

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane Mire-Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physico-chimique

Filière : Sciences Biologiques

Option : Génétique Appliquée



جامعة بجاية
Tasdawit n Bgayet
Université de Béjaïa

Mémoire de Fin de Cycle

En Vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Thème

Marquages Chromosomiques de la Caille japonaise
***Coturnix japonica* : Coloration Conventiennelle et**
Bandes GTG

♣ Présenté par :

M^{elle} BOUCHELLAH Elkayssa et M^{elle} YUCEF Linda

♣ Soutenu le : 17 Juin 2017

Devant le jury composé de :

M^{elle} BENMOUHOU B H.

Présidente


M^{me} KARTOUT-BENMESSAOUD Y.

Promotrice

M^{me} BOUALLEG- DJAFRI L.

Examinatrice

Année universitaire : 2016-2017

A decorative border of red ladybugs with black spots surrounds the text. The ladybugs are arranged in a rectangular frame, with one row at the top, one at the bottom, and vertical columns on the left and right sides.

À la mémoire de mes grands-parents

*J'aurais tant aimé que vous soyez présent. Que Dieu le tout-puissant vous
accueille dans son vaste paradis*

À mes très chers parents papa et maman

*Pour m'avoir soutenu, pour votre amour intarissable, votre présence, vos
encouragements, vos prières et douceur. Que ce modeste travail vous soit le
témoignage de ma profonde affection et reconnaissance. Que Dieu vous accorde
santé, bonheur, quiétude d'esprit et qu'il vous protège de tout mal.*

À mon cher fiancé Karim

*Jamais, tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager et d'illuminer mon
chemin. Reçois ce modeste travail en signe de ma vive reconnaissance et ma
profonde gratitude. Que dieu te garde et te donner santé, bonheur et longue vie.*

À mes très chers frères

*Massinissa, Ahmed, Fateh, pour votre présence durant toutes les phases de ma
vie. Que dieu vous garde et vous montre le droit chemin.*

À ma copine et collègue Linda,

C'était un grand plaisir de travailler à tes côtés, et toute ta famille.

À Tous mes enseignants et mes collègues de la promotion 2017

À Toutes mes amies Katia, Nassima, sylvia, Hanane, soraya.

À tous les membres de ma famille.

A Tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Elkayssa

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

À la mémoire de mon père

J'aurais tant aimé que tu sois présente. Que Dieu le tout-puissant t'accueille dans son vaste paradis.

À ma très chère maman

La lumière de ma vie, je ne trouve pas les mots pour t'exprimer mon amour et mon affection. Jamais, tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager. Quoi que je fasse, je ne pourrais jamais te donner ce que tu mérites. Reçois ce modeste travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde gratitude.

Puisse le puissant te donner santé, bonheur et longue vie.

À mon oncle qui est à la place de mon père

Pour m'avoir soutenu, pour ton amour intarissable, ta présence et tes encouragements. Que ce modeste travail te soit le témoignage de ma profonde affection et reconnaissance. Que Dieu le tout Miséricordieux t'accorde santé, bonheur, quiétude d'esprit et qu'il te protège de tout mal

À mon très chers frères Abdelghani et à ma très chère sœur Amira

Pour leurs encouragements durant toutes les phases de mes études. Dieu leurs garde et leurs montre le droit chemin.

À mes très chers cousins et cousines Amel, Abdelhakim, Fatma-Zahra et notre petite adorable Ahlem

À ma meilleure amie et sœur Zina Benamirouche qui a toujours été à mes côtés pendant des années et toujours à mon écoute

À mes très chères copines Zina, Sylia, Sarah pour les agréables moments que nous avons passé ensemble

À ma très chère camarade ELKAYSSA, merci pour ton soutien et pour les agréables moments que nous avons passé pendant la réalisation de ce travail.

À Tous mes amis (es) de près et de loin

A Tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

À tous les membres de ma famille du plus petit au plus grand.

À Tous mes enseignants et toutes la promotion de Génétique Appliquée 2016-2017, merci pour tous les moments que nous avons passé pendant ces années.

À tous ceux qui m'ont souhaité la réussite.

Linda

Remerciements

Avant tout, nous remercions **DIEU** le tout- puissant, clément de nous avoir donné santé, patience, volonté et courage. EL HAMDOUN LILLAH.

Sincères remerciements

A notre promotrice M^{me} Benmessaoud .Y, d'avoir accepté de nous encadrer, pour ces conseils, ses orientations, sa gentillesse et sa patience.

Nos sincères remerciements vont également à M^{me} Benmouhoub qui nous a honorés en acceptant de présider ce jury.

Un grand merci à M^{me} Boualleg- Djafri, pour avoir accepté la charge d'être notre Examinatrice et qui a contribué à notre formation.

Nous tenons aussi à remercier Mr SAHNOUN ainsi que toute l'équipe de laboratoire d'Ecologie de nous avoir accueilli avec gentillesse dans, ainsi que toute l'équipe de laboratoire de Biologie Animale.

Nos sincères remerciements vont également à tous nos enseignants et enseignantes, pour leurs conseils et leurs critiques constructives, qui nous ont permis d'évoluer tout au long de notre cursus. Ainsi que l'équipe du département BPC.

Enfin, nos sentiments de reconnaissances et nos remerciements les plus vifs vont également à tous ceux qui ont attribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

DEDICACES

REMERCIEMENTS

SOMMAIRE

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION ----- 01

CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I-1- PRESENTATION DE LA CAILLE JAPONAISE *Coturnix japonica* ----- 03

I-1.1-ORIGINE ET DOMESTICATION DE LA CAILLE JAPONAISE ----- 03

I-1.2-CLASSIFICATION DE LA CAILLE JAPONAISE ----- 03

I-1.3- HABITAT ET REPARTITION GEOGRAPHIQUE ----- 03

I-1-3.1-HABITAT ----- 03

I-1-3.2-REPARTITION GEOGRAPHIQUE ----- 03

I-1-4-DESCRIPTION ET SEXAGE DE LA CAILLE JAPONAISE ----- 04

I-1-5- REPRODUCTION CHEZ LA CAILLE JAPONAISE ----- 05

I-1.6-ŒUF DE LA CAILLE JAPONAISE ----- 05

I-2-CYTOGENETIQUE DES OISEAUX ----- 05

I-2-1-CARACTERISTIQUES DU GENOME AVIAIRE ----- 06

I-2-2-CYCLE CELLULAIRE ----- 06

I-2-2.1-L'INTERPHASE ----- 07

I-2-2.2-LA PHASE M ----- 07

I-2-2.2.1-LA MITOSE ----- 07

I-2-2.2.2-LA CYTOKINESE ----- 08

I-2-3-CARYOTYPE ET NOMENCLATURE ----- 09

Sommaire

I-2-3.1- CARYOTYPE	09
I-2-3.2- NOMENCLATURE	09
I-3. LES TECHNIQUES DE MARQUAGE CHROMOSOMIQUES	10
I-3-1-COLORATION CONVENTIONNELLE.....	10
I-3-2-MARQUAGE CHROMOSOMIQUE EN BANDES.....	10
I-3-2.1-LES BANDES GTG	10
I-3-2.2-LES BANDES (RHG).....	11
I-3-2.3-LES BANDES C	11
I-4-DESCRIPTION DES CARYOTYPES	11
I-4-1-CARYOTYPE DE LA CAILLE JAPONAISE <i>COTURNIX JAPON</i>	11
I-4-2- CARYOTYPE DU POULET DOMESTIQUE <i>GALLUS DOMESTICUS</i>	12
I-5-REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES	14
I-5-1 DESCRIPTIONS DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES.....	14
I-5-1.1-LES ANOMALIES DE STRUCTURE	14
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES	
II-1-LIEU D'EXPERIMENTATION.....	17
II-2-TECHNIQUES DE MARQUAGES CHROMOSOMIQUES.....	17
II-2-1-COLORATION CONVENTIONNELLE.....	17
II-2-2-TECHNIQUE DE MARQUAGE METTANT EN EVIDENCE DES BANDES STRUCTURALES (GTG) (BANDES G-TRYPSINE-GIEMSA).....	18
II-3-OBSERVATION DES LAMES	20
II-3-1-PRINCIPE DU LOGICIEL PHOTOSHOP.....	20
II-4- ESTIMATION DU NOMBRE DIPLOÏDE DES CHROMOSOMES METAPHASIQUES	20
II-5- IDENTIFICATION MORPHOLOGIQUE DES CHROMOSOMES DE LA CAILLE JAPONAISE	20

Sommaire

II-6-CALCUL DE L'INDICE CENTROMERIQUE-----	21
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS	
III-1-MARQUAGES CHROMOSOMIQUES ET OBSERVATIONS DES METAPHASES	22
III-1.1- COLORATION CONVENTIONNELLE -----	22
III-1.2- COLORATION EN BANDES GTG-----	22
III-2-ESTIMATION DU NOMBRE DIPLOÏDE DES CHROMOSOMES METAPHASIQUES -----	24
III-3-IDENTIFICATION MORPHOLOGIQUE DES CHROMOSOMES -----	25
III-4-CALCUL DE L'INDICE CENTROMERIQUE-----	27
III-5-DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE DES CHROMOSOMES DE LA CAILLE JAPONAISE <i>COTURNIX JAPONICA</i> ET CARTOGRAPHIE COMPAREE AVEC LE POULET <i>GALLUS DOMESTICUS</i> -----	31
CONCLUSION -----	45
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.-----	46
ANNEXES -----	52

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Nombre de métaphases en fonction du nombres de chromosomes	24
Tableau II : Longueurs des bras courts et longs des Cinq premiers chromosomes et le chromosome sexuel Z ainsi que les valeurs des indices centromériques calculés à partir de 27 métaphases	27
Tableau III : Moyennes et Ecart-type des indices centromériques des chromosomes 1, 2, 4 et Z	29
Tableau IV : Description morphologique comparative des chromosomes en bandes GTG de la caille japonaise <i>Coturnix japonica</i> obtenue à l'université A-Mira avec ceux de Shibusawa <i>et al.</i> (2001) et du poulet domestique <i>Gallus domesticus</i> de Ladjali-Mohammedi <i>et al.</i> (1999)	32

CHAPITRE I :

Figure N° 1 : Description géographique de la caille japonaise <i>Coturnix japonica</i> dans le monde -----	04
Figure N° 2 : Caille japonaise <i>coturnix japonica</i> (a) femelle ; (b) male-----	04
FIGURE N° 3 : Cycle cellulaire -----	06
FIGURE N° 4 : Les étapes de la metose-----	08
FIGURE N° 5 : Structure des chromosomes metaphasique-----	09
FIGURE N°6 : Caryotype de la caille japonaise femelle <i>coturnix japonica</i> en coloration conventionnelle -----	12
FIGURE N° 7 : Les macrochromosomes de la caille japonaise marquée en bande GTG (a) (shibusawa <i>et al.</i> , 2001, (b) (stock et Bunch, 1982)-----	12
Figure N° 8: Caryotype de la poule domestique <i>gallus domesticus</i> en coloration conventionnelle (A) Mâle ; (b) femelle-----	13
FIGURE N° 9 : (a) caryotype en bande gtg ; (b) idiogramme standard des 8 premier paire chromosomique et les chromosomes z et w de la poule domestique <i>Gallus domesticus</i> -----	13
FIGURE N° 10 : Deletion intercalaire -----	14
FIGURE N° 11 : Les inversions (a) : pericentrique ; (b) : paracentriques -----	14
FIGURE N° 12 : Inversions (a) : en tandem ; (b) : en memoire -----	15
FIGURE N° 13 : Insertion-----	15
FIGURE N° 14 : Translocation reciproque-----	16
FIGURE N° 15 : Formation d'un neocentromère-----	16

CHAPITRE II :

FIGURE N° 16 : Produits utilises en coloration conventionnelle -----	17
FIGURE N° 17 : Produits utilises en coloration GTG-----	18
FIGURE N° 18 : Etapes de la technique de marquage en bandes GTG-----	19
FIGURE N° 19 : Photographie du logiciel adobe photoshop prise en capture d'ecran-----	20

CHAPITRE III :

Figure N° 20 : (a) metaphase de la caille japonaise <i>coturnix japonica</i> observee au (gx100) en coloration conventionnelle et (b) caryotype propose -----	23
Figure N° 21 : metaphase en bandes gtg de la caille japonaise <i>coturnix japonica</i> observee au (gx100) -----	24
FIGURE N° 22 : histogramme representant le nombre de metaphases en fonction du nombre de chromosomes -----	25
Figure N° 23 : (a) metaphase en bandes gtg de la caille japonaise <i>coturnix japonica</i> , (b) caryotype partiel correspondant -----	26
Figure N° 24 : Comparaison des motifs de bandes gtg des chromosomes 1(a) de la caille japonaise originale et (b) celui de la litterature -----	33
Figure N° 25 : Comparaison entre le chromosome 1(a) de la caille japonaise originale et (b) celui du poulet domestique montrant la difference des longueurs des bras p et q -----	33
Figure N° 26 : Deletion d'un fragment du bras court sur le chromosome 1 du poulet -----	34
Figure N° 27 : inversion pericentrique du chromosome 1 du poulet domestique -----	34
Figure N° 28: Comparaison des idiogrammes en bandes gtg des chromosomes 1 de la poule domestique (a gauche) et de la caille japonaise <i>coturnix japonica</i> (a droite) montrant une inversion pericentrique (inv: p21q13) produite chez la caille japonaise -----	35
Figure N° 29 : Chromosome 1 meiotique du poulet domestique (gga1) et de la caille japonaise (cco1) montrant les positions de leurs centromeres respectifs -----	36
figure N° 30 : Correspondances de bandes morphologiques gtg des chromosomes 2 (a) de la caille japonaise originale et (b) celui de shibusawa <i>et al</i> (2001) -----	36

Liste des Figures

Figure N° 31: Comparaison morphologique du chromosome 2 (a) de la caille japonaise originale et (b) celui du poulet domestique -----	37
Figure N° 32: Inversion pericentrique du clone bac 107k17 sur le chromosomes 2 de la caille japonaise et du poulet domestique -----	37
Figure N° 33 : Chromosome 2meiotique du poulet domestique (gga2) et de la caille japonaise (cco2) montrant la double inversion pericentrique -----	38
Figure N° 34 : Chromosome 3 de la caille japonaise originale(a) et celui de la caille de la litterature (b)-----	38
Figure N° 35 : Chromosome 5 (a) de la caille japonaise originale et (b) celui de la caille japonaise de la litterature -----	39
Figure N°36 : Homologies morphologiques des chromosomes mitotiques 3 (a) et 5 (b) des deux especes-----	39
Figure N° 37 : Ordre des clones bac et position du centromere conserve sur le chromosome 3 en ecouvillon des deux especes-----	40
Figure N° 38 : Correspondances de bandes morphologiques gtg des chromosomes 4 (a) de la caille japonaise originale et (b) celui de shibusawa <i>et al</i> (2001)-----	40
figure N° 39 : Comparaison morphologique du chromosome 4(a) de la caille japonaise originale et (b) celui du poulet domestique -----	41
Figure N° 40 : Inversion pericentrique du chromosome 4 -----	41
Figure N° 41 : (a) hybridation complete du chromosome (4) du poulet sur le chromosome 4 de la caille japonaise (guttentbach <i>et al.</i> , 2003), (b) l'ordre des clones bac sur le chromosome 4 mitotique de la caille japonaise (cja4) est identique a celui du poulet (gga4) (kayang <i>et al.</i> , 2006) et aussi sur le chromosome 4en ecouvillon (c) -----	42
Figure N° 42 : Comparaison morphologique des chromosomes z (a) de la caille japonaise originale et (b) celui de la litterature montrant les correspondances de bandes gtg -----	42
Figure N° 43 : Comparaison morphologique du chromosome z (a) de la caille japonaise originale et (b) celui du poulet domestique -----	43
Figure N°44 : (a) comparaison des idiogrammes en bandes gtg des chromosomes sexuels z de la caille japonaise et du poulet domestique-----	43

Figure N°45 : Illustration schematique du caryotype aviaire ancestral et ses orthologues du poulet. la seule difference etant le chromosome 4 du poulet, qui est represente par les chromosomes ancestraux 4 et 10 -----**44**

Liste des abréviations

2n : Nombre diploïde des chromosomes

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

BAC: Bacterial Artificial Chromosome

CO: Japanese quail (*Coturnix japonica*)

Cm: centimètre

Cm²: centimètre carré

FISH: Fluorescence *In situ* Hybridization

GGA: Chicken (*Gallus gallus domesticus*) chromosome

GTG: Bandes G (G-Trypsine Giemsa)

h: heure

µg : microgramme

µl : microlitre

ml: millilitre

mM : milimole

NaCl : Chlorure de sodium

p : Bras court

q: Bras long

Rpm: Rotation par minute

RPMI: Roswell Park Memorial Institute

S: phase de Synthèse d'AND

SVF: Sérum de Veau Fœtal



INTRODUCTION

La cytogénétique est l'étude des phénomènes génétiques au niveau de la cellule, plus précisément au niveau des chromosomes sans la nécessité d'extraire l'ADN. Elle utilise différentes techniques qui sont principalement la réalisation de caryotype (cytogénétique classique), les méthodes de FISH (Fluorescent *In-Situ* hybridization) et l'utilisation de puce à ADN (cytogénétique moléculaire) (Julio *et al.*, 2004).

Au début des années 1970, plusieurs techniques de marquage chromosomique ont été mises au point. Ces techniques de marquage, appelées aussi techniques de bandes, produisent sur chaque paire de chromosome un dessin constitué d'une succession de bandes claires et sombres, toujours le même pour un chromosome donné. Ces techniques permettent d'apparier les chromosomes homologues et d'identifier les anomalies chromosomiques (Popescu, 1991). La cytogénétique moléculaire offre de nouvelles possibilités dans l'étude de l'évolution chromosomique et l'organisation du génome, et contribue à une meilleure caractérisation du caryotype des espèces (Siljak-Yakovlev et Peruzzi, 2012).

La caille japonaise *Coturnix japonica* est une espèce aviaire de l'ordre des Galliformes et la famille des Phasianidés. Elle est considérée comme une espèce modèle des laboratoires pour sa petite taille, sa croissance rapide, sa grande production d'œufs et son élevage peu coûteux (Mills *et al.*, 1997).

Les études comparatives entre la caille japonaise *Coturnix japonica* et le poulet domestique *Gallus domesticus* (appartenant à la même famille et qui représente le standard des espèces aviaires), permettent de déceler certains réarrangements intrachromosomiques qui auraient pu se produire au cours de l'évolution (Zlotina *et al.*, 2012 ; Kayang *et al.*, 2006).

Dans la présente étude, nous envisageons de décrire la morphologie des cinq premières paires de macrochromosomes et le chromosome sexuel Z de la caille japonaise. Le nombre diploïde sera aussi estimé. Ensuite, l'indice centromérique sera calculé afin d'établir une cartographie comparée entre la caille japonaise et le poulet domestique dans le but de retracer l'évolution des génomes des deux espèces apparentées (Shibusawa, 2001 ; Ladjali-Mohammed, 1999).

Notre travail est subdivisé en trois parties. Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique sur les généralités de l'espèce aviaire, la cytogénétique, le cycle cellulaire, les différentes techniques de colorations, les études réalisées sur les deux modèles biologiques aviaires et enfin les différents types de remaniements chromosomiques qui se seraient produits au cours de l'évolution.

Le second chapitre consiste à présenter les démarches expérimentales suivies par les différentes techniques de coloration, l'identification des chromosomes, l'établissement du caryotype partiel et le calcul des indices centromériques.

Le dernier chapitre présente les résultats obtenus, qui seront discutés. Enfin, nous établirons une comparaison des morphologies chromosomiques entre les deux espèces *Coturnix japonica* et *Gallus domesticus* tout en proposant certains réarrangements qui expliqueraient les différences observées (Shibusawa *et al.*, 2001 ; Ladjali-Mohammed *et al.*, 1999).



Etude

bibliographique

I-1- Présentation de la caille japonaise *Coturnixjaponica*

La caille japonaise *Coturnixjaponica* est un oiseau rustique, de petite taille, caractérisé par une croissance rapide, une maturité sexuelle précoce, un court intervalle de génération, et une forte ponte(Mills *et al.*, 1997).La caille a gagné une importance économique comme une espèce produisant de la chair et des œufs qui sont appréciés pour leur saveur unique et leur haute valeur nutritive et considéré comme animale model du laboratoire(Husset *al.*, 2008).

I-1.1-Origine et domestication de la caille japonaise

La plus ancienne représentation connue de la caille est trouvé dans les hiéroglyphes égyptiens (2000 ans avant J.C). Les premiers écrits sur la domestication de la caille datent du XIIe siècle au Japon. Ces oiseaux ont été domestiqués soit au Japon ou amenés là par laChine(Mills *et al.*, 1997 ; Shanaway, 1994; Husset *al.*, 2008).

I-1.2Classification de la caille japonaise

La caille japonaise appartient à l'ordre des Galliformes et à la famille des Phasianidés, dont son nom scientifique*Coturnixjaponica*(Linné, 1758). La caille du japon appartient au genre*Coturnix*.Elle a été longtemps considérée comme une sous-espèce de la caille des blés *Coturnixcoturnix*(Westmore, 1952).

I-1.3 Habitatet répartition géographique

I-1-3.1-Habitat

La caille du Japon fréquente les habitats ouverts, prairies, cultures, steppes, clairières forestières. Elle semble moins sensible à l'humidité car on la trouve également en terrain marécageux(Mills *et al.*, 1997 ; Hennache et Ottaviani, 2011).

I-1-3.2-Répartition géographique

La caille japonaise niche en Mongolie, en Sibérie méridionale, en Chine, en Corée, au Japon, dans le nord-Vietnam, au Myanmar et au Bhoutan. Elle hiverne dans le sud de la Chine, (Mills *etal.*, 1997). Des observations ponctuelles ont été faites en Thaïlande, dans le nord-est de l'Inde, au Cambodge et aux Philippines. Elle a été introduite à Hawaï et à la Réunion(FigureN°1)(Shwartzet *al.*, 1949;Hennache et Ottaviani , 2011).

