

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université ABDERRAHMANE MIRA –BEJAIA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physico-Chimique



En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Biologie

Option : Génétique Appliquée

Thème

**Contribution à l'Etude Cytogénétique de la caille
japonaise *Coturnix japonica***

Présenté par : M' laidli abdessalam

Membre de jury :

Présidente	: M ^{me} Bennai Y.	M.A.B à l'U-A-Mira Bejaia
Examinatrices	: M ^{me} Kadji H.	M.A.A à l'U-A-Mira Bejaia
	: M ^{elle} Rahmani A.	M.A.A à l'U-A-Mira Bejaia
Promotrice	: M ^{me} Benmessaoud Y.	M.A.A à l'U-A-Mira Bejaia

Promotion 2013/2014

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université ABDERRAHMANE MIRA –BEJAIA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physico-Chimique



En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Biologie

Option : Génétique Appliquée

Thème

**Contribution à l'Etude Cytogénétique de la caille
japonaise *Coturnix japonica***

Présenté par : M' laidli abdessalam

Membre de jury :

Présidente	: M ^{me} Bennai Y.	M.A.B à l'U-A-Mira Bejaia
Examinatrices	: M ^{me} Kadji H.	M.A.A à l'U-A-Mira Bejaia
	: M ^{elle} Rahmani A.	M.A.A à l'U-A-Mira Bejaia
Promotrice	: M ^{me} Benmessaoud Y.	M.A.A à l'U-A-Mira Bejaia

Promotion 2013/2014

REMERCIEMENTS

Au terme de notre travail, je remercie en premier lieu, le bon **DIEU** le créateur qui ma facilité le chemin, et donné la persévérance pour réaliser ce modeste travail.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à ma promotrice M^{me} **BENMESSAOU D** pour avoir accepté de m'encadrer, pour sa gentillesse ; sa disponibilité qui ma facilité la tâche ainsi que pour ses précieux conseils .

Je tiens à remercier M^{me} **BENNAI D** qui ma honoré en acceptant d'être présidente de ce jury ;

Je remercie également M^{me} **KADJI H** et M^{lle} **RAHMANI A** pour avoir accepté la charge d'être mes examinatrices.

Mes remerciements vont également :

A toute personne qui a contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce modeste travail ;

A tous les travailleurs de l'université A-Mira de Béjaia ;

Toute l'équipe de Laboratoire de Génétique de l'Université de Béjaia ;

A l'équipe de recherche au centre Cynégétique de Zéralda.

DEDICACES

Tout d'abord, louange à « Allah » qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long du travail et m'a inspiré les bons pas et les justes reflexes. Sans sa miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.

CE TRAVAIL EST DÉDIÉ

A mon très cher père et ma très chère mère

En témoignage de ma reconnaissance envers le soutien, les sacrifices et tous les efforts qu'ils ont fait pour mon éducation ainsi que ma formation

A mon cher père pour qui je dois mon éducation et mon instruction, sa présence en toute circonstance m'a maintes fois rappelé le sens de la responsabilité

A ma chère mère pour sa sollicitude à mon égard, et qui m'a entouré avec sa tendresse, toujours prête à se sacrifier pour le bonheur de ses enfants

A mes frères et sœurs ;

A mes oncles et tantes ;

A mes cousins et cousines ;

A mes chères amis Aimade Sualmi ; Malek boraba ; Salem abderezak ; larfi abderezak ; lachi bilal ; boufkhed takfarinasse ; moussaoui rabia ; lachouri toufik ; ouafa ; nabila ; houria ; mouloud boyahmed ; Nabil hadjout ; Nassim boukoucha

A tous mes amis ;

A toute la promotion de Génétique Appliquée (2013-2014) ;

A ceux/celles qui m'ont transmis du savoir et m'ont enseigné la vie sociale ;

A tous les défenseurs des causes justes, ceux qui œuvrent pour la science et son développement.

LAILLI ABDESSALAM

Listes des Abréviation

2n : Nombre diploide de chromosome

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

ASIP : Agouti Signaling Protein

BrdU : 5-Bromo-2'-déoxyUridine

C.j : Coturnix japonica

cM : Centi Morgan

FISH : Fluorescent In Situ Hybridisation

FSH : follicle stimulating hormone

GGA : Gallus gallus domesticus

GnRh-1 : gonadotropin releasing hormone-1

GTG : bandes G (Giemsa Trypsine Giemsa)

LH : Luteinizing hormone

Mc1R : melanocortin-1 receptor

Mlph : Milanophilin

N° : numéro

P : bras court d'un Chromosome

PBS⁻ : Phosphate Buffer Saline

q : Bras long d'un Chromosome

Rpm : rotation par minute

RPMI : Roswell Park Memorial institute

SVF : Serum de veau foetal

Liste des figures et des tableaux

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX		
LISTE DES FIGURES		
Figure 1	Morphologie d'un oiseau de la famille des carinates	3
Figure2	Couple de cailles japonaises adultes issu du bâtiment d'élevage Size Akfadou à la wilaya de Bejaia. (A) une femelle. (B) un mâle.	6
Figure 3	les différentes couleurs de plumage de la caille japonaise (à l'éclosion)	7
Figure 4	structure interne de l'œuf d'oiseau quelque heure après L'incubation	10
Figure 5	Morphologie des chromosomes en métaphase	16
Figure6	Caryotype en coloration conventionnelle de la poule domestique	19
Figure 7	Caryotype en bandes GTG de poulet domestique (A), (B) l'idiogramme standard	19
Figure 8	Caryotypes en coloration conventionnelle de la caille japonaise Coturnix japon	20
Figure 9	Caryotype en bande GTG de la caille japonaise femelle (A),(B) l'idiogramme correspond	21
Figure 10	Graphes représentant les poids des témoins des deux lots au cours de 12 jours d'incubation	32
Figure11	Mirage d'un œuf de poulet (A) (Zoughab et al.,2013), (B) caille japonaise (FSNV,Bejaia).	33
Figure12	Embryons de caille japonaise Coturnix japonica de 3,5 jours d'incubation. (A) notre résultat ,(B) selon	34
Figure13	Embryon de caille japonaise coturnix japonica âgé (A) de 4 jours (issu du Laboratoire d'Ecologie (Bejaia),(B) de 5,5 jours d'incubation	35
Figure14	Embryon de caille japonaise Coturnix japonica âgé de 8-9 jours d'incubation (A) issu du Laboratoire d'Ecologie (Bejaia),(B) celui de S.Ainsworth et al.,(2010).	36
Figure15	Embryon de caille japonaise coturnix japonica âgé de 11 jours d'incubation (A) issu du Laboratoire d'Ecologie (Bejaia)	37
Figure16	Embryon de caille japonaise Coturnix japonica âgé de 12 jours d'incubation (A) issu de laboratoire d'Ecologie (Bejaia	38
Figure17	Dilacération d'un embryon en entier (âgé de 3 jours)	39
Figure18	Embryon de caille japonaise âgé de 12 jours d'incubation (A) disséquée ,(B) organes à dilacérer .	40
Figure19	Présence de fibroblastes au bout de 24 h de culture cellulaire , observés au microscope inversé (Gx10) (FSB, USTHB).	41
Figure20	Métaphases de la caille japonaise coturnix japonica observées au microscope photonique (G x 100) (A) en coloration conventionnelle, (B) en bandes morphologiques GTG.	42
Figure21	Caryotype de la caille japonaise coturnix japonica proposé en coloration conventionnelle (de sexe femelle).	43
Figure22	Caryotype de la caille japonaise Coturnix japonica proposé en bandes GTG (de sexe mâle).	44
Figure23	Chromosome 1 du poulet (GGA1) et de la caille japonaise(CC1)(A) . Le chromosome 2 (B) du poulet et de la caille japonaise (A .zlotina et al.,2012)	46
Figure24	Chromosome 3 (a) du poulet et la caille japonaise (b) (A. zlotina et al.,2012) .	47
Figure25	hybridation du chromosome 4 du poulet sur le chromosome 4 de la caille japonaise (Guttenbach et al.,2003).	48

Liste des figures et des tableaux

LISTE DES TABLEAUX		
Tableau 1	différentes espèce de caille du genre <i>Coturnix</i> et leurs répartition géographique	4
Tableau 2	Caractéristiques de la caille japonaise (<i>Coturnix japonica</i>).	5
Tableau 3	Composition centésimale de l'alimentation	8
Tableau 4	comparaison entre les étapes du développement de la caille japonaise et du poulet domestique	11
Tableau 5	Quelques caractéristiques principales du développement de la caille japonaise	12
Tableau 6	Code des techniques de marquages chromosomiques	17
Tableau 7	Propriétés des bandes chromosomiques	18
Tableau 8	Récapitulation des effectifs du matériel biologique utilisé	29
Tableau 9	Evolution du poids des témoins en fonction des jours d'incubation (12 jours).	31
Tableau10	Tableau récapitulatif de différents stades du développement obtenu jusqu'à 12 jours d'incubation	33
Tableau11	Description morphologique des différents macrochromosomes de la caille japonaise <i>Coturnix japonica</i>	45

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	
LISTE DES ABREVIATIONS	
LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX	
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
1-GENERALITES SUR LES OISEAUX	3
1.1-CLASSIFICATION	3
1.2-MORPHOLOGIE	3
2-BIOLOGIE DE LA CAILLE JAPONAISE <i>COTURNIX</i> <i>JAPONICA</i>	4
2.1-CLASSIFICATION PHYLOGENIQUE	4
2.2-REPARTITION GEOGRAPHIQUE	4
2.3-DOMESTICATION DE L'ESPECE	5
2.4-DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE	5
2.4.1- LA BIOMETRIE	5
2.4.2-LA MORPHOLOGIE	5
2-4-3 DIMORPHISME SEXUEL	6
2.5-HABITAT	7
2-6 REGIME ALIMENTAIRE	7
2.7-CYCLE BIOLOGIQUE	8
2.7.1-CONTROLE HORMONAL	8
2.7.2-DEROULEMENTS DE LA REPRODUCTION CHEZ LA CAILLE JAPONAISE	8
2.7.3-SAISON DE REPRODUCTION	9
2.8-PONTE	9
2-9 LES ŒUFS DE CAILLE	9
3-LE DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DE L'ESPECE AVIAIRE	10
3.1-STADES DU DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRES	11
4-CYTOGENETIQUE DES OISEAUX	14
4.1-HISTORIQUE DE LA CYTOGENETIQUE	14
4.2-CARACTERISTIQUES DU CARYOTYPE AVIAIRE	14
4.3-NOMENCLATURE ET STRUCTURE DES CHROMOSOMES	15
4.3.1-NOMENCLATURE	15
4.3.2-ORGANISATION DES CHROMOSOMES	15
4-3-3 MORPHOLOGIE DES CHROMOSOMES	16
4.4-MARQUAGE CHROMOSOMIQUE EN BANDES	17
4.5-COLORATION CLASSIQUE AU GIEMSA	18
4.6-CARYOTYPE DE LA CAILLE JAPONAISE ET DE POULE DOMESTIQUE <i>DOMESTICUS</i>).....	18
4.6.1-LE CARYOTYPE DE LA POULE DOMESTIQUE (<i>GALUS</i> <i>DOMESTICUS</i>).....	18
4-6-2 CAILLE JAPONAISE	20
4.6.3-But du travail	21

CHAPITRE II : *MATERIELS ET METHODES*

1-LIEU D'EXPERIMENTATION	22
2-MATERIEL BIOLOGIQUE	22
2.1-LES ŒUFS	22
3-METHODOLOGIE	22
3.1-CULTURE CELLULAIRE	
3.1.1-INCUBATION DES ŒUFS	
3.1.1.1-CONDITION DE STOCKAGE	22
3.1.1.2-TECHNIQUE DE PESEE	23
3.1.1.3-D'INCUBATION	23
3.1.1.4-LE MIRAGE	23
3.1.1.5-RETOURNEMENT DES ŒUFS	23
3.2-SUIVI DU DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE ET TECHNIQUE D'OBSERVATION	23
3.2.1-TECHNIQUE <i>IN VIVO</i>	23
3.2.2-TECHNIQUE <i>IN VITRO</i>	24
3.3-PRELEVEMENT D'ORGANES ET DILACERATION DES CELLULES ...	25
3.4-MISE EN CULTURE	25
3.5-RECOLTE	26
3.6-FIXATION	26
3.7-ETALEMENTS CHROMOSOMIQUES	27
3.8-TECHNIQUES DE MARQUAGES CHROMOSOMIQUES	27
3.8.1-COLORATION AU GIEMSA	27
3.8.2-TECHNIQUE DE MARQUAGE METTANT EN EVIDENCE DES BANDES STRUCTURALES (GTG) (BANDES G- TRYPSINE- GIEMSA)	28
3.9-OBSERVATIONS DES LAMES SOUS LE MICROSCOPE PHOTONIQUE	28
3.10-ETABLISSEMENT DES CARYOTYPES	28

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

1- ŒUF ET EMBRYON	29
1.1- EFFECTIFS	29
1.2- PESEE DES ŒUFS	31
1-3 INCUBATION DES ŒUFS ET SUIVI DU DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE	32
1-1-3-1LE MIRAGE	32
1.1.3.2-STADE DU DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE	33
2- CULTURE CELLULAIRE ET ETALEMENT CHROMOSOMIQUE	39
2-1 CULTURE CELLULAIRE	
1-1-1 DILACERATION DES ORGANES PRELEVES	39
1-1-2 MISE EN CULTURE, RECOLTE, FIXATION, ETALEMENT CHROMOSOMIQUE	41
2-2 MARQUAGES CHROMOSOMIQUES	41
2-3 ETABLISSEMENT D'UN CARYOTYPE	43
2.3.1-ESTIMATION DU NOMBRE DIPLOIDE	45
2.3.2-DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE DES CHROMOSOMES	45
CONCLUSION	49
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	51
ANNEXES	

INTRODUCTION

La Génétique du développement est au carrefour de plusieurs disciplines telles que la Génétique, la Génomique, l'Evolution, le Développement Embryonnaire, la Biologie Moléculaire et la Biologie Cellulaire. Pendant des décennies, l'Embryologie et la Génétique évoluaient en parallèle sans qu'un rapport soit établi entre les gènes et les règles développementales régissant la transformation de l'œuf fécondé en un embryon. La Biologie du Développement est devenue ainsi une discipline extraordinairement inclusive (**Antravanis et al., 2001**). La cytogénétique conventionnelle est l'une de ses disciplines. C'est dans ce contexte que notre travail se positionne. La cytogénétique étudie les phénomènes génétiques au niveau de la cellule (au niveau chromosomique) sans la nécessité d'extraire l'ADN. Elle permet d'étudier le nombre et la structure des chromosomes.

En effet, les chromosomes de la caille japonaise *Coturnix japonica*, sont en nombre de 78, dont 5 paires de macrochromosomes et 33 paires de microchromosomes en plus d'une paire gonosomique (ZZ pour le mâle et ZW pour la femelle). La caille japonaise est une espèce aviaire de l'ordre des Galliformes et la famille des Phasianidés. Elle est considérée comme un bon modèle expérimental en raison de son cycle reproducteur court (16,5 à 17 jours), sa maturité sexuelle précoce en plus de son coût pas cher et sa manipulation facile au Laboratoire. Sur le plan économique, elle est aussi choisie pour sa production continue d'œuf (une moyenne de 300 œufs par an) et pour la qualité de sa viande savoureuse (**Mills et al.,1997 ; Kayang et al.,2006 ;Ball et Balthrazart ,2012**).

Lors de la description des chromosomes de cette espèce, on a remarqué une non concordance entre le caryotype en bandes GTG et l'idiogramme proposés par Stock et Bunch (1982). Le but de notre travail est de proposer des caryotypes en coloration conventionnelle et en bandes GTG afin d'essayer de lever l'ambiguïté observée.

Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique sur les généralités de l'espèce aviaire, la biologie de la caille japonaise, le développement embryonnaire et la cytogénétique. Nous évoquerons, en particulier, les études réalisées sur deux modèles biologiques aviaires, la caille japonaise et la poule domestique *Gallus gallus domesticus*.

Le seconde chapitre consiste à expliquer notre démarche expérimentale pour le suivi du développement embryonnaire à partir d'œufs de caille japonaise issus du centre Cynégétique du Zéralda (Alger) et d'une ferme d'élevage à El-Kseur. Dans un second temps, nous expliquerons l'établissement des caryotypes à partir des cultures cellulaires issues d'embryons de caille (**Ladjali-Mohammedi et al., 1999**).

Nous présenterons dans le dernier chapitre les résultats qu'on a obtenu, ensuite nous discuterons les points les plus importants. Enfin, nous établirons une comparaison interspécifique des morphologies chromosomiques entre la caille japonaise et le poulet domestique **Stock et Bunch, (1982); Ladjali, (1994)**. A la fin, les perspectives de notre travail seront évoquées.

But du travail

Dans la présente étude , nous envisagerons de décrire de nouveau les chromosomes de la caille japonaise *Coturnix japonica* en établissant ses caryotypes en coloration conventionnelle et en bandes morphologiques GTG dans le but de lever l'ambiguïté sur l'idiogramme proposé par Stock et Bunch (1982) (**Kartout Y,2010**).

Chapitre I :
SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

1-Généralités sur les oiseaux**1.1-Classification**

Les oiseaux sont des vertébrés amniotes, à corps couvert de plumes, à membres antérieurs transformés en ailes, généralement aptes au vol. Ils sont classés dans l'embranchement des vertébrés grâce à des critères spécifiques qui sont : la tête , le tronc et la région caudale (**Boué et Chauton ,1974**) .

1.2-Morphologie

Les oiseaux se subdivisent en trois groupes (**Piscand et al.,2000**)

- Les ratites : oiseaux coureurs, à ailes réduites, de grande taille et des pieds à trois doigts (exemple de l'autruche).
- Les empennes : espèce marine à ailes transformées en nageoires (exemple des manchots).
- Les carinates : on trouve les cailles japonaises, le poulet domestique et autre type d'espèce .

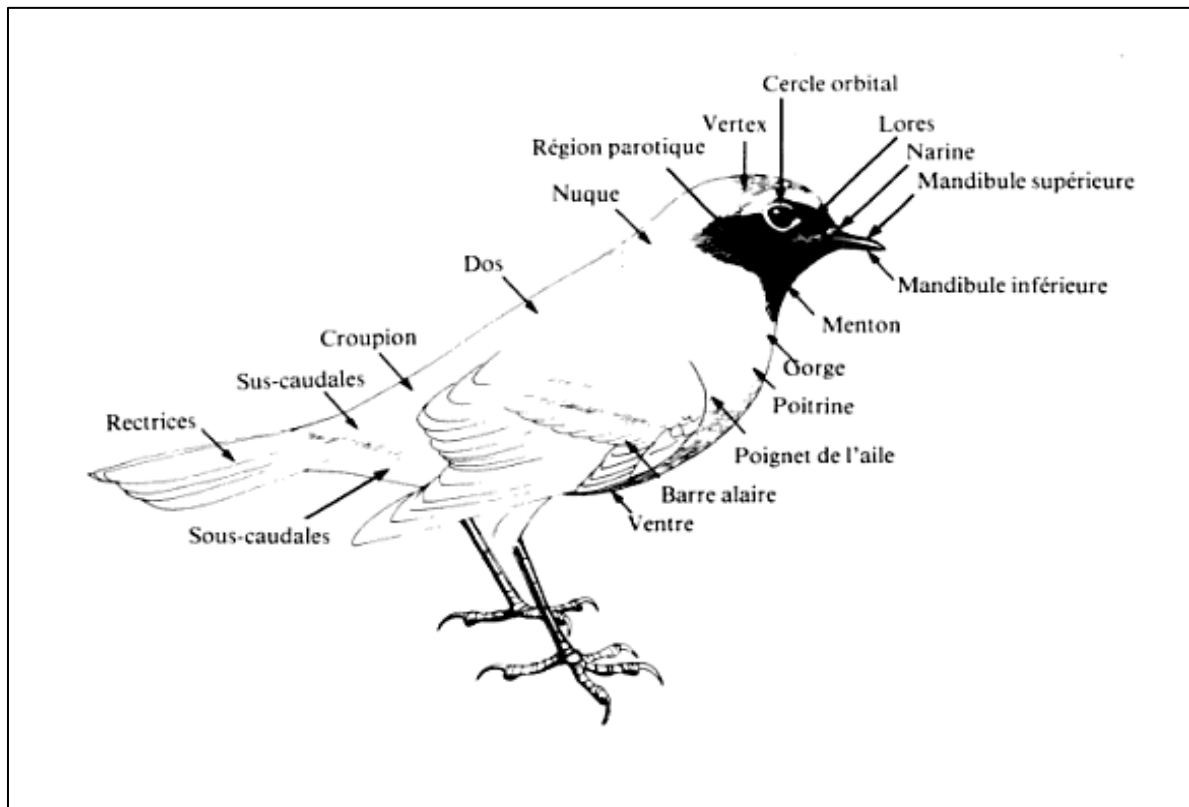


Figure N° 1 : Morphologie d'un oiseau de la famille des carinates (Dejonghe , 1983).

2-BIOLOGIE DE LA CAILLE JAPONAISE *Coturnix japonica*

Il existe près de deux cents espèces de cailles distribuées dans toutes les régions du monde. La caille japonaise est une espèce de domestication récente qui est élevée au Japon pour des raisons économiques (**Kartout ,2010**).

