondation entraînerait des naissances à un moment défavorable à la survie des jeunes. Cette saisonnalité de la reproduction aboutit généralement à des naissances se déroulant en fin d'hiver ou au printemps ce qui fournit les conditions les plus favorables de développement aux jeunes avant l'hiver suivant. Pour les espèces dont la gestation dure quelques semaines (rongeurs, incubation pour les oiseaux) ou environ un an (équin), la période d'activité sexuelle se déroule au printemps. A l'opposé, pour des espèces à durée de gestation de l'ordre de 6 mois (ovins, caprins, cervidés...), la période d'activité sexuelle se déroule pendant l'automne pour donner des naissances au printemps suivant (Ortavant et al 1985, Martinet et mondain-Monval 1991). Chez certaines espèces (vison, chevreuil...), la saison influence non seulement la production de gamètes par les gonades mais également la période d'implantation; ainsi, chez certaines espèces (Vison, chevreuil...), la saison influence non seulement la production de gamètes par les gonades mais également la période d'implantations pouvant se produire en juillet - août, l'implantation a lieu en décembre - janvier pour une période de naissance en mai - juin (Thimonier et Sempéré 1989).

La nécessité de prévoir quelques mois à l'avance le moment favorable aux naissances implique l'utilisation par l'animal d'un indicateur fiable du moment de l'année. Le facteur de l'environnement utilisé par majorité des espèces est la variation de la durée journalière

d'éclairement, ou photopériode. Cet article analyse d'abord le rôle de la photopériode et la manière dont celle-ci contrôle le cycle annuel de reproduction, puis présente les mécanismes par lesquels l'information lumineuse module la fonction de reproduction cette revue sera limitée aux mammifères et la plupart des faits expérimentaux rapportés concerneront les espèces ovine ou caprine. Il sera fait appels à d'autres espèces pour des questions non résolues chez ces deux espèces.

1/ Contrôle du cycle annuel de reproduction

L1/ Variations saisonnières d'activité sexuelle et de sécrétion d'hormones gonadotropes

Chez les ovins, sous nos latitudes, la reproduction a un caractère saisonnier marqué, caractérisé par l'alternance d'une période de repos sexuel au printemps et en été, et d'une période d'activité sexuelle en automne et en hiver (Yeates 1949, Thimonier et Mauléon 1969, Ortavant *et al* 1985). La période de repos sexuel est caractérisée chez la brebis par l'établissement d'un état d'anœstrus, le plus souvent associé à l'absence d'ovulation (figure 1) En revanche, la saison sexuelle se caractérise par la succession de cycles

œstriens tous les 15 à 18 jours (Thimonier et Mauléon 1969) Chez le bélier, la production spermatique varie également au cours de l'année. Ainsi, chez le bélier Ile-de-France, la production quotidienne de spermatozoïdes est quatre fois plus élevée en automne qu'au printemps (Dacheux *et al* 1981)

Les variations d'activité sexuelle résultent de changements de sécrétion des hormones

gonadotropes, LH (hormone lutéinisante) et FSH (hormone folliculo-stimulante) (Karsch *et al* 1984). La saison influence la fréquence des épisodes de libération de LH (sécrétion pulsatile qui est la caractéristique la plus importante de la sécrétion de cette hormone, par deux mécanismes complémentaires : l'un est dépendant des stéroïdes gonadiques l'autre est indépendant de ceux-ci (Pelletier et Ortavant 1975). Chez la brebis ou le bélier castrés, la sécrétion pulsatile de LH est plus faible pendant la saison de repos sexuel que pendant la

saison sexuelle (1 vs 2 pulses par heure chez la brebis castrée , Pelletier et Ortavant 1975, Montgomery *et al* 1985, Robinson *et al* 1985a). Cette différence de sécrétion de LH entre saisons de repos et d'activité sexuels est très fortement accrue en présence d'œstradiol ou de testostérone (Pelletier et Ortavant 1975, Karsch *et al* 1984 Chemineau *et al* 1988). Ainsi, chez la brebis ovariectomisée traitée avec un implant d'œstradiol délivrant des taux analogues à ceux observés en milieu de phase folliculaire, on observe 1 pulse toutes les 12 à 24 heures pendant la saison d'anoestrus contre 1 pulse toutes les 30 minutes pendant la saison sexuelle (Karsch *et al* 1984) Par conséquent, les changements de sensibilité à l'œstradiol chez la femelle et à la testostérone chez le mâle sont le principal mécanisme responsable de la saisonnalité de la reproduction Ces variations de sensibilité à l'œstradiol sont à l'origine d'un modèle expérimental très largement utilisé : la brebis ovariectomisée et traitée avec un implant sous-cutané délivrant une quantité constante d'œstradiol. Les concentrations plasmatiques de LH qui sont mesurées chez cet animal reflètent les modifications de sensibilité à l'œstradiol et sont parfaitement corrélées aux variations d'activité ovulatoire chez la femelle entière (Karsch *et al* 1984).

L2 / Contrôle du cycle annuel de reproduction par la photopériode

Le rôle de la photopériode a été mis en évidence dans une série d'expériences montrant

que la période d'activité sexuelle peut être déplacée dans le temps en modifiant le régime photopériodique sans changer les autres facteurs de l'environnement. Par exemple, l'inversion du cycle photopériodique annuel cause un décalage de 6 mois de la saison sexuelle et la réduction à 6 mois du cycle photopériodique Provoque l'apparition de deux sexuelles par an (Mauléon et Rougeot 1962, Thwaites 1965)

Par ailleurs, l'utilisation d'alternance entre des jours courts et des jours longs constants montre que les passages en jours courts et en jours longs sont respectivement suivis d'une stimulation et d'une inhibition de l'activité de reproduction, avec cependant un temps de latence dans chaque cas (figure 1). Par exemple, chez des brebis soumises de manière alternée à des jours courts et des jours longs (90 jours de traitement pour chaque photopériode), le déclenchement de l'activité ovulatoire ou l'augmentation de la sécrétion

de LH se produit 40 à 60 jours après le passage jours longs/jours courts alors que les évolutions inverses se produisent 20 à 30 jours après le passage jours courts/jours longs (Karsch *et al* 1984, Thimonier 1989).

Les effets stimulants des jours courts ainsi que le déclenchement de la saison sexuelle pendant les jours décroissants de fin d'été ou d'automne ont conduit à qualifier les ovins d'animaux de « jours courts ». De plus, le déclenchement de la saison sexuelle, qui se produit dans la plupart des races en août - septembre, semblait résulter de l'action stimulante des jours décroissants perçus après le solstice d'été. A l'opposé, l'arrêt de cette activité entre janvier et avril semblait être provoqué par l'augmentation de la durée du jour après le solstice d'hiver. Il apparaît maintenant que la régulation du cycle annuel de reproduction est beaucoup plus compliquée, avec en particulier la survenue d'états photoréfractaires. En effet chez la brebis, la diminution de la durée du jour après le solstice d'été ne semble pas être responsable du déclenchement de la saison sexuelle. L'activité sexuelle de brebis maintenues sous une durée du jour constante équivalente à celle du solstice d'été à partir de celui-ci, débute au même moment que chez des animaux témoins maintenus en photopériode naturelle (Thimonier *et al* 1978, Robinson *et al* 1985b, Worthy *et al* 1985). Il en est de même pour des brebis maintenues sous une photopériode continuellement croissante à partir de l'équinoxe de printemps et même après le solstice d'été (Malpaux *et al* 1989). Au moment du déclenchement de la saison sexuelle, les animaux semblent donc être réfractaires à l'action inhibitrice des jours longs ambiants. En ce qui concerne la fin de la saison sexuelle, la même conclusion s'applique. Les brebis deviennent réfractaires aux effets stimulants des jours courts ambiants. Des brebis maintenues en jours courts à partir du solstice d'hiver ou exposées à une photopériode continuellement décroissante à partir de l'équinoxe d'automne cessent leur activité sexuelle ou gonadotrope au même moment que les témoins (Worthy et Haresign 1983, Robinson et Karsch 1984, Malpaux *et al* 1988c).

Ces états réfractaires critiques au déroulement normal de la saison sexuelle pourraient être l'expression d'un rythme endogène de reproduction. L'existence d'un tel rythme a été démontrée chez les ovins comme dans de nombreuses autres espèces des animaux maintenus en jours courts ou longs constants pendant plusieurs années continuent à

montrer des alternances entre périodes de repos et d'activité sexuelles (Ducker *et al* 1973, Howles *et al* 1982, Gwinner 1986, Karsh *et al* 1989, Thimonier 1989). Toutefois, ces périodes d'activité deviennent désynchronisées entre animaux et par rapport à la saison sexuelle normale. La période de ce cycle endogène varie généralement entre 8 et 10 mois. Par exemple, des brebis Suffolk exposées à des jours courts constants pendant 4 ans, montrent des variations d'activité gonadotrope. Ces cycles de sécrétion de LH ne sont pas synchronisés entre animaux et sont caractérisés par une période différente de 1 an (Karsch *et al* 1989). Le rôle de la photopériode dans les conditions naturelles pourrait donc être de synchroniser ce rythme endogène de reproduction pour lui imposer une période égale à un an.

Il est important de noter que la perception de la photopériode durant certaines périodes critiques de l'année pourrait suffire à entraîner le rythme endogène de reproduction. Ainsi, chez la brebis, les résultats de diverses expériences (Malpaux *et al* 1989, Malpaux et Karsch 1990, Wayne *et al* 1990, Woodfill *et al* 1991) suggèrent que les jours longs de printemps jouent un rôle central pour entraîner le rythme endogène de reproduction et, en particulier, déterminer le moment de déclenchement de la saison sexuelle en fin d'été. Les jours courts interviendraient ensuite pour maintenir cette activité (*figure 2*) Ce modèle a été proposé à la suite de résultats expérimentaux obtenus chez la brebis et sa validité mériterait d'être mise à l'épreuve chez les béliers et dans d'autres espèces. Mais la principale conclusion est que la notion d'animal de « jours courts » ou de « jours longs » doit être utilisée avec prudence. En effet, si ces termes conservent leur valeur d'un point de vue descriptif, ils peuvent conduire à des imprécisions sur le plan mécanistique : le déclenchement de la saison sexuelle est synchronisé par les jours longs de printemps chez un animal dit de « jours courts » comme la brebis.

2 / Mécanismes d'action de la photopériode

2.1/ Traduction de l'information photopériodique en un message hormonal

Chez les mammifères, l'information photopériodique est perçue par la rétine et transmise par voie nerveuse à la glande pinéale en plusieurs étapes L'information photopériodique est

transmise de la rétine aux noyaux suprachiasmatiques par l'intermédiaire de la voie monosynaptique rétino-hypothalamique (figure 3a , Herbert *et al* 1978, Legan et Winans 1981). A partir de cette structure hypothalamique, le signal est transporté au noyau hypothalamique paraventriculaire (figure 3a et b), puis dans une colonne de cellules intermédiolaterales située dans la moelle thoracique et ensuite aux ganglions cervicaux supérieurs (figure 3a , Lincoln 1979, Swanson et Kuypers 1980, Klein *et al* 1983). Le signal parvient enfin à la glande pinéale par les neurones sympathiques postganglionnaires. L'importance fonctionnelle de ces voies photoneuroendocriniennes a été démontrée expérimentalement chez le rat et il est admis qu'elles sont similaires chez les autres mammifères. Chez le mouton, l'existence d'une voie rétino-hypothalamique a été démontrée (Legan et Winans 1981). Par ailleurs, dans cette espèce, le rôle de la rétine, des ganglions cervicaux supérieurs et des noyaux suprachiasmatiques a été établi en montrant que la lésion de ces structures modifiait la réponse à la photopériode (Lincoln 1979, Domanski *et al* 1980, Legan et Karsch 1983, Tessonnaud *et al* 1995). Ainsi, des béliers de race Soay soumis à une alternance de périodes de 16 semaines de jours longs et de 16 semaines de jours courts expriment des cycles d'activité sexuelle (variations de poids testiculaire) qui sont synchronisés entre animaux et dont la période est proche de 32 semaines (Lincoln 1979). Après ganglionectomie cervicale supérieure, le poids testiculaire de ces animaux ne varie plus de manière significative. De même, des brebis de race Suffolk exposées à une alternance de 90 jours courts et 90 jours longs se caractérisent par un cycle très marqué de sécrétion de LH. Après pinéalectomie les cycles de sécrétion de LH persistent, mais les périodes de sécrétion élevée se produisent à des moments variables selon les animaux , de plus, la période de ces cycles est très différente de celle du régime photopériodique (Bittman *et al* 1983b).