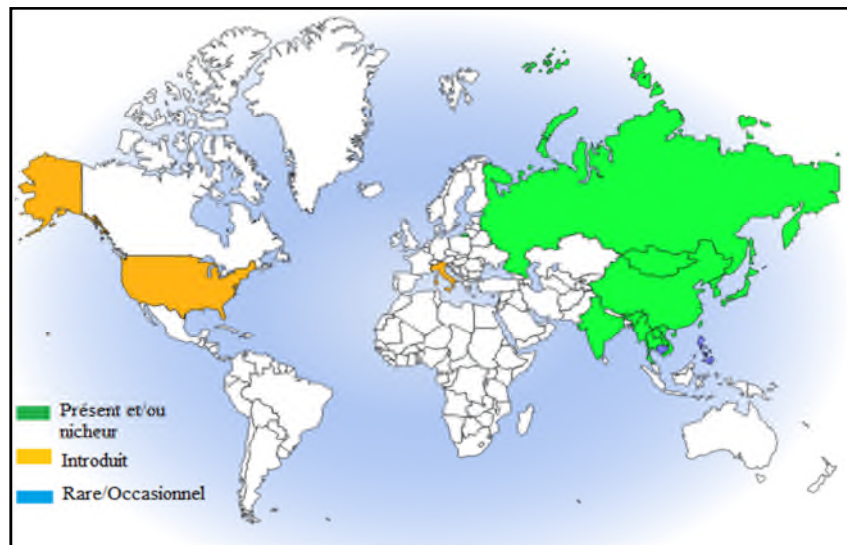


Figure N°1 : Description géographique de la caille japonaise *Coturnixjaponica* dans le monde (oiseaux.net, 2017).

I-1-4-Description et sexage de la caille japonaise

La caille japonaise est caractérisée par un plumage du corps de couleur principalement brun cannelle plutôt foncé, A l’âge adulte, le plumage de la caille japonaise présente un dimorphisme sexuel, permettant de différencier les deux sexes dès l’âge de trois semaines (Ratnamohan, 1985 ; Mizutani, 2003). Chez la femelle, les plumes sur la gorge et la poitrine sont longues et pointues avec des taches noires caractéristiques(Woodard *et al.*, 1973)(Figure N°2 a).Chez le mâle, les plumes de la poitrine sont d’une couleur orange uniforme. Cette coloration orangée apparaît également sur les joues (Figure N°2 b), tandis que les plumes des joues des femelle sont le plus souvent de couleur crème(Ernst, 1978 ; Mills *et al.*, 1997).

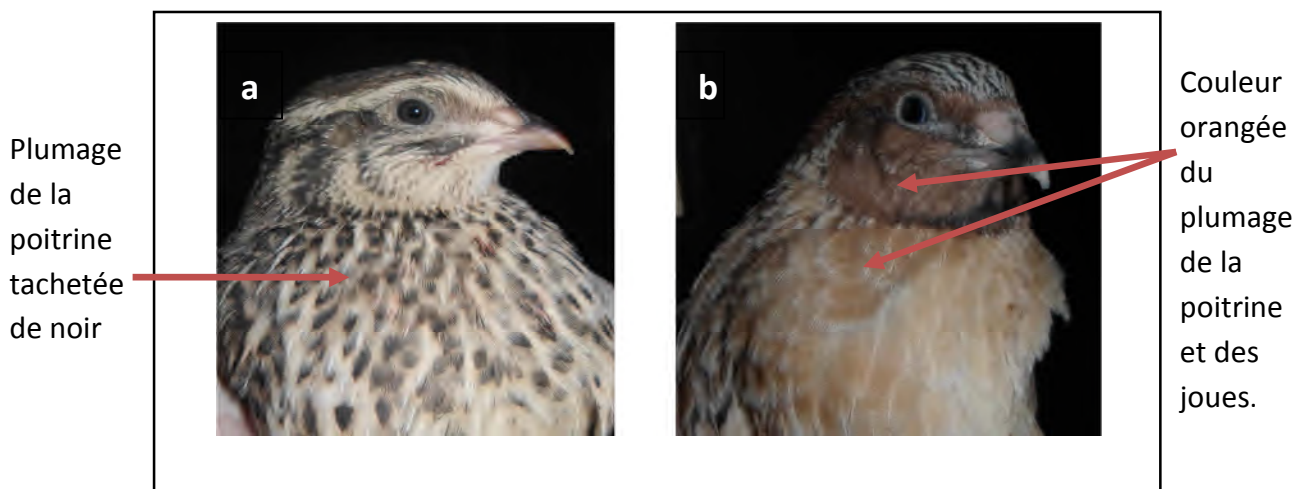


Figure N°2 : Caille japonaise *Coturnixjaponica*(a) : femelle, (b) : mâle (Husset *et al.*, 2008)

Les mâles adultes ont une glande au niveau du cloaque qui sécrète une substance blanche mousseuse. La taille de cette glande peut être utilisée comme un indicateur externe de la fonction testiculaire chez les oiseaux (Ernest, 1978 ; Ratnamohan, 1985; Randall, 2008). La glande cloacale est également utile pour différencier les mâles des femelles des souches ayant un plumage autre que de type sauvage (Shanaway, 1994 ; Baer, 2015).

I-1-5-Reproduction chez la caille japonaise

La caille japonaise domestique marquée par la perte du phénotype migrateur, peut se reproduire toute l'année. Elle commence à pondre à l'âge de sept semaines. Les cailles japonaises atteignent 50% de leur production d'œufs à la huitième semaine de ponte. Elles produisent environ 300 œufs par an chacun avec un poids de 7-11g (Imelda Schmid ; Beat Wechsler 1997 ; villot *et al.*, 2013). Pour la production d'œufs fertiles, les cailles mâles devraient être mises avec les femelles à l'âge de 8-10 semaines (Priti et Satish, 2014).

La reproduction de la caille japonaise est contrôlée par la photopériode. Les testicules des mâles restent actifs, produisant des spermatozoïdes et sécrétant des concentrations élevées de testostérone qui activent les comportements copulatoires masculins. Les femelles conservent également un axe gonadique hypothalamus-hypophysaire pleinement actif (Robinson et Follett, 1982). Si le temps de la lumière du jour diminue à moins de 12 h, la caille peut réduire ou cesser la ponte (Husset *al.*, 2008, Blesbois et Brillard, 2009).

I-1.6-Œuf de la caille japonaise

L'œuf de la caille est de petite taille, sphérique, tacheté de noir, (Woodard *et al.*, 1973). Il mesure environ 30 mm et pèse 10g. Il est composé de 65% d'eau, 12% de protéine, 10% de graisse, 10% de calcite et 3% d'autres composés. Il est riche en vitamines et connu comme un antiallergique et traite diverses maladies comme l'anémie (Finsworth *et al.*, 2010).

I-2-Cytogénétique des oiseaux

La cytogénétique est l'étude des phénomènes génétiques au niveau de la cellule, plus précisément au niveau des chromosomes métaphasiques. Elle permet d'établir un caryotype sans la nécessité d'extraire l'ADN. (Rotureau, 2012 ; Julio *et al.*, 2004; goudjil-benhizia, 2014). En 1956 la cytogénétique classique permettant une analyse globale de l'ensemble du génome, en colorant les chromosomes de façon homogène et de les classer selon leur taille et la position centromérique.

1970, la cytogénétique va connaître un nouvel essor grâce aux techniques de marquage chromosomique, qui permettront d'analyser la structure des chromosomes sous la forme de séquences de bandes par une dénaturation par la trypsine –bandes G – ou par la chaleur – bandes R (Berger, 1956).

I-2-1-Caractéristiques du génome aviaire

Les oiseaux ont un génome bien plus petit que les hommes et autres vertébrés. Chez les volatiles, les introns sont particulièrement courts. Cette grande densité des gènes des oiseaux est le fruit de l'évolution. C'est le signe que la sélection naturelle a favorisé les génomes les plus compactés (Bensimon, 1995). Le nombre chromosomique, chez les différentes espèces d'oiseaux, est génétiquement très élevé et peut atteindre une centaine (Bensimon, 1995). Chez les oiseaux, la détermination sexuelle repose sur le système ZZ/ZW qui est, dans une certaine mesure, diamétralement opposé. Le chromosome W est porté par les femelles, ce sont donc elles qui sont hétérogamétiques tandis que les mâles sont homogamétiques (Popescu, 1991 ; Gilgenkrantz, 2014).

I-2-2-Cycle cellulaire

Le cycle cellulaire est l'ensemble des étapes qu'une cellule franchit entre sa formation (par division de la cellule mère) et le moment où cette cellule a fini de se diviser en deux cellules filles, grâce à la mitose (Figure N° 3) (Darbonet *al.*, 1995; karp, 2004).

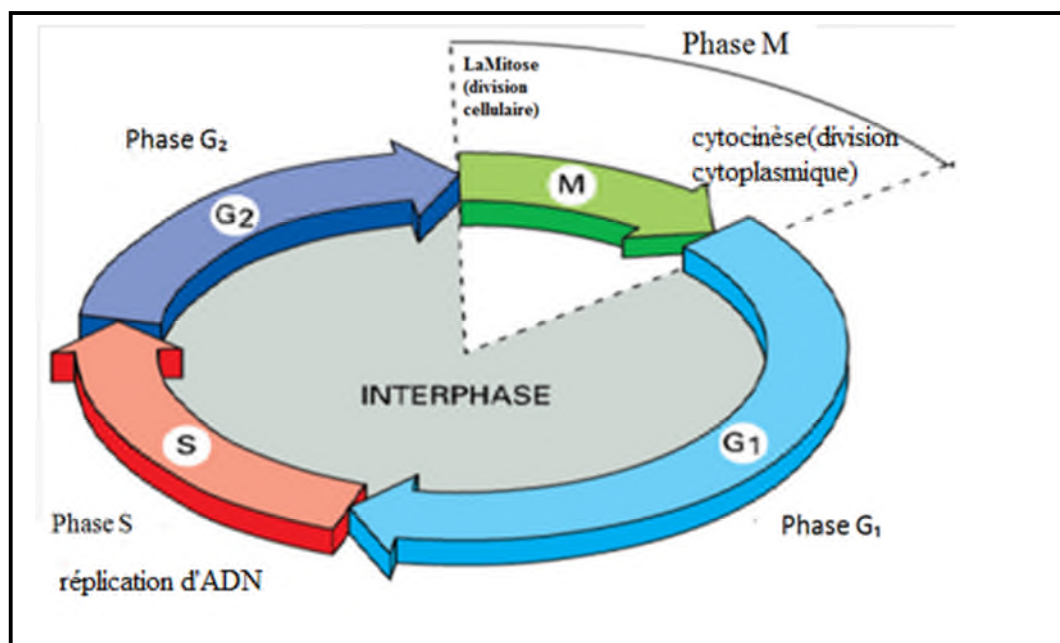


Figure N°3 : Cycle cellulaire (modifiée d'après karp, 2004).

I-2-2.1-L'interphase :

Les chromosomes ne sont pas individualisés. Le matériel génétique est sous forme de chromatine et le centrosome est composé de 2 centrioles. L'interphase se divise en trois phases :

-La phase G1

La cellule prépare la duplication de l'ADN et accumule des réserves pour la division cellulaire, à la fin de G1, y a un point de contrôle (Check point) qui permet le passage en phase S ou de bloquer la cellule en phase G1 jusqu'à sa mort (Darbonet *al.*, 1995 ; karp, 2004).

-**La phase S** : C'est la phase de synthèse et de réplication de l'ADN et des histones (protéines basiques qui protègent l'ADN). La synthèse se fait dans le cytoplasme, elle aboutit à une duplication du stock d'ADN de la cellule, qui passe de (n) chromosomes (haploïde) à (2n) chromosomes (diploïde) (Darbonet *al.*, 1995 ; karp, 2004).

-**La phase G2** : Correspond à la phase de post-synthèse où les cellules s'assurent que la réplication de leur ADN est correcte. Selon le résultat de la réplication, les « check points » permettent à la cellule soit d'entrer en mitose, soit d'entrer en apoptose (karp, 2004).

I-2-2.2-La phase M

La phase M comprend la mitose, au cours de laquelle le matériel génétique dupliqué se sépare et aussi la cytokinèse, durant laquelle l'ensemble des cellules se divise physiquement en deux cellules filles (karp, 2004).

I-2-2-1.1-La mitose

Le terme « mitose » vient du mot grec *mitos*, qui signifie « filament ». La mitose c'est une division nucléaire où l'ADN se condense pour former (2n) chromosomes (karp, 2004). On divise généralement la mitose en cinq stades arbitraires :

-**La prophase** : Les chromosomes se composent de deux chromatines réunies au centromère, le cytosquelette se désagrège et le fuseau mitotique se forme (karp, 2004).

-La prométaphase : L'attachement du chromosome au fuseau est bipolaire Par le jeu de la polymérisation et de la dépolymérisation des microtubules (karp, 2004).

-La métaphase : Les chromosomes sont alignés dans la plaque métaphasique et sont attachés aux deux pôles par les microtubules, la chromatine est très condensé (karp, 2004).

-L'anaphase : Les centromères se divisent et les chromatides se séparent, les chromosomes vont vers les pôles opposés du fuseau puis les deux pôles s'écart (karp, 2004).

-La télophase : Les chromosomes se rassemblent aux deux pôles du fuseau ou il y aura Formation de l'enveloppe nucléaire (karp, 2004).

I-2-2-1.2-La cytokinèse

La mitose est terminée, le sillon de division ainsi créé se creuse de plus en plus, jusqu'à la séparation complète des deux cellules filles (Figure N°5)(karp, 2004).

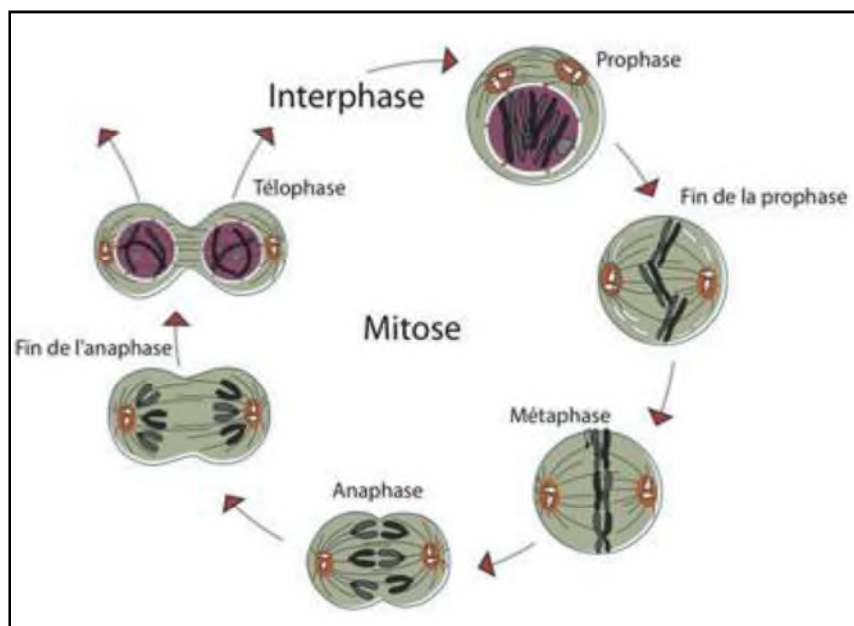


Figure N°4. Les étapes de la mitose (Andrieu, 2014)

I-2-3-Caryotype et nomenclature

I-2-3.1- Caryotype

Le terme caryotype désigne l'analyse numérique et structurale de l'ensemble des chromosomes d'une cellule ou d'un individu. Il permet l'identification et le classement par paires de chromosomes en métaphase (division cellulaire) en fonction de leur taille, de leur indice centromérique et de leur marquage en bande (Pollard *et al.*, 2004 ; Julio *et al.*, 2004 ; Babaket *et al.*, 2014).

I-2-3.2- Nomenclature

Au cours de la phase S du cycle cellulaire, le chromosome qui est formé présente ainsi deux chromatides sœurs, ils sont reliés par le centromère. La position du centromère permet de définir la morphologie du chromosome (Figure N° 5) (Brodeur et Toussaint, 2007).

- **Chromosome métacentrique** : le centromère est au milieu du chromosome, il se divise en deux chromatides de taille égale.
- **Chromosome submétacentrique** : le centromère est un peu loin du centre, on distingue un bras court qui est environ deux fois plus petit que le bras long.
- **Chromosome télocentrique** : le centromère est situé près d'une extrémité de chromatide.
- **Chromosome acrocentrique** : le centromère est situé au niveau de l'extrémité de la chromatide (le centromère est en position terminale).

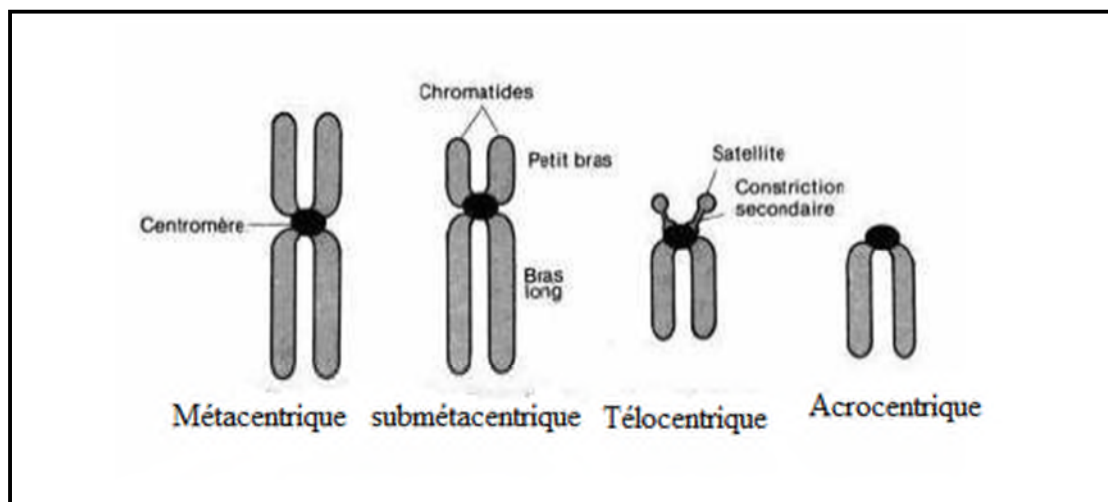


Figure N°5 : Structure des chromosomes métaphasique (Modifiée d'après Halmi, 2010).

I-3. Les techniques de marquage chromosomiques

Les techniques de marquage sont la base de la cytogénétique. Cela consiste à voir apparaître sur des chromosomes une succession de bandes claires et de bandes sombres (longitudinales et caractéristiques de chaque paire chromosomique). Le nombre de bandes est variable en fonction de la condensation de la chromatine (Eberhard, 2005 ; Popescu *et al.*, 1998).

I-3-1. Coloration conventionnelle

Le Giemsa est un colorant ayant une forte affinité pour l'ADN. Il permet l'observation des chromosomes. Cela permet de classer les chromosomes par taille et de regarder l'indice centromérique (Popescu *et al.*, 1998).

I-3-2. Marquage chromosomique en bandes

Il y a 4 types de bandes utilisées en routine:

Bandes G: dénaturation enzymatique (trypsine) + coloration Giemsa (GTG).

Bandes R: dénaturation thermique ménagée + coloration Giemsa (RHG).

Bandes C: baryum + coloration Giemsa (hétérochromatine constitutive) (CBG).

(Autres: coloration en bandes T (Télomérique), bandes Q (Quinacrine QFQ) (microscope à fluorescence)).

I-3-2.1. Les bandes G- Trypsine Giemsa (GTG)

Les chromosomes de la métaphase sont traités avec de la trypsine (pour digérer partiellement le chromosome) et colorés avec du Giemsa. Les régions hétérochromatiques, qui ont tendance à être riches en Adénine et de Thymines (AT) et relativement pauvres en gènes, sont plus sombres dans les bandes en G. En revanche, la chromatine moins condensée qui a tendance à être riche en guanine et en cytosine (GC) et plus transcriptionnellement active incorpore moins de Giemsa. Ces régions apparaissent comme des bandes lumineuses dans les bandes en G. Le motif des bandes est numéroté sur chaque bras du chromosome (du centromère vers le télomère). Ce système de numérotation permet d'identifier et de décrire précisément n'importe quelle bande sur le chromosome. L'inverse des bandes G est obtenu en bandes R. La bande peut être utilisée pour identifier les anomalies chromosomiques, telles que les translocations, car il existe un motif unique de bandes claires et sombres pour chaque chromosome (Harry, 2001 ; Eberhard, 2005 ; Le Caignec, 2011).

Il est difficile d'identifier et de grouper les chromosomes basés sur une coloration simple car la couleur uniforme des structures rend difficile la différenciation entre les différents chromosomes. Par conséquent, des techniques comme G-banding ont été développées qui ont créé des "bandes" sur les chromosomes. Ces bandes étaient les mêmes en apparence sur les chromosomes homologues, de sorte que l'identification est devenue plus facile et plus précise (Eberhard, 2005 ; Le Caignec, 2011).

I-3-2.2-Les Bandes (RHG)

Lorsque les chromosomes sont prétraités par la chaleur avant la coloration au Giemsa, les bandes sombres et claires obtenues (bandes R) ont une distribution inverse de celle produite par les techniques de bandes G (Popescuet *al.*, 1998).

I-3-2.3-Les bandes C

Les chromosomes sont prétraités par l'acide dilué suivi de l'alcali fort et de la saline douce, puis coloré au moyen du Giemsa. Cette méthode colore de façon spécifique les régions centromériques de chaque chromosome et d'autres régions contenant également l'hétérochromatine (Popescuet *al.*, 1998).