2.1-Classification phylogénique

La caille japonaise est un oiseau appartenant à l'ordre des Galliformes à la famille des phasianidés (poulet , perdrix , ...) et au genre des *Coturnix* (**Sharma et al., 2001 ;Zlotina et al.,2012 ; Kawahara et al.,2013**) .

Le genre ***Coturnix*** comporte différents types d'espèces de caille, d'où leur nom commun ***Coturnix*** . Les différentes espèces ainsi que leur répartition géographique sont illustrées dans le **tableau N°1**.

Tableau N°1 : différentes espèce de caille du genre *Coturnix* et leurs répartition géographique (Sharma et al., 2001 ;Fuller et al.,2004).

Différentes Espèces	Distribution géographique
Caille des blés (<i>Coturnix coturnix</i>)	De la grande –Bretagne à la chine centrale, l'hivernage en Afrique.
Caille japonaise (<i>Coturnix japonica</i>)	Est de la chine
Caille nattée (<i>Coturnix coromandelica</i>)	Sud du continent indien
Caille arlequin (<i>Coturnix delogorguei</i>)	Sud de l'Afrique
Caille des chaumes (<i>Coturnix pectoralis</i>)	Sud de l'Australie
Caille tasmane (<i>Coturnix ypsilophora</i>)	Indonésie, la Nouvelle-Guinée et en Australie
Caille peinte de chine (<i>Coturnix chinensis</i>)	De l'inde au Sud-est de l'Australie
Caille Blue (<i>Coturnix adansonii</i>)	Sud de l'Afrique

2.2-Répartition géographique

L'ancêtre de la caille japonaise est un oiseau migrateur hivernant au sud de la Chine, sur les côtes du Japon , la Corée et l'Indochine (**Guillaume , 2010**).Elle a été introduite à Hawaii en 1921 (**Mills et al.,1997**) .

2.3-Domestication de l'espèce

La caille japonaise a d'abord été domestiquée en tant qu'oiseau chanteur, avant que les japonais s'aperçoivent qu'on pouvait l'élever dans un volume faible (**Woodard et al.,1973**).

L'élevage de caille encore appelé **coturniculture**, a commencé dans les années 1300 au Japon, Chine et Corée. L'élevage a été introduit en Europe dans les années 1950 (**Sanchez-Donoso et al.,2012**). La caille japonaise a été importée en occident pour le peuplement des chasses, la reproduction des œufs (**Guillaume , 2010**) mais aussi, elle est considérée comme un animal de Laboratoire, servant pour la recherche en génétique (sa reproduction est plus rapide que celle de la souris) (**Guillaume , 2010 ; Karabag et balcioglu ,2010**).

2.4-Description Morphologique**2.4.1- La biométrie**

Les caractéristiques biométriques de la caille japonaise sont mentionnées dans le **Tableau N°2**.

Tableau N° 2 : Caractéristiques de la caille japonaise

Poids	100 à 160 g (lignées légères) 253 à 280 g (lignées lourdes)
Longueur du corps	120 à 180 mm

2.4.2-La morphologie

La caille japonaise est un oiseau de taille moyenne ou forte, ses ailes sont courtes, ses pattes sont robustes avec quatre orteils griffus (oiseau coureur ou percheur), son bec est robuste et mou à la base avec généralement l'extrémité supérieure recourbée. Ses narines ne sont pas séparées par une cloison. On distingue un dimorphisme sexuel très marqué (**Grassé ,1997**).

2.4.3-Dimorphisme sexuel

La femelle a la poitrine plus claire et tachetée de noir. Elle est aussi un peu plus grosse que le mâle. Celui-ci est reconnaissable par sa gorge plus foncée, brune (couleur caramel) (**Figure N°2**).

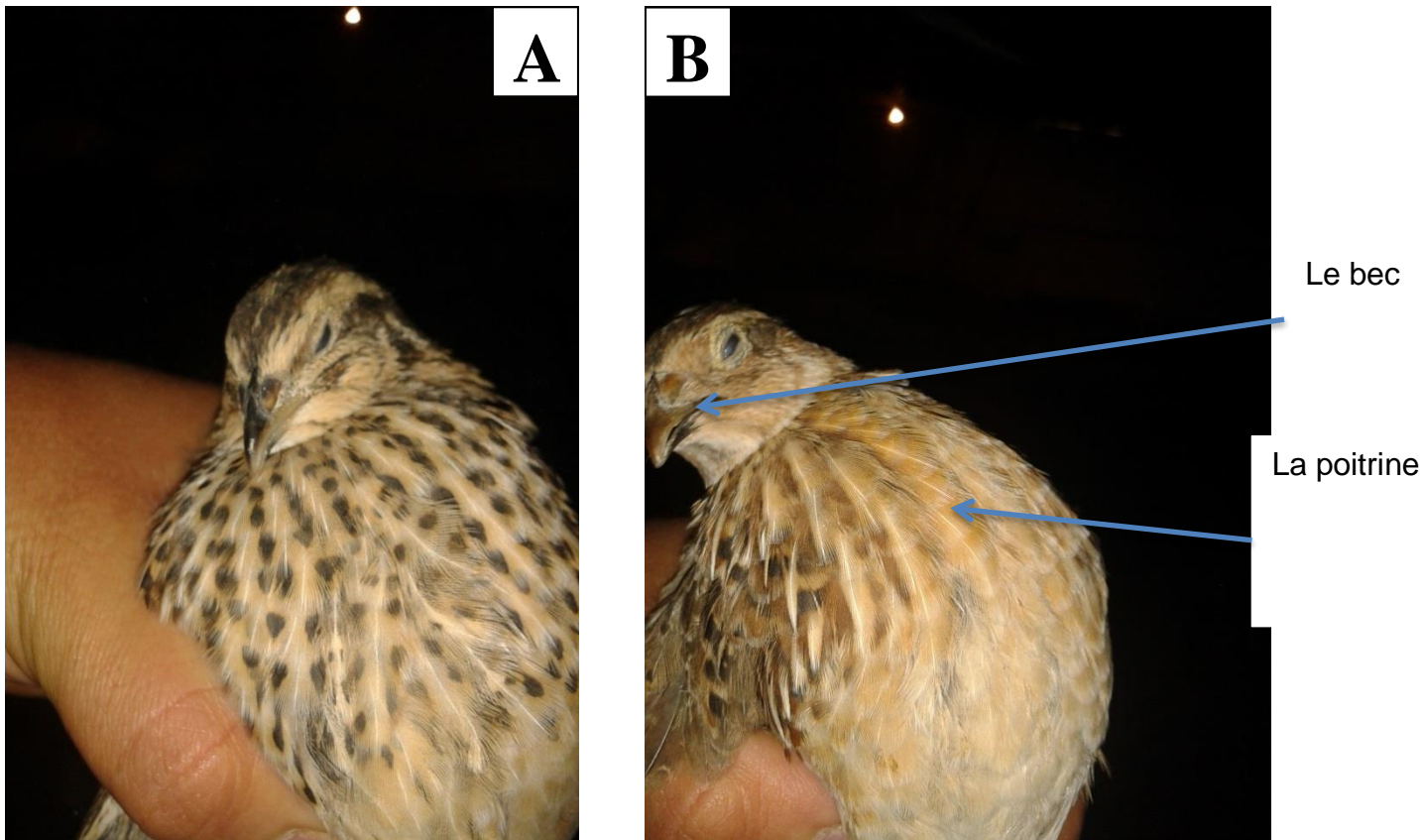


Figure N°2 : Couple adultes de cailles japonaises issu du bâtiment d'élevage Size Akfadou à la wilaya de Bejaia. (A) une femelle. (B) un mâle.

Une variation de la couleur du plumage chez les cailles japonaises peut être observé. Ceci est généralement causé par une mutation à l'intérieur de la région transcrite du gène codant pour la couleur ou au niveau de sa région régulatrice (promoteur). C'est l'exemple de la mutation des gènes MC1R (melanocortin-1 receptor) et ASIP (Agouti signalling protein) pouvant causer un plumage noir (**Figure N°3**) (**Zhang et al.,2013**).

Le gène MC1R code pour une protéine MC1R (à 7 domaines transmembranaire) couplée à la protéine G, les mutations observées sont des substitutions (**Mundy ,2005**). L'accumulation de nombreuses mutations au niveau du gène MLPH

(Melanophilin) est l'une des causes de cette différence de plumage (Bed'hom et al.,2012).



FigureN°3: les différentes couleurs de plumage de la caille japonaise (à l'éclosion) (Zhang et al.,2013).

2.5-habitat

La caille japonaise est une petite volaille de chair et de domestication récente (Ainsworth et al., 2010) . C'est un oiseau terrestre qui habite les domaines herbeux (Mills et al.,1997).

2.6-Régime Alimentaire

La caille a besoin d'une alimentation très riche en protéines. En effet, il lui faut 25 à 30% pour une alimentation de croissance, et 15 à 20% pour une composition d'engraissement. On peut lui donner également du maïs concassé, du blé, le tourteau de soja (beaucoup de protéine, lysine, une faible concentration en calcium et le phosphore plus une concentration élevée en potassium) et du riz cuit **Tableau N°3 (Berrama et al.,2011) .**

Tableau N° 3 : Composition centésimale de l'alimentation selon nous éleveurs

Aliment%	Croissance	Finition
Maïs	55	62
Tourteau de soja	36	23
Soja	5	12
Calcaire	1,8	1,2
Phosphate bicalcique	1,2	0,8
Complément minéral et vitamine	1	1

2.7-Cycle biologique

Le succès de la reproduction est le but ultime et la clé de la survie de toutes les espèces. La reproduction sexuée offre la possibilité d'avoir une grande variabilité génétique au sein des populations. Elle nécessite que les deux individus de sexe différent interagissent pour produire une descendance. Pour ce faire, les organes reproducteurs doivent être fonctionnels (**Ottinger et al.,2002**).

2.7.1-Contrôle hormonal

La reproduction aviaire est assurée par le fonctionnement de l'axe hypothalamus – hypophysaire qui existe aussi chez les mammifères ainsi que d'autres phylums (**Ottinger et al.,2002**). L'hypothalamus est régulé par un neurotransmetteur (neuropeptide) qui se termine par la synthèse de la **GnRH-I** (gonadotropin releasing Hormone-I), la GnRH-I stimule les glandes pituitaires pour la synthèse de la **LH** (luteinizing Hormone) et la **FSH** (follicle stimulating Hormone) qui à son tour stimule l'ovulation chez les femelles (**dubest et Pugeat ,2005**).

2.7.2-Déroulements de la reproduction chez la caille japonaise

La reproduction chez les cailles est spécifique et qui montre quelques caractéristiques. Le mâle met ses plumes sur le dos de la femelle et ensuite essaye de monter sur elle, et quand il arrive à mettre ces deux jambes sur le dos de la femelle tout en saisissant son cou, le mâle plie sa queue sous la queue de la femelle, et la copulation peut se produire (**Halldin ,2005**).

2.7.3-Saison de reproduction

Les Cailles japonaises se reproduisent de façon saisonnière avec une saison de reproduction relativement longue dans le Nord que dans les zones tempérées .Elle peut durer de Mars à Octobre (**Balthazart et al.,2010**).

La reproduction est contrôlée par la photopériode. Les oiseaux adultes restent sexuellement actifs tout au long de l'année tant qu'ils sont exposés à une photopériode simulant les longues journées du printemps et d'été (avec au moins 12h/jour). Dans ce cas, les testicules des mâles restent grands et pleinement actifs avec une production de spermatozoïdes et synthèse de concentration élevée de testostérone qui active le comportement de copulation de sexe masculin. Les femelles conservent également une pleine activité gonadique hypothalamus-hypophysaire et pondent un œuf chaque jour tout au long de l'année (**Ball et balthazart ,2010**).

2.8-ponte

La ponte de la caille japonaise débute entre six et sept semaine d'âge puis s'étant couramment sur huit à douze mois , Au moment du pic , l'intensité de la ponte de la caille japonaise peut dépasser les 100%(on peut avoir plus de 365 œufs /an).La ponte de deux œufs quotidiens par une femelle n'étant pas rare .En un an , la ponte minimale est de 250 œufs / femelle jusqu'à 350 œufs (**Sauveur ,1988**) l'incubation dure environ 16,5 à 17 jours (**Ottinger et al.,2002**).

2.9-Oufs de caille

La composition de l'œuf a été largement étudié par plusieurs laboratoires. L'œuf est très riche en Vitamine, en protéine et en lipides (**Michal et al.,2013**) .L'œuf de caille est de petite taille, mesure environ 30 mm et pèse 10g (**Finsworth et al., 2010**). Il est composé de 65% d'eau, 12% de protéine, 10% de graisse, 10% de calcite et 3% d'autres composites (**Moigne et Fourcier ,2004**). L'enrichissement de l'alimentation des cailles en graines de line et de caroténoïdes, nous donne des œufs qui sont riches en oméga-3 et une augmentation de la concentration de la vitamine A dans le jaune d'œuf (**Nau et al.,2010**).

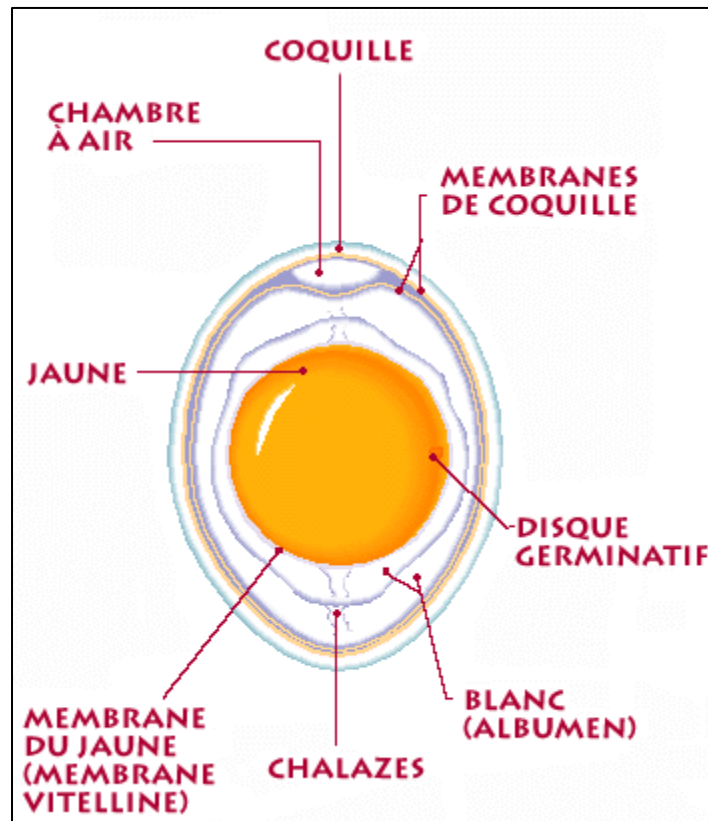


Figure N°4 : structure interne de l'œuf d'oiseau quelque heure après l'incubation (Nau et *al.*,2010).

3-Le développement embryonnaire de l'espèce aviaire

L'embryon aviaire constitue un modèle particulièrement favorable pour l'étude de la dynamique cellulaire au cours du développement. Il est en effet possible non seulement d'opérer l'embryon dans l'œuf aux stades où les organes se constituent, où les tissus s'individualisent et où les cellules se différencient, mais d'observer l'évolution des embryons sous le microscope (Douarin ,2007 ; Martal , 2002).

Le développement embryonnaire chez la caille japonaise se déroule pendant 16,5 à 17 jours d'incubation (Patil Bhagat et *al* , 2012). Pour le poulet domestique (*Gallus gallus domesticus*), espèce apparentée à la caille japonaise, son développement est de 21 jours d'incubation. En effet, le poulet domestique, est de l'ordre des Galliformes, la famille des phasianidés. La taille de leurs Embryons est à peu près identique chez les deux espèces à des stades précoces du développement (Douarin ,2007).

3.1-Stades du développement embryonnaires

La période du développement de la caille japonaise et du poulet domestique est subdivisée en 46 stades comme nous le montre le tableau N°4

Tableau N°4 : Comparaison entre les étapes du développement de la caille japonaise et du poulet domestique (Ainsworth et al ,2010)

Les stades de Développement selon HH(Hamburger et Hamilton)	Caille japonaise (HH .1951)		Poulet domestique (HH. 1951)	
	Période d'incubation	Nombre de somites	Période d'incubation	Nombre de somites
4	18-19h		18-19h	
5	19-22h		19-22h	
6	23-25h		23-25h	
7	23-26h	1	23-26h	1
8	26-29h	4	26-29h	4
9	29-33h	7	26-33h	7
10	33-38h	10	33-38h	10
11	40-45h	13	40-45h	13
12	45-49h	16	45-49h	16
13	48-52h	19	48-52h	19
14	50-53h	22	50-53h	22
15	50-55h	24-27	50-55h	24-28
16	51-56h	28	51-56h	26-36
17	52-64H	29-32	52-64h	37-43
18	72h	36-40	72h	44
19	3jours		3-3,5jours	
20	3,5jours		3-3,5jours	
21	3,5jours		3,5jours	
22	4jours		3,5-4jours	
23	4jours		4jours	
24	4jours		4jours	
25	4,5jours		4,5jours	
26	4,5-5jours		4,5-5jours	
27	5jours		5jours	
28	5,5jours		5,5jours	
29	5,5-6jours		6jours	
30	6-6,5jours		6-5jours	
31	6,5jours		7jours	
32	7jours		7,5jours	
33	7jours		7,5-8jours	
34	7,5jour		8jours	
35	8-8,5jours		8-9jours	
36	8-9jours		10jours	
37	9,5jours		11jours	

38	9,5-10jours		12jours	
39	10,5-11jours		13jours	
40	11jours		14jours	
41	11,5jours		15jours	
42	12-13jours		16jours	
43	14jours		17jours	
44	15-16jours		18jours	
45	16-16,5jours		19-20jours	
46	16,5jours		20-21 jours	

En effet, selon les données du **tableau N°4** , on remarque qu’au moment de l’incubation des œufs jusqu’à 72 h d’incubation, les stades de développement de la caille et du poulet sont presque les mêmes . A partir de 72h d’incubation, on remarque une accélération dans le développement de la caille par rapport à celui du poulet. A partir du stade 19 y a la disparition des somites et cela est dû à leur transformation (spécialisation) en différent membre pour former le corps (**Ainsworth et al.,2010**) .Les caractéristiques des différentes stades sont mentionnées sur le **Tableau N°5**

Tableau N°5 : Quelques caractéristiques principales du développement de la caille japonaise (Ainsworth et al., 2010)

Les stades de la caille japonaise	Temps de l’incubation	Caractéristiques du stade
4	18-19h	Allongement de la ligne primitive
5	19-22h	Les Notochordes sont visibles
6	23-25h	la tête apparait
7	23-26h	1 somite
8	26-29h	4 somites
9	29-33h	7 somites
10	33-38h	10 somites
11	40-45h	13 somites évidents, cœur inclinée vers la droite
12	45-49h	16 somites et apparition du nerf optique
13	48-52h	19 somites
14	50-53h	22 somites, le premier et le deuxième arc branchial sont visible
15	50-55h	24-27 somites et le troisième arc branchial est définie
16	51-56h	28 somites, épaissement d’une crête définit la 1 ^{ere} apparition du bourgeon de l’aile
17	52-64H	29-32 somites, le bourgeon de patte est visible

18	72h	1 ^{er} allantoïde apparait
19	3jours	Les yeux restent non pigmentés
20-21	3,5jours	L'allantoïde devient vésiculaire
22	4jours	Pigmentation des yeux
23-24	4jours	Les bourgeons des membres égaux en largeur et en longueur
25	4,5jours	Distinction du coude et du genou
26	4,5-5jours	Délimitation des orteils
27-28	5-5,5jours	Le bec peut être identifié
29	5,5-6jours	Le pli du coude de l'aile est visible
30-34	6-7,5jours	Papille scléral visible
35	8-8,5jours	La paupière commence à envahir la surface du globe oculaire
36-37	8-9,5jours	Pigmentation en noire et visible sur le dos
38	9,5-10jours	Pigmentation en noire est visible sur le crâne
39	10,5-11jours	Augmentation notable de la longueur de toutes les plumes pigmentées
40-41	11-11,5jours	Germes des plumes pigmentées sont présents dans la région péri-oculaire
42	12-13jours	Pigmentation sur les orteils, longueur du bec =2,3mm et longueur du 3 ^{ème} orteil =8,6mm
43	14jours	Longueur du bec=2,6mm et longueur du 3 ^{ème} orteil = 9,4mm.
44	15-16jours	Longueur du bec=3,0mm et longueur du 3 ^{ème} orteil = 10,8mm.
45	16-16,5jours	Longueur du bec= 3,5mm et longueur de 3 ^{ème} orteil = 11,9mm.
46	16,5jours	Eclosion des œufs

4-Cytogénétique des oiseaux**4.1-Historique de la Cytogénétique**

C'est à la fin du siècle dernier (1885) que Weisman, Strasburguer, Kollicker et Hertwig ont indépendamment conclu que la chromatine était la base physique de la transmission des caractères. Toute une série de travaux ont été accomplis, par la suite, et ont confirmé cette théorie (**wanson ,1958**).