La glande pinéale n'émet pas de projections nerveuses, son influence sur les fonctions physiologiques met donc en jeu un facteur endocrinien. La principale hormone sécrétée par la glande pinéale est la mélatonine et c'est elle qui traduit les effets de la photopériode sur la fonction de reproduction

2.2 / La mélatonine

a / Rythme de sécrétion

La mélatonine est sécrétée par la glande pinéale selon un rythme jour/nuit bien défini (Rollag et Niswender 1976, Arendt 1986). Chez les ovins et les caprins, les taux plasmatiques diurnes sont faibles, le plus souvent non détectables avec les dosages radioimmunologiques disponibles (< 5 pg/ml), alors que les taux nocturnes sont élevés et varient de 100 à 500 pg/ml pour les ovins et de 50 à 150 pg/ml pour les caprins (Malpaux *et al* 1987, Delgadillo et Chemineau 1992, figure 4). Ce rythme nycthéral de sécrétion de mélatonine est un rythme endogène. En effet, lorsque des animaux sont maintenus en obscurité constante-la sécrétion de mélatonine demeure rythmique mais la période du cycle est différente de 24 heures et celui-ci n'est pas synchronisé entre animaux (Ebling *et al* 1988). Le rôle de la lumière est donc de synchroniser ce rythme endogène sur une période de 24 heures. Cet effet implique l'horloge circadienne de l'organisme, les noyaux suprachiasmatiques, qui contrôle la sécrétion de mélatonine. Il est à noter que la lumière exerce également un effet inhibiteur de la sécrétion de mélatonine. En effet, l'illumination des animaux en cours de nuit provoque une chute des niveaux plasmatiques de mélatonine.

La sécrétion exclusivement nocturne de la mélatonine est observée chez tous les mammifères avec toutefois des différences de niveaux nocturnes importants entre espèces (20 à 30 pg/ml chez le porc domestique, 50 à 100 pg/ml chez l'homme, quelques centaines de pg/ml chez les ovins) (Broadway *et al* 1987, Paterson et Foldes 1994). Une autre différence interspécifique concerne la forme du profil de sécrétion. Chez les ovins et les caprins, la sécrétion débute très rapidement après le début de la nuit (moins de 10 minutes) et ensuite les niveaux demeurent élevés pendant le reste de la nuit (Malpaux *et al* 1988c.». Au cours de la nuit, les niveaux de mélatonine varient considérablement, ce qui suggère une libération épisodique de cette hormone (Malpaux *et al* 1987, 1988a}. Chez d'autres espèces, en particulier le hamster doré et l'homme, le déclenchement de la sécrétion est plus lent pour atteindre une sécrétion maximale seulement vers le milieu de la nuit (Hoffman 1981, Broadway *et al* 1987). Chez les ovins, bien que les niveaux de mélatonine varient beaucoup au cours de la nuit et également entre animaux, le niveau nocturne moyen de mélatonine est une caractéristique très répétable des animaux (coefficient de répétabilité de 0,7 chez des brebis Ile-de-France, Beltran de Heredia *et al* 1993).

La mélatonine parvient dans la circulation sanguine par l'intermédiaire de la veine de Galien qui draine la glande pinéale. La mélatonine est également présente dans le liquide céphalo-rachidien à des concentrations 2 à 10 fois plus élevées que dans la circulation périphérique (Kanematsu *et al* 1989, Shaw *et al* 1989). Etant donné le faible volume de liquide céphalo-rachidien, la quantité de mélatonine ainsi libérée dans ce dernier est faible, 0,1 % de celle libérée dans le sang. L'importance fonctionnelle de ces taux élevés reste toutefois inconnue.

Bien que la mélatonine soit synthétisée dans d'autres structures que la glande pinéale (rétine, glande de Harder..), la pinéalectomie conduit à des taux nocturnes de mélatonine non détectables, ce qui indique que la glande pinéale est la source principale de cette hormone.

b / Synthèse et dégradation de la mélatonine

La mélatonine est synthétisée à partir du tryptophane dans les pinéalocytes. Contrairement à la plupart des autres hormones, la mélatonine n'est pas stockée dans des vésicules avant sa libération (Reiter 1981). La voie de synthèse inclut successivement le 5-hydroxytryptophane, la sérotonine, la N-acétylsérotonine et enfin la mélatonine (figure 5 ; Sugden 1989). La transformation du tryptophane en 5-hydroxytryptophane par la tryptophane hydroxylase est une étape limitante de la synthèse de sérotonine dans la glande pinéale, mais la régulation circadienne de la sécrétion de mélatonine semble se faire par l'intermédiaire de la N-acétyl-transférase (NAT) qui catalyse la transformation de la sérotonine en N-acétyl-sérotonine.

Le début de la nuit est suivi par une augmentation rapide de la libération de noradrénaline au niveau de la glande pinéale par les terminaisons des neurones provenant des ganglions cervicaux supérieurs. La noradrénaline se lie à la fois à des récepteurs adrénergiques α_1 et B ce qui provoque une augmentation d'AMPc (Klein 1985). La participation exacte de ces deux types de récepteurs reste à établir. Ils pourraient agir en synergie ou la stimulation des récepteurs α_1 pourrait potentialiser l'activation des récepteurs B (Klein 1985). L'AMPc active une protéine kinase qui, à son tour, stimule l'activité de la NAT. Chez le mouton, des travaux récents suggèrent l'existence d'un mécanisme de régulation de la sécrétion de mélatonine indépendant de la NAT et qui serait dépendant du calcium (Van Camp *et al* 1991).

Chez les mammifères, la mélatonine est métabolisée en 6-hydroxy-mélatonine par le foie et les reins (Yu *et al* 1993) Ce métabolite est excrété dans l'urine sous forme sulphatée ou glucuronée. La mélatonine est également métabolisée dans le cerveau en N-acétyl-5-méthoxykénurénamine (Hirata *et al* 1974)

c / Importance de la sécrétion de mélatonine

L'importance de la mélatonine dans le contrôle de la reproduction a été démontrée par la possibilité de produire des effets jours courts chez des animaux exposés à des jours longs. En jours longs, la mélatonine est sécrétée pendant une durée courte, par exemple 8 heures en 16L (16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité). Plusieurs auteurs ont montré qu'il est possible d'administrer de la mélatonine de manière continue (implants sous-cutanés) ou en milieu de journée (injection ou incorporation à la nourriture) pour augmenter la durée de présence de taux élevés de mélatonine Ces traitements causent une stimulation de l'activité de reproduction chez des brebis ou des chèvres de la même façon que des jours courts (Chemineau *et al* 1986, English *et al* 1986, Chemineau *et al* 1992).

La démonstration définitive de l'implication de la mélatonine a été faite par des expériences de remplacement chez des animaux pinéalectomisés (Bittman *et al* 1983a et 1984, Goldman et Nelson 1993). La perfusion de mélatonine dans la circulation périphérique pour mimer des profils de sécrétion de mélatonine de type " jours courts " ou " jours longs " peut reproduire les effets des jours courts ou des jours longs Ainsi, des brebis pinéalec-tomisées, ovariectomisées et traitées avec un implant d'œstradiol, transférées de jours longs en jours courts sont dépourvues de mélatonine et ne montrent aucune modification de taux de LH. Si, au moment du transfert, elles reçoivent une perfusion quotidienne de mélatonine qui rétablit des niveaux élevés de mélatonine pendant 16 heures toutes les nuits (profil « jours courts »), une stimulation de la sécrétion de LH est observée après environ 50 jours, soit une réponse de type « jours courts » classique (Bittman et Karsch 1984).

d / Paramètres critiques du rythme de sécrétion de mélatonine

Le rythme circadien de sécrétion de mélatonine traduit les effets de la photopériode sur la fonction de reproduction. Cependant, il reste à déterminer quel est le paramètre de ce rythme qui est critique pour obtenir ces effets. Trois paramètres principaux ont été considérés : l'amplitude (différence entre niveaux nocturnes et diurnes), la phase (présence de mélatonine à un moment donné du nyctémère qui coïncide avec une période de sensibilité à cette hormone) ou la durée de sécrétion (durée quotidienne de présence de niveaux élevés). L'hypothèse « amplitude » n'a pas reçu beaucoup d'attention car l'amplitude du rythme n'est pas différente en jours longs et en jours courts. De plus, elle semble trop variable entre animaux pour constituer une caractéristique fiable du rythme capable de traduire l'information (Malpoux *et al* 1987).

Chez le hamster doré, l'injection de mélatonine en fin d'après-midi produit un effet « jours courts » (inhibition de l'activité reproductrice) alors qu'à d'autres moments, un tel effet n'est pas obtenu (Tamarkin *et al* 1976). Cette observation suggère qu'il existe un rythme de sensibilité à la mélatonine. Toutefois, l'absence de mesure des taux de mélatonine dans ces expériences ne permet pas d'exclure la possibilité que le pic de mélatonine exogène, ainsi administré peu de temps avant le début de la nuit, et la sécrétion endogène se fondent pour aboutir à un allongement de la durée de présence de mélatonine. Des expériences plus récentes rapportent le même type de différences de réponse en fonction du moment du nyctémère chez des animaux pinéalectomisés chez lesquels cette critique ne s'applique pas (Stetson et Watson-Whytmire 1986). Néanmoins, la plupart des résultats disponibles sont en faveur de l'hypothèse « durée ». En particulier, chez la brebis et le hamster sibérien, la perfusion de mélatonine produit toujours une réponse caractéristique de la durée de perfusion, indépendamment de la durée d'éclairage ou de la relation de phase entre le cycle lumineux et le moment de la perfusion (Carter et Goldman 1983, Karsch *et al* 1984, Wayne *et al* 1988). Des données en faveur de l'hypothèse « durée » ont également été obtenues chez le hamster doré, le vison et la souris à « pattes blanches » (Dowell et Lynch 1987, Bonnefond *et al* 1989, Goldman et Nelson 1993). Bien que la plupart des données disponibles soient en faveur de l'hypothèse « durée », l'existence d'un rythme de sensibilité entraîné par la mélatonine elle-même a été peu explorée (Pitrosky 1994).

Que la durée ou la phase soit la caractéristique critique du rythme de sécrétion de mélatonine, elles ne sont pas absolues. En effet, il a été démontré dans plusieurs

situations physiologiques que des profils de mélatonine caractérisés par une durée et une phase identiques pouvaient induire des réponses opposées. Par exemple, si des brebis ovariectomisées et traitées avec un implant d'œstradiol, exposées initialement à des jours longs (16L) sont soumises à 13L, une stimulation de la sécrétion de LH s'ensuit. A l'opposé, si des brebis sont initialement exposées à des jours courts (10L), leur exposition à 13L se traduit par une inhibition de la sécrétion de LH (Robinson et Karsch 1987). Par conséquent, le même signal photopériodique (13L) induit des effets stimulants ou inhibiteurs selon la photopériode à laquelle les animaux ont été préalablement soumis. Les profils de sécrétion de mélatonine mesurés dans cette expérience indiquent que, dans toutes ces situations, la sécrétion de mélatonine dure pendant toute la nuit. Les animaux ont donc répondu différemment au même signal « mélatonine » selon la nature de leur exposition préalable à la mélatonine. A un moment donné, l'animal n'interprète donc pas une durée ou une phase du rythme de sécrétion de mélatonine dans l'absolu mais relativement à celles qu'il a perçues antérieurement

2.3 / Mode d'action de la mélatonine

a / Un effet majeur au niveau du système nerveux central

La mélatonine peut agir à différents niveaux de l'axe hypothalamo-hypophysaire et gonadique. Toutefois, une étape clé de son action implique des événements au niveau du système nerveux central. En particulier, l'effet majeur de la mélatonine est de modifier la fréquence de libération du LHRH (luteinizing hormone releasing hormone, ou gonadolibérine) hypothalamique, ce qui, par voie de conséquence, change la fréquence de libération de la LH et l'activité des gonades. Ainsi, des brebis ovariectomisées, traitées avec un implant sous-cutané d'œstradiol et soumises à des jours longs, se caractérisent par une fréquence de libération de LHRH de l'ordre de 1 pulse par période de 6 heures. Le traitement de tels animaux avec un implant sous-cutané de mélatonine qui produit un effet « jours courts », va se traduire par une stimulation de la libération pulsatile de LHRH pour atteindre une fréquence de l'ordre de 10 pulses/6 heures (figure 6 ; Viguié *et al* 1995a). Il

est à noter que l'intervalle de 40 à 60 Jours observé entre le début d'un traitement par des jours courts et la stimulation de la sécrétion de LH ou de l'ovulation chez la brebis se retrouve entre le début du traitement par la mélatonine et la stimulation de la sécrétion de LHRH, ce qui démontre que les mécanismes responsables de ce délai de latence sont essentiellement d'origine nerveuse

b/ Sites d'action de la mélatonine

Des récepteurs à la mélatonine ont été mis en évidence dans de nombreuses structures. Toutefois, dans toutes les espèces de mammifères étudiées, la plus forte densité de récepteurs à la mélatonine est trouvée dans la pars tuberalis de l'hypophyse (PT, figure 3b; de Reviers *et al* 1989, Bittman 1993}. Il existe même deux espèces très sensibles à la photopériode, le vison et le furet, chez lesquelles la pars tuberalis est le seul site où une liaison de la mélatonine a été détectée (Boissin- Agasse *et al* 1992, Bittman 1993). Ces observations ont conduit à proposer la pars tuberalis comme le site principal d'action de la mélatonine. Cependant, des microimplants de mélatonine disposés contre la pars tuberalis ou à l'intérieur de celle-ci sont incapables de stimuler la sécrétion de LH chez des brebis ovariectomisées et traitées avec un implant d'œstradiol (Malpaux *et al* 1994 et 1995). Ces microimplants étant capables de stimuler la sécrétion de LH lorsqu'ils sont disposés dans le troisième ventricule, cette observation suggère que la pars tuberalis n'est pas le site d'action de la mélatonine pour ses effets sur la fonction de reproduction.