I-4. Description des caryotypes

I-4-1-Caryotype de la caille japonaise *Coturnixjaponica*

Le caryotype de la caille japonaise *Coturnixjaponica* est constitué de 78 chromosomes ($2n=78$), répartis en 6 paires de macrochromosomes et 33 paires de microchromosomes (Talluriet *al.*, 1965, Schmid *et al.*, 1989). Les chromosomes (1 et 2) sont submétacentriques, les chromosomes (3, 5, 6, 7 et 8) sont acrocentriques, le 4 est acrocentrique. Le chromosome Z est métacentrique, alors que le chromosome W est acrocentrique (Turpin *et al.*, 1974 ; Shibusawa *et al.*, 2001). Concernant les microchromosomes, la plupart sont acrocentriques (Figure N°6 et Figure N°7) (Stock et Bunch, 1982 ; Shibusawa *et al.*, 2001 ; Schmid *et al.*, 1989).

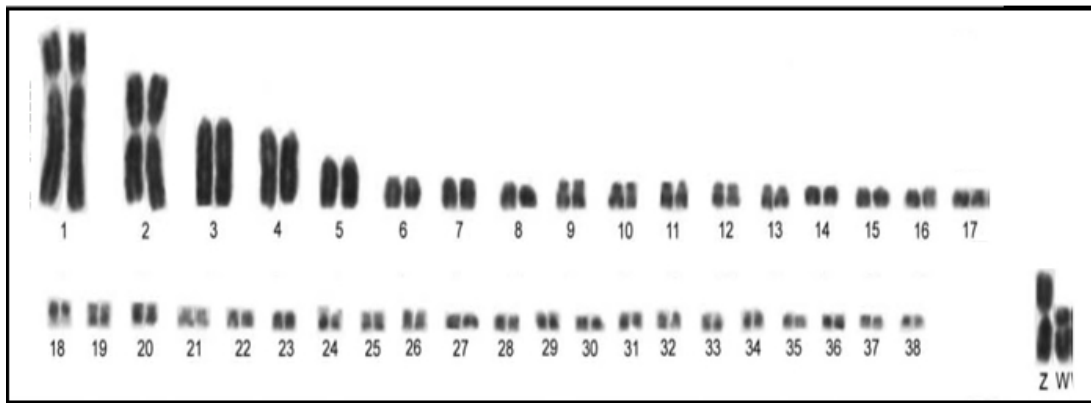


Figure N°6 : Caryotype de la caille japonaise femelle *Coturnix japonica* en coloration conventionnelle (Schmid *et al.*, 1989),

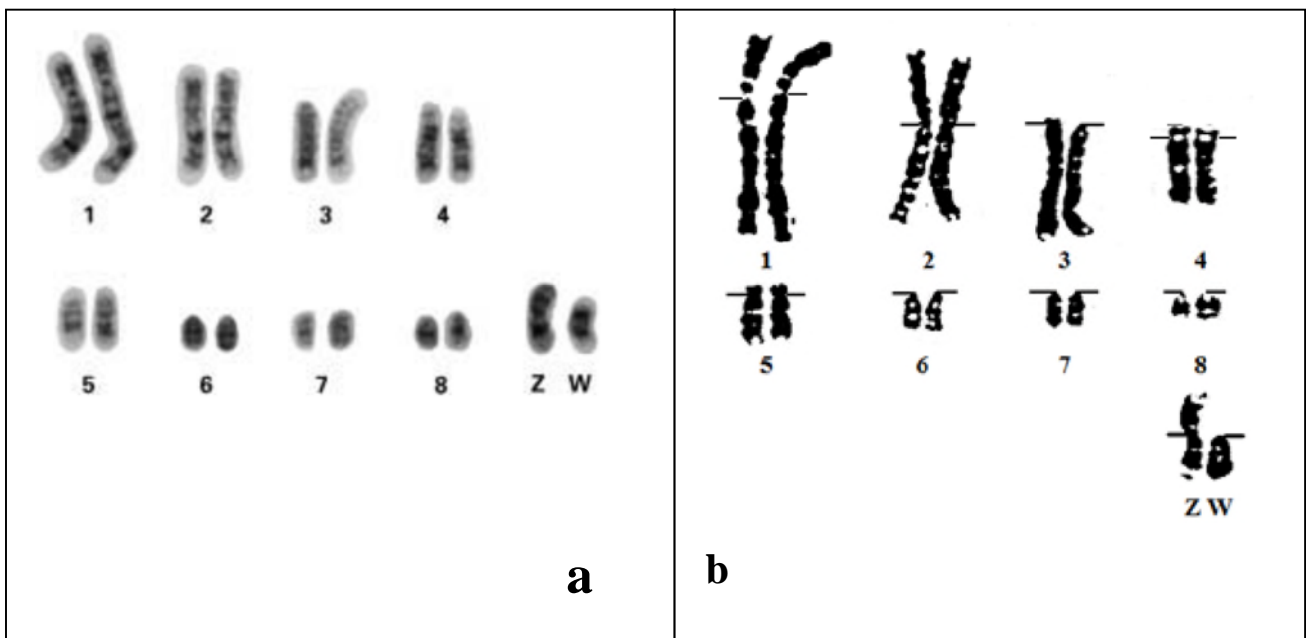


Figure N°7 : Les macrochromosomes de la caille japonaise marqués en bandes GTG (a) (Shibusawa *et al.*, 2001), (b) (Stock et Bunch, 1982).

I-4-2- Caryotype du poulet domestique *Gallus domesticus*

Le poulet domestique *Gallus domesticus* est une espèce aviaire modèle et considéré comme un standard pour comparer les génomes d'autres espèces apparentées puisque il est le plus proche de l'ancêtre commun (Fillon, 1998).

Le caryotype du poulet comporte également 78 chromosomes ($2n=78$) répartis en 9 paires de macrochromosomes : dont 3 paires sont submétacentriques (1, 2 et 8), 2 paires sont télocentriques (4 et 7) et 3 paires sont acrocentriques (3, 5 et 6). Les deux chromosomes sexuels (Z et W) sont métacentriques. Les 30 paires de microchromosomes sont beaucoup plus homogènes, la plupart sont acrocentriques (Figure N°9) (Fillon, 1998).

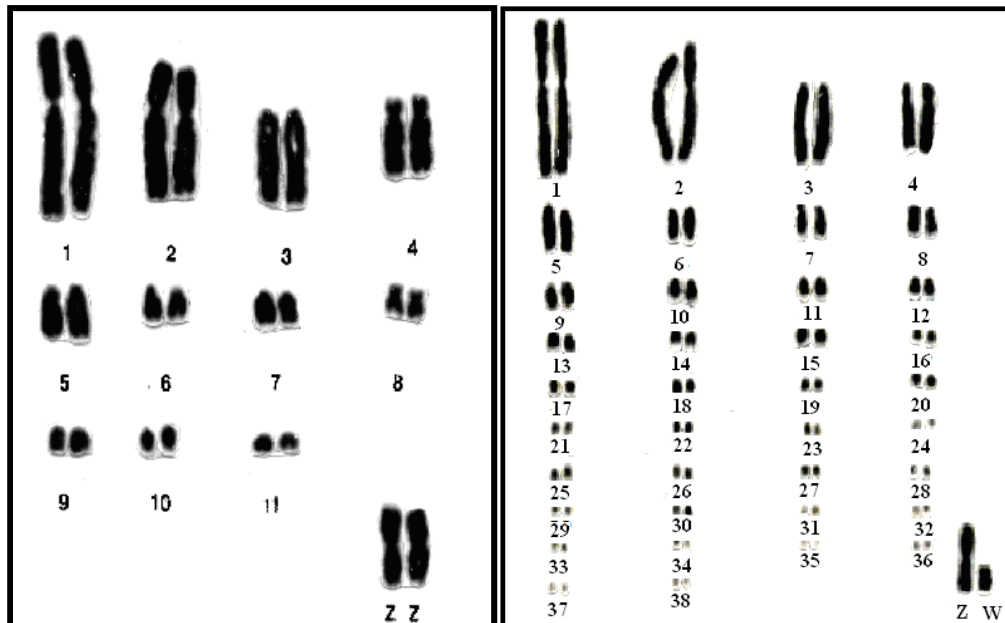


Figure N°8 : Caryotype de la poule domestique *Gallus domesticus* en coloration conventionnelle (a) : Mâle, (b) : Femelle (Ladjali, 1994).

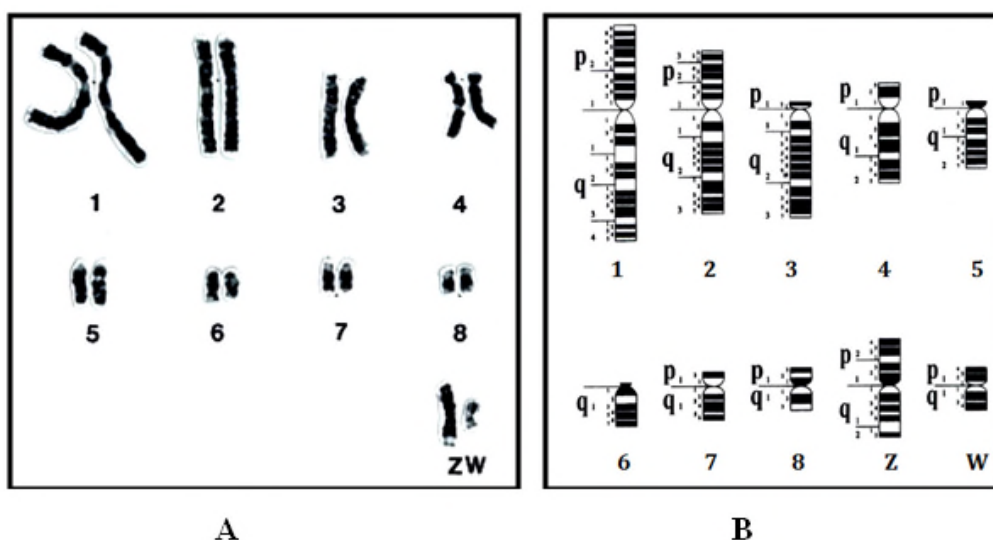


Figure N°9: (A) Caryotype en bandes GTG. (B) Idiogramme standard des 8 premières paires chromosomiques et les chromosomes Z et W de la poule domestique *Gallus domesticus* (Ladjali-Mohammediet al., 1999).

I-5-Remaniements chromosomiques

On appelle une anomalie chromosomique tout remaniement du nombre ou de structure des chromosomes (Harry, 2001 ; Eberhard, 2005).

I-5-1 Descriptions des anomalies chromosomiques

Il est également important de distinguer les anomalies de nombre et les anomalies de structure. Les anomalies chromosomiques de nombre entraîneront un caryotype toujours déséquilibré, contrairement aux anomalies de structure dont le caryotype pourra être équilibré ou déséquilibré (Atlas of Genetics, 2006 ; Allano et Clamens,2000).

I-5-1.1-Les anomalies de structure

Les délétions : Les délétions résultent d’une seule cassure chromosomique causant une perte du segment distal (délétion terminale), ou de deux cassures sur un même bras avec perte du segment intercalaire. Ces anomalies sont non équilibrées et l’expression phénotypique dépend de la taille et du contenu du segment perdu (Figure N°9)(Lemaitre, 2006 ;Allano et Clamens, 2000).

Les inversions : Elles sont dues à deux cassures sur le même chromosome, suivies de recollement après rotation de 180°du segment intermédiaire, faisant intervenir un processus de recombinaison intrachromosomique. Elles sont dites :

- péricentriques si le centromère est inclus dans le segment inversé.
- paracentriques si les deux cassures se sont produites sur le même bras chromosomique (le centromère n’est pas inclus dans l’inversion) (Lemaitre, 2006 ;Allano et Clamens, 2000).

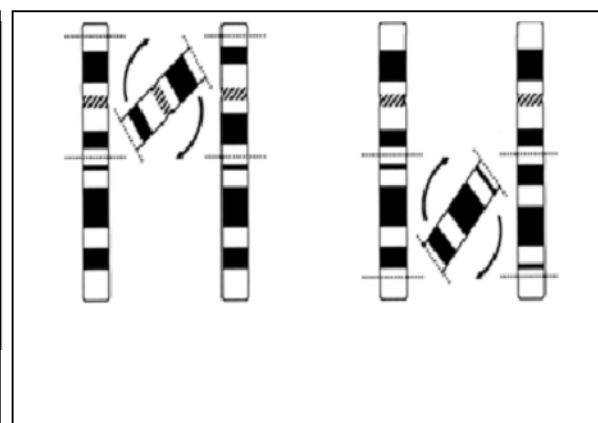
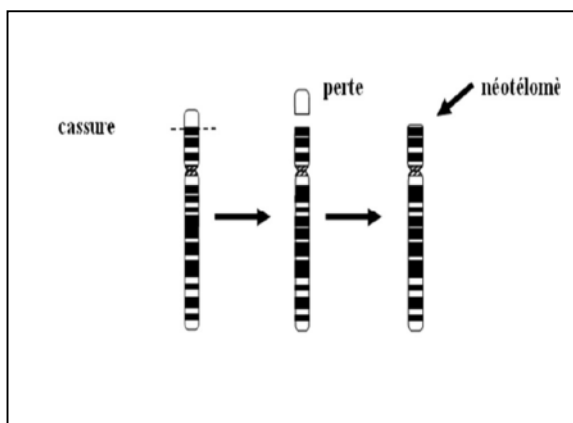


Figure N°10 : délétion intercalaire (Lemaitre, 2006).

FIGURE N°11: les inversions (a) : péricentrique ; (b) : paracentriques(Lemaitre, 2006).

Les duplications : Une duplication est une anomalie chromosomique déséquilibrée. Elle se définit comme la répétition d'une ou plusieurs fois d'un segment de chromosome. Ces anomalies sont rares. Le segment dupliqué peut être :

- dans la même orientation que le segment d'origine, c'est une duplication directe (en tandem)
- inversé de 180° par rapport au segment d'origine, c'est une duplication indirecte (en miroir)(Lemaitre, 2006 ; Allano et Clamens, 2000).

Les insertions (additions) :Elles se traduisent par le transfert d'un segment intercalaire à l'intérieur d'un autre bras chromosomique. Elles résultent d'un mécanisme à trois cassures, deux sur le chromosome donneur et une sur le chromosome receveur. Le segment inséré peut conserver son orientation par rapport au centromère ou prendre une orientation inverse. L'insertion peut être intrachromosomique(Lemaitre, 2006 ; Allano et Clamens, 2000).

Les translocations : Une translocation est caractérisée par deux cassures sur deux chromosomes différents, le plus souvent non-homologues, et recollement après échange des segments distaux(Lemaitre, 2006; Allano et Clamens, 2000).

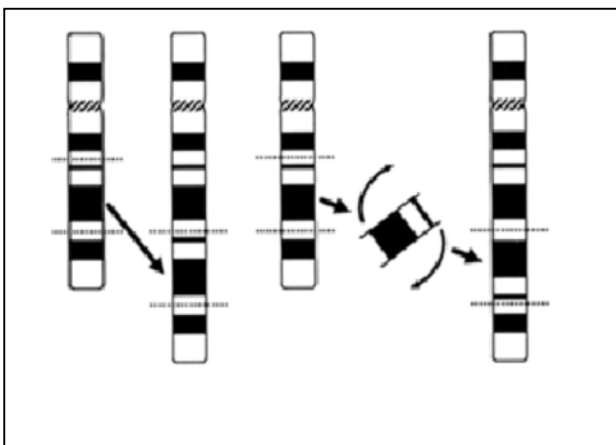


Figure N°12 : Inversions (a) : en tandem ; (b) : en mémoire (Lemaitre, 2006).

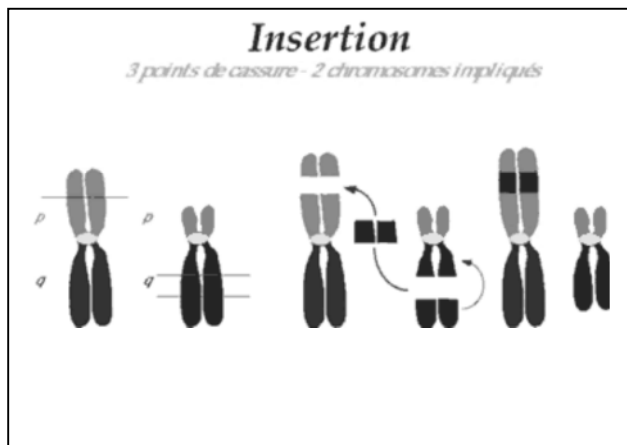


FIGURE N°13 : Insertion (Lemaitre, 2006).

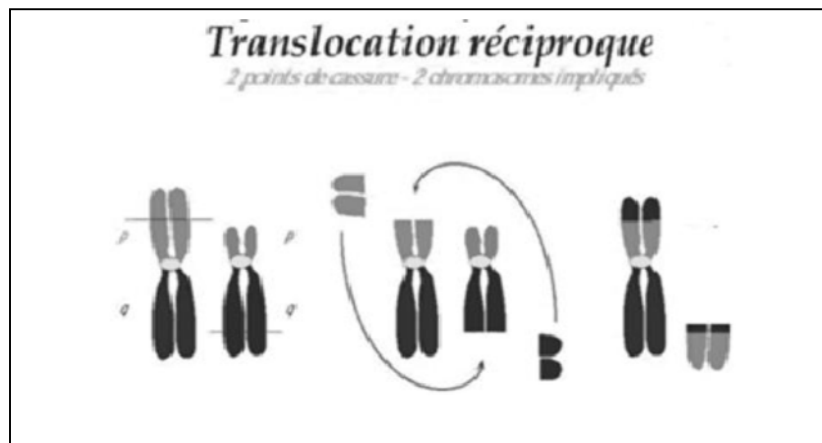


Figure N°14 : translocation réciproque (Lemaitre, 2006).

Néocentromères

Le néocentromère est un nouveau centromère fonctionnel qui est survenu dans une région qui ne comportait pas de centromère connu, tout en gardant l'ordre des gènes original (réarrangement stable). Le néocentromère est capable de fixer 40 protéines et de former un kinétochore (assemblage supramoléculaire de protéines au niveau des régions centromériques des chromosomes mitotiques) fonctionnel nécessaire pour l'attachement des microtubules au chromosome (Figure N°23) (Grégory, 2010).

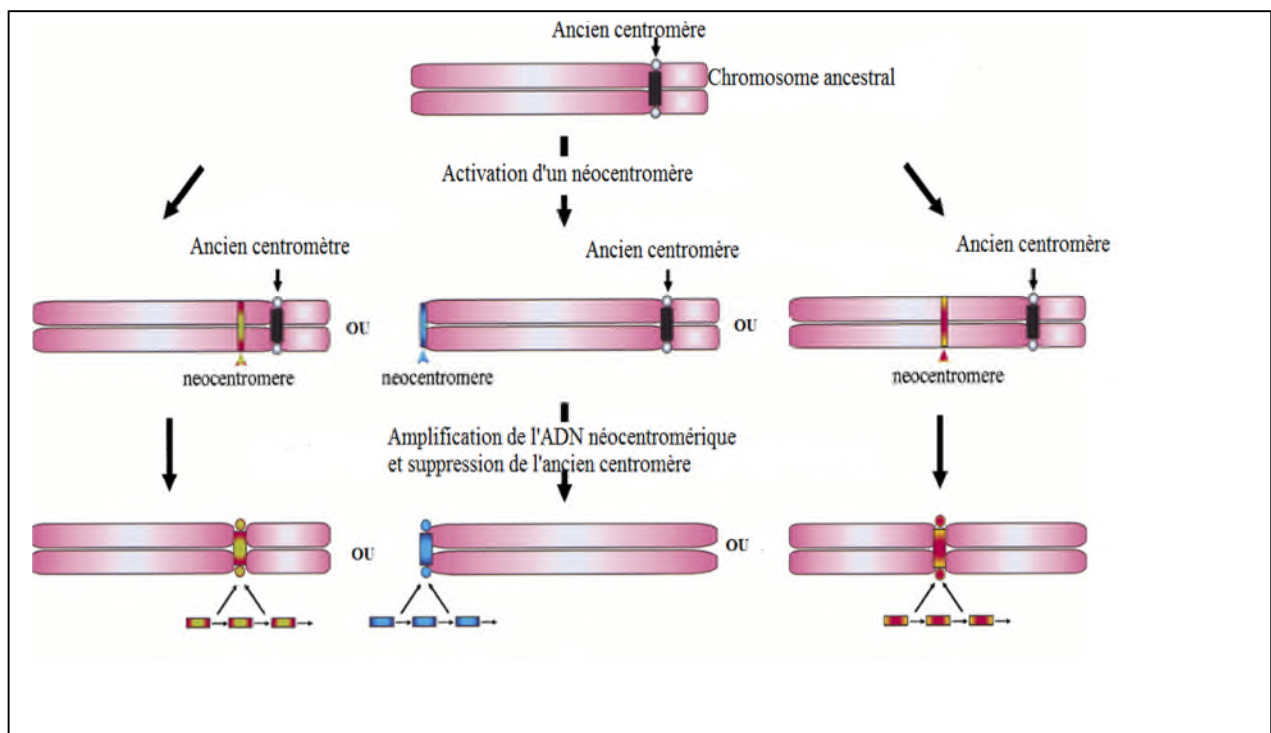


Figure N°15 : Formation d'un néocentromère (Modifié d'après Ventura *et al.*, 2001).



**Matériels et
méthodes**

II-1-Lieu d'expérimentation

Ce travail a été réalisé au sein de différents laboratoires (Laboratoire de Biologie Animale et au Laboratoire d'Ecologie au sein du Bloc de Recherche) à L'Université Abderrahmane-Mira de Bejaia et au Laboratoire de Génétique du Développement de la Faculté des Sciences Biologiques, à L'USTHB-Alger.

