

DETERMINISME ET VARIABILITE GENETIQUE DU POIDS DE
L'EPIPHYSE ET DE LA CONCENTRATION PLASMATIQUE DE
MELATONINE CHEZ LES OVINS.

THESE
Pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2001
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Aurore FREMONT

Née le 5 avril 1976 à Périgueux (24)

Directeur de thèse : M. le Docteur Ducos

JURY

PRESIDENT :

M. PARINAUD Professeur à l'Université de Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESSEURS :

M. DUCOS Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Mme GAYRARD Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

M. BODIN Ingénieur de recherche à la Section d'Amélioration Génétique
Animale de l'INRA de Toulouse.

Toulouse, 2001

NOM : FREMONT

PRENOM : Aurore

TITRE : **Déterminisme et variabilité génétique du poids de l'épiphyse et de la concentration plasmatique de mélatonine chez les ovins.**

RESUME :

La mélatonine, hormone sécrétée par la glande pinéale lors de la phase obscure du nyctémère, intervient dans le contrôle du cycle annuel de reproduction des ovins. Les concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine présentent une grande variabilité inter-individuelle. Cette variabilité est corrélée à une grande variabilité inter-individuelle du poids de la glande pinéale et serait sous contrôle génétique important.

L'objectif de cette étude est d'examiner l'origine génétique de la variabilité inter-individuelle des concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine et du poids de la glande pinéale. Différents facteurs de variation du poids de la glande pinéale et des concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine ont été testés. Le modèle retenu pour décrire la variabilité du poids de la glande pinéale est un modèle linéaire à trois effets fixes : l'année d'abattage, le père et le type génétique (back-cross ou F2). Le modèle retenu pour le caractère "concentration plasmatique de mélatonine" comprend deux effets fixes (l'année d'abattage et le père), ainsi que deux covariables (le poids de la glande pinéale et la poids de carcasse). A partir de ces deux modèles, les héritabilités du poids de la glande pinéale et de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine ont été estimées. Une valeur identique (0,42) a été obtenue pour les deux caractères. Pour tester l'hypothèse selon laquelle ces caractères seraient gouvernés par des gènes majeurs, une analyse de ségrégation a été réalisée. Cette analyse a montré l'existence de gènes majeurs contrôlant le poids de la glande pinéale et la concentration plasmatique de mélatonine. Enfin, une analyse QTL limitée à 11 marqueurs du chromosome 2 n'a pas révélé la présence de ces gènes majeurs sur cette partie du génome de la brebis. Le typage des agneaux pour un nombre plus important de marqueurs permettra de confirmer l'existence d'un gène majeur pour ces caractères et de localiser ce gène.

MOTS CLES :

Mélatonine - glande pinéale - ovine - héritabilité - gène majeur - QTL.

ENGLISH TITLE : **Determinism and genetic variability of epiphysis weight and plasma melatonin concentrations in the ovine species.**

ABSTRACT :

The melatonin is a hormone secreted by the pineal gland during the dark phase of the light-dark cycle. It acts in the control of the annual cycle of the ovine reproduction. Plasma melatonin concentrations have large inter-individual variations which are correlated to a large inter-individual variation of the pineal gland weight, and may be under a strong genetic control.

The aim of this study is to examine the genetic origin of the inter-individual variations of the night plasma melatonin concentrations and of the pineal gland weight. Several variation factors of the plasma melatonin concentrations and of the pineal gland weight were tested. The model retained to describe the variations of the pineal gland weight is a linear model with 3 fixed effects : the year of slaughter, the father and the genetic type (back-cross or F2). The model retained for the characteristic "plasma melatonin concentration" shows 2 fixed effects (the year of slaughter and the father) and 2 covariables (the pineal gland weight and the carcass weight). With these 2 models, the heritability of the pineal gland weight and the plasma melatonin concentration were estimated. An identical value (0,42) was obtained for the two characteristics. In order to test the hypothesis that the two characteristics may be controled by major genes, a segregation analysis was carried out. This analysis has shown the existence of major genes controlling the pineal gland weight and the plasma melatonin concentration. Lastly, a QTL analysis limited to 11 markers of the chromosome 2, has not revealed the presence of these major genes on this part of the ovine genome. Genotyping of the lambs for a larger number of markers will allow us to confirm the existence of major genes for these characteristics and to localize these genes.

KEY WORDS :

Melatonin - pineal gland - ovine - heritability - major gene - QTL

<i>LISTE DES ABREVIATIONS</i>	<i>VI</i>
<i>INTRODUCTION</i>	<i>1</i>
<i>ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</i>	<i>3</i>
A . Glande pinéale et mélatonine	3
I. Glande pinéale : structure, fonctions.....	3
I.1. Ontogenèse et position anatomique.....	3
I.2. Structure et ultrastructure.....	3
I.3. La glande pinéale : transductrice de l'information lumineuse.....	5
I.3.1. Voies neuroendocriniennes de l'information photopériodique.....	5
I.3.2. Intégration de l'information lumineuse par la glande pinéale.....	7
II La sécrétion de mélatonine.....	7
II.1. Biochimie.....	7
II.2. Déterminisme et mécanisme de la synthèse de mélatonine.....	7
II.2.1. Synthèse de mélatonine dans le pinéaloocyte [Figure 3].....	7
II.2.2. Déterminisme de la synthèse de mélatonine par l'épiphyse.....	9
II.3. Rythme de sécrétion de la mélatonine.....	9
II.4. Métabolisme.....	11
II.4.1. Pharmacocinétique de la mélatonine.....	11
II.4.2. Catabolisme.....	12
II.4.3. Elimination.....	13
II.5. Principaux sites de liaison de la mélatonine.....	13
II.5.1. Sites centraux de liaison de la mélatonine.....	13
II.5.2. Sites périphériques de liaison de la mélatonine.....	13
II.5.3. Les récepteurs de la mélatonine.....	13
III Rôles de la glande pinéale et de la mélatonine.....	15
III.1. Rôles de la glande pinéale et de la mélatonine dans le contrôle photopériodique de la reproduction des ovins.....	15
III.1.1. Importance de la photopériode dans la reproduction des ovins.....	15
III.1.1.1. Rôle de la photopériode dans l'organisation temporelle du cycle annuel de reproduction.....	15
III.1.1.2. Mécanismes d'action de la photopériode sur la reproduction : régulation de la sécrétion de LH (figure 6).....	17
III.1.2. Transduction de l'information photopériodique par la mélatonine.....	18
III.1.3. Effets de la mélatonine sur la reproduction ovine.....	18
III.1.4. Utilisation de la mélatonine pour contrôler la fonction de reproduction.....	19
III. 2. Autres rôles de la mélatonine.....	20
III.2.1. Action anti-oxydante de la mélatonine : rôle dans le processus de vieillissement.....	20
III.2.1.1. Effets anti-oxydants de la mélatonine.....	20
III.2.1.2. Evolution de la sécrétion de mélatonine au cours de la vie et conséquence sur le processus du vieillissement.....	21
III.2.2. Mélatonine et cancer.....	21
III.2.2.1. Mécanismes d'action de la mélatonine sur le processus tumoral.....	21
III.2.2.2. Applications thérapeutiques de la mélatonine.....	22
III.2.3. Intervention de la mélatonine sur les rythmes biologiques.....	22
III.2.3.1. Exemples de rythmes biologiques entraînés par la glande pinéale.....	22

III.2.3.2. Utilisation de la mélatonine dans le traitement des désordres du rythme circadien.....	23
III.2.4. Conclusion.....	23
B . Contrôle génétique de la concentration plasmatique de mélatonine.....	24
I . Variabilité de la concentration plasmatique de mélatonine des brebis.....	24
I.1. Paramètres permettant de quantifier cette variabilité.....	24
I.2. Variabilité intra-individuelle des paramètres du rythme de sécrétion de mélatonine	24
I.3. Conséquence de la faible variabilité intra-individuelle des concentrations plasmatiques nocturnes en mélatonine.....	25
II. Contrôle de la variabilité de la concentration plasmatique de mélatonine.....	25
II.1. Contrôle génétique de cette variabilité.....	25
II.2. Origine physiologique de la variabilité génétique des concentrations plasmatiques de mélatonine.....	26
II.2.1. Contrôle génétique de la synthèse de mélatonine.....	26
II.2.2. Influence de la glande pinéale sur la variabilité génétique des concentrations plasmatiques en mélatonine.....	26
II.2.3. Influence des pinéalocytes sur la variabilité génétique des concentrations plasmatiques en mélatonine.....	27
II.3. Date d'établissement de cette différence génétique dans la vie.....	27
II.4. Conclusions sur le contrôle génétique de la concentration de mélatonine [Figure 7].....	29

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

FIGURES

<i>FIGURE 1</i> :	4
-------------------------	---

Sommaire

<i>FIGURE 2 :</i>	6
<i>FIGURE 3: EVOLUTION DE LA CONCENTRATION PLASMATIQUE DE MÉLATONINE AU COURS DU NYCTHÉMÈRE.....</i>	8
<i>FIGURE 4: VARIATIONS DE LA CONCENTRATION PLASMATIQUE DE MÉLATONINE EN FONCTION DE LA SAISON ET DE LA DURÉE DU JOUR.....</i>	10
<i>FIGURE 5: MODE D'ACTION DE LA PHOTOPÉRIODE ET DE LA MÉLATONINE SUR LA REPRODUCTION DES OVINS.....</i>	16
<i>FIGURE 6 :</i>	28

TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	Acide DésoxyriboNucléique.
AMPC	Adénosine MonoPhosphate cyclique : coenzyme intervenant dans la synthèse de la mélatonine.
BC	Back Cross : individu issu du croisement entre un parent F1 et un parent de lignée pure à la base de la génération F1.
cM	centiMorgan : est égale à un centième de morgan, unité de distance génétique correspondant à une longueur d'ADN telle que la probabilité d'être objet d'un crossing-over par génération est de 100 %.
DL50	Dose Létale pour 50 % des individus.
FSH	Follicule Stimulating Hormone ou hormone folliculostimulante.
GCS	Ganglion Cervical Supérieur.
GLM	General Linear Model : procédure du logiciel SAS.
GMQ	Gain Moyen Quotidien.
GnrH	Gonadotropin Releasing Hormone.
GTP	Guanine TriPhosphate.
h^2	héritabilité : rapport entre la variance d'origine génétique et la variance phénotypique totale.
HIOMT	Hydroxy-Indole-O-MéthylTransférase : enzyme intervenant dans la synthèse de la mélatonine.
L	Likelihood ou vraisemblance (L_0 est la vraisemblance calculée sous l'hypothèse H_0 , L_1 est la vraisemblance calculée sous l'hypothèse H_1).
LCR	Liquide Céphalo-Rachidien.
LH	Luteinizing Hormone ou hormone lutéinisante.
LRT	Likelihood Ratio Test ou test de vraisemblance, défini tel que $LRT=2\ln(L_0/L_1)$.
NA	Noradrénaline.
NAT	N-Acétyl Transférase : enzyme intervenant dans la synthèse de mélatonine.

Sommaire

QTL	Quantitative Trait Loci : gènes expliquant un part de la variabilité génétique des caractères quantitatifs.
R ²	Coefficient de détermination multiple.
REML	REstricted Maximum Likelihood ou maximum de vraisemblance restreinte : méthode utilisée pour l'estimation des paramètres génétiques en modèles linéaires mixtes.
Γ_A	corrélation génétique, une corrélation génétique non nulle signifie que deux caractères dépendent de mêmes gènes ou de gènes liés.
SD	Standard Deviation ou écart type.
SE	Standard Error ou erreur standard.
Typ	Allèles relatifs au gène de la myostatine.

Introduction

La mélatonine est une hormone sécrétée par la glande pinéale ou épiphyse durant la phase obscure du nyctémère. La durée de sécrétion de la mélatonine au cours du nyctémère constitue le signal neuroendocrinien décrivant la longueur de la phase sombre du nyctémère. Ainsi, le rythme de sécrétion de mélatonine permet à l'organisme de décoder l'information photopériodique de son environnement et d'adapter ses rythmes endogènes au rythme photopériodique. La mélatonine intervient notamment dans le contrôle du cycle annuel de reproduction des ovins en synchronisant le rythme circannuel de reproduction avec le cycle annuel de la photopériode. Cette action de la mélatonine est mise à profit dans les traitements de la maîtrise des cycles, en particulier l'utilisation de mélatonine permet d'induire chez la brebis une saison sexuelle plus précoce et plus longue.

La concentration plasmatique nocturne de mélatonine chez les brebis présente une grande variabilité inter-individuelle. Cette variabilité est en partie d'origine génétique. Elle est associée à une variabilité inter-individuelle du poids de la glande pinéale et plus précisément du nombre de pinéaloctes. Elle apparaît dès la première semaine de la vie.

Nous nous proposons d'explorer l'origine génétique de cette variabilité de la concentration plasmatique de mélatonine, dans le but de sélectionner des animaux ayant une saison de reproduction plus longue. Pour cette étude, nous disposons d'un échantillon de 399 agneaux dont le poids de la glande pinéale et la concentration plasmatique nocturne de mélatonine sont connus et dont la généalogie a été établie.

Avant de présenter cette étude expérimentale, nous exposerons dans une première partie bibliographique la glande pinéale et la sécrétion de mélatonine, en insistant sur le rôle de cette hormone dans la reproduction ovine. Puis nous aborderons les notions de contrôle génétique de la concentration plasmatique de mélatonine.

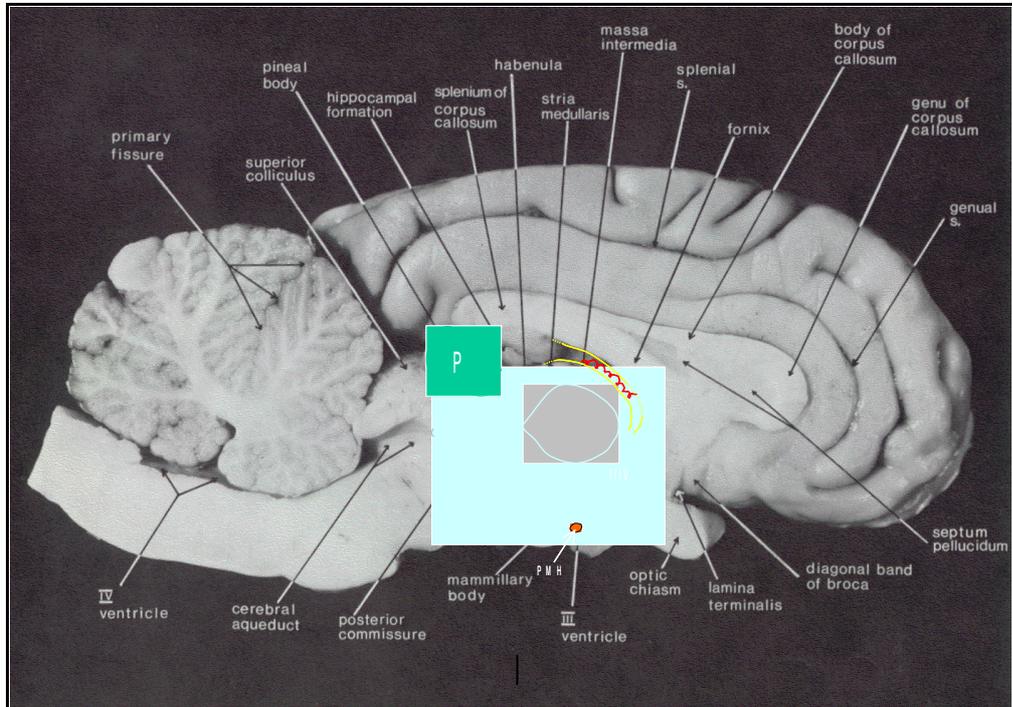


Figure 1 :
Position anatomique de la glande pinéale (P) chez le mouton.

P=glande pinéale, s.=sillon, IIIV=troisième ventricule, PMH=aire pré-mamillaire.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

A . Glande pinéale et mélatonine

I. Glande pinéale : structure, fonctions

I.1. Ontogenèse et position anatomique

La glande pinéale ou épiphyse est une petite glande de 3 à 6 mm de long chez les ovins qui fait partie du diencephale et plus précisément de l'épithalamus (Crosby, 1962). Elle correspond à une évagination médiane de la partie postérieure du toit du troisième ventricule. Elle est encadrée crânialement par la toile épendymaire du plexus choroïde du troisième ventricule, et caudalement par les tubercules quadrijumeaux antérieurs du mésencéphale [Figure 1]. Elle est située au dessus d'un complexe formé par l'adhérence inter-thalamique, le troisième ventricule et l'aqueduc de Sylvius. Au sein de l'épithalamus, le corps pinéal se situe caudalement à l'habéluna et au-dessus de la commissure caudale. Il est relié au troisième ventricule par le récessus pinéal (Crosby, 1962).

La glande pinéale est richement vascularisée, l'irrigation se fait par des ramifications artériolaires des artères choroïdiennes postérieures. Le débit sanguin épiphysaire est quantitativement important (Touitou et al., 1996).

L'épiphyse, située à proximité de grandes zones intégratrices d'informations environnementales, peut redistribuer largement ces informations à l'ensemble de l'organisme grâce à une irrigation importante.

I.2. Structure et ultrastructure

L'épiphyse comprend deux types cellulaires : les pinéaloctes et les cellules de la névroglie ; ces dernières ont un rôle de soutien. Le pinéaloctes est l'élément unitaire de l'épiphyse, il s'agit d'une cellule parenchymateuse caractérisée par un noyau arrondi, granuleux avec de volumineux nucléoles (Touitou et al., 1996), le cytoplasme est riche en organites. Après imprégnation argentique, des grains cytoplasmiques contenant des indols dont la mélatonine peuvent être mis en évidence. La richesse en organites du pinéaloctes témoigne d'une activité de synthèse importante.

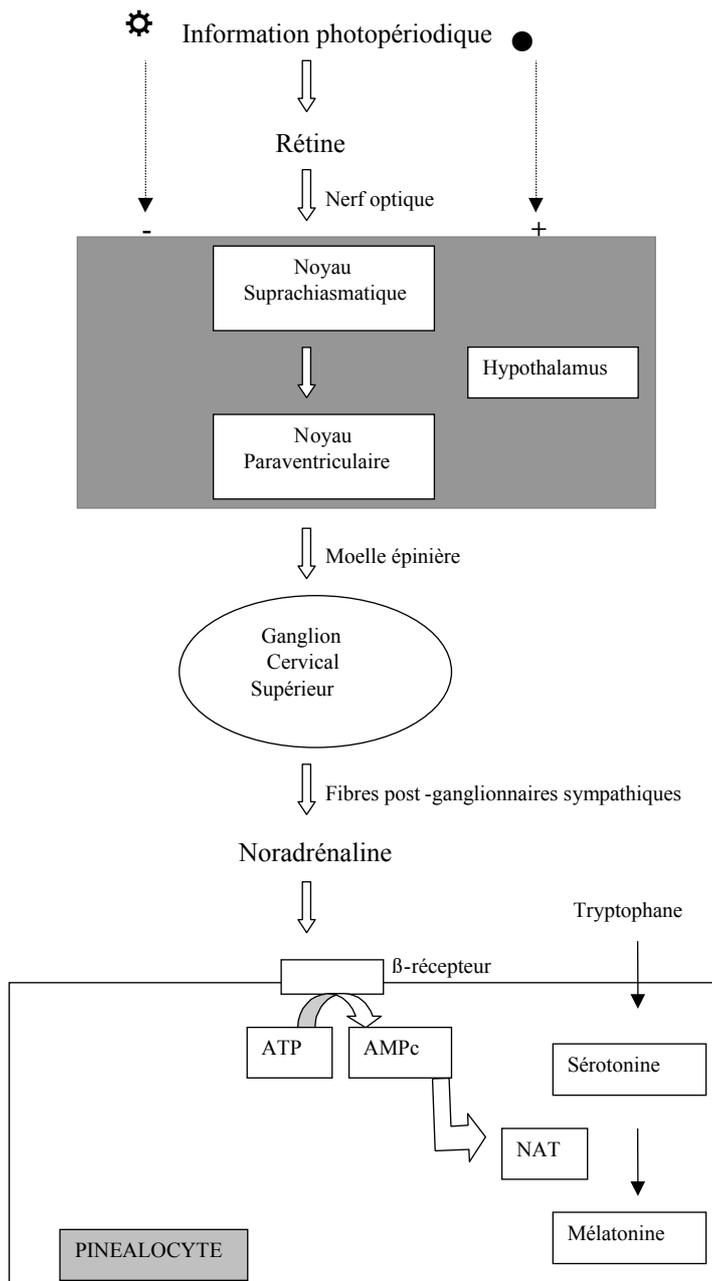


Figure 1 :

Voies neuroendocriniennes transmettant l'information photopériodique à la glande pinéale : réponse de la glande pinéale : synthèse de la mélatonine.

+ : indique l'effet inducteur de l'obscurité sur la synthèse de mélatonine

- : indique l'effet inhibiteur de la lumière sur la synthèse de mélatonine.

Au cours de l'évolution, le pinéaloocyte a été profondément remanié. Chez les espèces les plus primitives tels que les poissons, les amphibiens, les tortues et les lézards, il possède une structure semblable à celle d'un photorécepteur (Collin et al., 1988) capable de capter directement les photons par un pôle récepteur. Cette propriété des pinéaloocytes est à l'origine de la photosensibilité directe de la glande pinéale à la lumière. L'ultime étape évolutive de cette cellule se trouve chez les mammifères et les serpents. Chez ces espèces, le pinéaloocyte n'est plus directement photosensible ; cependant, il peut intégrer l'information lumineuse qui arrive à l'épiphyse sous la forme d'un message neuronal via l'innervation noradrénergique de la glande et transmettre cette information à l'ensemble de l'organisme par ses nombreuses expansions cytoplasmiques qui se terminent à proximité des vaisseaux sanguins.

Le pinéaloocyte est donc un transducteur qui transforme un message nerveux en un message hormonal.

I.3. La glande pinéale : transductrice de l'information lumineuse

L'épiphyse est impliquée dans la transmission de l'information photopériodique : elle capte cette information, la décode et la transmet à l'organisme.

I.3.1. Voies neuroendocriniennes de l'information photopériodique

La lumière est captée par les photorécepteurs de la rétine, et l'information lumineuse est transmise par voie nerveuse jusqu'à l'épiphyse. Cette information chemine d'abord via le nerf optique et parvient à différents noyaux hypothalamiques : les noyaux suprachiasmatiques et les noyaux paraventriculaires. Le ganglion cervical supérieur (GCS) est le relais ganglionnaire qui innerve la glande pinéale [figure 2] (Turek et al, 1984).

La lumière a un effet inhibiteur sur l'activité des neurones du noyau suprachiasmatique (Touitou et al , 1996), et par conséquent, la voie photoneuroendocrinienne n'est activée qu'au cours de la phase sombre du nyctémère.

*La glande pinéale est activée **la nuit** par un relais de fibres sympathiques.*

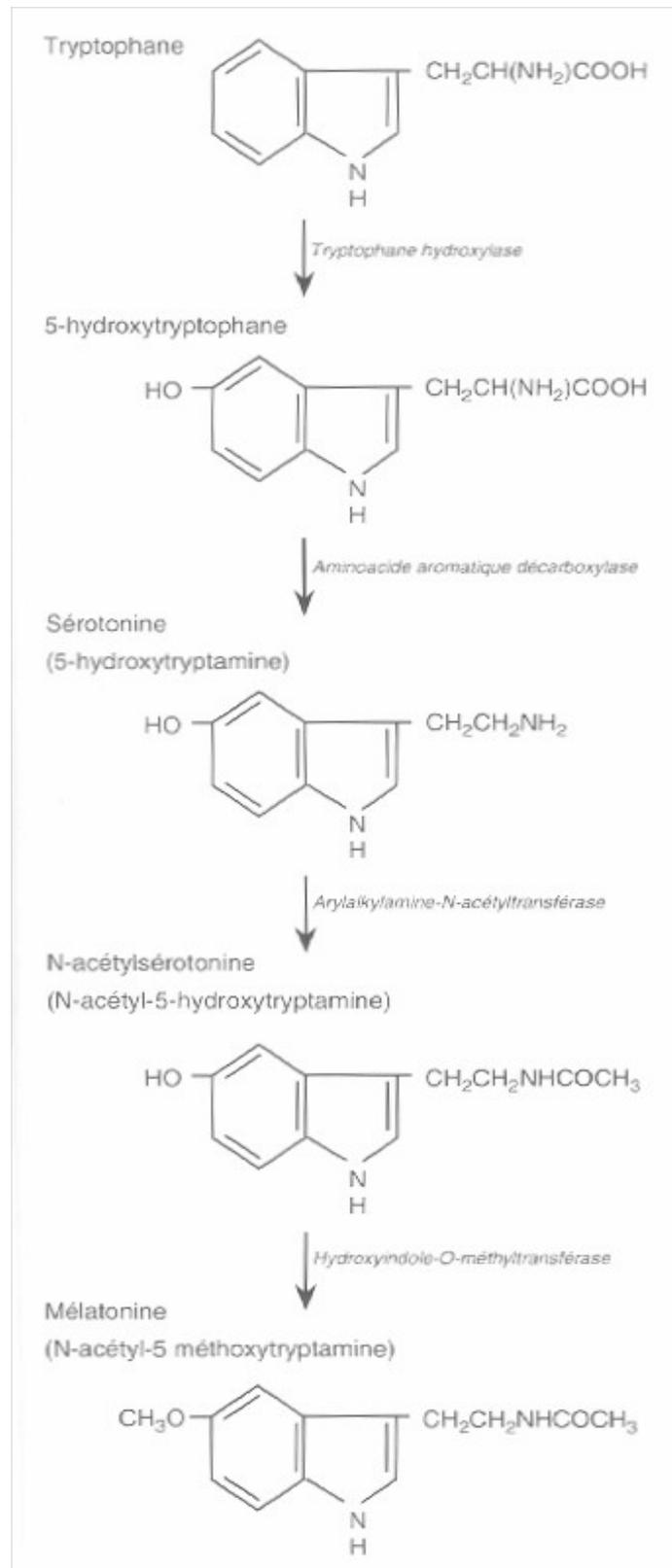


Figure 2 :

Synthèse de la mélatonine.

I.3.2. Intégration de l'information lumineuse par la glande pinéale

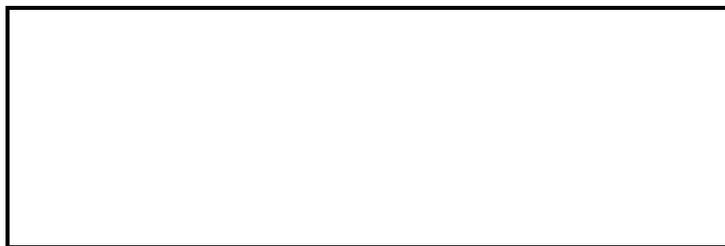
A l'extrémité des fibres post-ganglionnaires sympathiques, la noradrénaline (NA) est libérée dans les espaces synaptiques épiphysaires. La NA interagit au niveau de la membrane du pinéalocyte avec les récepteurs β -adrénergiques. Ces récepteurs sont couplés à l'adénylate cyclase grâce à des protéines Gs, la liaison de la noradrénaline à ces récepteurs conduit à une augmentation intracellulaire en AMPc (Touitou et al., 1996). Ce second messager stimule finalement la synthèse de la N-acétyltransférase, enzyme qui catalyse la transformation de sérotonine en mélatonine.

Ainsi, la glande pinéale est capable de transcrire l'information lumineuse et de la distribuer à l'ensemble de l'organisme par l'intermédiaire d'une hormone : la mélatonine.

II La sécrétion de mélatonine

II.1. Biochimie

La mélatonine ou N-Acétyl-5-Méthoxytryptamine est un indol synthétisé dans l'épiphyse. Son poids moléculaire est de 232 Kilo Daltons.



II.2. Déterminisme et mécanisme de la synthèse de mélatonine

II.2.1. Synthèse de mélatonine dans le pinéalocyte [Figure 3]

La mélatonine est synthétisée dans les pinéalocytes à partir d'un précurseur, le tryptophane qui est véhiculé par voie sanguine. Le tryptophane est tout d'abord transformé en 5-hydroxytryptophane par la tryptophane hydroxylase, puis en 5-hydroxytryptamine ou sérotonine grâce à l'action d'une enzyme décarboxylase. La sérotonine s'accumule dans les pinéalocytes pendant la journée.

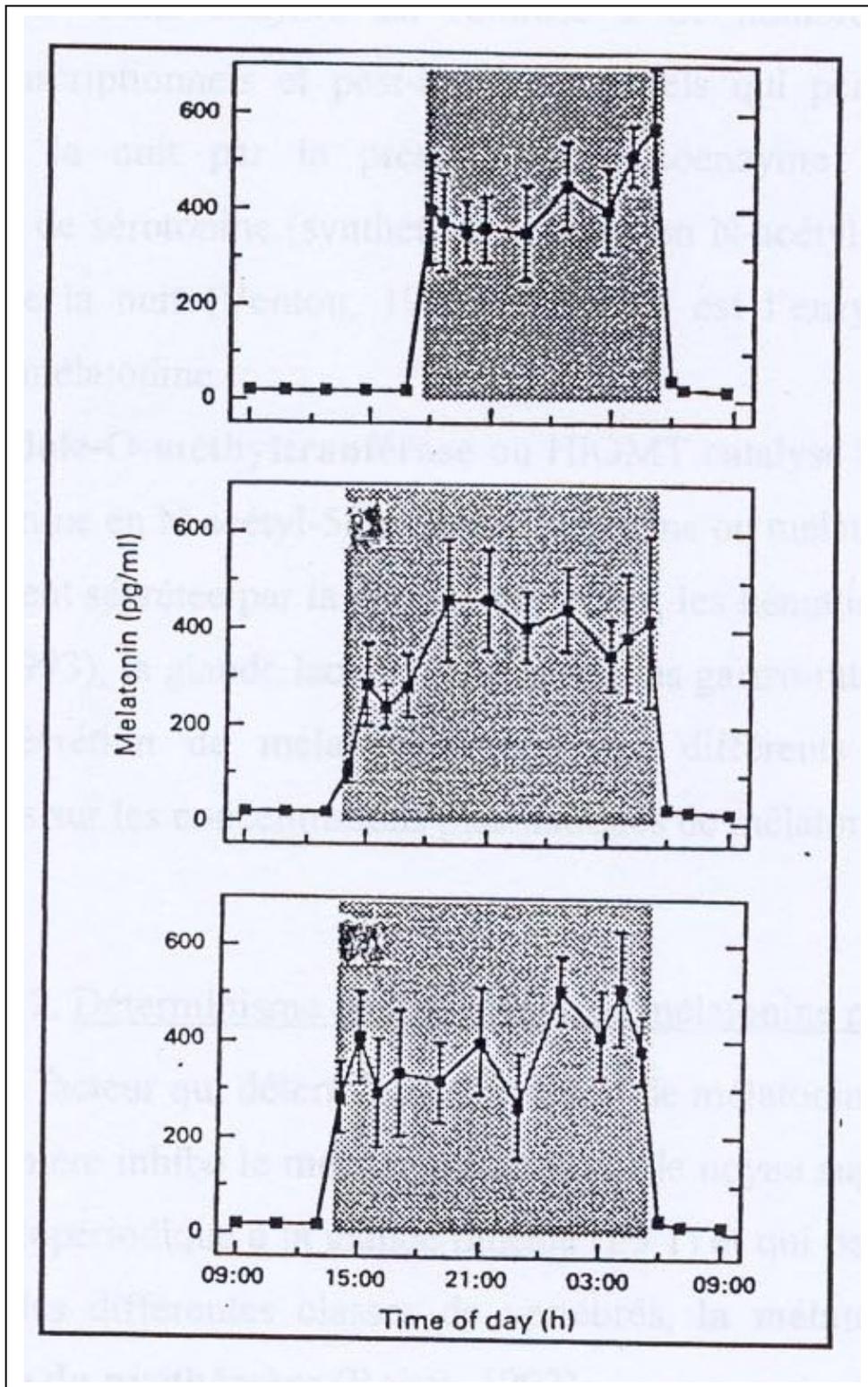


Figure 3: Evolution de la concentration plasmatique de mélatonine au cours du nyctémère.

La conversion de sérotonine en mélatonine est corrélée à la phase nocturne et comprend deux étapes catalysées par deux enzymes :

- la **N-acétyltransférase** : NAT permet la transformation de sérotonine en N-acétylsérotonine. Cette enzyme est soumise à de nombreux mécanismes de régulation transcriptionnels et post-transcriptionnels qui permettent à l'enzyme d'être activée la nuit par la présence d'un coenzyme : l'AMPc. Ainsi la transformation de sérotonine (synthétisée le jour) en N-acétylsérotonine ne se fait qu'au cours de la nuit (Ventou, 1992). La NAT est l'enzyme limitante de la synthèse de la mélatonine.
- **L'hydroxy-indole-O-méthyltransférase** ou HIOMT catalyse la transformation de N-acétylsérotonine en N-acétyl-5-méthoxytryptamine ou mélatonine.

La mélatonine est également sécrétée par la glande de Harder, les hématies, les leucocytes, la rétine (Herdeland et al., 1993), la glande lacrymale et le tractus gastro-intestinal (Malagelada, 1997). Cependant, la sécrétion de mélatonine dans ces différents compartiments est anecdotique et n'influe pas sur les concentrations plasmatiques de mélatonine.

II.2.2. Déterminisme de la synthèse de mélatonine par l'épiphyse

La lumière est le principal facteur qui détermine la sécrétion de mélatonine. En effet, une fois captée par la rétine, la lumière inhibe le message amorcé par le noyau suprachiasmatique qui conduit l'information photopériodique à la glande pinéale (I.3.1) et qui permet la sécrétion de mélatonine. Ainsi, dans les différentes classes de vertébrés, **la mélatonine est produite pendant la phase obscure du nyctémère** (Reiter, 1993).

D'autres facteurs tels que l'âge, le stress, les hormones, les médicaments ou la malnutrition (Touitou et al., 1996) peuvent intervenir pour contrôler le rythme de sécrétion de mélatonine, mais leur rôle est largement moins important que celui joué par la lumière.

II.3. Rythme de sécrétion de la mélatonine

La mélatonine est synthétisée chez toutes les espèces pendant la nuit. Chez les ovins, les taux plasmatiques circulants diurnes sont de l'ordre de 1 à 5 pg/ml et ces taux atteignent quelques centaines de pg/ml au cours de la phase sombre du nyctémère [figure 4]. La durée de présence de taux élevés de mélatonine est égale à la longueur de la nuit (Malpaux., 1988).

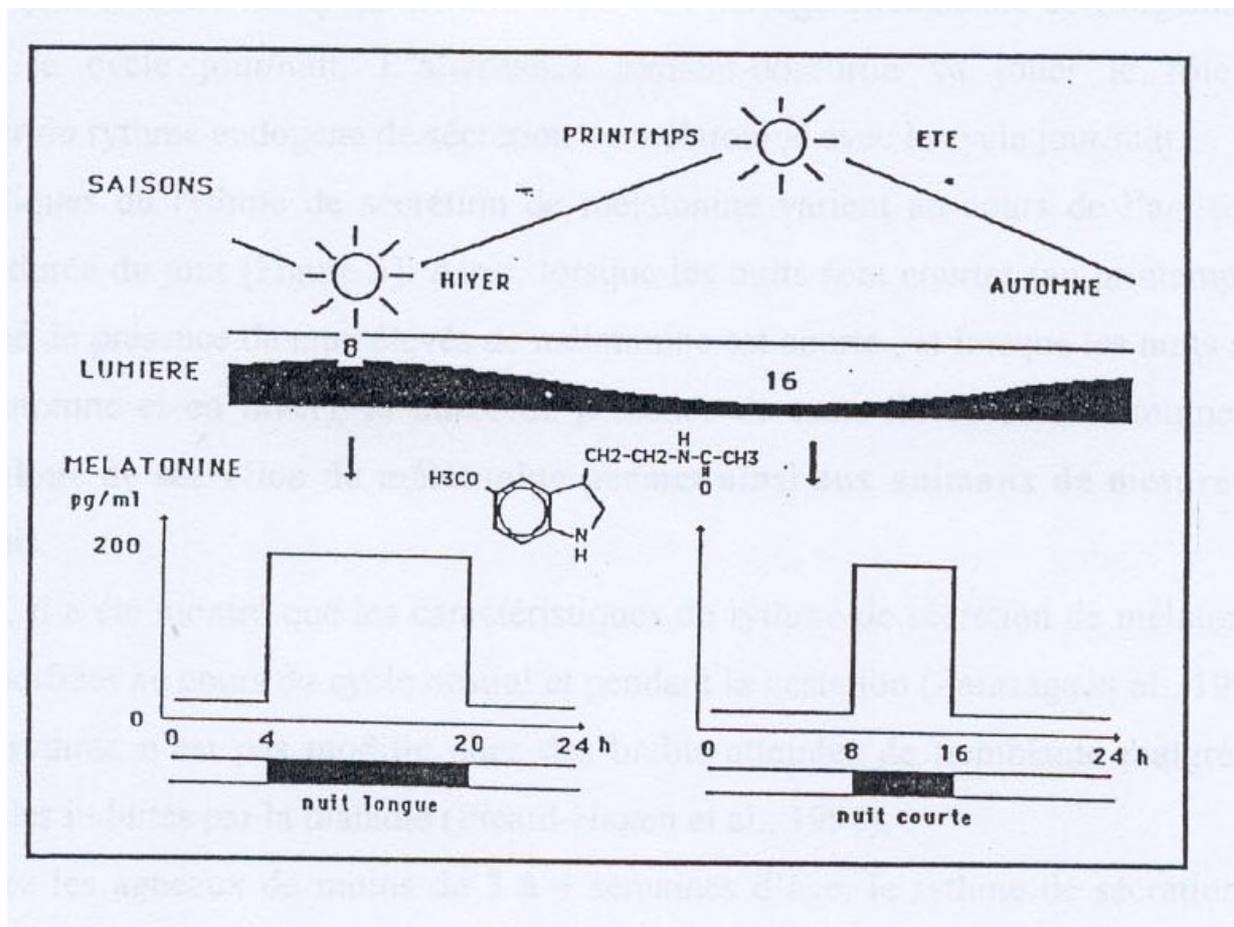


Figure 4: Variations de la concentration plasmatique de mélatonine en fonction de la saison et de la durée du jour.

Chez des brebis soumises à une photopériode constante (c'est à dire obscurité ou lumière continue), le rythme de sécrétion de mélatonine persiste avec une période proche de 24 heures : il s'agit donc d'un rythme circadien. Ce rythme est généré par les noyaux suprachiasmatiques (Reiter, 1993) qui sont le siège de l'horloge circadienne de l'organisme, entraînée par le cycle jour/nuit. L'alternance lumière-obscurité va jouer le rôle de synchronisateur du rythme endogène de sécrétion de mélatonine avec le cycle jour/nuit.

Les caractéristiques du rythme de sécrétion de mélatonine varient au cours de l'année en fonction de la durée du jour [Figure 5]. Ainsi, lorsque les nuits sont courtes (au printemps et en été), la durée de présence de taux élevés de mélatonine est courte ; et lorsque les nuits sont longues (en automne et en hiver), la durée de présence de taux élevés de mélatonine est longue. **Le rythme de sécrétion de mélatonine permet ainsi aux animaux de mesurer la durée de la nuit.**

Chez la brebis, il a été montré que les caractéristiques du rythme de sécrétion de mélatonine ne sont pas modifiées au cours du cycle oestral et pendant la gestation (Zarazaga et al., 1996). De même, ce rythme n'est pas modifié chez des brebis atteintes de tremblante malgré les lésions cérébrales induites par la maladie (Picard-Hagen et al., 1998).

Par contre, chez les agneaux de moins de 3 à 4 semaines d'âge, le rythme de sécrétion de mélatonine n'est pas encore synchronisé avec le cycle lumineux, mais est en relation avec le transfert de mélatonine par le lait maternel.

Le profil de sécrétion de la mélatonine constitue un signal endocrinien qui transmet l'information photopériodique à partir de la glande pinéale. Ce signal doit être décodé par l'organisme (voir chapitre III.1.2).

II.4. Métabolisme

II.4.1. Pharmacocinétique de la mélatonine

La mélatonine est une molécule de petite taille, hautement lipophile qui passe très facilement à travers les membranes cellulaires. Par conséquent, une fois produite dans le pinéalo-cyte, elle diffuse rapidement dans les capillaires qui irriguent la glande pinéale : il n'y a pas de stockage pinéal de l'hormone, et elle se distribue via le sang à l'ensemble de l'organisme. **Ainsi les concentrations plasmatiques de mélatonine reflètent la quantité de mélatonine produite dans la glande pinéale** (Reiter, 1993).

Le volume de distribution de la mélatonine est important : 0,8 L/kg chez la vache (Berthelot et al., 1993) et 1 L/kg chez la ponette (Guillaume et al., 1995) ; ce qui suggère une diffusion intracellulaire de cette hormone qui peut franchir aisément les membranes biologiques et les barrières hémato-méningée et placentaire. La mélatonine est ainsi détectée dans la salive, les liquides céphalorachidien (LCR), folliculaire ovarien, séminal, amniotique et dans la chambre antérieure de l'œil (cependant, la présence de mélatonine dans ces compartiments peut être corrélée à une autre source de sécrétion de mélatonine que la glande pinéale). Dans ces compartiments, le rythme jour/nuit de sécrétion de la mélatonine est également observé.

Il a été récemment montré que chez la brebis, la concentration nocturne de mélatonine dans le LCR prélevé dans le troisième ventricule est 20 fois supérieure à la concentration nocturne de mélatonine plasmatique (Skinner et Malpaux, 1999). Cette observation a conduit les auteurs à l'hypothèse suivante : la mélatonine pourrait être sécrétée directement par la glande pinéale dans le LCR sans passer par la circulation sanguine ; la mélatonine cheminerait par le récessus pinéal qui relie l'épiphyse au troisième ventricule, et se déverserait directement dans le LCR du troisième ventricule. La mélatonine contenue dans le LCR interviendrait notamment dans le contrôle photopériodique de la reproduction (III.1.3).

II.4.2. Catabolisme

La mélatonine est catabolisée à deux niveaux : le foie et le cerveau (Touitou et al., 1996), cependant, la principale voie catabolique est hépatique.

- Dans l'hépatocyte, la mélatonine est hydroxylée en 6-hydroxymélatonine puis est conjuguée avec l'acide sulfurique (70 à 80%) ou l'acide glucuronique (5%). Il s'agit de la principale voie de catabolisme hépatique de la mélatonine. Dans le cas de troubles hépatiques (cirrhose par exemple), cette transformation est plus lente, la clairance de la mélatonine diminue (Igushi et al., 1982).

- Dans le cerveau, le catabolisme se fait par oxydation et aboutit à la formation de N-acétyl-5-métoxykinurénamine (Touitou et al., 1996).

Le catabolisme de la mélatonine n'est pas dose dépendant chez les ovins (English et al, 1987), et les humains (Mallo et al., 1990).

II.4.3. Elimination

L'élimination de la mélatonine se fait à 70% dans les urines et à 20 % dans les fécès (Touitou et al., 1996). Parmi les catabolites retrouvés dans les urines, les composés sulfoconjugués sont les plus importants quantitativement, la mélatonine non métabolisée est présente à un taux inférieur à 1% dans les urines.