La pose de microimplants de mélatonine dans divers sites hypothalamiques a permis d'identifier des sites potentiels d'action. En effet, des microimplants de mélatonine disposés dans l'hypothalamus médiobasal permettent de stimuler la sécrétion de LH chez la brebis ou l'activité testiculaire chez le bélier de la même manière que des jours courts ou des implants sous-cutanés (figure 3b ; Lincoln et Maeda 1992, Malpaux *et al* 1993). Lorsque ces microimplants sont disposés dans l'hypothalamus antérieur ou dorsolatéral ou dans l'aire pré-optique, ils n'ont aucun effet détectable sur la sécrétion de LH (Malpaux *et al* 1993). Ces résultats suggèrent une localisation des sites d'action de la mélatonine dans l'hypothalamus médiobasal où des récepteurs à la mélatonine en faible densité ont été identifiés (Bittman et Weaver 1990, Chabot *et al* 1994). Cette hypothèse est renforcée par l'observation des effets de la lésion de l'hypothalamus médiobasal chez le hamster doré. En

effet, chez de tels animaux, après lésion, la mélatonine n'a plus d'effet sur l'activité de reproduction (Maywood et Hastings 1995). Le clonage récent d'un récepteur membranaire à la mélatonine et la mise en évidence d'un récepteur nucléaire qui est capable de lier la mélatonine pourraient permettre de résoudre l'incohérence apparente entre la localisation des sites d'action et de liaison (Reppert *et al* 1994, Becker-André *et al* 1994).

Chapitre 2 : La mélatonine

2.1. Introduction

La mélatonine, souvent appelée hormone du sommeil, est surtout connue comme étant l'hormone centrale de régulation des rythmes chronobiologiques, et d'un certain point de vue, de pratiquement l'ensemble des sécrétions hormonales, chez tous les mammifères et chez la plupart des espèces animales complexes. Cette neurohormone est synthétisée à partir d'un neurotransmetteur, la sérotonine, qui dérive elle-même du tryptophane, un acide aminé essentiel. Elle est sécrétée par la glande pinéale (ou épiphyse) en réponse à l'absence de lumière.

On sait que la mélatonine est sécrétée durant la nuit par la glande pinéale chez les Vertébrés et que cette sécrétion est sous le contrôle de l'horloge biologique. Le rôle de cette sécrétion variable est encore hypothétique. La durée de la sécrétion varie au cours l'année, étant donné que la longueur de la nuit varie avec les saisons. L'information photopériodique est transmise à l'organisme *via* la durée de la sécrétion de mélatonine. Aussi, de nombreux auteurs s'intéressent au rôle de la mélatonine dans les fonctions saisonnières comme la reproduction et la croissance.

La mélatonine semble avoir de multiples fonctions, autres qu'hormonales chez les Mammifères, en particulier comme antioxydant. Elle semble aussi jouer un rôle dans le système immunitaire. Il a été récemment montré que diverses algues et plantes produisent aussi de la mélatonine. L'organisme peut en extraire à partir de nombreuses plantes (dont par exemple le riz).

2.2. Rôles de la mélatonine

La mélatonine est considérée par certains biochimistes comme une hormone primordiale, car elle régule la sécrétion de la plupart des hormones humaines (paracrines et endocrines). La mélatonine agit différemment selon son origine :

- celle produite dans la glande pinéale et à partir du tractus gastro-intestinal agit comme une hormone endocrine car elle diffuse dans le sang,
- celle produite par la rétine agit comme une hormone paracrine.

La mélatonine est une hormone monoaminée qui dérive du tryptophane. La mélatonine, sécrétée par l'épiphyse, est synthétisée à partir de l'acide aminé tryptophane qui est transformé en sérotonine avant de donner la mélatonine. Cette hormone circule librement dans le sang et agit sur les cellules cibles par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques transmembranaires.

La mélatonine est sécrétée par la glande pinéale ou épiphyse, mais aussi en beaucoup plus faible quantité, par la rétine. Elle présente différentes actions majeures :

- régulation chrono biologique ;
- diminution du stress ;
- régulation du sommeil ;
- réduction des risques cardio-vasculaires ;
- détermination de l'espérance de vie.

Ces multiples effets, sont expliqués par l'omniprésence de cette hormone dans le règne vivant, depuis les algues unicellulaires jusqu'à l'homme. Phénomène rare en biologie, sa composition chimique est identique chez l'ensemble des espèces. Ce caractère universel en fait le produit majeur d'adaptation à la vie sur terre et explique donc son importance.

2.3. Mode d'action de la mélatonine

L'information lumineuse est perçue par la rétine et, après un trajet nerveux, elle est transformée en un signal endocrinien, le rythme de sécrétion de mélatonine. Cette hormone est sécrétée uniquement pendant la nuit. La mélatonine agit au niveau du système nerveux central pour modifier la sécrétion pulsatile de LHRH. Son action sur les neurones à LHRH n'est pas directe, mais elle met en jeu des inter-neurones. Par ailleurs, la modification de sécrétion de LHRH est observable avec un délai important par rapport au changement du rythme de sécrétion de mélatonine, de 40 à 60 jours chez la brebis. Les modifications de sécrétion de LHRH induisent à leur tour des changements de sécrétion des gonadotropines et en conséquence, des variations d'activité des gonades (**De Reviers, 1996**).

Contrairement à ce qui existe chez les Mammifères, la perception de l'information lumineuse est, chez les Oiseaux, beaucoup plus importante par voie transcrânienne que par voie oculaire. Ainsi, par exemple, l'obscurcissement du crâne par de l'encre de Chine bloque la réponse sexuelle du moineau aux jours longs, alors que la privation oculaire est sans effet. La lumière transmise par voie intracrânienne est perçue grâce à un pigment photorécepteur, probablement la rhodopsine (**Foster et Follet, 1985**) et ceci à la fois par l'hypothalamus lui-même et via la glande pinéale. Il reste néanmoins possible que, si les yeux ne sont pas indispensables à la stimulation lumineuse de la reproduction, ils jouent cependant un rôle dans la fonction synchronisatrice des rythmes lumineux circadiens. Durant les phases obscures, la glande pinéale produit, chez les Oiseaux comme chez les Mammifères, des quantités importantes de mélatonine. Cependant la pinéalectomie ne semble pas modifier la photosensibilité d'oiseaux sauvages. Le rôle de la mélatonine est donc, chez ces espèces, loin d'être aussi important et aussi bien démontré que chez les Mammifères.

Chez la caille japonaise, le rôle de la mélatonine sur la rythmicité circadienne est encore controversé (**Lumineau *et al.*, 2002**). L'augmentation de la photopériode de printemps stimule la sécrétion de la gonadolibérine (GnRH) et la maturation des gonades en conséquence. Toutefois, la reproduction se termine avant le retour des photopériodes courtes. Ceci est la conséquence d'un effet de second long-photopériodes l'induction de photoréfractaire. Ce double rôle des photopériodes longues est nécessaire pour donner l'asymétrie des saisons de reproduction. En règle générale, la régression des gonades par photoréfraction est associée à une diminution massive de la GnRH hypothalamique, essentiellement d'un renversement de la condition pré-pubère. Bien que la saison de reproduction soit déterminée principalement par le contrôle photopériodique des neurones à GnRH, la prolactine peut être importante pour déterminer le moment exact de la régression des gonades. Au niveau moléculaire, les horloges circadiennes aviaires semblent fonctionner d'une manière similaire à celles des Mammifères. La mesure du temps photopériodique implique l'interaction entre un rythme circadien de photoinduction et, contrairement aux Mammifères, des photorécepteurs cérébraux profonds. Leur emplacement exact demeure incertain. Bien que les yeux et la glande pinéale génèrent un cycle quotidien de sécrétion de mélatonine, ce signal photopériodique n'est pas utilisé au moment de la reproduction saisonnière. Au lieu de cela, les réponses photopériodiques semblent impliquer une interaction directe entre les photorécepteurs et les neurones à GnRH. Les hormones thyroïdiennes sont néanmoins nécessaires pour faire fonctionner ce système. En plus de la fonction gonadique, le chant est également affecté par la photopériode, l'augmentation en volume étant en partie due à une augmentation du nombre de cellules à la suite de la neurogenèse (**Dawson *et al.*, 2001**).

1.4. Régulation de la synthèse de mélatonine

Chez les Vertébrés, la lumière régule l'activité de la glande pinéale en jouant sur le taux de transcription de l'AA-NAT (**Pevet, 1998**). Chez les Vertébrés non mammaliens, l'épiphyse est à la fois le lieu de synthèse de la mélatonine et le lieu d'intégration du message photique (**Mayer *et al.*, 1997**). La transduction du signal lumineux se fait par l'intermédiaire d'un photorécepteur membranaire. Le second messenger synchronise l'horloge qui contrôle l'activité de l'AA-NAT dans le pinéaloocyte (**Collin *et al.*, 1998**). Chez les Mammifères, l'information lumineuse perçue au niveau de la rétine est transportée à la glande pinéale par voie neuronale (**Pevet, 1998**).

Chapitre 3 : Matériel et méthodes :

3.1. Matériel biologique et conditions d'élevage :

Des pigeons domestiques mâles *Columba livia* provenant de la région d'Annaba durant la période de reproduction (début du mois de mars) ont été achetés dans le commerce. Les animaux sont élevés dans des cages métalliques de [60×54×52] cm équipées de mangeoires et d'abreuvoirs. Les pigeons sont acclimatés aux conditions de l'animalerie à une température de $21 \pm 1^\circ\text{C}$ et une humidité relative de 75%. Ils reçoivent une nourriture à base de blé dur et de l'eau de boisson à volonté.

Après leur adaptation, les animaux sont pesés et répartis en 6 lots de 6 pigeons chacun, dont 4 lots reçoivent un traitement à la mélatonine (**Tab. 1**), durant toute la période expérimentale.

Tableau 1: Constitution des lots expérimentaux :

| Répartition des pigeons | Programme photopériodique | Dose de mélatonine (mg/ml) |
|-------------------------|---------------------------|----------------------------|
| T1 (Témoin) | Photopériode naturelle | – |
| Lot 2 | 18L : 06D | 3 |
| Lot 3 | 18L : 06D | 6 |
| T2 (Témoin) | 08L : 16D | – |
| Lot 5 | 24L : 00D | 3 |
| Lot 6 | 24L : 00D | 6 |

Les lots 2 et 5 reçoivent une dose de mélatonine de 3mg/ml, tous les jours à la même heure. Les lots 3 et 6 reçoivent, dans les mêmes conditions, une dose de mélatonine de 6 mg/ml.

3.2. Méthodes

3.2.1. Prélèvements sanguins

A la fin de la période expérimentale, les pigeons sont pesés puis sacrifiés, et le sang est recueilli dans des tubes citratés. Après centrifugation à 5000 tours/minute pendant 30 minutes, le plasma est récupéré dans des tubes Eppendorff et congelé à -18°C jusqu'au moment des dosages.

3.2.2. Prélèvement des organes

Lors du sacrifice des pigeons, le foie, le cerveau et les testicules sont prélevés et pesés à l'aide d'une balance de précision. Puis les gonades sont fixées dans du Bouin alcoolique pour la réalisation des coupes histologiques.