L'incubation des œufs de la caille japonaise, la mise en culture, les étalements chromosomiques ont été réalisés par Mme Benmessaoud au niveau du Laboratoire de Génétique du Développement à l'USTHB (voir les détails en Annexe I et II).

À l'Université de Bejaia, on a réalisé les différentes techniques de marquages chromosomiques, l'observation des lames ainsi que le traitement des métaphases prises en photos.

II-2-Techniques de marquages chromosomiques

Le marquage chromosomique consiste en la mise en évidence des chromosomes, caractérisant chaque paire chromosomique grâce à des réactions biochimiques faisant intervenir les composants des chromosomes (ADN et protéines) (Popescu, 1998).

II-2-1-Coloration conventionnelle

C'est la technique la plus classique, c'est une coloration à base du Giemsa. Cette coloration nous permet d'avoir une idée sur la morphologie des chromosomes (Eberhard, 2005).

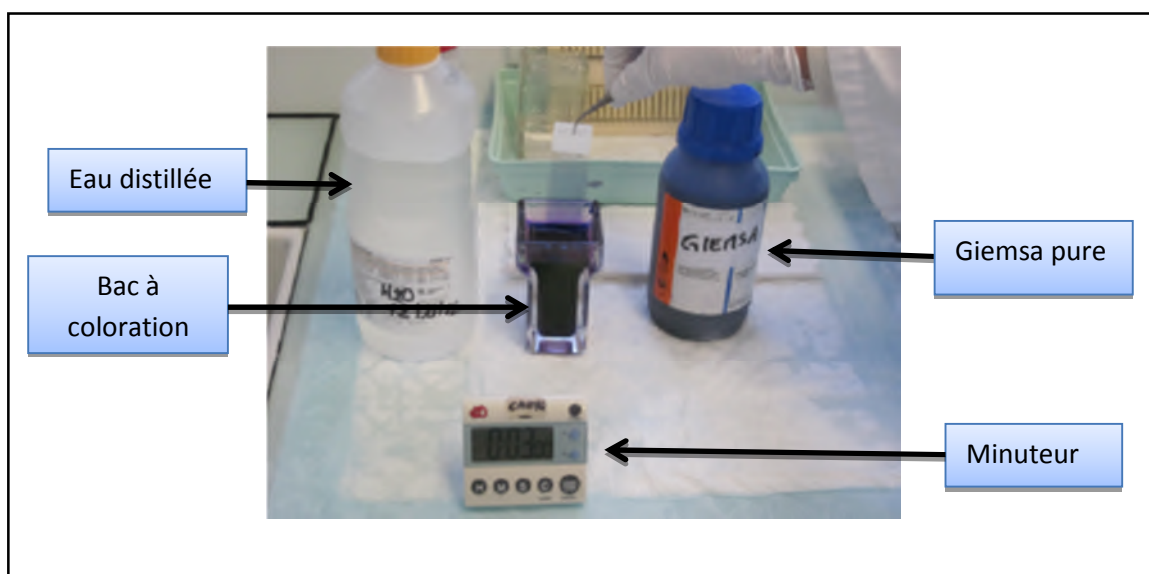


Figure N°16 : Produits utilisés en coloration conventionnelle (<http://www.ac-poitiers.fr>).

Principe

Le Giemsa est un colorant formé de six composants, principalement des thiazines, un groupement chargé positivement qui interagit avec les groupements phosphates (chargé négativement) de l'ADN. Cette réaction induit une diminution de la longueur d'onde d'absorbance du colorant qui passe du bleu pâle au bleu foncé (Popescu, 1998).

Protocole

Les lames fraîchement étalées ou décongelées sont vieillies de 3 à 10 jours à température ambiante et à l'abri de la poussière (afin de bien les sécher pour éliminer l'humidité qui diminue la qualité de l'image).

Les lames sont ensuite rincées à l'eau du robinet puis incubées dans la solution de coloration de Giemsa à 6% (Sigma). Pour un volume de 25 ml, mélanger 1.5 ml de colorant Giemsa (Sigma Aldrich) avec 0.75 ml de tampon phosphate à compléter avec 22.75 ml d'eau distillée pendant 10 à 15 min à température ambiante à l'abri de la lumière. Elles sont ensuite rincées abondamment à l'eau distillée. Les lames sont séchées à l'aire libre.

II-2-2-Technique de marquage mettant en évidence des bandes structurales (GTG) (Bandes G-Trypsine-Giemsa)

Cette technique met en évidence des bandes dites structurales ou morphologiques qui fait intervenir la structure en bases azotées. Aucun traitement préalable n'est effectué durant la culture (Eberhard, 2005).



Figure N°17 : Produits utilisés en coloration GTG (Originale, UAM- Bejaia).

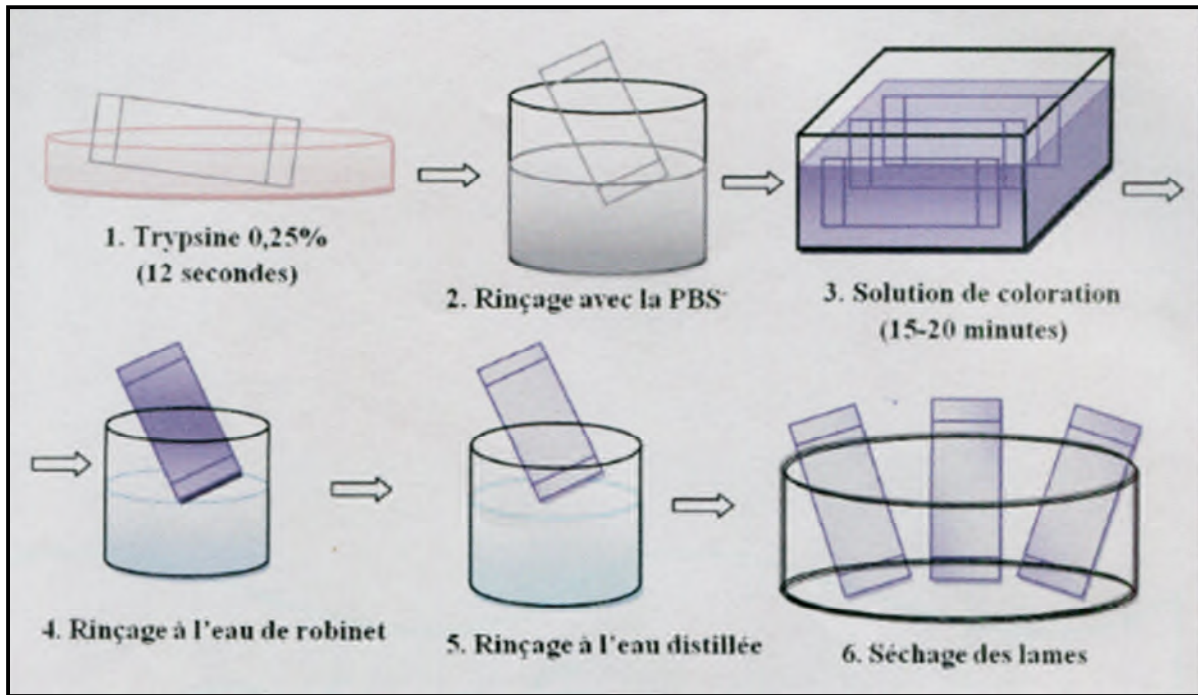


Figure N° 18 : Etapes de la technique de marquage en bandes GTG.

Principe

Le principe de la mise en évidence de ces bandes est basé sur une digestion enzymatique (protéolyse) des séquences d'ADN riches en AT, avec de la trypsine. Chaque paire de chromosomes homologues possède une distribution caractéristique de bandes claires, riches en AT, et des bandes sombres riche en GC (Harry, 2001 ; Le Caignec, 2011).

Protocole

Les lames vieilles sont plongées pendant 10 et 12 secondes dans une solution de trypsine à 0.25% (0.25g de poudre de trypsine (conservée au congélateur) dilué dans 100ml de PBS⁻) préparée extemporanément à température ambiante. Les lames sont lavées ensuite dans deux bains successifs de PBS⁻ pour inactiver l'action de la trypsine puis plongées dans du Giemsa (6%) pendant 10 à 20 min. Les lames sont rincées à l'eau du robinet puis à l'eau distillée puis séchées à l'air libre.

II-3-Observation des lames

Les lames sont observées au microscope photonique (Optika) en lumière blanche au Gx10 pour repérer les métaphases. Puis un appareil photos intégré au microscope est utilisé pour

photographier les métaphases colorées (au Gx100). Les images sont analysées et traitées avec le logiciel adobe Photoshop (Cs 7.0).

II-3.1-Principe du logiciel Photoshop

Photoshop est un logiciel de retouche, de traitement de photographie et de dessin assisté par ordinateur. Il travaille essentiellement sur des images matricielles constituées d'une grille de points appelées pixels. Ce logiciel possède son propre format de fichier (extension psd). Celui-ci permet de conserver distincts les différents calques formants l'image afin de les manipuler séparément. Le programme accepte également d'importer et d'exporter des fichiers d'images dans les formats les plus courants (extension : GIF, JPG, tif, etc...) (Evening, 2012).

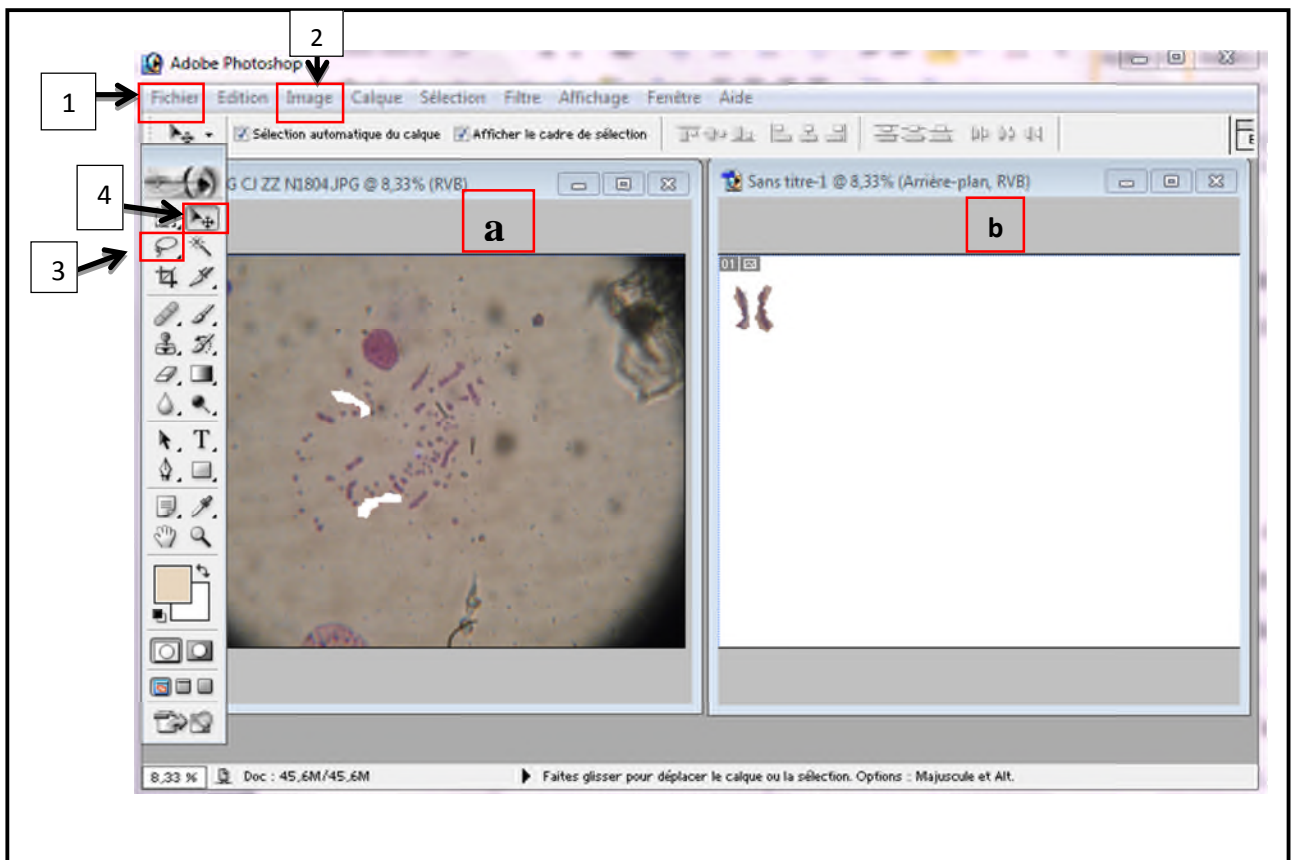


Figure N°19 : Photographie du logiciel adobe Photoshop prise en capture d'écran (Original).

1- Fichier : fenêtre de la barre des tâches constituée de plusieurs tâches.

- ✓ Ouvrir : permet d'importer une image pour la traiter (a).
- ✓ Nouveau : permet de créer une nouvelle page dans laquelle on va coller les chromosomes découpés (b).
- ✓ Enregistré : permet de sauvegarder l'image après le traitement

- 2- **Image** : fenêtre qui nous donne accès à différents paramètres (taille de l'image, luminosité/ contraste et courbe de coloration) afin de traiter l'image.
- 3- **Lasso** : outil de sélection de zone d'intérêt (le chromosome) afin de le découper.
- 4- **Déplacement(v)** : outil de déplacement et d'orientation de la zone sélectionnée.

II-4- Estimation du nombre diploïde des chromosomes métaphasiques

Le nombre des chromosomes est estimé à partir d'une soixantaine de métaphases. Les résultats obtenus sont représentés sous forme d'un histogramme (en utilisant l'Excel).

II-5- Identification morphologique des chromosomes de la caille japonaise

Les chromosomes de la caille japonaise *Coturnix japonica* ont été découpés à partir des métaphases colorées puis décrits et identifiés en comparaison avec le caryotype standard du poulet en bande GTG (Ladjali-Mohammedi *et al.*, 1999) ainsi que le caryotype de la caille japonaise (Stock et Bunch., 1982 ; Shibusawa *et al.*, 2001). Le classement des chromosomes est réalisé selon l'ordre décroissant de leurs tailles ainsi que la position de leurs centromères.

II-6-Calcul de l'indice centromérique

Après localisation des différents centromères, les bras courts et longs sont mesurés avec une règle ou à l'aide d'un fil dans le but de calculer l'indice centromérique (afin de définir la nomenclature des chromosomes) qui est égal à la longueur du bras court (p) sur la somme du bras court (p) et le bras long (q) multipliée fois 100 (Pasternak, 2003). Les calculs ont été réalisés à partir de 27 métaphases et les résultats obtenus sont représentés sous forme d'un tableau (Tableau N° III).

IC : l'Indice centromérique ($IC = p/p+q \cdot 100$) ; p : Bras court, q : Bras long (Denver, 1960).

La moyenne arithmétique : $\bar{X} = 1/n \sum_i^n x_i$ (Alain, 1997).

L'écart-type est une mesure de la dispersion des valeurs autour de leur moyenne arithmétique :

$$S = \sqrt{1/n \sum_i^n (x_i - \bar{x})^2} \text{ (Alain, 1997).}$$



Résultats et Discussions

III-1-Marquages chromosomiques et observation des métaphases

L'observation au microscope des étalements chromosomiques, nous a permis de repérer quelques métaphases et de les prendre en photos au (Gx100).

III-1.1- Coloration conventionnelle

La coloration conventionnelle nous permet d'identifier la morphologie générale des chromosomes ainsi que de compter leur nombre diploïde. Les métaphases obtenues par cette étude contient 5 paires de macrochromosomes et 33 paires de microchromosomes en plus des chromosome sexuel (Z et W), ce qui est en accord avec les résultats de la littérature (Sasaki, 1981 ; Rhytman *et al.*, 1981, Stock et Bunch, 1982 ; Schmid *et al.*, 1989 ; Shibusawa *et al.*, 2001) (Figure N°20).

III-1.2- Coloration en bandes GTG

La coloration en bandes GTG nous donne une alternance de bandes claires et sombres qui permet d'identifier les chromosomes, de les classer et les comparer aux résultats des études ultérieures soit de la même espèce ou à d'autres espèces apparentées afin de retracer l'évolution des génomes (Figure N°21).

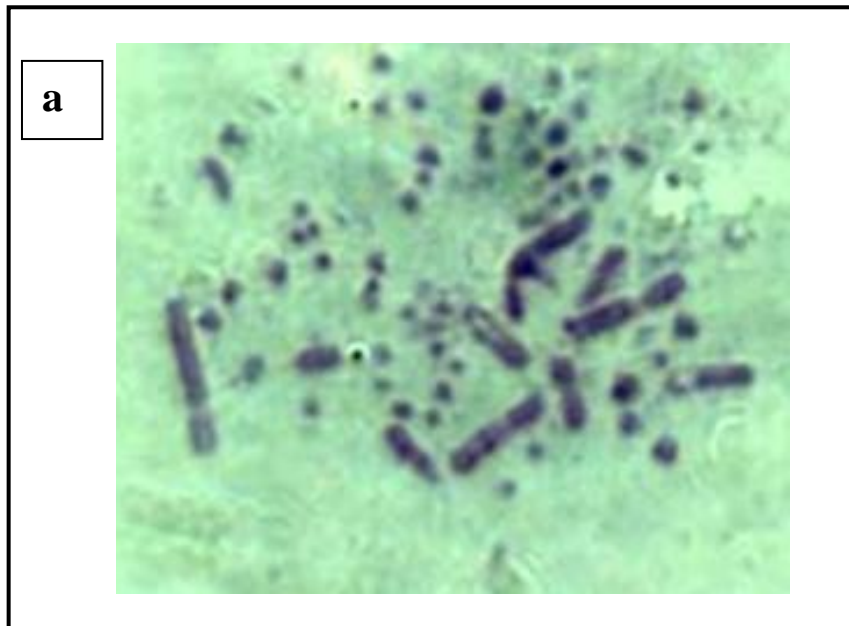


Figure N°20 : (a) Métaphase de la caille japonaise *Coturnix japonica* observée au (Gx100) en coloration conventionnelle et (b) caryotype correspondant proposé (USTHB et UAM-Bejaia).

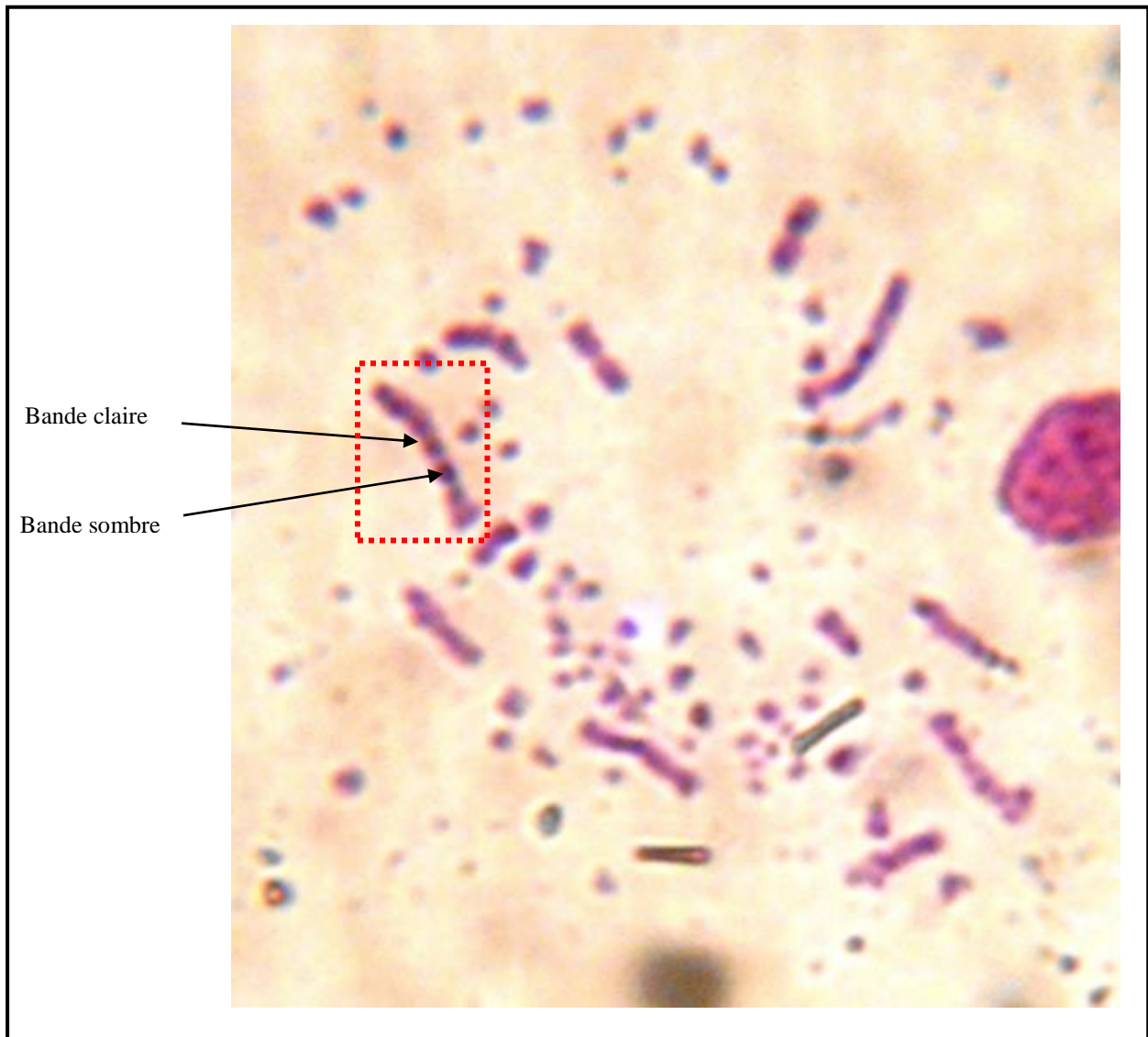


Figure N°21 : Métaphase en bandes GTG de la caille japonaise *Coturnix japonica* observée au (Gx100) (USTHB et UAM-Bejaia).