II.5. Principaux sites de liaison de la mélatonine

L'injection de mélatonine titriée a mis en évidence des sites préférentiels de capture de cette molécule qui sont : le cerveau, la glande pinéale, la rétine, les ovaires, l'utérus et le foie (Cardinali et Vacas, 1980). On peut ainsi distinguer des sites centraux et périphériques d'action de la mélatonine :

II.5.1. Sites centraux de liaison de la mélatonine

Deux sites constituent les cibles centrales principales de la mélatonine :

- la région de la *pars tuberalis* (partie de l'adénohypophyse) qui présente une très forte concentration en récepteurs à la mélatonine (de Reviers et al, 1989).
- L'aire prémammillaire qui présente une très forte concentration en récepteurs à la mélatonine. D'autre part, l'application d'implants délivrant de la mélatonine sur ce site entraîne une augmentation de la concentration de LH dans 90 % des cas. (Malpaux et al., 1998).

II.5.2. Sites périphériques de liaison de la mélatonine

Les organes reproducteurs tels que les ovaires, l'utérus et les testicules contiennent des récepteurs à la mélatonine. De même, des récepteurs à la mélatonine ont été mis en évidence dans le foie, les intestins (Malagelada, 1997), la rate, la peau, la rétine et dans les vaisseaux sanguins (Scalbert et al., 1997). L'ubiquité des sites de liaison de la mélatonine est le reflet des multiples rôles de la mélatonine que nous étudierons dans la partie suivante.

II.5.3. Les récepteurs de la mélatonine

Au niveau cellulaire, la mélatonine présente trois types de liaison : les récepteurs membranaires, cytoplasmiques et nucléaires .

Les *récepteurs membranaires* ont été mis en évidence grâce à un radioligand : la 2-iodo-mélatonine. Ce ligand a permis de distinguer deux catégories de récepteurs membranaires appelés ML1 et ML2 qui présentent respectivement une forte affinité et une faible affinité pour la 2-iodomélatonine (Dubucovich, 1995). Le site ML1 est caractérisé comme étant couplé à une protéine G car il est sensible au GTP, le site ML2 n'est quant à lui pas sensible aux analogues de GTP. Deux sous-types du site ML1 ont été clonés chez l'homme : ML1a et ML1b (Pévet, 1997 ; Lesieur et al., 1997) et un sous type du site ML1 a été cloné à partir de peau de Xénope : ML1c (Jockers et al., 1997). Chez l'homme, les récepteurs ML1a ont été identifiés dans les zones cérébrales et en particulier la *pars tuberalis* de l'adénohypophyse et le noyau suprachiasmatique de l'hypothalamus (Reiter et al., 1996), mais aussi au niveau périphérique dans le rein. Le récepteur ML1b est exprimé dans la rétine et l'hippocampe chez l'homme. Le site de liaison ML2 n'a pas encore été purifié et cloné, il présente une affinité 100 fois plus faible pour la mélatonine que ML1, et une bonne affinité pour la N-acétylsérotinine. Ce site a été mis en évidence dans le cerveau de certaines espèces telles que la souris, le rat ou le lapin.

De part sa petite taille et sa grande lipophilie, la mélatonine pourrait franchir les membranes cellulaires et pourrait agir directement au niveau de *récepteurs cytoplasmiques* sur les cellules ne présentant pas de récepteurs membranaires (Reiter et al., 1996).

Enfin, il a été montré que la mélatonine peut se concentrer dans le noyau cellulaire et des *récepteurs nucléaires* à la mélatonine ont été mis en évidence notamment dans le foie. Une fois liée à son récepteur, la mélatonine pourrait agir sur certains gènes et réguler leur expression (Reiter et al., 1996).

Il est actuellement impossible de lier une fonction physiologique ou un comportement à un type spécifique de récepteur et par conséquent à une indication thérapeutique.

La glande pinéale transmet l'information photopériodique perçue par la rétine à l'ensemble de l'organisme via la mélatonine. Cette hormone très lipophile et au métabolisme rapide diffuse rapidement et largement pour distribuer cette information au niveau de différents sites.

III Rôles de la glande pinéale et de la mélatonine

III.1. Rôles de la glande pinéale et de la mélatonine dans le contrôle photopériodique de la reproduction des ovins

Les ovins ont une activité de reproduction saisonnière qui se manifeste chez la brebis par l'alternance au cours de l'année d'une saison sexuelle et d'une saison d'anoestrus. Les béliers présentent également des variations saisonnières de l'activité sexuelle : le poids testiculaire et la production spermatique subissent des variations saisonnières importantes (Dacheux et al, 1981). L'activité de reproduction a lieu les jours courts de l'automne/hiver.

III.1.1. Importance de la photopériode dans la reproduction des ovins

III.1.1.1. Rôle de la photopériode dans l'organisation temporelle du cycle annuel de reproduction

Lorsque des brebis sont transportées de l'hémisphère Nord à l'hémisphère Sud, leur cycle reproductif est inversé, les brebis se reproduisent pendant l'automne de l'hémisphère Sud (Marshall, 1937). De même, il est possible de déplacer la saison sexuelle de six mois en utilisant des régimes lumineux artificiels inversés par rapport aux variations naturelles annuelles du jour. La cyclicité ovarienne débute lorsque la durée des jours diminue.

Des expériences consistant à alterner tous les trois mois des jours longs constants (c'est à dire présentant au moins 12 heures de lumière) et des jours courts constants (c'est à dire présentant au plus 8 heures de lumière), montrent que la reprise de l'activité sexuelle s'effectue 50 jours après le passage en jours courts, et que l'arrêt de l'activité sexuelle s'effectue 30 jours après le passage en jours longs. Par conséquent, les jours courts peuvent stimuler l'activité reproductive tandis que les jours longs inhibent cette activité (Legan et Karsch, 1979).

Cependant, il a été démontré que la perception de la diminution de la durée du jour après le solstice d'été n'était pas nécessaire pour déclencher l'activité sexuelle en automne (Robinson et al., 1985b). De même, la perception de l'augmentation de la durée du jour après le solstice d'hiver n'est pas requise pour l'interruption de l'activité reproductrice. Par conséquent, l'information photopériodique ambiante n'est pas utilisée pour induire une réponse reproductive au moment où les changements physiologiques se produisent. L'activité saisonnière est l'expression d'un rythme endogène circannuel de reproduction (Malpaux, 1988). En effet, des animaux soumis à un environnement photopériodique constant conservent un rythme d'activité et de repos sexuel avec une période proche de un an, mais ce rythme est décalé temporellement par rapport au cycle normal de reproduction.

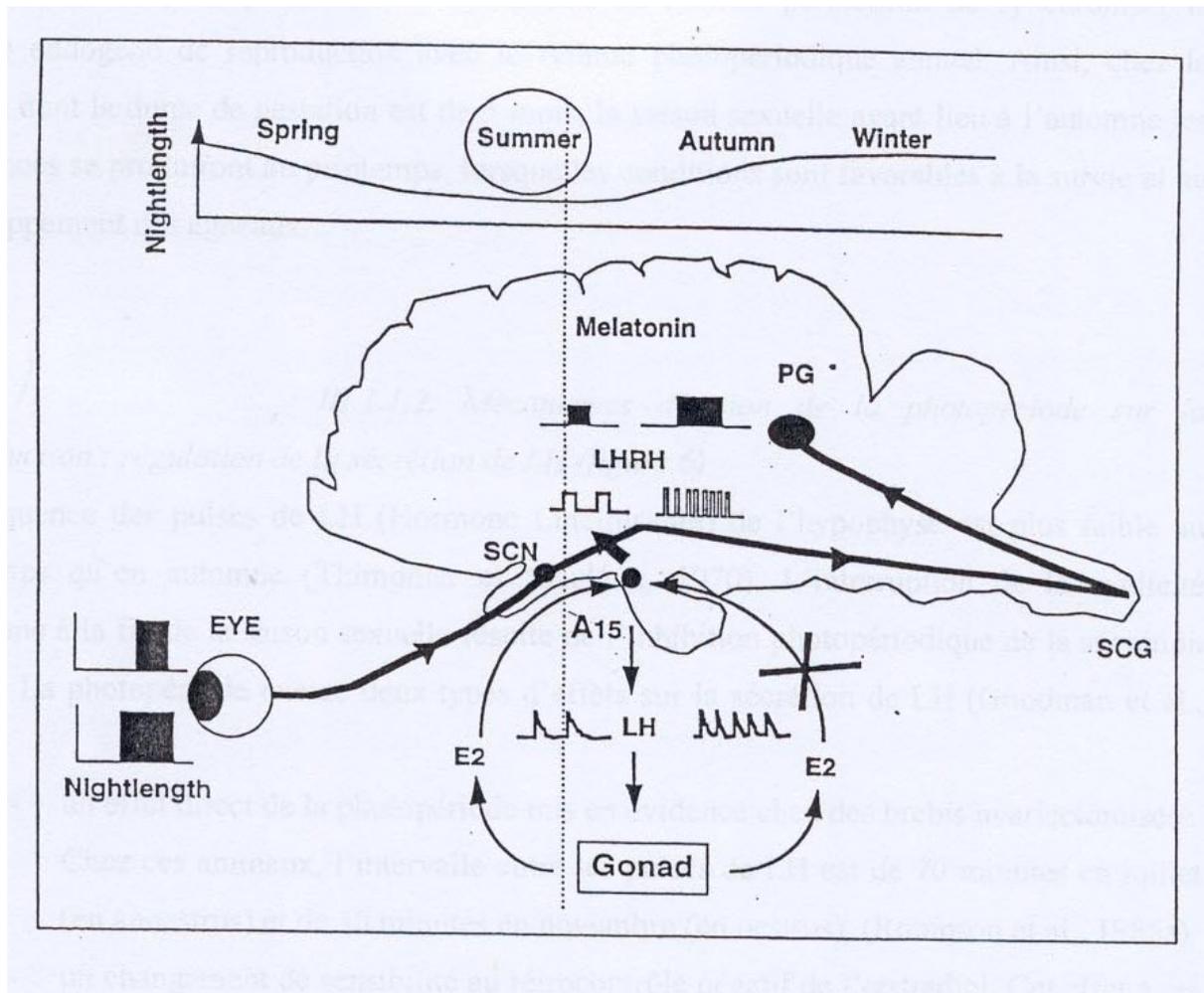


Figure 5: Mode d'action de la photopériode et de la mélatonine sur la reproduction des ovins.

Il a été montré que le moment de la perception du début des jours longs au printemps déterminait le début de la saison sexuelle suivante (Malpaux, 1988). Par conséquent, la lecture de l'information photopériodique à un moment de l'année permettrait de synchroniser le rythme endogène de reproduction avec le rythme photopériodique annuel. Ainsi, chez la brebis, dont la durée de gestation est de 5 mois, la saison sexuelle ayant lieu à l'automne les naissances se produiront au printemps, lorsque les conditions sont favorables à la survie et au développement des agneaux.

III.1.1.2. Mécanismes d'action de la photopériode sur la reproduction : régulation de la sécrétion de LH (figure 6)

La fréquence des pulses de LH (Hormone Lutéinisante) de l'hypophyse est plus faible au printemps qu'en automne (Thimonier et Mauléon, 1970). L'interruption de la cyclicité ovarienne à la fin de la saison sexuelle résulte de l'inhibition photopériodique de la sécrétion de LH. La photopériode exerce deux types d'effets sur la sécrétion de LH (Goodman et al., 1982) :

- un effet direct de la photopériode mis en évidence chez des brebis ovariectomisées. Chez ces animaux, l'intervalle entre les pulses de LH est de 70 minutes en juillet (en anoestrus) et de 40 minutes en novembre (en oestrus), (Robinson et al., 1985a).
- un changement de sensibilité au rétrocontrôle négatif de l'œstradiol. Cet effet a été mis en évidence sur des brebis ovariectomisées portant un implant sous-cutané d'œstradiol. Chez ces animaux, les concentrations plasmatiques de LH sont très faibles pendant l'anoestrus (0,5 ng/ml) et élevées pendant la saison sexuelle (10 ng/ml). Ainsi, le rétrocontrôle négatif de l'œstradiol sur l'axe hypothalamo-hypophysaire est plus intense en jours longs (la sécrétion hypophysaire de LH est alors diminuée) qu'en jours courts (la sécrétion hypophysaire de LH est augmentée).

La photopériode agit donc sur la reproduction en modifiant directement la pulsativité de LH et modifiant la sensibilité du système nerveux central au rétrocontrôle négatif de l'œstradiol [Figure 6].

III.1.2. Transduction de l'information photopériodique par la mélatonine

La durée de sécrétion de mélatonine au cours d'un nyctémère constitue le signal neuroendocrinien qui traduit la durée du jour. Deux hypothèses existent en ce qui concerne les paramètres du rythme de sécrétion de mélatonine responsables de l'interprétation de la durée du jour par l'organisme : la durée et la phase relative au cours du cycle de 24 heures de sécrétion de mélatonine (Karsch et al., 1988).

- la phase : au cours du nyctémère, il existe un moment critique de sensibilité à la présence de mélatonine. La réponse à la durée du jour pourrait être fonction de la présence ou de l'absence de mélatonine à ce moment critique.
- La durée : la réponse à la durée du jour serait fonction de la durée de présence de taux élevés de mélatonine, donc de la durée de la phase sombre.

Aucune de ces deux hypothèses n'est pour l'instant exclue.

III.1.3. Effets de la mélatonine sur la reproduction ovine

Chez des brebis pinéalectomisées perfusées avec de la mélatonine selon un protocole de type « jours longs » (durée de perfusion inférieure à 8 heures), la concentration de LH mesurée dans le sérum est très faible. Cette concentration augmente considérablement lorsque les brebis sont perfusées selon un protocole de jours courts (durée de perfusion supérieure à 12 heures) (Karsch et al., 1984). La mélatonine régule la sécrétion de LH en modulant l'activité des neurones à Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) situés dans l'hypothalamus. La libération pulsative de GnRH est à l'origine de la sécrétion pulsative de LH par l'hypophyse. Lorsque la durée de présence de taux élevés de mélatonine est longue, c'est à dire en « jours courts », la fréquence des pulses de LH est élevée, les cycles ovariens persistent. Inversement, si la glande pinéale reçoit une information de type « jours longs », la durée de présence de taux élevés de mélatonine est plus courte et la fréquence des pulses de LH est responsable de l'arrêt des cycles ovariens [Figure 6].

Les mécanismes par lesquels la mélatonine module la sécrétion de GnRH sont peu connus : l'action de la mélatonine sur les neurones à GnRH serait indirecte et impliquerait l'action des systèmes catécholaminergiques responsables d'une inhibition de l'activité des neurones à

GnRH et donc de la fréquence des pulses de LH pendant l'anoestrus. Parmi ces systèmes, il a été montré que le noyau dopaminergique A15 est impliqué dans le rétrocontrôle négatif de l'œstradiol. Au cours de l'anoestrus, la lésion neurotoxique des noyaux A15 entraîne une augmentation de sécrétion de LH (Thiéry et al, 1989). La mélatonine pourrait agir directement sur le noyau A15 ou sur une autre structure hypothalamique comme l'hypothalamus médiobasal, qui est la seule structure cérébrale répondant à des implants délivrant de la mélatonine par une augmentation du taux de LH (Malpaux et al., 1993).

Enfin, la mélatonine contenue dans le LCR pourrait agir directement sur l'hypothalamus, et contrôler la fonction de reproduction, la mélatonine véhiculée par voie sanguine agissant plutôt sur des cibles périphériques.

III.1.4. Utilisation de la mélatonine pour contrôler la fonction de reproduction

La mise en évidence du rôle de la mélatonine dans le contrôle photopériodique de la reproduction a permis le développement de traitements destinés à la maîtrise de la reproduction des ovins.

Chez les agneaux mâles, des programmes lumineux associés à des implants sous-cutanés de mélatonine permettent d'avancer la puberté et d'augmenter la fertilité ou la qualité de la semence (Chemineau et al., 1988).

Chez les béliers, la succession de périodes de jours longs mimés par des flashes lumineux et de périodes de jours courts mimés par des implants de mélatonine permet l'induction et le maintien d'une activité spermatogénique élevée à contre saison, ce qui permet aux centres d'insémination de disposer de semence fraîche aux périodes de faible activité sexuelle du mâle. De plus, l'alternance d'un mois d'éclairage nocturne suivi d'un mois d'implant de mélatonine permet le maintien de l'activité sexuelle du bélier à un niveau optimal plusieurs années consécutives (Picard-Hagen et al., 1996).

Chez les brebis peu saisonnées, les traitements à la mélatonine sont utilisés pour avancer la saison sexuelle et raccourcir la période de lutte (Chemineau et al., 1988). L'association d'un traitement jours longs, suivi d'un implant de mélatonine permet d'avancer la saison sexuelle chez des femelles très saisonnées ou d'obtenir une activité sexuelle à contre saison, ainsi les animaux pourront être vendus alors que les cours du marché seront les plus élevés. De plus,

les traitements à la mélatonine améliorent significativement la fertilité et augmentent la taille de portée (Chemineau et al., 1991).

La mélatonine joue un rôle fondamental dans le contrôle photopériodique de la reproduction ovine.

III. 2. Autres rôles de la mélatonine

Compte tenu de ces nombreux sites d'action, la mélatonine doit intervenir dans de nombreux processus. De plus, étant très lipophile, la mélatonine peut rapidement franchir les membranes cellulaires, ainsi, toutes les cellules et organites cellulaires sont exposés au rythme circadien de mélatonine.

III.2.1. Action anti-oxydante de la mélatonine : rôle dans le processus de vieillissement

III.2.1.1. Effets anti-oxydants de la mélatonine

Des expériences *in vitro* montrent que la mélatonine est capable de détruire les radicaux peroxylys générés lors de la peroxydation des lipides (Pieri et al., 1994). Son effet anti-oxydant est supérieur à celui de la glutathion peroxydase (GSH), de l'acide ascorbique et de la vitamine E.

D'autres expériences réalisées sur des cultures de lymphocytes humains soumises à des radiations ionisantes, prouvent que la mélatonine réduit de 60% les lésions de l'ADN causées par l'ionisation, qu'elle est un meilleur radioprotecteur que le 2-M diméthylsulfoxyde (DMSO), elle est même 500 fois plus efficace que le DMSO (Reiter et al., 1996). En effet, outre la destruction des radicaux hydroxyls produits par les cellules ionisées, la mélatonine qui se concentre dans le noyau, pourrait protéger directement l'ADN cellulaire contre les radiations.

Enfin, la mélatonine possède un pouvoir oxydant indirect : elle stimule la synthèse de GSH (enzyme anti-oxydante) et inhibe l'enzyme nitrite oxydase qui produit des radicaux nitrites (Reiter et al., 1996).

La mélatonine détruit les radicaux libres, elle a un pouvoir antioxydant direct et indirect. Elle pourrait constituer un mécanisme protecteur de l'organisme vis à vis du stress oxydatif.

III.2.1.2. Evolution de la sécrétion de mélatonine au cours de la vie et conséquence sur le processus du vieillissement

La sécrétion de mélatonine est élevée chez l'enfant, elle diminue jusqu'à l'âge adulte, puis reste stable durant la phase de maturité (Touitou et al., 1996). Cette sécrétion commence à diminuer progressivement à partir de l'âge de 50 ans et chez le sujet âgé les concentrations plasmatiques de mélatonine sont diminuées de moitié par rapport à un sujet jeune (Touitou, 1997). Donc, plus l'individu vieillit, plus il perd l'effet protecteur de la mélatonine vis à vis du stress oxydatif. L'homme âgé serait donc plus exposé aux radicaux libres qui pourraient être à l'origine de certaines maladies telles que le cancer de la prostate par exemple.

L'action potentielle de la mélatonine sur le processus du vieillissement a été largement médiatisée à partir de 1995 sous des termes tels que l'« hormone de Jouvence », mais les résultats scientifiques sur lesquels s'appuient cet effet de la mélatonine sont très contestés par la communauté scientifique.

III.2.2. Mélatonine et cancer

III.2.2.1. Mécanismes d'action de la mélatonine sur le processus tumoral

La mélatonine, grâce à ses **propriétés anti-oxydantes** pourrait empêcher l'initiation d'un processus tumoral. Par exemple, le safrole est une molécule carcinogène qui détruit l'ADN en favorisant la production de radicaux libres. La mélatonine permet de limiter les lésions de l'ADN causées par le safrole en détruisant les radicaux libres produits par le safrole mais aussi en protégeant directement l'ADN cellulaire contre l'oxydation ; le processus carcinogène est ainsi limité (Reiter et al., 1996).

De plus, la mélatonine présente *in vitro* des **propriétés antiprolifératives** sur les cellules normales ou néoplasiques. Cette propriété pourrait également s'observer *in vivo*, néanmoins des données contradictoires existent. La mélatonine agirait soit en intervenant directement sur la mitose, soit en inhibant la production de facteurs de croissance par la cellule cancéreuse (Rietmeyer, 1996).

La mélatonine pourrait également agir sur le développement tumoral en **modifiant le métabolisme de certaines hormones**. Par exemple, chez les porteurs de tumeurs prostatiques, on observe une augmentation de la concentration de FSH associée à une augmentation de la concentration de mélatonine (Bartsch et al., 1985). L'hypothèse actuelle

est que la mélatonine agit sur la sécrétion de FSH, qui limiterait le processus tumoral. La mélatonine aurait ainsi un rôle antinéoplasique indirect.

Enfin, la mélatonine est considérée comme un agent **immunostimulateur** (Rietmeyer, 1996), elle permet d'accroître la résistance de l'organisme vis à vis de tumeurs par exemple. La mélatonine stimulerait l'immunité cellulaire ainsi que l'immunité humorale.

III.2.2.2. Applications thérapeutiques de la mélatonine

De part ses propriétés, la mélatonine aurait une action limitant le processus cancéreux. Elle a donc été testée pour traiter certains cancers comme celui de la prostate, mais les résultats thérapeutiques sont irréguliers. La mélatonine n'est donc pas utilisée en première intention dans le traitement du cancer. Cependant, elle est utilisée comme adjuvant dans le traitement des cancers avancés car elle permet d'augmenter la vigueur des malades, elle procure un effet antalgique qui permet de stimuler l'appétit des patients et enfin, elle est dépourvue d'effets secondaires (Rietmeyer, 1996).

III.2.3. Intervention de la mélatonine sur les rythmes biologiques

La mélatonine est une « hormone donneuse de temps » qui informe l'horloge centrale de l'organisme des variations photopériodiques de l'environnement. Elle permet ainsi de synchroniser les rythmes biologiques avec les variations cycliques environnementales.

III.2.3.1. Exemples de rythmes biologiques entraînés par la glande pinéale

La glande pinéale contrôle des rythmes journaliers comme les rythmes d'activité locomotrice et celui de la température corporelle (Blinkey, 1979). Chez le moineau, espèce diurne, l'activité locomotrice et la température corporelle sont élevées le jour alors que les concentrations plasmatiques de mélatonine sont faibles. Au cours de la nuit, les concentrations plasmatiques de mélatonine augmentent et la température et l'activité sont faibles. Chez le hamster, espèce nocturne, la température, l'activité locomotrice et la concentration de mélatonine sont élevées la nuit et faibles le jour (Blinkey, 1979).

Chez les mammifères et en particulier l'homme, la mélatonine endogène intervient dans le rythme veille/sommeil. Le pic de mélatonine correspond au sommeil profond (la température corporelle est alors minimale) (Arendt, 1997). Ce contrôle de la mélatonine sur le sommeil est à l'origine de nombreuses applications thérapeutiques (III.2.3.2).

Outre son action sur les rythmes journaliers, la mélatonine intervient également sur les rythmes annuels tels que l'hibernation (Collin et al., 1988).

III.2.3.2. Utilisation de la mélatonine dans le traitement des désordres du rythme circadien

On parle de désordre du rythme circadien lorsque le rythme de sécrétion de mélatonine est décalé par rapport à l'environnement photopériodique. Ces désordres sont observés lors du décalage horaire au cours des voyages transmériidiens, du travail de nuit, des perturbations du sommeil et des dépressions saisonnières.

La mélatonine est à dose physiologique ($<0,5$ mg/kg) un chronobiotique, c'est à dire une substance qui permet de synchroniser les rythmes circadiens comme le rythme veille/sommeil avec leur environnement.

A dose plus élevée ($>0,5$ mg/kg), la mélatonine possède également des propriétés hypnotiques. Il est parfois intéressant de combiner ces deux propriétés (chronobiotique et hypnotique), par exemple pour permettre de synchroniser l'organisme avec les nouvelles conditions environnementales après un voyage transmériidien et d'utiliser les propriétés sédatives de la mélatonine pour faciliter le sommeil.

III.2.4. Conclusion

La mélatonine intervient dans de nombreux processus biologiques et son utilisation présente de nombreuses applications thérapeutiques potentielles. Il a été montré que la DL50 (c'est à dire la dose capable, après une seule administration d'engendrer la mort chez 50% des individus traités) est de 800 mg/kg chez la souris (Barchas et al., 1967), elle ne présenterait pas d'effets secondaires aux doses thérapeutiques.

Toutefois, en France, elle ne dispose d'autorisation de mise sur le marché que pour une seule application comme médicament vétérinaire. Elle est en effet commercialisée pour l'espèce ovine sous la forme d'implant (Melovine®, laboratoire CEVA Santé Animale) et son utilisation est préconisée pour avancer la saison de reproduction et augmenter la taille de portée.

Cependant, la mélatonine devrait faire rapidement son apparition sur le marché du médicament humain, d'ici l'année prochaine, sous une forme retard, destinée à traiter l'insomnie des personnes âgées (Cabut, 2000).

B . Contrôle génétique de la concentration plasmatique de mélatonine

I . Variabilité de la concentration plasmatique de mélatonine des brebis

I.1. Paramètres permettant de quantifier cette variabilité

Trois paramètres caractérisent le rythme de sécrétion de mélatonine :

- **l'amplitude instantanée** correspond à la différence entre la concentration nocturne et la concentration moyenne diurne de mélatonine. Elle est calculée pour chaque prélèvement de sang.
- **l'amplitude moyenne** correspond à la différence entre les concentrations nocturnes moyennes et les concentrations diurnes moyennes de mélatonine.
- **la durée** correspond au temps pendant lequel la concentration de mélatonine est élevée.

I.2. Variabilité intra-individuelle des paramètres du rythme de sécrétion de mélatonine

Les paramètres du rythme de sécrétion de mélatonine ont été évalués chez des brebis soumises à un schéma photopériodique alternant des jours longs (JL) et des jours courts (JC), au cours de différentes périodes de 24 heures. La répétabilité qui correspond au coefficient de corrélation entre les différentes mesures sur un même animal a été évaluée pour chacun des trois paramètres (Chemineau et al., 1996).

La répétabilité de la mesure de l'amplitude moyenne chez un individu est élevée (0,71) et les coefficients de corrélation de la concentration de mélatonine entre les différents prélèvements chez un même animal sont élevés (de 0,44 à 0,96). Par conséquent, chaque individu possède un niveau de concentration de mélatonine qui varie en fonction de la photopériode : élevé la nuit, faible le jour. Mais d'une nuit à l'autre, le niveau des concentrations en mélatonine est répétable pour un même individu, quelle que soit la longueur de la nuit. Il existe cependant de grandes différences d'amplitude entre les animaux.

La durée de présence de taux plasmatiques élevés de mélatonine varie en fonction de la photopériode : plus la phase obscure est longue, plus cette durée est longue. La répétabilité de la durée de présence de taux élevés de mélatonine est élevée. Donc, pour une même durée de la phase sombre, des animaux auront des durées de sécrétion de mélatonine élevée différentes entre individus, mais relativement constantes chez un même individu.

I.3. Conséquence de la faible variabilité intra-individuelle des concentrations plasmatiques nocturnes en mélatonine

L'amplitude moyenne des concentrations plasmatiques nocturnes en mélatonine et la durée de sécrétion de mélatonine varient en fonction de la durée du jour, mais sont relativement constantes chez un même individu. Ces deux paramètres sont donc des caractéristiques individuelles qu'il est intéressant d'étudier d'un point de vue génétique.

II. Contrôle de la variabilité de la concentration plasmatique de mélatonine

II.1. Contrôle génétique de cette variabilité

Deux hypothèses peuvent expliquer les larges différences de l'amplitude des concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine entre individus, et la grande répétabilité pour un même individu : un effet permanent de l'environnement et un effet génétique.

L'héritabilité, c'est à dire le rapport entre la variance génétique additive et la variance totale a été estimée à partir de trois générations de moutons (Zarazaga et al., 1998a) : elle est égale à 0,45, donc élevée. Ainsi, la concentration plasmatique en mélatonine est sous contrôle génétique important.

Ce contrôle génétique existe aussi chez l'homme et le lapin (Chemineau et al., 1998a) et pourrait suggérer l'intervention d'un gène majeur.

La variabilité des concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine est sous contrôle génétique important. Ce contrôle pourrait s'exercer sur la synthèse ou sur le catabolisme de la mélatonine.

II.2. Origine physiologique de la variabilité génétique des concentrations plasmatiques de mélatonine

II.2.1. Contrôle génétique de la synthèse de mélatonine

Sur deux groupes de brebis dont les concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine sont faibles et élevées, il a été montré que la clairance, le volume de distribution, le temps de demi-vie ou de temps de résidence n'étaient pas modifiés (Zarazaga et al., 1998b). Par conséquent, le catabolisme de l'hormone est identique pour tous ces animaux, et n'est pas à l'origine de la variabilité inter-individuelle de l'amplitude des concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine.

En revanche, le taux de production des animaux présentant des concentrations plasmatiques élevées de mélatonine a été plus important que celui des brebis dont les concentrations plasmatiques nocturnes sont faibles. **La variabilité génétique de l'amplitude des concentrations plasmatiques nocturnes en mélatonine est liée à sa synthèse et non à son catabolisme.**

Le contrôle génétique pourrait donc s'effectuer au niveau de la glande pinéale ou sur son contrôle.

II.2.2. Influence de la glande pinéale sur la variabilité génétique des concentrations plasmatiques en mélatonine

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer l'influence de la glande pinéale :

- la taille ou le poids de la pinéale ;
- une différence dans l'activité sécrétoire de la glande pinéale ;
- une différence dans l'activité ou la quantité des enzymes pinéales, ou une différence dans la quantité des ARNm de ces enzymes.

Il a été montré que les animaux dont on a caractérisé le niveau élevé de l'amplitude des concentrations nocturnes de mélatonine présentent une concentration de mélatonine plus élevée de jour comme de nuit que les animaux dont le niveau d'amplitude des concentrations nocturnes de mélatonine est faible. Le poids de leur glande pinéale est aussi plus élevée quelque soit le moment de l'abattage (jour ou nuit) que celui des animaux dont l'amplitude de concentration nocturne est faible (Coon et al, 1999). Le coefficient de corrélation entre la

moyenne de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine 24 heures avant abattage et le poids de la glande pinéale est élevé (Coon et al., 1999).

Par contre, entre les deux groupes de brebis (niveau faible vs élevé des concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine), il n'y a pas de variations entre la quantité de mélatonine mesurée par mg de pinéale. Les activités des enzymes pinéales : arylalkylamine N-acétyltransférase et Hydroxyindole-O-méthyltransférase ne sont pas non plus significativement différentes entre les deux groupes (Coon et al., 1999).

La variation génétique de la concentration plasmatique en mélatonine serait donc liée à la variabilité du poids de la glande pinéale et non à celle des activités enzymatiques pinéales.

La glande pinéale étant composée à 80% de pinéaloctes, on peut se demander comment s'exprime le contrôle génétique à l'échelle cellulaire.

II.2.3. Influence des pinéaloctes sur la variabilité génétique des concentrations plasmatiques en mélatonine

Sur des agneaux à haut vs bas niveau des concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine, il a été montré qu'il existe une **corrélacion importante entre la concentration moyenne de mélatonine et le nombre de pinéaloctes** (Gomez-Brunet et al., 2000). Les auteurs n'ont cependant pas mis en évidence de corrélacion entre cette concentration et le taille des pinéaloctes.

Par conséquent, à l'échelle cellulaire, le contrôle génétique s'effectuerait sur le nombre de pinéaloctes, plus ce nombre serait important, plus la concentration en mélatonine serait élevée.

II.3. Date d'établissement de cette différence génétique dans la vie

Des prélèvements de sang réguliers réalisés sur des agneaux séparés en deux groupes (haut vs bas niveaux de mélatonine correspondant aux concentrations plasmatiques de mélatonine de leurs parents) à partir d'une semaine d'âge ont montré que, dès la première semaine d'âge, les concentrations plasmatiques en mélatonine du groupe « haut » sont supérieures à celle du

groupe « bas » et que cette différence se maintient au cours de leur croissance (Gomez-Brunet et al., 1999).

La variabilité génétique de la sécrétion de mélatonine s'exprimerait donc à partir d'une semaine d'âge. Par conséquent, les gènes impliqués dans cette variabilité, agissent probablement *in utéro* ou précocement autour de la naissance de l'agneau (Chemineau et al., 1998b).

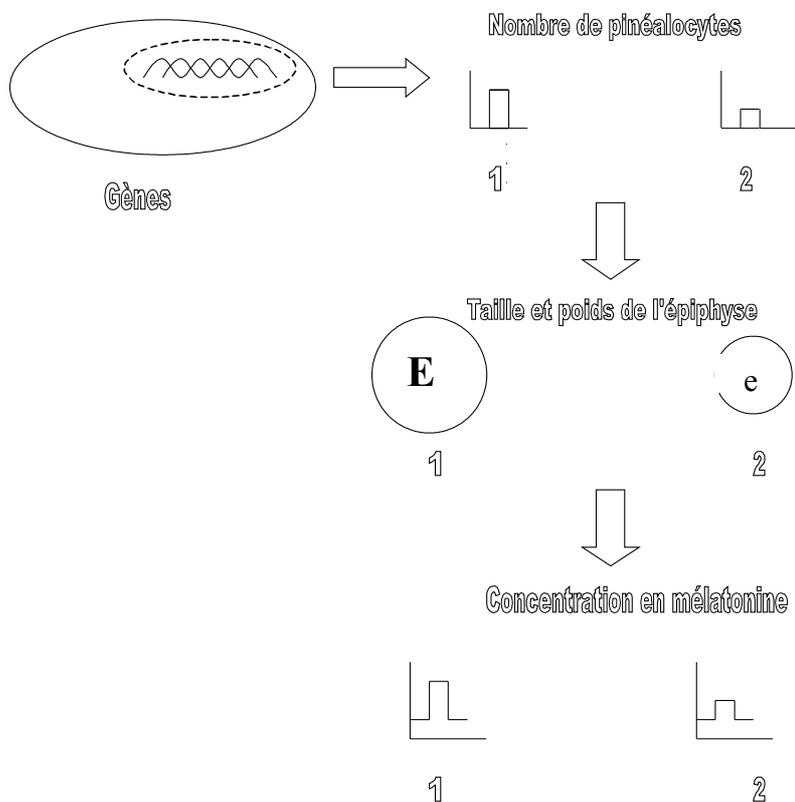


Figure 6 :

Contrôle génétique de la sécrétion de mélatonine.

II.4. Conclusions sur le contrôle génétique de la concentration de mélatonine [Figure 7]

Les brebis présentent une grande variabilité interindividuelle de la concentration plasmatique de mélatonine : certaines ont une amplitude élevée des concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine, d'autres, un niveau moyen, d'autres un niveau bas. Cette variabilité est en partie d'origine génétique. L'héritabilité de ce caractère est relativement élevée.

Cette variabilité génétique est liée au poids de la glande pinéale et plus précisément au nombre de pinéaloctes : plus le poids ou le nombre de pinéaloctes sont élevés, plus l'amplitude des concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine est haute.

Cette variabilité génétique s'exprime dès l'âge d'une semaine. Les gènes impliqués agissent certainement sur le développement *in utero* ou autour de la naissance. En effet, la vitesse de croissance de la glande pinéale est maximale dans les 20 jours précédant la naissance (Franco et al., 2000).

Nous nous proposons, dans la partie expérimentale suivante, d'explorer l'origine génétique de la variabilité du poids de la glande pinéale et de la concentration plasmatique de mélatonine.

PARTIE EXPERIMENTALE

ETUDE EXPERIMENTALE

A. Objectifs de l'étude

Le premier objectif de ce travail était d'étudier *l'effet de différents facteurs* : le lot, le père, le type génétique, le sexe, la croissance, le poids et l'âge à l'abattage et des données relatives à la carcasse sur deux caractères : le poids de la glande pinéale et la concentration plasmatique nocturne de mélatonine des animaux.

Le deuxième objectif de l'étude était *d'estimer les paramètres génétiques* (héritabilité et corrélations génétiques) de ces deux caractères dans notre échantillon.

Le troisième objectif était de réaliser une *analyse de ségrégation*, afin de déterminer si la transmission génétique de ces deux caractères obéit à un modèle polygénique strict ou mixte (polygénique associé à l'effet d'un gène majeur).

Le quatrième objectif de l'étude était d'essayer de *localiser des QTL* relatifs à ces caractères sur le chromosome 2 (seul chromosome pour lequel nous avons des informations marqueurs issues d'un autre protocole).

B. Matériel et méthodes

I. Animaux

I.1. Origine

Dans le cadre d'un programme de détection de QTL de conformation bouchère, des béliers Texel belge ont été croisés en 1994 avec des femelles Romanov afin d'obtenir une première génération d'animaux : la génération F1. De cette génération F1, 3 mâles ont été conservés. Ils ont été accouplés d'une part avec 122 femelles F1 pour obtenir la génération F2, et d'autre part avec 104 femelles Romanov pour obtenir des animaux back-cross [Figure 8].

Les trois mâles F1 (A, B, C) ont été accouplés avec les femelles Romanov pour donner des animaux back-cross pendant trois années consécutives : 1997, 1998, 1999.

Les accouplements des trois mâles F1 avec les femelles F1 à l'origine de la génération F2 ont eu lieu quatre années consécutives : 1997, 1998, 1999, 2000. Au cours des trois premières années, un seul mâle était utilisé pour les accouplements (successivement B, C et A) et la dernière année c'est à dire en 2000, les trois mâles (A, B et C) ont été utilisés.

I.2. Caractéristiques des animaux de l'étude

- Animaux F2 :

Lot	Père	Nombre de mâles	Nombre de femelles	Effectif	Effectif
				par père	par lot
1	B	19	28	47	47
2	C	25	34	59	59
3	A	23	22	45	45
4	A	7	8	15	50
	B	8	8	16	
	C	9	10	19	
Total		91	110	201	201

Tableau 1 : Caractéristiques des animaux de la génération F2 : lot, père, sexe.

- Animaux « Back-cross » (ou BC) :

Lot	Père	Nombre de mâles	Nombre de femelles	Effectif	Effectif
				par père	Par lot
1	A	16	13	29	66
	B	6	15	21	
	C	9	7	16	
2	A	12	8	20	70
	B	12	12	24	
	C	15	11	26	
3	A	7	14	21	62
	B	6	14	20	
	C	13	8	21	
Total		96	102	198	198

Tableau 2 : Caractéristiques des animaux dits « Back-cross » : lot, père, sexe.

Remarque : la dernière année (lot 4) il n'y a pas eu de back cross.

- ensemble des animaux :

Lot	Nombre de mâles	Nombres de femelles	Effectif total
1	50	63	113
2	64	65	129
3	49	58	107
4	24	26	50
Total	187	212	399

Tableau 3 : Effectif et sexe de l'ensemble des animaux par lot.

I.3. Conditions d'élevage

Les animaux ont été élevés au domaine expérimental de Langlade à la station expérimentale de génétique animale (SAGA) de Toulouse jusqu'à leur abattage. Ils correspondent en fait à un programme mis en place initialement pour vérifier l'existence du gène culard et son association avec l'expression de la myostatine. Dans ce but, les agneaux ont été contrôlés tout au long de leur croissance (pesées régulières) et ils ont été abattus à poids constant : 33 kg pour les femelles et 40 kg pour les mâles. Différentes mesures ont été effectuées sur les carcasses ainsi que les notations de la conformation et de l'état d'engraissement.

II. Protocole expérimental concernant la glande pinéale et la concentration plasmatique de mélatonine

II.1. Prélèvements sanguins

Des prélèvements de sang ont été réalisés sur l'ensemble des animaux âgés de 3 à 4 mois, au cours d'une nuit, en juillet 1997, en février et juillet 1999 et en juin 2000. Quatre prélèvements de sang ont été effectués sur chaque agneau à une heure d'intervalle : deux à la veine jugulaire droite et deux à la veine jugulaire gauche. Les manipulateurs disposaient de lampes infra-rouge qui délivraient moins de 1 lux à 20 cm et les yeux des animaux étaient bandés afin qu'ils ne perçoivent pas la lumière. Le sang, obtenu par ponction directe des veines jugulaires, a été recueilli sur héparinate de sodium et a été rapidement centrifugé à 1500 g pendant 15 minutes. Le plasma a été immédiatement congelé à -20°C jusqu'au moment de la réalisation des dosages.

II.2. Dosage de la mélatonine

Les concentrations plasmatiques de mélatonine ont été mesurées par radioimmunologie d'après la méthode de Fraser (Fraser et al., 1983), cette technique ne nécessitant pas d'extraction.

La limite de quantification de cette technique est de 5 pg/ml, et le coefficient de variation intra-test est proche de 4%.

II.3. Prélèvements des glandes pinéales

Les glandes pinéales ont été prélevées au cours des 8 heures suivant l'abattage des animaux. La technique de prélèvement a été la suivante : tout d'abord, la partie supérieure du crâne était dépecée et la tête décalottée. Le manipulateur incisait ensuite la dure-mère et prélevait l'encéphale. L'encéphale était disposé sur sa face ventrale, les deux hémisphères cérébraux étaient ensuite séparés et détachés de l'encéphale afin de visualiser la glande pinéale située juste en avant des tubercules quadrijumeaux (cf A.I.1). Une fois la glande pinéale individualisée, le manipulateur coupait le récessus pinéal qui relie la glande au cerveau et la plaçait dans un pot préalablement identifié.

II.4. Détermination du poids de la glande pinéale

Les pesées étaient réalisées au cours des 2 heures suivant le prélèvement des glandes pinéales à l'aide d'une balance Explorer (Ohaus®, précision de 0,1 mg).

III. Analyse statistique et génétique

III.1. Analyse statistique

III.1.1. Analyse statistique des données

Les concentrations plasmatiques individuelles moyennes de mélatonine ont été calculées à l'aide du logiciel EXCEL (Microsoft corporation, Richmond). Elles correspondent à la moyenne des 4 prélèvements nocturnes réalisés. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SAS (SAS Institute, 1990).

L'effet des différents facteurs de variation a été testé par analyse de variance (procédure GLM du logiciel SAS, modèle à effets fixes et covariables).