Les testicules sont mesurés et le volume testiculaire est calculé d'après la formule (**Dawson *et al.*, 1985**) :

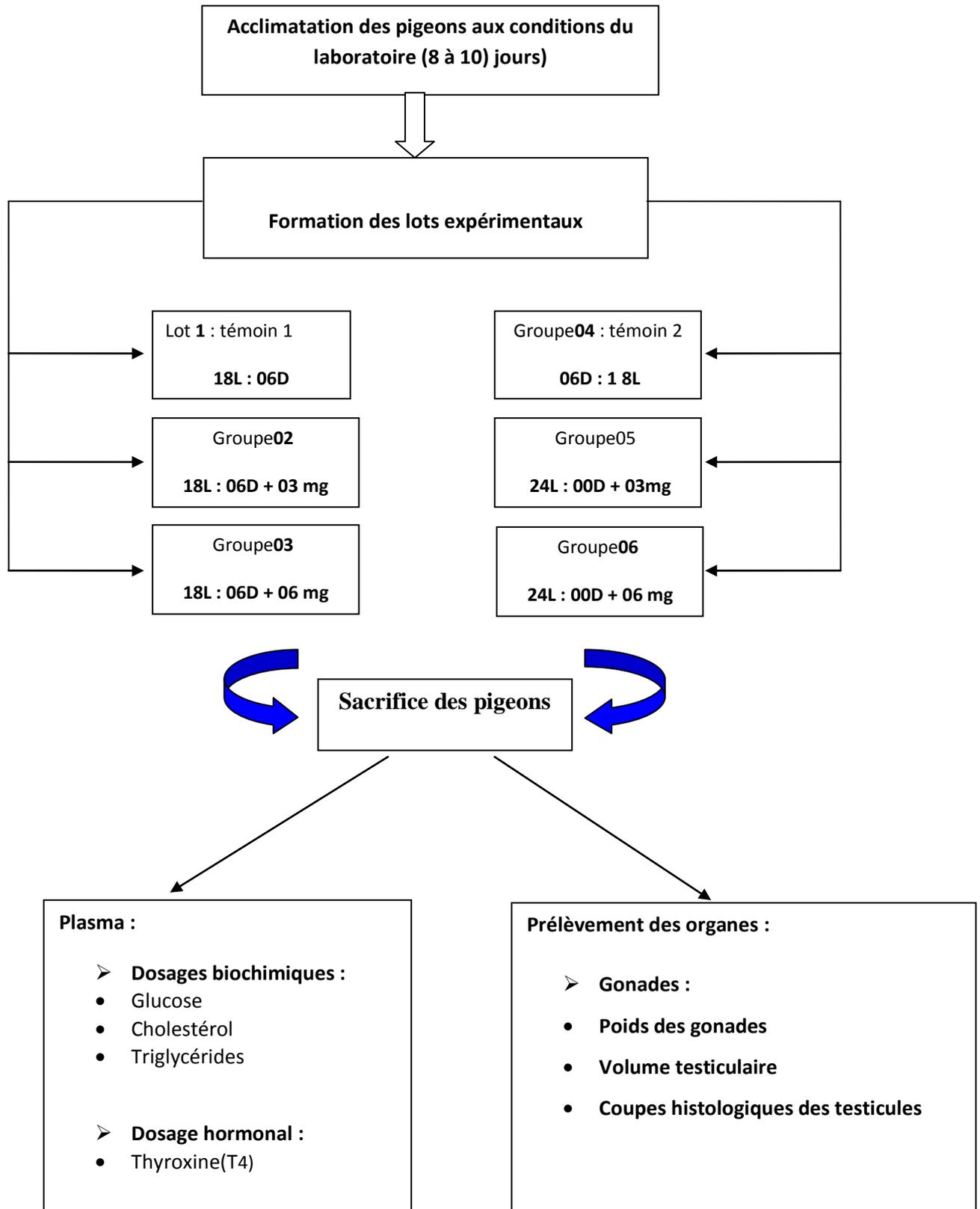
$$V \text{ (mm}^3\text{)} = 4/3 \pi a^2 b$$

V = volume testiculaire (mm³)

a = ½ largeur de la gonade

b = ½ longueur de la gonade

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

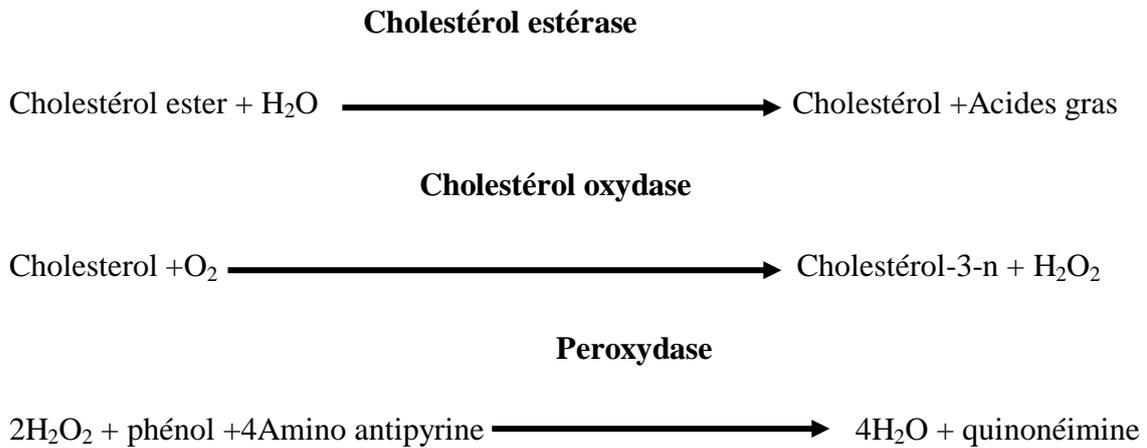


3.2.3. Dosages biochimiques

3.2.3.1. Cholestérol

a. Principe

Le cholestérol et ses esters sont libérés à partir des lipoprotéines par des détergents. La cholestérol estérase hydrolyse les esters, et le H₂O₂ est formé dans la réaction d'oxydation enzymatique du cholestérol sous l'action de la cholestérol oxydase. Cette dernière réagit avec le phénol pour produire la quinonéimine (Thomas, 1992) :



b. Mode opératoire

| | Standard | Echantillon | Blanc |
|-------------|----------|-------------|-------|
| Standard | 10 µl | - | - |
| Echantillon | - | 10 µl | - |
| Blanc | 1 µl | 1 µl | 1 ml |

On mélange à l'aide d'un agitateur et on laisse incuber pendant 10 minutes à 20-25°C ou pendant 05 minutes à 37°C, puis on lit la densité optique (DO) à 500 nm. La coloration est stable pendant 60 minutes à l'abri de la lumière.

c. Calcul de la concentration

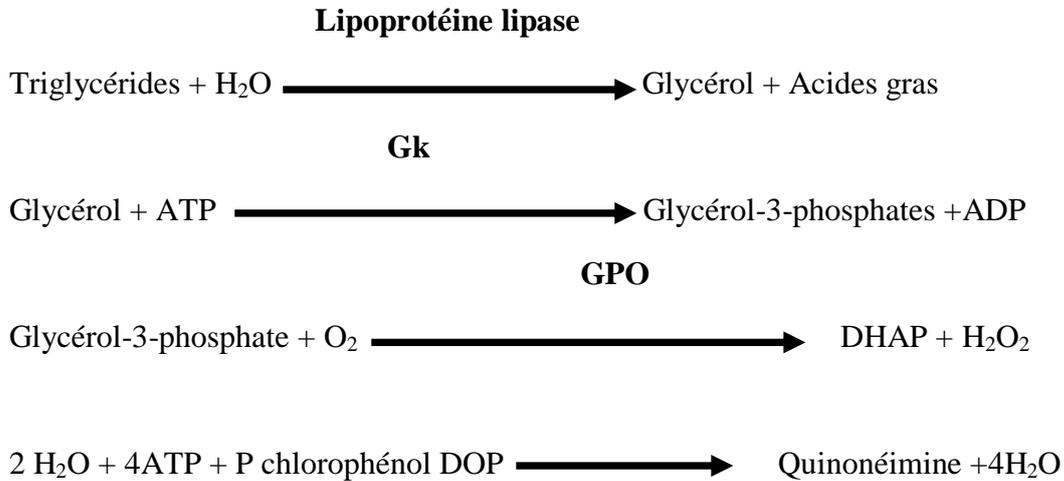
La concentration du cholestérol plasmatique est calculée d'après la formule suivante :

$$[\text{Cholestérol g/l}] = \frac{\text{E échantillon}}{\text{E standard}} \times [\text{Etalon}]$$

3.2.3.2. Triglycérides

a. Principe

Selon la détermination enzymatique de **Jacobs (1975)**, les triglycérides sont enzymatiquement hydrolysés en glycérol et en acides gras libres. Le glycérol, sous l'effet de la glycérol-kinase et de la glycérol-3-phosphate oxydase, forme H_2O_2 . La concentration de H_2O_2 est déterminée à travers les réactions suivantes:



b. Mode opératoire

| | Standard | Echantillon | Blanc |
|-------------|------------|-------------|-------|
| Standard | 10 μ l | - | - |
| Echantillon | - | 10 μ l | - |
| Blanc | 1 ml | 1 ml | 1 ml |

On mélange à l'aide d'un agitateur et on laisse incuber pendant 10 minutes à 20-25°C ou 05 minutes à 37°C. On lit la densité optique (DO) à 500nm. La coloration est stable pendant 60 minutes à l'abri de la lumière.

c. Calcul de la concentration

La concentration en triglycérides plasmatiques est calculée selon la formule suivante :

$$[\text{Triglycérides g/l}] = \frac{\text{E échantillon}}{\text{E standard}} \times [\text{étalon}]$$

3.2.3.3. Glucose

a. Principe

Le glucose est mesuré après une oxydation enzymatique en présence du glucose oxydase, le peroxyde d'hydrogène formé réagit grâce à l'action catalytique d'une peroxydase, avec du phénol et la 4-aminophénazone pour former un composé rouge violet de quinonéimine qui sert d'indicateur coloré (**Trinder, 1969**)

GOD



POD



b. Mode opératoire

| | Standard | Echantillon | Blanc |
|-------------|----------|-------------|-------|
| Standard | 10 µl | - | - |
| Echantillon | - | 10 µl | - |
| Blanc | 1 ml | 1 ml | 1 ml |

On mélange, puis on incube 25 minutes à 25°C ou 10 minutes à 37°C. On lit l'absorbance à 500 nm dans les 60 minutes.

c. Calcul de la concentration

La concentration du glucose est calculée par la formule suivante :

D.O. échantillon

$$[\text{Glucose g/l}] = \frac{\text{D.O. échantillon}}{\text{D.O. Etalon}} \times \text{N}$$

D.O. Etalon

D.O. : Densité optique ;

N : concentration de l'étalon = 1 g/l.

3.2.4. Dosage de la thyroxine

Le dosage de la T_4 plasmatique a été effectué par le test d'électro-chimiluminescence (E.C.L.I.A.), qui est adapté aux dosages immunologiques sur les analyseurs Elecsys 1010 (Wheeler et Lazarus, 1994).

Les réactifs, prêts à l'emploi, sont contenus dans un coffret Elecsys de 100 tests.

a. Principe

Le test immunologique est basé sur le principe de la compétition utilisant des anticorps spécifiques dirigés contre la T_4 . La T_4 endogène, libérée par l'action de l'acide 8-amillino-1-naphthalène sulfonique (A.N.S.), entre en compétition, pour les sites de fixation des anticorps, anti- T_4 marqués au rhuténium, avec la T_4 exogène ajoutée lors de la première incubation.

b. Etapes du dosage

- **1^{ère} incubation** : une prise d'essai de 15 μ l est mise en présence de T_4 marquée au rhuténium et d'A.N.S. La T_4 liée aux protéines porteuses est libérée par l'action de l'A.N.S.
- **2^{ème} incubation**: les microparticules tapissées de streptavidine sont ajustées dans la cuvette réactionnelle, ainsi que les anticorps anti T_4 marqués à la biotine.
- La T_4 endogène et la T_4 biotinylée exogène entrent en compétition vis à vis des anticorps.
- Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant.
- L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage dans une solution de lavage.
- Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production d'une luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.
- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de référence mémorisée. Le réajustement de la courbe par l'appareil est effectué à l'aide de 2 solutions de T_4 Cal Set.

3.2.5. Histologie des testicules :

Pour chaque pigeon, on prélève un testicule qui est mis séparément dans un flacon contenant du Bouin alcoolique.

a. Préparation du Bouin alcoolique :

On ajoute 21 ml d'eau distillée à 100 ml d'éthanol à 95°. Puis on dissout 1g d'acide picrique de coloration jaunâtre dans 100 ml de la solution préalablement préparée.