III-2-Estimation du nombre diploïde des chromosomes métaphasiques

Le nombre de chromosomes a été estimé à partir de soixante (60) métaphases. Les résultats sont représentés sous forme d'un histogramme (FigureN°20 et 22) (Tableau I).

➤ **Tableau I** : Nombre de métaphases en fonction du nombre de chromosomes

Nombres de chromosomes	74	75	76	77	78
Nombres de métaphases	6	8	9	12	25

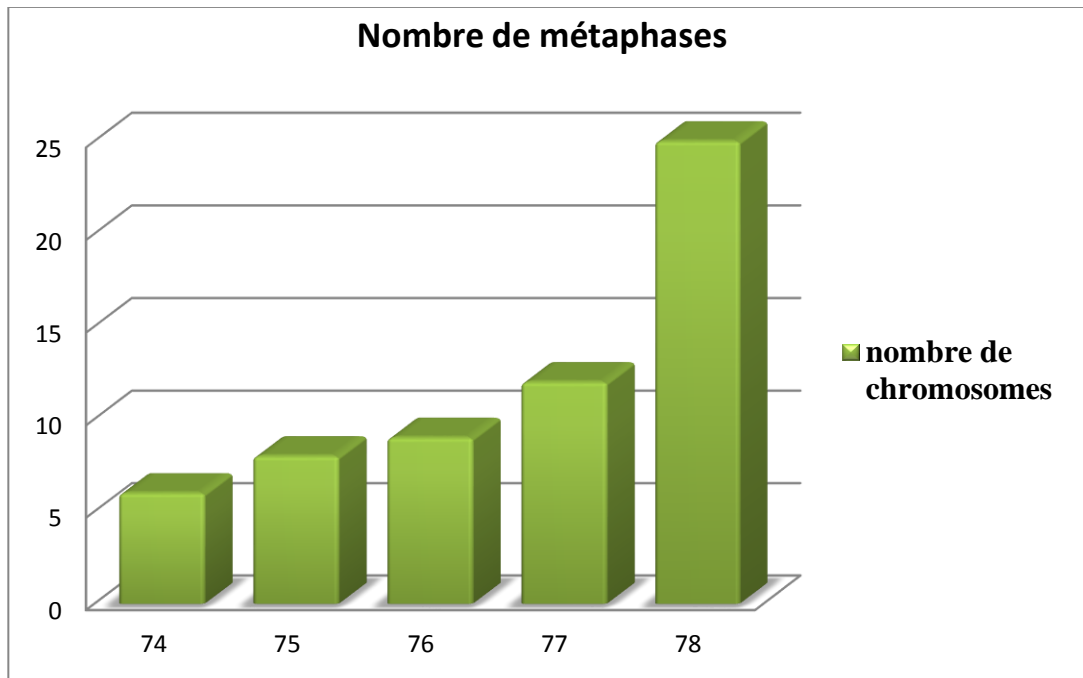


Figure N°22 : Histogramme représentant le nombre de métaphases en fonction du nombre de chromosomes.

La plupart des métaphases ont un nombre diploïde qui est égale à 78 chromosomes ($2n=78$) dont 5 paires de macrochromosomes et 33 paires de microchromosomes en plus du chromosomes sexuels (ZZ – ZW), ce qui concorde avec les résultats de la littérature (Talluri et Venil, (1965) ; Turpin et Hartung, (1974) ; Sasaki, 1981 ; Rhyttman *et al.*, 1981, Stock et Bunch, 1982 ; Schmid *et al.*, 1989 ; Shibusawa *et al.*, 2001).

III-3-Identification morphologique des chromosomes

Les chromosomes sont ensuite découpés à l'aide du logiciel Photoshop (7.0), puis classés en fonction de différents critères (la taille décroissante des chromosomes, la position du centromère et l'alternance des bandes morphologiques GTG). Les cinq premiers macrochromosomes ainsi que les chromosomes sexuels ZZ sont décrits en bandes morphologiques et illustrés sur la Figure N° 23.

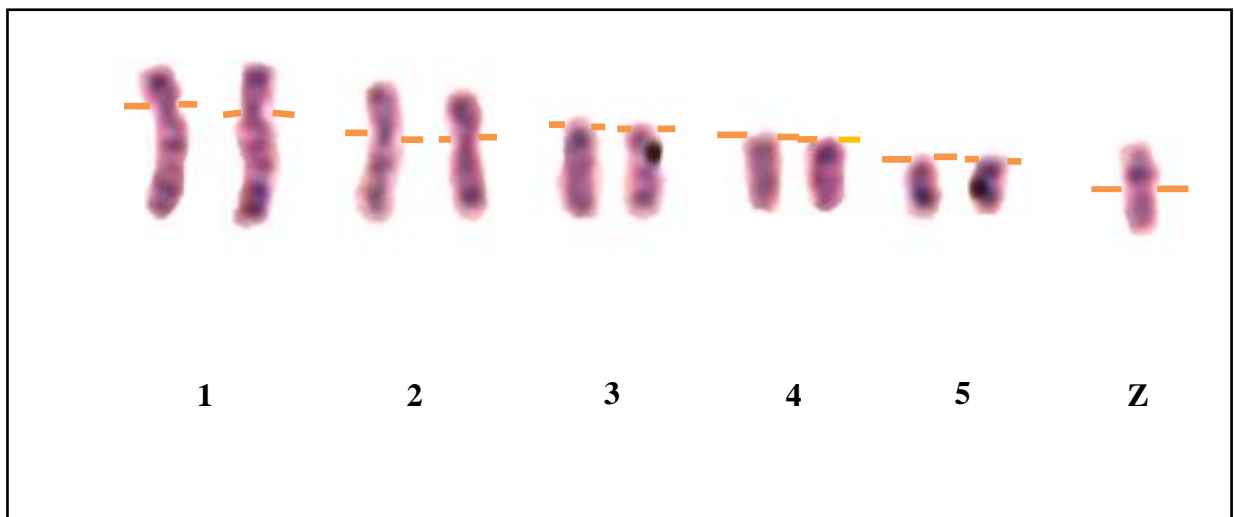


Figure N°23 : (a) Métaphase en bandes GTG de la caille japonaise *Coturnix japonica*, (b) Caryotype partiel correspondant (USTHB et UAM-Bejaia).

III-4-Calcul de l'indice centromérique

Le chromosome est constitué de deux chromatides sœurs réunies par un centromère dont la position définit les bras courts (p) et les bras longs (q). L'indice centromérique permet de distinguer les chromosomes métacentriques, submétacentriques et acrocentriques. Les chromosomes sont classés en fonction de leur taille décroissante et leurs indices centromériques. Les techniques de marquage en bandes aident à identifier chaque paire chromosomique par le motif des bandes claires et sombres.

Tableau II : Longueurs des bras courts et longs des Cinq premiers chromosomes et le chromosome sexuel Z ainsi que les valeurs des indices centromériques calculés à partir de 27 métaphases.

	Chr 1	Chr 2	Chr 3	Chr 4	Chr 5	Chr Z
01	P= 0.5 q= 1.6 IC=22.72%	P=0.4 q=0.7 IC=35.29%	P=0 q=1.3 IC=0%	P=0 q=0.7 IC=0%	P=0 q=0.6 IC=0%	P=0.5 q=0.5 IC=50%
	SM	SM	AC	AC	AC	M
02	P=0.5 q=1.5 IC=23.8%	P=0.5 q=1 IC=33.33%	P=0 q=1.8 IC=0%	P=0.1 q=1 IC=9%	P=0 q=0.7 IC=0%	P=1 q=1.1 IC=47%
	SM	SM	AC	AC	AC	M
03	P=0.5 q=1.7 IC=26.03%	P=0.5 q=0.9 IC=35.71%	P=0 q=1 IC=0%	P=0 q=0.8 IC=0%	P=0 q=0.6 IC=0%	P=0.9 q=0.9 IC=50%
	SM	SM	AC	AC	AC	M
04	P=0.7 q=2 IC=25.92%	P=0.5 q=1.1 IC=31.25%	P=0 q=1.2 IC=0%	P=0 q=0.9 IC=0%	P=0 q=0.7 IC=0%	P=0.5 q=0.5 IC=50%
	SM	SM	AC	AC	AC	M
05	P=0.6 q=2 IC=23.07%	P=0.5 q=0.9 IC=35.71%	P=0 q=1.5 IC=0%	P=0.1 q=1 IC=9%	P=0 q=0.8 IC=0%	P=1 q=1 IC=50%
	SM	SM	AC	AC	AC	M
06	P=0.5 q=1.7 IC=26.08%	P=0.5 q=1 IC=33.33%	P=0 q=0.7 IC=0%	P=0 q=0.6 IC=0%	P=0 q=0.5 IC=0%	P=0.6 q=0.6 IC=50%
	SM	SM	AC	AC	AC	M
07	P=0.6 q=1.7 IC=26.08%	P=0.5 q=1 IC=33.33%	P=0 q=1.1 IC=0%	P=0 q=0.9 IC=0%	P=0 q=0.7 IC=0%	P=0.6 q=0.6 IC=50%
	SM	SM	AC	AC	AC	M

08	P=0.6 q=1.8 IC=25%	P=0.5 q=0.9 IC=35.71%	P=0 q=1.1 IC=0%	P=0.1 q=1 IC=9%	P=0 q=0.6 IC=0%	P=0.3 q=0.3 IC=50%
	SM	SM	AC	AC	AC	M
09	P=0.7 q=2.1 IC=25%	P=0.8 q=1.3 IC=34.78%	P=0 q=1.5 IC=0%	P=0 q=1.1 IC=0%	P=0 q=0.8 IC=0%	P=0.6 q=0.7 IC=46.15%
	SM	SM	SM	AC	AC	M
10	P=0.6 q=2 IC=23.07%	P=0.6 q=1.2 IC=33.4%	P=0 q=1.5 IC=0%	P=0.1 q=1.2 IC=7.6%	P=0 q=0.9 IC=0%	P=1 q=1 IC=50%
	SM	SM	SM	AC	AC	M
12	P=1 q=3 IC=25%	P=0.7 q=1.4 IC=33.33%	P=0 q=2 IC=0%	P=0.1 q=1.5 IC=6.25%	P=0 q=1.2 IC=0%	P=0.8 q=0.8 IC=50%
	SM	SM	SM	AC	AC	M
13	P=0.5 q=1.6 IC=23.8%	P=0.6 q=1.3 IC=31.57%	P=0 q=1.3 IC=0%	P=0 q=1 IC=0%	P=0 q=0.6 IC=0%	P=0.5 q=0.5 IC=50%
	SM	SM	SM	AC	AC	M
14	P=0.4 q=1.5 IC=21.2%	P=0.5 q=1 IC=33.4%	P=0 q=1.1 IC=0%	P=0 q=0.9 IC=0%	P=0 q=0.7 IC=0%	P=0.5 q=0.5 IC=50%
	SM	SM	SM	AC	AC	M
15	P=0.6 q=1.8 IC=25%	P=0.5 q=1.1 IC=31.25%	P=0 q=1 IC=0%	P=0 q=0.9 IC=0%	P=0 q=0.8 IC=0%	P=0.5 q=0.5 IC=50%
	SM	SM	SM	AC	AC	M
16	P=0.5 q=1.5 IC=25%	P=0.5 q=1 IC=33.3%	P=0 q=1 IC=0%	P=0 q=0.8 IC=0%	P=0 q=0.5 IC=0%	P=0.5 q=0.5 IC=50%
	SM	SM	SM	AC	AC	M
17	P=0.5 q=1.3 IC=27.77%	P=0.4 q=0.8 IC=33.3%	P=0 q=0.8 IC=0%	P=0 q=0.7 IC=0%	P=0 q=0.5 IC=0%	P=0.5 q=0.5 IC=50%
	SM	SM	AC	AC	AC	M
18	P=0.5 q=1.4 IC=26.31%	P=0.4 q=0.7 IC=36.3%	P=0 q=0.9 IC=0%	P=0 q=0.7 IC=0%	P=0 q=0.4 IC=0%	P=0.5 q=0.5 IC=50%
	SM	SM	AC	AC	AC	M
19	P=0.4 q=1.5 IC=26.33%	P=0.4 q=0.9 IC=30.77%	P=0 q=1 IC=0%	P=0 q=0.8 IC=0%	P=0 q=0.5 IC=0%	P=0.6 q=0.6 IC=50%
	SM	SM	AC	AC	AC	M
20	P=0.6 q=1.7 IC=26.08%	P=0.5 q=1 IC=33.3%	P=0 q=1 IC=0%	P=0 q=0.8 IC=0%	P=0 q=0.5 IC=0%	P=0.6 q=0.6 IC=50%
	SM	SM	AC	AC	AC	M
21	P=0.5 q=1.4 IC=26.31%	P=0.4 q=0.8 IC=33.3	P=0 q=1.1 IC=0%	P=0 q=0.8 IC=0%	P=0 q=0.6 IC=0%	P=0.5 q=0.5 IC=50%
	SM	SM	AC	AC	AC	M

22	P=0.5 q=1.8 IC=21.73	P=0.7 q=1.4 IC=33.4	P=0 q=1.1 IC=0%	P=0 q=0.9 IC=0%	P=0 q=0.8 IC=0%	P=0.3 q=0.4 IC=42.8%
	SM	SM	AC	AC	AC	M
23	P=0.5 q=1.4 IC=26.31	P=0.5 q=1 IC=33.33	P=0 q=1.2 IC=0%	P=0 q=0.9 IC=0%	P=0 q=0.5 IC=0%	P=0.6 q=0.6 IC=50%
	SM	SM	AC	AC	AC	M
24	P=0.5 q=1.4 IC=26.31%	P=0.4 q=0.8 IC=33%	P=0 q=1 IC=0%	P=0 q=0.6 IC=0%	P=0 q=0.6 IC=0%	P=0.7 q=0.6 IC=53.8%
	SM	SM	AC	AC	AC	M
25	P=0.5 q=1.5 IC=25%	P=0.5 q=0.9 IC=35.71%	P=0 q=1.2 IC=0%	P=0 q=0.5 IC=0%	P=0 q=0.7 IC=0%	P=0.6 q=0.6 IC=50%
	SM	SM	AC	AC	AC	M
26	P=0.7 q=1.9 IC=26.92%	P=0.4 q=0.8 IC=33.4%	P=0 q=1.2 IC=0%	P=0 q=0.9 IC=0%	P=0 q=0.6 IC=0%	P=0.5 q=0.6 IC=45.45%
	SM	SM	AC	AC	AC	M
27	p=0.6 q=1.8 IC=25%	P=0.6 q=1.1 IC=35.29%	P=0 q=0.9 IC=0%	P=0 q=0.7 IC=0%	P=0 q=0.5 IC=0%	P=0.6 q=0.6 IC=50%
	SM	SM	AC	AC	AC	M

p : Bras court, **q** : Bras long, **IC** : Indice centromérique ($IC=p/p+q*100$).

SM : submétacentrique, M : méatcentrique, AC : acrocentrique.

NB.

IC<2.5 : Acrocentrique ; **2.5< IC<37.5** : Submétacentrique. ; **37.5<IC<47.5**: Télolocentrique ;

47.5< IC<50 : Métacentrique (Albert *et al.*, 1964).

Tableau III : Moyennes et écart-types des indices centromériques des chromosomes 1, 2, 4 et Z.

	Chr 1	Chr 2	Chr4	Chr Z
Intervalle d'IC	21.2<IC<26.92	30.77<IC<35.61	0<IC<9	45.45<IC<50
La moyenne \bar{X}	26.72%	32.43%	1.51%	49.45%
L'écart-type S	0.41	0.36	0.61	0.37

La moyenne de l'indice centromérique du chromosome 1 de la caille japonaise est égale à 26.72%. Elle est incluse dans l'intervalle ($2.5 < IC < 37.5$) donc le chromosome 1 est submétacentrique ce qui concorde avec les résultats de la littérature (Talluri et Venil, 1965 ; Turpin et Hartung, 1974 ; Sazaki, 1981 ; Stock et Bunch, 1982 ; Shibusawa *et al.*, 2001).

La moyenne de l'indice centromérique du chromosome 1 du poulet domestiqué est estimé à 39.78 % (Ansiari *et al.*, 1986). Elle est plus importante que celle du chromosome 1 de la caille japonaise.

La moyenne de l'indice centromérique du chromosome 2 de la caille est égale à 32.43%, qui est incluse dans l'intervalle ($2.5 < IC < 37.5$) donc il est submétacentrique ce qui est vérifié par les résultats de la littérature (Talluri et Venil, 1965 ; Turpin et Hartung, 1974 ; Sazaki, 1981 ; Stock et Bunch, 1982 ; Shibusawa *et al.*, 2001).

La moyenne de l'indice centromérique du chromosome 2 du poulet domestique est estimé 36.14 % (Ansiari *et al.*, 1986). Elle est proche de celle du chromosome 2 de la caille japonaise.

La moyenne de l'indice centromérique du chromosome 4 de la caille est incluse dans l'intervalle ($2.5 < IC < 12.5$), ($IC = 1.51\%$) donc il est acrocentrique ce qui est vérifié par les résultats de la littérature (Shibusawa *et al.*, 2001).

La moyenne de l'indice centromérique du chromosome 4 du poulet domestique est estimé 23.9 % (Ansiari *et al.*, 1986). Elle est différente de celle du chromosome 4 de la caille japonaise.

La moyenne de l'indice centromérique du chromosome Z est incluse dans l'intervalle ($47.5 < IC < 50$), ($IC = 49.45\%$) donc le chromosome Z est métacentrique ce qui concorde avec les résultats de la littérature (Talluri et Venil, 1965 ; Turpin et Hartung, 1974 ; Sazaki, 1981 ; Stock et Bunch, 1982 ; Shibusawa *et al.*, 2001).

La moyenne de l'indice centromérique du chromosome Z du poulet domestique est estimé à 47.56 % (Ansiari *et al.*, 1986). Elle est proche de celle du chromosome Z de la caille japonaise.

III-5-Description morphologique des chromosomes de la caille japonaise *Coturnix japonica* et cartographie comparée avec le poulet *Gallus domesticus*.








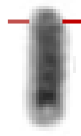










La morphologie des cinq premiers macrochromosomes et les chromosomes sexuels ZZ de la caille japonaise en bandes GTG obtenus par la présente étude a été comparée avec ceux de la littérature (Shibusawa *et al.*, 2001) et avec les macrochromosomes du poulet *Gallus domesticus* selon le standard (Tableau IV) (Ladjali-Mohammadi *et al.*, 1999).

Les chromosomes de la caille japonaise obtenus dans le présent travail ressemblent à ceux de la littérature (Stock et Bunch, 1982 ; Shibusawa *et al.*, 2001). Alors que les chromosomes de la caille japonaise (Originaux) présentent des similitudes morphologiques avec ceux du poulet domestique sur la plupart des chromosomes (2, 3, 5 et le chromosome sexuel Z) mais aussi quelques différences sur les chromosomes 1 et 4 (Rhyttman *et al.*, 1981 ; Kayang *et al.*, 2006 ; Ladjali-Mohammedi *et al.*, 1999).

Selon cette étude les chromosomes 1 et 2 de la caille japonaise sont submétacentriques, les chromosomes 3,4 et 5 sont acrocentriques, le chromosome sexuel Z est métacentrique, ce qui concorde avec les chromosomes de *Coturnix japonica* proposés par Shibusawa (2001).

Les études phylogéniques interspécifiques comparatives réalisées sur les deux espèces (*Coturnix japonica* et *Gallus domesticus*) ont suggéré que la morphologie de leurs chromosomes est hautement conservée mise à part quelques réarrangements chromosomiques qui auraient pu se produire au cours de l'évolution (Shibusawa *et al.*, 2001 ; Fillon *et al.*, 2001 ; Kayang *et al.*, 2006).

➤ **Tableau IV** : Description morphologique comparative des chromosomes en bandes GTG de la caille japonaise *Coturnix japonica* obtenus à l'université A-Mira avec ceux de Shibusawa *et al.* (2001) et du poulet domestique *Gallus domesticus* de Ladjali-Mohammedi *et al.*(1999).

	Caille japonaise (Originale)	Caille japonaise (Shibusawa <i>et al.</i> 2001)	Poulet domestique (Ladjali-Mohammedi <i>et al.</i> 1999).
Chromosomes 1			
	Submétacentrique	Submétacentrique	Submétacentrique
Chromosomes 2			
	Submétacentrique	Submétacentrique	Submétacentrique
Chromosomes 3			
	Acrocentrique	Acrocentrique	Acrocentrique
Chromosomes 4			
	Acrocentrique	Acrocentrique	Télocentrique
Chromosomes 5			
	Acrocentrique	Acrocentrique	Acrocentrique
Chromosomes Z			
	Métacentrique	Métacentrique	Métacentrique

Le chromosome 1 :

Le chromosome 1 de la caille japonaise obtenu par cette étude est semblable au chromosome 1 proposé par Shibusawa (2001) (Figure N°24).

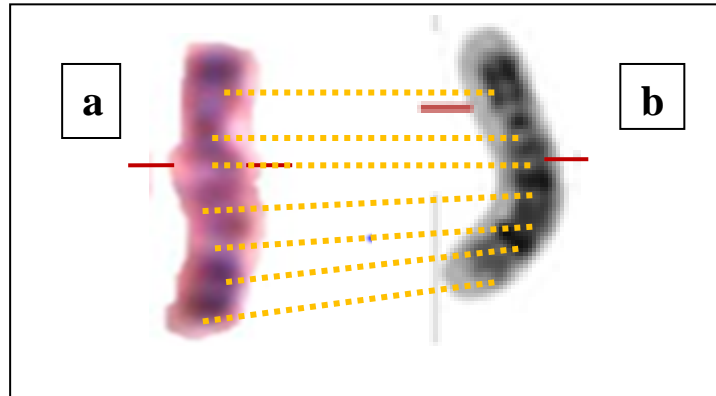


Figure N° 24 : Comparaison des motifs de bandes GTG des chromosomes 1(a) de la caille japonaise originale et (b) celui de la littérature (Shibusawa *et al.*, 2001).