La culture cellulaire a été utilisée, pour la première fois, comme source de cellule en division. La découverte du choc hypotonique, qui entraîne le gonflement des cellules par effet osmotique en facilitant l'éclatement des cellules, permet d'obtenir des préparations métaphasiques (**Hsu ,1952**). Le caryotype de l'homme et d'un nombre considérable d'espèces a ainsi pu être établi.

La cytogénétique a connu dès les années 70, un développement considérable avec la mise au point des techniques de coloration et de marquages chromosomiques (**Caspersson et al.,1970**). L'appariement des chromosomes homologues et leur classification selon les critères morphologiques sont devenus possibles pour chaque espèce. Après divers traitements (dénaturation ou substitution d'un composant de l'ADN par un analogue chimique) des bandes apparaissent sur les chromosomes permettent de les identifier et de détecter d'éventuelles anomalies structurales (**Ladjali ,1994**) Actuellement, le développement des techniques de biologie moléculaire permet d'identifier, d'isoler et de séquencer des fragments d'ADN. Il est alors non seulement possible d'identifier des gènes, mais aussi, de les associer à des régions Chromosomiques précises. Ainsi, la localisation de gènes important par leur fonction biologique, a permis de construire les cartes physiques Chromosomiques de l'homme et des animaux domestiques (**Hayes ,1993 ; De Sario albertina et al., 1995 ; Ladjali Mohammedi et al., 2001**).

4.2-Caractéristiques du caryotype aviaire

Les oiseaux sont des vertébrés qui possèdent un nombre de chromosomes diploïdes très élevé , leur caryotype comporte approximativement 80 chromosomes ($2n =80$). Les chromosomes aviaires se subdivisent en 2 classes : les macrochromosomes (on trouve 6 à 10 paires avec une paire de chromosome sexuel) et les microchromosomes (30 à 34 paires) (**Fillon , 1998**). Les premières études ont révélé

que, le génome de l'espèce aviaire est nettement plus petit que ceux des mammifères, environ 48% pour la souris. Le génome aviaire se différencie de celui des mammifères dans l'organisation de leurs chromosomes sexuels. Les femelles sont hétérogamétiques ZW tandis que les mâles sont homogamétiques ZZ, contrairement aux mammifères (**Ellegren, 2005**).

Les microchromosomes sont typiques des génomes d'oiseaux, et leur importance génétique est loin d'être négligeable. En effet, ils représentent environ un quart à un tiers du génome total alors qu'ils contiennent plus de 50% des gènes (**Santa Barbara, 2011**).

4.3-Nomenclature et structure des chromosomes

4.3.1-Nomenclature

On appelle caryotype, l'ensemble des chromosomes que contient le génome d'un individu. Le nombre et la structure des chromosomes sont la caractéristique d'une espèce donnée. Les chromosomes d'un génome sont caractérisés par leurs tailles, la position de leurs centromères et leur profil de bande. Chaque chromosome comporte un centromère qui contient le Kinétochore correspondant au centre d'organisation des microtubules responsables de la fixation des chromosomes au fuseau mitotique lors de la mitose. En métaphase, les deux chromatides sœurs sont unies au niveau du centromère (**Vaubourdolle, 2007**).

4.3.2-Organisation des chromosomes

Le matériel génétique chromosomique des cellules de la plupart des eucaryotes est constitué de molécule d'ADN (Acide désoxyribonucléique) linéaire, chacune contenant plusieurs millions de nucléotides dont l'enchaînement précis détermine l'information génétique de chaque organisme. Dans le noyau cellulaire, l'ADN est généralement associé à d'autres protéines dites « histones » (interviennent dans le repliement des molécules d'ADN)(**Bibé, 2000**).

4.3.3-Morphologie des chromosomes

Selon la position du centromère, on distingue 4 types de chromosome (Figure N°6 (A)) (Brodeur et Toussaint ,2007).

- Chromosome Métacentrique : le centromère est au centre, il divise le chromosome en 2 chromatides de taille égale (Figure 6 a 1).
- Chromosome Submétacentrique : le centromère est un peu loin du centre, on distingue un bras court et un bras long (Figure 6 a 2 et 6 b).
- Chromosome Télocentrique : le centromère est situé près d'une extrémité de chromatides (Figure 6 a 3).
- Chromosome Acrocentrique : le centromère est situé au niveau de l'extrémité de la chromatide (Figure 6 a 4).

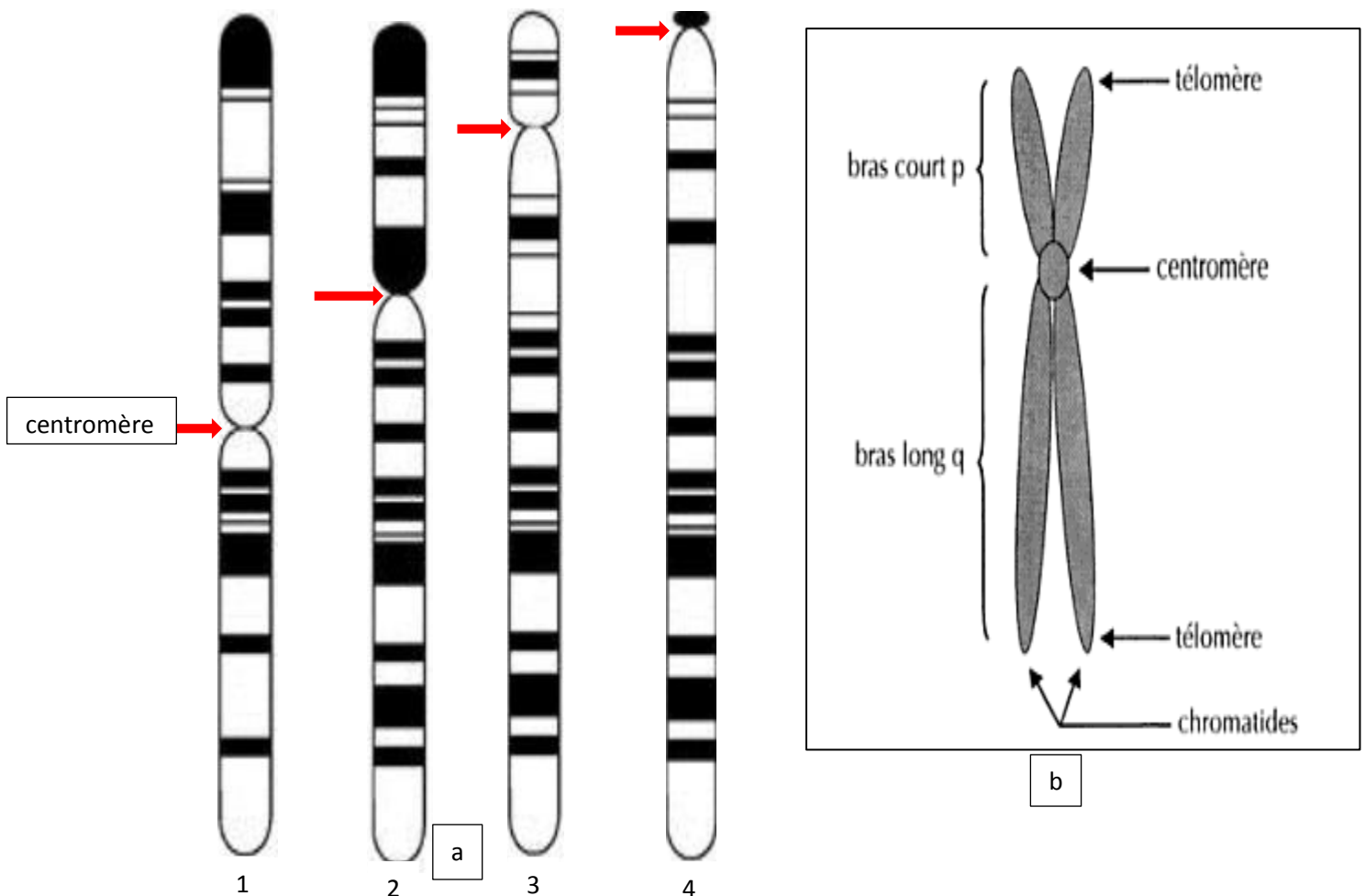


Figure N°5 : Morphologie des chromosomes en métaphase (Vaubourdolle ,2007 ;Brodeur et Toussaint ,2007).(a) chromatides,(b) chromosome .

4.4-Marquage chromosomique en bandes

Le marquage en bandes permet d'obtenir des bandes claires et sombres le long des chromosomes, le profil de ces bandes est caractéristique d'un chromosome donné (**Vaubourdolle ,2007**). La première introduction de techniques de bandes sur les chromosomes humains est dû à **Caspersson et al**, utilisant un marquage fluorescent (moutarde de quinacrine devant s'intercaler dans la double hélice de l'ADN), qui donne aux chromatides une forme d'alternance de bandes plus ou moins fluorescentes. A partir de 1970, d'autres techniques de bandes sont apparues utilisant souvent le colorant Giemsa et qui sont illustrées dans les (**TableauN°6 et 7**) avec leur code (**berger ,2007**).

Tableau N°6 : Code des techniques de marquages chromosomiques (Popescu et al.,1998).

Code	Type de marquage chromosomique
QFQ	Bandes Q, fluorescentes, colorées à la quinacrine.
QFH	Bandes Q, fluorescentes, colorées au Hoechst 33258.
GTG	Bandes G, par action de la trypsine, colorée au Giemsa.
GAG	Bandes G, par action d'une solution saline acétique, colorées au Giemsa.
GBG	Bandes G, par incorporation de BrdU, colorées au Giemsa.
CBG	Bandes C, par action de l'hydroxyde de baryum, colorées au Giemsa.
RFA	Bandes R, fluorescentes, colorées par l'acridine orange.
RHG	Bandes R, par dénaturation thermique, colorées au Giemsa.
RBG	Bandes R, incorporation de BrdU, colorées au Giemsa.
RBA	Bandes R, incorporation de BrdU, colorées par l'acridine orange.
RBP	Bandes R, incorporation de BrdU, colorées à l'iodure de propidium.

La première lettre définit le type de bande, la deuxième la nature de la technique et la troisième le colorant utilisé.

Tableau N°7: Propriétés des bandes chromosomiques selon Bickmore et Sumner (1989) (Popescu et al.,1998).

Bandes G (sombres) avec la technique (GTG)	Bandes R (sombres) avec la technique (RBG)
Riches en AT	Riches en GC
Pauvres en gènes	Riches en gènes
Pauvres en séquences Alu	Riches en séquences Alu
Riches en séquences Line	Pauvres en séquences Line
Réplication tardive	Réplication précoce
Peu de points de cassure	Contient la plupart des points de cassure

4.5-Coloration classique au Giemsa

Cette coloration est la plus utilisée pour colorer et observer au microscope en lumière normale ou en contraste de phase des bandes chromosomiques induites par les différentes méthodes de marquage (Popescu et al.,1998).

4.6-Caryotypes de poule domestique et de la caille japonaise

4.6.1-La poule domestique (Gallus gallus domesticus)

La poule est le modèle aviaire sur lequel sont effectuées les études génétiques et cytogénétiques. C'est aussi une espèce apparentée à la caille japonaise. Le caryotype en bande GTG et RBG standard du poulet réalisé par le comité international de standardisation du caryotype aviaire, confirme que le poulet a un caryotype diploïde qui est sous une forme de $2n=78$. Dont 8 paires de macrochromosomes et une paire de chromosome sexuels, et 30 paires de microchromosomes . La plupart des microchromosomes sont acrocentriques (Figure 7 et 8)(Ladjali,1994).

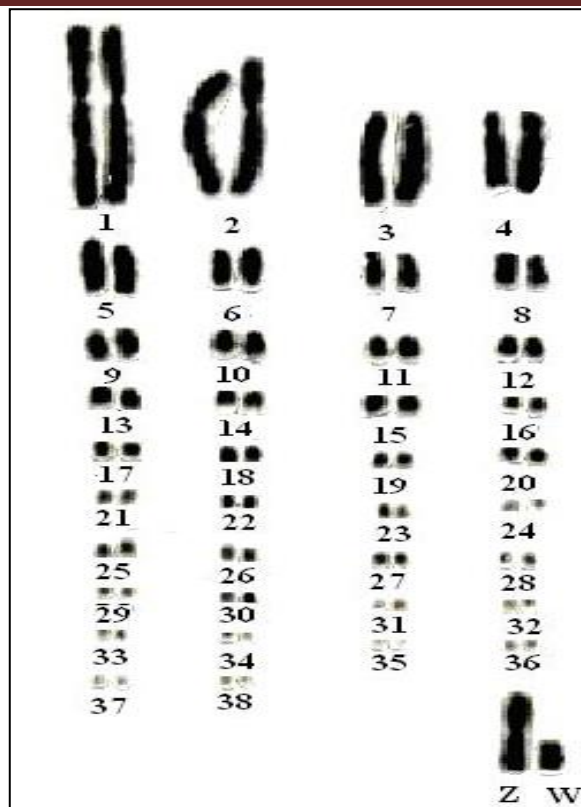


Figure N°6: Caryotype en coloration conventionnelle de la poule domestique (Ladjali, 1994).

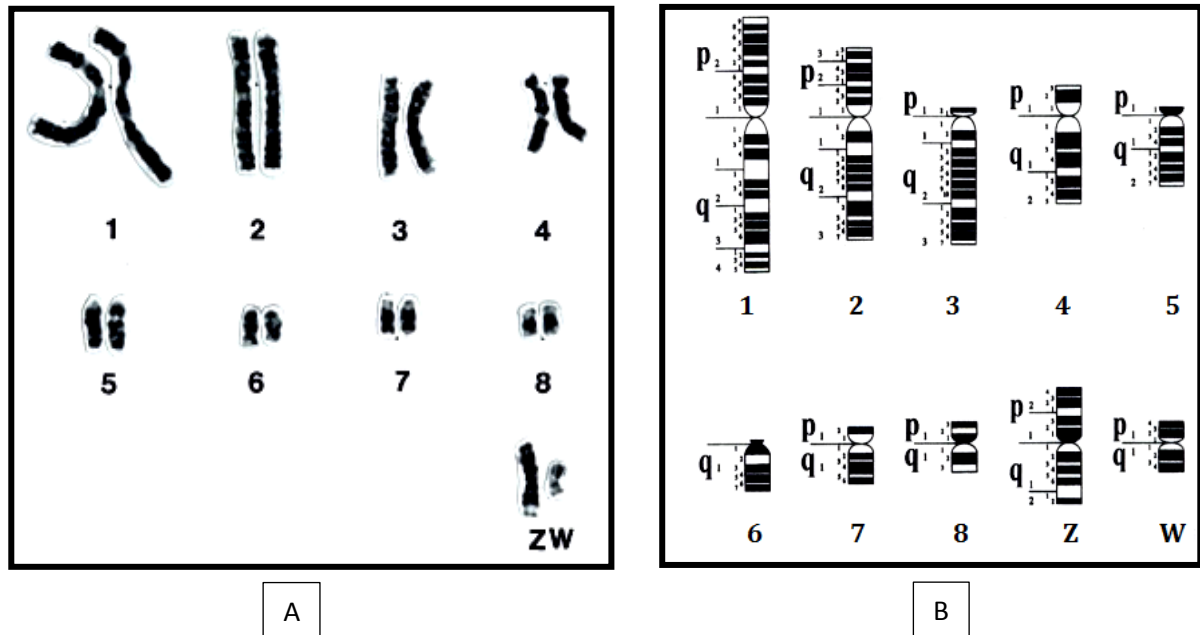


Figure N°7 : Caryotype en bandes GTG de poulet domestique (A), (B) l'idiogramme standard (Ladjali-Mohammedi et al.,1999).

4.6.2-Caille japonaise

Le caryotype en coloration conventionnelle de la caille japonaise révèle un nombre de chromosome diploïde ($2n=78$), dont 6 paires de macrochromosomes et 33 paires de microchromosomes (Ohno et al.,1964 ; Talluri et al., 1965 ;Schmid et al.,1989)(Figure9). Le caryotype en bandes **GTG** révèle que les chromosomes 1 et 2 sont submétacentrique, le 3 ,4, 6,7 et le 8 sont acrocentrique , le 5 est télacentrique (Stock et Bunch , 1982 ;Sazaki,1981)(Figure N°10). Le chromosome Z est métacentrique, alors que le chromosome W est acrocentrique, l'idiogramme de la caille japonaise proposé révèle que, le chromosome 1 est télacentrique et non pas submétacentrique , le chromosome 4 est télacentrique et non pas acrocentrique alors que le chromosome 5 est acrocentrique au lieu d'un chromosome télacentrique (Figure 10) (Stock et Bunch , 1982). Concernant les microchromosomes de la caille japonaise , ils ont longtemps été décrits comme des acrochrocentriques (Fillon.V,1997),alors que plus récemment , Zlotina et al (2012) on démontré que les chromosomes N° 11,12,13,14,et 15 sont submétacentriques, alors que chez le poulet ils sont acrocentriques. La taille du génomes de la caille japonaise est estimé a 1.41 mega base . (Boniface B Kayanget al , 2006).

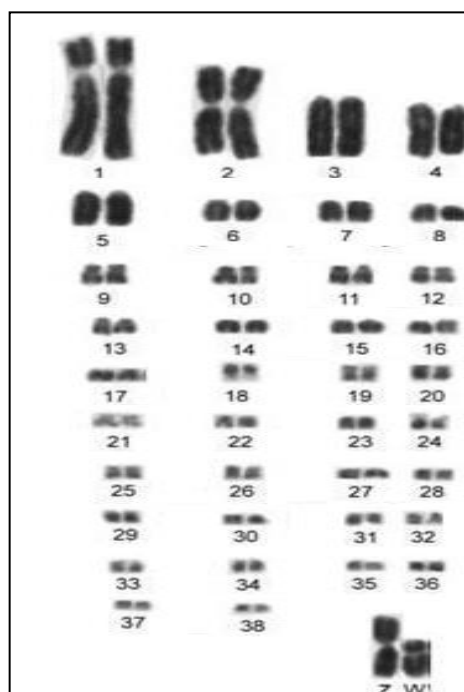


Figure N°8 : Caryotypes en coloration conventionnelle de la caille japonaise femelle (Schmid et al., 1989) .

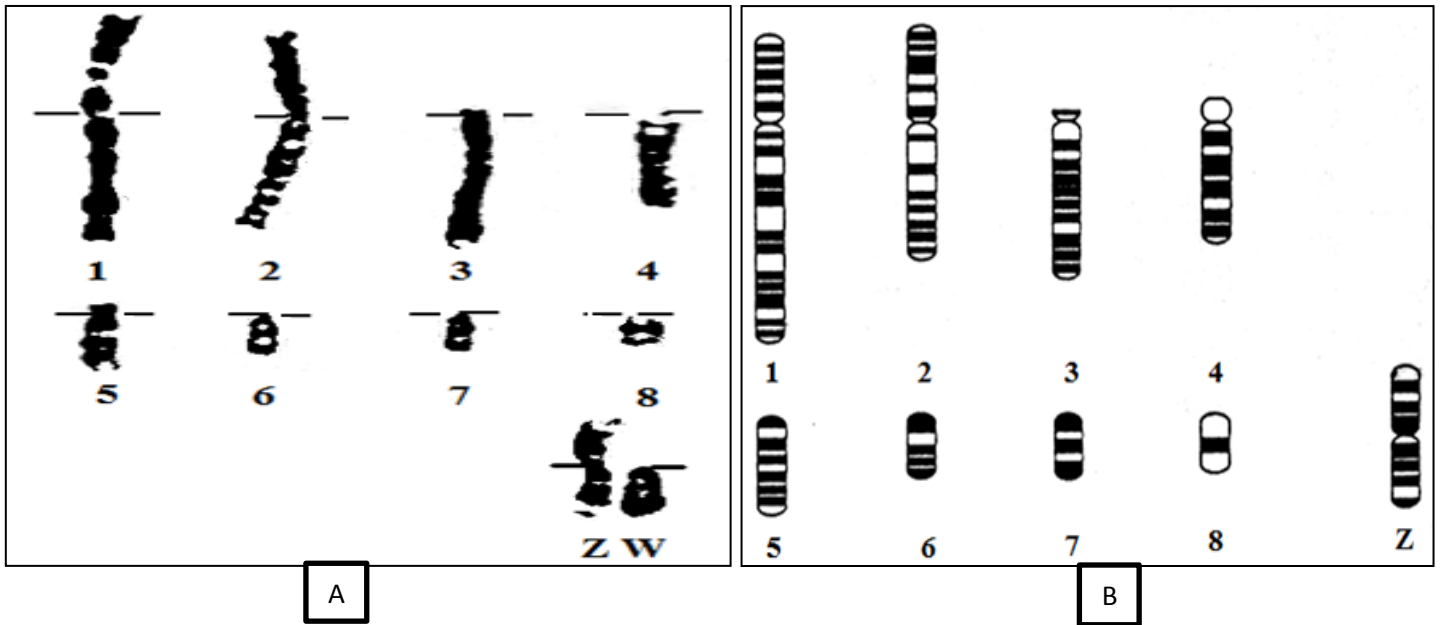


Figure N°9: Caryotype en bande GTG de la caille japonaise femelle (A),(B) l'idiogramme correspond (Stock et Bunch, 1982).