Pour obtenir le Bouin alcoolique, on ajoute à 75ml de cette solution, 5ml d'acide acétique et 25ml de formol.

b. Déshydratation des échantillons :

Les tissus fixés sont déshydratés les échantillons à l'aide d'un automate qui permet le passage automatique et progressif des échantillons dans des bains d'éthanol de titrage croissant (70°, 90° et 100°).

c. Eclaircissage et inclusion

Les échantillons déshydratés sont éclaircis dans 3 bains de xylène. Puis ils sont placés dans 2 bains de paraffine à l'étuve (45 °C) pendant 24 heures.

La mise en bloc se fait dans des barres de Leukart.

d. Coupe :

Des coupes de 5µm sont ensuite effectuées et disposées sur des lames sur lesquelles on a déposé une goutte d'eau gélatinée.

e. Coloration :

Pour cette opération, les lames sont placées dans :

- 2 bains de xylène pendant dix minutes pour chacun.
- 2 bains d'éthanol pendant dix minutes pour chacun.
- 1 bain d'eau.
- La coloration se fait par l'hématoxyline pendant dix minutes.

Les lames sont ensuite rincées à l'eau courante puis colorées à l'éosine pendant cinq minutes. Elles sont ensuite passées dans deux bains de xylène pendant deux minutes pour chacun.

f. Montage :

Après la coloration, on procède au montage qui se fait par le dépôt d'une goutte d'Eukitt sur laquelle on place une lamelle.

Enfin, les lames sont prêtes à être observées au microscope optique équipé d'un appareil photographique.

3.2.6. Etude statistique

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne \pm erreur standard. L'analyse statistique des données a été effectuée à l'aide du test t de Student pour la comparaison de moyennes, tandis que la comparaison multiple des moyennes a fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) à deux critères de classification par le logiciel "Mini tab" (Weisberg, 1985).

The page features a decorative graphic consisting of three blue circles of varying sizes, each with a gradient from dark to light blue. These circles are arranged in a vertical line, with the largest at the top and bottom, and a smaller one in the middle. Two thin, light blue lines intersect at the center of the page, forming an 'X' shape that passes through the circles.

RESULTATS

Chapitre 4 : Résultats

4.1. Paramètres morphologiques :

4.1.1. Poids corporels moyens :

Les valeurs enregistrées dans le tableau 2 montrent que le poids corporel moyen des pigeons soumis à différents régimes photopériodiques et à un traitement à la mélatonine pendant la période de reproduction, ne présente aucune variation significative. Par contre, on remarque une augmentation significative ($p < 0.05$) chez les lots 2, 3, 5, et 6 par rapport aux témoins T1 et T2.

Tableau 2 : Poids corporel moyen (g) des pigeons soumis à différents régimes photopériodiques durant la saison de reproduction (n=06)

| Lots | Poids avant traitement (g) (X±SD) | Poids après traitement (g) (X±SD) | A.S |
|--------------|--|--|------------|
| T1 | 324,583± 22,319 | 295,432± 22,319 | * |
| Lot 2 | 289,116± 26,116 | 328,233± 21,496 | * |
| Lot 3 | 311,183± 59,665 | 362,383± 52,086 | * |
| T4 | 297,366 ±15,932 | 310,435± 19,035 | * |
| Lot 5 | 214,216± 37,486 | 318,600± 19,675 | * |
| Lot 6 | 245,500± 48,705 | 377,116± 13,241 | * |

NS : Non significatif.

***** : Significatif ($p < 0.05$).

****** : Hautement significatif ($p < 0.01$).

******* : Très hautement significatif ($p < 0.001$).

L'analyse de la variance indique un effet photopériode, un effet dose hautement significatif ($p < 0.01$) et une interaction photopériode /dose très hautement significative ($p < 0.001$) (Tab. 3).

Tableau 3 : Analyse de la variance à deux critères de classification (photopériode, dose) du poids corporel moyen des pigeons des différents lots (n=06)

| Source de variation | ddl | SCE | CM | F obs | P |
|-------------------------------|-----|----------|---------|-------|----------|
| Photopériode | 02 | 4205010 | 1026805 | 13,46 | 0.01*** |
| Dose | 02 | 21220714 | 2607351 | 48,25 | 0.01*** |
| Interaction photopériode/dose | 04 | 12586002 | 546500 | 13,57 | 0.000*** |
| Erreur résiduelle | 45 | 8060714 | 38127 | - | - |
| Total | 53 | 46072439 | - | - | - |

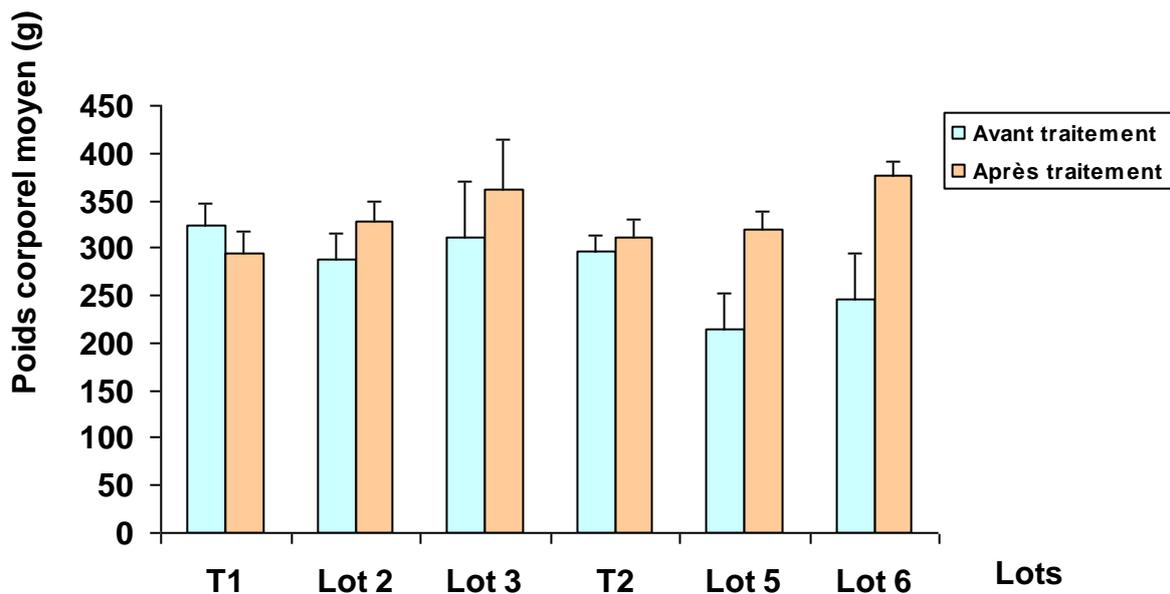


Figure 1 : Poids corporel moyen (g) des pigeons soumis à différents régimes photopériodiques et traités à la mélatonine exogène (n=6)

4.1.2. Poids des testicules :

Les résultats présentés dans le tableau 4 montrent que le poids des testicules augmente de manière significative ($p < 0.05$) chez tous les lots durant la période de reproduction, par rapport aux témoins T1 et T2.

Tableau 4 : Poids des testicules (g) chez les pigeons soumis à différents régimes photopériodiques et traités à la mélatonine ($n = 6$)

| Lots | Poids des testicules (g) ($\bar{X} \pm SD$) | A.S |
|--------------|---|------------|
| T1 | 1,404 \pm 0,958 | * |
| Lot 2 | 1,918 \pm 0,377 | * |
| Lot 3 | 2,049 \pm 0,289 | * |
| T2 | 1,493 \pm 0,634 | * |
| Lot 5 | 1,735 \pm 0,683 | * |
| Lot 6 | 1,934 \pm 0,485 | * |

NS : Non significatif.

***** : Significatif ($p < 0.05$).

****** : Hautement significatif ($p < 0.01$).

******* : Très hautement significatif ($p < 0.001$).

L'analyse de la variance montre un effet photopériode, dose et interaction photopériode /dose très hautement significatif ($p < 0.001$) (**Tab. 5**).

Tableau 5 : Analyse de la variance à deux critères de classification (photopériode, dose) du poids des testicules des pigeons soumis à différents régimes photopériodiques et traités à la mélatonine (n=06)

| Source de variation | ddl | SCE | CM | F obs | P |
|-------------------------------|-----|--------|-------|-------|----------|
| Photopériode | 02 | 1.473 | 0.736 | 1.53 | 0.000*** |
| Dose | 02 | 10.594 | 5.297 | 10.97 | 0.000*** |
| Interaction photopériode/dose | 04 | 21.467 | 5.366 | 11.11 | 0.000*** |
| Erreur résiduelle | 45 | 21.738 | 0.483 | - | - |
| Total | 53 | 55.274 | - | - | - |

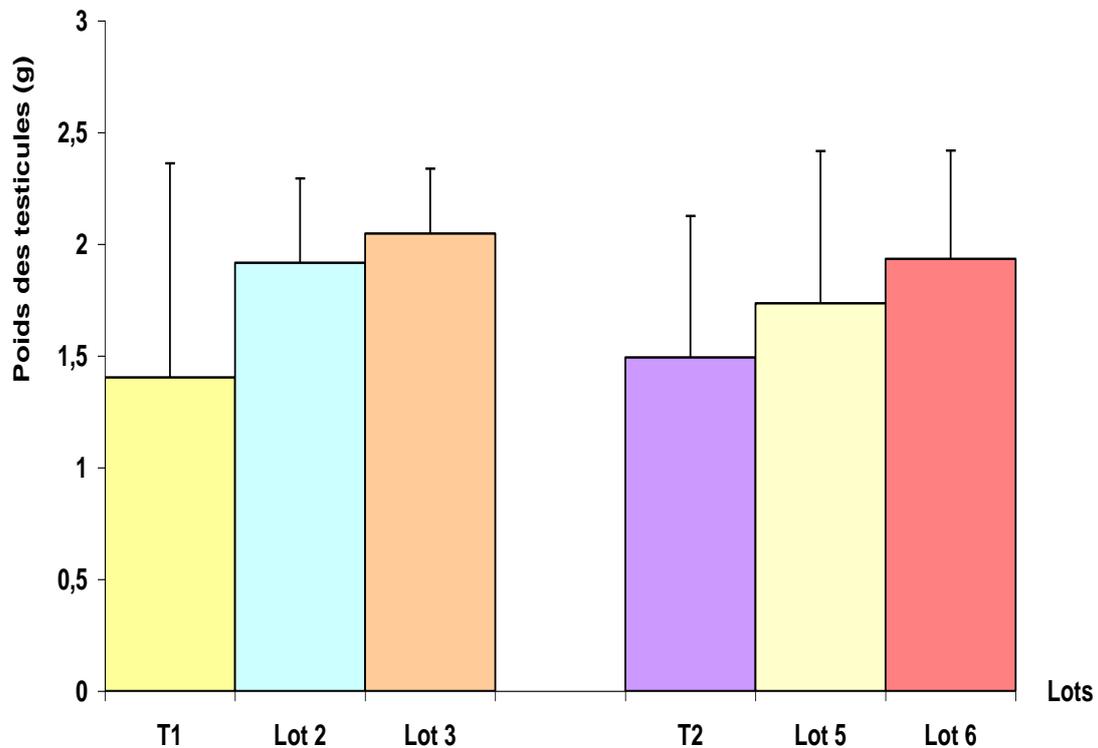


Figure 2 : Poids moyen des testicules (g) chez les pigeons des différents lots expérimentaux (n=6)

4.1.3. Volume testiculaire moyen :

La taille des gonades augmente chez les individus des Lots 2 et 3 soumis à un régime photopériodique long (18L : 06D) et traités à la mélatonine, respectivement aux doses de 3 et 6 mg/ml, en comparaison avec le lot Témoin T1 (respectivement $1499,872 \pm 411,635 \text{ mm}^3$ et $2171,0475 \pm 930,559 \text{ mm}^3$) (Tab. 6). Les mêmes résultats sont observés chez les pigeons des Lots 5 et 6 traités à la mélatonine (3 et 6 mg/ml, respectivement) et soumis à un éclairage continu (24L : 00D), par rapport au Lot T2 ($1640,736 \pm 387,138 \text{ mm}^3$ et $1925,7785 \pm 466,906 \text{ mm}^3$, respectivement).

Tableau 6 : Volume testiculaire moyen (mm^3) des pigeons soumis à différents régimes photopériodiques et traités à la mélatonine (n=06)

| Lots | Volume testiculaire moyen (X±SD) | A.S |
|-------|----------------------------------|-----|
| T1 | 1448,324± 319,308 | * |
| Lot 2 | 1499,872 ±411,635 | * |
| Lot 3 | 2171,047±930,959 | * |
| T2 | 566,698±229,758 | * |
| Lot 5 | 1925,778±387,138 | * |
| Lot 6 | 1640,736±466,906 | * |

NS : Non significatif.