Le chromosome 1 de la caille japonaise et celui du poulet domestique sont tous les deux des submétacentriques (Sazaki, 1981 ; Stock et Bunch, 1982 ; Shibusawa *et al.*, 2001 ; Ladjali-Mohammedi *et al.*, 1999). Néanmoins, il y a une différence au niveau de la longueur du bras court qui est plus important chez le poulet domestique (Figure N°25).

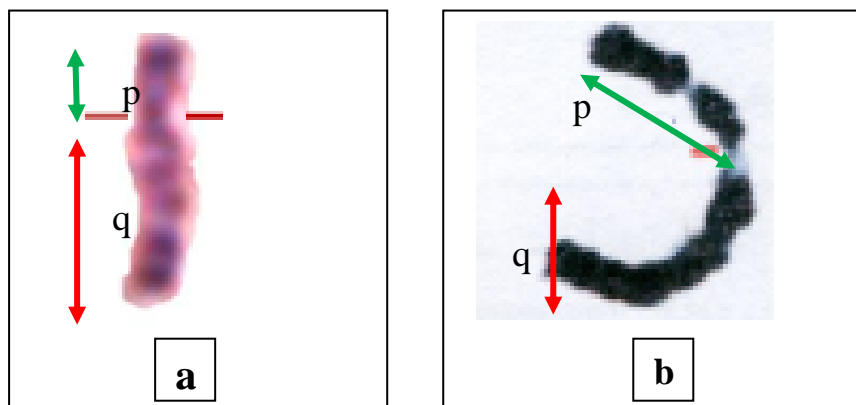


Figure N° 25 : Comparaison entre le chromosome 1(a) de la caille japonaise originale et (b) celui du poulet domestique montrant la différence des longueurs des bras p et q (Ladjali-Mohammedi *et al.*, 1999).

D'après les résultats menés par cette étude nous constatons qu'il est probable qu'un remaniement chromosomique a pu se produire sur le chromosome 1 de la caille japonaise

durant l'évolution. Cela peut être expliqué par une délétion d'un fragment du bras court (Figure N°26).

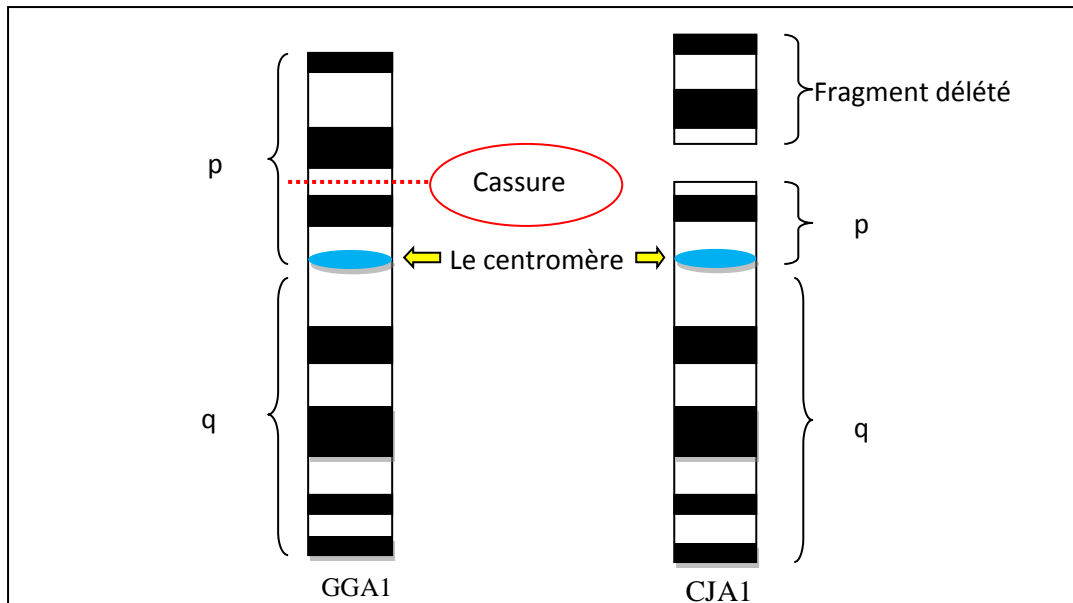


Figure N° 26 : Délétion d'un fragment du bras court sur le chromosome 1 de la caille japonaise.

Cette différence entre les deux chromosomes 1 de la caille japonaise et du poulet peut être expliquée aussi par un autre réarrangement chromosomique. Il peut s'agir d'une inversion péricentrique (Figure N°27).

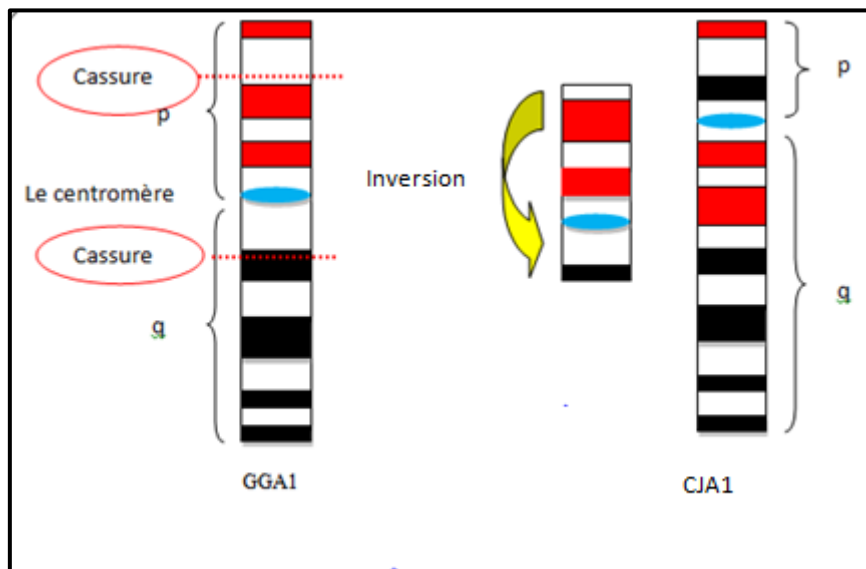
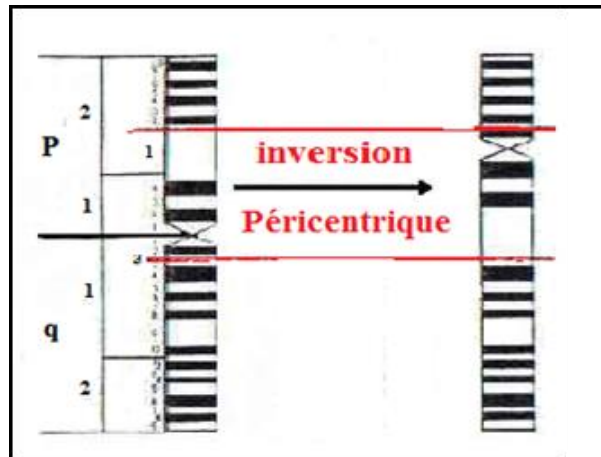


Figure N°27 : Inversion péricentrique sur le chromosome 1 de la caille japonaise.

Les études ultérieures de la cytogénétique classique ont expliqué ce remaniement par une inversion péricentrique (Carlinus, 1981 ; Rytman *et al.*, 1981 ; Stock et Bunch, 1982) (FigureN°28).



FigureN°28: Comparaison des idiogrammes en bandes GTG des chromosomes 1 de la poule domestique (à gauche) et de la caille japonaise *Coturnix japonica* (à droite) montrant une inversion péricentrique (inv: p21q13) produite chez la caille japonaise (Modifiée d'après Carlenius *et al.*, 1981).

Des techniques de biologie moléculaire plus récentes (Kayang *et al.*, 2006) ont permis de mieux illustrer le réarrangement chromosomique de la caille japonaise. L'hybridation *In situ* par fluorescence (FISH) des clones BAC (Bacterial Artificial Chromosome) spécifiques au poulet sur le chromosome 1 méiotique (en écouvillon) de la caille japonaise a permis d'expliquer qu'il s'agit d'un néocentromère et non pas d'une inversion péricentrique (Zlotina *et al.*, 2012).

NB : Les chromosomes en écouvillons sont issus de la méiose. Ils sont très allongés et permettent une bonne observation du positionnement exact des clones BAC (ce qui les rend plus fiables que les chromosomes mitotiques) (Eduardo *et al.*, 1983 ; Popescu, 1998).

De ce fait, les signaux de la FISH ont montré exactement le même ordre des marqueurs moléculaires sur le chromosome 1 du poulet (GGA1) et de la caille japonaise (CCO1) respectivement. Néanmoins, les positions relatives des centromères sont différentes dans les deux espèces (FigureN°29). Chez le poulet, cinq clones BAC s'hybrident sur le bras court et deux BAC s'hybrident sur le bras long, de sorte que le centromère sur GGA1 est flanqué par WAG67J15 et WAG53E23. Chez la caille japonaise, les sept BAC s'hybrident sur le bras long seulement. Le centromère se trouve à côté de WAG31B10. Les régions des centromères sur GGA1 et CCO1 sont entourées de matériaux génétiques différents. Ces résultats suggèrent

que le repositionnement du centromère n'a pas été induit par une inversion péricentrique, comme précédemment mais par la formation d'un néocentromère (Figure N°29) (Zlotina *et al.*, 2012).

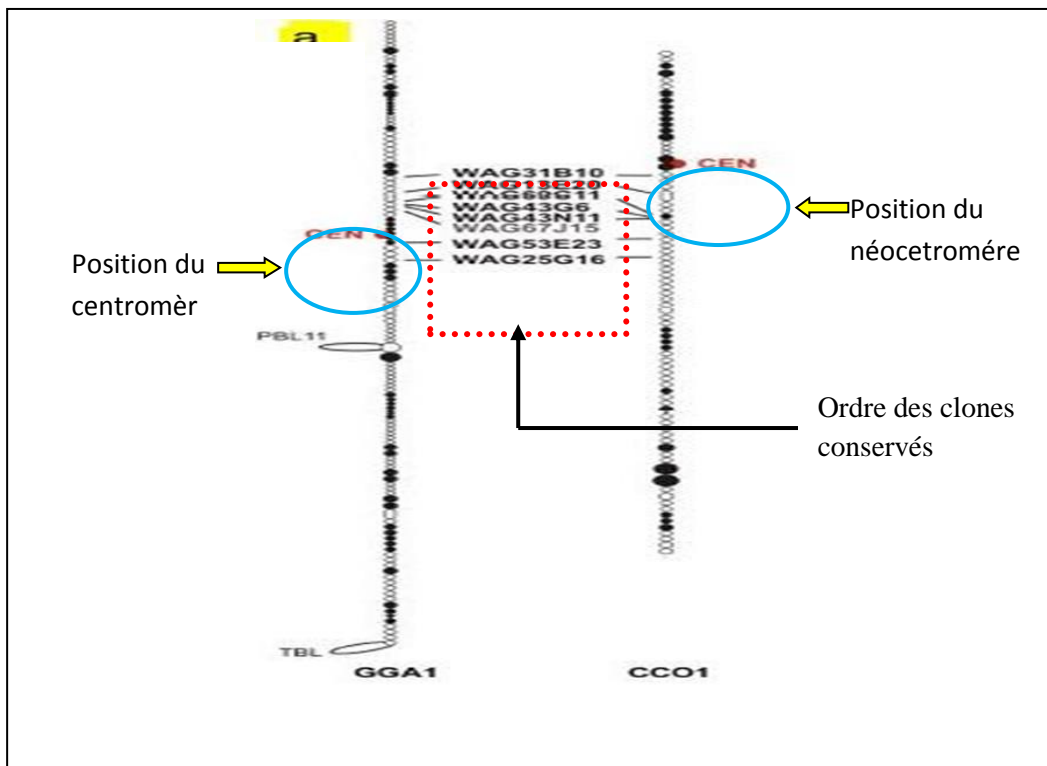


Figure N°29 : Chromosome 1 méiotique du poulet domestique (GGA1) et de la caille japonaise (CCO1) montrant les positions de leurs centromères respectifs (Zlotina *et al.*, 2012).

Le chromosome 2 :

Le chromosome 2 de la caille japonaise (original) est similaire au chromosome 2 de la caille japonaise de la littérature (FigureN°30) (Shibusawa *et al.*, 2001).

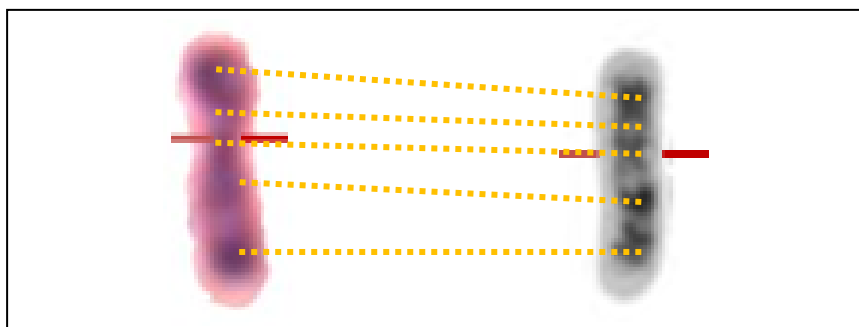


Figure N° 30 : Correspondances de bandes morphologiques GTG des chromosomes 2 (a) de la caille japonaise originale et (b) celui de Shibusawa *et al* (2001)

Le chromosome 2 de la caille japonaise (original) et du poulet domestique sont morphologiquement similaires (submétacentriques) (Figure N°31).



Figure N° 31: Comparaison morphologique du chromosome 2 (a) de la caille japonaise originale et (b) celui du poulet domestique (Ladjali-Mohammedi *et al.*, 1999).

Les études ultérieures de la cytogénétique moléculaire sur les chromosomes mitotiques démontrent la présence d'une inversion péricentrique. En effet, la FISH a révélé l'inversion péricentrique du clone BAC (107K17) sur les deux chromosomes, du poulet domestique (GGA2) et celui de la caille japonaise (CJA2) (Figure N°32) (Kayang *et al.*, 2006).

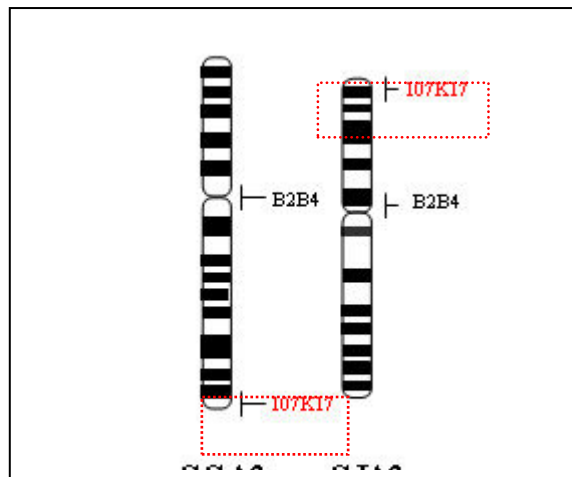


Figure N°32: Inversion péricentrique du clone BAC 107K17 sur le chromosomes 2 de la caille japonaise et du poulet domestique (Kayang *et al.*, 2006).

Cependant, des techniques plus récentes ont prouvé l'existence d'une inversion à grande échelle qui distingue le chromosome 2 de la caille japonaise et celui du poulet. En effet, la cartographie comparée à haute résolution sur les chromosomes en écouvillon confirme une véritable inversion péricentrique (Figure N°33).

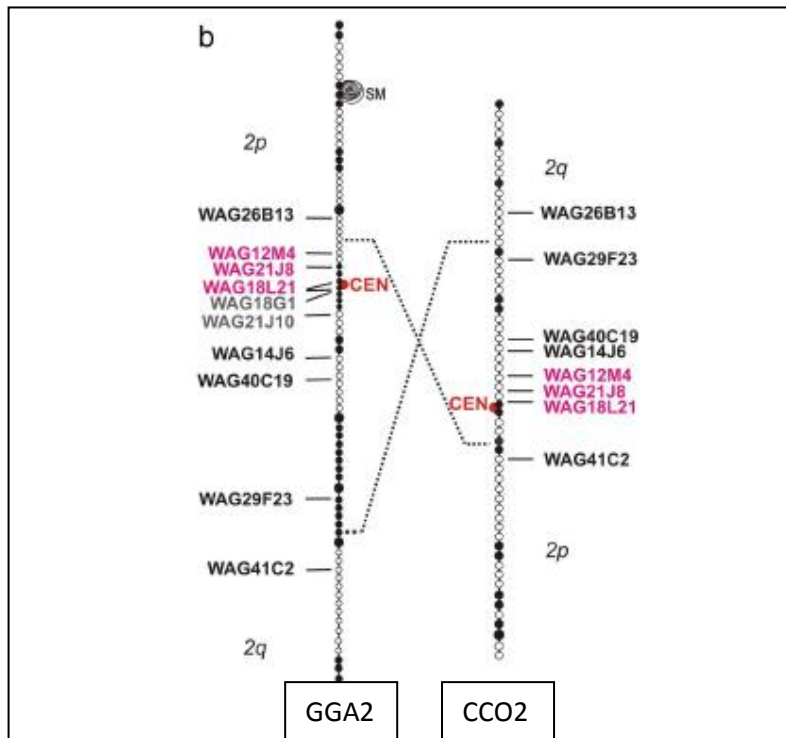


Figure N°33 : Chromosomes 2 meiotiques du poulet domestique (GGA2) et de la caille japonaise (CCO2) montrant la double inversion péracentrique (Zlotina *et al.*, 2012).

Les chromosomes 3 et 5 :

Les chromosomes 3 et 5 de la caille japonaise originaux sont morphologiquement similaires aux chromosomes 3 et 5 de la caille japonaise de la littérature qui sont (Acrocentriques) (Figure N°34 et 35) (Shibusawa *et al.*, 2001).

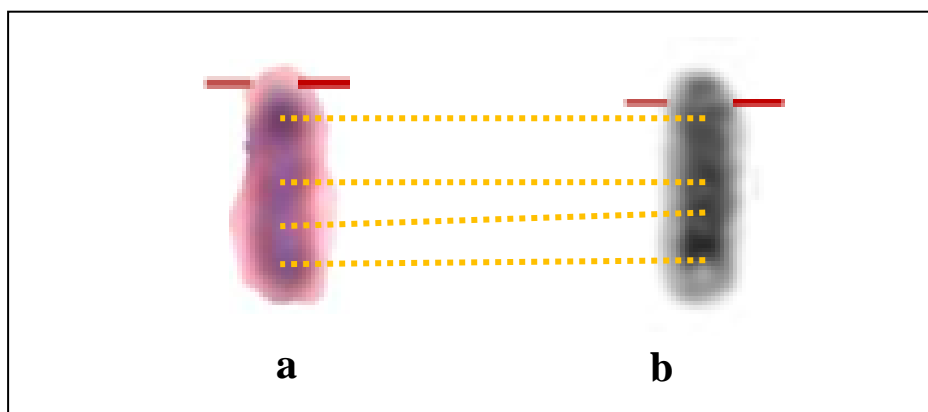


Figure N° 34 : Chromosome 3 de la caille japonaise (original) (a) et celui de la caille de la littérature (b) (Shibusawa *et al.*, 2001).

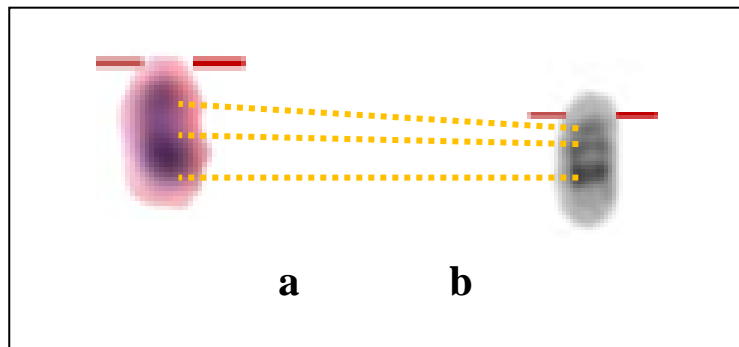


Figure N° 35 : Chromosome 5 (a) de la caille japonaise (original) et (b) celui de la caille japonaise de la littérature (Shibusawa *et al.*, 2001).

Les chromosomes 3 et 5 de la caille japonaise et du poulet domestique présentent des similitudes morphologiques observées après comparaison des motifs des bandes GTG (Ladjali-Mohammedi *et al.*, 1999 ; Shibusawa *et al.*, 2001). Ce qui montre que les deux espèces ne présentent aucun réarrangement intra-chromosomique produit au cours de l'évolution. Ce qui a été prouvé à l'échelle moléculaire par la FISH en utilisant des clones BAC sur les chromosomes mitotiques (FigureN°36) (Kayang *et al.*, 2006).