Chapitre II :

Matériels et

Méthodes

1- Lieu d'expérimentation

Notre travail été effectué au sein des laboratoires différents, deux appartenant à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Abderrahmane Mira à Bejaia à savoir (Laboratoires de Génétique et d'Ecologie), et le 3^{eme} à la Faculté des Sciences Biologiques (Laboratoire de Génétique du Développement) de l'Université Houari Boumediene (USTHB) à Alger.

A l'Université de Béjaia, on a réalisé l'incubation des œufs de caille japonaise, le suivi du développement embryonnaire, la coloration et l'observation des lames ainsi que le découpage des chromosomes.

Au niveau de Laboratoire de Génétique du Développement de l'USTHB, les techniques de la culture cellulaire et l'étalement chromosomique ont été réalisées par M^{me} Benmessaoud .

2-Matériel biologique**2.1-Les œufs**

Ce travail est effectué sur 2 lots d'œufs de caille japonaise de différente origine. On a eu à notre disposition un total de 27œufs. Le premier lot est composé de 9 individus provenant du centre Cynégétique de Zéralda où la fécondation s'est déroulée naturellement .Le deuxième lot (de 18 individus) nous a été procuré par un éleveur (élevage à titre personnel) à el-kseur de la Wilaya de Bejaia (fécondation aussi naturelle).

NB :Dans notre travail, l'objectif de l'incubation est d'avoir des embryons de caille japonaise Agés entre 8 et 12 jours, dans le but de réaliser une culture cellulaire à partir de leurs organes , afin d'établir le caryotype de cette espèce .

3-Méthodologie**3.1-culture cellulaire****3.1.1-incubation des œufs****3.1.1.1-Condition de stockage**

Les œufs ont été stockés à température ambiante , dans une pièce à l'abri de la lumière. ils ont été positionnés horizontalement sur un support en papier, le gros bout à gauche , et puis sélectionnés. En effet, on a éliminé les œufs trop gros, trop petits

et déformés . On a inscrit la date et l'heure d'incubation au crayon sur la coquille de chaque œuf pour déterminer le stade au moment de la manipulation.

3.1.1.2-Technique de pesée

On a pesé les œufs avant l'incubation, puis chaque jour , pour suivre l'évolution de leurs poids et cela durant toute la période d'incubation.

3.1.1.3-L'incubation

On a lancé l'incubation des œufs à différents moments dans le but d'augmenter nos chances d'avoir le maximum de stades de développement.

Les œufs ont été incubés dans une étuve non ventilée au niveau du Laboratoire de Génétique(Bejaia) . On a réglé la température de l'étuve à 38 °C , et à l'intérieur , on a mis un bac d'eau pour humidifier le milieu (paramètre d'hygrométrie).

3.1.1.4-Mirage

Après quelques jours d'incubation (5 à 6 jours) on a effectué le mirage des œufs . Le mirage consiste à contrôler les œufs incubés. On retire les œufs de l'incubateur et on les met sur le mire-œuf dans une pièce sombre puis on éclaire par la lampe de l'appareil dont l'objectif est de vérifier le développement a eu lieu .

3.1.1.5-Retournement des œufs

De 0 à 3 jour d'incubation, le retournement des œufs n'est pas obligatoire .Alors que à partir du 3^{ème} jours, il est obligatoire. On a effectué deux rotations par jour , ½ tour le matin et ½ tour le soir , jusqu'au 14^{ème} jour d'incubation, on a mis sur chaque œuf une croix au crayon comme un repère .

3.2-Suivi du développement embryonnaire et techniques d'observation

Du moment que les conditions d'incubation ne sont pas réunies (ventilation), on était obligé de suivre les différents stades afin d'obtenir un embryon âgé de 8à12 jours.

Pour cela, on a utilisé deux techniques d'observation

3.2.1-Technique *In vivo*

Principe

Cette technique nous a permis d'observer des embryons de caille à différents stades d'incubation à travers une petite fenêtre à la surface de la coquille de l'œuf.

Protocole**Ouverture d'une fenêtre**

On a retiré les œufs de l'incubateur dans la même position (ne pas leur faire subir de rotation pour ne pas déplacer l'embryon qui se trouve à la surface du jaune). Le jaune se trouve directement sous la coquille, il est donc préférable de le faire descendre en effectuant un petit trou sur le petit bout, puis on prélève 1 à 2 cm³ d'albumine à l'aide d'une micropipette de 1000 µl (embout stérile). Le trou est ensuite rebouché à l'aide de paraffine fondue déposée avec un pinceau. Après, à l'aide d'une pince robuste, on a découpé une fenêtre sur la coquille, afin d'observer l'embryon sous la loupe binoculaire (ou encore à l'œil nu). Des photos ont été prises pour estimer le stade observé.

Fermeture de l'œuf pour une observation ultérieure

Si on veut remettre l'œuf en incubation pour suivre l'évolution de l'embryon ; il est nécessaire de refermer l'ouverture pratiquée dans la coquille. Deux techniques sont possibles :

- Si l'observation doit être réalisée quelques heures seulement après l'ouverture de l'œuf, il suffit de refermer la fenêtre à l'aide de ruban adhésif transparent de 2cm de largeur ;
- Si l'œuf ouvert doit être conservé longtemps, il est nécessaire de refermer soigneusement l'ouverture avec un anneau de paraffine autour de la fenêtre et en collant à chaud à l'aide d'une spatule.

3.2.2-Technique *in vitro***Principe**

Lorsque on obtient un embryon assez développé ou jugé mort (immobile) on casse l'œuf dans une boîte de pétri afin d'observer à l'œil nu les organes, les membres ou encore les annexes embryonnaires.

Protocole

La manipulation se fait soit à sec sur un support, soit en milieu liquide.

Dans ce cas, on a cassé l'œuf dans un récipient contenant du liquide physiologique (1litre d'eau distillée + 9 g Na-Cl). Puis, on a prélevé l'albumine après la mise de l'œuf dans le liquide à l'aide d'une pipette large à bout rodé. Ensuite, on a détaché l'embryon du jaune à l'aide de pince courbée, puis on a prélevé l'embryon à l'aide d'un verre à montre et on a placé l'embryon dans une boîte de pétri contenant du

liquide physiologique propre. Après, on a observé les embryons soit à la loupe binoculaire (sur fond noir), soit au microscope photonique à faible grossissement.

3.3-prélèvement d'organes et dilacération des cellules

A 12 jours d'incubation, on a retiré l'œuf de l'incubateur et on a sacrifié l'embryon.

Protocol

On a cassé l'œuf dans une boîte de pétrie, on a débarrassé l'embryon du vitellus et on a mis l'embryon dans un liquide physiologique pour nous permettre de bien manipuler. On a retourné l'embryon sur son dos et on l'a décapité avec un ciseau de dissection. On a ouvert l'embryon et on a récupéré les organes internes (tel que le poumon, le cœur, le rein, le foie, le muscle,...). On a mis les organes dans une boîte de pétrie et on les a dilacérés (dans le but de séparer les cellules entre elles).

NB : Lors de la dilacération, on est obligé de travailler rapidement pour garder nos cellules à l'état vivant.

3.4-Mise en culture

- Dilacération d'organes
- Agitation de la masse cellulaire (on a mis la masse cellulaire dans une fiole sur agitateur pendant 10 à 15 mn à une vitesse modérée)
- Transfert de la suspension cellulaire dans un tube de 15 ml
- Après centrifugation (10 mn, 1200RPM) du tube (15ml), le culot a été récupéré puis transféré dans des boîtes de culture (25cm²) en rajoutant 2ml du (RPMI /SVF). Ces dernières ont été mises dans une étuve réglée à 41°C. Après 24h d'incubation, 2 lavages sont effectués pour éliminer les débris cellulaires. L'observation au microscope photonique inversé nous a montré la présence de cellules fusiformes dites Fibroblastes.
- **Trypsination :** Lorsque les cellules sont confluentes et forment 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 en suspension dans du milieu de culture et réparties dans deux boîtes de 75 cm². Chaque trypsination (repiquage) correspond à un passage.

3.5-Récolte

- Une trypsination est appliquée sur les boîtes de 75 cm².

- Rinçage avec de la PBS.
- L'ajout de 2 ml de trypsine à 0,05% pour une durée de 5 mn à une température de 41°C.
- Inhibition de l'action de la trypsine par l'ajout de 3ml de MC (10%) de sérum de veau foetal (SVF).
- Transfert de la suspension dans un tube de 15 ml.
- Centrifugation de la suspension à une vitesse de 1200rpm pendant 10 mn.
- Ajout de 30 ml de colchicine.
- Traitement hypotonique : après la récolte de cellules, on les transfère dans un tube qui contient 7 ml du mélange hypotonique composé de 1 volume de SVF et 5 volumes d'eau distillée (chauffé à 37 °C). Incubation de la suspension cellulaire dans un bain-marie à 37°C pendant 13 mn. Eclatement des cellules et libération du contenu cellulaire (chromosomes métaphasiques).

3.6-Fixation

- Une fixation est réalisée par 1ml de fixateur (3volumes d'éthanol et 1 volume d'Acide Acétique) à 37 °C pendant 5 mn (préservé la structure interne de la cellule).
- Centrifugation de la suspension pendant 10mn à une vitesse de 1200 rpm.
- Le culot est remis dans 6ml de fixateur à 4°C pendant 15 mn. Une nuit après, une autre recentrifugation est réalisée pendant 10mn.
- Le culot est remis dans 3-4 ml de fixateur frais , 24 h après , on étale notre échantillon sur des lames.

3.7-Etalements chromosomiques

La suspension cellulaire est déposée sur des lames préalablement lavées . On laisse tomber 2 à 3 gouttes d'une hauteur de 10 cm sur chaque lame.

3.8-Techniques de marquages chromosomiques

Le marquage chromosomique consiste en la mise en évidence d'une succession de bandes présentant des propriétés fonctionnelles et structurales particulières, caractérisant chaque paire chromosomique. Ceci, grâce à des réactions biochimiques faisant intervenir les composants des chromosomes (ADN et protéines), la réplication de l'ADN et la condensation des chromatides.

3.8.1-Coloration au Giemsa

C'était la coloration la plus utilisée avant la mise au point des techniques de bandes (dites conventionnelle). Cette coloration permet d'avoir une idée précise de la morphologie générale des chromosomes sans induire de marquage. Elle est aussi utilisée pour révéler le marquage chromosomique produit par certains traitements (digestion à la trypsine, dénaturation thermique,...).

Principe

Le Giemsa est un mélange complexe de six groupes de colorants, principalement des thiazines, chargés positivement. Ces derniers, interagissent avec les groupements phosphates de l'ADN, induisant une diminution de la longueur d'onde d'absorbance du colorant qui passe du bleu pâle au bleu foncé (**P.Popescu , 1998**).

Protocole

Les lames sont rincées à l'eau courante puis incubées dans la solution de coloration de Giemsa à 6% (Sigma) pendant 10 à 20 min à température ambiante. Elles sont ensuite rincées abondamment à l'eau courante puis à l'eau distillée. Les lames sont séchées à l'air libre et observées au microscope photonique en lumière blanche. Un appareil photos (Olympus) est utilisé pour photographier les métaphases colorées (G x40 et x100). Les photos sont traitées par le logiciel Adobe Photoshop CS5.

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

Cette technique révèle des bandes dites structurales ou morphologiques faisant intervenir uniquement la structure intrinsèque des chromosomes. Aucun traitement préalable n'est effectué durant la culture.

Principe

Le principe de la mise en évidence de ces bandes est basé sur une digestion enzymatique avec protéolyse.

Protocole

Les lames vieilles de 3 à 10 jours sont plongées pendant 10 à 12 secondes dans une solution de trypsine (0.25%) préparée extemporanément à température ambiante. Elles sont ensuite lavées dans deux bains successifs de PBS⁻ pour inactiver l'action de la trypsine puis colorées avec une solution de Giemsa (6%)

pendant 10 à 20 mn. Les lames sont rincées abondamment à l'eau courante puis à l'eau distillée puis sont laissées sécher à l'air libre.

Les métaphases sont observées au microscope photonique en lumière normale (G x40, x 100) puis prises en photos .

3.9-Observations des lames sous le microscope photonique

Après la coloration et le séchage des lames , on les a observé sous un microscope photonique au grossissement (x10) pour localiser les métaphases puis on est passé aux grossissement (X 100) pour la prise des photos (à l'huile à immersion).

3.10-Etablissement des caryotypes

L'établissement du caryotype de la caille japonaise est réalisé après la prise des photos des métaphases colorées. Les chromosomes sont découpés à l'aide du logiciel Adobe Photoshop CS5. Les chromosomes sont identifiés en comparaison avec le caryotype standard du poulet en bandes GTG (**Ladjali-Mohammedi et al., 1999**).ainsi que le caryotype de la caille japonaise proposé par stock et bunch (1982) Le classement des chromosomes est réalisé selon l'ordre décroissant et la position du centromère (**Pollock et Fechheimer ,1976; Shoffher et al., 1967**).

Chapitre III :

Résultats et Discussion

1-Oœufs et embryons

1.1-Effectif

Tableau N°8 : Récapitulation des effectifs du matériel biologique utilisé

Øufs et embryon	N° du lot	Lot 1(zéralda)	Lot2 (el kseur)
Nombre total		9	18
Nombre d'œufs non fécondés		4	17
Nombre d'Embryons vivants		4	0
Nombre d'Embryons Morts		1	1

Comme le montre le **tableau N°8**, sur un total de 27 œufs de caille japonaise mis à notre disposition, on a eu que 5 œufs qui se sont développés correctement (à des stades embryonnaires assez avancés jusqu'au 12^{ème} jour d'incubation).

En effet , on remarque que c'est le lot N° 1 issu du Centre Cynégétique de Zéralda qui a donné de meilleurs résultats par rapport à celui issu d'une ferme avicole au niveau de la commune d'el-kseur (wilaya de Bejaia) (malgré un effectif important) .

Cela s'explique par le fait que, les conditions de stockage des œufs ont été bien respectées pour le premier lot. Or, pour le deuxième lot, l'objectif des éleveurs étant commercial, les œufs ont été stockés au réfrigérateur à 4 °C, ce qui n'est pas favorable au développement embryonnaire de la caille japonaise.

Ça peut être dû aussi au fait que les œufs ne sont pas du tout fécondés (œufs blancs). En effet, pour le lot 1, sur un total de 9 , on a eu que 5 embryons développés les autres œufs sont soit blancs soit contiennent des embryons morts. Cela est probablement dû au fait que les œufs ont été incubés à Zéralda pendant quelques heures (développement entamé), puis ils ont été retirés de l'incubateur pour les ramener de Zéralda à Bejaia.

Aussi, nos œufs n'ont pas été incubés directement. En effet, ces derniers ont été incubés quelques jours après leur arrivée à Bejaia vu la non disponibilité de l'étuve

au niveau du Laboratoire de Génétique. Le choc thermique a été probablement fatal pour le développement embryonnaire de la caille japonaise.

Une autre cause, c'est que l'étuve utilisée pour l'incubation de nos œufs (de type Eco Cell) n'est pas vraiment adéquate. En effet, l'étuve n'est pas ventilée, donc la condition d'aération n'est pas respectée. L'asfexie des embryons peut être l'une des causes de l'arrêt du développement embryonnaire (cas des embryons morts).

D'autres causes peuvent être citées, telle que la non disponibilité de toutes les commodités dans le Laboratoire de Génétique pour effectuer l'observation de nos œufs sur place. On a dû faire des allers-retours entre le bloc 12 (Laboratoire d'Ecologie) et le bloc 9 (Laboratoire de Génétique) ce qui a forcément joué contre le développement de nos œufs.

Une des causes probables c'est les perturbations qu'a vécu notre université au mois d'Avril (2014) qui correspond à la période où on a incubé nos œufs. En effet, au moment où on devait retourner nos œufs pour empêcher l'adhésion du contenu à la coquille et surtout pour aider les embryons à mieux respirer, l'accès au laboratoire était barré.

1.2-Pesée des œufs

Les œufs utilisés ont été pesés avant toute incubation afin de pouvoir suivre l'évolution de leurs poids le long de la période du développement embryonnaire. En effet, le poids des témoins de chaque lot est représenté sur le **Tableau N°9**

Tableau N°9 : Evolution du poids des témoins en fonction des jours d'incubation (12 jours).

jours	Poids(g) Lot 1	Poids(g) Lot2
0	13,17	09 ,33
1	13,04	09,17
2	12,92	09,01
3	12,80	08,87
4	12 ,67	08,72
5	12,52	08 ,58
6	12,44	08,41
7	12,30	08,26
8	12 ,23	08,10
9	12,15	07,95
10	12,00	07,83
11	11,90	07,68
12	11 ,82	07,60

Cette évolution des poids en fonction des jours est représentée graphiquement sur la **Figure N°11**

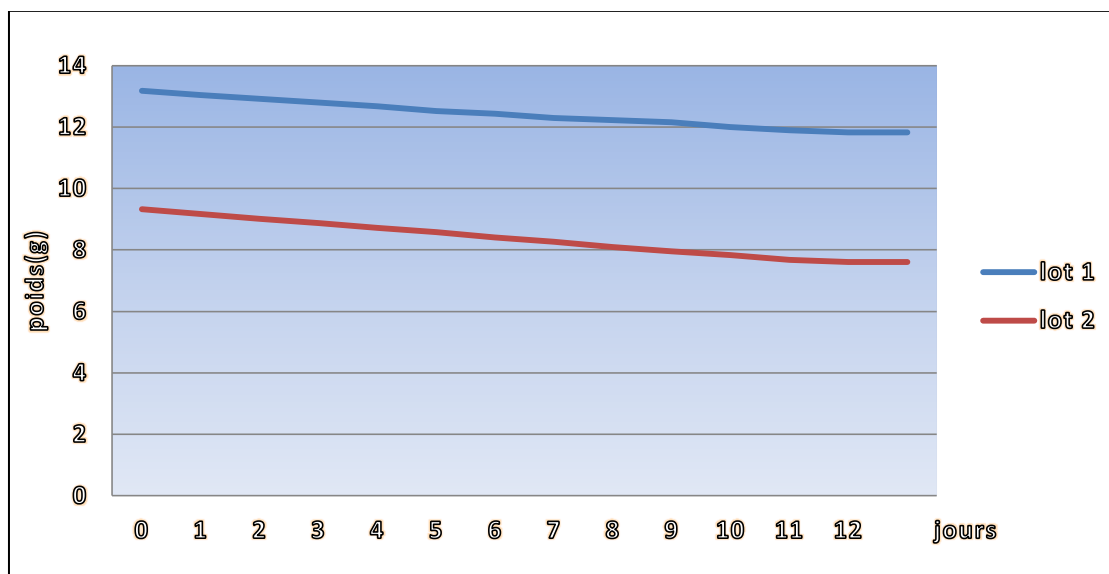


Figure N°11 : Graphes représentant les poids des témoins des deux lots au cours de 12 jours d'incubation

On remarque que les graphes des 2 lots montrent une diminution dans le poids des œufs tout au long de la période de l'incubation. La perte de poids de l'œuf est un paramètre important pour l'incubation. Ce paramètre a été utilisé pour estimer les échanges vitaux de gaz (Paganelli et al., 1978; Rahn et al., 1979) et a été corrélé avec le taux de métabolisme embryonnaire et le développement (Rahn et al., 1980; Burton et Tullett., 1983). L'embryon utilise le glucose libre de l'œuf, après il synthétise ses propres glucides à partir des acides aminés du jaune. Cette néoglucogenèse est effectuée par le foie lorsque l'embryon commence à se différencier (3^{ème} jour); même il utilise le blanc d'œuf comme source de protéines en plus de l'eau et des sels minéraux (Sauveur, 1996).

1.3-Incubation des œufs et suivi du développement embryonnaire

1.3.1-Le mirage

Après 5-6 jours d'incubation, il est nécessaire d'effectuer le mirage afin d'identifier et d'éliminer les œufs éventuellement non fécondés. On se met dans un local obscur et on observe l'intérieur de l'œuf à l'aide d'un mire-œuf. Si l'embryon est en développement, il aura la forme d'une petite araignée rougeâtre constitué du cœur et des artères qui se dispersent (Figure 12). Si l'œuf n'est pas fécondé, il se présentera parfaitement transparent (Fournier, 2005).