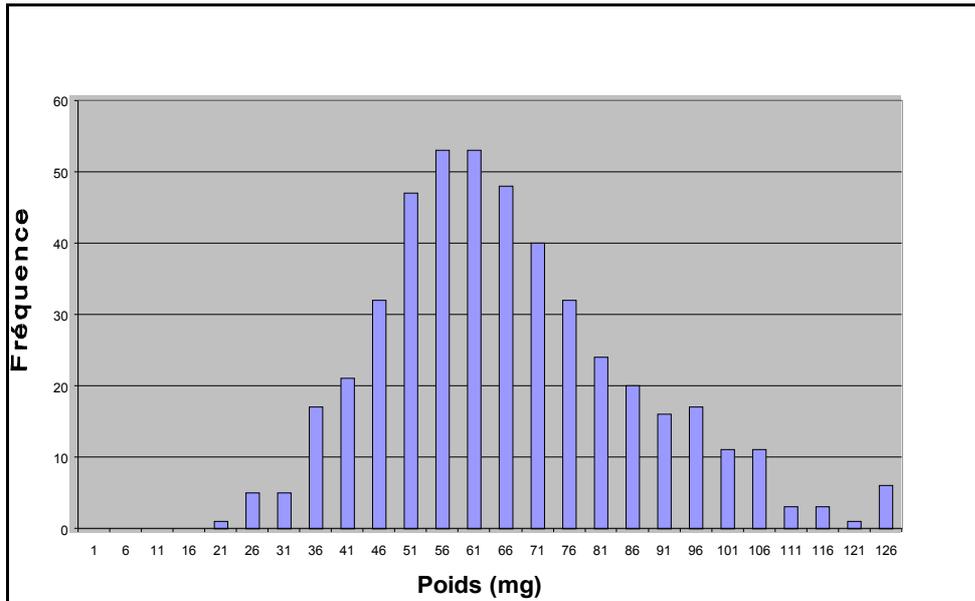


Figure 9 :
Distribution du poids de la glande pinéale.

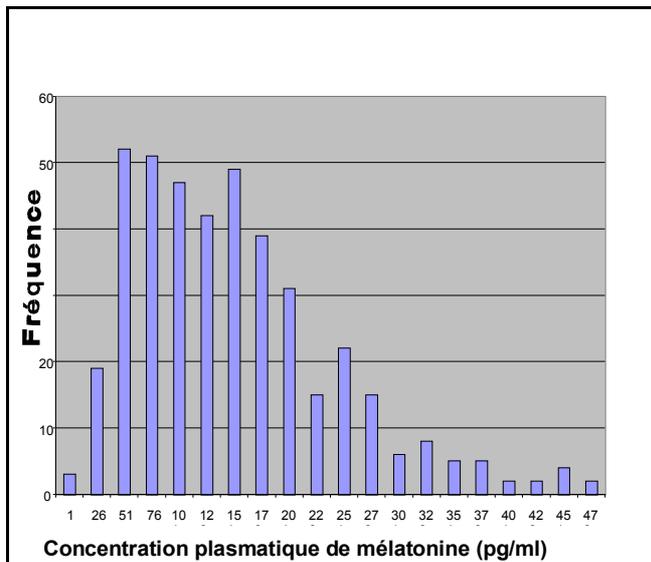


Figure 10 :
Distribution de la concentration plasmatique de mélatonine.

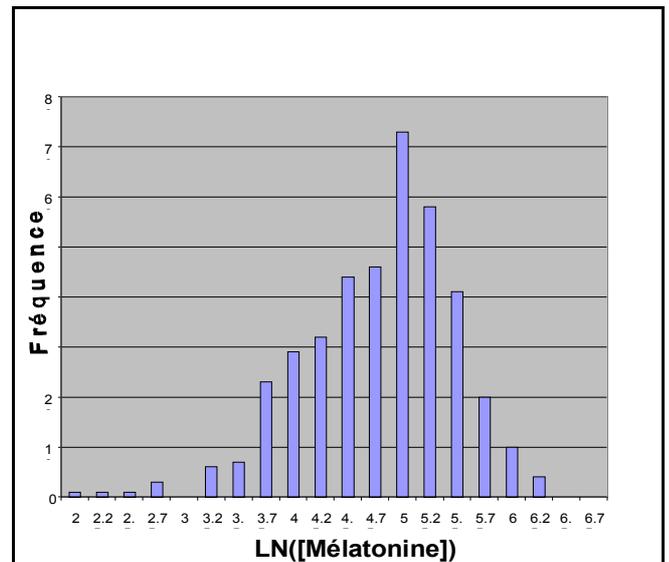


Figure 11 :
Distribution du logarithme népérien de la concentration plasmatique de mélatonine.

III.1.2. Présentation des facteurs de variations étudiés

Les facteurs de variation susceptibles d'avoir un effet sur les caractères poids de la glande pinéale et concentration plasmatique en mélatonine sont les suivants :

- Lot : il correspond à l'année d'abattage des agneaux : lot 1, 2, 3 et 4.
- Père : 3 pères ont été utilisés, ils portent les numéros 950568, 950599 et 950629, on les notera respectivement A, B et C.
- Sexe.
- Type : correspond au type génétique Back-Cross ou F2.
- Typ : correspond aux allèles du gène de la myostatine : Romanov/Romanov, Romanov/Texel, Texel/Texel identifiés par PCR notés respectivement RR, RT et TT.

Les covariables susceptibles d'avoir un effet sur les caractères poids de la glande pinéale et concentration plasmatique en mélatonine sont les suivantes :

- L'âge à l'abattage.
- Le poids de carcasse.
- Les notes de conformation et de gras.
- Le Gain Moyen Quotidien.

III.1.3. Statistiques élémentaires et élimination de certaines données

Dans notre étude, les deux caractères étudiés sont le poids de la glande pinéale (en mg) et la concentration plasmatique de mélatonine (en pg/ml). Les distributions de ces deux paramètres sont représentées dans les figures 9 et 10. La distribution de la concentration en mélatonine est dissymétrique et nous avons utilisé la transformation logarithmique des concentrations dont la distribution est représentée figure 11. La distribution du poids de la glande pinéale montre quelques données extrêmes très largement supérieures à la moyenne (le poids de pinéale le plus important est de 265,2 mg soit 11 écarts types de plus que la moyenne). Nous avons donc fixé un seuil arbitraire à 110 mg et identifié 9 individus au delà de ce seuil. Aucune caractéristique particulière ne distingue ces individus du reste de l'échantillon : ils sont bien répartis parmi les types génétiques, ils ont des notes de carcasses hétérogènes, leurs pères sont différents et ils proviennent de lots différents (il semble qu'aucun des facteurs disponibles ne prédispose à avoir un poids de la glande pinéale si élevé). Ces valeurs extrêmes

peuvent être attribuées à des erreurs de manipulation. Ces individus ont été retirés de l'étude qui rassemble alors 399 agneaux.

Le tableau 4 présente les statistiques descriptives pour les caractères poids de la glande pinéale, concentration plasmatique nocturne de mélatonine et logarithme népérien de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine.

	Poids de pinéale	Mélatonine	Ln(mélatonine)
Effectif	399	399	399
Moyenne	64,17	147,89	4,78
Ecart-type	18,08	92,5	0,69
Minimum	18,5	8	2,07
Maximum	108,2	559	6,32

Tableau 4 : Statistiques descriptives pour les caractères étudiés : poids de la glande pinéale (en mg), concentration plasmatique de mélatonine (en pg/ml) et logarithme népérien de la concentration plasmatique de mélatonine.

III.1.4. Répartition des données selon les différents facteurs de variation

Les agneaux de notre échantillon sont répartis par type génétique (Back cross ou F2), par lot et par père comme l'indiquent les tableaux 1, 2, et 3.

L'échantillon est relativement équilibré par sexe : 187 mâles et 212 femelles, par type génétique 201 F2 et 198 BC, par père : 130 agneaux pour le père A, 128 pour le père B et 141 pour le père C. Par contre, il n'est pas équilibré par lot : 113 individus dans le lot 1, 129 dans le lot 2, 107 dans le lot 3 et seulement 50 individus dans le lot 4. En effet, le lot 4 ne comprend que des F2 et pas de Back cross, et présente de nombreuses données manquantes pour la concentration en mélatonine.

III.2. Analyse génétique

III.2.1. Estimation des paramètres génétiques

III.2.1.1. Rappel : définition des paramètres génétiques étudiés

Les paramètres génétiques sont des variables synthétiques élaborées à partir des composantes de la variance. Leur valeur est spécifique des caractères et de la population étudiée. Il existe deux grandes catégories de paramètres génétiques : l'héritabilité et la corrélation génétique.

σ

L'héritabilité au sens large mesure la part de la variabilité d'origine génétique (σ^2_g) sur la variabilité totale ou variabilité phénotypique (σ^2_p). Cependant, en génétique animale, on ne s'intéresse, en général, qu'à l'héritabilité au sens strict (h^2) définie comme le rapport entre la variance génétique additive (σ^2_a) et la variance phénotypique (σ^2_y) :

$$h^2 = \sigma^2_a / \sigma^2_y$$

L'héritabilité exprime le degré de confiance à accorder au phénotype en tant qu'appréciation de la valeur génétique transmissible d'un individu à ses descendants. Elle détermine donc l'efficacité potentielle de la sélection.

La corrélation génétique (Γ_A) entre deux caractères A_1 et A_2 est le rapport de la covariance génétique sur le produit des écarts types génétiques. De manière générale, on ne s'intéresse qu'à la corrélation entre valeurs génétiques additives, ainsi :

$$\Gamma_A = \frac{\text{cov}(A_1, A_2)}{\sqrt{\sigma^2_{A_1} \sigma^2_{A_2}}}$$

La corrélation génétique permet de juger le degré de ressemblance entre les valeurs génétiques pour deux caractères contrôlés sur les individus d'une population. Elle décrit la co-évolution de la distribution des valeurs génétiques de ces caractères dans la population, et permet de prédire l'évolution d'un caractère sous l'effet de la sélection de l'autre caractère.

III.2.1.2. Méthode d'estimation des paramètres génétiques

Cette seconde partie de l'étude a nécessité l'élaboration d'un fichier contenant la généalogie des agneaux. Nous avons travaillé sur 3 générations.

Les paramètres génétiques, c'est à dire l'héritabilité et les corrélations génétiques ont été estimés par la méthode du maximum de vraisemblance restreinte (REML), à l'aide du logiciel VCE4 (Groeneveld, 1997).

Pour chaque variable, nous avons considéré les effets fixes et les covariables retenus dans la première partie, et un effet aléatoire : la valeur génétique additive de chaque individu (modèle animal).

Dans un premier temps, chaque variable a été considérée indépendamment pour l'estimation de l'héritabilité. Dans un deuxième temps, elles ont été analysées conjointement pour estimer les corrélations génétiques. Dans ce cas, les modèles concernant la concentration plasmatique de mélatonine et son logarithme ne contenaient pas le poids de la glande pinéale comme covariable (problèmes numériques).

III.2.2. Analyse de ségrégation : principe général

Le principe général de cette méthode est de comparer, par des techniques de maximisation de vraisemblance, différents modèles de transmission héréditaire d'un caractère, incluant des facteurs génétiques et environnementaux.

Deux hypothèses sont successivement testées : l'hypothèse polygénique H_0 selon laquelle le caractère est déterminé exclusivement par l'expression de polygènes, et l'hypothèse mixte H_1 selon laquelle le caractère est déterminé par l'expression de polygènes et l'effet d'un gène majeur.

Les maximums de vraisemblances de l'échantillon M_0 et M_1 sont estimés dans l'échantillon respectivement sous les hypothèses H_0 et H_1 .

Puis, le rapport de vraisemblance $L = -2 \log(M_0/M_1)$ est calculé. Ce rapport est distribué asymptotiquement selon un χ^2 à d degré de liberté, d étant la différence entre le nombre de paramètres estimés sous H_1 et H_0 . La probabilité de ce rapport est d'autant plus faible que le rapport est élevé, et au-delà d'un certain seuil, on est amené à rejeter l'hypothèse H_0 avec un risque faible de se tromper.

III.2.3. Analyse QTL

Les QTL (Quantitative Trait Loci), sont des gènes responsables d'une part de la variabilité génétique des caractères quantitatifs. Des marqueurs moléculaires, préalablement identifiés et localisés sur les chromosomes sont utilisés pour détecter d'éventuels QTL. Le principe de détection de QTL à partir de marqueurs moléculaires repose sur l'observation de la coségrégation d'un marqueur et d'un caractère quantitatif (Boichard et al., 1998).

III.2.3.1. Marqueurs moléculaires disponibles pour l'étude

Les marqueurs moléculaires sont des séquences d'ADN polymorphes facilement repérables sur les chromosomes. Pour notre étude, les marqueurs dont nous disposions étaient des microsatellites, c'est à dire des séquences d'ADN constituées de répétition en tandem de di- ou tri-nucléotides de longueur variable.

Les agneaux de notre étude ainsi que leurs ascendants avaient été typés pour 11 marqueurs moléculaires situés sur le chromosome 2 lors de l'étude sur le gène culard. Nous avons utilisé ces typages pour évaluer la présence d'un éventuel QTL au sein du groupe de liaison constitué par ces 11 marqueurs pour les caractères poids de la glande pinéale et concentration plasmatique nocturne de mélatonine. Pour cela nous avons utilisé deux méthodes :

III.2.3.2. Méthodes utilisées pour la détection de QTL

** Approche unimarqueur :*

Nous avons tout d'abord utilisé une approche linéaire unimarqueur basée sur l'analyse de variance, qui permet de rechercher un QTL contrôlant un caractère situé proche d'un marqueur. Nous avons ainsi utilisé le locus "myostatine" comme marqueur d'un éventuel QTL (recherche d'un éventuel effet du génotype au locus myostatine sur les deux variables). Pour cela, nous avons utilisé la procédure GLM du logiciel SAS.

** Approche multimarqueurs :*

Nous avons également utilisé une approche multimarqueur pour rechercher un QTL près d'autres marqueurs. Dans ce but, nous avons utilisé le logiciel QTLMAP qui permet de tester l'existence d'un QTL en toute position entre marqueurs disposés sur le chromosome, à l'aide d'un test de maximum de vraisemblance. Le principe de ce test est le suivant : la vraisemblance L_0 des données est calculée sous l'hypothèse d'absence de QTL : H_0 , puis l'hypothèse H_1 de présence de QTL est testée en chaque position x du chromosome par le test

de vraisemblance LRT (Likelihood Ratio Test), défini tel que $LRT=2\ln(L1/L0)$. Le profil de la statistique peut être tracé en tout point x du chromosome. L'hypothèse $H1$ de présence de QTL à la position x est acceptée si le LRT est maximum en x et dépasse une valeur seuil définie pour un chromosome et un caractère donnés.

Nous avons travaillé sur 11 marqueurs situés entre les positions 0 et 1,99 Morgan (M) du chromosome 2. Pour des questions de mémoire de l'outil de calcul, nous avons estimé les vraisemblances des marqueurs 6 par 6 et cherché tous les 2 cM la probabilité d'existence d'un QTL pour les variables poids de pinéale et logarithme de la concentration plasmatique nocturne en mélatonine. La méthode d'estimation du seuil d'acceptation de l'existence d'un QTL est décrite dans le chapitre suivant (III.2.2.3).

A la suite de ces analyses, nous avons pu constituer la courbe représentant pour chacune des variables le rapport de vraisemblance en fonction de la position d'un éventuel QTL sur le chromosome. Puis, nous avons comparé cette courbe avec la carte des marqueurs (figure 18) afin de situer un éventuel QTL par rapport aux marqueurs identifiés.

III.2.3.3. Méthode d'estimation du seuil de signification du rapport de vraisemblance

Afin de déterminer la présence ou l'absence d'un QTL en tout point du génome, nous avons cherché à définir un seuil de signification pour le rapport de vraisemblance. Pour estimer ce seuil, nous avons utilisé les hypothèses suivantes :

- H_0 : transmission polygénique sans QTL.
- H_1 : transmission polygénique avec présence d'un QTL.

Nous avons cherché à estimer le seuil de sorte que si le rapport de vraisemblance est supérieur au seuil, alors l'hypothèse H_0 d'absence de QTL est rejetée avec un risque de 1%.

Le seuil de signification peut être déduit de la distribution d'échantillonnage de la statistique de test LRT sous H_0 . Nous avons obtenu cette distribution par simulation. L'hypothèse H_0 a été simulée en permutant aléatoirement les performances au sein d'une famille, les données de typage restant inchangées, de façon à supprimer une éventuelle association entre marqueurs et phénotypes. Puis, à partir des données permutées, la statistique de test LRT a été calculée en toute position x du chromosome. La valeur maximum observée sur l'ensemble du chromosome a été retenue. Cette opération a été répétée 1000 fois afin d'obtenir la distribution de la statistique de test LRT sous H_0 . La valeur du seuil de signification a été déduite du quantile correspondant au risque $p=0,01$, de cette distribution. Cette simulation a été réalisée à l'aide du logiciel QTLMAP.

C. Résultats

I. Données de croissance et de carcasse des animaux

Le gain moyen quotidien entre la naissance et le sevrage a été de 232,1 g/jour.

Le poids moyen à l'abattage a été de 32,8 kg pour les femelles, et de 39,2 kg pour les mâles.

L'âge moyen des agneaux à l'abattage a été de 138,3 jours. Le poids carcasse moyen a été de 18,2 kg, les notes de conformation et de gras moyennes ont été respectivement de 4,9 et 5,8.

Ces données sont reportées dans le tableau suivant.

Variable	Poids vif à l'abattage (kg)	Age à l'abattage (jours)	Note de conformation	Note de Gras	Poids de carcasse (kg)	GMQ (g/j)
Moyenne	35,8	138,3	4,9	5,8	18,2	232,1
SD	3,4	19,2	1,4	0,8	1,7	65,0

Tableau 5 : Moyennes et écart-types des variables poids à l'abattage, âge à l'abattage, note de conformation, note de gras, poids de carcasse et GMQ.

II. Relation entre la concentration plasmatique moyenne et le poids de la glande pinéale

La concentration plasmatique nocturne moyenne de mélatonine et le poids de la glande pinéale sont très variables entre individus. La concentration plasmatique nocturne moyenne de mélatonine a été de 148,8 pg/ml avec un écart type de 92,5 pg/ml, les valeurs extrêmes ont variées de 8 pg/ml à 559 pg/ml. Le poids de glande pinéale moyen a été de 64,1 mg, son écart type a été de 18 mg, les valeurs extrêmes de l'échantillon considéré ont été 18,5 mg et 108,2 mg (9 valeurs de poids de pinéale supérieures à 110 mg avaient déjà été retirées de l'étude car elles avaient été attribuées à des erreurs de manipulations).

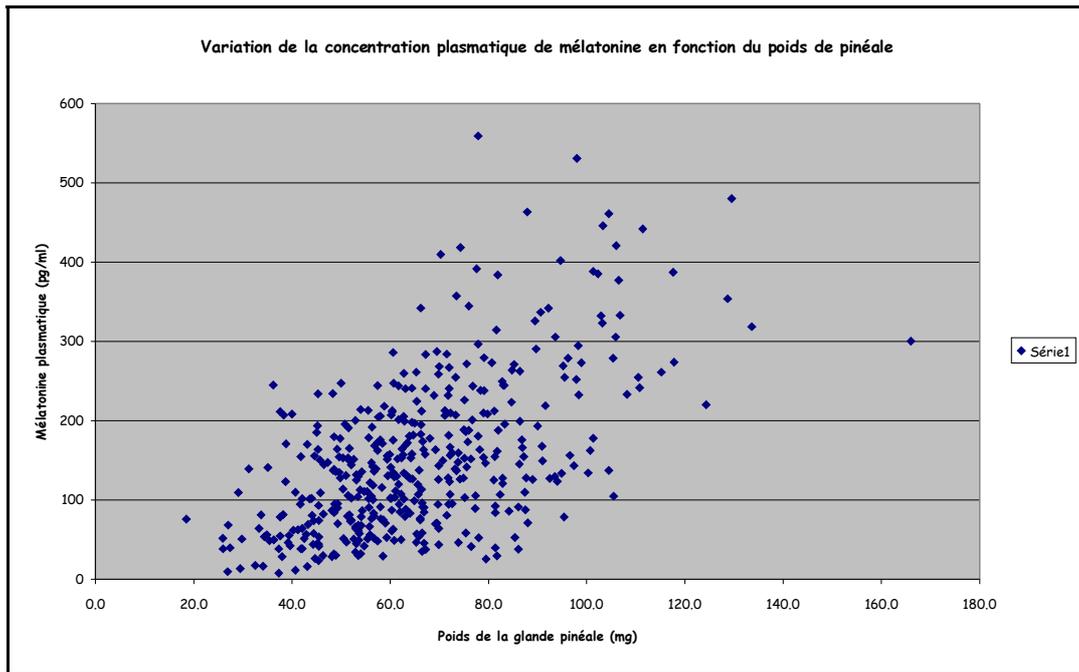


Figure 12 :
Relation entre le poids de la glande pinéale et la concentration plasmatique de mélatonine.

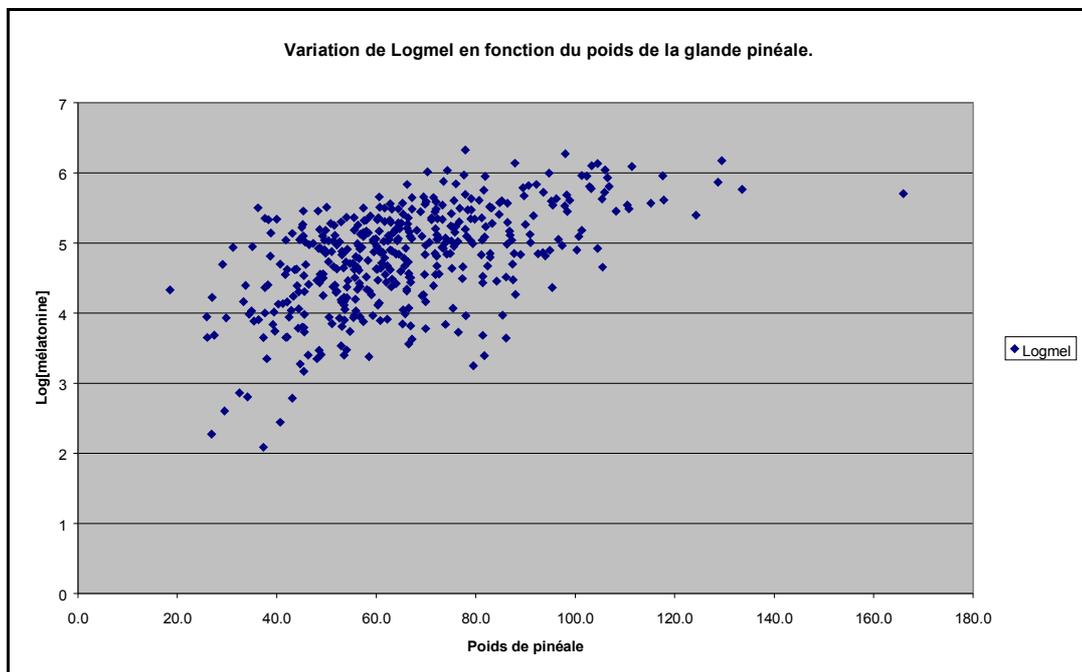


Figure 13 :
Relation entre le poids de la glande pinéale et le logarithme népérien de la concentration plasmatique de mélatonine.

Figure 13 :
Relation entre le poids de la glande pinéale et le logarithme de la concentration plasmatique de mélatonine.

La figure 12 illustre les concentrations plasmatiques nocturnes individuelles de mélatonine en fonction du poids de la glande pinéale. Le nuage de points montre une relation positive entre ces deux variables. Lorsque le poids de la glande pinéale augmente, la variabilité de la concentration plasmatique nocturne en mélatonine augmente. Le coefficient de corrélation entre la concentration plasmatique de mélatonine et le poids de la glande pinéale est de 0,53. La droite de régression linéaire de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine en fonction du poids de la glande pinéale est $y = -26,14 + 2,71x$ ($R^2=0,28$).

La figure 13 illustre l'évolution du logarithme népérien de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine en fonction du poids de la glande pinéale. Le nuage de points montre également une relation positive entre ces deux variables, mais, contrairement à la figure 12, lorsque le poids de la glande pinéale augmente, les valeurs du logarithme de la concentration plasmatique en mélatonine sont moins dispersées que celles de la concentration plasmatique en mélatonine.

Le coefficient de corrélation entre le poids de la glande pinéale et le logarithme de la concentration plasmatique de mélatonine a été de 0,51. La droite de régression linéaire du logarithme de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine en fonction du poids de la glande pinéale est $y = 3,51 + 0,02x$ ($R^2=0,26$).

Nous avons choisi de travailler avec le logarithme népérien de la concentration plasmatique de mélatonine car sa distribution se rapproche d'une loi normale. Cependant, afin de comparer nos résultats avec ceux d'autres études, nous avons également continué à travailler avec la concentration plasmatique de mélatonine. Nous avons réalisé l'analyse de ségrégation sur la concentration plasmatique de mélatonine en normalisant sa distribution à l'aide d'une transformation Box Cox.

Effets Paramètres	Lot	Sexe	Père	Type	R ²
Pinéale	0,0096	0,4541	0,0001	0,0554	0,12
Ln(mel)	0,0001	0,0909	0,0001	0,2396	0,25
Conformation	0,0001	0,0001	0,0107	0,0001	0,47
Note de gras	0,1638	0,0001	0,1491	0,0015	0,24
Poids carcasse	0,0001	0,0001	0,1207	0,0001	0,75
GMQ	0,0001	0,0001	0,1683	0,0052	0,55

Tableau 6 : Effets des facteurs de variation lot, sexe, père, et type génétique sur les variables poids de la glande pinéale, logarithme de la concentration plasmatique de mélatonine, note de conformation, note de gras, poids de carcasse et GMQ dans l'échantillon (Pr>F).

R² correspond au coefficient de corrélation multiple du modèle. L'écriture en caractère gras signifie que le facteur de variation a un effet significatif (au seuil $\alpha=5\%$).

Poids de la glande pinéale		Modèle de base			R ²
		Lot	Père	Type génétique	
		0,0089	0,0001	0,0513	0,12
Facteurs/Covariables ajoutés					
Nom	Pr>F				
Typ	0,1104	0,0034	0,0001	0,2176	0,15
Poids abattage	0,4715	0,0115	0,0001	0,0657	0,12
Age abattage	0,7549	0,0102	0,0001	0,0529	0,12
Poids carcasse	0,5251	0,0134	0,0001	0,0661	0,11
Note de gras	0,0650	0,0164	0,0001	0,1524	0,12
Note conformation	0,6268	0,0106	0,0001	0,2458	0,12
GMQ	0,0929	0,0282	0,0001	0,1183	0,12
Ln(mel)	0,0001	0,0001	0,0001	0,0018	0,38

Tableau 7 : Effets d'un facteur de variation (typ) et de covariables (poids à l'abattage, âge à l'abattage, poids de carcasse, note de gras, note de conformation, GMQ et logarithme de la concentration plasmatique en mélatonine) ajoutés successivement au modèle de base du poids de pinéale.

L'écriture en caractère gras signifie que le facteur ou la covariable a un effet significatif (au seuil $\alpha=5\%$) sur le poids de la glande pinéale.

II. Influence de différents facteurs sur le poids de la glande pinéale et le logarithme de la concentration plasmatique moyenne en mélatonine

II.1. Poids de la glande pinéale

Le tableau 6 montre que les facteurs lot, père et type ont un effet significatif sur le poids de la glande pinéale. Par contre, le sexe n'a pas d'effet significatif. Ainsi un modèle de base comprenant comme effets fixes le lot, le père et le type génétique a été établi. Le R^2 correspondant à ce modèle est de 0,12.

D'autres facteurs ou covariables ont été ajoutés à ce modèle de base afin de tester leurs effets (tableau 7). Il s'avère que le "typ" c'est à dire les allèles situés au locus de la myostatine n'a pas d'effet significatif ($P=0,1104$). De même, parmi les covariables testées, l'âge à l'abattage, le poids à l'abattage, les notes de gras et de conformation et le GMQ n'ont pas d'effet significatif et n'améliorent pas le R^2 . Si l'on souhaitait prédire simplement le poids de la glande pinéale, la connaissance de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine serait intéressante. En effet, la covariable logarithme de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine a un effet très significatif sur le poids de pinéale ($P= 0,0001$) et améliore la prédiction du poids de la glande pinéale ($R^2 =0,38$).

Cependant, du point de vue biologique, **le meilleur modèle expliquant les variations du poids de la glande pinéale comprend trois facteurs de variations : le lot, le père et le type génétique**. Le R^2 correspondant à ce modèle est de 0,12. On peut exprimer ce modèle avec l'équation suivante.

$$\text{Pinéale}_{ijkl} = \mu + \text{Type génétique}_i + \text{Lot}_j + \text{Père}_k + \epsilon_{ijkl}.$$

μ est la moyenne.

Pinéale_{ijkl} est le poids de la glande pinéale de l'individu l, issu du père k, appartenant au lot j et de type génétique i.

Type génétique $_i$: individus de type génétique i, i varie de 1 à 2 (Back-Cross ou F2).

Lot $_j$: individus appartenant au lot j, j varie de 1 à 4.

Père $_k$: individus issus du père k, k varie de 1 à 3.

ϵ_{ijkl} est le terme d'erreur.

Pinéale Lot	Moyenne des moindres carrés			Différence entre lots (Pr>F).			
	Effectif	Moyenne	Ecart-type	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4
1	113	62,72	1,70	###	0,5472	0,8905	0,0020
2	129	64,2	1,64	0,5472	###	0,4618	0,0074
3	107	62,38	1,74	0,8905	0,4618	###	0,0015
4	50	72,47	2,58	0,0020	0,0074	0,0015	###

Tableau 8 : Variable poids de pinéale : moyennes et écarts-types estimés par lot, différences entre lots.

L'écriture en caractère gras signifie qu'il existe une différence significative entre lots (au seuil $\alpha=5\%$).

Pinéale Père	Moyenne des moindres carrés			Différences entre pères (Pr>F).		
	Effectif	Moyenne	Ecart-type	Père A	Père B	Père C
A	130	60,94	1,60	###	0,0001	0,7155
B	158	73,6	1,62	0,0001	###	0,0001
C	141	61,79	1,62	0,7155	0,0001	###

Tableau 9: Variable poids de pinéale : moyennes et écarts-types estimés par père, différences entre pères.

L'écriture en caractère signifie qu'il existe une différence significative entre pères (au seuil $\alpha=5\%$).

Pinéale Type génétique	Moyenne des moindres carrés			Différences entre types génétiques (Pr>F) :	
	Effectif	Moyenne	Ecart-type	BC	F2
BC	198	67,25	1,39	###	0,0513
F2	201	63,64	1,20	0,0513	###

Tableau 10: Variable poids de pinéale : moyennes et écarts-types estimés par type génétique, différences entre Back-Cross et F2.

L'écriture en caractère signifie qu'il existe une différence significative entre types génétiques (au seuil $\alpha=5\%$).

Les moyennes et écart types du poids de la glande pinéale estimés par le modèle pour les différents lots d'agneaux, les différents pères et les différents types génétiques sont présentés respectivement dans les tableaux 8, 9, et 10.

Le tableau 8 illustre les différences entre lots. Il montre que les individus du lot 4 présentent des poids de glande pinéale significativement supérieurs à ceux des individus des autres lots. Nous n'avons pas observé de différences significatives pour le poids de la glande pinéale entre les individus issus des lots 1, 2 et 3.

Le tableau 9 illustre les différences entre les agneaux issus de pères différents. Il montre que les descendants du père B ont en moyenne des poids de glande pinéale estimés (moyenne=73,6 mg) significativement supérieurs à ceux des descendants de A (moyenne=60,9 mg) et de C (moyenne=61,7 mg). Par contre, nous n'avons pas observé de différence significative des poids de glande pinéale entre les agneaux issus des pères A et C.

Le tableau 10 illustre les différences entre les agneaux de type génétique différent. Il montre, que les individus BC (moyenne=67,2 mg) ont des poids de pinéale supérieurs mais à la limite de la signification ($P=0,0513$), aux individus F2 (moyenne=63,6 mg).

Enfin, sous l'hypothèse de transmission monogénique du caractère et de pères de génotypes différents pour ce caractère, les descendances des pères pourraient présenter des différences phénotypiques en fonction de leur type génétique (BC ou F2). Ainsi, nous avons testé l'effet du type génétique intra-père qui exprime les différences entre BC et F2 pour chaque père. Le modèle est alors le suivant :

$$\text{Pinéale}_{ijkl} = \mu + \text{Lot}_i + \text{Père}_j + \text{Type(père)}_{kj} + \epsilon_{ijkl}.$$

μ est la moyenne.

Pinéale_{ijkl} est le poids de la glande pinéale

Lot_i : individus appartenant au lot i , i varie de 1 à 4.

Père_j : individus issus du père j , j varie de 1 à 3.

Type(Père)_{kj} : individus issus du père j , de type génétique k , k varie de 1 à 2.

ϵ_{ijkl} est le terme d'erreur.

L'analyse de variance de ce modèle montre que le facteur type intra-père n'a pas d'effet significatif sur le poids de la glande pinéale ($P=0,39$) et n'améliore pas le modèle ($R^2=0,24$). De même, le tableau 11 montre qu'il n'y a pas de différences significatives entre les individus BC et F2 issus de chaque père. Par ailleurs, ce tableau montre la différence du père B sur les deux autres pères que ce soit pour les BC ou pour les F2.

		Pères					
		A		B		C	
Père	Type	BC	F2	BC	F2	BC	F2
A	BC	#####	<u>0,7450</u>	0,0001	0,0029	0,3805	0,3772
	F2	0,7450	###	0,0001	0,0042	0,2719	0,6304
B	BC	0,0001	0,0001	###	<u>0,2127</u>	0,0003	0,0001
	F2	0,0029	0,0042	0,2127	###	0,0411	0,0005
C	BC	0,3805	0,2719	0,0003	0,0411	###	<u>0,0844</u>
	F2	0,3772	0,6304	0,0001	0,0005	0,0844	###

Tableau 11: Variable poids de pinéale : comparaison des descendants de type génétique différents pour chaque père.

En souligné : les valeurs correspondant aux individus BC et F2 issus du même père. L'écriture en caractère gras signifie qu'il existe une différence significative entre types génétiques pour un même père (au seuil $\alpha=5\%$).

Logarithme de la concentration plasmatique de mélatonine		Modèle de base		R ²
		Lot	Père	
		0,0001	0,0001	0,24
Facteurs/Covariables ajoutés				
Nom	Pr>F			
Typ	0,8149	0,0001	0,0001	0,27
Poids abattage	0,0549	0,0001	0,0001	0,24
Age abattage	0,3490	0,0001	0,0001	0,24
Poids carcasse	0,0177	0,0001	0,0001	0,25
Note de gras	0,1397	0,0001	0,0001	0,24
Note conformation	0,8475	0,0001	0,0001	0,24
GMQ	0,6202	0,0001	0,0001	0,24
Pinéale	0,0001	0,0001	0,0001	0,46

Tableau 12 : Effets d'un facteur de variation (typ) et de covariables (poids à l'abattage, âge à l'abattage, poids de carcasse, note de gras, note de conformation, GMQ et poids de la glande pinéale) ajoutés successivement au modèle de base du logarithme de la concentration plasmatique en mélatonine.

L'écriture en caractère gras signifie que le facteur ou la covariable a un effet significatif (au seuil $\alpha=5\%$) sur le logarithme de la concentration plasmatique en mélatonine.

II.2. Logarithme de la concentration plasmatique en mélatonine

Le tableau 6 montre que le lot et le père ont un effet significatif sur le logarithme de la concentration de mélatonine. Par contre, le sexe ($P=0,09$) et le type génétique ($P=0,24$) n'ont pas d'effets significatifs sur cette variable. Ainsi, un modèle de base comprenant comme facteurs de variations du logarithme de la concentration en mélatonine le lot et le père a été établi. Le R^2 correspondant à ce modèle est de 0,24.

D'autres facteurs ou covariables ont été ajoutés à ce modèle afin de tester d'autres effets (tableau 12). Il s'avère que le "typ" c'est à dire les allèles situés au locus de la myostatine n'a pas d'effet sur le logarithme de la concentration en mélatonine ($P=0,81$) et qu'il n'améliore pas le modèle ($R^2=0,27$). De même, parmi les covariables testées, l'âge à l'abattage, les notes de gras et de conformation et le GMQ n'ont pas d'effet significatif et n'améliorent pas le R^2 . Par contre le poids à l'abattage ($P=0,0549$), le poids de carcasse ($P=0,0177$) et le poids de la glande pinéale ($P=0,0001$) ont des effets significatifs. De plus, la prise en compte de la covariable poids de pinéale améliore considérablement le R^2 ($=0,46$).

Le poids de carcasse et le poids à l'abattage étant très liés, la prise en compte conjointe de ces deux covariables n'améliore pas le modèle ($R^2 =0,25$). Le poids de carcasse ($R^2 =0,25$) améliorant le modèle plus que le poids à l'abattage ($R^2 =0,24$), nous avons choisi de ne considérer que le poids de carcasse pour le modèle.

Ainsi, le meilleur modèle retenu pour expliquer les variations du logarithme de la concentration plasmatique en mélatonine, comprend deux effets fixes : le lot et le père et deux covariables : le poids de carcasse et le poids de la glande pinéale. Le R^2 correspondant à ce modèle est de 0,47. On peut exprimer ce modèle avec l'équation suivante :

$$\text{Lnmélatonine}_{ijk} = \mu + \text{Lot}_i + \text{Père}_j + \text{Pcarcasse} + \text{Pinéale} + \epsilon_{ijk} .$$

μ : moyenne.

$\text{Lnmélatonine}_{ijk}$: logarithme népérien de la concentration plasmatique de mélatonine de l'individu k, issu du père j et appartenant au lot i.

Lot_i : individus appartenant au lot i, i varie de 1 à 4.

Père_j : individus issus du père j, j varie de 1 à 3.

Pcarcasse : poids de la carcasse.

Pinéale : poids de la glande pinéale.

ϵ_{ijk} : résiduelle du modèle.

Ln[mel]	Moyenne des moindres carrés			Différences entre lots Pr>F			
	Lot	Effectif	Moyenne	Ecart-type	Lot 1	Lot 2	Lot 3
1	113	4,53	0,06	###	0,0001	0,5489	0,0002
2	129	5,10	0,05	0,0001	###	0,0001	0,1803
3	107	4,58	0,06	0,5489	0,0001	###	0,0009
4	50	4,96	0,09	0,0002	0,1803	0,0009	###

Tableau 13 : Moyenne et écart-type par lot, différences entre lots pour la variable logarithme de la concentration plasmatique de mélatonine.

L'écriture en caractère gras signifie qu'il existe une différence significative (au seuil $\alpha=5\%$).

Ln[mel]	Estimés			Différences entre pères (Pr>F).		
	Père	Effectif	Moyenne	Ecart-type	Père A	Père B
A	130	4,53	0,05	###	0,0001	0,002
B	158	5,00	0,05	0,0001	###	0,0695
C	141	4,89	0,05	0,0002	0,0695	###

Tableau 14 : Moyenne et écart-type par père, différences entre pères pour la variable logarithme de la concentration plasmatique de mélatonine.

L'écriture en caractère gras signifie qu'il existe une différence significative entre pères (au seuil $\alpha=5\%$).

Le tableau 13 montre qu'il existe des différences significatives en ce qui concerne les concentrations plasmatiques en mélatonine entre le lot 1 et les lots 2 et 4, ainsi qu'entre le lot 3 et les lots 2 et 4.

Le tableau 14 montre que les agneaux issus du père A (moyenne=4,5) ont des logarithmes de concentrations plasmatiques nocturnes en mélatonine significativement inférieurs à ceux issus des pères B (moyenne=5,0) et C (moyenne=4,9). Il n'y a pas de différences significatives de concentration de mélatonine pour les descendants de B et de C.

Les classements des performances des pères pour le poids de la glande pinéale et le logarithme de la concentration plasmatique de mélatonine sont identiques : le père B présente les performances les plus élevées, le père C des performances intermédiaires et le père A les performances les plus faibles. Cependant, le poids de la glande pinéale du père C est significativement différent de celui de B, et équivalent à celui A, alors que le logarithme de la concentration plasmatique de mélatonine de C est significativement différent de celui de A et équivalent à celui de B.

III. Estimation des paramètres génétiques

III.1. Héritabilité

Les résultats sont obtenus à partir d'un fichier généalogique comprenant les 390 agneaux de notre échantillon, ainsi que leur ancêtres sur 3 générations, soit au total 752 individus.

Nous avons tout d'abord estimé les héritabilités à l'aide de modèles unicaractères (tableau 15).

Modèles	Pinéale	Ln[mélatonine]	[mélatonine]
Lot+père+type génétique	0,426 (+/- 0,13)		
Lot+père+poids carcasse		0,508 (+/-0,147)	0,357 (+/-0,141)
Lot+père+poids carcasse+pinéale		0,477 (+/-0,138)	0,426 (+/- 0,130)

Tableau 15 : Héritabilités +/- erreurs standards (SE) estimées du poids de la glande pinéale, de la concentration plasmatique de mélatonine et de son logarithme à partir de différents modèles unicaractères.

Afin d'estimer les corrélations génétiques, nous avons utilisé deux modèles multicaractères (tableaux 16 et 17), l'un prenant en compte le poids de la glande pinéale et le logarithme de la concentration plasmatique nocturne en mélatonine, l'autre prenant en compte le poids de la glande pinéale et la concentration plasmatique nocturne en mélatonine.

A partir du premier modèle multicaractères (tableau 16), nous avons trouvé une héritabilité de 0,488 pour le poids de la glande pinéale, et de 0,508 pour le logarithme de la concentration plasmatique en mélatonine.

A partir du second modèle multicaractère (tableau 17), nous avons trouvé une héritabilité de 0,469 pour le poids de la glande pinéale et une héritabilité de 0,353 pour la concentration plasmatique nocturne en mélatonine.

Finalement, pour les trois variables : poids de la glande pinéale, concentration plasmatique de mélatonine et son logarithme, les différences d'héritabilités estimées entre modèles sont relativement faibles. Nous retiendrons comme estimations de l'héritabilité de ces variables celles obtenues à partir des modèles unicaractères, soit, respectivement : 0,43, 0,43 et 0,48.

III.2. Corrélations génétiques

	Pinéale	Ln(mel)
Pinéale	0,488 (+/- 0,114)	0,660 (+/- 0,141)
Ln(mel)		0,508 (+/- 0,138)

Tableau 16 : Paramètres génétiques du poids de la glande pinéale et du logarithme de la concentration plasmatique de mélatonine estimés par un modèle multicaractères.

Les héritabilités se lisent sur la diagonale, la corrélation génétique se lit en caractères gras, au dessus de la diagonale.

La corrélation génétique estimée entre le poids de la glande pinéale et la concentration plasmatique nocturne de mélatonine a été estimée à 0,571 (tableau 17). Ainsi, la sélection de l'une de ces deux variables permettrait d'augmenter les performances pour l'autre variable.

	Pinéale	Mélatonine
Pinéale	0,469 (+/- 0,112)	0,571 (+/-0,159)
Mélatonine		0,353 (+/- 0,133)

Tableau 17 : Paramètres génétiques du poids de la glande pinéale et de la concentration plasmatique de mélatonine estimés par un modèle multicaractères.

Les héritabilités se lisent sur la diagonale, la corrélation génétique se lit en gras, au dessus de la diagonale.

IV. Analyse de ségrégation

Dans l’hypothèse d’un gène majeur en ségrégation dans la population Texel, Romanov, ou les deux, les fréquences des génotypes pourraient être différentes dans les populations Back-cross et F2, c’est pourquoi, nous avons successivement analysé la population Back-cross, la population F2 et l’ensemble des deux (totale) après correction pour le type génétique qui est apparu être significatif dans le cas de la glande pinéale.

IV.1. Pour le poids de la glande pinéale

Le tableau 18 montre que dans les populations totale et BC, les rapports de vraisemblance sont relativement élevés : respectivement 13,47 et 10,50, et les probabilités associées à ces rapports sous Ho sont faibles (respectivement 0,009 et 0,035) ce qui conduit à rejeter l’hypothèse Ho. Dans la population F2, le rapport de vraisemblance est plus faible (6,5) et sa probabilité associée sous Ho plus élevée (0,61) et l’on ne peut pas rejeter l’hypothèse Ho d’une transmission strictement polygénique dans cette population. Notons toutefois que les résultats (fréquence et effets des gènes) s’accordent bien à ce qui a été trouvé dans les populations totale et back-cross.