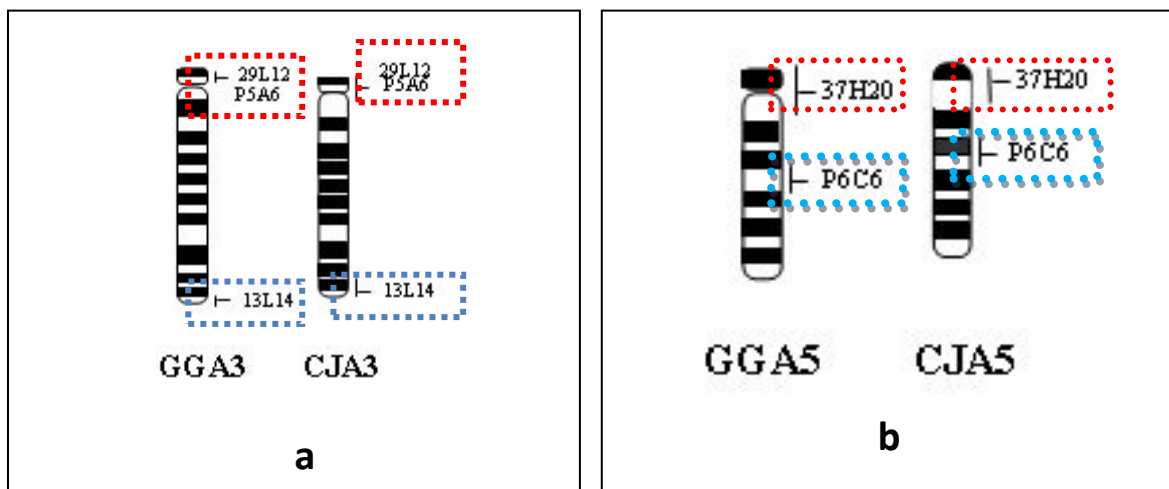


Figure N° 36 : Homologies morphologiques des chromosomes mitotiques 3 (a) et 5 (b) des deux espèces (Kayang *et al.*, 2006).

La cartographie à haute résolution en utilisant les clones BAC sur les chromosomes méiotiques a prouvé cette conservation sur le chromosomes 3 (Figure N°37) (Zlotina *et al.*, 2012).

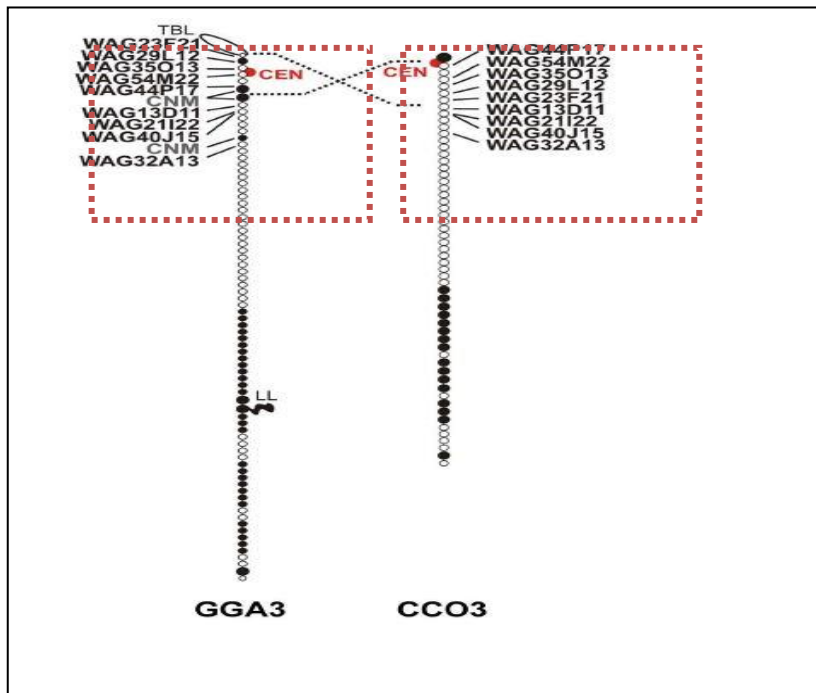


Figure N° 37 : Ordre des clones BAC et position du centromère conservé sur le chromosome 3 en écouvillon des deux espèces (Zlotina, 2012).

Le chromosome 4 :

Le chromosome 4 de la caille japonaise (original) et celui de la littérature (Shibusawa *et al.*, 2001) sont morphologiquement similaires (Acrocentrique) (Figure N°38).

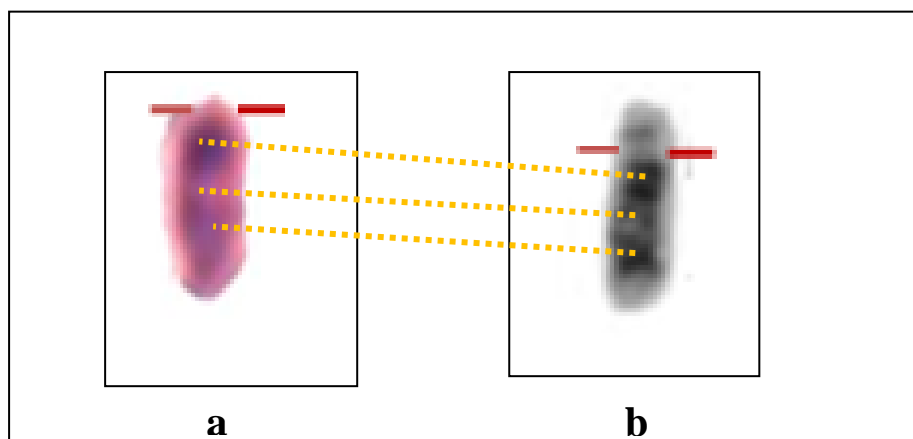


Figure N° 38 : Correspondances de bandes morphologiques GTG des chromosomes 4 (a) de la caille japonaise (original) et (b) celui de Shibusawa *et al.* (2001).

Le chromosome 4 de la caille japonaise (original) présente une différence morphologique par rapport au chromosome 4 du poulet domestique. Le chromosome 4 de la caille est

acrocentrique, alors que celui du poulet domestique est télocentrique (Figure N°39) (Ladjali-Mohammedi *et al.*, 1999).

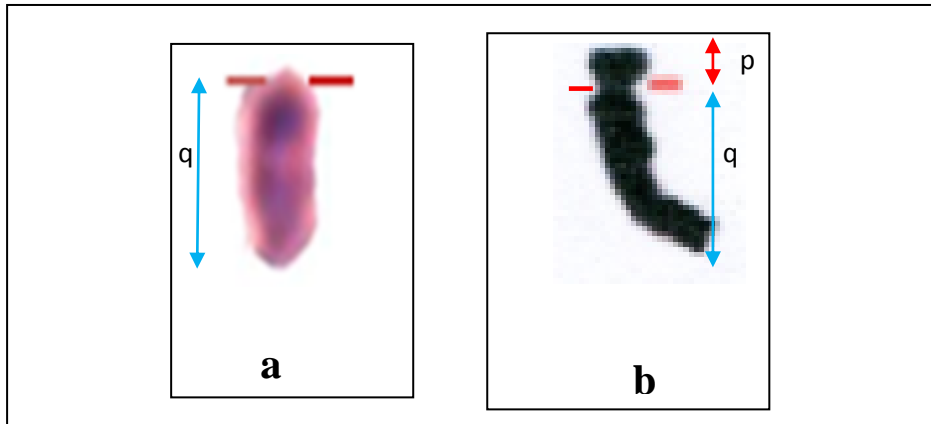


Figure N° 39 : Comparaison morphologique du chromosome 4(a) de la caille japonaise originale et (b) celui du poulet domestique (Ladjali-Mohammedi *et al.*, 1999).

On suppose que le remaniement qui a pu toucher le bras court du chromosome 4 de la caille peut s’agir d’une inversion péricentrique (Figure N°40).

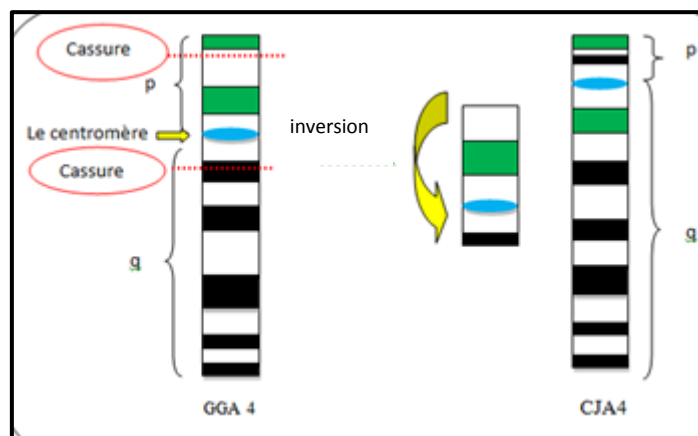


Figure N°40 : Inversion péricentrique du chromosome 4.

Or, selon la technique de la peinture chromosomique, la sonde correspondante au chromosome 4 du poulet a été entièrement hybridée sur le chromosome 4 de la caille japonaise. Le chromosome 4 est le plus conservé du génome aviaire au cours de l’évolution

(Figure N°41a) (Guttenbach *et al.*, 2003). En effet, grâce à la technique de la FISH, il a été démontré que l'ordre des clones BAC a été conservé aussi bien sur les chromosomes mitotiques que les chromosomes méiotiques (Figure N°41b et c) (Kayangue *et al.*, 2006 ; Galkina *et al.*, 2006). La différence morphologique a été expliquée par la formation d'un néocentromère (Galkina *et al.*, 2006).

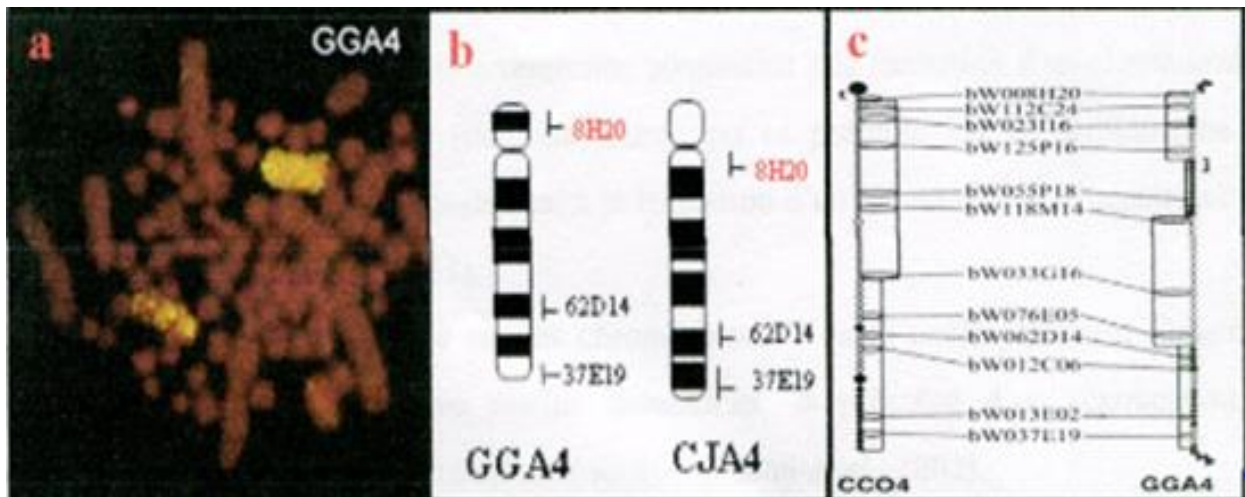


Figure N° 41 : (a) Hybridation complète du chromosome (4) du poulet sur le chromosome 4 de la caille japonaise (Guttenbach *et al.*, 2003), (b) L'ordre des clones BAC sur le chromosome 4 mitotique de la caille japonaise (CJA4) est identique à celui du poulet (GGA4) (Kayang *et al.*, 2006) et aussi sur le chromosome 4 en écouvillon (c) (Galkina *et al.*, 2006).

Le chromosome Z :

Le chromosome Z de la caille japonaise obtenu par cette étude est similaire au chromosome Z proposé par la littérature (Figure N° 42) (Sazaki, 1981 ; Stock et Bunch, 1982 ; Shibusawa *et al.*, 2001).

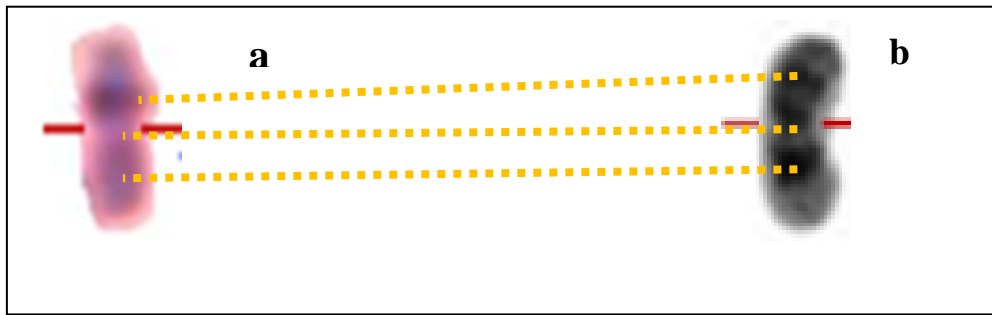


Figure N° 42 : Comparaison morphologique des chromosomes Z (a) de la caille japonaise (original) et (b) celui de la littérature (Shibusawa *et al.*, 2001) montrant les correspondances de bandes GTG.

Le chromosome sexuel Z de la caille japonaise (original) et celui du standard (poulet domestique) présente une homologie morphologique (Figure N°43).

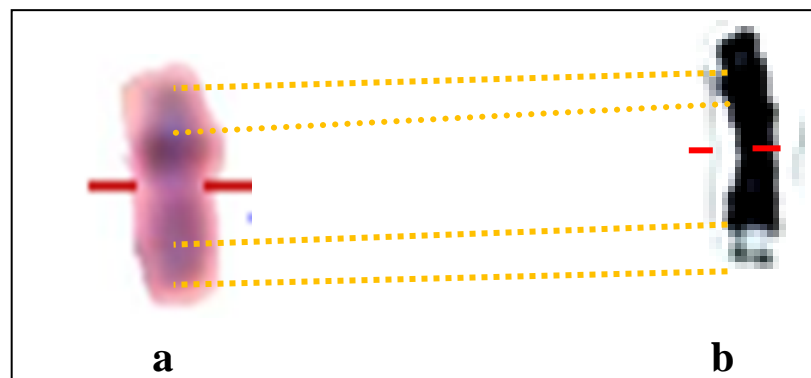


Figure N° 43 : Comparaison morphologique du chromosome Z (a) de la caille japonaise originale et (b) celui du poulet domestique (Ladjali-Mohammed *et al.*, 1999).

Après comparaison des chromosomes Z, une conservation des motifs des bandes GTG a été observée. Les résultats obtenus grâce à la cytogénétique moléculaire par hybridation des clones BAC ont permis de confirmer cet ordre conservé (Figure N°44) (Kayang *et al.*, 2006).

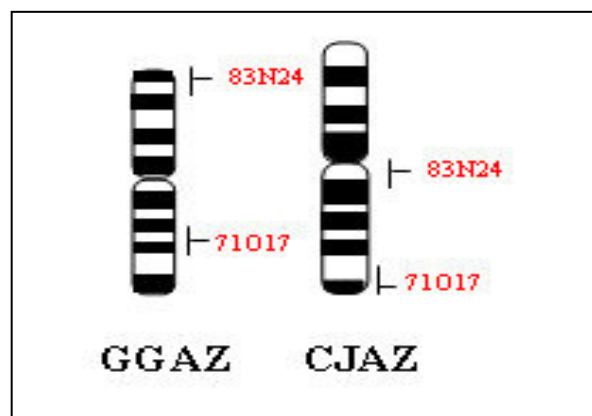


Figure N°44 : (a) Comparaison des idiogrammes en bandes GTG des chromosomes sexuels Z de la caille japonaise et du poulet domestique (Kayang *et al.*, 2006).

En conclusion, une très haute conservation des génomes a été démontrée entre le poulet domestique et la caille japonaise (Sasaki, 1981 ; Stock et Bunch, 1982 ; Shibusawa *et al.*, 2001, Guttenbach *et al.*, 2003, Schmid *et al.*, 2005, Kayang *et al.*, 2006., Sasazaki *et al.*, 2006). Néanmoins, le taux de réarrangements intra-chromosomiques et le changement de l'ordre des gènes ne semblent pas être faible. En effet, les inversions péricentriques ne sont pas le principal mécanisme qui expliquerait la différence de morphologie entre les chromosomes du poulet et de la caille. Le repositionnement des centromères n'est pas accompagné de remaniement génique mais plutôt, ces centromères semblent être néoformés chez la caille japonaise.

A l'issu des résultats obtenus dans la présente étude et en se basant sur le caryotype aviaire ancestral (Figure N°45) on peut dire que le poulet domestique semble être plus ancestral que la caille japonaise (vu que le caryotype du poulet ressemble à celui de l'ancêtre présumé). Néanmoins, ceci reste une hypothèse à confirmer.

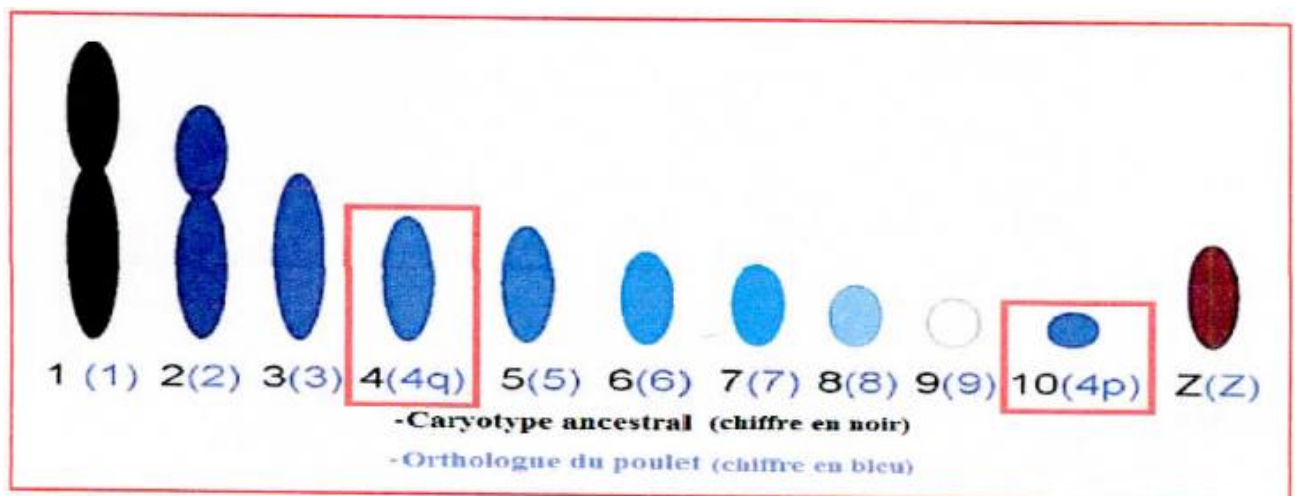


Figure N° 45 : Illustration schématique du caryotype aviaire ancestral et ses orthologues du poulet. La seule différence étant le chromosome 4 du poulet, qui est représenté par les chromosomes ancestraux 4 et 10.



CONCLUSION

La présente étude nous a permis d'apporter des connaissances fondamentales concernant les différentes techniques de marquage chromosomique, de décrire les chromosomes d'une espèce aviaire *Coturnix japonica*. Ainsi nous avons réussi à obtenir des chromosomes en métaphase.

Le nombre diploïde des chromosomes de la caille japonaise *Coturnix japonica* a été estimé à $2n=78$, comme chez la plupart des Phasianidés. La comparaison avec les résultats de la littérature nous a facilité l'identification des macrochromosomes de la caille japonaise. Concernant les microchromosomes, nous n'avons pas pu les identifier avec précision vu leur petite taille.

Nous avons ainsi, proposé un caryotype partiel en bandes morphologiques GTG correspondant aux cinq premières paires de macrochromosomes autosomiques et le chromosome sexuel Z. La comparaison de ces derniers avec ceux de la littérature nous a permis de confirmer la concordance des résultats obtenus. Or, la comparaison avec le poulet domestique *Gallus domesticus* nous a permis de constater qu'il existe une forte conservation des génomes entre ces deux espèces, mis à part l'existence de quelques différences sur les chromosomes 1 et 4, ce qui nous a permis de déceler les réarrangements chromosomiques qui auraient pu se produire au cours de l'évolution.

L'étude cytogénétique comparative entre les deux espèces aviaires, nous a permis de conclure que, vu que la poule domestique présente un génome conservé proche du génome ancestral et vu les réarrangements chromosomiques identifiés sur le génome de la caille japonaise, la caille semble être d'apparition plus récente (la caille divergerait du poulet).

Afin de mieux retracer l'évolution des génomes aviaires, on devrait étendre ce genre d'étude (cytogénétique classique) sur un nombre important d'espèces appartenant à la même famille et/ou le même genre. En effet, cela ne sera effectué qu'avec des études moléculaires plus approfondies en utilisant les FISH et les clones BAC. Ainsi, les macrochromosomes seront décrits avec précision en utilisant des marqueurs moléculaires spécifiques.



**Références
bibliographiques**

Références bibliographique

À

1. **Alain Monfort, (1997).** Cours de Statistique Mathématique, Paris, éditions Economica, 333 p. (ISBN 2-7178-3217-3).
2. **Allano L et Clamens A. (2000).** L'évolution des faits aux Mécanismes. Elipses. Edition Marketing S A. Paris. P 46-50.
3. **Albert LEVAN, KARL FREDGA and AVERY A. (1964)** sandberg institute of genetics, lund, sweden, and roswell park memorial institute, buffalo, n.y., u.s.a. (received november 28th,).
4. **Andrieu G. (2014).** Rôle de la voie sphingosine kinase/sphingosine 1-phosphate dans le contrôle de la division cellulaire. Université Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier)
5. **Ansiari et al ., (1986)**

B

6. **Babak et al., 2014.** Using cytogenetic analysis for detecting karyotype of persian chukar population *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences ISSN: 2231– 6345 (Online).*
7. **Baer J, Lansford R. et Cheng, K. (2015).**Japanese quail as a laboratory animal model chapter 22 In Laboratory animal medicine third edition.1087-1092.
8. **Bensimon C, (1995).** le petit génome qui fait l'oiseau. son adn est quatre fois plus léger que celui des mammifères. in nature.
9. **Berger, R., 2006.** Human cytogenetics From 1956 to 2006. Elsevier Masson. France.
10. **Blesbois., Batellier., Brillard. Et Gorovoum. (2009).** La reproduction chez les oiseaux. In : Reproduction des animeaux d'élevage. Dijon Cedex : edition Educargi, 2éme édition. P. 333-405.
11. **Brodeur, J., Toussaint, M., (2007).** Biologie moléculaire- Concepts. Techniques. Applications, CCDMD, 31 pages.