***** : Significatif ($p < 0.05$).

****** : Hautement significatif ($p < 0.01$).

******* : Très hautement significatif ($p < 0.001$).

L'analyse de la variance montre un effet photopériode, dose et interaction photopériode /dose très hautement significatifs ($p < 0.001$) (Tab. 7).

Tableau 7 : Analyse de la variance à deux critères de classification (photopériode, dose) du volume testiculaire moyen des pigeons des différents lots (n=06).

| Source de variation | ddl | SCE | CM | F obs | P |
|-------------------------------|-----|----------|----------|-------|----------|
| Photopériode | 02 | 4205010 | 2102505 | 11,74 | 0.000*** |
| Dose | 02 | 21220714 | 10610357 | 59,23 | 0.000*** |
| Interaction photopériode/dose | 04 | 12586002 | 3146500 | 17,57 | 0.000*** |
| Erreur résiduelle | 45 | 8060714 | 179127 | - | - |
| Total | 53 | 46072439 | - | - | - |

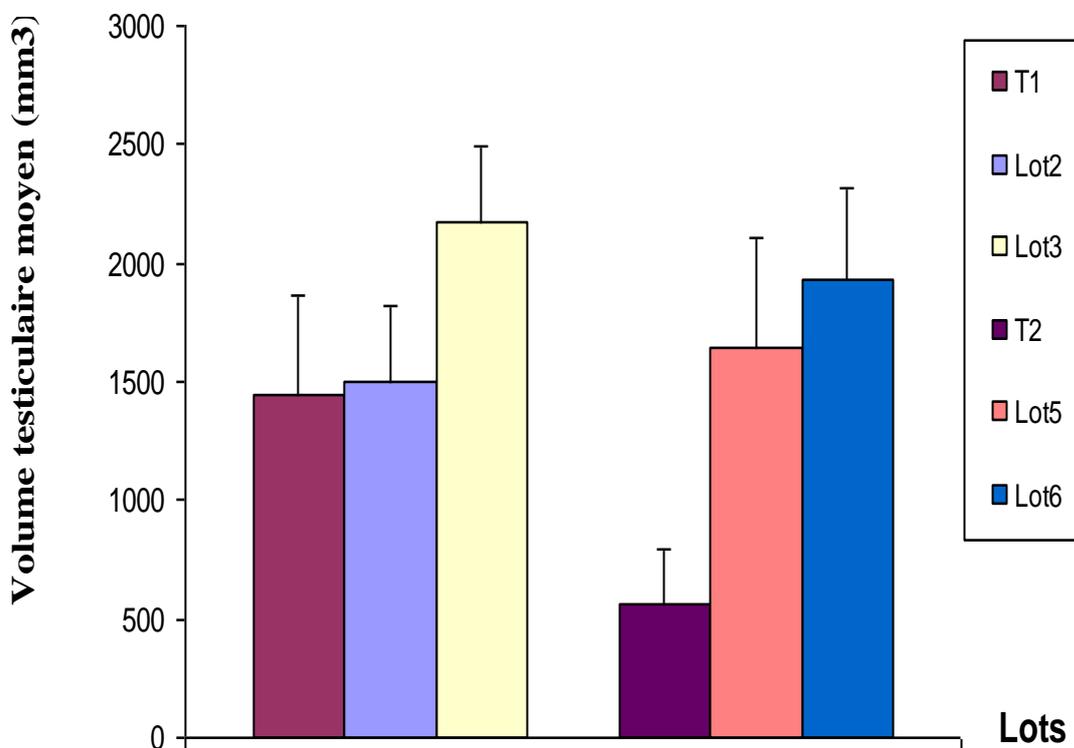


Figure 3 : Volume testiculaire moyen (mm³) des pigeons des différents lots expérimentaux

4.2. Dosages biochimiques :

4.2.1. Glucose plasmatique :

Les résultats des dosages du glucose plasmatique, présentés dans le tableau 8 montrent une diminution de ce taux chez tout les lots pigeons par apport à leurs témoins respectifs. Cette diminution est significative ($p < 0.05$) chez les Lots 2 et 3, et hautement significative ($p < 0.01$) chez les Lots 5 et 6.

Tableau 8 : Taux de glucose plasmatique (g/l) chez les pigeons soumis à des régimes photopériodiques différents et traités à la mélatonine (n=06)

| Lots | Poids corporels ($\bar{X} \pm SD$) | A.S |
|--------------|--|------------|
| T1 | 1.113 \pm 0.063 | * |
| Lot 2 | 0.949 \pm 0.044 | * |
| Lot 3 | 0.849 \pm 0.154 | * |
| T2 | 1.309 \pm 0.248 | ** |
| Lot 5 | 0.909 \pm 0.061 | ** |
| Lot 6 | 0.831 \pm 0.091 | ** |

NS : Non significatif.

* : Significatif ($p < 0.05$).

** : Hautement significatif ($p < 0.01$).

*** : Très hautement significatif ($p < 0.001$).

La comparaison multiple entre les groupes indique une différence très hautement significative ($p < 0.001$) et un effet photopériode, dose et une interaction photopériode/dose (Tab. 9).

Tableau 9 : Analyse de la variance à deux critères de classification (photopériode, dose) du taux plasmatique de glucose chez les pigeons des différents lots (n=06)

| Source de variation | ddl | SCE | CM | F obs | P |
|-------------------------------|-----|--------|-------|--------|----------|
| Photopériode | 02 | 2.774 | 1.387 | 90.70 | 0.000*** |
| Dose | 02 | 0.591 | 0.295 | 19.32 | 0.000*** |
| Interaction photopériode/dose | 4 | 9.524 | 2.381 | 155.68 | 0.000*** |
| Erreur résiduelle | 45 | 0.688 | 0.015 | - | - |
| Total | 53 | 13.577 | - | - | - |

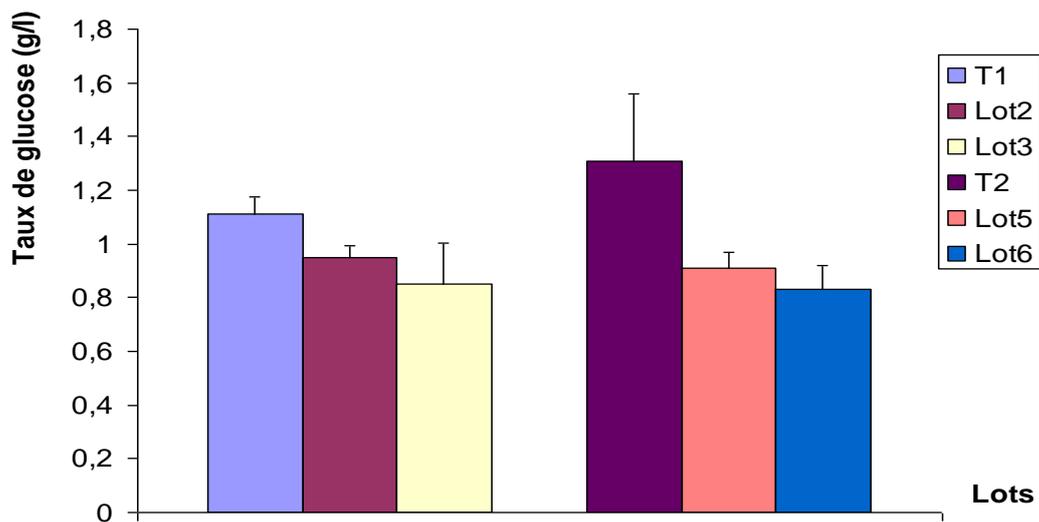


Figure 4 : Taux de glucose plasmatique (g/l) chez les pigeons des différents lots expérimentaux (n=06)

4.2.2. Cholestérol plasmatique :

Le tableau 10 montre que le taux de cholestérol plasmatique diminue significativement ($p < 0.05$) chez les pigeons des Lots 2 et 3, par rapport au Témoin. Des résultats similaires ont été trouvés chez les Lots 5 et 6, la diminution étant dans ce cas hautement significative ($p < 0.01$).

Tableau 10 : Taux de cholestérol plasmatique (g/l) chez les pigeons soumis à différents régimes photopériodiques et traités à la mélatonine (n=06)

| Lots | Taux de cholestérol ($\bar{X} \pm SD$) | A.S |
|-------|---|-----|
| T1 | 0,665 \pm 0,207 | * |
| Lot 2 | 0,341 \pm 0,047 | * |
| Lot 3 | 0,272 \pm 0,080 | * |
| T4 | 1,726 \pm 0,047 | ** |
| Lot 5 | 0,288 \pm 0,143 | ** |
| Lot 6 | 0,134 \pm 0,076 | ** |

NS : Non significatif.

* : Significatif ($p < 0.05$).

** : Hautement significatif ($p < 0.01$).

*** : Très hautement significatif ($p < 0.001$).

La comparaison multiple montre qu'il y a un effet dose, photopériode et interaction photopériode/ dose très hautement significative ($p < 0.001$) (**Tab. 11**).

Tableau 11 : Analyse de la variance à deux critères de classification (photopériode, dose) du taux plasmatique de cholestérol chez les pigeons des différents lots (n=06)

| Source de variation | ddl | SCE | CM | F obs | P |
|-------------------------------|-----|--------|-------|-------|----------|
| Photopériode | 02 | 4.733 | 2.366 | 71 | 0.000*** |
| Dose | 02 | 1.756 | 0.878 | 26.35 | 0.000*** |
| Interaction photopériode/dose | 04 | 1.968 | 1.992 | 59.76 | 0.000*** |
| Erreur résiduelle | 45 | 1.500 | 0.033 | - | - |
| Total | 53 | 15.959 | - | - | - |

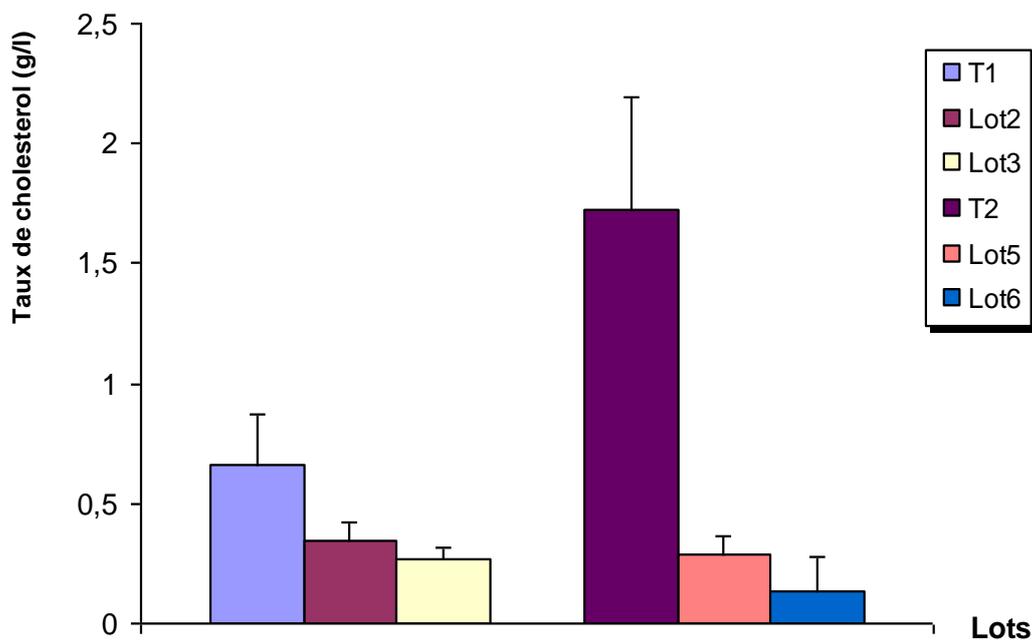


Figure 5 : Taux moyen de cholestérol plasmatique (g/l) chez les pigeons des différents lots expérimentaux (n=6)

4.2.3. Triglycérides plasmatiques :

Les résultats présentés dans le tableau 12 montrent que le taux de triglycérides plasmatiques chez les pigeons soumis à un régime photopériodique long (18L : 06D) et à la mélatonine, augmente mais d'une manière non significative, en comparaison avec le témoin. En revanche, on remarque une diminution significative ($p < 0.05$) chez les Lots 5 et 6 par rapport au Lot témoin soumis à un éclairage continu (24L0D) et traités à la mélatonine.