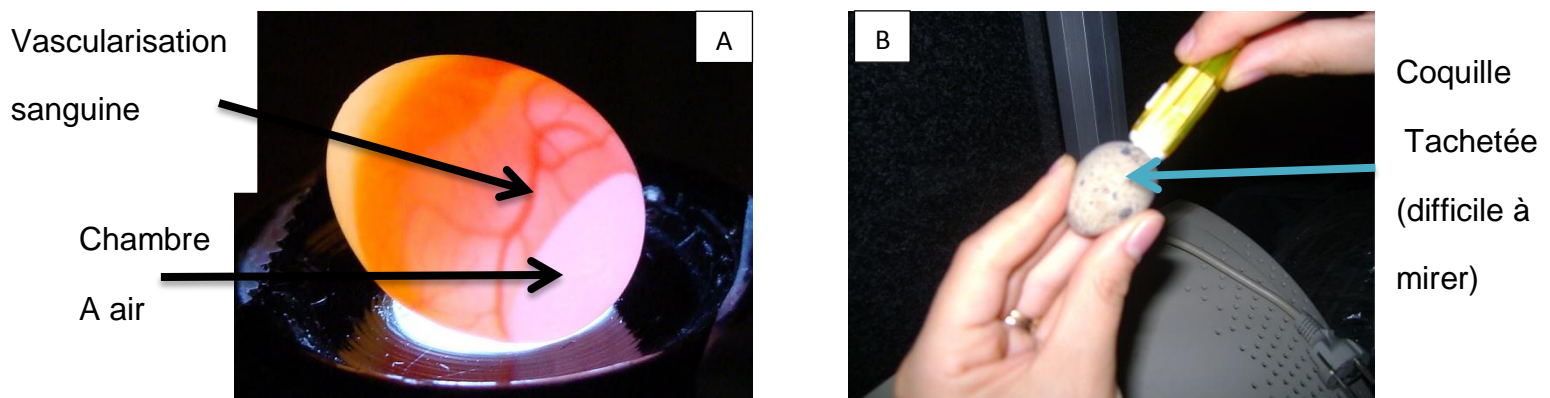


Figure N°12 : Mirage d'un œuf de poulet (A) (Zoughab et al., 2013), (B) caille japonaise (FSNV, Bejaia).

NB : l'œuf de caille ayant une coquille tachetée, est difficile à mirer. En effet, on n'a pas pu mirer nos œufs convenablement (Figure 12B)

1.3.2-Stade du développement embryonnaire

Durant les 12 jours d'incubation qu'on a effectué au niveau du Laboratoire d'Ecologie (FSNV, A-Mira de Bejaia), on a pu avoir que quelques stades du développement embryonnaire de la caille japonaise. Les stades obtenus sont résumés dans le **Tableau N°10**

Tableau N°10 :Tableau récapitulatif de différents stades du développement obtenu jusqu'à 12 jours d'incubation

Estimation de l'âge N° d'embryon	Temps d'incubation	Estimation de l'Age selon (Ainsworth et al., 2010)	Stade HH correspondant
1	3,5	3,5	20-21
2	5,5	4	23-24
3	8	8-9	36-37
4	11	10-11	39-40
5	12	12	41-42

- Pour l'**embryon 1** : après 3,5 jours d'incubation, on a obtenu un embryon vivant. Son Age réel est estimé à 3,5 jours ce qui correspond au stade (20-21) HH (**Figure N°13**) (Ainsworth et al., 2010) .

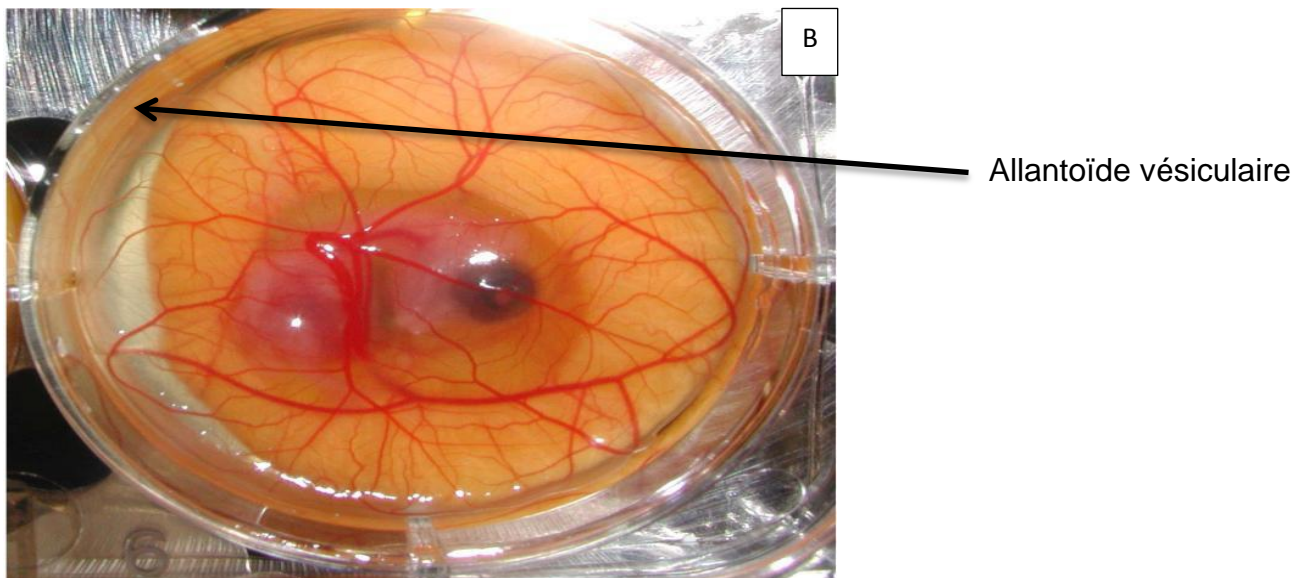
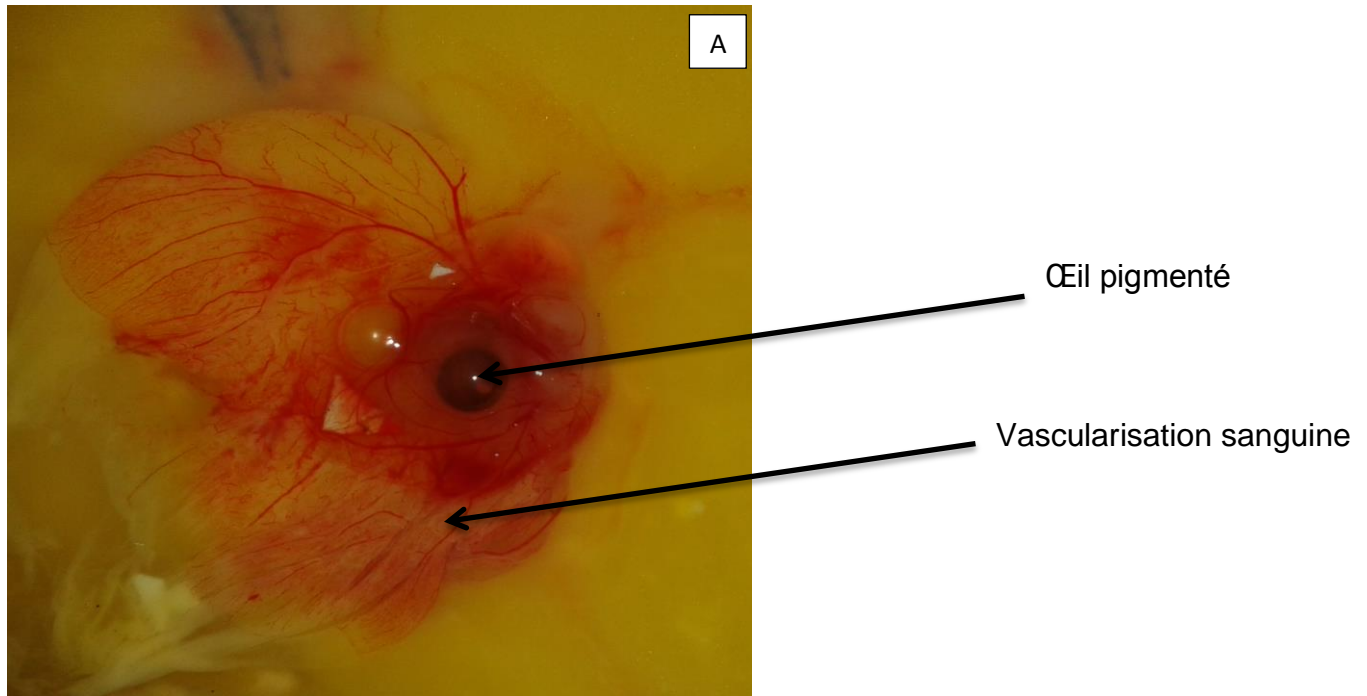


Figure N°13 : Embryons de caille japonaise *Coturnix japonica* de 3,5 jours d'incubation. (A) notre résultat ,(B) selon (Behrooz G.Sharifi et *al.*,2006)

En effet, après comparaison de ces deux figures, on peut dire que nos résultats concordent avec ceux de la littérature. Le développement embryonnaire s'est déroulé correctement malgré que l'étuve n'est pas ventilée. Cela peut être expliqué par le fait que les embryons tant qu'ils sont petits, ils ne demandent pas beaucoup d'oxygène.

- Pour l'**embryon 2** : après 5,5 jours d'incubation, l'embryon obtenu dans le Laboratoire d'Ecologie a été comparé à un embryon du même âge (**Ainsworth et al., 2010**) .

On remarque bien sur la **Figure N° 14** que notre résultat ne concorde pas avec celui de la littérature. Notre embryon est estimé à environ 4 jours d'incubation vue la taille des bourgeons des membres égaux en longueur et en largeur (stade 23-24) HH.

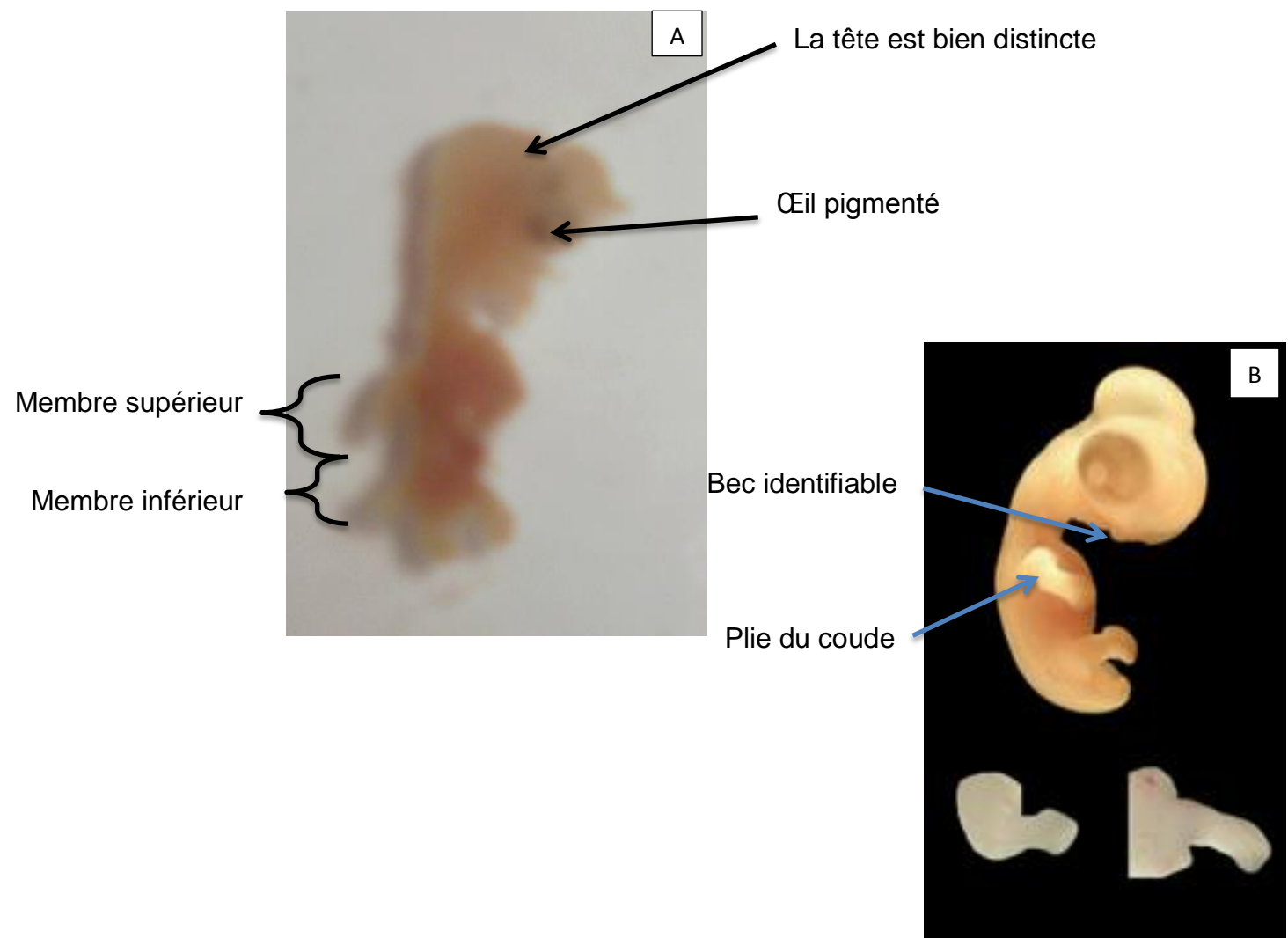


Figure N°14 :Embryon de caille japonaise *coturnix japonica* âgé (A) de 4 jours (issu du Laboratoire d'Ecologie (Bejaia),(B) de 5,5 jours d'incubation (Ainsworth et al ., 2010).

Le développement de notre 2^{ème} embryon a été relativement retardé probablement pour l'une des raisons citées en page 30 notamment la ventilation et le retournement.

- **Embryon 3** : l'œuf a été incubé durant 8 jours. Son âge estimé correspond réellement au temps d'incubation. En effet, après comparaison de notre embryon avec celui de S. Ainsworth (**Figure15**) nous remarquons qu'ils ont le même âge (stade 36 -37) HH.

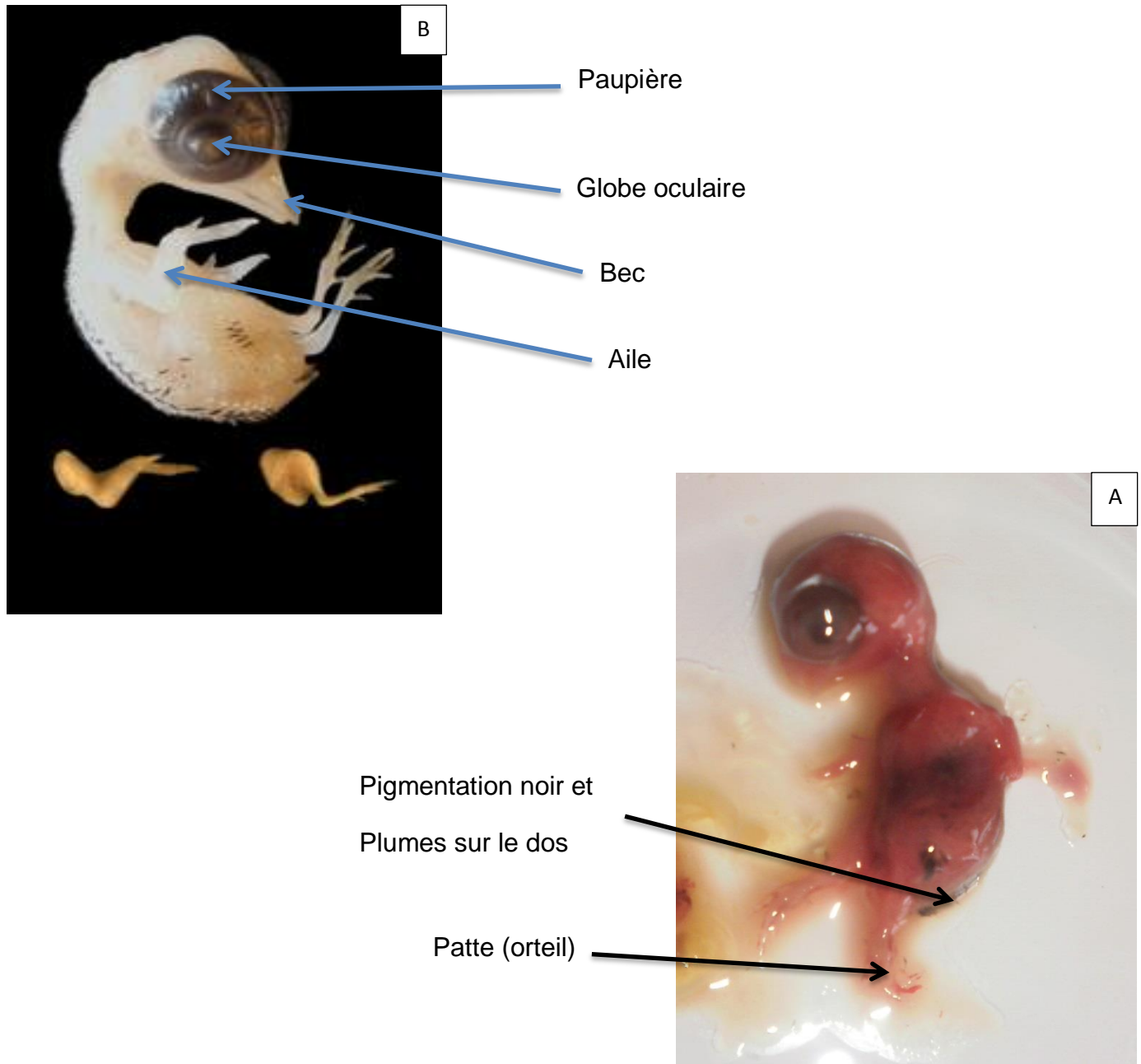


Figure N°15 :Embryon de caille japonaise *Coturnix japonica* âgé de 8-9 jours d'incubation (A) issu du Laboratoire d'Ecologie (Bejaia),(B) celui de Ainsworth et al.,(2010).

- **Embryon 4** : le stade (39 -40) HH a été obtenu après environ 11 jours d'incubation au niveau de notre laboratoire , Notre résultat ressemble à un embryon de 10 -11 jours d'incubation selon **Ainsworth et al.(2010) (Figure16)**

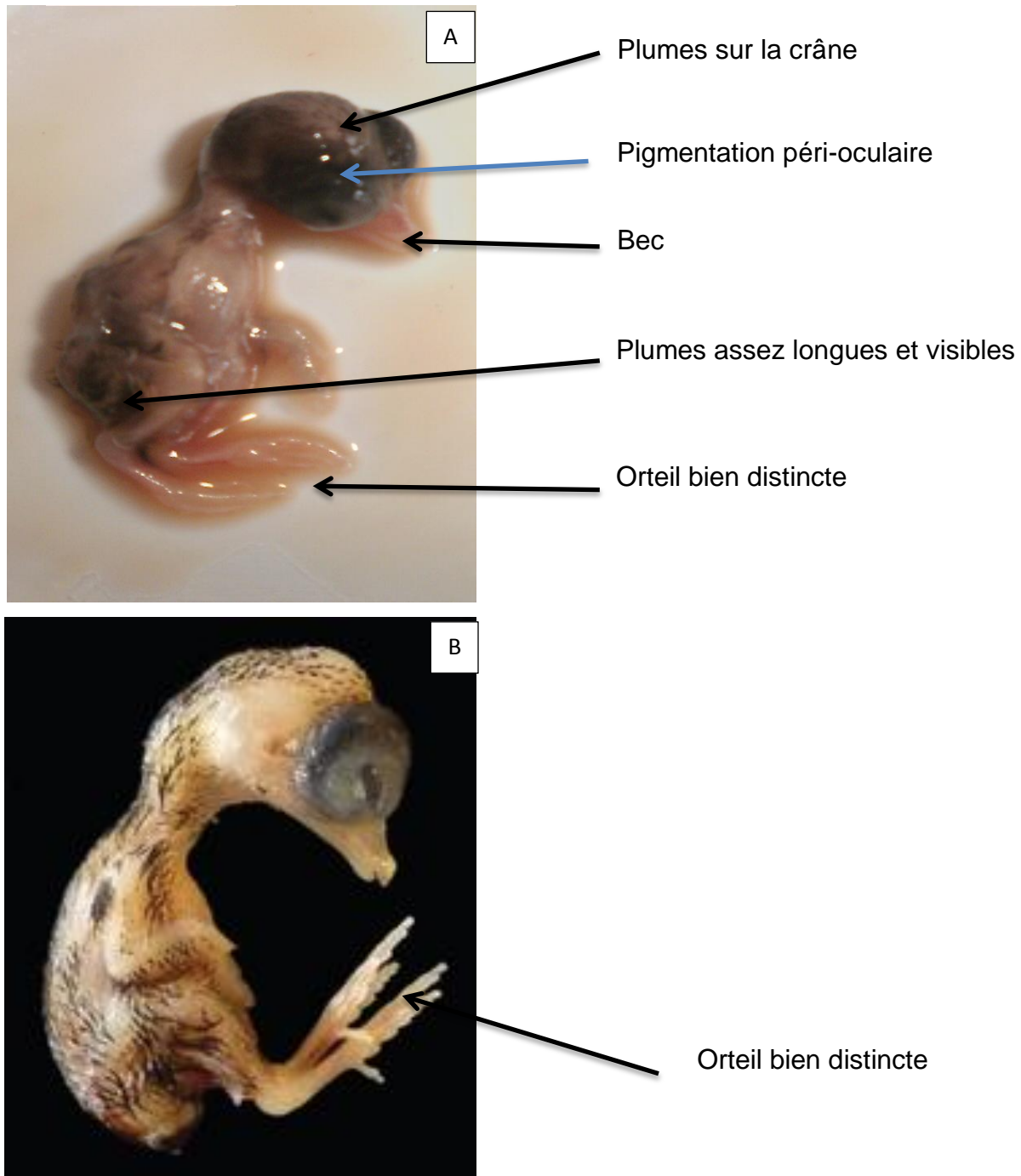


Figure N°16 : Embryon de caille japonaise *coturnix japonica* âgé de 11 jours d'incubation (A) issu du Laboratoire d'Ecologie (Bejaia),(B) selon Ainsworth et al (2010).