C

12. **Carlenius ., Rytzman H., Tegelstrom H. a,d Janssen H. 1981.** R-G- and C-banded chromosomes in the domestic fowl *Gallus domesticus*. Hereditas 94: 61-66.

Références bibliographique

D

13. **Darbon J. M; Didier F ; Jean-Claude Cavadore. (1995).** De nouveaux régulateurs du cycle cellulaire : les protéines modulatrices des complexes cdk-cyclines.
14. **Denver Study Group 1960.** A proposed standard system of nomenclature of human mitotic clironiosomes. - Acta Gen. 10: 322-328

E

15. **Eberhard P. (2005).** Chromosomes. In : Atlas de poche de Génétique. Editions Flammarion Médecine Science, Paris, P. 179-203.
16. **Ernest S., Stephen R. D., Deborah S., Erica J., Heidi L. Z., (1998)** Multiple independent losses of the plastid *rpoC1* intron in *Medicago* (Fabaceae) as inferred from phylogenetic analyses of nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. Can. J. Bot. 76(5): 791–803.
17. **Evening M. (2012).** Manuel de formation pour les professionnels de l'image. ISBN 978-2-212-13588-6.

F

18. **Fillon V., Morisson M., Zoorob R., Auffra Y. C., Douaire M., Gellin J. et Vignal A., 1998.** Identification of sixteen chicken microchromosomes by molecular markers using two color fluorescent in situ hybridisation (FISH). Chrom. Res. 6 : 307-301.
19. **Finsworth S. J., Stanley R. L. et Evans D.J. R., 2010.** Developmental stages of the quail. Journal of Anatomy. P 3-15. Brighton and Sussex medical school. University of Sussex. Brighton, United Kingdom.

G

20. **Galkina S., Deryusheva S., Fillon V., Vignal A., Crooijmans R., Groenen M., Rodionov A. and Gaginskaya E. (2006).** FISH on avian lampbrush chromosomes produces higher resolution gene mapping. Genetica, 128:241-251.
21. **Gilgenkrantz S. (2004).** Le sexe des oiseaux. MEDECINE/SCIENCES, 20 : 1004-8.

Références bibliographique

22. **Goudjil-benhizia H. (2014).** Caractérisation cytogénétique classique et moléculaire espèces endémiques du genre *Hedysarum* L.
23. **Guttenbach M, Nanda I, Feichtinger W, Masabanda JS, Griffin DK, et al. (2003).** Comparative chromosome painting of chicken autosomal paints 1–9 in nine different bird species. *Cytogenet Genome Res* 103: 173–184

H

24. **Halmi S. (2010).** Contribution à l'étude cytogénétique de quelques espèces du genre *Medicago* (L). université Mentouri Constantine.
25. **Harry M. (2001).** Les mutations. In: *Génétique moléculaire et évolutive*. Paris : Edition Maloine. P. 153-163.
26. **Hennache A. et Ottaviani M. (2011).** Cailles, Perdrix et Francolins de l'Ancien monde. Editions W.P.A.France, Clères, France. P.400.
27. **Hrncar C, Hanusova E, Hanus A et Bujko J. (2014)** Effect of genotype on egg quality characteristics of japanese quail (*Coturnix japonica*). National Agricultural and Food center. Research Institute for Animal Production Nitra. *Slovak Journal of Animal Science* 47 (1): 6-11
28. **Huss D., Poynter G. and Lansford R. (2008).** Japonaise quail(*Coturnix japonica*) as a laboratory animal model. *LAB ANIMAL*, 37 : 513-519.

I

29. **Julio S. Masabanda ; Dave W. Burt ; Patricia C. M. O'Brien ;Alain Vignal ;Valerie Fillon ;Philippa S. Walsh ; Helen Cox ; Helen G. Tempest ; Jacqueline Smith ; Felix Habermann ;Michael Schmid ; Yoichi Matsuda ; Malcolm A. Ferguson-Smith ;Richard P. M. A. Crooijmans ; Martien A. M. Groenenand Darren K. Griffin. (2004).** Molecular Cytogenetic Definition of the Chicken Genome: The First Complete Avian Karyotype.

K

30. **Karp G. (2004).** Biologie cellulaire et moléculaire. 2ème Edition. Bruxelles. P. 580-589.
31. **Kayang B.B., Fillon V., Murayama M., Miwa M., Leroux S., Fève K., MonvoisinJ-L., Pitel F., Vignoles M., Mouilhayrat C., Beaumont C., Shin'ichi**

Références bibliographique

I., Minvielle F. et Vignal A., (2006). Integrated maps in quail (*Coturnix japonica*) confirm the high degree of synteny conservation with chicken (*Gallus domesticus*) despite 35 million years of divergence. *BMC Genomics*.

L

- 32. Ladjali K. (1994).** Caryotype de la poule domestique *Gallus domesticus* et incidence des anomalies chromosomiques dans les troubles de la reproduction. Thèse de Doctorat. Institut National de la Recherche Agronomique Paris-Grignon. P. 179.
- 33. Ladjali-Mohammedi K., Bitgood J.J., Tixier-Boichard M., and Ponce de Leon F.An (1999).** International System for Standardized Avian Karyotype (ISSAK): Standardized banded Karyotypes of the domestic fowl *Gallus domesticus*. *Cytogenetics and Cell Genetics* 86:271-276.
- 34. Le caignec, C. (2011).** Caryotype humain : Technique-Indications., Collège National des enseignants et Praticiens de Génétique médicale, 8.
- 35. Lemaitre Clair. (2006).** Réarrangements chromosomiques dans les genomes des mammifères: caractérisation des points de cassure. Université Claude Bernard-Lyon1.
- 36. Linné Carl. (1758).** Système de la Nature, division en classe, ordre, genre et espèces, avec les caractères, les différences, les synonymes et les localisations. 10^{ème} édition : decima reformata, holimiae, inpenis direct.

M

- 37. Mills A. D., Crawford L. L., Domjan M. and Faure J. M. (1997).** The Behavior of the Japanese or Domestic Quail *Coturnix japonica*. Elsevier Science. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 21(3). P. 261-281.
- 38. Mizutani M. (2003).** The Japanese Quail. Laboratory Animal Research Station, Nippon Institute for Biological Science, Kobuchizawa, Yamanashi, Japan. P. 143-163.

P

- 39. Pollard T-D. and Earnshaw W-C. (2004).** Structure des chromosomes. In: *Biologie cellulaire*. Coordination Scientifique de l'édition française. Paris. P. 199.

Références bibliographique

40. **Popescu P.** (1991). directeur du laboratoire de cytogénétique. INRA, CRJ, laboratoire de cytogénétique, 78352 Jouy-en-Josas Cedex, France. mis n ° 9 vol. 7, n° 191.
41. **Popescu P., Hayes H. and Dutrillaux B. C. (1998).** Techniques de cytogénétique animale. INRA Editions, Paris: 260.
42. **Priti M et Salish S. (2014).** Quail farming : An introduction. Research report. International Journal of life Sciences 2 (2): 190-193.



43. **Ratnamohan N. (1985)** .The management of Japanese quail and their use in virological research: A review. *Veterinary Research Communications* **9**: 1-14.
44. **Randall M et Bolla G. (2008).** Raising Japanese quail. *Prime facts* **602**.second ed: 1-5.
45. **Ribeiro SA, Vagnarelli P, Dong Y et al (2010).** A super-resolution map of the vertebrate kinetochore. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:10484–10489.
46. **Robinson JE, Follett BK (1982).** Photoperiodism in Japanese quail: the termination of seasonal breeding by photorefractoriness. *Proc R Soc (Lond) B* 215, 95-116
47. **Rotureau, M. B, (2012).** Techniques, nomenclatures-Apport des techniques moléculaire-*Cytogénétique morphologique et moléculaire*, 117.
48. **Ryttman H, 1981.** Tegelström H: G-banded karyotypes of three Galliformes species, domestic fowl (*Gallus domesticus*), quail (*Coturnix coturnix japonica*), and turkey (*Meleagris gallopavo*). *Hereditas*94:165–170 (1981).



49. **Sasaki M. (1981).** High resolution G-banded karyotype of the domestic fowl and the Japanese quail. *Chrom Inform Service*, 31:26-28.
50. **Sasazaki S., Hinenoya T., Lin B., Fujiwara A. and Mannen H. (2006).** A comparative map of macrochromosomes between chicken and Japanese quail based on orthologous genes. *Animal Genetics* 37 (4): 316-320.
51. **Schwartz, C. W. & Schwartz, E. R. (1949).** A reconnaissance of the Game Birds in Hawaii. Hilo, Hawaii: Hawaii Board of Commissioners of Agriculture and Forestry.

Références bibliographique

52. Schmid M., Enderle E., Schindler D. and Schemp W. (1989). Chromosome banding and DNA replication patterns in bird Karyotype. *Cytogenet Cell Genet*, 52:139-146.
53. Shanaway M M. (1994). Quail production systems. A review. *Food and Agriculture Organization of The United Nations. Rome*. 147. Scharma et al., 2001 Shwartz et al., 1949.
54. Shibusawa M, Minai S, Nishida- Umehara C et al., (2001). A comparative cytogenetic study of chromosome homology between chicken and Japanese quail. *Cytogenet Cell Genet*, 95: 103-109.
55. Siljak-Yakovlev S, Cerbah M, Coulaud J, Stoian V, Brown SC, Zoldoš V. (2002). Nuclear DNA content, base composition, heterochromatin and rDNA in *Picea omorika* and *Picea abies*. *Theor Appl Genet* 104: 505–512.
56. Stock A. D and Bunch T. D. (1982). The evolutionary implication of chromosome banding pattern homologies in the bird order Galliformes. *Cytogenet. Cell. Genet*, 34:136-148.

T

57. Talluri V and Vegnil L. (1965). Fine Resolution of Karyogram of the quail *Coturnix japonica*. *Chromosome* 17(3): 264-272.
58. Turpin R., Hartung M. and Stahl MA. (1973). Identification du chromosome W chez la caille japonaise *Coturnix japonica*. *C.R Acad. Sct*, 278 :2157-2160.

V

59. Ventura M, Archidiacono N, Rocchi M, (2001) . Centromere emergence in evolution. *Genome Res* 11: 595 -599.
60. Villot L., Robert A., Chancelier C. et Gregoire A. (2013). Caille des blés (*Coturnix coturnix coturnix*) et caille japonaise (*Coturnix coturnix japonica*) Hybridation et perspectives de Gestion.

W

61. Westmore, A. (1952). A revised classification of the bird of the world. *Smithsonian Misc Collect*, 177: 1-22.

Références bibliographique

62. Woodard, A. E. Abplanalp, H. Wilson, W. et Vohra. P. (1973),japanese quail husbandry in the laboratory (*Coturnix Coturnix japonica*). University of California: 1-24.
63. Wechsler, B. & Huber-Eicher, B. (1997). Haltungsbedingte Ursachen des Federpickens bei Legehennen. - In: Weber, R. (ed.). Tiergerechte Haltungssysteme für landwirtschaftliche Nutztiere, IGN-Tagung 1997. Eidg. Forschungsanstalt für Agrarwirtschaft und Landtechnik, Tänikon.

Z

64. Zlotina A., Galkina S., Krasikova A., Crooijmans R. P. M. A., Groenen M. A. M., Gaginskaya E. et Deryusheva S., 2012. Centromere position in chicken and Japanese quail chromosomes: de novo centromere formation versus peri-centric inversion. Springer Science+ Business Media Dordrecht. United States of America.
65. Atlas of Genetics, 2006
66. [Http://maps. Oiseaux. Net/ caille. du. Japon.html](http://maps.Oiseaux.Net/caille.du.Japon.html).
67. [Http://www.ac-poitiers.fr](http://www.ac-poitiers.fr).



ANNEXES

ANNEXE 1

➤ Culture cellulaire

Protocole de la culture cellulaire

❖ **Incubation des œufs :** L'incubation des œufs a été réalisée dans une étuve ventilée. La température de l'étuve doit être réglée à 37.5°C et chauffée 24 heures avant. Deux récipients remplis d'eau ont été mis à l'intérieur de l'étuve pour favoriser une atmosphère humide.

Des retournements ont été effectués au minimum deux fois par jour (du 2^{ème} jour au 14^{ème} jour d'incubation) afin d'éviter que l'embryon n'adhère à la coquille mais aussi pour assurer une bonne aération de l'œuf.

❖ Mise en culture

- **Dilacération des organes :** après récupération des organes, ces derniers ont été dilacérés à l'aide d'une pince et d'une lame de bistouri.
- **Agitation de la masse cellulaire :** les petits fragments d'organes ont été mis dans une fiole de 25ml contenant de la trypsine à 0.05% et un barreau aimanté puis placée sur un agitateur pendant 10-15min à une vitesse modérée. L'action de la trypsine est arrêtée par l'ajout de 2 ml de milieu de culture.
- **Transfert de la suspension cellulaire dans un tube de 15 ml**
- **Centrifugation :** la suspension cellulaire doit être centrifugée à 1200 tours par minute «rpm» pendant 10 min. Le surnageant est éliminé, alors que le culot est récupéré et mis en culture dans des boîtes de culture de 25cm², avec environ 7 ml de milieu de culture. Les boîtes sont mises dans une étuve réglée à 41°C.
- **L'observation au microscope photonique inversé :** montre un tapis de cellules fusiformes dites fibroblastes (au bout de quelques jours).
- **La trypsination :** lorsqu'on obtient un tapis cellulaire, une trypsination est effectuée pour détacher les cellules du fond de la boîte et les dissocier. Au moment où les cellules sont décollées, elles sont centrifugées puis remises dans un milieu de culture et réparti dans deux boîtes de 75 cm².

❖ Récolte

- Une trypsination est appliquée sur les boîtes de 75 cm² pendant 5 minutes à une température de 41°C.
- Un rinçage est effectué avec la solution de PBS⁻.
- L'inhibition de l'action de la trypsine par l'ajout de 3 ml de MC (10% de SVF) (voir annexe 2).
- Transfert de la suspension dans un tube de 15 ml.
- Centrifugation de la suspension à une vitesse de 1200 rpm pendant 10 minutes.
- Ajout de 30 ml de colchicine : elle exerce un effet inhibiteur sur la polymérisation des fibres du fuseau mitotique sur lesquels se fixent les centromères des chromosomes qui empêchent la transition de la métaphase à l'anaphase.

❖ Fixation

- ✓ La fixation est réalisée par 1 ml de fixateur (3 volumes d'éthanol et 1 volume d'acide acétique) à 37°C pendant 5 min (à conserver à 4°C pendant 24h maximum). Une nuit après, une autre centrifugation est réalisée pendant 10min.
- ✓ Le culot est remis dans 3-4 ml de fixateur frais, les échantillons sont étalés sur les lames humides.

❖ Etalement chromosomique

Afin d'obtenir des étalements chromosomiques, 2 à 3 gouttes de la suspension cellulaire sont laissées tomber d'une hauteur de 10 cm sur des lames préalablement lavées et mises dans de l'eau froide. Elles ont été séchées sur un portoir pendant 24 h maximum.

- **NB :** Ces étalements chromosomiques peuvent être conservés pendant longtemps (pour des colorations ultérieures). En effets, les lames ont été congelées aussitôt séchées. Celles à colorés doivent vieillir.

ANNEXE 2

Solution utilisées en culture

-Milieu de culture RPMI-10% SVF

- Milieu **RPMI** 1640+20 Mm **HEPES-L. Glutamine** (Gibco Réf : 15160-047, lot : S25016D).
- Sérum de veau fœtal (Gibco Réf: 15160-047 lot: 3086587):10%
- L-Glutamine 200 mM (Gibco) :1%
- Pénicilline et Streptomycine (Gibco) : 1%
- Fungizone (Gibco) : 1%

-Solution de colchicine 1X

Solution de stockage 10X (40 μ g/ml) : dissoudre 0.4 mg de colchicine dans 10 ml de solution de PBS⁻ puis conserver en fraction de 1 ml à -20°C.

Solution de travail 1X (4 μ g/ml) : diluer 1 ml de la solution 10X dans 9 ml de solution de PBS⁻ et conserver en fraction de 1 ml à -20°C.

-Solution PBS⁻ (Dilbecco's phosphate buffered saline) sans Ca²⁺ et sans Mg²⁺

- NaCl (137mM) : 8g
- KCL (5.4mM) : 0.2 g
- Na₂HPO₄ : 0.12 g
- 12H₂O (8Mm) : 2.89 g
- KH₂PO₄ (1.47mM) : 0.2 g
- Eau distillée qsp 1 litre

La solution ainsi préparés doit être à pH=7.2 et autoclavée.

-Tampon phosphate

- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$: 2.9 g
- KH_2PO_4 : 0.2 g
- NaCl : 8 g
- KCl : 0.2 g
- H_2O qsp 1 litre.

Le pH de cette solution est ajusté à (7.2) à l'aide d'une solution de soude ou bien d'acide chlorhydrique.

-Trypsine

Dissoudre 0.05 g de trypsine en poudre (Sigma) dans 100 ml de solution PBS^- , puis filtrée avec un filtre de 0.22 μm .

-Fixateur

3 volumes d'éthanol + 1 volume d'Acide Acétique.

Résumé :

La caille japonaise *Coturnixjaponica*, est un petit oiseau originaire du Japon et de Chine, appartenant à l'ordre des Galliformes et à la famille des Phasianidés. Elle a été domestiquée pour la première fois pour le peuplement et la production d'œufs. La caille japonaise est utilisée comme un modèle animal de laboratoire. Le présent travail vise à proposer une éventuelle relation évolutive qui existerait entre la caille japonaise et une espèce apparentée nommée poulet domestique *Gallus domesticus*. En effet cette étude consiste à contribuer par une étude cytogénétique classique comparative pour répondre à une question qui reste encore non élucidée « quelle est l'espèce la plus ancestrale : la caille ou la poule ? ». Pour ce faire, des techniques de coloration (conventionnelle et en bandes GTG) ont été effectuées afin de décrire avec précision la morphologie des chromosomes de la caille japonaise. La comparaison de la morphologie des cinq premières paires autosomiques, ainsi que le chromosome sexuel Z, suggère que l'homologie chromosomique est hautement conservée entre le poulet et la caille sur la plus part des chromosomes mis à part l'existence de quelques différences morphologiques (sur les chromosomes 1 et 4). Cependant, les différences ont été expliquées par certains réarrangements chromosomiques qui auraient pu se produire au cours de l'évolution, ce qui a été démontré par différents travaux (Kayang, 2006 ; Galkina, 2006 ; Zlotina, 2012).

Mots clés : *Coturnixjaponica*, cytogénétique classique, génome, marquage chromosomique, coloration conventionnelle, Bandes structurales GTG, réarrangement intrachromosomique, évolution.

Abstract:

The Japanese quail *Coturnix japonica* is a small bird of Japanese and Chinese origin belonging to the family Phasianidae and the order Galliformes. She was domesticated for the first time for stand and egg production. The Japanese quail is used as an animal model laboratory. The present work aims to give the evolutionary origin that exists between the Japanese quail and a related species named domestic chicken *Gallus domesticus*. Indeed this study consists in contributing by a comparative classical cytogenetic study to answer a question that remains unclear to geneticists "what is the most ancestral species: quail or chicken?" To do this, staining techniques (conventional and GTG) were performed in order to accurately describe the morphology of the chromosomes of the Japanese quail. Comparison of the morphology of the first five autosomal pairs, as well as the sexual chromosome Z, suggests that chromosomal homology is highly conserved between chicken and quail on most chromosomes apart from the existence of some morphological differences (On chromosomes 1, 4). However, these differences have been explained by different chromosomal rearrangements that may have occurred during evolution, which has been demonstrated by various studies (Shibusawa, 2001, Ladjali-Mohammediet al., 1999).

Keywords: *Coturnix japonica*, Classical cytogenetic, genomes, chromosomal labeling, conventional staining, structural bands GTG, intrachromosomal rearrangements, evolution.

ملخص:

السمان اليابانيكوترنكس جابونيكا، هو طائر صغير من أصليابانويوصيني ينتمي إلى عائلة الدجاجيات. تم تهجينها للمرة الأولى من أجل إنتاج اللحم و البيض. يستخدم السمان الياباني كنموذج الحيوانات المخبرية. يهدف هذا العمل إلى إعطاء أصل تفسيرات افتراضية لعلاقات النسب و الأصل التطوري بين السمان الياباني و فصيلة مقارنة تدع تهدف هذه الدراسة من خلال الدراسة الوراثية الخلوية، المقارنة للإجابة على السؤال الذي يبقى دون توضيح من قبل علماء الوراثة: " ما هو أكثر الأنواع قدما: السمان أم الدجاج؟ ". للقيام بهذا تم تحديد النمط الوراثي بتقنية الجيامسا وأشرطة GTG، أجري وصف دقيق مورفولوجيلكروموزومات السمان الياباني. مقارنة الخمسة أزواج الأولوالجسمية وكروموزوم الجنس Z، يشير إلى تماثل وانحفاظالكروموزوماتلغاية بين الدجاج والسمان. بصرف النظر عن وجود بعض الاختلافات الشكلية (على الكروموزومات 1 و 4). ومع ذلك، فقد توضحت هذه الاختلافات من خلال إعادة ترتيب الكروموزومات المختلفة التي قد تكون حدثت أثناء التطور، وهو ما ثبت من خلال الدراسات المختلفة (Shibusawa, 1999, Ladjali-Mohammediet al., 2001).

الكلمات الرئيسية: ، كوترنكس جابونيكا، علم الوراثة الخلوية الكلاسيكية، الأجنة، تلوين الكروموزومات، تقنية الجيامسا، أشرطة GTG، الحركة الداخلي للكروموزومات، التطور.