Tableau 12 : Taux de triglycérides plasmatiques (g/l) chez les pigeons des différents lots expérimentaux (n= 6)

| Lots | Taux de triglycérides (X±SD) | A.S |
|-------|------------------------------|-----|
| T1 | 1.138±0.130 | NS |
| Lot 2 | 1.499±0.143 | NS |
| Lot 3 | 1.713 ±0.110 | NS |
| T2 | 1.711± 0.167 | * |
| Lot 5 | 1.218 ±0.109 | * |
| Lot 6 | 0.950± 0.184 | * |

NS : Non significatif.

* : Significatif ($p < 0.05$).

** : Hautement significatif ($p < 0.01$).

*** : Très hautement significatif ($p < 0.001$).

En outre, l'analyse de la variance a mis en évidence un effet photopériode non significatif et un effet dose et interaction photopériode/dose très hautement significatifs ($p < 0.001$) (Tab. 13)

Tableau 13 : Analyse de la variance à deux critères de classification (photopériode, dose) du taux plasmatique de triglycérides chez les pigeons des différents lots (n=06)

| Source de variation | ddl | SCE | CM | F obs | P |
|-------------------------------|-----|--------|-------|-------|----------|
| Photopériode | 02 | 0,018 | 0,009 | 0,19 | 0,825NS |
| Dose | 02 | 3,978 | 1,949 | 42,29 | 0,000*** |
| Interaction photopériode/dose | 04 | 8,806 | 2,201 | 46,80 | 0,000*** |
| Erreur résiduelle | 45 | 0,846 | 0,047 | – | – |
| Total | 53 | 13,649 | – | – | – |

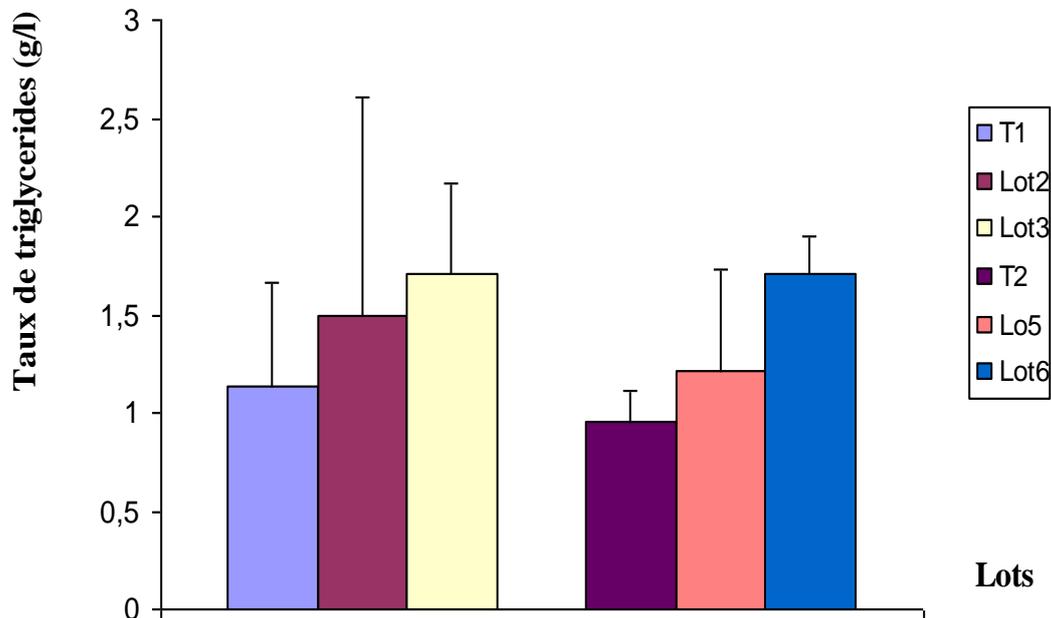


Figure 6 : Taux de triglycérides plasmatiques (g/l) chez les pigeons des différents lots expérimentaux (n=6)

4.3. T4 plasmatique :

Le tableau 14 montre les taux de thyroxine plasmatique, durant la période de la reproduction, des pigeons exposés à des régimes photopériodiques et traité à la mélatonine. On observe une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de la T4 plasmatique chez tous les lots, comparé aux lots témoins T1 et T2.

Tableau 14 : Taux de thyroxine plasmatique ($\mu\text{g/dl}$) chez les pigeons soumis à différents régimes photopériodiques et traités à la mélatonine ($n=06$)

| Lots | Taux de thyroxine ($\bar{X} \pm \text{SD}$) | A.S |
|--------------|---|------------|
| T1 | 0,060 \pm 0,010 | ** |
| Lot 2 | 0,078 \pm 0,062 | ** |
| Lot 3 | 0,093 \pm 0,020 | ** |
| T2 | 0,071 \pm 0,028 | ** |
| Lot 5 | 0,100 \pm 0,043 | ** |
| Lot 6 | 0,106 \pm 0,043 | ** |

NS : Non significatif.

* : Significatif ($p < 0.05$).

** : Hautement significatif ($p < 0.01$).

*** : Très hautement significatif ($p < 0.001$).

La comparaison multiple par l'analyse de la variance a permis de mettre en évidence un effet photopériode, dose hautement significatif ($p < 0.01$) et une interaction photopériode/dose significatifs ($p < 0.05$) (Tab. 15).

Tableau 15 : Analyse de la variance à deux critères de classification (photopériode, dose) du taux plasmatique de thyroxine chez les différents lots (n=06)

| Source de variation | ddl | SCE | CM | F obs | P |
|-------------------------------|-----|-------|-------|-------|--------|
| Photopériode | 02 | 0.01 | 0.005 | 0.038 | 0.01** |
| Dose | 02 | 0.015 | 0.007 | 04.93 | 0.01** |
| Interaction photopériode/dose | 04 | 0.027 | 0.006 | 04.37 | 0.005* |
| Erreur résiduelle | 45 | 0.070 | 0.001 | – | – |
| Total | 53 | 0.113 | – | – | – |

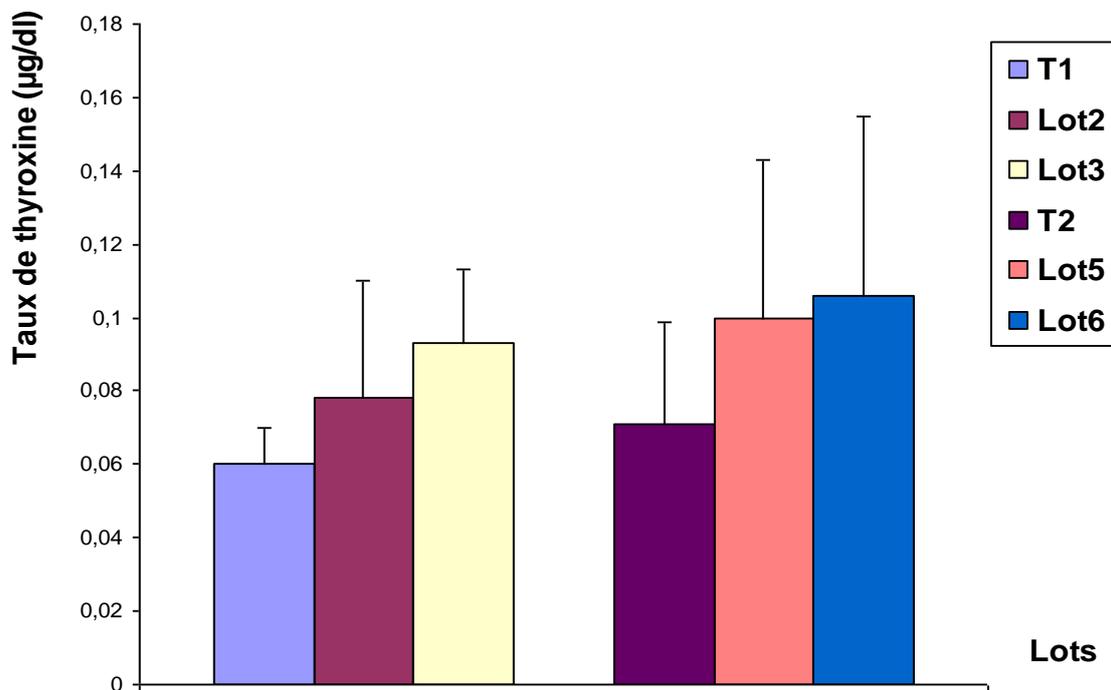


Figure 7 : Taux moyen de thyroxine plasmatique (µg/dl) chez les pigeons des différents lots expérimentaux (n=6)

4.4. Etude histologique des testicules :

L'observation microscopique des coupes histologiques des testicules montre chez les pigeonneaux des différents lots expérimentaux, soumis à différents régimes photopériodiques et à un traitement à la mélatonine exogène, une réponse différente qui peut se caractériser par la présence ou non de spermatozoïdes dans les tubes séminifères. Il est à remarquer que l'épithélium séminifère, dans le cas du démarrage de l'activité sexuelle, est organisé en étroites colonnes de cellules qui assurent la spermatogenèse (Photos 1 à 6).

Il apparaît donc qu'un régime photopériodique long entraîne réellement un développement normal des gonades, aboutissant au déclenchement de la spermatogenèse. Les pigeons présentent une croissance testiculaire normale, une augmentation de la taille des gonades et nous observons la présence de spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères.

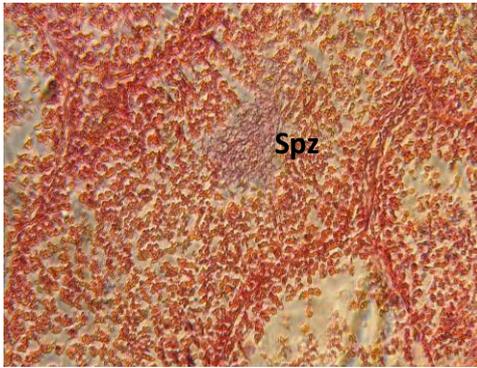


Photo 1 : Coupe de testicule Lot T1,
(Gross. X 600)

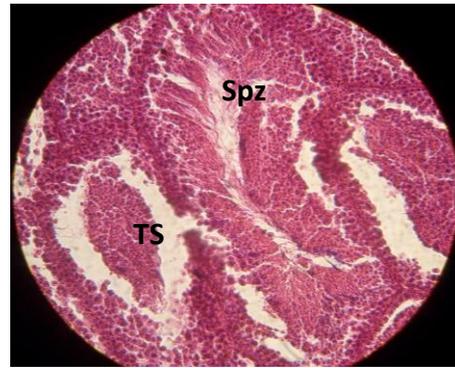


Photo 2 : Coupe de testicule Lot 2,
(Gross. X 400)

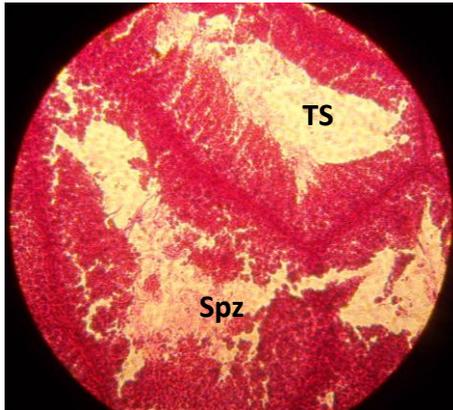


Photo 3 : Coupe de testicule Lot 3
(Gross. X 400)

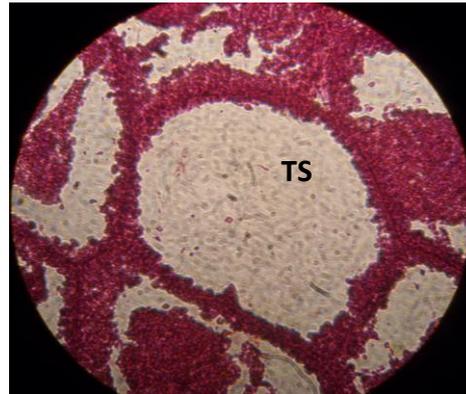


Photo 4 : Coupe de testicule Lot T2,
(Gross. X 400)

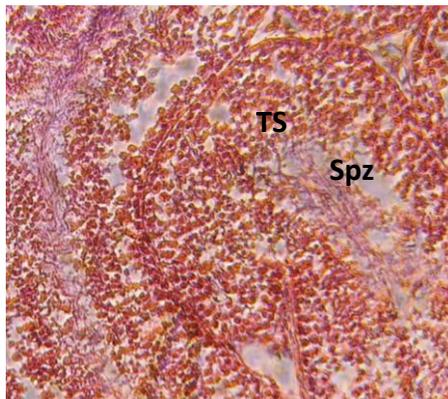


Photo 5 : Coupe de testicule Lot 5,
(Gross. X 600)

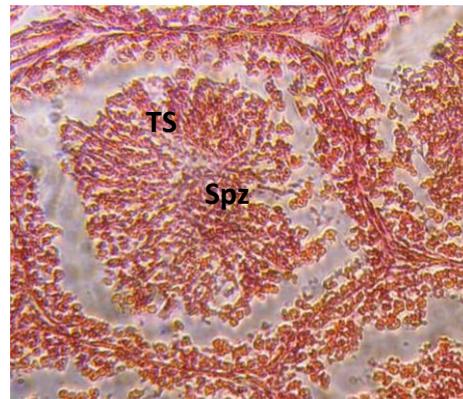


Photo 6 : Coupe de testicule Lot 6,
(Gross. X 600)

TS : Tube séminifère

Spz : Spermatozoïdes ;

Chapitre 05: Discussion

Chez la plupart des espèces d'Oiseaux, le développement des gonades est un signe de maturité et d'activité sexuelle sous des conditions favorables telles que la lumière et la photopériode, suivi d'une phase photoréfractaire caractérisée par la régression des testicules. Il est établi que le facteur photopériodique est responsable de l'instauration de la saison de reproduction chez de nombreuses espèces d'animaux en général et d'Oiseaux en particulier. Le cheminement du signal photopériodique de l'œil jusqu'aux gonades fait intervenir des mécanismes nerveux et endocriniens (**Dawson et al., 1985**).