- **Embryon 5** : Au bout de 12 jours d'incubation, un 5^{ème} embryon a été estimé à 12 jours vu la présence de plumes au tour des yeux (**Ainsworth et al., 2010**). Notre résultat concorde avec un embryon du même âge illustré sur la **figure17**

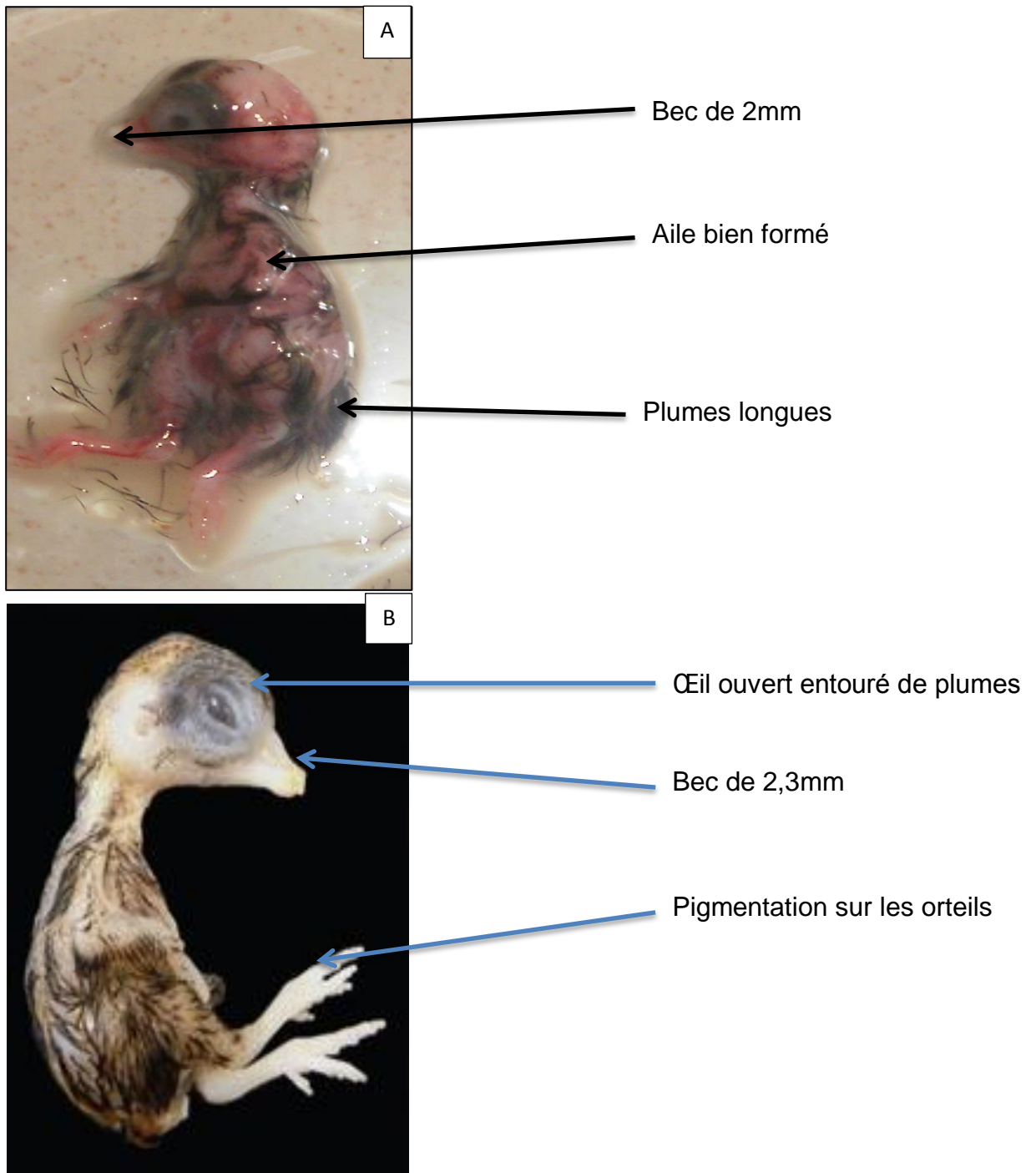


Figure N° 17: Embryon de caille japonaise *Coturnix japonica* âgé de 12 jours d'incubation (A) issu de laboratoire d'Ecologie (Bejaia), (B) selon Ainsworth et al (2010).

NB : Malgré la mort de la plupart des embryons et malgré un effectif assez moyen , on a pu obtenir 5 stades différents. En effet, notre but ultime été d'avoir un embryon âgé entre 8 et 12 jours afin d'effectuer la culture cellulaire chose qui est faite avec succès.

2-Culture cellulaire et étalement chromosomique

2.1-Culture cellulaire

2.1.1-dilacération des organes prélevés

La culture cellulaire n'a pas pu être réalisée au niveau de notre faculté (faute de moyens). Néanmoins on a essayé de simuler les premières étapes. En effet, après incubation des œufs, on a sacrifié les embryons vivants afin de prélever leurs organes vitaux et d'obtenir un potentiel cellulaire pour les mettre en culture dans une étuve réglée à 41°C. Les embryons très jeunes (de 3 à 5 jours d'incubation) ont été entièrement dilacérés car leurs organes ne sont pas distinguables à ces stades (**Figure 18**) .

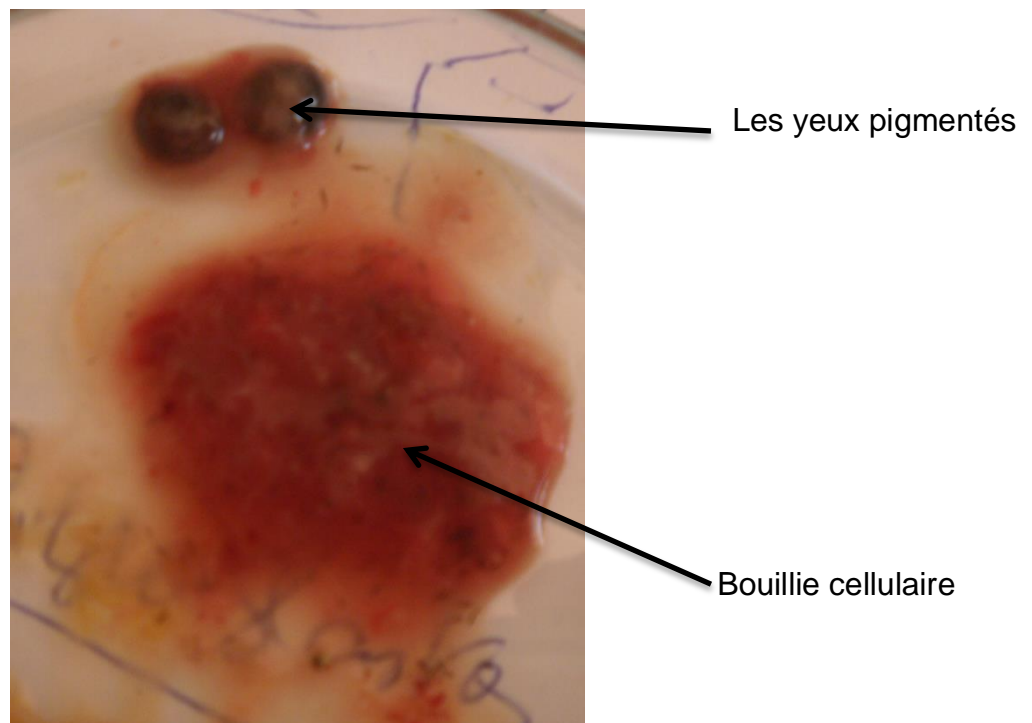


Figure N°18 : Dilacération d'un embryon en entier (âgé de 3 jours). Or , les embryons âgés entre 8 et 12 jours d'incubation ont été décapités , disséqués (**figure19 A**) puis leurs organes tels que (le foie , le cœur , le poumon, le muscle , les reins , ...etc) ont été prélever puis dilacérés dans une boite de pétri (**figure19 B**) .

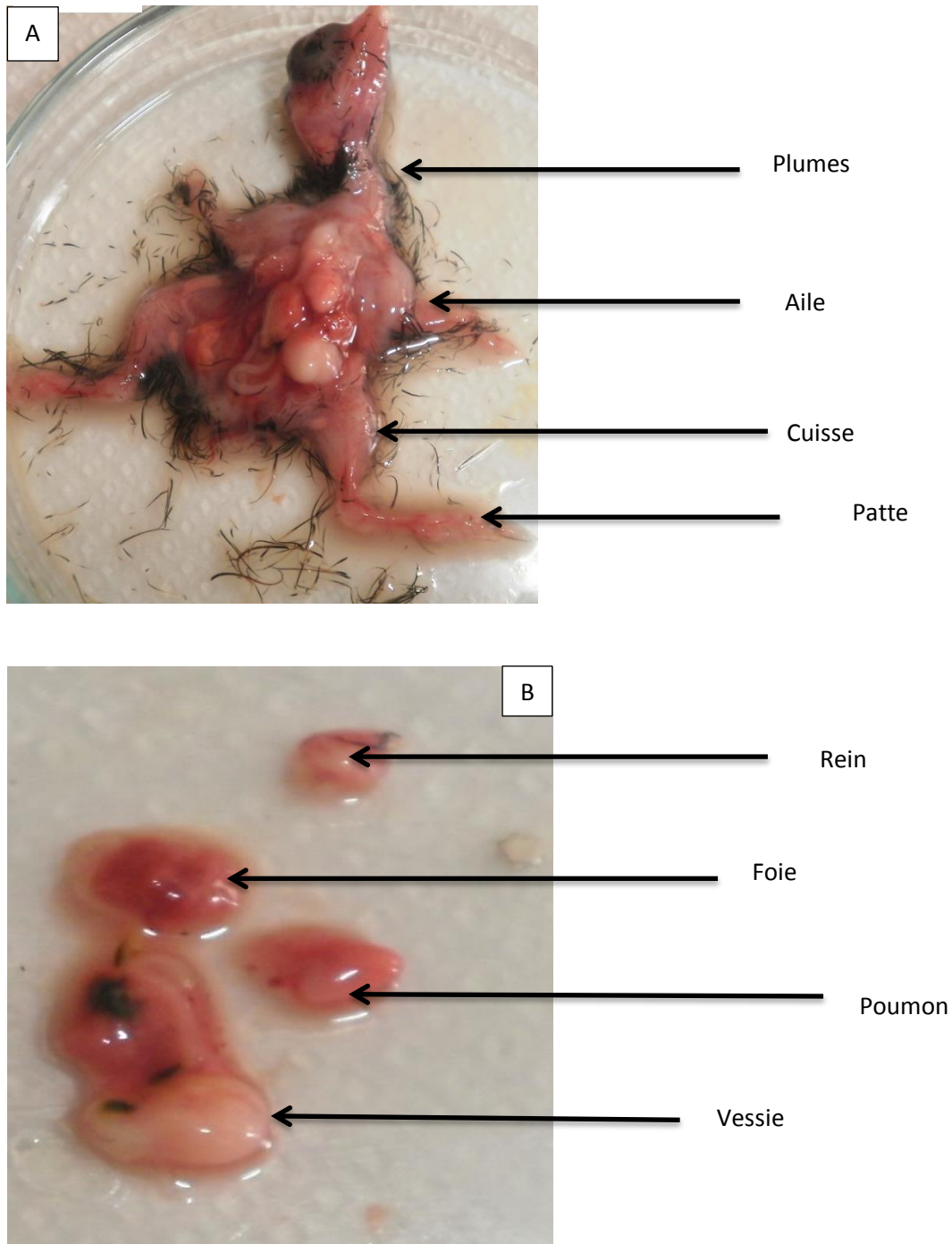


Figure N°19 : Embryon de caille japonaise âgé de 12 jours d'incubation (A) disséquée ,(B) organes à dilacérer .

Une agitation à vitesse modérée a été effectuée pendant 5 mn pour aider les cellules à se détacher entre elles . Cette étape devrait être réaliser en présence de la trypsine (enzyme en suspension qui aide la séparation des cellules) , chose qui n'est pas faite en raison de la non disponibilité de ce produit.

2.1.2-Mise en culture, récolte, fixation , étalement chromosomique

Les étapes ultérieures de la culture cellulaire (de la mise en culture proprement dit jusqu'à l'étalement chromosomique) ont été réalisées au niveau du Laboratoire de Génétique du Développement à l'USTHB par (M^{me} Benmessaoud).

L'observation au microscope inversé a montré la présence de fibroblastes (cellules fusiformes) (**figure 20**)

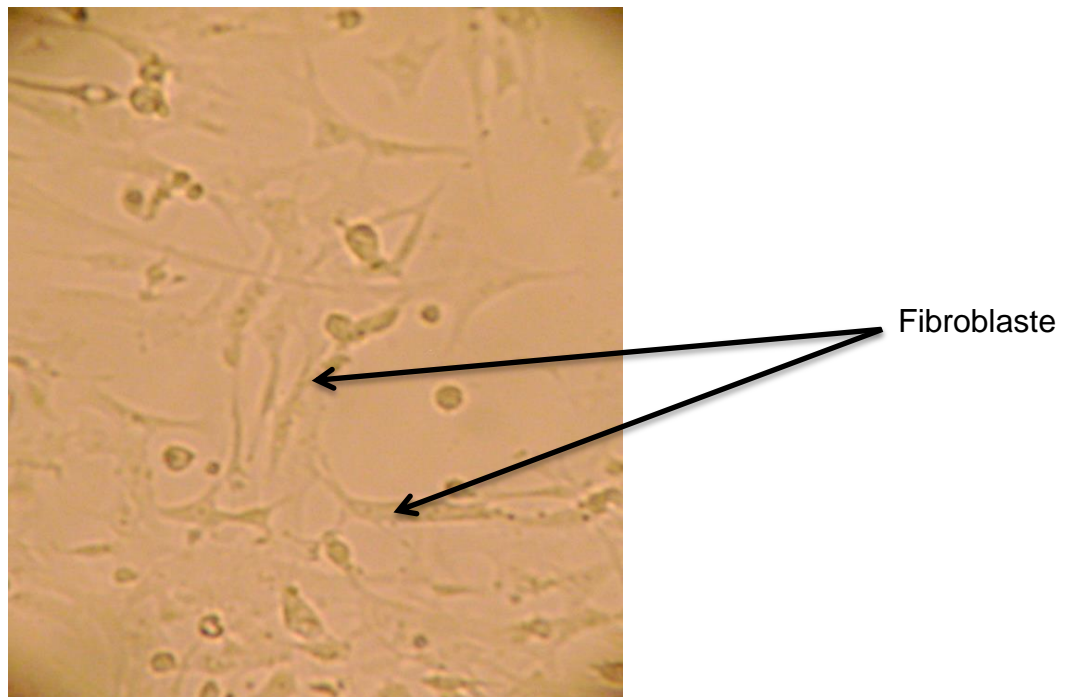


Figure N°20 : Présence de fibroblastes au bout de 24 h de culture cellulaire , observés au microscope inversé (Gx10) (kartout, 2010).

La récolte

Après quelques jours de la mise en cultures et l'application de la trypsine, on a séparé les cellules de fibroblastes du fond de la boîte de 75ml .

2.2-étalements chromosomiques marquages

Les étalements chromosomiques sur lesquels on a travaillé dans la présente étude sont issus des manipulations de M^{me} Benmessaoud (Laboratoire de Génétique du Développement , USTHB) .

Le but de notre travail est d'apprendre le principe de la technique de la culture cellulaire et d'établir les marquages chromosomiques afin de décrire les chromosomes de la caille japonaise et de lever l'ambiguïté observée sur le caryotype proposé par stock et Bunch (1982) .

L'observation des lames colorées au microscope photonique (G x 100) , nous a montré la présence de quelques métaphases (**Figure21**).

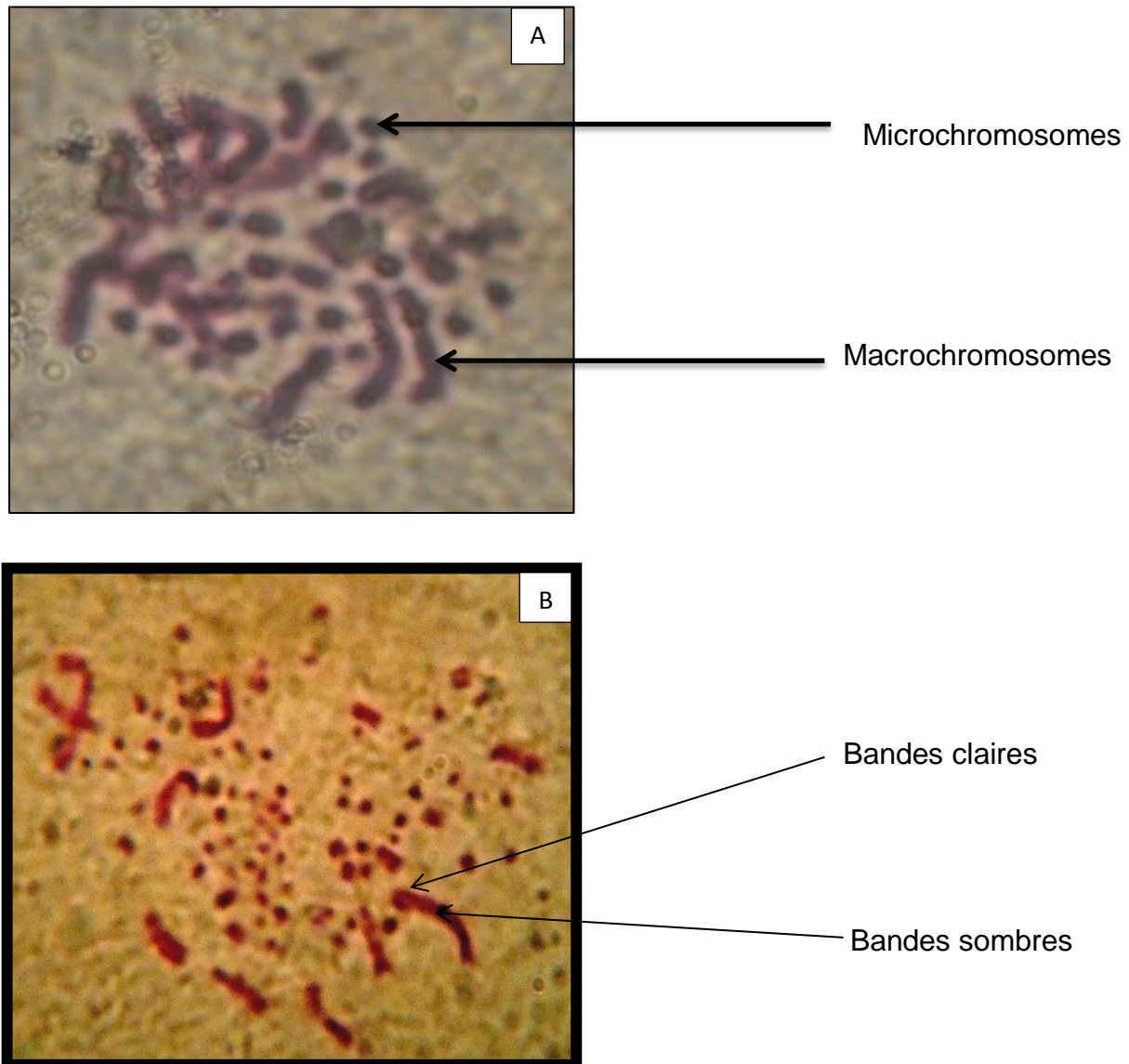


Figure N°21 : Métaphases de la caille japonaise coturnix japonica observées au microscope photonique (G x 100) (A) en coloration conventionnelle, (B) en bandes morphologiques GTG.

L'indice mitotique est en moyen d'une métaphase par champ. Cela est du probablement à un potentiel cellulaire initial assez moyen.

2-3 Etablissement des caryotypes

Nos métaphases ont été prises en photos avec un appareil de type (Olympus). Les chromosomes ont été découpés à l'aide d'un logiciel Photoshop CS5. Ces derniers ont été classés selon leurs tailles par ordre décroissant et selon la position de leurs centromères. Les caryotypes proposés sont illustrés sur la **Figure 22 et 23**.