	AA		AB		BB		Rapport	Prob.
	Freq (%)	Perf (mg)	Freq (%)	Perf (mg)	Freq (%)	Perf (mg)		
Totale (%)	17	-13,53	74	-5,84	9	19,46	13,47	0,009
BC (%)	2	-15,38	88	-4,05	10	20,37	10,31	0,035

Résultats

F2 (%)	13	-13,68	75	-6,65	12	19,63	6,50	0,164
--------	----	--------	----	-------	----	-------	------	-------

Tableau 18 : Fréquences et performances estimées des parents de génotype AA, AB et BB, rapport de vraisemblance et probabilité de ce rapport pour le poids de la glande pinéale dans les populations totale, Back-Cross et F2.

Freq correspond à la fréquence du génotype dans la population (en %), perf correspond à la performance corrigée estimée, prob est la probabilité du rapport sous Ho.

	AA		AB		BB		Rapport	Probabilité
	Freq %	Perf pg/ml	Freq %	Perf pg/ml	Freq %	Perf pg/ml		
Totale (%)	88	-27,14	11	-17,92	1	260,89	35,19	0,00000042
BC (%)	76	-4,21	23	13,66	1	284,17	38,54	0,00000008
F2 (%)	88	-9,80	0,5	88,46	11,5	128,87	5,94	0,203

Tableau 19 : Fréquences et performances estimées des parents de génotype AA, AB et BB, rapport de vraisemblance et probabilité de ce rapport pour la concentration plasmatique de mélatonine dans les populations totale, Back-Cross et F2.

Freq correspond à la fréquence du génotype dans la population (en %), perf correspond à la performance corrigée estimée, prob est la probabilité du rapport de vraisemblance sous Ho.

Le tableau 18 illustre les performances et les génotypes estimés des parents et en particulier des mères car nous ne disposons que de trois pères. Or les mères à l'origine de la population Back-cross sont des Romanov, les mères des F2 sont des F1 et les mères de la population totale sont un mélange de Romanov et de F1. Ce tableau montre que pour le poids de la glande pinéale, les mères hétérozygotes sont largement majoritaires dans chacune des

Figure 15 :
Moyenne des performances des génotypes AA, AB et BB pour la concentration plasmatique de mélatonine.

populations étudiées : population totale, back-cross et F2 (soit respectivement 74 %, 88 % et 75 %). Dans les populations totale et F2, les mères de génotype AA sont plus nombreuses (respectivement 17 % et 13 %) que les mères BB (respectivement 9 et 12 %). La population back-cross présente 10 % de mères (Romanov) BB et seulement 2 % de AA.

Le tableau 18 montre également que pour un même génotype, il n'y a que très peu de différences entre les populations Back-Cross, F2 et totale.

IV.2. Pour la concentration plasmatique de mélatonine

Le tableau 19 montre que les rapports de vraisemblance et leurs probabilités associées sous H_0 dans les populations totale, back-cross et F2 sont respectivement 35,19 ($p=0,00000042$), 38,54 ($p=0,00000008$) et 5,94 ($p=0,203$). L'hypothèse H_0 d'une hérédité strictement polygénique pour la concentration plasmatique de mélatonine est donc rejetée pour les populations totale et BC, ce qui n'est pas le cas pour la population F2.

Le tableau 19 montre que dans les trois populations étudiées pour les mères, le génotype AA est majoritaire par rapport aux autres génotypes. Dans les populations totale et back-cross, les mères hétérozygotes sont plus nombreuses (respectivement 11 et 23 %) que les mères BB (1% dans les deux populations). Dans la population F2, les mères de génotypes BB (11,5 %) sont plus nombreuses que les AB (0,5%).

Le tableau 19 montre que les performances des parents homozygotes AA et BB sont équivalentes dans les trois populations, par contre, les performances des hétérozygotes de la population F2 sont supérieures à celles des hétérozygotes des deux autres populations.

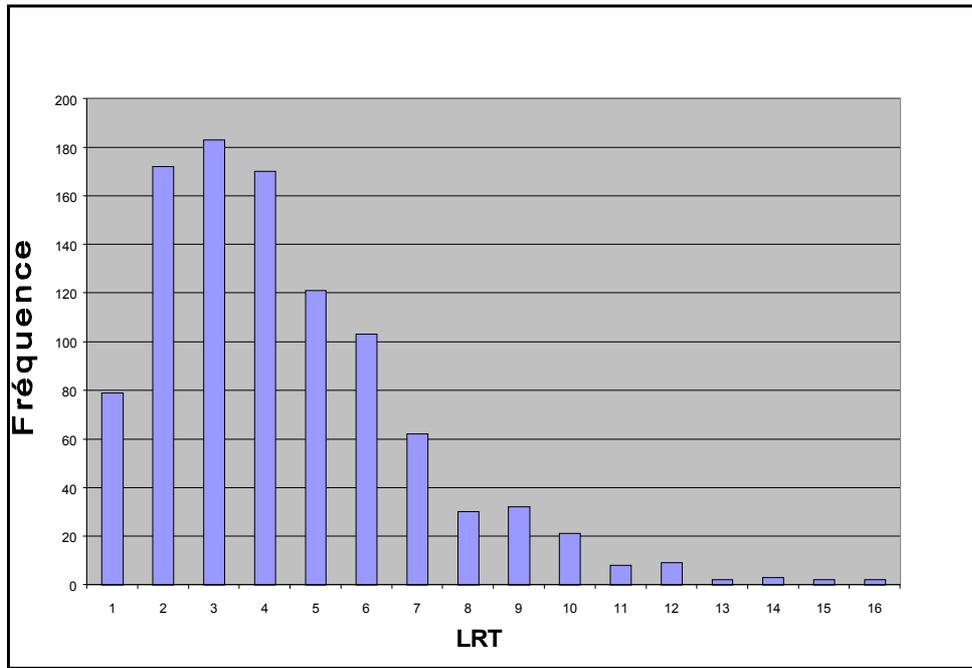


Figure 14 :
Distribution de LRT.
 Cette distribution se rapproche de celle d'un χ^2 , elle permet de définir les seuils tels que 95 % ou 99 % des valeurs de LRT soient inférieures à ces seuils et permet de connaître les probabilités avec lesquelles sont détectées les valeurs de LRT pour les différentes variables.

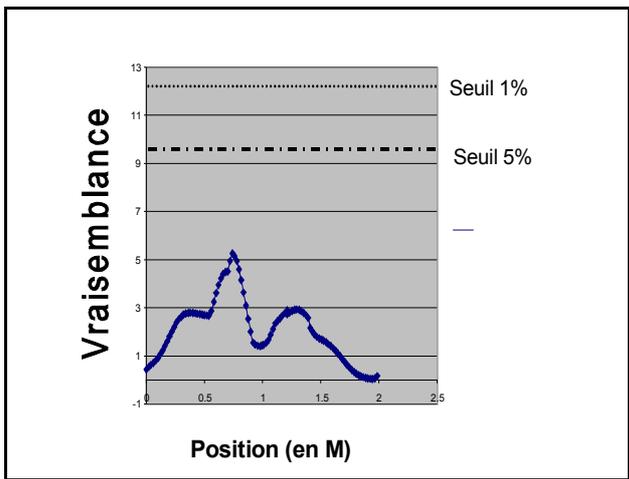


Figure 15 :
 Evolution du rapport de vraisemblance pour le poids de la glande pinéale entre les positions 0 et 2 M du chromosome 2.

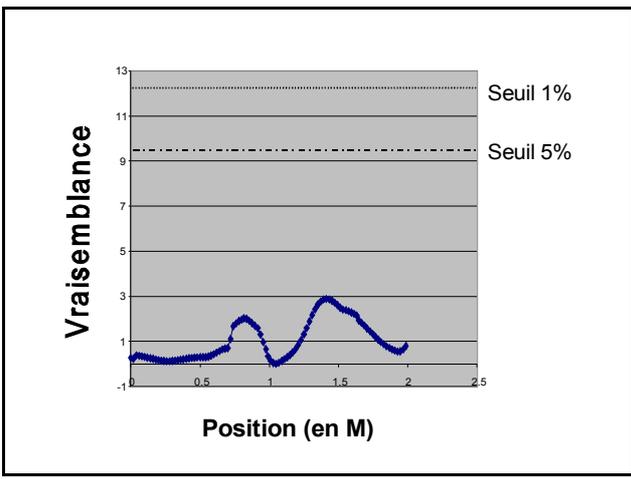


Figure 16 :
 Evolution du rapport de vraisemblance pour le logarithme de la concentration plasmatique de mélatonine entre les positions 0 et 2 M du chromosome 2.

V. Recherche de QTL

V.1. Estimation des seuils

La distribution d'échantillonnage de la statistique du test LRT sous l'hypothèse H_0 pour le poids de la glande pinéale, le logarithme de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine et pour la concentration plasmatique nocturne de mélatonine est représentée figure 14. Les seuils de signification sont 12,42 ($p=0,01$) et 9,38 ($p=0,05$).

V.2. Analyse QTL

La figure 15 illustre l'évolution du rapport de vraisemblance en fonction de la position d'un éventuel QTL pour le poids de la glande pinéale. Elle montre que le pic du rapport de vraisemblance se situe à la position 0,74 M entre les marqueurs BULGE20 (position 0,727 M) et OARCP79 (position 0,917 M). Cependant, le rapport de vraisemblance à cette position est de 5,25, il est donc inférieur au seuil estimé (=12,42 avec un risque de 1%). On peut donc exclure la présence d'un QTL pour le paramètre poids de pinéale entre les marqueurs MCM64 et BMS356 du chromosome 2 chez la brebis.

La figure 16 illustre l'évolution du rapport de vraisemblance en fonction de la position d'un éventuel QTL pour le logarithme de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine. Elle montre que le pic du rapport de vraisemblance se situe à la position 1,409 M entre les marqueurs ILSTS030 (position 1,104) et LSCV22 (position 1,523). Cependant, le rapport de vraisemblance à cette position est de 2,954 (avec une probabilité de 0,63), donc inférieur au seuil estimé (12,42 avec un risque de 1%). L'existence d'un QTL pour le logarithme de la concentration plasmatique en mélatonine entre les marqueurs MCM64 et BMS356 du chromosome 2 chez la brebis est donc également exclue.

Enfin, l'évolution du rapport de vraisemblance en fonction de la position d'un éventuel QTL pour la concentration plasmatique nocturne en mélatonine est illustrée figure 17. Le pic du rapport de vraisemblance se situe à la position 0,74 M (comme pour le poids de la glande pinéale) entre les marqueurs BULGE20 (position 0,727 M) et OARCP79 (position 0,917 M) et vaut 3,016, donc inférieur au seuil (=12,42 à 1%). L'existence d'un QTL pour la concentration plasmatique nocturne de mélatonine entre les marqueurs MCM64 et BMS356 du chromosome 2 chez la brebis est rejetée.

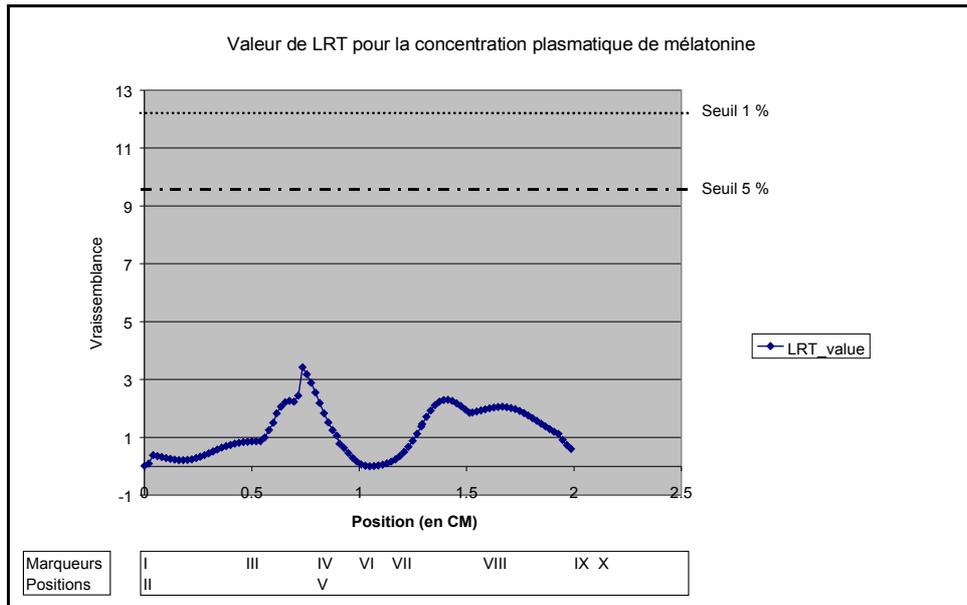


Figure 17 :
Evolution du rapport de vraisemblance pour la concentration plasmatique de mélatonine entre les positions 0 et 2 M du chromosome 2.

Marqueur	MCM64	BMS887	BMS1591	BM	81124
Abréviation	I	II	III	IV	V
Position	0,937	1,014	1,693	1,925	2,000
Position à 0	0,000	0,036	0,549	0,713	0,727

BULGE20	OARCP79	ILSTS030	LSCV22	TGLA110
VI	VII	VIII	IX	X
2,255	2,496	2,995	3,377	3,572
0,917	1,104	1,23	1,927	1,99

Figure 18 :
Carte génétique du chromosome 2 utilisée pour l'étude.
Position est la position du marqueur sur le chromosome 2, position à 0 correspond aux positions des marqueurs lorsque la position du premier est ramenée à 0.

DISCUSSION

Notre étude, bien que reposant sur un effectif réduit, a permis de mettre en évidence quelques facteurs de variation du poids de la glande pinéale et de la concentration plasmatique de mélatonine, d'estimer les paramètres génétiques de ces deux variables pour la population étudiée et de poser l'hypothèse de présence de gènes majeurs pour ces deux caractères sans toutefois parvenir à les localiser.

Notre étude confirme tout d'abord l'existence d'une grande variabilité inter-individuelle de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine chez les ovins et indique que cette concentration est une caractéristique individuelle importante. Ce résultat est conforme à ceux obtenus par Chemineau et al. (1996) et Zarazaga et al. (1998a). De même, nous avons montré que le poids de la glande pinéale était également très variable selon les individus. Cette différence inter-individuelle du poids de la glande pinéale avait déjà été observée chez les ovins (Thimonier et Mauléon, 1969 et Coon et al., 1999), ainsi que chez les humains (Wetterberg et al., 1983).

Nous avons ensuite développé un modèle statistique permettant de relier les deux variables : concentration plasmatique de mélatonine et poids de pinéale. Nous avons tout d'abord établi un modèle linéaire entre ces deux paramètres : le poids de la glande pinéale ayant un effet significatif sur la concentration de mélatonine. La pente de l'équation de ce modèle ($y=2,71x - 26,14$; $R^2=0,28$), est proche de celle précédemment établie par Coon et al, (1999) : ($y=2,85x + 4,18$; $R^2=0,62$), par contre, l'ordonnée à l'origine est positive selon l'étude de Coon et al, (1999) et négative dans notre étude. Cette différence pourrait être attribuée à une différence de poids des animaux. En effet, les agneaux utilisés pour l'étude de Coon étaient de race Ile de France (race lourde), alors que les agneaux de notre étude étaient le produit de croisement entre des animaux Romanov/Texel Belge.

Dans notre étude, nous avons montré que le lot et le père avaient des effets très significatifs sur le poids de la glande pinéale ($p<0,01$). Le type génétique (Back-Cross ou F2) avait également un effet significatif sur le poids de pinéale ($p=0,05$). Par contre, nous n'avons pas observé d'effet significatif du sexe sur le poids de la glande pinéale. Ce résultat est en contradiction avec ceux de Franco et al. (2000) qui indiquaient que les mâles avaient des

poids de glande pinéale significativement supérieurs à ceux des femelles. De même, ces auteurs ont montré que le coefficient de corrélation entre le poids corporel et le poids de la glande pinéale était très important ($r=0,99$), alors que dans notre étude le poids à l'abattage et le poids carcasse n'ont pas d'effets significatifs sur le poids de la glande pinéale. Cependant, cet auteur a travaillé sur des embryons et des fœtus.

De plus, nous avons montré que la concentration plasmatique de mélatonine améliorait considérablement le modèle de prédiction du poids de la glande pinéale. On peut concevoir l'utilisation d'un tel modèle pour connaître le poids de la glande pinéale d'un animal vivant ; on pourrait alors l'estimer à partir de la concentration plasmatique en mélatonine de l'animal. Mais, dans le contexte d'un modèle explicatif des variations du poids de pinéale, l'effet de la concentration plasmatique en mélatonine n'est évidemment pas concevable.

Nous avons également montré des différences significatives de concentration plasmatique de mélatonine ($P=0,001$) en fonction du père. Ce résultat est conforme à l'effet significatif du père précédemment estimé par Zarazaga et al. (1998a) ($P<0,001$), Coon et al. (1999) et Chemineau et al. (1998b). Dans notre étude, nous avons montré que le lot qui correspond à l'année d'abattage influence significativement la concentration de mélatonine, de même que le poids carcasse et le poids à l'abattage. Enfin, le poids de la glande pinéale a un effet très significatif sur la concentration plasmatique en mélatonine.

Les héritabilités estimées dans notre étude, $h^2=0,42$ pour le poids de la glande pinéale et $h^2=0,43$ pour la concentration plasmatique de mélatonine, sont comparables à celles estimées par Chemineau et al. (1996) et par Coon et al. (1999) pour la concentration plasmatique de mélatonine, et renforcent l'hypothèse que la concentration plasmatique nocturne de mélatonine est sous contrôle génétique important. A notre connaissance, cette étude est la première à révéler que le poids de la glande pinéale est sous contrôle génétique important.

Dans notre étude, nous ne disposons que de 3 pères, mais pour estimer les héritabilités et les corrélations génétiques nous avons utilisé un modèle animal concernant 399 individus issus de 236 femelles dont on connaissait la généalogie. Avec cette méthode, nos estimations d'héritabilité de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine sont conformes à celles de Coon et al. (1999) ($0,45\pm 0,07$) qui a utilisé 18 pères pour son étude. Wetterberg et al., 1983 avaient estimé l'héritabilité de la concentration de mélatonine urinaire chez l'homme ($0,53$). Dans cette étude, il n'avait cependant pas été clairement défini si l'estimation de l'héritabilité portait sur la mélatonine ou sur l'un de ses métabolites.

A la suite de leur étude, Wetterberg et al. (1983), ont émis l'hypothèse qu'un gène majeur pourrait réguler l'expression de la concentration plasmatique de mélatonine chez l'homme. Nos résultats d'estimation d'héritabilité, proches de ceux de Coon et al. (1999), pourraient également suggérer l'intervention d'un gène majeur en ce qui concerne la concentration plasmatique de mélatonine, mais aussi le poids de la glande pinéale chez les ovins. Nous avons réalisé des analyses de ségrégation afin de mettre en évidence l'existence de gènes ayant un effet majeur sur le poids de la glande pinéale et sur la concentration plasmatique nocturne de mélatonine.

Ces analyses de ségrégation ont montré que, pour les caractères poids de la glande pinéale et concentration plasmatique de mélatonine, les rapports de vraisemblance étaient élevés (respectivement supérieurs à 10 et 30) avec des probabilités faibles sous H_0 , ce qui nous a conduit à rejeter l'hypothèse H_0 d'une transmission strictement polygénique dans les populations totale et back-cross. Ainsi, dans ces deux populations, nous avons mis en évidence l'existence d'un gène majeur pour ces caractères.

Pour ces deux caractères, nous n'avons cependant pas mis en évidence l'existence d'un gène majeur dans la population F2. Les analyses de ségrégation ont également montré que, pour le poids de la glande pinéale, les parents hétérozygotes étaient majoritaires dans les trois populations étudiées, (totale, back-cross et F2). Ce résultat est en contradiction avec l'équilibre d'Hardy-Weinberg ainsi qu'avec les résultats obtenus pour le caractère "concentration plasmatique de mélatonine". Nous n'avons à l'heure actuelle pas trouvé d'explication à ces résultats, si ce n'est que nous avons travaillé sur un effectif très réduit. Des études supplémentaires seraient nécessaires pour valider l'hypothèse d'existence de gène majeur pour les deux caractères étudiés.

La dernière étape de notre étude a consisté à détecter d'éventuels QTL pour le poids de la glande pinéale et la concentration plasmatique de mélatonine sur une petite partie du génome de la brebis. Pour cela, nous disposions des typages de nos animaux pour seulement 11 marqueurs microsatellites situés sur le chromosome 2. Au sein de ce groupe de liaison nous n'avons pas trouvé de QTL. Ce résultat n'est toutefois pas surprenant car nous avons travaillé sur une toute petite partie du génome. Il faudra attendre de disposer du typage sur un plus grand nombre de marqueurs (situés sur d'autres chromosomes) pour détecter la position d'éventuels QTL du poids de la glande pinéale et de la concentration plasmatique de la brebis. Compte tenu des typages existants, nous ne pouvions aller plus loin dans notre recherche.

Enfin, nous avons trouvé une corrélation génétique positive entre le poids de la glande pinéale et la concentration plasmatique de la mélatonine (0,5). Cette corrélation peut provenir de polygènes contrôlant ensemble les deux caractères, comme d'un seul gène majeur. Les fréquences estimées des génotypes parentaux (AA, AB et BB) étant différentes pour le poids de la glande pinéale et la concentration plasmatique de mélatonine, l'hypothèse d'un gène majeur unique contrôlant conjointement ces deux caractères semble toutefois peu probable. L'analyse QTL complète permettra éventuellement de lever ce doute.

L'hypothèse d'une éventuelle relation entre la variabilité génétique du poids de la glande pinéale ou de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine et des performances de reproduction telles que le début de saison sexuelle, la fertilité ou la taille de portée chez les ovins reste toujours en suspens. Pour un nombre limité d'animaux (brebis Rasa Aragonesa), Zarazaga (1994) a montré qu'il existait une corrélation significative entre la date de la première ovulation de la saison sexuelle et la concentration plasmatique nocturne de mélatonine, mais il faudrait confirmer ce résultat sur un plus grand nombre d'animaux de races différentes. Si cette hypothèse était finalement vérifiée, la sélection de brebis en fonction de leur concentration plasmatique de mélatonine permettrait de disposer d'animaux avec une saison de reproduction plus longue et une fertilité élevée. Une telle sélection pourrait être favorisée par l'existence d'un gène majeur.

CONCLUSION

Notre étude, bien que reposant sur un protocole visant à mettre en évidence et à localiser le gène *culard* et comprenant un effectif réduit, a permis tout d'abord d'établir des modèles statistiques visant à expliquer les variations du poids de la glande pinéale et de la concentration plasmatique de mélatonine. A partir de ces modèles, nous avons estimé les héritabilités de ces deux caractères. Enfin, grâce à des analyses de ségrégation, nous avons pu proposer l'existence de gènes majeurs pour ces deux caractères sans toutefois les localiser ni préciser s'il s'agissait de deux gènes différents. D'autres analyses plus approfondies basées sur le typage complet des agneaux seraient nécessaires pour détecter de façon précise ce ou ces gènes.

Une fois le ou les gènes localisés, ils pourraient faire l'objet d'une sélection chez la brebis afin d'améliorer les résultats de reproduction de cette espèce. D'autre part, les effets de ce gène sur la saison sexuelle (début, fin, longueur) pourraient être analysés. Enfin, compte tenu des propriétés anti-oxydantes de la mélatonine qui lui confère un rôle sur le vieillissement, l'effet de ce gène pourrait également être testé sur la longévité des animaux.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ARENDET J.

Melatonin and the sleep wake cycle.

Proceedings deuxième Séminaire Annuel en Pharmacologie Expérimentale et Clinique.

Vaux de Cernay, France, 27-29 nov 1997.

Neuilly sur Seine : Société Française de Pharmacologie, 1997, 26 p.

BARCHAS J., De COSTA F., SPECTOR S.

Acute pharmacology of melatonin.

Nature, 1967, **214**, 919-920.

BARTSCH C., BARTSCH H., FLUCHTER S.H., ATTANASIO A., GUPTA D.

Evidence for modulation of melatonin secretion in men with benign and malignant tumors of prostate : relationship with the pituitary hormones.

Journal of Pineal Research, 1985, **2**, 121-132.

BERTHELOT X., RAVAUULT J.P., CONCORDET D., FERNEY J., TOUTAIN P.L.

Absence of circadian rhythm in the disposition of melatonin in the cow.

Journal of Pineal Research, 1993, **15**, 141-146.

BLINKLEY S.

Une enzyme épiphysaire qui mémorise le temps.

Pour la science, 1979, **20**, 33-39.

BOICHARD D., LE ROY P., LEVEZIEL H., ELSEN J.M.

Utilisation des marqueurs moléculaires en génétique animale.

INRA Productions Animales, 1998, **11**, 67-80.

CABUT S.

Bientôt sur ordonnance.

Sciences et avenir [on line]; juin 2000, **640**,4 p.

<wysiwyg://1/http://www.sciences-et-avenir.com/archives/640/48.html

CARDINALI D.P., VACAS M.I.

Molecular endocrinology of melatonin infusion in pinealectomized male Djungarian hamsters (*Phodopus sungorus sungorus*), duration is the critical parameter.

Endocrinology, 1980, **113**, 1261-1267.

CHAMBON P.

Etude de la sécrétion de mélatonine et de prolactine chez la brebis cliniquement atteinte de tremblante.

Th. : Med. vet. : Toulouse : 1999-TOU 3, 4107.

CHEMINEAU P., PELLETIER J., GUERIN Y., COLAS G., RAVAUULT J.P., TOURE G., ALMEIDA G., THIMONIER J., ORTAVANT R.

Photoperiodic and melatonin treatments for the control of seasonal reproduction in sheep and goats.

Reproduction Nutrition and Development, 1988, **28**, 409-422.

CHEMINEAU P., VANDAELE E., BRICE G., JARDON C.

Utilisation des implants de mélatonine pour l'amélioration des performances de reproduction chez la brebis.

Recueil de Médecine Vétérinaire Spécial reproduction des Ruminants, 1991, **167**, 227-239.

CHEMINEAU P., MALPAUX B., GUERIN Y., MAURICE F., DAVEAU A., PELLETIER J.

Lumière et mélatonine pour la maîtrise de la reproduction des ovins et des caprins.

Annales de zootechnie, 1992, **41**, 247-261.

CHEMINEAU P., BELTRAN DE HEREDIA I., DAVEAU A., BODIN L.

High repeatability of the amplitude and the duration of the nycthemeral rhythm of the plasma melatonin concentration in the Ile de France ewe.

Journal of Pineal Research, 1996, **21**, 1-6.

CHEMINEAU P., ZARAZAGA L., BODIN L., MALPAUX B.

Contrôle génétique de la sécrétion de mélatonine.

Bulletin de la société d'écophysiologie, 1998a, **24**, 2 p.

CHEMINEAU P., ZARAZAGA L., MALPAUX B., GOMEZ-BRUNET A., GUILLAUME D., RAVAUT J.P., BODIN L., COON S., WELLER J., KLEIN D., VOISIN P.

Variability in nighttime melatonin plasma concentration is under strong genetic control in the Ile de France sheep.

Proceedings 6 th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production.

Armidale, Australia, 11-16 january 1998.

Armidale : NSW, 1998b, **27**, 59-62.

COLLIN JP., ARENDT J., GERN W.

Le troisième œil.

La recherche, 1988, **19**, 1154-1165.

COON S.L., ZARAZAGA L.A., MALPAUX B., RAVAUT J.P., BODIN L., VOISIN P., WELLER J.L., KLEIN D., CHEMINEAU P.

Genetic variability in plasma melatonin in sheep is due to pineal weight, not to variations in enzyme activities.

American Journal of Physiology (Endocrinology metabolism 40), 1999, **277**, 792-797.

CROSBY E., HUMPHREY T., LAUER E.

Correlative anatomy of the nervous system.

New York : Macmillan, 1962. 731 p.

DACHEUX J.L., PISSELET C., BLANC M.R., HOCHEREAU-DE REVIERS M.T.,
COURROT M.

Seasonal variations in *rete testis* fluid secretion and sperm production in different breeds of ram.

Journal of Reproduction and Fertility, 1981, **61**, 363-371.

DUBOCOVICH M.

Melatonin receptors : are there multiple subtypes ?

Trends in Pharmacology Sciences, 1995, **16**, 50-56.

ENGLISH J., BOJKOWSKI C., POULTON A., SYMONS A., ARENDT J.

Metabolism and pharmacokinetics of melatonin in the ewe.

Journal of Pineal Research, 1987, **4**, 351-358.

FRANCO A., REDONDO E., MASOT A.J., LIGNEREUX Y., REGODON S.

Mathematical models applied to prenatal growth of the ovine pineal gland.

Revue Médecine Vétérinaire., 2000, **151**, 1021-1030.

FRASER S., COWEN P., FRANKLIN M., FRANNEY C., ARENDT J.

Direct radioimmunoassay for the melatonin in plasma.

Clinical Chemistry, 1983, **29**, 396-397.

GAYRARD V.

Régulation photopériodique des sécrétions gonadotropes chez la brebis. Recherche des sites d'action de la mélatonine. Effets de l'oestradiol sur le métabolisme des amines biogènes prélevées dans le noyau A15 par microdialyse.

Diplôme d'agronomie approfondie : zootechnie : Nouzilly, INRA, 1989, 37 p.

GAYRARD V., PICARD-HAGEN N., CHEMINEAU P., MALPAUX B., THIERY J.C.

Neuroendocrine control of seasonal reproduction in the ewe.

Revue Médecine Vétérinaire, 1998, **149**, 283-288.

GOMEZ-BRUNET A., MALPAUX B., CHEMINEAU P.

Genetic variability in plasma melatonin concentration is expressed as early as one week-of age in lambs.

Proceedings 8 th Meeting of the European Pineal Society.

Tours, France, 3-7 july 1999.

GOMEZ-BRUNET A., MALPAUX B., DAVEAU A., TARAGNAT C., CHEMINEAU P.

Ontogeny of the genetic variability in plasma melatonin concentrations in lambs. Relationship between the number of pinealocytes and the secretion of melatonin.

Proceedings VI th International Conference on Hormones, Brain and Behavior.

Madrid, Espagne, 5-9 août 2000.

GOODMAN R., BITTMAN E., FOSTER D., KARSCH F.

Alterations in the control of Luteinizing Hormone pulse frequency underlie the seasonal variation in estradiol negative feedback in the ewe.

Biology of Reproduction, 1982, **27**, 580-589.

GROENEVELD E.

VCE4 User's guide and reference manual:

Federal Research Center of Agriculture, Mariensee, Germany, 1997.

GUILLAUME D., RIO.N., TOUTAIN P.L.

Kinetic studies and production rate of melatonin in pony mares.

American Journal of Physiology (Regulatory Integrative Complex of Physiology 37), 1995, **268**, 1236-1241.

HERDELAND R., REITER R.J., POEGGELER B., TAN D.X.

The significance of the metabolism of the neurohormone melatonin : antioxydative protection and formation of bioactive substances.

Neuroscience and biobehavioral Reviews, 1993, **17**, 347-357.

IGUCHI H., KATO K., IBAYASHI H.

Melatonin serum levels and metabolic clearance rate in patients with liver cirrhosis.

Journal of Clinical Endocrinoly and Metabolism, 1982, **54**, 1015-1032.

JOCKERS R., PETIT L., DE COPPET P., BARETT P., MORGAN P., GUARDIOLA-LEMAITRE B., DELAGRANGE P., MARULLO S., STROSBERG A.

Structure and function of melatonin receptors.

Proceedings deuxième Séminaire Annuel en Pharmacologie Expérimentale et Clinique.

Vaux de Cernay, France, 27-29 nov 1997.

Neuilly sur Seine : Société Française de Pharmacologie, 1997, 26 p.

KARSCH F.J., BITTMAN E.L., FOSTER D.L., GOODMAN R.L., LEGAN S.J, ROBINSON J.E.

Neuroendocrine basis of seasonal reproduction.

Recent Progress in Hormone Research, 1984, **40**, 185-232.

KARSCH F.J., MALPAUX B., WAYNE N.L., ROBINSON J.E.

Characteristics of the melatonin signal that provide the photoperiodic code for timing seasonal reproduction in the ewe.

Reproduction Nutrition and Development, 1988, **28**, 459-472.

KENNAWAY D.J., ROWE S.A.

Melatonin binding sites and their role in seasonal reproduction.

Journal of reproduction and fertility supplement, 1995, **49**, 423-435.

LEGAN S.J., KARSCH F.J.

Neuroendocrine regulation of the oestrous cycle and seasonal breeding in the ewe.

Biology of Reproduction, 1979, **20**, 74-85.

LESIEUR D., LECLERC V., CHAVATTE P., MAROT C., RENARD P., GUARDIOLA B.

La mélatonine, prototype pertinent pour l'innovation thérapeutique.

Proceedings deuxième Séminaire Annuel en Pharmacologie Expérimentale et Clinique.

Vaux de Cernay, France, 27-29 nov 1997.

MALAGELADA J.R.

Melatonin and the gastrointestinal tract.

Proceedings deuxième Séminaire Annuel en Pharmacologie Expérimentale et Clinique.

Vaux de Cernay, France, 27-29 nov 1997.

Neuilly sur Seine : Société Française de Pharmacologie, 1997, 26 p.

MALLO C., ZAIDAN R., GALY G., VERMEULEN E., BRUN J., CHAZOT G.,
CLAUSTRAT B.

Pharmacokinetics of melatonin in man after intravenous infusion and bolus injection.

European Journal of Clinical Pharmacology, 1990, **38**, 297-301.

MALPAUX B.

Cycle annuel de reproduction chez la brebis : signaux photopériodiques et rythme endogène.

Th. D. : Sciences Naturelles : Université Paris 6, 1988, 63 p.

MALPAUX B., DAVEAU A., MAURICE F., GAYRARD V., THIERY J.C.

Short-day effects of melatonin on Luteinizing Hormone secretion in the ewe : evidence for central sites of action in the mediobasal hypothalamus.

Biology of reproduction, 1993, **48**, 1-9.

MALPAUX B., DAVEAU A., MAURICE-MANDON F., DUARTE G., CHEMINEAU P.

Evidence that melatonin acts in the premammillary hypothalamic area to control reproduction in the ewe : presence of binding sites and stimulation of Luteinizing Hormone secretion by in situ microimplant delivery.

Endocrinology, 1998, **139**, 1508-1516.

MARSHALL F.

On the change over in the estrous cycle in animals after transference across the equator, with further observations on the incidence of the breeding season and the factors controlling sexual periodicity.

Proc.Roy.Soc.London .(B)., 1937, **122**, 413-428.

PEVET P.

Mélatonine et rythmes biologiques.

Proceedings deuxième Séminaire Annuel en Pharmacologie Expérimentale et Clinique.

Vaux de Cernay, France, 27-29 nov 1997.

Neuilly sur Seine : Société Française de Pharmacologie, 1997, 26 p.

PICARD-HAGEN N., GAYRARD V., CHEMINEAU P., MALPAUX B., BERTHELOT X.

Photopériode et reproduction chez les petits ruminants : rôle de la mélatonine.

Le Point Vétérinaire, 1996, **28**, 927-932.

PICARD-HAGEN N., GAYRARD V., ANDREOLETTI O., GALEA J., GRANDJEAN C.,
MANDON-MAURICE F., CABANIE P., SCHELCHER F., TOUTAIN P.L.

Melatonin and prolactin secretion profile in naturally occurring scrapie in ewe.

Journal of Pineal Research, 1998, **24**, 117-122.

PIERI C., MARRA M., MORONI F., RECCHIONI R., MARSCHESELLI F.

Melatonin : a peroxy radical scavenger more effective than vitamin E.

Life Science, 1994, **55**, 271-276.

de REVIERS M.M., RAVAUT J.P., TILLET Y., PELLETIER J.

Melatonin binding sites in the sheep *pars tuberalis*.

Neuroscience Letters, 1989, **100**, 89-93.

RIETMEYER P.J.

Epiphyse, mélatonine et cancer. Etude bibliographique.

Th : Med. Vet. : Toulouse : 1996-Tou 3, 4069.

REITER R.J.

The pineal gland : from last to first.

The endocrinologist, 1993, **3**, 425-431.

REITER R.J., OH C.S., FUJIMORI O.

Melatonin : its intracellular and genomic actions.

Trends in Endocrinology and Metabolism, 1996, **7**, 22-27.

ROBINSON J., RADFORD H., KARSCH F.

Seasonal changes in pulsative luteinizing hormone secretion in the ewe, relationship of frequency of LH pulses to day length and response to estradiol negative feedback.

Biology of Reproduction, 1985a, **33**, 324-334.

ROBINSON J., WAYNE N., KARSCH F.

Refractoriness to inhibitory daylength initiates the breeding season of the suffolk ewe.
Biology of Reproduction, 1985b, **32**, 1024-1030.

SCALBERT E., GUARDIOLA-LEMAITRE B., DELAGRANGE P.

Melatonin and the cardiovascular system.

Proceedings deuxième Séminaire Annuel en Pharmacologie Expérimentale et Clinique.

Vaux de Cernay, France, 27-29 nov 1997.

Neuilly sur Seine : Société Française de Pharmacologie, 1997, 26 p.

SKINNER D., MALPAUX B.

High melatonin concentrations in third ventricular cerebrospinal fluid are not due to Galen Vein blood recirculating through the choroid plexus.

Endocrinology, 1999, **140**, 4399-4405.

THIERY J.C, MARTIN G.B., TILLET Y., CALDANI M., QUENTIN M., JAMAIN C.,
RAVAULT J.P.

Role of hypothalamic catecholamines in the regulation of luteinizing hormone and prolactin secretion in the ewe during seasonal anoestrus.

Neuroendocrinology, 1989, **49**, 80-87.

THIMONIER J., MAULEON P.

Variations saisonnières du comportement d'oestrus et des activités ovariennes et hypophysaires chez les ovins.

Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique, 1969, **9**, 233-250.

THIMONIER J., MAULEON P.

Variations saisonnières des activités hypophysaires des brebis de race Ile de France.

In : THIMONIER J., MAULEON P.

La photorégulation de la reproduction chez les oiseaux et les mammifères.

Paris : BENOIT J. and ASSENMACHER I. (eds), 1970, 471-480.

TILLET Y., RAVAUT J.P., SELVE C., EVIN G., CASTRO B., DUBOIS M.P.

Conditions d'utilisation d'anticorps spécifiques pour la visualisation immunohistochimique de la sérotonine et de la mélatonine dans la glande pinéale du mouton.

C.R.Académie des Sciences Paris, t 303, série III, n°3, 1986.

TOUITOU Y., SELMAOUI B., ZHAO Z., SAN MARTIN M., BOGDAN A.

Mélatonine et rythmes biologiques : quelques aspects en physiopathologie humaine.

Annales Pharmaceutiques françaises, 1996, **54**, 6, 241-250.

TOUITOU Y.

Mélatonine et vieillissement.

Proceedings deuxième Séminaire Annuel en Pharmacologie Expérimentale et Clinique.

Vaux de Cernay, France, 27-29 nov 1997.

Neuilly sur Seine : Société Française de Pharmacologie, 1997, 26 p.

TUREK F.W, SWANN J., EARNEST D.J.

Role of the circadian system in reproductive phenomena.

Recent Progress in Hormone Research, 1984, **40**, 143-183.

VENTOU P.

Chronobiologie de la reproduction. Pinéale, mélatonine et fonction de reproduction chez trois espèces de hamsters : *Mesocricetus auratus*, *Mesocricetus brandti*, *Phodopus sungorus sungorus*. Etude bibliographique.

TH. : Med. vet. : Toulouse 3 : 1992.

VIGUIE C., CARATY A., LOCATELLI A.,MALPAUX B.

Regulation of Luteinizing Hormone-Releasing (LHRH) secretion by melatonin in the ewe. II. Changes in N-methyl-D,L-aspartic acid-induced LHRH release during the stimulation of Luteinizing hormone secretion by melatonin.

Biology of Reproduction, 1995, **52**, 1156-1161.

WETTERBERG L.

Melatonin in humans : physiological and clinical studies.

Journal of Neural Transmission Supplement, 1978, **13**, 290-291.

WETTERBERG L., ISELIUS L., LINDSTEN J.

Genetic regulation of melatonin excretion in urine.

Clinical Genetic, 1983, **24**, 399-402.

ZARAZAGA L.

Reactivacion de la actividad ovarica e hipofisiaria tras el parto en ovejas de reducida estacionalidad sexual : influencia de la aplicacion de melatonina exogena y del plano de alimentacion tras el destete.

Th. :Med. Vet., Zaragoza, Espagne, 1994, 334p.

ZARAZAGA L., MALPAUX B., CHEMINEAU P.

The characteristics of the melatonin secretory rhythm are not modified by the stage of the pregnancy in ewes.

Reproduction Nutrition and Development, 1996, **36**, 105-112.

ZARAZAGA L., MALPAUX B., BODIN L., CHEMINEAU P.

The large variability in melatonin blood levels in ewes is under strong genetic influence.

American Journal of Physiology (Endocrinology and Metabolism 37), 1998a, **274**, 607-610.

ZARAZAGA L., MALPAUX B., GUILLAUME D., BODIN L., CHEMINEAU P.

Genetic variability in melatonin concentrations in ewes originates in its synthesis, not in its catabolism.

American Journal of Physiology (Endocrinology and Metabolism 37), 1998b, **274**, 1086-1090.

DETERMINISME ET VARIABILITE GENETIQUE DU POIDS DE
L'EPIPHYSE ET DE LA CONCENTRATION PLASMATIQUE DE
MELATONINE CHEZ LES OVINS.

THESE
Pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2001
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Aurore FREMONT

Née le 5 avril 1976 à Périgueux (24)

Directeur de thèse : M. le Docteur Ducos

JURY

PRESIDENT :

M. PARINAUD Professeur à l'Université de Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESSEURS :

M. DUCOS Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Mme GAYRARD Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

M. BODIN Ingénieur de recherche à la Section d'Amélioration Génétique
Animale de l'INRA de Toulouse.

Toulouse, 2001

NOM : FREMONT

PRENOM : Aurore

TITRE : **Déterminisme et variabilité génétique du poids de l'épiphyse et de la concentration plasmatique de mélatonine chez les ovins.**

RESUME :

La mélatonine, hormone sécrétée par la glande pinéale lors de la phase obscure du nyctémère, intervient dans le contrôle du cycle annuel de reproduction des ovins. Les concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine présentent une grande variabilité inter-individuelle. Cette variabilité est corrélée à une grande variabilité inter-individuelle du poids de la glande pinéale et serait sous contrôle génétique important.