Les résultats de la présente étude montrent que la mélatonine et le régime photopériodique ont des effets combinés sur le poids corporel moyen, la masse et le volume des gonades et les paramètres biochimiques des pigeons mâles soumis à des régimes photopériodiques différents et traités à la mélatonine exogène durant la saison de reproduction. D'autre part, il semblerait aussi que la dose de mélatonine administrée intervienne dans la réponse gonadique des pigeons, en fonction de la photopériode appliquée.

Notre étude a montré que les pigeons soumis à des régimes photopériodiques différents et à un traitement par la mélatonine pendant la période de reproduction, présentent une augmentation significative ($p < 0.05$) du poids corporel chez les Lots 2, 3, 5 et 6 par rapport aux Témoins (T1 et T2). Cette augmentation du poids corporel serait due à l'augmentation de la période éclairée du nyctémère chez les animaux soumis à une photopériode longue, ou élevés en éclairage continu, qui permet aux pigeons de consommer plus de nourriture en raison de la présence de la lumière. Par contre, chez les lots élevés sous une photopériode naturelle, ou sous des jours courts, le poids corporel des individus est le plus faible en fin de période expérimentale. Ceci serait dû à la captivité, aux conditions d'élevage artificiel, ainsi qu'à la compétition entre les animaux (**Djenidi et Boulakoud, 2007**), les animaux des autres lots compensant la perte de poids par une augmentation de la période de la disponibilité alimentaire quotidienne (jours longs et éclairage continu), sachant que les pigeons ne se nourrissent pas dans le noir.

Les paramètres de la reproduction étudiés montrent que, pour les lots traités à la mélatonine, le poids des testicules augmente régulièrement de manière significative ($p < 0.05$) chez tous les individus durant la période de reproduction en comparaison avec le Témoin (T1 et T2). Les lots traités à la mélatonine exogène aux deux doses D1 et D2 (respectivement 3mg/ml et 6mg/ml), étant en même temps élevés sous un régime photopériodique long (Lots 2 et 3) ou en éclairage continu (Lots 5 et 6), l'allongement de la longueur de la phase éclairée du nyctémère stimule la

recrudescence testiculaire, ce qui a pour effet d'augmenter le volume des gonades et donc de leur poids (**Goldsmith et al., 1989**).

De plus, il est à observer un effet dose pour la mélatonine, chez les animaux des Lots 3 et 6 traités à la dose D2 de 6 mg/ml de mélatonine exogène, où l'on a trouvé que le poids des testicules est significativement ($p < 0.05$) plus élevé que pour les Lots 2 et 5 traités à la dose plus faible D1 de 3 mg/ml de mélatonine.

Concernant le volume testiculaire, ce sont les pigeons élevés sous des jours courts qui montrent le développement gonadique le plus faible (Lot T2), ce qui est en accord avec les résultats de **Djenidi (2009)** chez le pigeon *Columba livia*. En effet, des jours courts appliqués au début de la saison de reproduction ont pour effet de limiter la recrudescence testiculaire, la phase éclairée du nyctémère n'étant pas suffisante pour déclencher les mécanismes neuro endocriniens nécessaires au démarrage de l'activité reproductrice. Il en ressort que la durée de l'éclairage n'est pas suffisante pour la stimulation lumineuse de l'hypothalamus, et la sécrétion de GnRH reste faible. Il en découle que l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique n'est pas suffisamment activé, et en absence de photostimulation, la maturation des gonades n'a pas lieu (**Djenidi, 2009**).

D'autre part, chez les 5 autres lots, soumis soit à une photopériode naturelle (Lot T1), des jours longs (Lots 2 et 3) ou un éclairage continu (Lots 5 et 6), la photostimulation a bien lieu et l'activité neuro endocrinienne qui en découle, aboutit à une maturation gonadique. L'accroissement simultané du nombre des lignées germinales fonctionnelles et du rendement des différentes étapes de la spermatogenèse fait que la croissance pondérale absolue des testicules est d'abord très rapide pendant cette période. Puis elle ralentit, et finit par cesser. En coordonnées semi-logarithmiques, cette croissance est assimilable à une exponentielle dans sa première moitié, et qu'elle est ensuite fortement freinée. Si on considère cette phase de croissance en valeur relative, on s'aperçoit qu'elle est plus lente que pendant la période pré pubère, puisque le poids des testicules n'est multiplié que par 10 à 30 pendant la période pubère, au lieu de 100 et plus pendant la période prépubère (**de Reviere, 1996**).

L'influence de la mélatonine et de la thyroxine sont à noter concernant les Lots 3 et 6, car la dose D2 (3 mg/ml) provoque une augmentation du volume testiculaire plus importante que la dose D1 (6 mg/ml). L'éclairage continu a provoqué un effet de photoréfraction chez le Lot 6 où la taille des testicules commence à diminuer, chose qui n'est pas atteinte pour les jours longs. Le taux plasmatique de thyroxine le plus élevé se note chez les Lots 5 et 6 élevés en éclairage continu, ce qui marque le début de la phase photoréfractaire. Pour confirmer cette analyse, il aurait fallu

mesurer régulièrement la taille des testicules à partir de la 7^{ème} - 8^{ème} semaine d'expérimentation, afin d'observer avec précision le moment où les gonades atteignent leur développement maximum, avant d'entamer la régression en fin de saison sexuelle. Dès que l'activité des glandes sexuelles est maximale, leur fonctionnement n'est plus photo régulé : les gonades entrent en phase photoréfractaire, bien que la photopériode reste longue (**Dawson, 1989; Boulakoud & Goldsmith, 1991; Boulakoud *et al.*, 1991; Dawson, 1994 ; Wilson & Reinert, 1995**).

Concernant l'étude biochimique, les pigeons des différents lots expérimentaux montrent des fluctuations dans les paramètres dosés. Le glucose plasmatique diminue significativement chez tous les lots expérimentaux par rapport aux lots Témoin T1 et T2. L'activité sexuelle et les phénomènes histologiques, biochimiques et endocriniens liés à la spermatogenèse qui en découlent, génèrent des dépenses énergétiques importantes, une augmentation du métabolisme, ainsi qu'un comportement de reproduction très exigeant en énergie, bien que les animaux soient élevés en captivité. Cette activité sexuelle intense, nécessite plus d'énergie, car il est connu que la reproduction est un processus énergétiquement coûteux (**Beebe *et al.*, 2005**). De plus, l'allongement de la phase d'éclairement, qui maintient les pigeons en état de veille prolongée, stimule leur activité et augmente leurs besoins en énergie, surtout en éclairage continu, ce qui diminue le taux de glucose plasmatique par rapport aux individus des lots témoins T1 et T2.

Enfin, le traitement des pigeons à la mélatonine ne semble n'avoir aucun effet sur le taux de glucose plasmatique, pour n'importe quel régime photopériodique, et quelle que soit la dose de mélatonine utilisée dans le traitement des animaux.

Les taux de cholestérol plasmatique diminuent chez les pigeons des Lots 2 et 3, mais les baisses les plus remarquables de ces taux s'observent chez les Lots 5 et 6 où l'on note un effondrement du cholestérol plasmatique. Ces diminutions sont en rapport avec la synthèse des hormones stéroïdes en général, qui sont nettement accrues pour ce type de régime photopériodique (éclairage continu), sachant que le cholestérol est considéré comme étant le précurseur principal dans la synthèse de la testostérone, en particulier. Du point de vue biochimique, les lipides sont considérés comme étant une source secondaire d'énergie, comme l'a montré **Ayer (1981)** chez les Oiseaux. Donc l'élévation du taux de cholestérol et de triglycérides chez les animaux du lot témoin est expliquée par le fait que les lipoprotéines ou le cholestérol sont chargé d'évacuer les triglycérides vers les lieux de stockage, dont les tissus adipeux et les muscles. Le cholestérol est utilisé dans l'organisme pour la synthèse d'hormones stéroïdes qui peuvent, par effet rétrograde, inhiber la synthèse des hormones hypophysaires et par conséquent la croissance testiculaire (**Djenidi, 2009**).

De plus, le cholestérol est indispensable à la biosynthèse de toutes les membranes cellulaires, et les importantes modifications histologiques des tubes séminifères, résultant de la gonadostimulation sous des jours longs ou en éclaircissement continu, impliquent une utilisation accrue de cholestérol, d'où sa diminution plasmatique chez les lots concernés par ce processus.

La glande thyroïde secrète deux hormones, la T4 et la T3, dont l'iode est indispensable à leur production. La thyroïde produit la thyroxine qui régule la croissance, aide à maintenir le taux du métabolisme et la température du corps, aide à contrôler le métabolisme des hydrates de carbone, régularise le développement normal des plumes et les cycles de la mue, aide au développement normal des gonades chez quelques oiseaux et pourrait même jouer un rôle dans le comportement migratoire.

Nos résultats ont montré que la T4 plasmatique augmente en fin d'expérimentation chez tous les lots expérimentaux, avec des moyennes supérieures quand la saison de reproduction est stimulée par l'effet des jours longs, ou à un moindre niveau, par un programme lumineux de jours longs.

Certaines études ont montré que l'ablation de la glande thyroïde quelques semaines avant le début de l'activité sexuelle sous des conditions naturelles empêche la régression spontanée des gonades. Dans ce contexte, il a été montré chez le pigeon domestique *Columba livia*, la caille Japonaise *Coturnix coturnix japonica* (Follet et al., 1988), et l'étourneau *Sturnus vulgaris* (Boulakoud et al., 1991), qu'un traitement par la T₄ exogène inhibe la croissance des gonades, ce qui valide nos résultats. Le mécanisme par lequel la thyroxine agit sur le système neuroendocrinien reste encore mal connu.

En outre l'augmentation du taux plasmatique de thyroxine, signe de déclenchement de la phase photoréfractaire, explique la diminution du poids des testicules observée chez les Lot 5 et 6 élevés en éclaircissement continu, et dont la reproduction a été stimulée de manière importante par cet éclaircissement, ce qui accélère tous les processus liés à la reproduction, et par la même, la survenue de la période photoréfractaire liée à une augmentation du taux plasmatique de T4 chez les animaux des lots concernés.

D'après Yamamura et al. (2004), les hormones thyroïdiennes, notamment la thyroxine, agissent sur les cellules sécrétrices de la Gn-RH hypothalamique de façon à ce que l'élévation de la thyroxine plasmatique inhibe la synthèse et la libération de la Gn-RH, et par conséquent le développement gonadique. La GnRH, qui est essentielle à la reproduction, est synthétisée dans les corps cellulaires des neurones de l'aire préoptique de l'hypothalamus et est sécrétée à partir des terminaisons neuro-endocrines localisées au niveau de la zone externe de l'éminence médiane.

Cette sécrétion de GnRH est stimulée sous des conditions de jours longs, et elle est inhibée dans des conditions de jours courts. Cependant, le mécanisme moléculaire de la sécrétion de GnRH saisonnièrement régulée, demeure peu clair (**Yamamura *et al.*, 2004**).

De plus, l'étude histologique a révélé que les pigeons traités par la mélatonine et soumis à des régimes photopériodiques différents, présentent des tubes séminifères très développés montrant les différentes phases de la spermatogenèse et la présence de spermatozoïdes dans leur lumière.