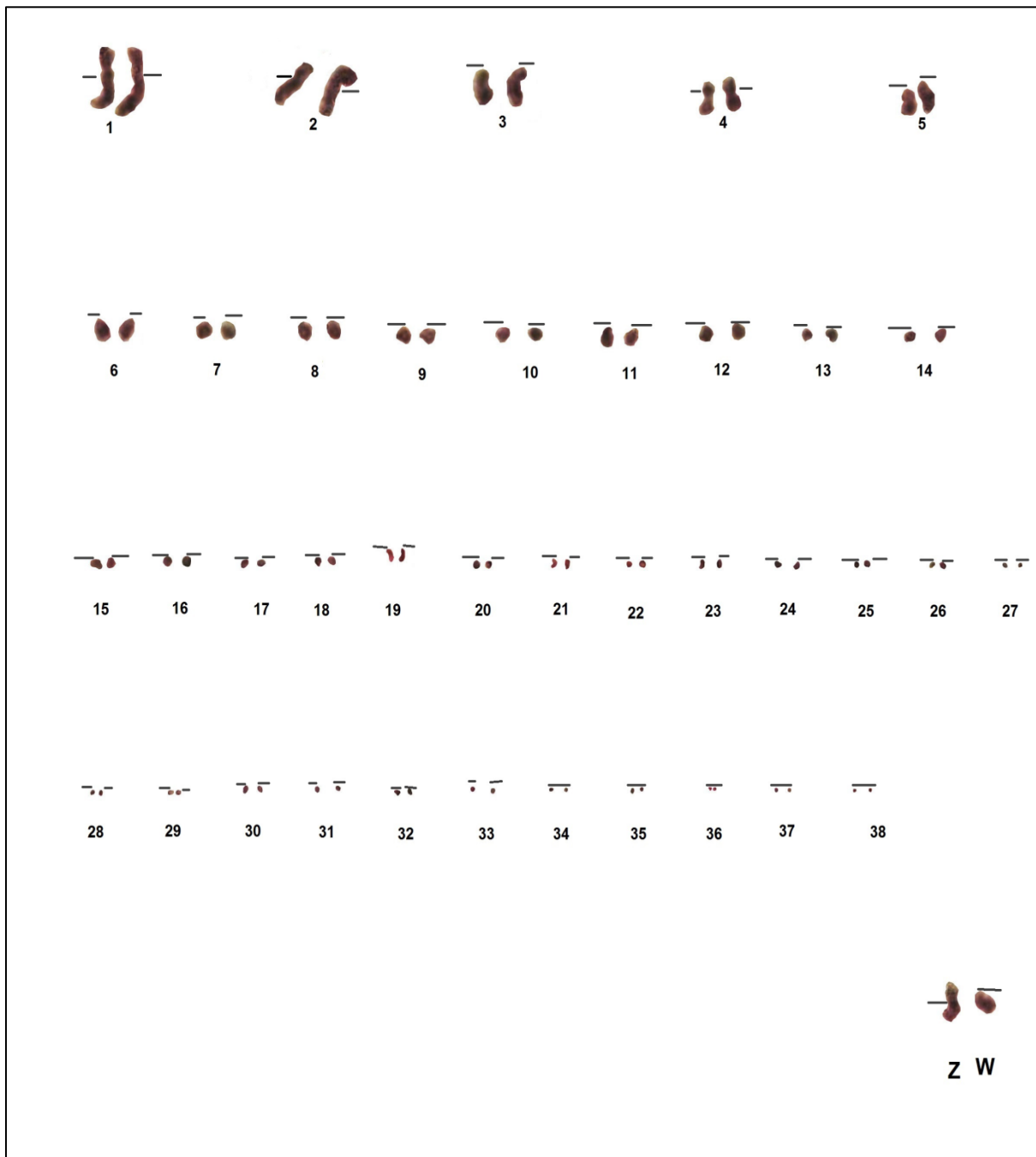


Figure N° 22: Caryotype de la caille japonaise coturnix japonica proposé en coloration conventionnelle (de sexe femelle).

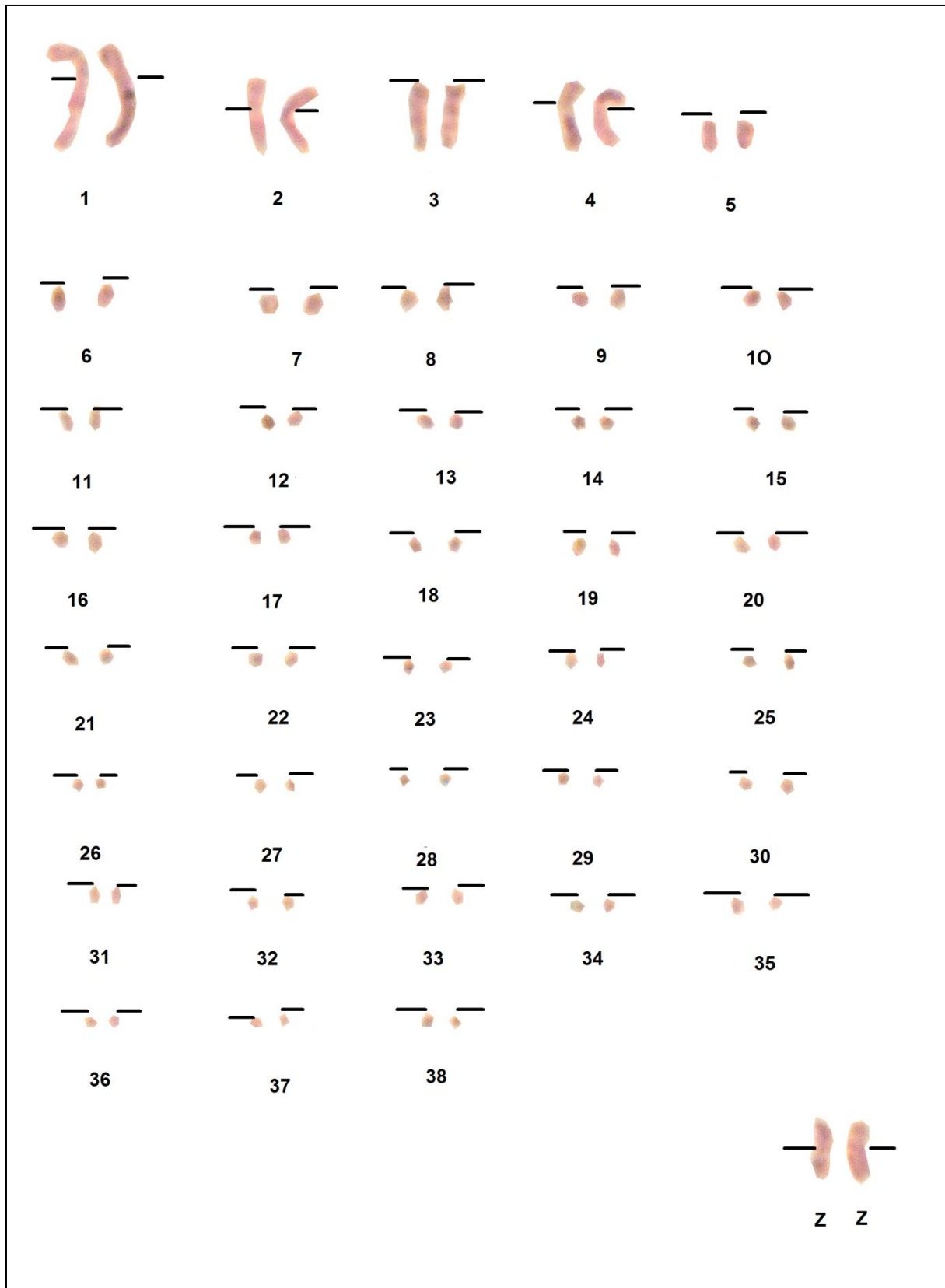


Figure N° 23: Caryotype de la caille japonaise *Coturnix japonica* proposé en bandes GTG (de sexe mâle).

2.3.1-Estimation du nombre diploïde

Le caryotype en coloration conventionnelle proposé en **Figure 22** révèle que , le caryotype de la caille japonaise est diploïde (2n chromosomes) de nombre élevé (78) , dont 5 paires de macrochromosomes qu'on distingue facilement en plus d'une paire de chromosomes sexuels (ZW femelle) et 33 microchromosomes. Notre résultat concorde avec celui de la littérature (**Stock et Bunch.,1982 ;Schmid et al.,1989**).

2.3.2-Description morphologique des chromosomes

On a essayé de décrire la morphologie de ces chromosomes à partir du caryotype proposé afin de lever l'ambiguïté observée (1982) malgré la résolution moyenne des photos prise à l'aide de notre appareil photos et la qualité moyenne de la coloration (diminution de l'efficacité de la trypsine).

En effet, la description morphologique des 5 premières paires autosomiques ainsi que les chromosomes sexuels est résumée dans le **Tableau 11** .

Tableau N°11 : Description morphologique des différents macrochromosomes de la caille japonaise .

Numéro du chromosome	Description morphologique		Chromosomes du poulet (Ladjali et al ., 1999)
	Nos chromosomes (A-Mira, Bejaia)	Chromosomes de Stock et Bunch (1982)	
1	Submétacentrique	Télocentrique ou submétacentrique	Submétacentrique
2	Submétacentrique	Submétacentrique	Submétacentrique
3	Acrocentrique	Acrocentrique	Acrocentrique
4	Télocentrique	Acrocentrique ou télocentrique	Télocentrique
5	Acrocentrique	Télocentrique ou acrocentrique	Acrocentrique
Z	Métacentrique	Métacentrique	Métacentrique
W	Acrocentrique	Acrocentrique	Métacentrique

- Le chromosomes 1 et 2 de la caille japonaise est submétacentrique comme celui du poulet . Notre résultats concorde avec ceux de (Talluri et al.,1965 ; Hartung et al.,1974 ; Schmid et al.,1989). Plus récemment , des travaux ont démontré que ces 2 espèces sont très conservées ou cours de l'évolution.

des differences à l'échelle moléculaire peuvent être observées . Cela est dû soit à des inversions péricentrique ou à la formation d'un nouveau centromère (zlotina et al.,2012)(Figure 23)

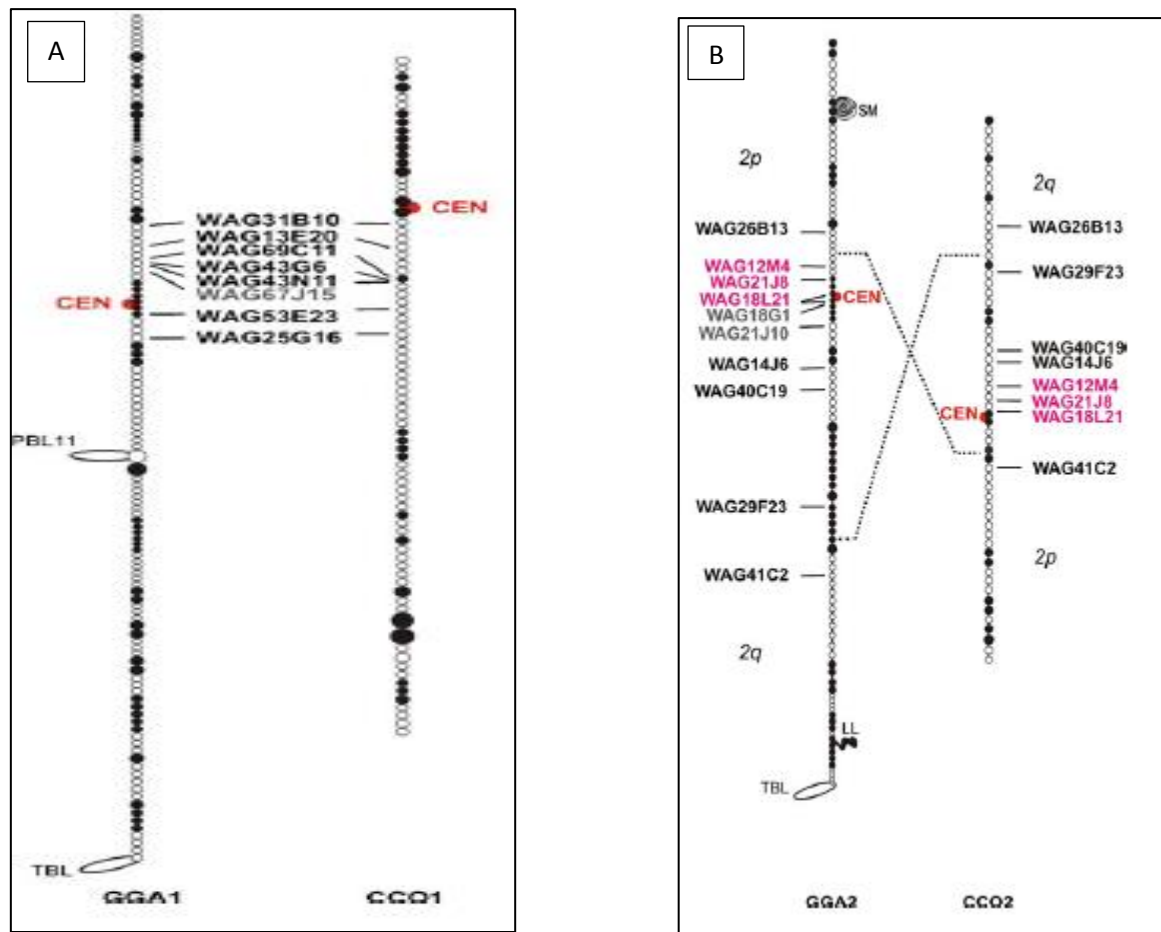


Figure N°23 :Chromosome 1 du poulet (GGA1) et de la caille japonaise(CC1)(A) . Le chromosome 2 (B) du poulet et de la caille japonaise (zlotina et al.,2012) .

- Le chromosome 3 de la caille japonaise est acrocentrique, notre résultat concorde avec celui de Stock et Bunch (1982) et de Iadjali-Mohammedi et al (1999) du poulet .En effet, une conservation de la morphologie de chromosome au cours de l'évolution est observée.

L'étude réalisée par **zlotina et al (2012)** révèle que, le chromosome 3 de la caille japonaise et celui du poulet sont acrocentrique (**Figure 24**) .

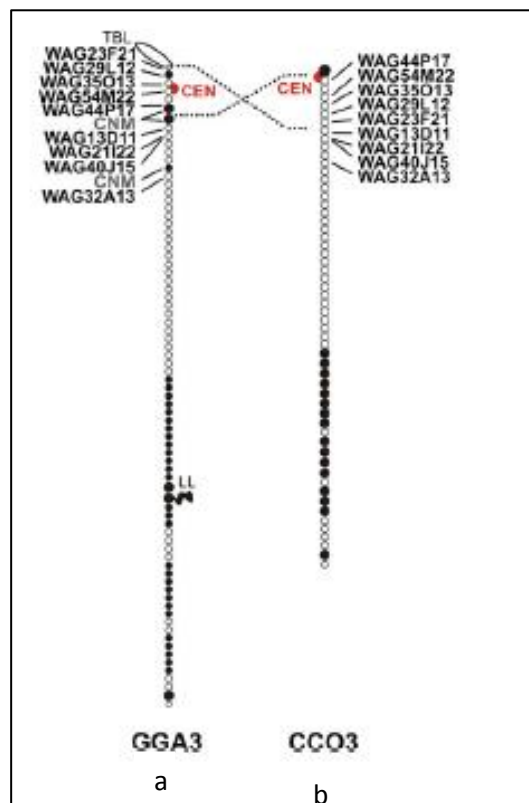


Figure N°24 : Chromosome 3 (a) du poulet et la caille japonaise (b) (zlotina et al.,2012) .

- Le chromosome 4 de la caille japonaise est télocentrique , Notre résultat concorde avec celui obtenu par **Talluri et al .(1965)** et celui de **Ladjali-Mohammedi et al (1999)** sur le poulet.

Le chromosome 4 du poulet a été entièrement hybridé sur le chromosome 4 de la caille japonaise , par la technique de FISH (**Guttenbach et al.,2003**)(**FigureN°25**).En effet, le chromosome 4 aviaire est le plus conservé (au cours de l'évolution).

- Le chromosome 5 de la caille japonaise est acrocentrique , notre résultats concorde avec celui obtenu par (**talluri et al.,1965 ; hartung et al.,1974**) et **Ladjali-Mohammedi et al (1999)** sur le poulet.
- Le chromosome Z de la caille japonaise est Métacentrique (**talluri et al.,1965 ; hartung et al.,1974 ;schmid et al.,1989**) même chez le poulet (**ladjali-Mohammedi et al.,1999**)

- Le chromosome W de la caille japonaise est acrocentrique. notre résultats concorde avec celui de (talluri et *al.*,1965 ; hartung et *al.*,1974 ;Schmid et *al.*,1989)

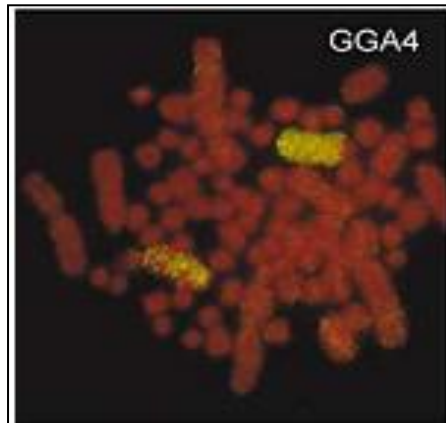


Figure N°25 : hybridation du chromosome 4 du poulet sur le chromosome 4 de la caille japonaise (Guttenbach et *al.*,2003).

CONCLUSION

La présente étude nous a permis de décrire les chromosomes d'une espèce d'élevage aviaire, et apporte des informations fondamentales pour la connaissance du génome de la caille japonaise *Coturnix japonica*. Nous avons effectué des cultures primaires de fibroblastes issus d'embryons âgés entre 8 et 12 jours d'incubation. Nous avons ainsi réussi à obtenir des chromosomes allongés en métaphase.

Le nombre diploïde des chromosomes a été estimé à 78, comme chez la plus part des Phasianidés. La comparaison avec le caryotype de la poule domestique *Gallus gallus domesticus* nous a facilité l'identification des macrochromosomes. Les microchromosomes ont été extrêmement difficiles à identifier chez la caille japonaise comme chez tous les oiseaux.

Nous avons proposé des caryotypes en coloration conventionnelle et en bandes morphologiques GTG correspondant aux cinq premières paires de macrochromosomes et aux 33 paires de microchromosomes en plus des chromosomes sexuels (ZZ/ZW).

Une description individuelle des chromosomes de cette espèce a été effectuée afin de lever l'ambiguïté observée sur le caryotype proposé par Stock et Bunch (1982). Nous avons conclu que le chromosome 1 de la caille japonaise est submétacentrique et non pas télocentrique, le chromosome 4 est télocentrique et non pas acrocentrique alors que le chromosome 5 est acrocentrique et non pas télocentrique.

Par ailleurs, une comparaison du caryotype de la caille japonaise en bandes GTG avec celui du poulet nous montre que les chromosomes 2 et 3 sont conservés entre les deux espèces apparentées.

L'établissement d'une meilleure résolution des chromosomes de la caille japonaise et l'une de nos perspectives. En effet, cela va nous permettre de déceler les réarrangements chromosomiques qui auraient pu se produire aux cours de l'évolution.

Aussi, la réalisation des caryotypes des autres espèces de la famille des Phasianidés nous permettra de distinguer les différents chromosomes conservés entre ces espèces et de déceler les groupes de synténie.

Enfin, afin de décrire le génome entier de la caille japonaise, l'identification individuelle des microchromosomes est envisageable par des hybridations *In situ* à fluorescence (FISH) en utilisant des sondes moléculaires spécifiques aux microchromosomes du poulet domestique (**Fillon, 1998**).