L'objectif de cette étude est d'examiner l'origine génétique de la variabilité inter-individuelle des concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine et du poids de la glande pinéale. Différents facteurs de variation du poids de la glande pinéale et des concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine ont été testés. Le modèle retenu pour décrire la variabilité du poids de la glande pinéale est un modèle linéaire à trois effets fixes : l'année d'abattage, le père et le type génétique (back-cross ou F2). Le modèle retenu pour le caractère "concentration plasmatique de mélatonine" comprend deux effets fixes (l'année d'abattage et le père), ainsi que deux covariables (le poids de la glande pinéale et la poids de carcasse). A partir de ces deux modèles, les héritabilités du poids de la glande pinéale et de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine ont été estimées. Une valeur identique (0,42) a été obtenue pour les deux caractères. Pour tester l'hypothèse selon laquelle ces caractères seraient gouvernés par des gènes majeurs, une analyse de ségrégation a été réalisée. Cette analyse a montré l'existence de gènes majeurs contrôlant le poids de la glande pinéale et la concentration plasmatique de mélatonine. Enfin, une analyse QTL limitée à 11 marqueurs du chromosome 2 n'a pas révélé la présence de ces gènes majeurs sur cette partie du génome de la brebis. Le typage des agneaux pour un nombre plus important de marqueurs permettra de confirmer l'existence d'un gène majeur pour ces caractères et de localiser ce gène.

MOTS CLES :

Mélatonine - glande pinéale - ovine - héritabilité - gène majeur - QTL.

ENGLISH TITLE : **Determinism and genetic variability of epiphysis weight and plasma melatonin concentrations in the ovine species.**

ABSTRACT :

The melatonin is a hormone secreted by the pineal gland during the dark phase of the light-dark cycle. It acts in the control of the annual cycle of the ovine reproduction. Plasma melatonin concentrations have large inter-individual variations which are correlated to a large inter-individual variation of the pineal gland weight, and may be under a strong genetic control.

The aim of this study is to examine the genetic origin of the inter-individual variations of the night plasma melatonin concentrations and of the pineal gland weight. Several variation factors of the plasma melatonin concentrations and of the pineal gland weight were tested. The model retained to describe the variations of the pineal gland weight is a linear model with 3 fixed effects : the year of slaughter, the father and the genetic type (back-cross or F2). The model retained for the characteristic "plasma melatonin concentration" shows 2 fixed effects (the year of slaughter and the father) and 2 covariables (the pineal gland weight and the carcass weight). With these 2 models, the heritability of the pineal gland weight and the plasma melatonin concentration were estimated. An identical value (0,42) was obtained for the two characteristics. In order to test the hypothesis that the two characteristics may be controlled by major genes, a segregation analysis was carried out. This analysis has shown the existence of major genes controlling the pineal gland weight and the plasma melatonin concentration. Lastly, a QTL analysis limited to 11 markers of the chromosome 2, has not revealed the presence of these major genes on this part of the ovine genome. Genotyping of the lambs for a larger number of markers will allow us to confirm the existence of major genes for these characteristics and to localize these genes.

KEY WORDS :

Melatonin - pineal gland - ovine - heritability - major gene - QTL

<i>LISTE DES ABREVIATIONS</i>	<i>VI</i>
<i>INTRODUCTION</i>	<i>1</i>
<i>ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</i>	<i>3</i>
A . Glande pinéale et mélatonine	3
I. Glande pinéale : structure, fonctions.....	3
I.1. Ontogenèse et position anatomique.....	3
I.2. Structure et ultrastructure.....	3
I.3. La glande pinéale : transductrice de l'information lumineuse.....	5
I.3.1. Voies neuroendocriniennes de l'information photopériodique.....	5
I.3.2. Intégration de l'information lumineuse par la glande pinéale.....	7
II La sécrétion de mélatonine.....	7
II.1. Biochimie.....	7
II.2. Déterminisme et mécanisme de la synthèse de mélatonine.....	7
II.2.1. Synthèse de mélatonine dans le pinéaloocyte [Figure 3].....	7
II.2.2. Déterminisme de la synthèse de mélatonine par l'épiphyse.....	9
II.3. Rythme de sécrétion de la mélatonine.....	9
II.4. Métabolisme.....	11
II.4.1. Pharmacocinétique de la mélatonine.....	11
II.4.2. Catabolisme.....	12
II.4.3. Elimination.....	13
II.5. Principaux sites de liaison de la mélatonine.....	13
II.5.1. Sites centraux de liaison de la mélatonine.....	13
II.5.2. Sites périphériques de liaison de la mélatonine.....	13
II.5.3. Les récepteurs de la mélatonine.....	13
III Rôles de la glande pinéale et de la mélatonine.....	15
III.1. Rôles de la glande pinéale et de la mélatonine dans le contrôle photopériodique de la reproduction des ovins.....	15
III.1.1. Importance de la photopériode dans la reproduction des ovins.....	15
III.1.1.1. Rôle de la photopériode dans l'organisation temporelle du cycle annuel de reproduction.....	15
III.1.1.2. Mécanismes d'action de la photopériode sur la reproduction : régulation de la sécrétion de LH (figure 6).....	17
III.1.2. Transduction de l'information photopériodique par la mélatonine.....	18
III.1.3. Effets de la mélatonine sur la reproduction ovine.....	18
III.1.4. Utilisation de la mélatonine pour contrôler la fonction de reproduction.....	19
III. 2. Autres rôles de la mélatonine.....	20
III.2.1. Action anti-oxydante de la mélatonine : rôle dans le processus de vieillissement.....	20
III.2.1.1. Effets anti-oxydants de la mélatonine.....	20
III.2.1.2. Evolution de la sécrétion de mélatonine au cours de la vie et conséquence sur le processus du vieillissement.....	21
III.2.2. Mélatonine et cancer.....	21
III.2.2.1. Mécanismes d'action de la mélatonine sur le processus tumoral.....	21
III.2.2.2. Applications thérapeutiques de la mélatonine.....	22
III.2.3. Intervention de la mélatonine sur les rythmes biologiques.....	22
III.2.3.1. Exemples de rythmes biologiques entraînés par la glande pinéale.....	22

III.2.3.2. Utilisation de la mélatonine dans le traitement des désordres du rythme circadien.....	23
III.2.4. Conclusion.....	23
B . Contrôle génétique de la concentration plasmatique de mélatonine.....	24
I . Variabilité de la concentration plasmatique de mélatonine des brebis.....	24
I.1. Paramètres permettant de quantifier cette variabilité.....	24
I.2. Variabilité intra-individuelle des paramètres du rythme de sécrétion de mélatonine	24
I.3. Conséquence de la faible variabilité intra-individuelle des concentrations plasmatiques nocturnes en mélatonine.....	25
II. Contrôle de la variabilité de la concentration plasmatique de mélatonine.....	25
II.1. Contrôle génétique de cette variabilité.....	25
II.2. Origine physiologique de la variabilité génétique des concentrations plasmatiques de mélatonine.....	26
II.2.1. Contrôle génétique de la synthèse de mélatonine.....	26
II.2.2. Influence de la glande pinéale sur la variabilité génétique des concentrations plasmatiques en mélatonine.....	26
II.2.3. Influence des pinéalocytes sur la variabilité génétique des concentrations plasmatiques en mélatonine.....	27
II.3. Date d'établissement de cette différence génétique dans la vie.....	27
II.4. Conclusions sur le contrôle génétique de la concentration de mélatonine [Figure 7].....	29

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

FIGURES

<i>FIGURE 1 :</i>	4
-------------------------	---

Sommaire

<i>FIGURE 2 :</i>	6
<i>FIGURE 3: EVOLUTION DE LA CONCENTRATION PLASMATIQUE DE MÉLATONINE AU COURS DU NYCTHÉMÈRE.....</i>	8
<i>FIGURE 4: VARIATIONS DE LA CONCENTRATION PLASMATIQUE DE MÉLATONINE EN FONCTION DE LA SAISON ET DE LA DURÉE DU JOUR.....</i>	10
<i>FIGURE 5: MODE D'ACTION DE LA PHOTOPÉRIODE ET DE LA MÉLATONINE SUR LA REPRODUCTION DES OVINS.....</i>	16
<i>FIGURE 6 :</i>	28

TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	Acide DésoxyriboNucléique.
AMPC	Adénosine MonoPhosphate cyclique : coenzyme intervenant dans la synthèse de la mélatonine.
BC	Back Cross : individu issu du croisement entre un parent F1 et un parent de lignée pure à la base de la génération F1.
cM	centiMorgan : est égale à un centième de morgan, unité de distance génétique correspondant à une longueur d'ADN telle que la probabilité d'être objet d'un crossing-over par génération est de 100 %.
DL50	Dose Létale pour 50 % des individus.
FSH	Follicule Stimulating Hormone ou hormone folliculostimulante.
GCS	Ganglion Cervical Supérieur.
GLM	General Linear Model : procédure du logiciel SAS.
GMQ	Gain Moyen Quotidien.
GnrH	Gonadotropin Releasing Hormone.
GTP	Guanine TriPhosphate.
h^2	héritabilité : rapport entre la variance d'origine génétique et la variance phénotypique totale.
HIOMT	Hydroxy-Indole-O-MéthylTransférase : enzyme intervenant dans la synthèse de la mélatonine.
L	Likelihood ou vraisemblance (L_0 est la vraisemblance calculée sous l'hypothèse H_0 , L_1 est la vraisemblance calculée sous l'hypothèse H_1).
LCR	Liquide Céphalo-Rachidien.
LH	Luteinizing Hormone ou hormone lutéinisante.
LRT	Likelihood Ratio Test ou test de vraisemblance, défini tel que $LRT=2\ln(L_0/L_1)$.
NA	Noradrénaline.
NAT	N-Acétyl Transférase : enzyme intervenant dans la synthèse de mélatonine.

Sommaire

QTL	Quantitative Trait Loci : gènes expliquant un part de la variabilité génétique des caractères quantitatifs.
R ²	Coefficient de détermination multiple.
REML	REstricted Maximum Likelihood ou maximum de vraisemblance restreinte : méthode utilisée pour l'estimation des paramètres génétiques en modèles linéaires mixtes.
Γ_A	corrélation génétique, une corrélation génétique non nulle signifie que deux caractères dépendent de mêmes gènes ou de gènes liés.
SD	Standard Deviation ou écart type.
SE	Standard Error ou erreur standard.
Typ	Allèles relatifs au gène de la myostatine.

Introduction

La mélatonine est une hormone sécrétée par la glande pinéale ou épiphyse durant la phase obscure du nyctémère. La durée de sécrétion de la mélatonine au cours du nyctémère constitue le signal neuroendocrinien décrivant la longueur de la phase sombre du nyctémère. Ainsi, le rythme de sécrétion de mélatonine permet à l'organisme de décoder l'information photopériodique de son environnement et d'adapter ses rythmes endogènes au rythme photopériodique. La mélatonine intervient notamment dans le contrôle du cycle annuel de reproduction des ovins en synchronisant le rythme circannuel de reproduction avec le cycle annuel de la photopériode. Cette action de la mélatonine est mise à profit dans les traitements de la maîtrise des cycles, en particulier l'utilisation de mélatonine permet d'induire chez la brebis une saison sexuelle plus précoce et plus longue.

La concentration plasmatique nocturne de mélatonine chez les brebis présente une grande variabilité inter-individuelle. Cette variabilité est en partie d'origine génétique. Elle est associée à une variabilité inter-individuelle du poids de la glande pinéale et plus précisément du nombre de pinéaloctes. Elle apparaît dès la première semaine de la vie.

Nous nous proposons d'explorer l'origine génétique de cette variabilité de la concentration plasmatique de mélatonine, dans le but de sélectionner des animaux ayant une saison de reproduction plus longue. Pour cette étude, nous disposons d'un échantillon de 399 agneaux dont le poids de la glande pinéale et la concentration plasmatique nocturne de mélatonine sont connus et dont la généalogie a été établie.

Avant de présenter cette étude expérimentale, nous exposerons dans une première partie bibliographique la glande pinéale et la sécrétion de mélatonine, en insistant sur le rôle de cette hormone dans la reproduction ovine. Puis nous aborderons les notions de contrôle génétique de la concentration plasmatique de mélatonine.

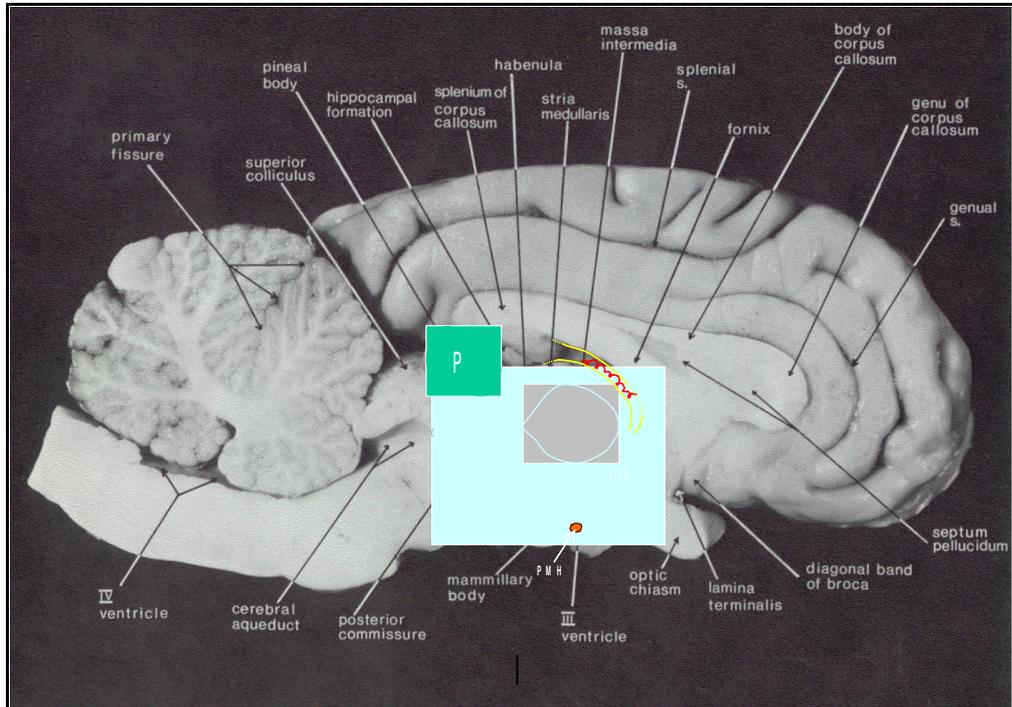


Figure 1 :
Position anatomique de la glande pinéale (P) chez le mouton.

P=glande pinéale, s.=sillon, III V=troisième ventricule, PMH=aire pré-mamillaire.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

A . Glande pinéale et mélatonine

I. Glande pinéale : structure, fonctions

I.1. Ontogenèse et position anatomique

La glande pinéale ou épiphyse est une petite glande de 3 à 6 mm de long chez les ovins qui fait partie du diencephale et plus précisément de l'épithalamus (Crosby, 1962). Elle correspond à une évagination médiane de la partie postérieure du toit du troisième ventricule. Elle est encadrée crânialement par la toile épendymaire du plexus choroïde du troisième ventricule, et caudalement par les tubercules quadrijumeaux antérieurs du mésencéphale [Figure 1]. Elle est située au dessus d'un complexe formé par l'adhérence inter-thalamique, le troisième ventricule et l'aqueduc de Sylvius. Au sein de l'épithalamus, le corps pinéal se situe caudalement à l'habéluna et au-dessus de la commissure caudale. Il est relié au troisième ventricule par le récessus pinéal (Crosby, 1962).

La glande pinéale est richement vascularisée, l'irrigation se fait par des ramifications artériolaires des artères choroïdiennes postérieures. Le débit sanguin épiphysaire est quantitativement important (Touitou et al., 1996).

L'épiphyse, située à proximité de grandes zones intégratrices d'informations environnementales, peut redistribuer largement ces informations à l'ensemble de l'organisme grâce à une irrigation importante.

I.2. Structure et ultrastructure

L'épiphyse comprend deux types cellulaires : les pinéaloctes et les cellules de la névroglie ; ces dernières ont un rôle de soutien. Le pinéaloctes est l'élément unitaire de l'épiphyse, il s'agit d'une cellule parenchymateuse caractérisée par un noyau arrondi, granuleux avec de volumineux nucléoles (Touitou et al., 1996), le cytoplasme est riche en organites. Après imprégnation argentique, des grains cytoplasmiques contenant des indols dont la mélatonine peuvent être mis en évidence. La richesse en organites du pinéaloctes témoigne d'une activité de synthèse importante.

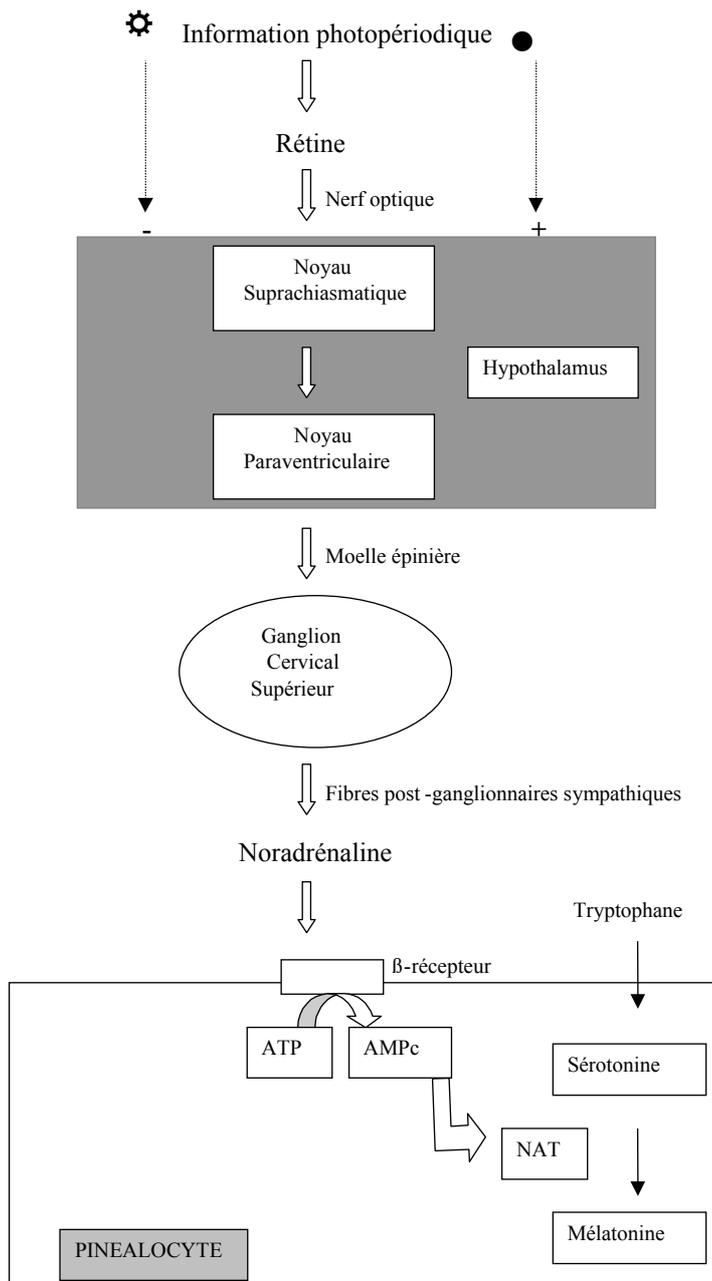


Figure 1 :

Voies neuroendocriniennes transmettant l'information photopériodique à la glande pinéale : réponse de la glande pinéale : synthèse de la mélatonine.

+ : indique l'effet inducteur de l'obscurité sur la synthèse de mélatonine

- : indique l'effet inhibiteur de la lumière sur la synthèse de mélatonine.

Au cours de l'évolution, le pinéaloocyte a été profondément remanié. Chez les espèces les plus primitives tels que les poissons, les amphibiens, les tortues et les lézards, il possède une structure semblable à celle d'un photorécepteur (Collin et al., 1988) capable de capter directement les photons par un pôle récepteur. Cette propriété des pinéaloocytes est à l'origine de la photosensibilité directe de la glande pinéale à la lumière. L'ultime étape évolutive de cette cellule se trouve chez les mammifères et les serpents. Chez ces espèces, le pinéaloocyte n'est plus directement photosensible ; cependant, il peut intégrer l'information lumineuse qui arrive à l'épiphyse sous la forme d'un message neuronal via l'innervation noradrénergique de la glande et transmettre cette information à l'ensemble de l'organisme par ses nombreuses expansions cytoplasmiques qui se terminent à proximité des vaisseaux sanguins.

Le pinéaloocyte est donc un transducteur qui transforme un message nerveux en un message hormonal.

I.3. La glande pinéale : transductrice de l'information lumineuse

L'épiphyse est impliquée dans la transmission de l'information photopériodique : elle capte cette information, la décode et la transmet à l'organisme.

I.3.1. Voies neuroendocriniennes de l'information photopériodique

La lumière est captée par les photorécepteurs de la rétine, et l'information lumineuse est transmise par voie nerveuse jusqu'à l'épiphyse. Cette information chemine d'abord via le nerf optique et parvient à différents noyaux hypothalamiques : les noyaux suprachiasmatiques et les noyaux paraventriculaires. Le ganglion cervical supérieur (GCS) est le relais ganglionnaire qui innerve la glande pinéale [figure 2] (Turek et al, 1984).

La lumière a un effet inhibiteur sur l'activité des neurones du noyau suprachiasmatique (Touitou et al , 1996), et par conséquent, la voie photoneuroendocrinienne n'est activée qu'au cours de la phase sombre du nyctémère.

*La glande pinéale est activée **la nuit** par un relais de fibres sympathiques.*

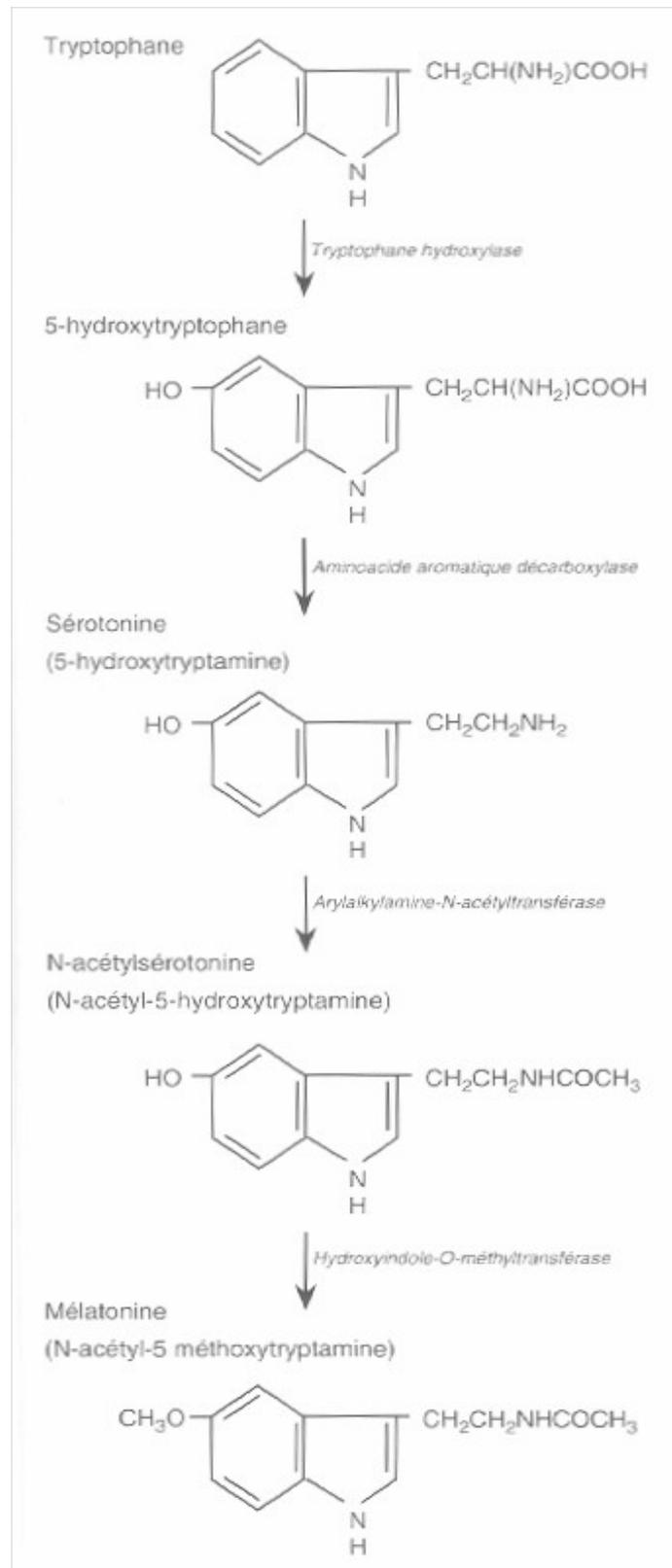


Figure 2 :

Synthèse de la mélatonine.

I.3.2. Intégration de l'information lumineuse par la glande pinéale

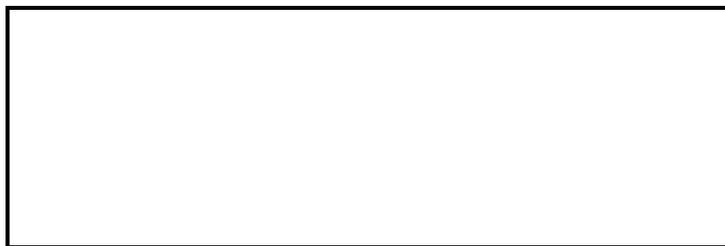
A l'extrémité des fibres post-ganglionnaires sympathiques, la noradrénaline (NA) est libérée dans les espaces synaptiques épiphysaires. La NA interagit au niveau de la membrane du pinéalocyte avec les récepteurs β -adrénergiques. Ces récepteurs sont couplés à l'adénylate cyclase grâce à des protéines Gs, la liaison de la noradrénaline à ces récepteurs conduit à une augmentation intracellulaire en AMPc (Touitou et al., 1996). Ce second messager stimule finalement la synthèse de la N-acétyltransférase, enzyme qui catalyse la transformation de sérotonine en mélatonine.

Ainsi, la glande pinéale est capable de transcrire l'information lumineuse et de la distribuer à l'ensemble de l'organisme par l'intermédiaire d'une hormone : la mélatonine.

II La sécrétion de mélatonine

II.1. Biochimie

La mélatonine ou N-Acétyl-5-Méthoxytryptamine est un indol synthétisé dans l'épiphyse. Son poids moléculaire est de 232 Kilo Daltons.



II.2. Déterminisme et mécanisme de la synthèse de mélatonine

II.2.1. Synthèse de mélatonine dans le pinéalocyte [Figure 3]

La mélatonine est synthétisée dans les pinéalocytes à partir d'un précurseur, le tryptophane qui est véhiculé par voie sanguine. Le tryptophane est tout d'abord transformé en 5-hydroxytryptophane par la tryptophane hydroxylase, puis en 5-hydroxytryptamine ou sérotonine grâce à l'action d'une enzyme décarboxylase. La sérotonine s'accumule dans les pinéalocytes pendant la journée.

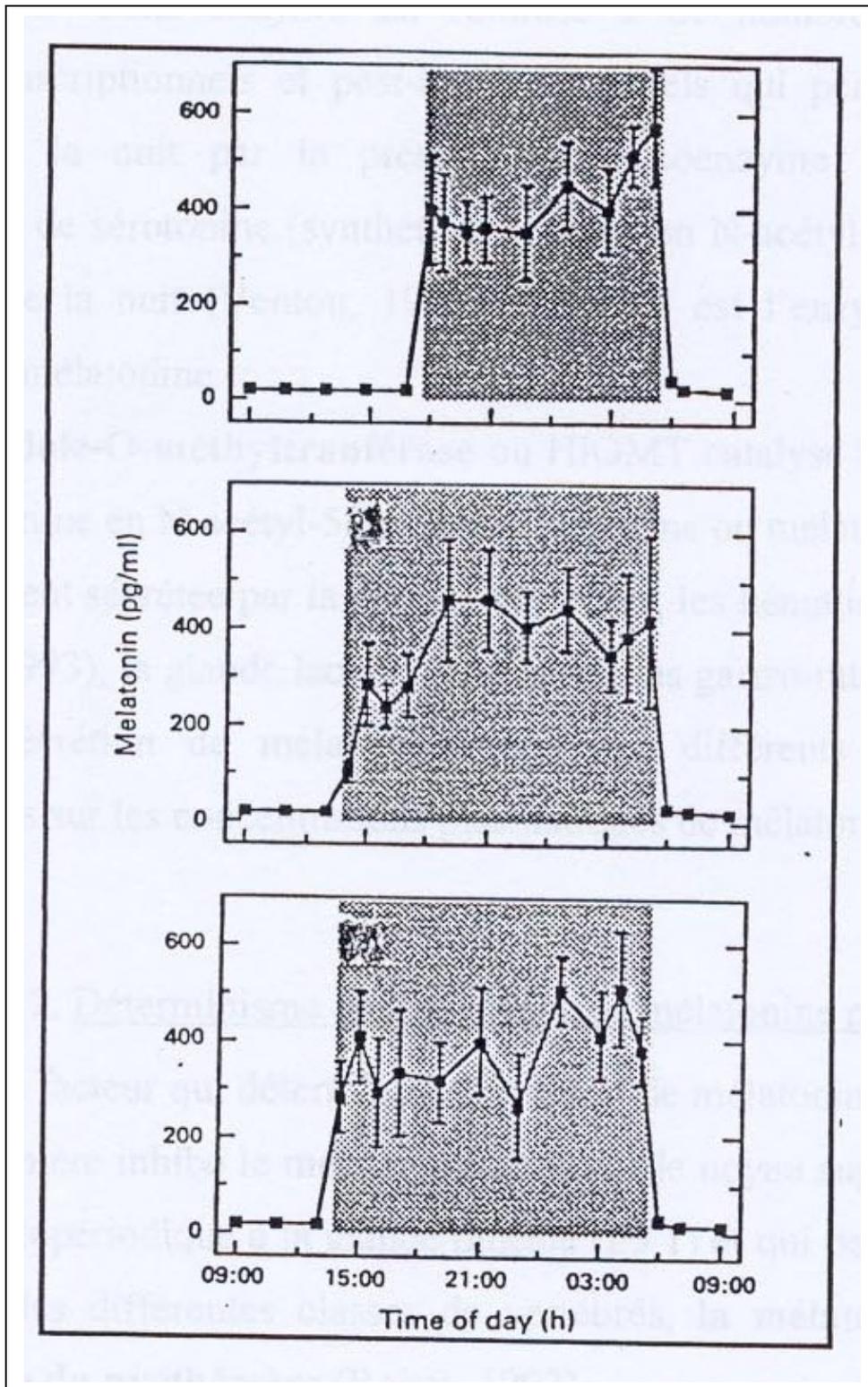


Figure 3: Evolution de la concentration plasmatique de mélatonine au cours du nyctémère.

La conversion de sérotonine en mélatonine est corrélée à la phase nocturne et comprend deux étapes catalysées par deux enzymes :

- la **N-acétyltransférase** : NAT permet la transformation de sérotonine en N-acétylsérotonine. Cette enzyme est soumise à de nombreux mécanismes de régulation transcriptionnels et post-transcriptionnels qui permettent à l'enzyme d'être activée la nuit par la présence d'un coenzyme : l'AMPc. Ainsi la transformation de sérotonine (synthétisée le jour) en N-acétylsérotonine ne se fait qu'au cours de la nuit (Ventou, 1992). La NAT est l'enzyme limitante de la synthèse de la mélatonine.
- **L'hydroxy-indole-O-méthyltransférase** ou HIOMT catalyse la transformation de N-acétylsérotonine en N-acétyl-5-méthoxytryptamine ou mélatonine.

La mélatonine est également sécrétée par la glande de Harder, les hématies, les leucocytes, la rétine (Herdeland et al., 1993), la glande lacrymale et le tractus gastro-intestinal (Malagelada, 1997). Cependant, la sécrétion de mélatonine dans ces différents compartiments est anecdotique et n'influe pas sur les concentrations plasmatiques de mélatonine.

II.2.2. Déterminisme de la synthèse de mélatonine par l'épiphyse

La lumière est le principal facteur qui détermine la sécrétion de mélatonine. En effet, une fois captée par la rétine, la lumière inhibe le message amorcé par le noyau suprachiasmatique qui conduit l'information photopériodique à la glande pinéale (I.3.1) et qui permet la sécrétion de mélatonine. Ainsi, dans les différentes classes de vertébrés, **la mélatonine est produite pendant la phase obscure du nyctémère** (Reiter, 1993).

D'autres facteurs tels que l'âge, le stress, les hormones, les médicaments ou la malnutrition (Touitou et al., 1996) peuvent intervenir pour contrôler le rythme de sécrétion de mélatonine, mais leur rôle est largement moins important que celui joué par la lumière.

II.3. Rythme de sécrétion de la mélatonine

La mélatonine est synthétisée chez toutes les espèces pendant la nuit. Chez les ovins, les taux plasmatiques circulants diurnes sont de l'ordre de 1 à 5 pg/ml et ces taux atteignent quelques centaines de pg/ml au cours de la phase sombre du nyctémère [figure 4]. La durée de présence de taux élevés de mélatonine est égale à la longueur de la nuit (Malpaux., 1988).

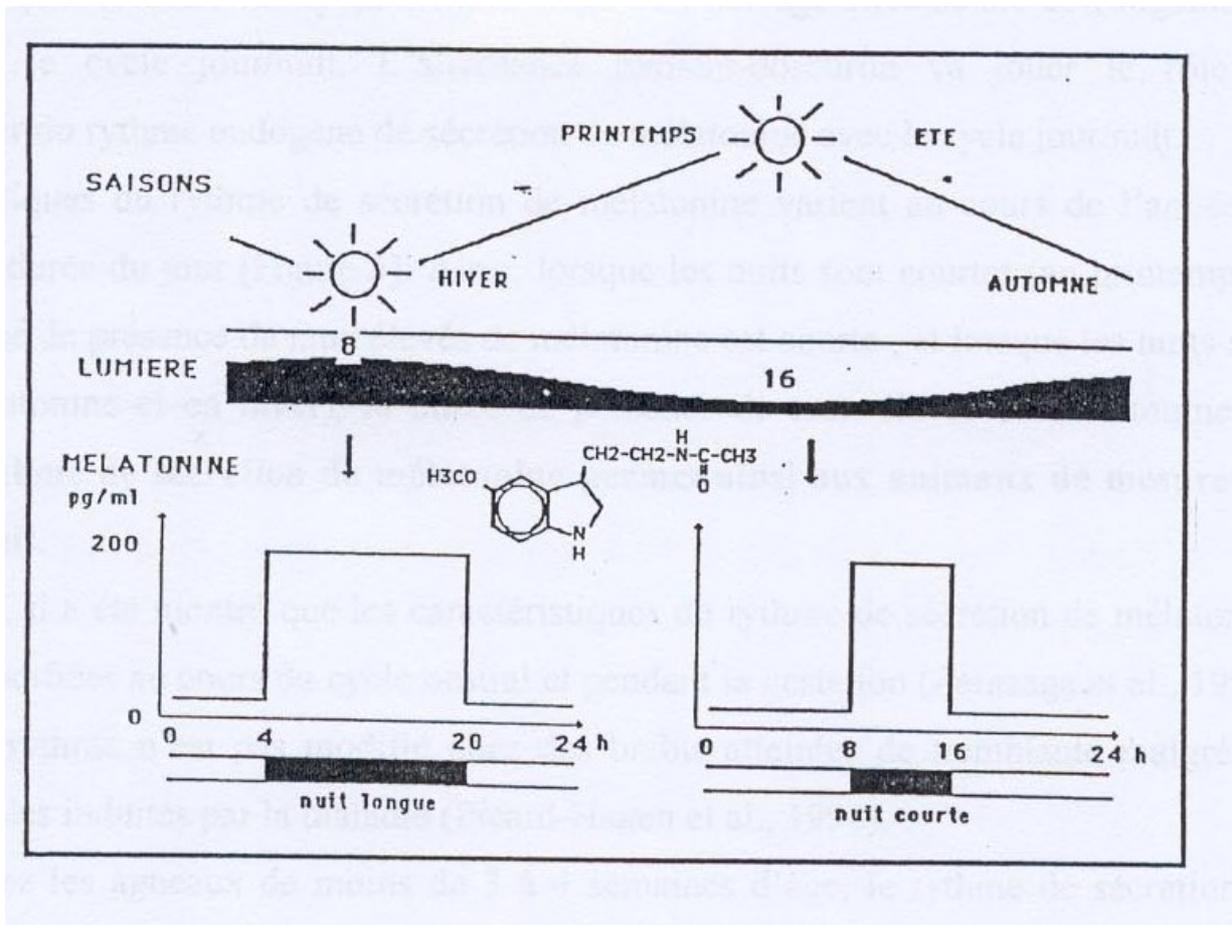


Figure 4: Variations de la concentration plasmatique de mélatonine en fonction de la saison et de la durée du jour.

Chez des brebis soumises à une photopériode constante (c'est à dire obscurité ou lumière continue), le rythme de sécrétion de mélatonine persiste avec une période proche de 24 heures : il s'agit donc d'un rythme circadien. Ce rythme est généré par les noyaux suprachiasmatiques (Reiter, 1993) qui sont le siège de l'horloge circadienne de l'organisme, entraînée par le cycle jour/nuit. L'alternance lumière-obscurité va jouer le rôle de synchronisateur du rythme endogène de sécrétion de mélatonine avec le cycle jour/nuit.

Les caractéristiques du rythme de sécrétion de mélatonine varient au cours de l'année en fonction de la durée du jour [Figure 5]. Ainsi, lorsque les nuits sont courtes (au printemps et en été), la durée de présence de taux élevés de mélatonine est courte ; et lorsque les nuits sont longues (en automne et en hiver), la durée de présence de taux élevés de mélatonine est longue. **Le rythme de sécrétion de mélatonine permet ainsi aux animaux de mesurer la durée de la nuit.**

Chez la brebis, il a été montré que les caractéristiques du rythme de sécrétion de mélatonine ne sont pas modifiées au cours du cycle oestral et pendant la gestation (Zarazaga et al., 1996). De même, ce rythme n'est pas modifié chez des brebis atteintes de tremblante malgré les lésions cérébrales induites par la maladie (Picard-Hagen et al., 1998).

Par contre, chez les agneaux de moins de 3 à 4 semaines d'âge, le rythme de sécrétion de mélatonine n'est pas encore synchronisé avec le cycle lumineux, mais est en relation avec le transfert de mélatonine par le lait maternel.

Le profil de sécrétion de la mélatonine constitue un signal endocrinien qui transmet l'information photopériodique à partir de la glande pinéale. Ce signal doit être décodé par l'organisme (voir chapitre III.1.2).

II.4. Métabolisme

II.4.1. Pharmacocinétique de la mélatonine

La mélatonine est une molécule de petite taille, hautement lipophile qui passe très facilement à travers les membranes cellulaires. Par conséquent, une fois produite dans le pinéalo-cyte, elle diffuse rapidement dans les capillaires qui irriguent la glande pinéale : il n'y a pas de stockage pinéal de l'hormone, et elle se distribue via le sang à l'ensemble de l'organisme. **Ainsi les concentrations plasmatiques de mélatonine reflètent la quantité de mélatonine produite dans la glande pinéale** (Reiter, 1993).

Le volume de distribution de la mélatonine est important : 0,8 L/kg chez la vache (Berthelot et al., 1993) et 1 L/kg chez la ponette (Guillaume et al., 1995) ; ce qui suggère une diffusion intracellulaire de cette hormone qui peut franchir aisément les membranes biologiques et les barrières hémato-méningée et placentaire. La mélatonine est ainsi détectée dans la salive, les liquides céphalorachidien (LCR), folliculaire ovarien, séminal, amniotique et dans la chambre antérieure de l'œil (cependant, la présence de mélatonine dans ces compartiments peut être corrélée à une autre source de sécrétion de mélatonine que la glande pinéale). Dans ces compartiments, le rythme jour/nuit de sécrétion de la mélatonine est également observé.

Il a été récemment montré que chez la brebis, la concentration nocturne de mélatonine dans le LCR prélevé dans le troisième ventricule est 20 fois supérieure à la concentration nocturne de mélatonine plasmatique (Skinner et Malpaux, 1999). Cette observation a conduit les auteurs à l'hypothèse suivante : la mélatonine pourrait être sécrétée directement par la glande pinéale dans le LCR sans passer par la circulation sanguine ; la mélatonine cheminerait par le récessus pinéal qui relie l'épiphysse au troisième ventricule, et se déverserait directement dans le LCR du troisième ventricule. La mélatonine contenue dans le LCR interviendrait notamment dans le contrôle photopériodique de la reproduction (III.1.3).

II.4.2. Catabolisme

La mélatonine est catabolisée à deux niveaux : le foie et le cerveau (Touitou et al., 1996), cependant, la principale voie catabolique est hépatique.

- Dans l'hépatocyte, la mélatonine est hydroxylée en 6-hydroxymélatonine puis est conjuguée avec l'acide sulfurique (70 à 80%) ou l'acide glucuronique (5%). Il s'agit de la principale voie de catabolisme hépatique de la mélatonine. Dans le cas de troubles hépatiques (cirrhose par exemple), cette transformation est plus lente, la clairance de la mélatonine diminue (Igushi et al., 1982).

- Dans le cerveau, le catabolisme se fait par oxydation et aboutit à la formation de N-acétyl-5-métoxykinurénamine (Touitou et al., 1996).

Le catabolisme de la mélatonine n'est pas dose dépendant chez les ovins (English et al, 1987), et les humains (Mallo et al., 1990).

II.4.3. Elimination

L'élimination de la mélatonine se fait à 70% dans les urines et à 20 % dans les fécès (Touitou et al., 1996). Parmi les catabolites retrouvés dans les urines, les composés sulfoconjugués sont les plus importants quantitativement, la mélatonine non métabolisée est présente à un taux inférieur à 1% dans les urines.

II.5. Principaux sites de liaison de la mélatonine

L'injection de mélatonine titriée a mis en évidence des sites préférentiels de capture de cette molécule qui sont : le cerveau, la glande pinéale, la rétine, les ovaires, l'utérus et le foie (Cardinali et Vacas, 1980). On peut ainsi distinguer des sites centraux et périphériques d'action de la mélatonine :

II.5.1. Sites centraux de liaison de la mélatonine

Deux sites constituent les cibles centrales principales de la mélatonine :

- la région de la *pars tuberalis* (partie de l'adénohypophyse) qui présente une très forte concentration en récepteurs à la mélatonine (de Reviers et al, 1989).
- L'aire prémammillaire qui présente une très forte concentration en récepteurs à la mélatonine. D'autre part, l'application d'implants délivrant de la mélatonine sur ce site entraîne une augmentation de la concentration de LH dans 90 % des cas. (Malpaux et al., 1998).

II.5.2. Sites périphériques de liaison de la mélatonine

Les organes reproducteurs tels que les ovaires, l'utérus et les testicules contiennent des récepteurs à la mélatonine. De même, des récepteurs à la mélatonine ont été mis en évidence dans le foie, les intestins (Malagelada, 1997), la rate, la peau, la rétine et dans les vaisseaux sanguins (Scalbert et al., 1997). L'ubiquité des sites de liaison de la mélatonine est le reflet des multiples rôles de la mélatonine que nous étudierons dans la partie suivante.

II.5.3. Les récepteurs de la mélatonine

Au niveau cellulaire, la mélatonine présente trois types de liaison : les récepteurs membranaires, cytoplasmiques et nucléaires .

Les *récepteurs membranaires* ont été mis en évidence grâce à un radioligand : la 2-iodo-mélatonine. Ce ligand a permis de distinguer deux catégories de récepteurs membranaires appelés ML1 et ML2 qui présentent respectivement une forte affinité et une faible affinité pour la 2-iodomélatonine (Dubucovich, 1995). Le site ML1 est caractérisé comme étant couplé à une protéine G car il est sensible au GTP, le site ML2 n'est quant à lui pas sensible aux analogues de GTP. Deux sous-types du site ML1 ont été clonés chez l'homme : ML1a et ML1b (Pévet, 1997 ; Lesieur et al., 1997) et un sous type du site ML1 a été cloné à partir de peau de Xénope : ML1c (Jockers et al., 1997). Chez l'homme, les récepteurs ML1a ont été identifiés dans les zones cérébrales et en particulier la *pars tuberalis* de l'adénohypophyse et le noyau suprachiasmatique de l'hypothalamus (Reiter et al., 1996), mais aussi au niveau périphérique dans le rein. Le récepteur ML1b est exprimé dans la rétine et l'hippocampe chez l'homme. Le site de liaison ML2 n'a pas encore été purifié et cloné, il présente une affinité 100 fois plus faible pour la mélatonine que ML1, et une bonne affinité pour la N-acétylsérotinine. Ce site a été mis en évidence dans le cerveau de certaines espèces telles que la souris, le rat ou le lapin.

De part sa petite taille et sa grande lipophilie, la mélatonine pourrait franchir les membranes cellulaires et pourrait agir directement au niveau de *récepteurs cytoplasmiques* sur les cellules ne présentant pas de récepteurs membranaires (Reiter et al., 1996).

Enfin, il a été montré que la mélatonine peut se concentrer dans le noyau cellulaire et des *récepteurs nucléaires* à la mélatonine ont été mis en évidence notamment dans le foie. Une fois liée à son récepteur, la mélatonine pourrait agir sur certains gènes et réguler leur expression (Reiter et al., 1996).

Il est actuellement impossible de lier une fonction physiologique ou un comportement à un type spécifique de récepteur et par conséquent à une indication thérapeutique.

La glande pinéale transmet l'information photopériodique perçue par la rétine à l'ensemble de l'organisme via la mélatonine. Cette hormone très lipophile et au métabolisme rapide diffuse rapidement et largement pour distribuer cette information au niveau de différents sites.

III Rôles de la glande pinéale et de la mélatonine

III.1. Rôles de la glande pinéale et de la mélatonine dans le contrôle photopériodique de la reproduction des ovins

Les ovins ont une activité de reproduction saisonnière qui se manifeste chez la brebis par l'alternance au cours de l'année d'une saison sexuelle et d'une saison d'anoestrus. Les béliers présentent également des variations saisonnières de l'activité sexuelle : le poids testiculaire et la production spermatique subissent des variations saisonnières importantes (Dacheux et al, 1981). L'activité de reproduction a lieu les jours courts de l'automne/hiver.

III.1.1. Importance de la photopériode dans la reproduction des ovins

III.1.1.1. Rôle de la photopériode dans l'organisation temporelle du cycle annuel de reproduction

Lorsque des brebis sont transportées de l'hémisphère Nord à l'hémisphère Sud, leur cycle reproductif est inversé, les brebis se reproduisent pendant l'automne de l'hémisphère Sud (Marshall, 1937). De même, il est possible de déplacer la saison sexuelle de six mois en utilisant des régimes lumineux artificiels inversés par rapport aux variations naturelles annuelles du jour. La cyclicité ovarienne débute lorsque la durée des jours diminue.

Des expériences consistant à alterner tous les trois mois des jours longs constants (c'est à dire présentant au moins 12 heures de lumière) et des jours courts constants (c'est à dire présentant au plus 8 heures de lumière), montrent que la reprise de l'activité sexuelle s'effectue 50 jours après le passage en jours courts, et que l'arrêt de l'activité sexuelle s'effectue 30 jours après le passage en jours longs. Par conséquent, les jours courts peuvent stimuler l'activité reproductive tandis que les jours longs inhibent cette activité (Legan et Karsch, 1979).

Cependant, il a été démontré que la perception de la diminution de la durée du jour après le solstice d'été n'était pas nécessaire pour déclencher l'activité sexuelle en automne (Robinson et al., 1985b). De même, la perception de l'augmentation de la durée du jour après le solstice d'hiver n'est pas requise pour l'interruption de l'activité reproductrice. Par conséquent, l'information photopériodique ambiante n'est pas utilisée pour induire une réponse reproductive au moment où les changements physiologiques se produisent. L'activité saisonnière est l'expression d'un rythme endogène circannuel de reproduction (Malpaux, 1988). En effet, des animaux soumis à un environnement photopériodique constant conservent un rythme d'activité et de repos sexuel avec une période proche de un an, mais ce rythme est décalé temporellement par rapport au cycle normal de reproduction.

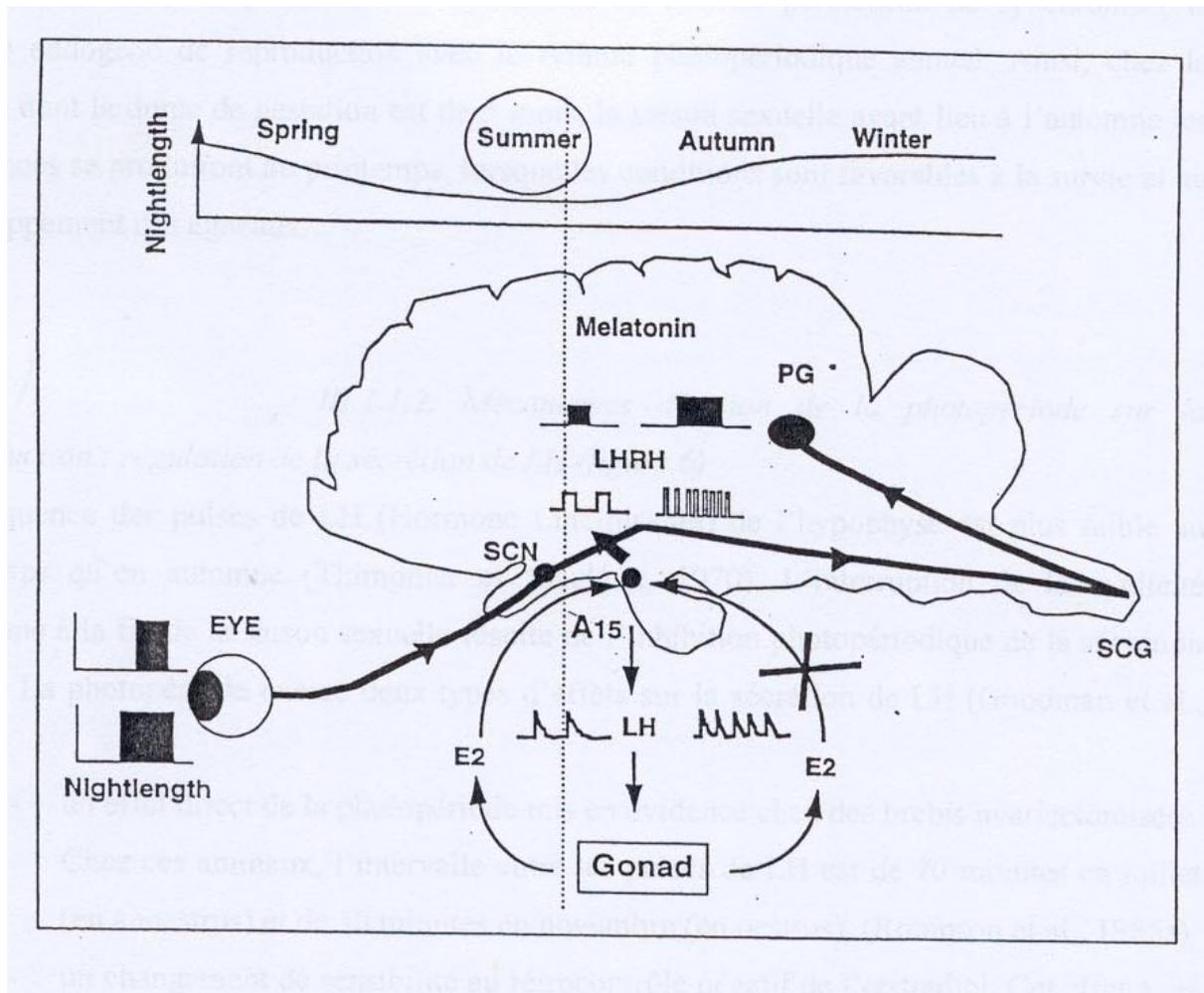


Figure 5: Mode d'action de la photopériode et de la mélatonine sur la reproduction des ovins.

Il a été montré que le moment de la perception du début des jours longs au printemps déterminait le début de la saison sexuelle suivante (Malpaux, 1988). Par conséquent, la lecture de l'information photopériodique à un moment de l'année permettrait de synchroniser le rythme endogène de reproduction avec le rythme photopériodique annuel. Ainsi, chez la brebis, dont la durée de gestation est de 5 mois, la saison sexuelle ayant lieu à l'automne les naissances se produiront au printemps, lorsque les conditions sont favorables à la survie et au développement des agneaux.

III.1.1.2. Mécanismes d'action de la photopériode sur la reproduction : régulation de la sécrétion de LH (figure 6)

La fréquence des pulses de LH (Hormone Lutéinisante) de l'hypophyse est plus faible au printemps qu'en automne (Thimonier et Mauléon, 1970). L'interruption de la cyclicité ovarienne à la fin de la saison sexuelle résulte de l'inhibition photopériodique de la sécrétion de LH. La photopériode exerce deux types d'effets sur la sécrétion de LH (Goodman et al., 1982) :

- un effet direct de la photopériode mis en évidence chez des brebis ovariectomisées. Chez ces animaux, l'intervalle entre les pulses de LH est de 70 minutes en juillet (en anoestrus) et de 40 minutes en novembre (en oestrus), (Robinson et al., 1985a).
- un changement de sensibilité au rétrocontrôle négatif de l'œstradiol. Cet effet a été mis en évidence sur des brebis ovariectomisées portant un implant sous-cutané d'œstradiol. Chez ces animaux, les concentrations plasmatiques de LH sont très faibles pendant l'anoestrus (0,5 ng/ml) et élevées pendant la saison sexuelle (10 ng/ml). Ainsi, le rétrocontrôle négatif de l'œstradiol sur l'axe hypothalamo-hypophysaire est plus intense en jours longs (la sécrétion hypophysaire de LH est alors diminuée) qu'en jours courts (la sécrétion hypophysaire de LH est augmentée).

La photopériode agit donc sur la reproduction en modifiant directement la pulsativité de LH et modifiant la sensibilité du système nerveux central au rétrocontrôle négatif de l'œstradiol [Figure 6].

III.1.2. Transduction de l'information photopériodique par la mélatonine

La durée de sécrétion de mélatonine au cours d'un nyctémère constitue le signal neuroendocrinien qui traduit la durée du jour. Deux hypothèses existent en ce qui concerne les paramètres du rythme de sécrétion de mélatonine responsables de l'interprétation de la durée du jour par l'organisme : la durée et la phase relative au cours du cycle de 24 heures de sécrétion de mélatonine (Karsch et al., 1988).

- la phase : au cours du nyctémère, il existe un moment critique de sensibilité à la présence de mélatonine. La réponse à la durée du jour pourrait être fonction de la présence ou de l'absence de mélatonine à ce moment critique.
- La durée : la réponse à la durée du jour serait fonction de la durée de présence de taux élevés de mélatonine, donc de la durée de la phase sombre.

Aucune de ces deux hypothèses n'est pour l'instant exclue.

III.1.3. Effets de la mélatonine sur la reproduction ovine

Chez des brebis pinéalectomisées perfusées avec de la mélatonine selon un protocole de type « jours longs » (durée de perfusion inférieure à 8 heures), la concentration de LH mesurée dans le sérum est très faible. Cette concentration augmente considérablement lorsque les brebis sont perfusées selon un protocole de jours courts (durée de perfusion supérieure à 12 heures) (Karsch et al., 1984). La mélatonine régule la sécrétion de LH en modulant l'activité des neurones à Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) situés dans l'hypothalamus. La libération pulsative de GnRH est à l'origine de la sécrétion pulsative de LH par l'hypophyse. Lorsque la durée de présence de taux élevés de mélatonine est longue, c'est à dire en « jours courts », la fréquence des pulses de LH est élevée, les cycles ovariens persistent. Inversement, si la glande pinéale reçoit une information de type « jours longs », la durée de présence de taux élevés de mélatonine est plus courte et la fréquence des pulses de LH est responsable de l'arrêt des cycles ovariens [Figure 6].

Les mécanismes par lesquels la mélatonine module la sécrétion de GnRH sont peu connus : l'action de la mélatonine sur les neurones à GnRH serait indirecte et impliquerait l'action des systèmes catécholaminergiques responsables d'une inhibition de l'activité des neurones à

GnRH et donc de la fréquence des pulses de LH pendant l'anoestrus. Parmi ces systèmes, il a été montré que le noyau dopaminergique A15 est impliqué dans le rétrocontrôle négatif de l'œstradiol. Au cours de l'anoestrus, la lésion neurotoxique des noyaux A15 entraîne une augmentation de sécrétion de LH (Thiéry et al, 1989). La mélatonine pourrait agir directement sur le noyau A15 ou sur une autre structure hypothalamique comme l'hypothalamus médiobasal, qui est la seule structure cérébrale répondant à des implants délivrant de la mélatonine par une augmentation du taux de LH (Malpaux et al., 1993).

Enfin, la mélatonine contenue dans le LCR pourrait agir directement sur l'hypothalamus, et contrôler la fonction de reproduction, la mélatonine véhiculée par voie sanguine agissant plutôt sur des cibles périphériques.

III.1.4. Utilisation de la mélatonine pour contrôler la fonction de reproduction

La mise en évidence du rôle de la mélatonine dans le contrôle photopériodique de la reproduction a permis le développement de traitements destinés à la maîtrise de la reproduction des ovins.

Chez les agneaux mâles, des programmes lumineux associés à des implants sous-cutanés de mélatonine permettent d'avancer la puberté et d'augmenter la fertilité ou la qualité de la semence (Chemineau et al., 1988).

Chez les béliers, la succession de périodes de jours longs mimés par des flashes lumineux et de périodes de jours courts mimés par des implants de mélatonine permet l'induction et le maintien d'une activité spermatogénique élevée à contre saison, ce qui permet aux centres d'insémination de disposer de semence fraîche aux périodes de faible activité sexuelle du mâle. De plus, l'alternance d'un mois d'éclairage nocturne suivi d'un mois d'implant de mélatonine permet le maintien de l'activité sexuelle du bélier à un niveau optimal plusieurs années consécutives (Picard-Hagen et al., 1996).

Chez les brebis peu saisonnées, les traitements à la mélatonine sont utilisés pour avancer la saison sexuelle et raccourcir la période de lutte (Chemineau et al., 1988). L'association d'un traitement jours longs, suivi d'un implant de mélatonine permet d'avancer la saison sexuelle chez des femelles très saisonnées ou d'obtenir une activité sexuelle à contre saison, ainsi les animaux pourront être vendus alors que les cours du marché seront les plus élevés. De plus,

les traitements à la mélatonine améliorent significativement la fertilité et augmentent la taille de portée (Chemineau et al., 1991).

La mélatonine joue un rôle fondamental dans le contrôle photopériodique de la reproduction ovine.

III. 2. Autres rôles de la mélatonine

Compte tenu de ces nombreux sites d'action, la mélatonine doit intervenir dans de nombreux processus. De plus, étant très lipophile, la mélatonine peut rapidement franchir les membranes cellulaires, ainsi, toutes les cellules et organites cellulaires sont exposés au rythme circadien de mélatonine.

III.2.1. Action anti-oxydante de la mélatonine : rôle dans le processus de vieillissement

III.2.1.1. Effets anti-oxydants de la mélatonine

Des expériences *in vitro* montrent que la mélatonine est capable de détruire les radicaux peroxylys générés lors de la peroxydation des lipides (Pieri et al., 1994). Son effet anti-oxydant est supérieur à celui de la glutathion peroxydase (GSH), de l'acide ascorbique et de la vitamine E.

D'autres expériences réalisées sur des cultures de lymphocytes humains soumises à des radiations ionisantes, prouvent que la mélatonine réduit de 60% les lésions de l'ADN causées par l'ionisation, qu'elle est un meilleur radioprotecteur que le 2-M diméthylsulfoxyde (DMSO), elle est même 500 fois plus efficace que le DMSO (Reiter et al., 1996). En effet, outre la destruction des radicaux hydroxyls produits par les cellules ionisées, la mélatonine qui se concentre dans le noyau, pourrait protéger directement l'ADN cellulaire contre les radiations.

Enfin, la mélatonine possède un pouvoir oxydant indirect : elle stimule la synthèse de GSH (enzyme anti-oxydante) et inhibe l'enzyme nitrite oxydase qui produit des radicaux nitrites (Reiter et al., 1996).

La mélatonine détruit les radicaux libres, elle a un pouvoir antioxydant direct et indirect. Elle pourrait constituer un mécanisme protecteur de l'organisme vis à vis du stress oxydatif.

III.2.1.2. Evolution de la sécrétion de mélatonine au cours de la vie et conséquence sur le processus du vieillissement

La sécrétion de mélatonine est élevée chez l'enfant, elle diminue jusqu'à l'âge adulte, puis reste stable durant la phase de maturité (Touitou et al., 1996). Cette sécrétion commence à diminuer progressivement à partir de l'âge de 50 ans et chez le sujet âgé les concentrations plasmatiques de mélatonine sont diminuées de moitié par rapport à un sujet jeune (Touitou, 1997). Donc, plus l'individu vieillit, plus il perd l'effet protecteur de la mélatonine vis à vis du stress oxydatif. L'homme âgé serait donc plus exposé aux radicaux libres qui pourraient être à l'origine de certaines maladies telles que le cancer de la prostate par exemple.

L'action potentielle de la mélatonine sur le processus du vieillissement a été largement médiatisée à partir de 1995 sous des termes tels que l'« hormone de Jouvence », mais les résultats scientifiques sur lesquels s'appuient cet effet de la mélatonine sont très contestés par la communauté scientifique.

III.2.2. Mélatonine et cancer

III.2.2.1. Mécanismes d'action de la mélatonine sur le processus tumoral

La mélatonine, grâce à ses **propriétés anti-oxydantes** pourrait empêcher l'initiation d'un processus tumoral. Par exemple, le safrole est une molécule carcinogène qui détruit l'ADN en favorisant la production de radicaux libres. La mélatonine permet de limiter les lésions de l'ADN causées par le safrole en détruisant les radicaux libres produits par le safrole mais aussi en protégeant directement l'ADN cellulaire contre l'oxydation ; le processus carcinogène est ainsi limité (Reiter et al., 1996).

De plus, la mélatonine présente *in vitro* des **propriétés antiprolifératives** sur les cellules normales ou néoplasiques. Cette propriété pourrait également s'observer *in vivo*, néanmoins des données contradictoires existent. La mélatonine agirait soit en intervenant directement sur la mitose, soit en inhibant la production de facteurs de croissance par la cellule cancéreuse (Rietmeyer, 1996).

La mélatonine pourrait également agir sur le développement tumoral en **modifiant le métabolisme de certaines hormones**. Par exemple, chez les porteurs de tumeurs prostatiques, on observe une augmentation de la concentration de FSH associée à une augmentation de la concentration de mélatonine (Bartsch et al., 1985). L'hypothèse actuelle

est que la mélatonine agit sur la sécrétion de FSH, qui limiterait le processus tumoral. La mélatonine aurait ainsi un rôle antinéoplasique indirect.

Enfin, la mélatonine est considérée comme un agent **immunostimulateur** (Rietmeyer, 1996), elle permet d'accroître la résistance de l'organisme vis à vis de tumeurs par exemple. La mélatonine stimulerait l'immunité cellulaire ainsi que l'immunité humorale.

III.2.2.2. Applications thérapeutiques de la mélatonine

De part ses propriétés, la mélatonine aurait une action limitant le processus cancéreux. Elle a donc été testée pour traiter certains cancers comme celui de la prostate, mais les résultats thérapeutiques sont irréguliers. La mélatonine n'est donc pas utilisée en première intention dans le traitement du cancer. Cependant, elle est utilisée comme adjuvant dans le traitement des cancers avancés car elle permet d'augmenter la vigueur des malades, elle procure un effet antalgique qui permet de stimuler l'appétit des patients et enfin, elle est dépourvue d'effets secondaires (Rietmeyer, 1996).

III.2.3. Intervention de la mélatonine sur les rythmes biologiques

La mélatonine est une « hormone donneuse de temps » qui informe l'horloge centrale de l'organisme des variations photopériodiques de l'environnement. Elle permet ainsi de synchroniser les rythmes biologiques avec les variations cycliques environnementales.

III.2.3.1. Exemples de rythmes biologiques entraînés par la glande pinéale

La glande pinéale contrôle des rythmes journaliers comme les rythmes d'activité locomotrice et celui de la température corporelle (Blinkey, 1979). Chez le moineau, espèce diurne, l'activité locomotrice et la température corporelle sont élevées le jour alors que les concentrations plasmatiques de mélatonine sont faibles. Au cours de la nuit, les concentrations plasmatiques de mélatonine augmentent et la température et l'activité sont faibles. Chez le hamster, espèce nocturne, la température, l'activité locomotrice et la concentration de mélatonine sont élevées la nuit et faibles le jour (Blinkey, 1979).

Chez les mammifères et en particulier l'homme, la mélatonine endogène intervient dans le rythme veille/sommeil. Le pic de mélatonine correspond au sommeil profond (la température corporelle est alors minimale) (Arendt, 1997). Ce contrôle de la mélatonine sur le sommeil est à l'origine de nombreuses applications thérapeutiques (III.2.3.2).

Outre son action sur les rythmes journaliers, la mélatonine intervient également sur les rythmes annuels tels que l'hibernation (Collin et al., 1988).

III.2.3.2. Utilisation de la mélatonine dans le traitement des désordres du rythme circadien

On parle de désordre du rythme circadien lorsque le rythme de sécrétion de mélatonine est décalé par rapport à l'environnement photopériodique. Ces désordres sont observés lors du décalage horaire au cours des voyages transmériidiens, du travail de nuit, des perturbations du sommeil et des dépressions saisonnières.

La mélatonine est à dose physiologique ($<0,5$ mg/kg) un chronobiotique, c'est à dire une substance qui permet de synchroniser les rythmes circadiens comme le rythme veille/sommeil avec leur environnement.

A dose plus élevée ($>0,5$ mg/kg), la mélatonine possède également des propriétés hypnotiques. Il est parfois intéressant de combiner ces deux propriétés (chronobiotique et hypnotique), par exemple pour permettre de synchroniser l'organisme avec les nouvelles conditions environnementales après un voyage transmériidien et d'utiliser les propriétés sédatives de la mélatonine pour faciliter le sommeil.

III.2.4. Conclusion

La mélatonine intervient dans de nombreux processus biologiques et son utilisation présente de nombreuses applications thérapeutiques potentielles. Il a été montré que la DL50 (c'est à dire la dose capable, après une seule administration d'engendrer la mort chez 50% des individus traités) est de 800 mg/kg chez la souris (Barchas et al., 1967), elle ne présenterait pas d'effets secondaires aux doses thérapeutiques.

Toutefois, en France, elle ne dispose d'autorisation de mise sur le marché que pour une seule application comme médicament vétérinaire. Elle est en effet commercialisée pour l'espèce ovine sous la forme d'implant (Melovine®, laboratoire CEVA Santé Animale) et son utilisation est préconisée pour avancer la saison de reproduction et augmenter la taille de portée.

Cependant, la mélatonine devrait faire rapidement son apparition sur le marché du médicament humain, d'ici l'année prochaine, sous une forme retard, destinée à traiter l'insomnie des personnes âgées (Cabut, 2000).

B . Contrôle génétique de la concentration plasmatique de mélatonine

I . Variabilité de la concentration plasmatique de mélatonine des brebis

I.1. Paramètres permettant de quantifier cette variabilité

Trois paramètres caractérisent le rythme de sécrétion de mélatonine :

- **l'amplitude instantanée** correspond à la différence entre la concentration nocturne et la concentration moyenne diurne de mélatonine. Elle est calculée pour chaque prélèvement de sang.
- **l'amplitude moyenne** correspond à la différence entre les concentrations nocturnes moyennes et les concentrations diurnes moyennes de mélatonine.
- **la durée** correspond au temps pendant lequel la concentration de mélatonine est élevée.

I.2. Variabilité intra-individuelle des paramètres du rythme de sécrétion de mélatonine

Les paramètres du rythme de sécrétion de mélatonine ont été évalués chez des brebis soumises à un schéma photopériodique alternant des jours longs (JL) et des jours courts (JC), au cours de différentes périodes de 24 heures. La répétabilité qui correspond au coefficient de corrélation entre les différentes mesures sur un même animal a été évaluée pour chacun des trois paramètres (Chemineau et al., 1996).

La répétabilité de la mesure de l'amplitude moyenne chez un individu est élevée (0,71) et les coefficients de corrélation de la concentration de mélatonine entre les différents prélèvements chez un même animal sont élevés (de 0,44 à 0,96). Par conséquent, chaque individu possède un niveau de concentration de mélatonine qui varie en fonction de la photopériode : élevé la nuit, faible le jour. Mais d'une nuit à l'autre, le niveau des concentrations en mélatonine est répétable pour un même individu, quelle que soit la longueur de la nuit. Il existe cependant de grandes différences d'amplitude entre les animaux.

La durée de présence de taux plasmatiques élevés de mélatonine varie en fonction de la photopériode : plus la phase obscure est longue, plus cette durée est longue. La répétabilité de la durée de présence de taux élevés de mélatonine est élevée. Donc, pour une même durée de la phase sombre, des animaux auront des durées de sécrétion de mélatonine élevée différentes entre individus, mais relativement constantes chez un même individu.

I.3. Conséquence de la faible variabilité intra-individuelle des concentrations plasmatiques nocturnes en mélatonine

L'amplitude moyenne des concentrations plasmatiques nocturnes en mélatonine et la durée de sécrétion de mélatonine varient en fonction de la durée du jour, mais sont relativement constantes chez un même individu. Ces deux paramètres sont donc des caractéristiques individuelles qu'il est intéressant d'étudier d'un point de vue génétique.

II. Contrôle de la variabilité de la concentration plasmatique de mélatonine

II.1. Contrôle génétique de cette variabilité

Deux hypothèses peuvent expliquer les larges différences de l'amplitude des concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine entre individus, et la grande répétabilité pour un même individu : un effet permanent de l'environnement et un effet génétique.

L'héritabilité, c'est à dire le rapport entre la variance génétique additive et la variance totale a été estimée à partir de trois générations de moutons (Zarazaga et al., 1998a) : elle est égale à 0,45, donc élevée. Ainsi, la concentration plasmatique en mélatonine est sous contrôle génétique important.

Ce contrôle génétique existe aussi chez l'homme et le lapin (Chemineau et al., 1998a) et pourrait suggérer l'intervention d'un gène majeur.

La variabilité des concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine est sous contrôle génétique important. Ce contrôle pourrait s'exercer sur la synthèse ou sur le catabolisme de la mélatonine.

II.2. Origine physiologique de la variabilité génétique des concentrations plasmatiques de mélatonine

II.2.1. Contrôle génétique de la synthèse de mélatonine

Sur deux groupes de brebis dont les concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine sont faibles et élevées, il a été montré que la clairance, le volume de distribution, le temps de demi-vie ou de temps de résidence n'étaient pas modifiés (Zarazaga et al., 1998b). Par conséquent, le catabolisme de l'hormone est identique pour tous ces animaux, et n'est pas à l'origine de la variabilité inter-individuelle de l'amplitude des concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine.

En revanche, le taux de production des animaux présentant des concentrations plasmatiques élevées de mélatonine a été plus important que celui des brebis dont les concentrations plasmatiques nocturnes sont faibles. **La variabilité génétique de l'amplitude des concentrations plasmatiques nocturnes en mélatonine est liée à sa synthèse et non à son catabolisme.**

Le contrôle génétique pourrait donc s'effectuer au niveau de la glande pinéale ou sur son contrôle.

II.2.2. Influence de la glande pinéale sur la variabilité génétique des concentrations plasmatiques en mélatonine

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer l'influence de la glande pinéale :

- la taille ou le poids de la pinéale ;
- une différence dans l'activité sécrétoire de la glande pinéale ;
- une différence dans l'activité ou la quantité des enzymes pinéales, ou une différence dans la quantité des ARNm de ces enzymes.

Il a été montré que les animaux dont on a caractérisé le niveau élevé de l'amplitude des concentrations nocturnes de mélatonine présentent une concentration de mélatonine plus élevée de jour comme de nuit que les animaux dont le niveau d'amplitude des concentrations nocturnes de mélatonine est faible. Le poids de leur glande pinéale est aussi plus élevée quelque soit le moment de l'abattage (jour ou nuit) que celui des animaux dont l'amplitude de concentration nocturne est faible (Coon et al, 1999). Le coefficient de corrélation entre la

moyenne de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine 24 heures avant abattage et le poids de la glande pinéale est élevé (Coon et al., 1999).

Par contre, entre les deux groupes de brebis (niveau faible vs élevé des concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine), il n'y a pas de variations entre la quantité de mélatonine mesurée par mg de pinéale. Les activités des enzymes pinéales : arylalkylamine N-acétyltransférase et Hydroxyindole-O-méthyltransférase ne sont pas non plus significativement différentes entre les deux groupes (Coon et al., 1999).

La variation génétique de la concentration plasmatique en mélatonine serait donc liée à la variabilité du poids de la glande pinéale et non à celle des activités enzymatiques pinéales.

La glande pinéale étant composée à 80% de pinéalocytes, on peut se demander comment s'exprime le contrôle génétique à l'échelle cellulaire.

II.2.3. Influence des pinéalocytes sur la variabilité génétique des concentrations plasmatiques en mélatonine

Sur des agneaux à haut vs bas niveau des concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine, il a été montré qu'il existe une **corrélation importante entre la concentration moyenne de mélatonine et le nombre de pinéalocytes** (Gomez-Brunet et al., 2000). Les auteurs n'ont cependant pas mis en évidence de corrélation entre cette concentration et le taille des pinéalocytes.

Par conséquent, à l'échelle cellulaire, le contrôle génétique s'effectuerait sur le nombre de pinéalocytes, plus ce nombre serait important, plus la concentration en mélatonine serait élevée.

II.3. Date d'établissement de cette différence génétique dans la vie

Des prélèvements de sang réguliers réalisés sur des agneaux séparés en deux groupes (haut vs bas niveaux de mélatonine correspondant aux concentrations plasmatiques de mélatonine de leurs parents) à partir d'une semaine d'âge ont montré que, dès la première semaine d'âge, les concentrations plasmatiques en mélatonine du groupe « haut » sont supérieures à celle du

groupe « bas » et que cette différence se maintient au cours de leur croissance (Gomez-Brunet et al., 1999).

La variabilité génétique de la sécrétion de mélatonine s'exprimerait donc à partir d'une semaine d'âge. Par conséquent, les gènes impliqués dans cette variabilité, agissent probablement *in utéro* ou précocement autour de la naissance de l'agneau (Chemineau et al., 1998b).

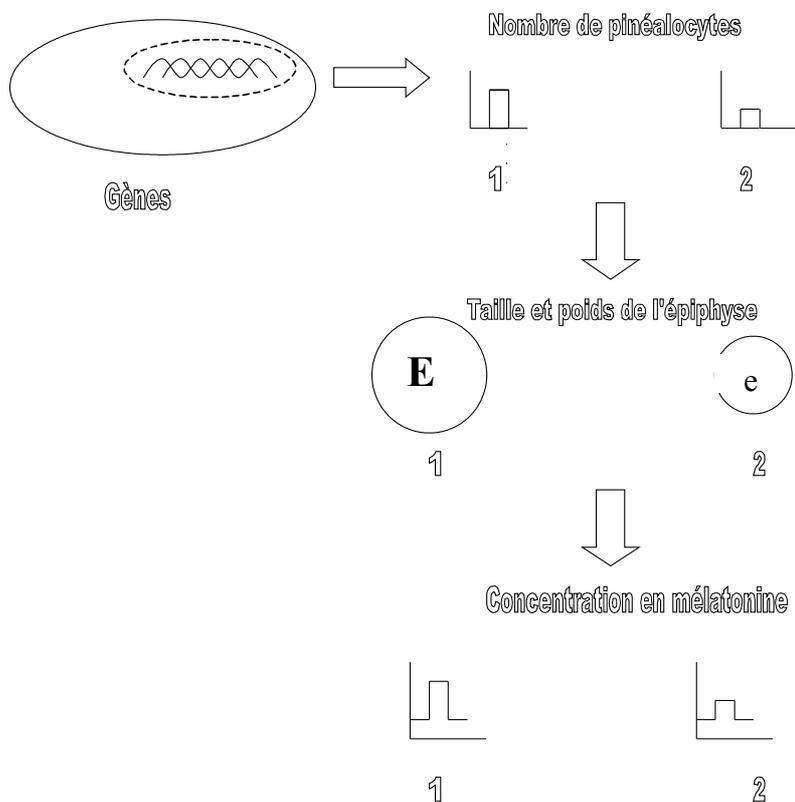


Figure 6 :

Contrôle génétique de la sécrétion de mélatonine.

II.4. Conclusions sur le contrôle génétique de la concentration de mélatonine [Figure 7]

Les brebis présentent une grande variabilité interindividuelle de la concentration plasmatique de mélatonine : certaines ont une amplitude élevée des concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine, d'autres, un niveau moyen, d'autres un niveau bas. Cette variabilité est en partie d'origine génétique. L'héritabilité de ce caractère est relativement élevée.

Cette variabilité génétique est liée au poids de la glande pinéale et plus précisément au nombre de pinéaloctes : plus le poids ou le nombre de pinéaloctes sont élevés, plus l'amplitude des concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine est haute.

Cette variabilité génétique s'exprime dès l'âge d'une semaine. Les gènes impliqués agissent certainement sur le développement *in utero* ou autour de la naissance. En effet, la vitesse de croissance de la glande pinéale est maximale dans les 20 jours précédant la naissance (Franco et al., 2000).

Nous nous proposons, dans la partie expérimentale suivante, d'explorer l'origine génétique de la variabilité du poids de la glande pinéale et de la concentration plasmatique de mélatonine.

PARTIE EXPERIMENTALE

ETUDE EXPERIMENTALE

A. Objectifs de l'étude

Le premier objectif de ce travail était d'étudier *l'effet de différents facteurs* : le lot, le père, le type génétique, le sexe, la croissance, le poids et l'âge à l'abattage et des données relatives à la carcasse sur deux caractères : le poids de la glande pinéale et la concentration plasmatique nocturne de mélatonine des animaux.

Le deuxième objectif de l'étude était *d'estimer les paramètres génétiques* (héritabilité et corrélations génétiques) de ces deux caractères dans notre échantillon.

Le troisième objectif était de réaliser une *analyse de ségrégation*, afin de déterminer si la transmission génétique de ces deux caractères obéit à un modèle polygénique strict ou mixte (polygénique associé à l'effet d'un gène majeur).

Le quatrième objectif de l'étude était d'essayer de *localiser des QTL* relatifs à ces caractères sur le chromosome 2 (seul chromosome pour lequel nous avons des informations marqueurs issues d'un autre protocole).

B. Matériel et méthodes

I. Animaux

I.1. Origine

Dans le cadre d'un programme de détection de QTL de conformation bouchère, des béliers Texel belge ont été croisés en 1994 avec des femelles Romanov afin d'obtenir une première génération d'animaux : la génération F1. De cette génération F1, 3 mâles ont été conservés. Ils ont été accouplés d'une part avec 122 femelles F1 pour obtenir la génération F2, et d'autre part avec 104 femelles Romanov pour obtenir des animaux back-cross [Figure 8].

Les trois mâles F1 (A, B, C) ont été accouplés avec les femelles Romanov pour donner des animaux back-cross pendant trois années consécutives : 1997, 1998, 1999.

Les accouplements des trois mâles F1 avec les femelles F1 à l'origine de la génération F2 ont eu lieu quatre années consécutives : 1997, 1998, 1999, 2000. Au cours des trois premières années, un seul mâle était utilisé pour les accouplements (successivement B, C et A) et la dernière année c'est à dire en 2000, les trois mâles (A, B et C) ont été utilisés.

I.2. Caractéristiques des animaux de l'étude

- Animaux F2 :

Lot	Père	Nombre de mâles	Nombre de femelles	Effectif	Effectif
				par père	par lot
1	B	19	28	47	47
2	C	25	34	59	59
3	A	23	22	45	45
4	A	7	8	15	50
	B	8	8	16	
	C	9	10	19	
Total		91	110	201	201

Tableau 1 : Caractéristiques des animaux de la génération F2 : lot, père, sexe.

- Animaux « Back-cross » (ou BC) :

Lot	Père	Nombre de mâles	Nombre de femelles	Effectif	Effectif
				par père	Par lot
1	A	16	13	29	66
	B	6	15	21	
	C	9	7	16	
2	A	12	8	20	70
	B	12	12	24	
	C	15	11	26	
3	A	7	14	21	62
	B	6	14	20	
	C	13	8	21	
Total		96	102	198	198

Tableau 2 : Caractéristiques des animaux dits « Back-cross » : lot, père, sexe.

Remarque : la dernière année (lot 4) il n'y a pas eu de back cross.

- ensemble des animaux :

Lot	Nombre de mâles	Nombres de femelles	Effectif total
1	50	63	113
2	64	65	129
3	49	58	107
4	24	26	50
Total	187	212	399

Tableau 3 : Effectif et sexe de l'ensemble des animaux par lot.

I.3. Conditions d'élevage

Les animaux ont été élevés au domaine expérimental de Langlade à la station expérimentale de génétique animale (SAGA) de Toulouse jusqu'à leur abattage. Ils correspondent en fait à un programme mis en place initialement pour vérifier l'existence du gène culard et son association avec l'expression de la myostatine. Dans ce but, les agneaux ont été contrôlés tout au long de leur croissance (pesées régulières) et ils ont été abattus à poids constant : 33 kg pour les femelles et 40 kg pour les mâles. Différentes mesures ont été effectuées sur les carcasses ainsi que les notations de la conformation et de l'état d'engraissement.

II. Protocole expérimental concernant la glande pinéale et la concentration plasmatique de mélatonine

II.1. Prélèvements sanguins

Des prélèvements de sang ont été réalisés sur l'ensemble des animaux âgés de 3 à 4 mois, au cours d'une nuit, en juillet 1997, en février et juillet 1999 et en juin 2000. Quatre prélèvements de sang ont été effectués sur chaque agneau à une heure d'intervalle : deux à la veine jugulaire droite et deux à la veine jugulaire gauche. Les manipulateurs disposaient de lampes infra-rouge qui délivraient moins de 1 lux à 20 cm et les yeux des animaux étaient bandés afin qu'ils ne perçoivent pas la lumière. Le sang, obtenu par ponction directe des veines jugulaires, a été recueilli sur héparinate de sodium et a été rapidement centrifugé à 1500 g pendant 15 minutes. Le plasma a été immédiatement congelé à -20°C jusqu'au moment de la réalisation des dosages.

II.2. Dosage de la mélatonine

Les concentrations plasmatiques de mélatonine ont été mesurées par radioimmunologie d'après la méthode de Fraser (Fraser et al., 1983), cette technique ne nécessitant pas d'extraction.

La limite de quantification de cette technique est de 5 pg/ml, et le coefficient de variation intra-test est proche de 4%.

II.3. Prélèvements des glandes pinéales

Les glandes pinéales ont été prélevées au cours des 8 heures suivant l'abattage des animaux. La technique de prélèvement a été la suivante : tout d'abord, la partie supérieure du crâne était dépecée et la tête décalottée. Le manipulateur incisait ensuite la dure-mère et prélevait l'encéphale. L'encéphale était disposé sur sa face ventrale, les deux hémisphères cérébraux étaient ensuite séparés et détachés de l'encéphale afin de visualiser la glande pinéale située juste en avant des tubercules quadrijumeaux (cf A.I.1). Une fois la glande pinéale individualisée, le manipulateur coupait le récessus pinéal qui relie la glande au cerveau et la plaçait dans un pot préalablement identifié.

II.4. Détermination du poids de la glande pinéale

Les pesées étaient réalisées au cours des 2 heures suivant le prélèvement des glandes pinéales à l'aide d'une balance Explorer (Ohaus®, précision de 0,1 mg).

III. Analyse statistique et génétique

III.1. Analyse statistique

III.1.1. Analyse statistique des données

Les concentrations plasmatiques individuelles moyennes de mélatonine ont été calculées à l'aide du logiciel EXCEL (Microsoft corporation, Richmond). Elles correspondent à la moyenne des 4 prélèvements nocturnes réalisés. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SAS (SAS Institute, 1990).

L'effet des différents facteurs de variation a été testé par analyse de variance (procédure GLM du logiciel SAS, modèle à effets fixes et covariables).

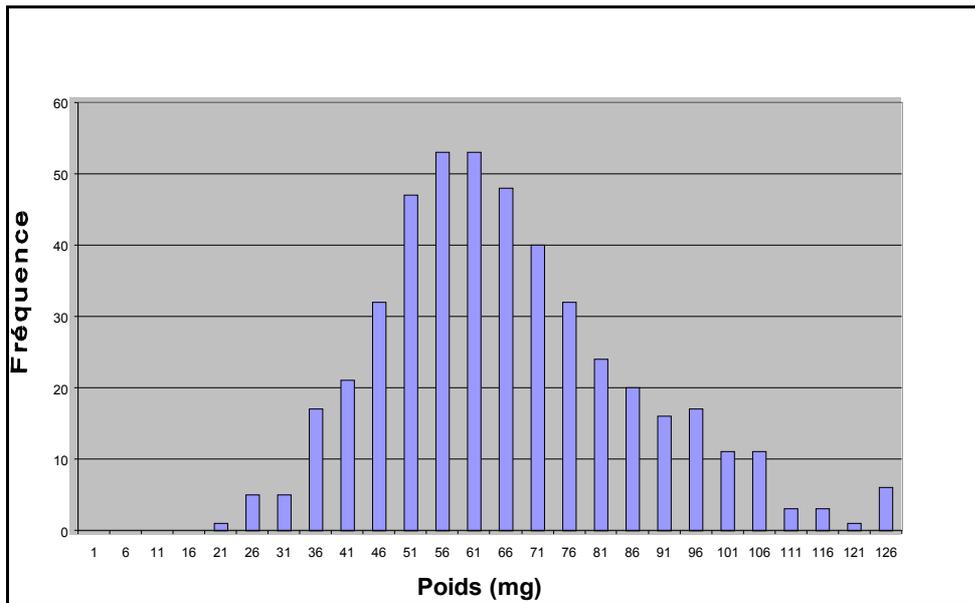


Figure 9 :
Distribution du poids de la glande pinéale.

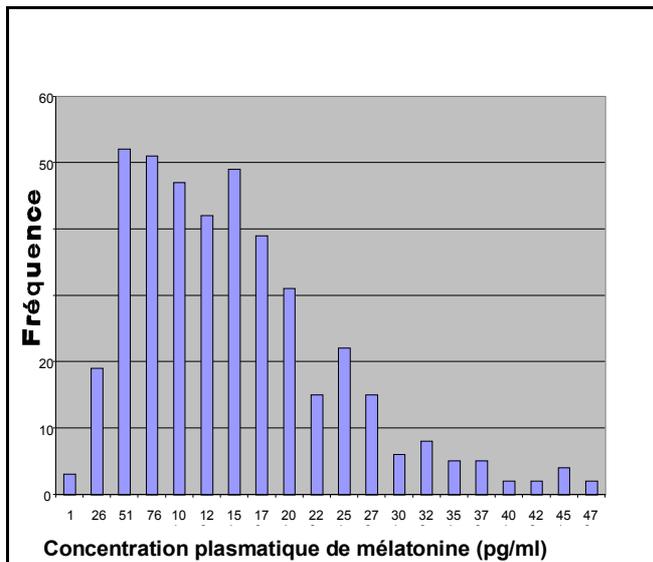


Figure 10 :
Distribution de la concentration plasmatique de mélatonine.