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES



- Ainsworth S. J., Stanley R. L. et Evans D. J. R., 2010.** Developmental stages of the Japanese quail. *J. Anat.* 216, pp3–15. United Kingdom.
- Ball G. F. et Balthazart J., 2010.** Japanese Quail as a Model System for Studying the Neuroendocrine Control of Reproductive and Social Behaviors. *ILAR J.* 2010; 51(4): 310–325.
- Balthazart J., Charlier D., Barker J. M., Yamamura T., Ball G. F., 2011.** Sex steroid-induced neuroplasticity and behavioral activation in birds. *Eur J Neurosci. NIH Public Access.*
- Bed'hom B., Vaez M., Coville J.-L., Gourichon D., Chastel O., Follett S., Burke T. et Minvielle F., 2012.** The lavender plumage colour in Japanese quails associated with a complex mutation in the region of MLPH that is related to differences in growth, feed consumption and body temperature. *BMC Genomics* 2012.13:442.
- Berger R., 2006.** Human cytogenetics From 1956 to 2006. *Elsevier Masson.* France.
- Berrama Z., Mefti H., Kaidi R. et Souames S., 2010.** Caractérisation zootechnique et paramètres génétiques des performances de croissance de la caille japonaise *Coturnix japonica* élevée en Algérie. Blida, Algérie.
- Bichmore W.A., Sumner A.T., 1989.** Mammalian chromosome banding - an expression of genome organization. *Trends Genet.*, 5, 144-148.
- Bozkaya F., Gürler Ş., Yertürk M. et Aydılek N., 2013.** Isolation of DNA from embryo and chorio-allantoic membranes and sexing by PCR in Japanese quail. *British Poultry Science.* 54:1, 106-111.
- Brodeur, J., Toussaint, M.,** Biologie moléculaire – Concepts • Techniques • Applications, CCDMD, 2007, 331 pages.
- Casperson T., Zech L. et Johanson C., 1970.** Analysis of human metaphase chromosome set by aid of DNA-binding fluorescent agents. *Exp. Cell. Res.* 62:490.
- Dejonghe J-F. 1983.** Les oiseaux des villes et des villages .Edition du point vétérinaire .Maison-Alfort.
- Doucet S. M., Shawkey M. D., Rathburn M. K., Mays Jr. H. L., Montgomerie R., 2004.** Concordant evolution of plumage colour, feather micro-structure and a melanocortin receptor gene between mainland and island populations of a fairy-wren. *Royal Society (2004)* 271,1663–1670.
- Dubest C. et Pugeat M., 2005.** Gonadotrophines hypophysaires: physiologie et exploration fonctionnelle. *EMC-Endocrinologie 2 (2005)* 231–240.
- Durantel P., 2003.** Chasse l'encyclopédie. Pages 228-231. *Editions Artémis.*

Références bibliographiques

- Dutrillaux B., 1973.** Nouveau système de marquage chromosomique : Les bandes T, Springer-Verlag. Paris.
- 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 : 307-313.
- Fillon V., Vignoles M., Garrigues A., Frédérique P., Mireille M., Crooijmans R., Groenen M., Gellin J. et Vignal A., 2003.** La Carte Cytogénétique Du Poulet : Un Moyen Pour Identifier Les Micro-chromosomes Et Pour Comparer Les Génomes Aviaires, *Cinquièmes Journées de la Recherche Avicole*, Tours, 26 et 27 mars 2003.
- 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 success medical school. University of success. Brighton, United Kingdom.
- Fuller R. A., Carroll J. P., et McGowan P. J. K., 2000.** Partridges, Quails, Francolins, Snowcocks, Guineafowl, and Turkeys. Status Survey and Conservation Action Plan 2000–2004. *United Kingdom and the World Pheasant Association*, United Kingdom.
- Guillaume J., 2010.** Ils ont domestiqué : plantes et animaux. P 220. *Editions Qual*, I.S.B.N. 978-7592-0892-0-2.
- Guttenbach M., Nanda I., Feightingern W., Massabanda J.S., Griffin D. K. et Schmid M., 2003.** Comparative chromosome painting of chicken autosomal paints 1-9 in nine different bird species. *Cytogenetic and genome research* 103(1-2):173-184;
- H Boué et R Chauton. 1974.** Zoologie II: protocordés et vertèbres . *Edition Doin , place de l'odéon , Paris* .437p.
- Halldin K., 2005.** Impact of endocrine disrupting chemicals on reproduction in Japanese quail. *Elsevier: Domestic Animal Endocrinology* 29(2005)420–429.
- Hans Ellegren. 2005 .** The avian genome uncovered. *Review. TRENDS in Ecology and Evolution* Vol.20 No.4.
- Hassoun R., Püschel B. et Viebahn C., 2010.** Sox17 Expression Patterns during Gastrulation and Early Neurulation in the Rabbit Suggest Two Sources of Endoderm Formation. *Cells Tissues Organs*; 191:68–83. Germany.
- Hyánková L., Novotná B., Knížetová H. et Horáčková Š., 2004.** Divergent selection for shape of growth curve in Japanese quail. 2. Embryonic development and growth. *British Poultry Science*. 45:2, 171-179.
- Ishige T., Hara H., Hirano T., Kono T. et Hanzawa K., 2013.** Basic characterisation of avian N.K.Lysin (N.K.L) from the Japanese Quail, coturnix japonica. *Genome research center*. Tokyo university of agriculture. Tokyo, Japan.

- Jean-François Dejonghe.1983.** Les oiseaux des villes et des villages . Edition du point vétérinaire . 2^{ème} Edition .
- Kamataa R., Shiraishi F., Takahashi S., Shimizu A. et Shiraishi H., 2010.**Reevaluation of the developmental toxicity of dieldrin by the use of fertilized Japanese quail eggs, *Elsevier, Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 152(2010)84–90.
- Karabağ K. et Balcioglu M. S., 2010.**Genetic Diversity Among Selected Japanese Quail (*Coturnixcoturnix japonica*) Lines Using RAPD Markers.*Journal of Applied Animal Research, 38:1, 149-152.*
- Kartout Y.2010.** Etude Cytogénétique de la Caille des Blés *Coturnixcoturnix* Etablissement de Chromosomes à Haute Résolution. Thèse de Magistère, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene Alger-Algérie.90P.
- Katsumoto K. et Kume S., 2013.**The Role of CXCL12-CXCR4 Signaling Pathway in Pancreatic Development.*Theranostics. 2013; 3(1):11-17.*
- Kawahara-Miki R., Sanoa S., Nunomec M., Shimmura T., Kuwayama T., Takahashi S., Kawashima T., Matsuda Y., Yoshimura T. et Kono T., 2013.** Next-generation sequencing reveals genomic features in the Japanese quail, *Elsevier Genomics* 101(2013)345–353.
- Kayang B. B., Fillon V., Murayama M., Miwa M., Leroux S., Fève K., Monvoisin J.-L., Pitel F., Vignoles M., Mouilhayrat C., Beaumont C., Shin'ichi I., Minvielle F. et Vignal A., 2006.**Integrated maps in quail (*Coturnix japonica*) confirm the high degree of synteny conservation with chicken (*Gallus gallus*) despite 35 million years of divergence, *BMC Genomics*.
- 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 .179P.
- Ladjali-Mohammedi K., Leibovici M., Lalloué F., Lapointe F. and Ayer-Le-Lièvre C.S. 2001.**Organization and chromosomal localization of 3 subfamilies of avian olfactory receptor genes. Journée de l'Institut de Biologie du Collège de France. Mai (2001).
- Ladjali-Mohammedi K., Bitgood J.J., Tixier-Boichard M., and Ponce de Leon F.A.1999.**International System for Standardized Avian Karyotype (ISSAK):standardized banded karyotypes of the domestic fowl *Gallus domesticus*. *Cytogenetics and CellGenetics*86:271-276.
- Le Douarin, N.M., Brito, J.M., and Creuzet, S. 2007.**The role of the neural crest in face and brain development. *BrainRes. Reviews, 55(2), 237-247.*
- Le Moigne A. et Foucrier J., 2004.** Biologie du développement. p 130. 6^{ème} édition. *Editions Dunod.* Paris, France.

- Le Moigne A. et Foucrier J., 2009.** Biologie du développement. p 73. 7^{ème} édition. *Editions Dunod*. Paris, France.
- Martal J.2002.**l'embryon chez l'homme et l'Animal. *Edition INRA* .groupe biologie du développement .309p.
- Masabanda J. S., Burt D. W., O'Brien P. C. M., Vignal A., Fillon V., Walsh P. S., Cox H., Tempest H. G., Smith J., Habermann F., Schmid M., Matsuda Y., Ferguson-Smith M. A., Crooijmans R. P. M. A., Groenen M. A. M. et Griffin D. K., 2004.**Molecular Cytogenetic Definition of the Chicken Genome: The First Complete Avian Karyotype, *the Genetics Society of America*.
- Megens H.-J., Crooijmans R. P. M. A., Bastiaansen J. W. M., Kerstens H. H. D., Coster A., Jalving R., Vereijken A., Silva P., Muir W. M., Cheng H. H., Hanotte O. et Groenen M. A. M., 2009.** Comparison of linkage disequilibrium and haplotype diversity on macro- and microchromosomes in chicken, *BMC Genetics*, 10:86.
- Mezghani S., Rouquet R. M., Murriss-Espin M., Leophonte R. et Didier A., 1999.**Syndrome œuf-oiseau associé à un poumon d'éleveurs d'oiseaux,*Rev. fr.Allergol.*, 39 (1), 42-44.
- Michal Zeman., Peter Skrobanek et Monika Okuliarova .2013.** Genetic differences in yolk testosterone levels influence maternal hormone deposition in the second laying cycle in Japanese quails. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part A 164 : 271–275.
- Mills A. D., Crawford L. L., Domjan M. et Faure J. M., 1997.**The Behavior of the Japanese or Domestic Quail *Coturnix japonica*.*Elsevier Science, Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. Vol. 21, No. 3, pp. 261-281. Great Britain.
- Miwa M., Inoue-Murayama M., Kobayashi N., Kayang B. B., Mizutani M., Takahashi H. et Shin'ichi I., 2006.**Mapping of panda plumage color locus on the microsatellite linkage map of the Japanese quail.*BMC Genetics*.
- Monvoisin J.L., Mérat P., Coquerelle G. et Costa-Da-Silva J., 1989.** Effets associés à la mutation «coquille blanche» chez la caille japonaise.*Institut National de la Recherche Agronomique, Laboratoire de Génétique Factorielle, Centre de Recherches de Jouy-en-Josas*, 78350 Jouy-en-Josas, France.
- Mundy N. I., 2005.** A window on the genetics of evolution: MC1R and plumage colouration in birds.*Proc. R. Soc. B* (2005) 272, 1633–1640. Department of Zoology, University of Cambridge, United Kingdom.
- Murata S., Kawabe K., Taura S., Shimogiri T. et Okamoto S., 2013.**Relationship between abdominal fat content and avian uncoupling protein gene expression in skeletal muscle of Japanese quail *Coturnix japonica*.*British Poultry Science*, 54:1, 42-49.

- Nau F., Guerin-Dubiard C., Baron F. et Thajon J.-L., 2010.** Sciences et technologies de l'œuf : de l'œuf aux ovoproduits. P 93. *Editions Lavoisier*. I.S.B.N. 978-2-7430-1224-3.
- Niclas Backström, Helene Ceplitis, Sofia Berlin, and Hans Ellegren.2005.** Gene Conversion Drives the Evolution of HINTW, an Ampliconic Gene on the Female-Specific Avian W Chromosome. Department of Evolutionary Biology, Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, Uppsala, Sweden.1993-1999.
- Nie W., O'Brien P. C. M., Bee L. Ng., Fu B., Volobouev V., Carter N. P., Ferguson-Smith M. A. et Yang F., 2009.**Avian comparative genomics: reciprocal chromosome painting between domestic chicken (*Gallus gallus*) and the stone curlew (*Burhinusoedinenus*, Charadriiformes)—An atypical species with low diploid number.*Springer Science + Business Media B.V.* China.
- Niwa T., Mochiib M., Nakamura A. et Shiojiri N., 2002.**Plumage pigmentation and expression of its regulatory genes during quail development—histochemical analysis using BH (black at hatch) mutants.*Elsevier Science:Mechanisms of Development 118(2002)139–146.* Ireland,
- Ottinger M. A., Abdelnabi M., Quinn M., Golden N., Wu J. et Thompson N., 2002.**Reproductive consequences of EDCs in birds: What do laboratory effects mean in field species? *Elsevier Science, Neurotoxicology and Teratology 24(2002)17–28.* University of Maryland.
- P.P. Grasse, 1997,** Biologie moléculaire, mutagenèse et évolution, Les grands problèmes de la biologie, éditions Masson,
- Pardanaud L., Moyon D. et Eichmann A., 2001,** L'embryologie des vaisseaux. *médecine/sciences 17 : 543-51,* France.
- Popescu P. C., 1989.** Cytogénétique des mammifères d'élevage. *I.N.R.A.* Paris, France.
- R. A. PatilBhagat., S. B. Zade et P. N. Charde .2012.** Study on eggs of Japanese quail (*Coturnixcoturnix japonica*) during incubation in the controlled laboratory conditions.*Journal of Applied and Natural Science 4 (1): 85-86.*
- Rasouli Z., Zerehdaran S., Azari M.A. et Shargh M.S., 2013,** Genetic polymorphism of the CAPN1 gene is associated with meat quality traits in Japanese quail.*British Poultry Science, 54:2, 171-175.*
- Sanchez-Donoso I., Vila C., Puigcerver M., Butkauskas D., Caballero de la Calle J. R., Morales-Rodriguez P. A. et Rodriguez-Teijeiro J. D., 2012.** Are Farm-Reared Quails for Game Restocking Really Common Quails (*Coturnixcoturnix*)?: A Genetic Approach.*Journal Pone. Volume 7.*
- Sauveur B., 1996.** Photopériodisme et reproduction des oiseaux domestiques femelles. *I.N.R.A Prod. Anim. 2-85340-691-9.*
- Schmid M., Enderle E., Schindler D and Schempp W .1989.** Chromosome Banding and DNA Replication patterns in bird Karyotypes. *Cytogenet Cell Genet. 52: 139-146.*

Références bibliographiques

- Scott F. G., 2004.** Biologie du développement. *Editions De Boeck*. Université de Bruxelles, Belgique.
- Sharifi B. G., Zeng Z., Wang L., Song L., Chen H., Qin M., Sierra-Honigmann M. R., Wachsmann-Hogiu S. et Shah P. K., 2006.** Pleiotrophin Induces Transdifferentiation of Monocytes Into Functional Endothelial Cells.*NIH Public Access*. Los Angeles
- Sharma D.,Appa-Rao K.B.C etTotey S.M. 2000.** Measurement of within and between population genetic variability in quails.*British Poultry Science*. 41:1, 29-32.England.
- Singh S. et Chaturvedi C. M., 2006.**Effect of long and short photoperiod on vasotocin neurons of para-ventricular nuclei and adrenal function of water deprived Japanese quail.*Department of Zoology, Molecular Endocrinology Lab Banaras Hindu University, India*.
- Steven C. Hayes and Kelly G. Wilson. 1993,** Some Applied Implications of a Contemporary 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.
- Susumu ohno,christina stenius, l.c.christian, willy beçak et maria luiza beçak.1664.**chromosomal uniformity in the avian subclass carinatae.from the department of biology ,city of hope medical center , Duarte , califonia .U.S.A.280-288.
- Talluri V and Vegnil L.1965.**Fine Resolution of Karyogram of the quail *Coturnixjaponica* .Chromosome 17 (3) : 264-272.
- Valance M., 2007.** Faune sauvage de France : biologie, habitat et gestion. Pages 208-210.*Editions Gerfort*.
- Vasiev B., Balter A., Chaplain M., Glazier J. A. etWeijer C. J., 2010.** Modeling Gastrulation in the Chick Embryo: Formation of the Primitive Streak.*journal Pone*.United Kingdom.
- Vaubourdolle M., 2007.** Biochimie Hématologie. *Le moniteur*, 3^{ème} édition, tome 2.
- Wilson C. M. et McNabb F. M. A., 1997.**Maternal Thyroid Hormones in Japanese Quail Eggs and Their Influence on Embryonic Development, *General and Comparative Endocrinology*. Virginia, United States America.
- Wingfield J. C., 2006.**Communicative Behaviors, Hormone–Behavior Interactions, and Reproduction in Vertebrates.*Knobil and Neill’s Physiology of Reproduction*, Third Edition, Department of Biology, University of Washington, Seattle, Washington.
- Woodard A. E., Abplanalp H., Wilson W. et Vohra P., 1973.**Japanese quail husbandryin the laboratory (*Coturnixcoturnix japonica*).*Department of Avian Sciences*, University of California.Davis, California.

Références bibliographiques

- Zeller H.G. et Murgue B., 2001,** Role des oiseaux migrateurs dans l'épidémiologie du virus West Nile. *éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS*. France.
- Zemana M., Skrobanek P. et Okuliarova M., 2013.** Genetic differences in yolk testosterone levels influence maternal hormone deposition in the second laying cycle in Japanese quails. *Elsevier Science, Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 164(2013)271–275.
- Zerehdaran S., Lotfi E. et Rasouli Z., 2012.** Genetic evaluation of meat quality traits and their correlation with growth and carcass composition in Japanese quail. *British Poultry Science*. 53:6, 756-762.
- Zhang X. H., Pang Y. Z., Zhao S. J., Xu H. W., Li Y. L., Xu Y., Guo Z. et Wang D. D., 2013.** The relationship of plumage colours with MC1R (Melanocortin 1 Receptor) and ASIP (Agouti Signaling Protein) in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *British Poultry Science*, 54:3, 306-311.
- Zlotina A., Galkina S., Krasikova A., Crooijmans R. P. M. A., Groenen M. A. M., Gaginskaya E. et Deryusheva S., 2012.** Centromere positions in chicken and Japanese quail chromosomes: de novo centromere formation versus peri-centric inversions. *Springer Science + Business Media Dordrecht*. United States of America.

Solutions nécessaires

- Milieu pour lavage des cultures

Milieu RPMI1640 -L.Glutamine avec NaHCO_3 sans HEPES (Eurobio Réf: CM1RPMOO-OU, lot: 651528).

Trypsine

Dissoudre 0.05 g de trypsine en poudre (Sigma) dans 100 ml de solution PBS^- pour la trypsine à 0,05% et 1 g de trypsine pour la trypsine à 1%, puis filtrer avec un filtre de 0.22 μm .

- Solution thymidine IX (10 mg/ml)

Dissoudre 100 mg de Thymidine (Sigma) dans 10 ml de milieu RPMI. Filtrer la solution en utilisant un filtre de 0.22 μm .

PBS^- .

Cette solution est filtrée (0.22 μm) et conservée en fraction de 0.5 -1 ml à -20°C .

- Solution BSS+ (Hank's balanced Salt solution) avec Ca^{2+} composée de:

- NaCl (137 mM): 8 g
- KCl(5.4mM):0.4g
- $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.81 mM): 0.2 g
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (0.33 mM): 0.12 g
- KH_2PO_4 (0.44 mM): 0.06 g
- Eau distillée 1 litre.

La solution ainsi préparée est autoclavée, ensuite sont rajoutés stérilement (filtre 0.45 μm) 6 ml d'une solution de NaHCO_3 à 5.6% et 2 ml d'une solution de CaCl_2 (1M). Le pH de la solution finale est de 7.2 -7.7.

Solutions nécessaires

- Solution de coloration de Giemsa 6%

Pour un volume de 25 ml, mélanger 1.5 ml de colorant Giemsa (Sigma Aldrich) avec 23.5 ml de tampon phosphate.

- Tampon phosphate

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

Le pH de cette solution est ajusté à 7 - 7,2 à l'aide d'une solution de soude ou bien d'acide chlorhydrique.

Solutions nécessaires

- Solution de trypsine à 0.25%

Dissoudre 62.5 mg de trypsine (Sigma) dans 25 ml de tampon PBS-. Cette solution doit être préparée extemporanément.

Matériel techniques

Durant notre travail, on a utilisé l'équipement suivant :

- Etuve de laboratoire de type Eco cell: C'est un appareil dans lequel on crée un environnement particulier pour l'incubation, elle est dotée d'une table de commande (réglage de la température).L'étuve n'est pas ventilé ;
- Support des œufs en carton ;
- Matériel de pesée constitué par une balance de précision ;
- une loupe binoculaire composée de deux lentilles convergentes.
- Trousse de dissection : composée de ciseaux de dissection, des pinces de dissection, des instruments de découpe comme le scalpel ;
- Paraffine : elle est sous forme de cristaux , transparente , elle fond à une température de 71°C ;
- Matériel de mirage : mire - œufs artisanal fabriqué au Laboratoire de Biologie Animale ;
- Boite de pétrie et lame en verre ;
- pinceau, étiquette; crayon ;
- -appareil photo de type Olympus ;

Résumé:

La caille japonaise *Coturnix japonica*, est une petite volaille originaire du Japon et de la Chine. Elle a été domestiquée pour la première fois pour le peuplement et la production d'œufs. Elle est aussi utilisée comme un animal expérimental par plusieurs laboratoires servant aux études génétiques, au développement embryonnaire...ect .

Des cultures cellulaires ont été effectuées à partir d'embryons de caille japonaise *Coturnix japonica* âgés entre 8 et 12 jours. Des techniques de coloration (conventionnelle et en bandes morphologiques GTG) ont été entreprises afin de décrire avec précision la morphologie des chromosomes de cette espèce. En effet, une non concordance dans la description de trois paires chromosomiques (1, 4 et 5) de la caille japonaise a été observée à partir de son caryotype en bandes GTG et l'idiogramme correspondant (*Stock et Bunch, 1982*). L'objectif de cette étude est de contribuer par une étude cytogénétique pour lever l'ambiguïté existante.

A partir des résultats obtenus dans le présent travail, nous avons conclu que le chromosome 1 est submétacentrique, le chromosome 4 est télocentrique alors que le chromosome 5 est acrocentrique. Après comparaison interspécifique nous avons remarqué que le caryotype de la caille japonaise est très similaire à celui du poulet domestique (espèces apparentées).

Mots clés : Caille japonaise, *Coturnix japonica*, embryon, culture cellulaire, caryotype, Giemsa, bandes GTG, chromosomes.

Abstract :

Japanese quail *Coturnix japonica*, is a small bird originally from Japan and China. It has been domesticated for the first time for settlement and egg production. It is also used as an experimental animal by several laboratories for genetic studies, embryonic development ... ect

Cell cultures were made from embryos of Japanese quail *Coturnix japonica* aged between 8 and 12 days. Staining techniques (conventional and morphological bands GTG) were undertaken to accurately describe the morphology of the chromosomes of this species. Indeed, a mismatch in the description of three chromosome pairs (1, 4 and 5) of Japanese quail has been observed from the GTG banding karyotype and corresponding idiogram (*Bunch and Stock, 1982*). The objective of this study is to contribute a cytogenetic study to raise the ambiguity.

From the results obtained in the present work, we concluded that chromosome 1 is submetacentric, chromosome 4 is telocentric when the chromosome 5 is acrocentric. After interspecific comparison we noticed that the karyotype of the Japanese quail is very similar to that of the domestic chicken (related species).

Keywords: Japanese Quail, *Coturnix japonica*, embryo cell culture, karyotype, Giemsa bands GTG chromosomes.