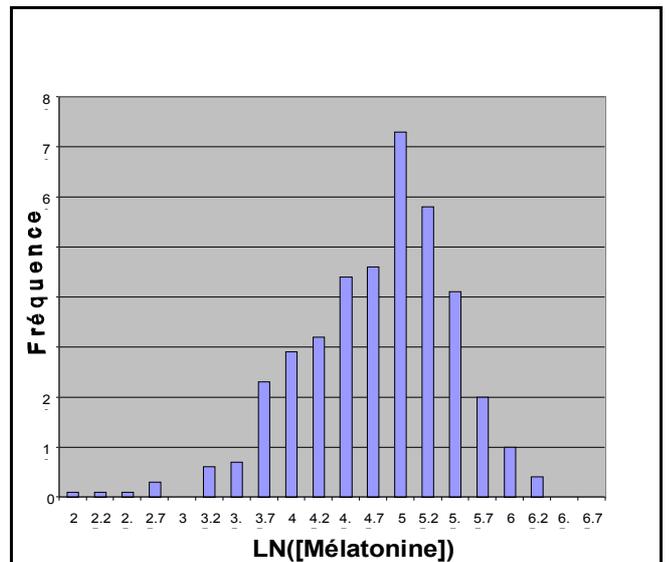


Figure 11 :
Distribution du logarithme népérien de la concentration plasmatique de mélatonine.

III.1.2. Présentation des facteurs de variations étudiés

Les facteurs de variation susceptibles d'avoir un effet sur les caractères poids de la glande pinéale et concentration plasmatique en mélatonine sont les suivants :

- Lot : il correspond à l'année d'abattage des agneaux : lot 1, 2, 3 et 4.
- Père : 3 pères ont été utilisés, ils portent les numéros 950568, 950599 et 950629, on les notera respectivement A, B et C.
- Sexe.
- Type : correspond au type génétique Back-Cross ou F2.
- Typ : correspond aux allèles du gène de la myostatine : Romanov/Romanov, Romanov/Texel, Texel/Texel identifiés par PCR notés respectivement RR, RT et TT.

Les covariables susceptibles d'avoir un effet sur les caractères poids de la glande pinéale et concentration plasmatique en mélatonine sont les suivantes :

- L'âge à l'abattage.
- Le poids de carcasse.
- Les notes de conformation et de gras.
- Le Gain Moyen Quotidien.

III.1.3. Statistiques élémentaires et élimination de certaines données

Dans notre étude, les deux caractères étudiés sont le poids de la glande pinéale (en mg) et la concentration plasmatique de mélatonine (en pg/ml). Les distributions de ces deux paramètres sont représentées dans les figures 9 et 10. La distribution de la concentration en mélatonine est dissymétrique et nous avons utilisé la transformation logarithmique des concentrations dont la distribution est représentée figure 11. La distribution du poids de la glande pinéale montre quelques données extrêmes très largement supérieures à la moyenne (le poids de pinéale le plus important est de 265,2 mg soit 11 écarts types de plus que la moyenne). Nous avons donc fixé un seuil arbitraire à 110 mg et identifié 9 individus au delà de ce seuil. Aucune caractéristique particulière ne distingue ces individus du reste de l'échantillon : ils sont bien répartis parmi les types génétiques, ils ont des notes de carcasses hétérogènes, leurs pères sont différents et ils proviennent de lots différents (il semble qu'aucun des facteurs disponibles ne prédispose à avoir un poids de la glande pinéale si élevé). Ces valeurs extrêmes

peuvent être attribuées à des erreurs de manipulation. Ces individus ont été retirés de l'étude qui rassemble alors 399 agneaux.

Le tableau 4 présente les statistiques descriptives pour les caractères poids de la glande pinéale, concentration plasmatique nocturne de mélatonine et logarithme népérien de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine.

	Poids de pinéale	Mélatonine	Ln(mélatonine)
Effectif	399	399	399
Moyenne	64,17	147,89	4,78
Ecart-type	18,08	92,5	0,69
Minimum	18,5	8	2,07
Maximum	108,2	559	6,32

Tableau 4 : Statistiques descriptives pour les caractères étudiés : poids de la glande pinéale (en mg), concentration plasmatique de mélatonine (en pg/ml) et logarithme népérien de la concentration plasmatique de mélatonine.

III.1.4. Répartition des données selon les différents facteurs de variation

Les agneaux de notre échantillon sont répartis par type génétique (Back cross ou F2), par lot et par père comme l'indiquent les tableaux 1, 2, et 3.

L'échantillon est relativement équilibré par sexe : 187 mâles et 212 femelles, par type génétique 201 F2 et 198 BC, par père : 130 agneaux pour le père A, 128 pour le père B et 141 pour le père C. Par contre, il n'est pas équilibré par lot : 113 individus dans le lot 1, 129 dans le lot 2, 107 dans le lot 3 et seulement 50 individus dans le lot 4. En effet, le lot 4 ne comprend que des F2 et pas de Back cross, et présente de nombreuses données manquantes pour la concentration en mélatonine.

III.2. Analyse génétique

III.2.1. Estimation des paramètres génétiques

III.2.1.1. Rappel : définition des paramètres génétiques étudiés

Les paramètres génétiques sont des variables synthétiques élaborées à partir des composantes de la variance. Leur valeur est spécifique des caractères et de la population étudiée. Il existe deux grandes catégories de paramètres génétiques : l'héritabilité et la corrélation génétique.

σ

L'héritabilité au sens large mesure la part de la variabilité d'origine génétique (σ^2_g) sur la variabilité totale ou variabilité phénotypique (σ^2_p). Cependant, en génétique animale, on ne s'intéresse, en général, qu'à l'héritabilité au sens strict (h^2) définie comme le rapport entre la variance génétique additive (σ^2_a) et la variance phénotypique (σ^2_y) :

$$h^2 = \sigma^2_a / \sigma^2_y$$

L'héritabilité exprime le degré de confiance à accorder au phénotype en tant qu'appréciation de la valeur génétique transmissible d'un individu à ses descendants. Elle détermine donc l'efficacité potentielle de la sélection.

La corrélation génétique (Γ_A) entre deux caractères A_1 et A_2 est le rapport de la covariance génétique sur le produit des écarts types génétiques. De manière générale, on ne s'intéresse qu'à la corrélation entre valeurs génétiques additives, ainsi :

$$\Gamma_A = \frac{\text{cov}(A_1, A_2)}{\sqrt{\sigma^2_{A_1} \sigma^2_{A_2}}}$$

La corrélation génétique permet de juger le degré de ressemblance entre les valeurs génétiques pour deux caractères contrôlés sur les individus d'une population. Elle décrit la co-évolution de la distribution des valeurs génétiques de ces caractères dans la population, et permet de prédire l'évolution d'un caractère sous l'effet de la sélection de l'autre caractère.

III.2.1.2. Méthode d'estimation des paramètres génétiques

Cette seconde partie de l'étude a nécessité l'élaboration d'un fichier contenant la généalogie des agneaux. Nous avons travaillé sur 3 générations.

Les paramètres génétiques, c'est à dire l'héritabilité et les corrélations génétiques ont été estimés par la méthode du maximum de vraisemblance restreinte (REML), à l'aide du logiciel VCE4 (Groeneveld, 1997).

Pour chaque variable, nous avons considéré les effets fixes et les covariables retenus dans la première partie, et un effet aléatoire : la valeur génétique additive de chaque individu (modèle animal).

Dans un premier temps, chaque variable a été considérée indépendamment pour l'estimation de l'héritabilité. Dans un deuxième temps, elles ont été analysées conjointement pour estimer les corrélations génétiques. Dans ce cas, les modèles concernant la concentration plasmatique de mélatonine et son logarithme ne contenaient pas le poids de la glande pinéale comme covariable (problèmes numériques).

III.2.2. Analyse de ségrégation : principe général

Le principe général de cette méthode est de comparer, par des techniques de maximisation de vraisemblance, différents modèles de transmission héréditaire d'un caractère, incluant des facteurs génétiques et environnementaux.

Deux hypothèses sont successivement testées : l'hypothèse polygénique H_0 selon laquelle le caractère est déterminé exclusivement par l'expression de polygènes, et l'hypothèse mixte H_1 selon laquelle le caractère est déterminé par l'expression de polygènes et l'effet d'un gène majeur.

Les maximums de vraisemblances de l'échantillon M_0 et M_1 sont estimés dans l'échantillon respectivement sous les hypothèses H_0 et H_1 .

Puis, le rapport de vraisemblance $L = -2 \log(M_0/M_1)$ est calculé. Ce rapport est distribué asymptotiquement selon un χ^2 à d degré de liberté, d étant la différence entre le nombre de paramètres estimés sous H_1 et H_0 . La probabilité de ce rapport est d'autant plus faible que le rapport est élevé, et au-delà d'un certain seuil, on est amené à rejeter l'hypothèse H_0 avec un risque faible de se tromper.

III.2.3. Analyse QTL

Les QTL (Quantitative Trait Loci), sont des gènes responsables d'une part de la variabilité génétique des caractères quantitatifs. Des marqueurs moléculaires, préalablement identifiés et localisés sur les chromosomes sont utilisés pour détecter d'éventuels QTL. Le principe de détection de QTL à partir de marqueurs moléculaires repose sur l'observation de la coségrégation d'un marqueur et d'un caractère quantitatif (Boichard et al., 1998).

III.2.3.1. Marqueurs moléculaires disponibles pour l'étude

Les marqueurs moléculaires sont des séquences d'ADN polymorphes facilement repérables sur les chromosomes. Pour notre étude, les marqueurs dont nous disposions étaient des microsatellites, c'est à dire des séquences d'ADN constituées de répétition en tandem de di- ou tri-nucléotides de longueur variable.

Les agneaux de notre étude ainsi que leurs ascendants avaient été typés pour 11 marqueurs moléculaires situés sur le chromosome 2 lors de l'étude sur le gène culard. Nous avons utilisé ces typages pour évaluer la présence d'un éventuel QTL au sein du groupe de liaison constitué par ces 11 marqueurs pour les caractères poids de la glande pinéale et concentration plasmatique nocturne de mélatonine. Pour cela nous avons utilisé deux méthodes :

III.2.3.2. Méthodes utilisées pour la détection de QTL

** Approche unimarqueur :*

Nous avons tout d'abord utilisé une approche linéaire unimarqueur basée sur l'analyse de variance, qui permet de rechercher un QTL contrôlant un caractère situé proche d'un marqueur. Nous avons ainsi utilisé le locus "myostatine" comme marqueur d'un éventuel QTL (recherche d'un éventuel effet du génotype au locus myostatine sur les deux variables). Pour cela, nous avons utilisé la procédure GLM du logiciel SAS.

** Approche multimarqueurs :*

Nous avons également utilisé une approche multimarqueur pour rechercher un QTL près d'autres marqueurs. Dans ce but, nous avons utilisé le logiciel QTLMAP qui permet de tester l'existence d'un QTL en toute position entre marqueurs disposés sur le chromosome, à l'aide d'un test de maximum de vraisemblance. Le principe de ce test est le suivant : la vraisemblance L_0 des données est calculée sous l'hypothèse d'absence de QTL : H_0 , puis l'hypothèse H_1 de présence de QTL est testée en chaque position x du chromosome par le test

de vraisemblance LRT (Likelihood Ratio Test), défini tel que $LRT=2\ln(L1/L0)$. Le profil de la statistique peut être tracé en tout point x du chromosome. L'hypothèse $H1$ de présence de QTL à la position x est acceptée si le LRT est maximum en x et dépasse une valeur seuil définie pour un chromosome et un caractère donnés.

Nous avons travaillé sur 11 marqueurs situés entre les positions 0 et 1,99 Morgan (M) du chromosome 2. Pour des questions de mémoire de l'outil de calcul, nous avons estimé les vraisemblances des marqueurs 6 par 6 et cherché tous les 2 cM la probabilité d'existence d'un QTL pour les variables poids de pinéale et logarithme de la concentration plasmatique nocturne en mélatonine. La méthode d'estimation du seuil d'acceptation de l'existence d'un QTL est décrite dans le chapitre suivant (III.2.2.3).

A la suite de ces analyses, nous avons pu constituer la courbe représentant pour chacune des variables le rapport de vraisemblance en fonction de la position d'un éventuel QTL sur le chromosome. Puis, nous avons comparé cette courbe avec la carte des marqueurs (figure 18) afin de situer un éventuel QTL par rapport aux marqueurs identifiés.

III.2.3.3. Méthode d'estimation du seuil de signification du rapport de vraisemblance

Afin de déterminer la présence ou l'absence d'un QTL en tout point du génome, nous avons cherché à définir un seuil de signification pour le rapport de vraisemblance. Pour estimer ce seuil, nous avons utilisé les hypothèses suivantes :

- H_0 : transmission polygénique sans QTL.
- H_1 : transmission polygénique avec présence d'un QTL.

Nous avons cherché à estimer le seuil de sorte que si le rapport de vraisemblance est supérieur au seuil, alors l'hypothèse H_0 d'absence de QTL est rejetée avec un risque de 1%.

Le seuil de signification peut être déduit de la distribution d'échantillonnage de la statistique de test LRT sous H_0 . Nous avons obtenu cette distribution par simulation. L'hypothèse H_0 a été simulée en permutant aléatoirement les performances au sein d'une famille, les données de typage restant inchangées, de façon à supprimer une éventuelle association entre marqueurs et phénotypes. Puis, à partir des données permutées, la statistique de test LRT a été calculée en toute position x du chromosome. La valeur maximum observée sur l'ensemble du chromosome a été retenue. Cette opération a été répétée 1000 fois afin d'obtenir la distribution de la statistique de test LRT sous H_0 . La valeur du seuil de signification a été déduite du quantile correspondant au risque $p=0,01$, de cette distribution. Cette simulation a été réalisée à l'aide du logiciel QTLMAP.

C. Résultats

I. Données de croissance et de carcasse des animaux

Le gain moyen quotidien entre la naissance et le sevrage a été de 232,1 g/jour.

Le poids moyen à l'abattage a été de 32,8 kg pour les femelles, et de 39,2 kg pour les mâles.

L'âge moyen des agneaux à l'abattage a été de 138,3 jours. Le poids carcasse moyen a été de 18,2 kg, les notes de conformation et de gras moyennes ont été respectivement de 4,9 et 5,8.

Ces données sont reportées dans le tableau suivant.

Variable	Poids vif à l'abattage (kg)	Age à l'abattage (jours)	Note de conformation	Note de Gras	Poids de carcasse (kg)	GMQ (g/j)
Moyenne	35,8	138,3	4,9	5,8	18,2	232,1
SD	3,4	19,2	1,4	0,8	1,7	65,0

Tableau 5 : Moyennes et écart-types des variables poids à l'abattage, âge à l'abattage, note de conformation, note de gras, poids de carcasse et GMQ.

II. Relation entre la concentration plasmatique moyenne et le poids de la glande pinéale

La concentration plasmatique nocturne moyenne de mélatonine et le poids de la glande pinéale sont très variables entre individus. La concentration plasmatique nocturne moyenne de mélatonine a été de 148,8 pg/ml avec un écart type de 92,5 pg/ml, les valeurs extrêmes ont variées de 8 pg/ml à 559 pg/ml. Le poids de glande pinéale moyen a été de 64,1 mg, son écart type a été de 18 mg, les valeurs extrêmes de l'échantillon considéré ont été 18,5 mg et 108,2 mg (9 valeurs de poids de pinéale supérieures à 110 mg avaient déjà été retirées de l'étude car elles avaient été attribuées à des erreurs de manipulations).

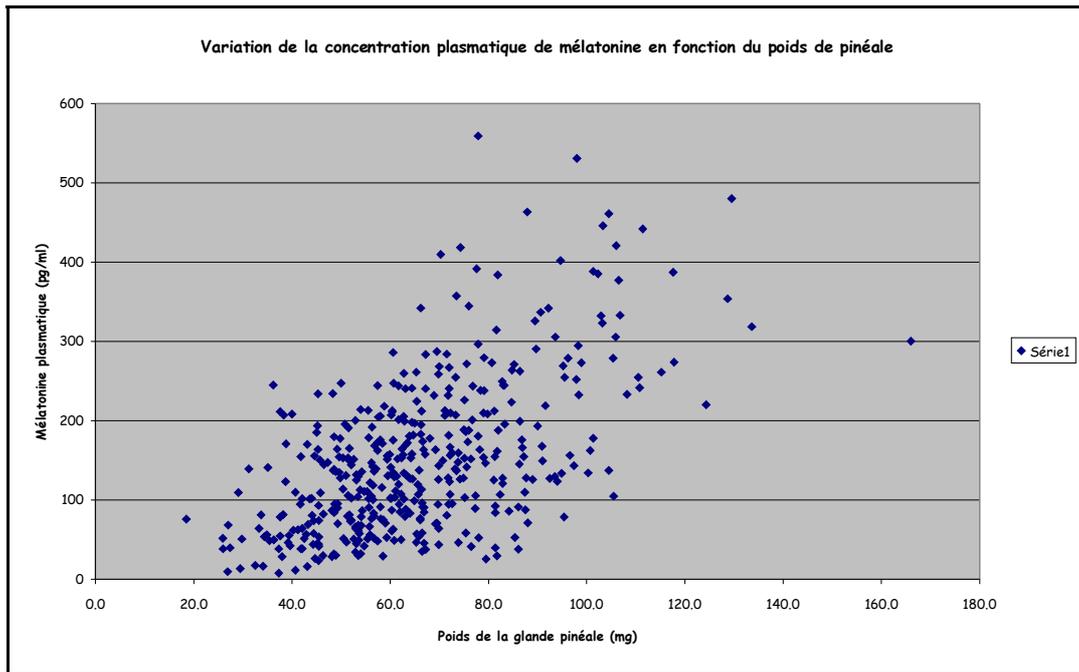


Figure 12 :
Relation entre le poids de la glande pinéale et la concentration plasmatique de mélatonine.

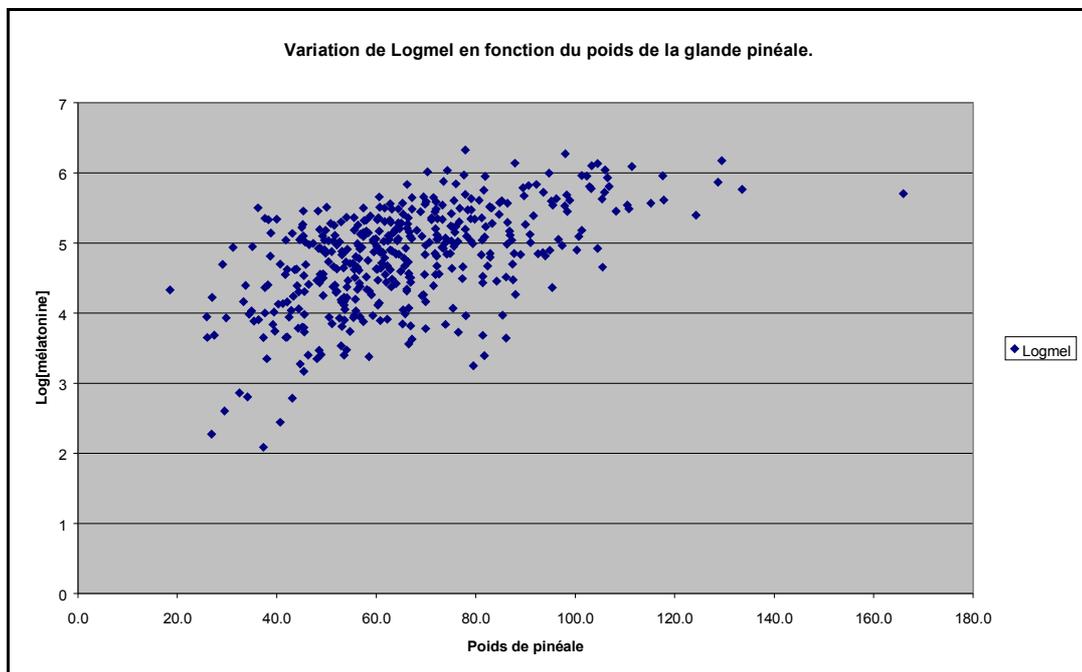


Figure 13 :
Relation entre le poids de la glande pinéale et le logarithme népérien de la concentration plasmatique de mélatonine.

Figure 13 :
Relation entre le poids de la glande pinéale et le logarithme de la concentration plasmatique de mélatonine.

La figure 12 illustre les concentrations plasmatiques nocturnes individuelles de mélatonine en fonction du poids de la glande pinéale. Le nuage de points montre une relation positive entre ces deux variables. Lorsque le poids de la glande pinéale augmente, la variabilité de la concentration plasmatique nocturne en mélatonine augmente. Le coefficient de corrélation entre la concentration plasmatique de mélatonine et le poids de la glande pinéale est de 0,53. La droite de régression linéaire de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine en fonction du poids de la glande pinéale est $y = -26,14 + 2,71x$ ($R^2=0,28$).

La figure 13 illustre l'évolution du logarithme népérien de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine en fonction du poids de la glande pinéale. Le nuage de points montre également une relation positive entre ces deux variables, mais, contrairement à la figure 12, lorsque le poids de la glande pinéale augmente, les valeurs du logarithme de la concentration plasmatique en mélatonine sont moins dispersées que celles de la concentration plasmatique en mélatonine.

Le coefficient de corrélation entre le poids de la glande pinéale et le logarithme de la concentration plasmatique de mélatonine a été de 0,51. La droite de régression linéaire du logarithme de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine en fonction du poids de la glande pinéale est $y = 3,51 + 0,02x$ ($R^2=0,26$).

Nous avons choisi de travailler avec le logarithme népérien de la concentration plasmatique de mélatonine car sa distribution se rapproche d'une loi normale. Cependant, afin de comparer nos résultats avec ceux d'autres études, nous avons également continué à travailler avec la concentration plasmatique de mélatonine. Nous avons réalisé l'analyse de ségrégation sur la concentration plasmatique de mélatonine en normalisant sa distribution à l'aide d'une transformation Box Cox.

Effets Paramètres	Lot	Sexe	Père	Type	R ²
Pinéale	0,0096	0,4541	0,0001	0,0554	0,12
Ln(mel)	0,0001	0,0909	0,0001	0,2396	0,25
Conformation	0,0001	0,0001	0,0107	0,0001	0,47
Note de gras	0,1638	0,0001	0,1491	0,0015	0,24
Poids carcasse	0,0001	0,0001	0,1207	0,0001	0,75
GMQ	0,0001	0,0001	0,1683	0,0052	0,55

Tableau 6 : Effets des facteurs de variation lot, sexe, père, et type génétique sur les variables poids de la glande pinéale, logarithme de la concentration plasmatique de mélatonine, note de conformation, note de gras, poids de carcasse et GMQ dans l'échantillon (Pr>F).

R² correspond au coefficient de corrélation multiple du modèle. L'écriture en caractère gras signifie que le facteur de variation a un effet significatif (au seuil $\alpha=5\%$).

Poids de la glande pinéale		Modèle de base			R ²
		Lot	Père	Type génétique	
		0,0089	0,0001	0,0513	0,12
Facteurs/Covariables ajoutés					
Nom	Pr>F				
Typ	0,1104	0,0034	0,0001	0,2176	0,15
Poids abattage	0,4715	0,0115	0,0001	0,0657	0,12
Age abattage	0,7549	0,0102	0,0001	0,0529	0,12
Poids carcasse	0,5251	0,0134	0,0001	0,0661	0,11
Note de gras	0,0650	0,0164	0,0001	0,1524	0,12
Note conformation	0,6268	0,0106	0,0001	0,2458	0,12
GMQ	0,0929	0,0282	0,0001	0,1183	0,12
Ln(mel)	0,0001	0,0001	0,0001	0,0018	0,38

Tableau 7 : Effets d'un facteur de variation (typ) et de covariables (poids à l'abattage, âge à l'abattage, poids de carcasse, note de gras, note de conformation, GMQ et logarithme de la concentration plasmatique en mélatonine) ajoutés successivement au modèle de base du poids de pinéale.

L'écriture en caractère gras signifie que le facteur ou la covariable a un effet significatif (au seuil $\alpha=5\%$) sur le poids de la glande pinéale.

II. Influence de différents facteurs sur le poids de la glande pinéale et le logarithme de la concentration plasmatique moyenne en mélatonine

II.1. Poids de la glande pinéale

Le tableau 6 montre que les facteurs lot, père et type ont un effet significatif sur le poids de la glande pinéale. Par contre, le sexe n'a pas d'effet significatif. Ainsi un modèle de base comprenant comme effets fixes le lot, le père et le type génétique a été établi. Le R^2 correspondant à ce modèle est de 0,12.

D'autres facteurs ou covariables ont été ajoutés à ce modèle de base afin de tester leurs effets (tableau 7). Il s'avère que le "typ" c'est à dire les allèles situés au locus de la myostatine n'a pas d'effet significatif ($P=0,1104$). De même, parmi les covariables testées, l'âge à l'abattage, le poids à l'abattage, les notes de gras et de conformation et le GMQ n'ont pas d'effet significatif et n'améliorent pas le R^2 . Si l'on souhaitait prédire simplement le poids de la glande pinéale, la connaissance de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine serait intéressante. En effet, la covariable logarithme de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine a un effet très significatif sur le poids de pinéale ($P= 0,0001$) et améliore la prédiction du poids de la glande pinéale ($R^2 =0,38$).

Cependant, du point de vue biologique, **le meilleur modèle expliquant les variations du poids de la glande pinéale comprend trois facteurs de variations : le lot, le père et le type génétique**. Le R^2 correspondant à ce modèle est de 0,12. On peut exprimer ce modèle avec l'équation suivante.

$$\text{Pinéale}_{ijkl} = \mu + \text{Type génétique}_i + \text{Lot}_j + \text{Père}_k + \epsilon_{ijkl}.$$

μ est la moyenne.

Pinéale_{ijkl} est le poids de la glande pinéale de l'individu l, issu du père k, appartenant au lot j et de type génétique i.

Type génétique $_i$: individus de type génétique i, i varie de 1 à 2 (Back-Cross ou F2).

Lot $_j$: individus appartenant au lot j, j varie de 1 à 4.

Père $_k$: individus issus du père k, k varie de 1 à 3.

ϵ_{ijkl} est le terme d'erreur.

Pinéale Lot	Moyenne des moindres carrés			Différence entre lots (Pr>F).			
	Effectif	Moyenne	Ecart-type	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4
1	113	62,72	1,70	###	0,5472	0,8905	0,0020
2	129	64,2	1,64	0,5472	###	0,4618	0,0074
3	107	62,38	1,74	0,8905	0,4618	###	0,0015
4	50	72,47	2,58	0,0020	0,0074	0,0015	###

Tableau 8 : Variable poids de pinéale : moyennes et écarts-types estimés par lot, différences entre lots.

L'écriture en caractère gras signifie qu'il existe une différence significative entre lots (au seuil $\alpha=5\%$).

Pinéale Père	Moyenne des moindres carrés			Différences entre pères (Pr>F).		
	Effectif	Moyenne	Ecart-type	Père A	Père B	Père C
A	130	60,94	1,60	###	0,0001	0,7155
B	158	73,6	1,62	0,0001	###	0,0001
C	141	61,79	1,62	0,7155	0,0001	###

Tableau 9: Variable poids de pinéale : moyennes et écarts-types estimés par père, différences entre pères.

L'écriture en caractère signifie qu'il existe une différence significative entre pères (au seuil $\alpha=5\%$).

Pinéale Type génétique	Moyenne des moindres carrés			Différences entre types génétiques (Pr>F) :	
	Effectif	Moyenne	Ecart-type	BC	F2
BC	198	67,25	1,39	###	0,0513
F2	201	63,64	1,20	0,0513	###

Tableau 10: Variable poids de pinéale : moyennes et écarts-types estimés par type génétique, différences entre Back-Cross et F2.

L'écriture en caractère signifie qu'il existe une différence significative entre types génétiques (au seuil $\alpha=5\%$).

Les moyennes et écart types du poids de la glande pinéale estimés par le modèle pour les différents lots d'agneaux, les différents pères et les différents types génétiques sont présentés respectivement dans les tableaux 8, 9, et 10.

Le tableau 8 illustre les différences entre lots. Il montre que les individus du lot 4 présentent des poids de glande pinéale significativement supérieurs à ceux des individus des autres lots. Nous n'avons pas observé de différences significatives pour le poids de la glande pinéale entre les individus issus des lots 1, 2 et 3.

Le tableau 9 illustre les différences entre les agneaux issus de pères différents. Il montre que les descendants du père B ont en moyenne des poids de glande pinéale estimés (moyenne=73,6 mg) significativement supérieurs à ceux des descendants de A (moyenne=60,9 mg) et de C (moyenne=61,7 mg). Par contre, nous n'avons pas observé de différence significative des poids de glande pinéale entre les agneaux issus des pères A et C.

Le tableau 10 illustre les différences entre les agneaux de type génétique différent. Il montre, que les individus BC (moyenne=67,2 mg) ont des poids de pinéale supérieurs mais à la limite de la signification ($P=0,0513$), aux individus F2 (moyenne=63,6 mg).

Enfin, sous l'hypothèse de transmission monogénique du caractère et de pères de génotypes différents pour ce caractère, les descendances des pères pourraient présenter des différences phénotypiques en fonction de leur type génétique (BC ou F2). Ainsi, nous avons testé l'effet du type génétique intra-père qui exprime les différences entre BC et F2 pour chaque père. Le modèle est alors le suivant :

$$\text{Pinéale}_{ijkl} = \mu + \text{Lot}_i + \text{Père}_j + \text{Type(père)}_{kj} + \epsilon_{ijkl}.$$

μ est la moyenne.

Pinéale_{ijkl} est le poids de la glande pinéale

Lot_i : individus appartenant au lot i , i varie de 1 à 4.

Père_j : individus issus du père j , j varie de 1 à 3.

Type(Père)_{kj} : individus issus du père j , de type génétique k , k varie de 1 à 2.

ϵ_{ijkl} est le terme d'erreur.

L'analyse de variance de ce modèle montre que le facteur type intra-père n'a pas d'effet significatif sur le poids de la glande pinéale ($P=0,39$) et n'améliore pas le modèle ($R^2=0,24$). De même, le tableau 11 montre qu'il n'y a pas de différences significatives entre les individus BC et F2 issus de chaque père. Par ailleurs, ce tableau montre la différence du père B sur les deux autres pères que ce soit pour les BC ou pour les F2.

		Pères					
		A		B		C	
Père	Type	BC	F2	BC	F2	BC	F2
A	BC	#####	<u>0,7450</u>	0,0001	0,0029	0,3805	0,3772
	F2	0,7450	###	0,0001	0,0042	0,2719	0,6304
B	BC	0,0001	0,0001	###	<u>0,2127</u>	0,0003	0,0001
	F2	0,0029	0,0042	0,2127	###	0,0411	0,0005
C	BC	0,3805	0,2719	0,0003	0,0411	###	<u>0,0844</u>
	F2	0,3772	0,6304	0,0001	0,0005	0,0844	###

Tableau 11: Variable poids de pinéale : comparaison des descendants de type génétique différents pour chaque père.

En souligné : les valeurs correspondant aux individus BC et F2 issus du même père. L'écriture en caractère gras signifie qu'il existe une différence significative entre types génétiques pour un même père (au seuil $\alpha=5\%$).

Logarithme de la concentration plasmatique de mélatonine		Modèle de base		R ²
		Lot	Père	
		0,0001	0,0001	0,24
Facteurs/Covariables ajoutés				
Nom	Pr>F			
Typ	0,8149	0,0001	0,0001	0,27
Poids abattage	0,0549	0,0001	0,0001	0,24
Age abattage	0,3490	0,0001	0,0001	0,24
Poids carcasse	0,0177	0,0001	0,0001	0,25
Note de gras	0,1397	0,0001	0,0001	0,24
Note conformation	0,8475	0,0001	0,0001	0,24
GMQ	0,6202	0,0001	0,0001	0,24
Pinéale	0,0001	0,0001	0,0001	0,46

Tableau 12 : Effets d'un facteur de variation (typ) et de covariables (poids à l'abattage, âge à l'abattage, poids de carcasse, note de gras, note de conformation, GMQ et poids de la glande pinéale) ajoutés successivement au modèle de base du logarithme de la concentration plasmatique en mélatonine.

L'écriture en caractère gras signifie que le facteur ou la covariable a un effet significatif (au seuil $\alpha=5\%$) sur le logarithme de la concentration plasmatique en mélatonine.

II.2. Logarithme de la concentration plasmatique en mélatonine

Le tableau 6 montre que le lot et le père ont un effet significatif sur le logarithme de la concentration de mélatonine. Par contre, le sexe ($P=0,09$) et le type génétique ($P=0,24$) n'ont pas d'effets significatifs sur cette variable. Ainsi, un modèle de base comprenant comme facteurs de variations du logarithme de la concentration en mélatonine le lot et le père a été établi. Le R^2 correspondant à ce modèle est de 0,24.

D'autres facteurs ou covariables ont été ajoutés à ce modèle afin de tester d'autres effets (tableau 12). Il s'avère que le "typ" c'est à dire les allèles situés au locus de la myostatine n'a pas d'effet sur le logarithme de la concentration en mélatonine ($P=0,81$) et qu'il n'améliore pas le modèle ($R^2=0,27$). De même, parmi les covariables testées, l'âge à l'abattage, les notes de gras et de conformation et le GMQ n'ont pas d'effet significatif et n'améliorent pas le R^2 . Par contre le poids à l'abattage ($P=0,0549$), le poids de carcasse ($P=0,0177$) et le poids de la glande pinéale ($P=0,0001$) ont des effets significatifs. De plus, la prise en compte de la covariable poids de pinéale améliore considérablement le R^2 ($=0,46$).

Le poids de carcasse et le poids à l'abattage étant très liés, la prise en compte conjointe de ces deux covariables n'améliore pas le modèle ($R^2 =0,25$). Le poids de carcasse ($R^2 =0,25$) améliorant le modèle plus que le poids à l'abattage ($R^2 =0,24$), nous avons choisi de ne considérer que le poids de carcasse pour le modèle.

Ainsi, le meilleur modèle retenu pour expliquer les variations du logarithme de la concentration plasmatique en mélatonine, comprend deux effets fixes : le lot et le père et deux covariables : le poids de carcasse et le poids de la glande pinéale. Le R^2 correspondant à ce modèle est de 0,47. On peut exprimer ce modèle avec l'équation suivante :

$$\text{Lnmélatonine}_{ijk} = \mu + \text{Lot}_i + \text{Père}_j + \text{Pcarcasse} + \text{Pinéale} + \epsilon_{ijk} .$$

μ : moyenne.

$\text{Lnmélatonine}_{ijk}$: logarithme népérien de la concentration plasmatique de mélatonine de l'individu k, issu du père j et appartenant au lot i.

Lot_i : individus appartenant au lot i, i varie de 1 à 4.

Père_j : individus issus du père j, j varie de 1 à 3.

Pcarcasse : poids de la carcasse.

Pinéale : poids de la glande pinéale.

ϵ_{ijk} : résiduelle du modèle.

Résultats

Ln[mel]	Moyenne des moindres carrés			Différences entre lots Pr>F			
	Lot	Effectif	Moyenne	Ecart-type	Lot 1	Lot 2	Lot 3
1	113	4,53	0,06	###	0,0001	0,5489	0,0002
2	129	5,10	0,05	0,0001	###	0,0001	0,1803
3	107	4,58	0,06	0,5489	0,0001	###	0,0009
4	50	4,96	0,09	0,0002	0,1803	0,0009	###

Tableau 13 : Moyenne et écart-type par lot, différences entre lots pour la variable logarithme de la concentration plasmatique de mélatonine.

L'écriture en caractère gras signifie qu'il existe une différence significative (au seuil $\alpha=5\%$).

Ln[mel]	Estimés			Différences entre pères (Pr>F).		
	Père	Effectif	Moyenne	Ecart-type	Père A	Père B
A	130	4,53	0,05	###	0,0001	0,002
B	158	5,00	0,05	0,0001	###	0,0695
C	141	4,89	0,05	0,0002	0,0695	###

Tableau 14 : Moyenne et écart-type par père, différences entre pères pour la variable logarithme de la concentration plasmatique de mélatonine.

L'écriture en caractère gras signifie qu'il existe une différence significative entre pères (au seuil $\alpha=5\%$).

Le tableau 13 montre qu'il existe des différences significatives en ce qui concerne les concentrations plasmatiques en mélatonine entre le lot 1 et les lots 2 et 4, ainsi qu'entre le lot 3 et les lots 2 et 4.

Le tableau 14 montre que les agneaux issus du père A (moyenne=4,5) ont des logarithmes de concentrations plasmatiques nocturnes en mélatonine significativement inférieurs à ceux issus des pères B (moyenne=5,0) et C (moyenne=4,9). Il n'y a pas de différences significatives de concentration de mélatonine pour les descendants de B et de C.

Les classements des performances des pères pour le poids de la glande pinéale et le logarithme de la concentration plasmatique de mélatonine sont identiques : le père B présente les performances les plus élevées, le père C des performances intermédiaires et le père A les performances les plus faibles. Cependant, le poids de la glande pinéale du père C est significativement différent de celui de B, et équivalent à celui A, alors que le logarithme de la concentration plasmatique de mélatonine de C est significativement différent de celui de A et équivalent à celui de B.

III. Estimation des paramètres génétiques

III.1. Héritabilité

Les résultats sont obtenus à partir d'un fichier généalogique comprenant les 390 agneaux de notre échantillon, ainsi que leur ancêtres sur 3 générations, soit au total 752 individus.

Nous avons tout d'abord estimé les héritabilités à l'aide de modèles unicaractères (tableau 15).

Modèles	Pinéale	Ln[mélatonine]	[mélatonine]
Lot+père+type génétique	0,426 (+/- 0,13)		
Lot+père+poids carcasse		0,508 (+/-0,147)	0,357 (+/-0,141)
Lot+père+poids carcasse+pinéale		0,477 (+/-0,138)	0,426 (+/- 0,130)

Tableau 15 : Héritabilités +/- erreurs standards (SE) estimées du poids de la glande pinéale, de la concentration plasmatique de mélatonine et de son logarithme à partir de différents modèles unicaractères.

Afin d'estimer les corrélations génétiques, nous avons utilisé deux modèles multicaractères (tableaux 16 et 17), l'un prenant en compte le poids de la glande pinéale et le logarithme de la concentration plasmatique nocturne en mélatonine, l'autre prenant en compte le poids de la glande pinéale et la concentration plasmatique nocturne en mélatonine.

A partir du premier modèle multicaractères (tableau 16), nous avons trouvé une héritabilité de 0,488 pour le poids de la glande pinéale, et de 0,508 pour le logarithme de la concentration plasmatique en mélatonine.

A partir du second modèle multicaractère (tableau 17), nous avons trouvé une héritabilité de 0,469 pour le poids de la glande pinéale et une héritabilité de 0,353 pour la concentration plasmatique nocturne en mélatonine.

Finalement, pour les trois variables : poids de la glande pinéale, concentration plasmatique de mélatonine et son logarithme, les différences d'héritabilités estimées entre modèles sont relativement faibles. Nous retiendrons comme estimations de l'héritabilité de ces variables celles obtenues à partir des modèles unicaractères, soit, respectivement : 0,43, 0,43 et 0,48.

III.2. Corrélations génétiques

	Pinéale	Ln(mel)
Pinéale	0,488 (+/- 0,114)	0,660 (+/- 0,141)
Ln(mel)		0,508 (+/- 0,138)

Tableau 16 : Paramètres génétiques du poids de la glande pinéale et du logarithme de la concentration plasmatique de mélatonine estimés par un modèle multicaractères.

Les héritabilités se lisent sur la diagonale, la corrélation génétique se lit en caractères gras, au dessus de la diagonale.

La corrélation génétique estimée entre le poids de la glande pinéale et la concentration plasmatique nocturne de mélatonine a été estimée à 0,571 (tableau 17). Ainsi, la sélection de l'une de ces deux variables permettrait d'augmenter les performances pour l'autre variable.

	Pinéale	Mélatonine
Pinéale	0,469 (+/- 0,112)	0,571 (+/-0,159)
Mélatonine		0,353 (+/- 0,133)

Tableau 17 : Paramètres génétiques du poids de la glande pinéale et de la concentration plasmatique de mélatonine estimés par un modèle multicaractères.

Les héritabilités se lisent sur la diagonale, la corrélation génétique se lit en gras, au dessus de la diagonale.

IV. Analyse de ségrégation

Dans l’hypothèse d’un gène majeur en ségrégation dans la population Texel, Romanov, ou les deux, les fréquences des génotypes pourraient être différentes dans les populations Back-cross et F2, c’est pourquoi, nous avons successivement analysé la population Back-cross, la population F2 et l’ensemble des deux (totale) après correction pour le type génétique qui est apparu être significatif dans le cas de la glande pinéale.

IV.1. Pour le poids de la glande pinéale

Le tableau 18 montre que dans les populations totale et BC, les rapports de vraisemblance sont relativement élevés : respectivement 13,47 et 10,50, et les probabilités associées à ces rapports sous Ho sont faibles (respectivement 0,009 et 0,035) ce qui conduit à rejeter l’hypothèse Ho. Dans la population F2, le rapport de vraisemblance est plus faible (6,5) et sa probabilité associée sous Ho plus élevée (0,61) et l’on ne peut pas rejeter l’hypothèse Ho d’une transmission strictement polygénique dans cette population. Notons toutefois que les résultats (fréquence et effets des gènes) s’accordent bien à ce qui a été trouvé dans les populations totale et back-cross.

	AA		AB		BB		Rapport	Prob.
	Freq (%)	Perf (mg)	Freq (%)	Perf (mg)	Freq (%)	Perf (mg)		
Totale (%)	17	-13,53	74	-5,84	9	19,46	13,47	0,009
BC (%)	2	-15,38	88	-4,05	10	20,37	10,31	0,035

Résultats

F2 (%)	13	-13,68	75	-6,65	12	19,63	6,50	0,164
--------	----	--------	----	-------	----	-------	------	-------

Tableau 18 : Fréquences et performances estimées des parents de génotype AA, AB et BB, rapport de vraisemblance et probabilité de ce rapport pour le poids de la glande pinéale dans les populations totale, Back-Cross et F2.

Freq correspond à la fréquence du génotype dans la population (en %), perf correspond à la performance corrigée estimée, prob est la probabilité du rapport sous Ho.

	AA		AB		BB		Rapport	Probabilité
	Freq %	Perf pg/ml	Freq %	Perf pg/ml	Freq %	Perf pg/ml		
Totale (%)	88	-27,14	11	-17,92	1	260,89	35,19	0,00000042
BC (%)	76	-4,21	23	13,66	1	284,17	38,54	0,00000008
F2 (%)	88	-9,80	0,5	88,46	11,5	128,87	5,94	0,203

Tableau 19 : Fréquences et performances estimées des parents de génotype AA, AB et BB, rapport de vraisemblance et probabilité de ce rapport pour la concentration plasmatique de mélatonine dans les populations totale, Back-Cross et F2.

Freq correspond à la fréquence du génotype dans la population (en %), perf correspond à la performance corrigée estimée, prob est la probabilité du rapport de vraisemblance sous Ho.

Le tableau 18 illustre les performances et les génotypes estimés des parents et en particulier des mères car nous ne disposons que de trois pères. Or les mères à l'origine de la population Back-cross sont des Romanov, les mères des F2 sont des F1 et les mères de la population totale sont un mélange de Romanov et de F1. Ce tableau montre que pour le poids de la glande pinéale, les mères hétérozygotes sont largement majoritaires dans chacune des

Figure 15 :
Moyenne des performances des génotypes AA, AB et BB pour la concentration plasmatique de mélatonine.

populations étudiées : population totale, back-cross et F2 (soit respectivement 74 %, 88 % et 75 %). Dans les populations totale et F2, les mères de génotype AA sont plus nombreuses (respectivement 17 % et 13 %) que les mères BB (respectivement 9 et 12 %). La population back-cross présente 10 % de mères (Romanov) BB et seulement 2 % de AA.

Le tableau 18 montre également que pour un même génotype, il n'y a que très peu de différences entre les populations Back-Cross, F2 et totale.

IV.2. Pour la concentration plasmatique de mélatonine

Le tableau 19 montre que les rapports de vraisemblance et leurs probabilités associées sous H_0 dans les populations totale, back-cross et F2 sont respectivement 35,19 ($p=0,00000042$), 38,54 ($p=0,00000008$) et 5,94 ($p=0,203$). L'hypothèse H_0 d'une hérédité strictement polygénique pour la concentration plasmatique de mélatonine est donc rejetée pour les populations totale et BC, ce qui n'est pas le cas pour la population F2.

Le tableau 19 montre que dans les trois populations étudiées pour les mères, le génotype AA est majoritaire par rapport aux autres génotypes. Dans les populations totale et back-cross, les mères hétérozygotes sont plus nombreuses (respectivement 11 et 23 %) que les mères BB (1% dans les deux populations). Dans la population F2, les mères de génotypes BB (11,5 %) sont plus nombreuses que les AB (0,5%).

Le tableau 19 montre que les performances des parents homozygotes AA et BB sont équivalentes dans les trois populations, par contre, les performances des hétérozygotes de la population F2 sont supérieures à celles des hétérozygotes des deux autres populations.

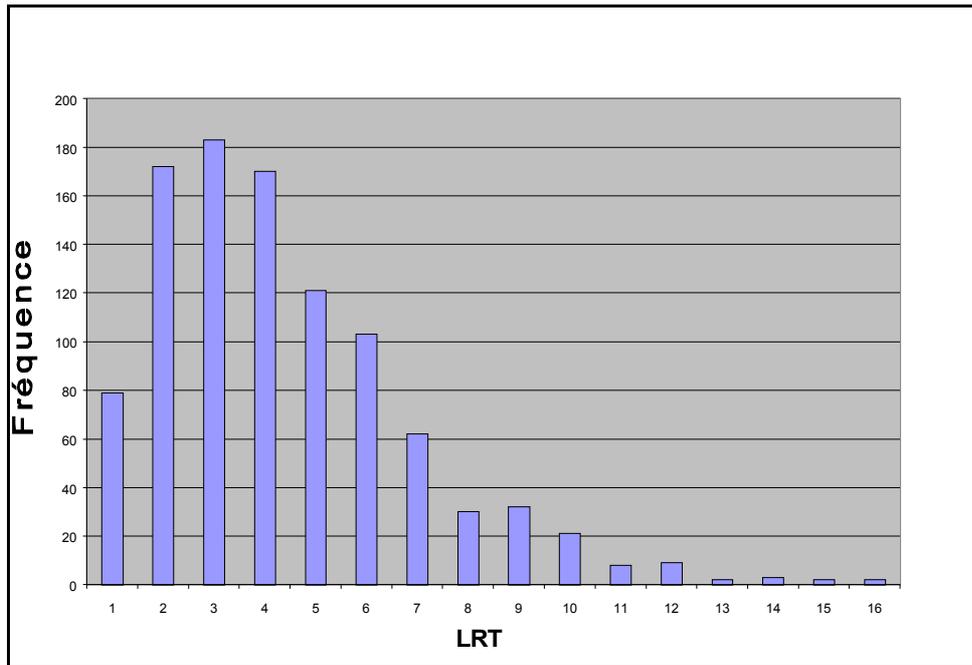


Figure 14 :
Distribution de LRT.

Cette distribution se rapproche de celle d'un χ^2 , elle permet de définir les seuils tels que 95 % ou 99 % des valeurs de LRT soient inférieures à ces seuils et permet de connaître les probabilités avec lesquelles sont détectées les valeurs de LRT pour les différentes variables.

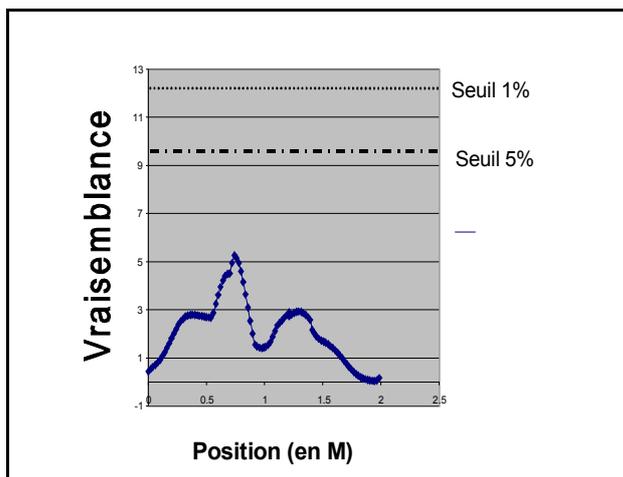


Figure 15 :
Evolution du rapport de vraisemblance pour le poids de la glande pinéale entre les positions 0 et 2 M du chromosome 2.

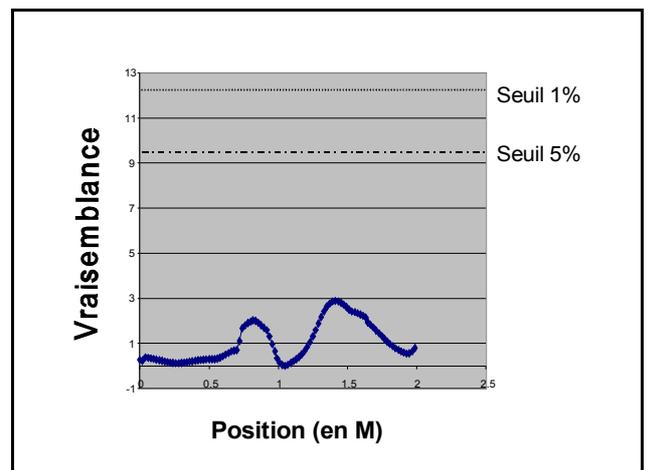


Figure 16 :
Evolution du rapport de vraisemblance pour le logarithme de la concentration plasmatique de mélatonine entre les positions 0 et 2 M du chromosome 2.

V. Recherche de QTL

V.1. Estimation des seuils

La distribution d'échantillonnage de la statistique du test LRT sous l'hypothèse H_0 pour le poids de la glande pinéale, le logarithme de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine et pour la concentration plasmatique nocturne de mélatonine est représentée figure 14. Les seuils de signification sont 12,42 ($p=0,01$) et 9,38 ($p=0,05$).

V.2. Analyse QTL

La figure 15 illustre l'évolution du rapport de vraisemblance en fonction de la position d'un éventuel QTL pour le poids de la glande pinéale. Elle montre que le pic du rapport de vraisemblance se situe à la position 0,74 M entre les marqueurs BULGE20 (position 0,727 M) et OARCP79 (position 0,917 M). Cependant, le rapport de vraisemblance à cette position est de 5,25, il est donc inférieur au seuil estimé (=12,42 avec un risque de 1%). On peut donc exclure la présence d'un QTL pour le paramètre poids de pinéale entre les marqueurs MCM64 et BMS356 du chromosome 2 chez la brebis.

La figure 16 illustre l'évolution du rapport de vraisemblance en fonction de la position d'un éventuel QTL pour le logarithme de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine. Elle montre que le pic du rapport de vraisemblance se situe à la position 1,409 M entre les marqueurs ILSTS030 (position 1,104) et LSCV22 (position 1,523). Cependant, le rapport de vraisemblance à cette position est de 2,954 (avec une probabilité de 0,63), donc inférieur au seuil estimé (12,42 avec un risque de 1%). L'existence d'un QTL pour le logarithme de la concentration plasmatique en mélatonine entre les marqueurs MCM64 et BMS356 du chromosome 2 chez la brebis est donc également exclue.

Enfin, l'évolution du rapport de vraisemblance en fonction de la position d'un éventuel QTL pour la concentration plasmatique nocturne en mélatonine est illustrée figure 17. Le pic du rapport de vraisemblance se situe à la position 0,74 M (comme pour le poids de la glande pinéale) entre les marqueurs BULGE20 (position 0,727 M) et OARCP79 (position 0,917 M) et vaut 3,016, donc inférieur au seuil (=12,42 à 1%). L'existence d'un QTL pour la concentration plasmatique nocturne de mélatonine entre les marqueurs MCM64 et BMS356 du chromosome 2 chez la brebis est rejetée.

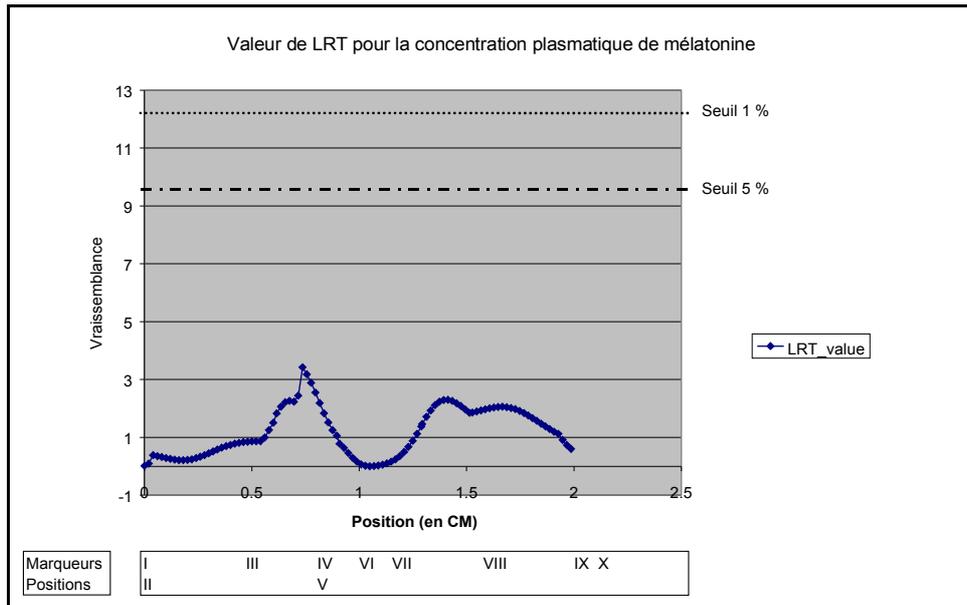


Figure 17 :
Evolution du rapport de vraisemblance pour la concentration plasmatique de mélatonine entre les positions 0 et 2 M du chromosome 2.

Marqueur	MCM64	BMS887	BMS1591	BM	81124
Abréviation	I	II	III	IV	V
Position	0,937	1,014	1,693	1,925	2,000
Position à 0	0,000	0,036	0,549	0,713	0,727

BULGE20	OARCP79	ILSTS030	LSCV22	TGLA110
VI	VII	VIII	IX	X
2,255	2,496	2,995	3,377	3,572
0,917	1,104	1,23	1,927	1,99

Figure 18 :
Carte génétique du chromosome 2 utilisée pour l'étude.
Position est la position du marqueur sur le chromosome 2, position à 0 correspond aux positions des marqueurs lorsque la position du premier est ramenée à 0.

DISCUSSION

Notre étude, bien que reposant sur un effectif réduit, a permis de mettre en évidence quelques facteurs de variation du poids de la glande pinéale et de la concentration plasmatique de mélatonine, d'estimer les paramètres génétiques de ces deux variables pour la population étudiée et de poser l'hypothèse de présence de gènes majeurs pour ces deux caractères sans toutefois parvenir à les localiser.

Notre étude confirme tout d'abord l'existence d'une grande variabilité inter-individuelle de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine chez les ovins et indique que cette concentration est une caractéristique individuelle importante. Ce résultat est conforme à ceux obtenus par Chemineau et al. (1996) et Zarazaga et al. (1998a). De même, nous avons montré que le poids de la glande pinéale était également très variable selon les individus. Cette différence inter-individuelle du poids de la glande pinéale avait déjà été observée chez les ovins (Thimonier et Mauléon, 1969 et Coon et al., 1999), ainsi que chez les humains (Wetterberg et al., 1983).

Nous avons ensuite développé un modèle statistique permettant de relier les deux variables : concentration plasmatique de mélatonine et poids de pinéale. Nous avons tout d'abord établi un modèle linéaire entre ces deux paramètres : le poids de la glande pinéale ayant un effet significatif sur la concentration de mélatonine. La pente de l'équation de ce modèle ($y=2,71x - 26,14$; $R^2=0,28$), est proche de celle précédemment établie par Coon et al, (1999) : ($y=2,85x + 4,18$; $R^2=0,62$), par contre, l'ordonnée à l'origine est positive selon l'étude de Coon et al, (1999) et négative dans notre étude. Cette différence pourrait être attribuée à une différence de poids des animaux. En effet, les agneaux utilisés pour l'étude de Coon étaient de race Ile de France (race lourde), alors que les agneaux de notre étude étaient le produit de croisement entre des animaux Romanov/Texel Belge.

Dans notre étude, nous avons montré que le lot et le père avaient des effets très significatifs sur le poids de la glande pinéale ($p<0,01$). Le type génétique (Back-Cross ou F2) avait également un effet significatif sur le poids de pinéale ($p=0,05$). Par contre, nous n'avons pas observé d'effet significatif du sexe sur le poids de la glande pinéale. Ce résultat est en contradiction avec ceux de Franco et al. (2000) qui indiquaient que les mâles avaient des

poids de glande pinéale significativement supérieurs à ceux des femelles. De même, ces auteurs ont montré que le coefficient de corrélation entre le poids corporel et le poids de la glande pinéale était très important ($r=0,99$), alors que dans notre étude le poids à l'abattage et le poids carcasse n'ont pas d'effets significatifs sur le poids de la glande pinéale. Cependant, cet auteur a travaillé sur des embryons et des fœtus.

De plus, nous avons montré que la concentration plasmatique de mélatonine améliorait considérablement le modèle de prédiction du poids de la glande pinéale. On peut concevoir l'utilisation d'un tel modèle pour connaître le poids de la glande pinéale d'un animal vivant ; on pourrait alors l'estimer à partir de la concentration plasmatique en mélatonine de l'animal. Mais, dans le contexte d'un modèle explicatif des variations du poids de pinéale, l'effet de la concentration plasmatique en mélatonine n'est évidemment pas concevable.

Nous avons également montré des différences significatives de concentration plasmatique de mélatonine ($P=0,001$) en fonction du père. Ce résultat est conforme à l'effet significatif du père précédemment estimé par Zarazaga et al. (1998a) ($P<0,001$), Coon et al. (1999) et Chemineau et al. (1998b). Dans notre étude, nous avons montré que le lot qui correspond à l'année d'abattage influence significativement la concentration de mélatonine, de même que le poids carcasse et le poids à l'abattage. Enfin, le poids de la glande pinéale a un effet très significatif sur la concentration plasmatique en mélatonine.

Les héritabilités estimées dans notre étude, $h^2=0,42$ pour le poids de la glande pinéale et $h^2=0,43$ pour la concentration plasmatique de mélatonine, sont comparables à celles estimées par Chemineau et al. (1996) et par Coon et al. (1999) pour la concentration plasmatique de mélatonine, et renforcent l'hypothèse que la concentration plasmatique nocturne de mélatonine est sous contrôle génétique important. A notre connaissance, cette étude est la première à révéler que le poids de la glande pinéale est sous contrôle génétique important.

Dans notre étude, nous ne disposons que de 3 pères, mais pour estimer les héritabilités et les corrélations génétiques nous avons utilisé un modèle animal concernant 399 individus issus de 236 femelles dont on connaissait la généalogie. Avec cette méthode, nos estimations d'héritabilité de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine sont conformes à celles de Coon et al. (1999) ($0,45\pm 0,07$) qui a utilisé 18 pères pour son étude. Wetterberg et al., 1983 avaient estimé l'héritabilité de la concentration de mélatonine urinaire chez l'homme ($0,53$). Dans cette étude, il n'avait cependant pas été clairement défini si l'estimation de l'héritabilité portait sur la mélatonine ou sur l'un de ses métabolites.

A la suite de leur étude, Wetterberg et al. (1983), ont émis l'hypothèse qu'un gène majeur pourrait réguler l'expression de la concentration plasmatique de mélatonine chez l'homme. Nos résultats d'estimation d'héritabilité, proches de ceux de Coon et al. (1999), pourraient également suggérer l'intervention d'un gène majeur en ce qui concerne la concentration plasmatique de mélatonine, mais aussi le poids de la glande pinéale chez les ovins. Nous avons réalisé des analyses de ségrégation afin de mettre en évidence l'existence de gènes ayant un effet majeur sur le poids de la glande pinéale et sur la concentration plasmatique nocturne de mélatonine.

Ces analyses de ségrégation ont montré que, pour les caractères poids de la glande pinéale et concentration plasmatique de mélatonine, les rapports de vraisemblance étaient élevés (respectivement supérieurs à 10 et 30) avec des probabilités faibles sous H_0 , ce qui nous a conduit à rejeter l'hypothèse H_0 d'une transmission strictement polygénique dans les populations totale et back-cross. Ainsi, dans ces deux populations, nous avons mis en évidence l'existence d'un gène majeur pour ces caractères.

Pour ces deux caractères, nous n'avons cependant pas mis en évidence l'existence d'un gène majeur dans la population F2. Les analyses de ségrégation ont également montré que, pour le poids de la glande pinéale, les parents hétérozygotes étaient majoritaires dans les trois populations étudiées, (totale, back-cross et F2). Ce résultat est en contradiction avec l'équilibre d'Hardy-Weinberg ainsi qu'avec les résultats obtenus pour le caractère "concentration plasmatique de mélatonine". Nous n'avons à l'heure actuelle pas trouvé d'explication à ces résultats, si ce n'est que nous avons travaillé sur un effectif très réduit. Des études supplémentaires seraient nécessaires pour valider l'hypothèse d'existence de gène majeur pour les deux caractères étudiés.

La dernière étape de notre étude a consisté à détecter d'éventuels QTL pour le poids de la glande pinéale et la concentration plasmatique de mélatonine sur une petite partie du génome de la brebis. Pour cela, nous disposions des typages de nos animaux pour seulement 11 marqueurs microsatellites situés sur le chromosome 2. Au sein de ce groupe de liaison nous n'avons pas trouvé de QTL. Ce résultat n'est toutefois pas surprenant car nous avons travaillé sur une toute petite partie du génome. Il faudra attendre de disposer du typage sur un plus grand nombre de marqueurs (situés sur d'autres chromosomes) pour détecter la position d'éventuels QTL du poids de la glande pinéale et de la concentration plasmatique de la brebis. Compte tenu des typages existants, nous ne pouvions aller plus loin dans notre recherche.

Enfin, nous avons trouvé une corrélation génétique positive entre le poids de la glande pinéale et la concentration plasmatique de la mélatonine (0,5). Cette corrélation peut provenir de polygènes contrôlant ensemble les deux caractères, comme d'un seul gène majeur. Les fréquences estimées des génotypes parentaux (AA, AB et BB) étant différentes pour le poids de la glande pinéale et la concentration plasmatique de mélatonine, l'hypothèse d'un gène majeur unique contrôlant conjointement ces deux caractères semble toutefois peu probable. L'analyse QTL complète permettra éventuellement de lever ce doute.

L'hypothèse d'une éventuelle relation entre la variabilité génétique du poids de la glande pinéale ou de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine et des performances de reproduction telles que le début de saison sexuelle, la fertilité ou la taille de portée chez les ovins reste toujours en suspens. Pour un nombre limité d'animaux (brebis Rasa Aragonesa), Zarazaga (1994) a montré qu'il existait une corrélation significative entre la date de la première ovulation de la saison sexuelle et la concentration plasmatique nocturne de mélatonine, mais il faudrait confirmer ce résultat sur un plus grand nombre d'animaux de races différentes. Si cette hypothèse était finalement vérifiée, la sélection de brebis en fonction de leur concentration plasmatique de mélatonine permettrait de disposer d'animaux avec une saison de reproduction plus longue et une fertilité élevée. Une telle sélection pourrait être favorisée par l'existence d'un gène majeur.

CONCLUSION

Notre étude, bien que reposant sur un protocole visant à mettre en évidence et à localiser le gène culard et comprenant un effectif réduit, a permis tout d'abord d'établir des modèles statistiques visant à expliquer les variations du poids de la glande pinéale et de la concentration plasmatique de mélatonine. A partir de ces modèles, nous avons estimé les héritabilités de ces deux caractères. Enfin, grâce à des analyses de ségrégation, nous avons pu proposer l'existence de gènes majeurs pour ces deux caractères sans toutefois les localiser ni préciser s'il s'agissait de deux gènes différents. D'autres analyses plus approfondies basées sur le typage complet des agneaux seraient nécessaires pour détecter de façon précise ce ou ces gènes.

Une fois le ou les gènes localisés, ils pourraient faire l'objet d'une sélection chez la brebis afin d'améliorer les résultats de reproduction de cette espèce. D'autre part, les effets de ce gène sur la saison sexuelle (début, fin, longueur) pourraient être analysés. Enfin, compte tenu des propriétés anti-oxydantes de la mélatonine qui lui confère un rôle sur le vieillissement, l'effet de ce gène pourrait également être testé sur la longévité des animaux.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ARENDET J.

Melatonin and the sleep wake cycle.

Proceedings deuxième Séminaire Annuel en Pharmacologie Expérimentale et Clinique.

Vaux de Cernay, France, 27-29 nov 1997.

Neuilly sur Seine : Société Française de Pharmacologie, 1997, 26 p.

BARCHAS J., De COSTA F., SPECTOR S.

Acute pharmacology of melatonin.

Nature, 1967, **214**, 919-920.

BARTSCH C., BARTSCH H., FLUCHTER S.H., ATTANASIO A., GUPTA D.

Evidence for modulation of melatonin secretion in men with benign and malignant tumors of prostate : relationship with the pituitary hormones.

Journal of Pineal Research, 1985, **2**, 121-132.

BERTHELOT X., RAVAUULT J.P., CONCORDET D., FERNEY J., TOUTAIN P.L.

Absence of circadian rhythm in the disposition of melatonin in the cow.

Journal of Pineal Research, 1993, **15**, 141-146.

BLINKLEY S.

Une enzyme épiphysaire qui mémorise le temps.

Pour la science, 1979, **20**, 33-39.

BOICHARD D., LE ROY P., LEVEZIEL H., ELSEN J.M.

Utilisation des marqueurs moléculaires en génétique animale.

INRA Productions Animales, 1998, **11**, 67-80.

CABUT S.

Bientôt sur ordonnance.

Sciences et avenir [on line]; juin 2000, **640**,4 p.

<wysiwyg://1/http://www.sciences-et-avenir.com/archives/640/48.html

CARDINALI D.P., VACAS M.I.

Molecular endocrinology of melatonin infusion in pinealectomized male Djungarian hamsters (*Phodopus sungorus sungorus*), duration is the critical parameter.

Endocrinology, 1980, **113**, 1261-1267.

CHAMBON P.

Etude de la sécrétion de mélatonine et de prolactine chez la brebis cliniquement atteinte de tremblante.

Th. : Med. vet. : Toulouse : 1999-TOU 3, 4107.

CHEMINEAU P., PELLETIER J., GUERIN Y., COLAS G., RAVAUT J.P., TOURE G., ALMEIDA G., THIMONIER J., ORTAVANT R.

Photoperiodic and melatonin treatments for the control of seasonal reproduction in sheep and goats.

Reproduction Nutrition and Development, 1988, **28**, 409-422.

CHEMINEAU P., VANDAELE E., BRICE G., JARDON C.

Utilisation des implants de mélatonine pour l'amélioration des performances de reproduction chez la brebis.

Recueil de Médecine Vétérinaire Spécial reproduction des Ruminants, 1991, **167**, 227-239.

CHEMINEAU P., MALPAUX B., GUERIN Y., MAURICE F., DAVEAU A., PELLETIER J.

Lumière et mélatonine pour la maîtrise de la reproduction des ovins et des caprins.

Annales de zootechnie, 1992, **41**, 247-261.

CHEMINEAU P., BELTRAN DE HEREDIA I., DAVEAU A., BODIN L.

High repeatability of the amplitude and the duration of the nycthemeral rhythm of the plasma melatonin concentration in the Ile de France ewe.

Journal of Pineal Research, 1996, **21**, 1-6.

CHEMINEAU P., ZARAZAGA L., BODIN L., MALPAUX B.

Contrôle génétique de la sécrétion de mélatonine.

Bulletin de la société d'écophysiologie, 1998a, **24**, 2 p.

CHEMINEAU P., ZARAZAGA L., MALPAUX B., GOMEZ-BRUNET A., GUILLAUME D., RAVAUT J.P., BODIN L., COON S., WELLER J., KLEIN D., VOISIN P.

Variability in nighttime melatonin plasma concentration is under strong genetic control in the Ile de France sheep.

Proceedings 6 th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production.

Armidale, Australia, 11-16 january 1998.

Armidale : NSW, 1998b, **27**, 59-62.

COLLIN JP., ARENDT J., GERN W.

Le troisième œil.

La recherche, 1988, **19**, 1154-1165.

COON S.L., ZARAZAGA L.A., MALPAUX B., RAVAUT J.P., BODIN L., VOISIN P., WELLER J.L., KLEIN D., CHEMINEAU P.

Genetic variability in plasma melatonin in sheep is due to pineal weight, not to variations in enzyme activities.

American Journal of Physiology (Endocrinology metabolism 40), 1999, **277**, 792-797.

CROSBY E., HUMPHREY T., LAUER E.

Correlative anatomy of the nervous system.

New York : Macmillan, 1962. 731 p.

DACHEUX J.L., PISSELET C., BLANC M.R., HOCHEREAU-DE REVIERS M.T.,
COURROT M.

Seasonal variations in *rete testis* fluid secretion and sperm production in different breeds of ram.

Journal of Reproduction and Fertility, 1981, **61**, 363-371.

DUBOCOVICH M.

Melatonin receptors : are there multiple subtypes ?

Trends in Pharmacology Sciences, 1995, **16**, 50-56.

ENGLISH J., BOJKOWSKI C., POULTON A., SYMONS A., ARENDT J.

Metabolism and pharmacokinetics of melatonin in the ewe.

Journal of Pineal Research, 1987, **4**, 351-358.

FRANCO A., REDONDO E., MASOT A.J., LIGNEREUX Y., REGODON S.

Mathematical models applied to prenatal growth of the ovine pineal gland.

Revue Médecine Vétérinaire., 2000, **151**, 1021-1030.

FRASER S., COWEN P., FRANKLIN M., FRANNEY C., ARENDT J.

Direct radioimmunoassay for the melatonin in plasma.

Clinical Chemistry, 1983, **29**, 396-397.

GAYRARD V.

Régulation photopériodique des sécrétions gonadotropes chez la brebis. Recherche des sites d'action de la mélatonine. Effets de l'oestradiol sur le métabolisme des amines biogènes prélevées dans le noyau A15 par microdialyse.

Diplôme d'agronomie approfondie : zootechnie : Nouzilly, INRA, 1989, 37 p.

GAYRARD V., PICARD-HAGEN N., CHEMINEAU P., MALPAUX B., THIERY J.C.

Neuroendocrine control of seasonal reproduction in the ewe.

Revue Médecine Vétérinaire, 1998, **149**, 283-288.

GOMEZ-BRUNET A., MALPAUX B., CHEMINEAU P.

Genetic variability in plasma melatonin concentration is expressed as early as one week-of age in lambs.

Proceedings 8 th Meeting of the European Pineal Society.

Tours, France, 3-7 july 1999.

GOMEZ-BRUNET A., MALPAUX B., DAVEAU A., TARAGNAT C., CHEMINEAU P.

Ontogeny of the genetic variability in plasma melatonin concentrations in lambs. Relationship between the number of pinealocytes and the secretion of melatonin.

Proceedings VI th International Conference on Hormones, Brain and Behavior.

Madrid, Espagne, 5-9 août 2000.

GOODMAN R., BITTMAN E., FOSTER D., KARSCH F.

Alterations in the control of Luteinizing Hormone pulse frequency underlie the seasonal variation in estradiol negative feedback in the ewe.

Biology of Reproduction, 1982, **27**, 580-589.

GROENEVELD E.

VCE4 User's guide and reference manual:

Federal Research Center of Agriculture, Mariensee, Germany, 1997.

GUILLAUME D., RIO.N., TOUTAIN P.L.

Kinetic studies and production rate of melatonin in pony mares.

American Journal of Physiology (Regulatory Integrative Complex of Physiology 37), 1995, **268**, 1236-1241.

HERDELAND R., REITER R.J., POEGGELER B., TAN D.X.

The significance of the metabolism of the neurohormone melatonin : antioxydative protection and formation of bioactive substances.

Neuroscience and biobehavioral Reviews, 1993, **17**, 347-357.

IGUCHI H., KATO K., IBAYASHI H.

Melatonin serum levels and metabolic clearance rate in patients with liver cirrhosis.

Journal of Clinical Endocrinoly and Metabolism, 1982, **54**, 1015-1032.

JOCKERS R., PETIT L., DE COPPET P., BARETT P., MORGAN P., GUARDIOLA-LEMAITRE B., DELAGRANGE P., MARULLO S., STROSBERG A.

Structure and function of melatonin receptors.

Proceedings deuxième Séminaire Annuel en Pharmacologie Expérimentale et Clinique.

Vaux de Cernay, France, 27-29 nov 1997.

Neuilly sur Seine : Société Française de Pharmacologie, 1997, 26 p.

KARSCH F.J., BITTMAN E.L., FOSTER D.L., GOODMAN R.L., LEGAN S.J, ROBINSON J.E.

Neuroendocrine basis of seasonal reproduction.

Recent Progress in Hormone Research, 1984, **40**, 185-232.

KARSCH F.J., MALPAUX B., WAYNE N.L., ROBINSON J.E.

Characteristics of the melatonin signal that provide the photoperiodic code for timing seasonal reproduction in the ewe.

Reproduction Nutrition and Development, 1988, **28**, 459-472.

KENNAWAY D.J., ROWE S.A.

Melatonin binding sites and their role in seasonal reproduction.

Journal of reproduction and fertility supplement, 1995, **49**, 423-435.

LEGAN S.J., KARSCH F.J.

Neuroendocrine regulation of the oestrous cycle and seasonal breeding in the ewe.

Biology of Reproduction, 1979, **20**, 74-85.

LESIEUR D., LECLERC V., CHAVATTE P., MAROT C., RENARD P., GUARDIOLA B.

La mélatonine, prototype pertinent pour l'innovation thérapeutique.

Proceedings deuxième Séminaire Annuel en Pharmacologie Expérimentale et Clinique.

Vaux de Cernay, France, 27-29 nov 1997.

MALAGELADA J.R.

Melatonin and the gastrointestinal tract.

Proceedings deuxième Séminaire Annuel en Pharmacologie Expérimentale et Clinique.

Vaux de Cernay, France, 27-29 nov 1997.

Neuilly sur Seine : Société Française de Pharmacologie, 1997, 26 p.

MALLO C., ZAIDAN R., GALY G., VERMEULEN E., BRUN J., CHAZOT G.,
CLAUSTRAT B.

Pharmacokinetics of melatonin in man after intravenous infusion and bolus injection.
European Journal of Clinical Pharmacology, 1990, **38**, 297-301.

MALPAUX B.

Cycle annuel de reproduction chez la brebis : signaux photopériodiques et rythme endogène.
Th. D. : Sciences Naturelles : Université Paris 6, 1988, 63 p.

MALPAUX B., DAVEAU A., MAURICE F., GAYRARD V., THIERY J.C.

Short-day effects of melatonin on Luteinizing Hormone secretion in the ewe : evidence for
central sites of action in the mediobasal hypothalamus.
Biology of reproduction, 1993, **48**, 1-9.

MALPAUX B., DAVEAU A., MAURICE-MANDON F., DUARTE G., CHEMINEAU P.

Evidence that melatonin acts in the premammillary hypothalamic area to control reproduction
in the ewe : presence of binding sites and stimulation of Luteinizing Hormone secretion by in
situ microimplant delivery.
Endocrinology, 1998, **139**, 1508-1516.

MARSHALL F.

On the change over in the estrous cycle in animals after transference across the equator, with
further observations on the incidence of the breeding season and the factors controlling sexual
periodicity.
Proc.Roy.Soc.London .(B)., 1937, **122**, 413-428.

PEVET P.

Mélatonine et rythmes biologiques.

Proceedings deuxième Séminaire Annuel en Pharmacologie Expérimentale et Clinique.
Vaux de Cernay, France, 27-29 nov 1997.

Neuilly sur Seine : Société Française de Pharmacologie, 1997, 26 p.

PICARD-HAGEN N., GAYRARD V., CHEMINEAU P., MALPAUX B., BERTHELOT X.

Photopériode et reproduction chez les petits ruminants : rôle de la mélatonine.

Le Point Vétérinaire, 1996, **28**, 927-932.

PICARD-HAGEN N., GAYRARD V., ANDREOLETTI O., GALEA J., GRANDJEAN C.,
MANDON-MAURICE F., CABANIE P., SCHELCHER F., TOUTAIN P.L.

Melatonin and prolactin secretion profile in naturally occurring scrapie in ewe.

Journal of Pineal Research, 1998, **24**, 117-122.

PIERI C., MARRA M., MORONI F., RECCHIONI R., MARSCHESELLI F.

Melatonin : a peroxy radical scavenger more effective than vitamin E.

Life Science, 1994, **55**, 271-276.

de REVIERS M.M., RAVAUT J.P., TILLET Y., PELLETIER J.

Melatonin binding sites in the sheep *pars tuberalis*.

Neuroscience Letters, 1989, **100**, 89-93.

RIETMEYER P.J.

Epiphyse, mélatonine et cancer. Etude bibliographique.

Th : Med. Vet. : Toulouse : 1996-Tou 3, 4069.

REITER R.J.

The pineal gland : from last to first.

The endocrinologist, 1993, **3**, 425-431.

REITER R.J., OH C.S., FUJIMORI O.

Melatonin : its intracellular and genomic actions.

Trends in Endocrinology and Metabolism, 1996, **7**, 22-27.

ROBINSON J., RADFORD H., KARSCH F.

Seasonal changes in pulsative luteinizing hormone secretion in the ewe, relationship of frequency of LH pulses to day length and response to estradiol negative feedback.

Biology of Reproduction, 1985a, **33**, 324-334.

ROBINSON J., WAYNE N., KARSCH F.

Refractoriness to inhibitory daylength initiates the breeding season of the suffolk ewe.
Biology of Reproduction, 1985b, **32**, 1024-1030.

SCALBERT E., GUARDIOLA-LEMAITRE B., DELAGRANGE P.

Melatonin and the cardiovascular system.

Proceedings deuxième Séminaire Annuel en Pharmacologie Expérimentale et Clinique.

Vaux de Cernay, France, 27-29 nov 1997.

Neuilly sur Seine : Société Française de Pharmacologie, 1997, 26 p.

SKINNER D., MALPAUX B.

High melatonin concentrations in third ventricular cerebrospinal fluid are not due to Galen Vein blood recirculating through the choroid plexus.

Endocrinology, 1999, **140**, 4399-4405.

THIERY J.C, MARTIN G.B., TILLET Y., CALDANI M., QUENTIN M., JAMAIN C.,
RAVAULT J.P.

Role of hypothalamic catecholamines in the regulation of luteinizing hormone and prolactin secretion in the ewe during seasonal anoestrus.

Neuroendocrinology, 1989, **49**, 80-87.

THIMONIER J., MAULEON P.

Variations saisonnières du comportement d'oestrus et des activités ovariennes et hypophysaires chez les ovins.

Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique, 1969, **9**, 233-250.

THIMONIER J., MAULEON P.

Variations saisonnières des activités hypophysaires des brebis de race Ile de France.

In : THIMONIER J., MAULEON P.

La photorégulation de la reproduction chez les oiseaux et les mammifères.

Paris : BENOIT J. and ASSENMACHER I. (eds), 1970, 471-480.

TILLET Y., RAVAUT J.P., SELVE C., EVIN G., CASTRO B., DUBOIS M.P.

Conditions d'utilisation d'anticorps spécifiques pour la visualisation immunohistochimique de la sérotonine et de la mélatonine dans la glande pinéale du mouton.

C.R.Académie des Sciences Paris, t 303, série III, n°3, 1986.

TOUITOU Y., SELMAOUI B., ZHAO Z., SAN MARTIN M., BOGDAN A.

Mélatonine et rythmes biologiques : quelques aspects en physiopathologie humaine.

Annales Pharmaceutiques françaises, 1996, **54**, 6, 241-250.

TOUITOU Y.

Mélatonine et vieillissement.

Proceedings deuxième Séminaire Annuel en Pharmacologie Expérimentale et Clinique.

Vaux de Cernay, France, 27-29 nov 1997.

Neuilly sur Seine : Société Française de Pharmacologie, 1997, 26 p.

TUREK F.W, SWANN J., EARNEST D.J.

Role of the circadian system in reproductive phenomena.

Recent Progress in Hormone Research, 1984, **40**, 143-183.

VENTOU P.

Chronobiologie de la reproduction. Pinéale, mélatonine et fonction de reproduction chez trois espèces de hamsters : *Mesocricetus auratus*, *Mesocricetus brandti*, *Phodopus sungorus sungorus*. Etude bibliographique.

TH. : Med. vet. : Toulouse 3 : 1992.

VIGUIE C., CARATY A., LOCATELLI A.,MALPAUX B.

Regulation of Luteinizing Hormone-Releasing (LHRH) secretion by melatonin in the ewe. II. Changes in N-methyl-D,L-aspartic acid-induced LHRH release during the stimulation of Luteinizing hormone secretion by melatonin.

Biology of Reproduction, 1995, **52**, 1156-1161.

WETTERBERG L.

Melatonin in humans : physiological and clinical studies.

Journal of Neural Transmission Supplement, 1978, **13**, 290-291.

WETTERBERG L., ISELIUS L., LINDSTEN J.

Genetic regulation of melatonin excretion in urine.

Clinical Genetic, 1983, **24**, 399-402.

ZARAZAGA L.

Reactivacion de la actividad ovarica e hipofisiaria tras el parto en ovejas de reducida estacionalidad sexual : influencia de la aplicacion de melatonina exogena y del plano de alimentacion tras el destete.

Th. :Med. Vet., Zaragoza, Espagne, 1994, 334p.

ZARAZAGA L., MALPAUX B., CHEMINEAU P.

The characteristics of the melatonin secretory rhythm are not modified by the stage of the pregnancy in ewes.

Reproduction Nutrition and Development, 1996, **36**, 105-112.

ZARAZAGA L., MALPAUX B., BODIN L., CHEMINEAU P.

The large variability in melatonin blood levels in ewes is under strong genetic influence.

American Journal of Physiology (Endocrinology and Metabolism 37), 1998a, **274**, 607-610.

ZARAZAGA L., MALPAUX B., GUILLAUME D., BODIN L., CHEMINEAU P.

Genetic variability in melatonin concentrations in ewes originates in its synthesis, not in its catabolism.

American Journal of Physiology (Endocrinology and Metabolism 37), 1998b, **274**, 1086-1090.

TITRE : Déterminisme et variabilité génétique du poids de l'épiphyse et de la concentration plasmatique de mélatonine chez les ovins.

RESUME :

La mélatonine, hormone sécrétée par la glande pinéale lors de la phase obscure du nyctémère, intervient dans le contrôle du cycle annuel de reproduction des ovins. Les concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine présentent une grande variabilité inter-individuelle. Cette variabilité est corrélée à une grande variabilité inter-individuelle du poids de la glande pinéale et serait sous contrôle génétique important.

L'objectif de cette étude est d'examiner l'origine génétique de la variabilité inter-individuelle des concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine et du poids de la glande pinéale. Différents facteurs de variation du poids de la glande pinéale et des concentrations plasmatiques nocturnes de mélatonine ont été testés. Le modèle retenu pour décrire la variabilité du poids de la glande pinéale est un modèle linéaire à trois effets fixes : l'année d'abattage, le père et le type génétique (back-cross ou F2). Le modèle retenu pour le caractère "concentration plasmatique de mélatonine" comprend deux effets fixes (l'année d'abattage et le père), ainsi que deux covariables (le poids de la glande pinéale et le poids de carcasse). A partir de ces deux modèles, les héritabilités du poids de la glande pinéale et de la concentration plasmatique nocturne de mélatonine ont été estimées. Une valeur identique (0,42) a été obtenue pour les deux caractères. Pour tester l'hypothèse selon laquelle ces caractères seraient gouvernés par des gènes majeurs, une analyse de ségrégation a été réalisée. Cette analyse a montré l'existence de gènes majeurs contrôlant le poids de la glande pinéale et la concentration plasmatique de mélatonine. Enfin, une analyse QTL limitée à 11 marqueurs du chromosome 2 n'a pas révélé la présence de ces gènes majeurs sur cette partie du génome de la brebis. Le typage des agneaux pour un nombre plus important de marqueurs permettra de confirmer l'existence d'un gène majeur pour ces caractères et de localiser ce gène.

MOTS CLES :

Mélatonine - glande pinéale - ovin - héritabilité - gène majeur - QTL.

ENGLISH TITLE : Determinism and genetic variability of epiphysis weight and plasma melatonin concentrations in the ovine species.

ABSTRACT :

The melatonin is a hormone secreted by the pineal gland during the dark phase of the light-dark cycle. It acts in the control of the annual cycle of the ovine reproduction. Plasma melatonin concentrations have large inter-individual variations which are correlated to a large inter-individual variation of the pineal gland weight, and may be under a strong genetic control.

The aim of this study is to examine the genetic origin of the inter-individual variations of the night plasma melatonin concentrations and of the pineal gland weight. Several variation factors of the plasma melatonin concentrations and of the pineal gland weight were tested. The model retained to describe the variations of the pineal gland weight is a linear model with 3 fixed effects : the year of slaughter, the father and the genetic type (back-cross or F2). The model retained for the characteristic "plasma melatonin concentration" shows 2 fixed effects (the year of slaughter and the father) and 2 covariables (the pineal gland weight and the carcass weight). With these 2 models, the heritability of the pineal gland weight and the plasma melatonin concentration were estimated. An identical value (0,42) was obtained for the two characteristics. In order to test the hypothesis that the two characteristics may be controlled by major genes, a segregation analysis was carried out. This analysis has shown the existence of major genes controlling the pineal gland weight and the plasma melatonin concentration. Lastly, a QTL analysis limited to 11 markers of the chromosome 2, has not revealed the presence of these major genes on this part of the ovine genome. Genotyping of the lambs for a larger number of markers will allow us to confirm the existence of major genes for these characteristics and to localize these genes.

KEY WORDS :

Melatonin - pineal gland - ovine - heritability - major gene - QTL