

POLYMORPHISMES BIOCHIMIQUES DE LA POULE DOMESTIQUE

I. — ANALYSE GÉNÉTIQUE DES PROTÉINES DU BLANC D'ŒUF CHEZ DES POULES DE RACES FRANÇAISES ET ÉTRANGÈRES

G. CROIZIER

avec la collaboration technique de J.-P. HARSCOAT et A. CAVALIE

*Station de Recherches avicoles,
Centre national de Recherches zootechniques, 78 - Jouy-en-Josas*

SOMMAIRE

L'examen par électrophorèse en gel d'amidon du blanc d'œuf de 1 088 poules appartenant à six races françaises (*Bresse, Combattant du Nord, Faverolles, Gâtinaise, Houdan, Marans*) et à six races étrangères (*Cornish, Langshan, Leghorn, Rhode-Island, Wyandotte, Sussex*) a permis l'étude de sept polymorphismes.

A partir des races étrangères, déjà étudiées par plusieurs auteurs, nous avons observé quatre polymorphismes (ovalbumine, ovoglobuline G₃, ovoglobuline G₂, conalbumine) semblables à ceux déjà décrits dans la bibliographie.

Les races françaises, non étudiées antérieurement, présentent des polymorphismes particuliers (ovalbumine, ovoglobuline G₃, conalbumine).

A la suite de cet inventaire de polymorphismes biochimiques nous avons été conduit à émettre l'hypothèse de séries polyalléliques pour rendre compte de la transmission héréditaire des variations génétiques des protéines du blanc d'œuf.

Au cours de cette étude il a été montré que l'allèle G₃^J (ovoglobuline G₃) n'était pas propre à la poule de Jungle. *Gallus gallus* L. Nous l'avons retrouvé dans des troupeaux de *Marans*.

INTRODUCTION

Si l'on excepte les groupes sanguins décelables à la suite de tests immunologiques, — se reporter à l'étude bibliographique de GILMOUR (1960) pour ce sujet —, les premiers polymorphismes révélés par des techniques empruntées à la biochimie furent mis en évidence, chez la poule, par LUSH (1961).

Par électrophorèse en gel d'amidon puis révélation à la nigrosine des protéines du blanc d'œuf, cet auteur mit en évidence trois polymorphismes contrôlés chacun par un locus autosomal présentant deux formes alléliques codominantes.

En 1962, McINDOE découvrait un polymorphisme de la sérum albumine tandis que OGDEN et *al.* (1962) en décrivaient un autre commun à l'œuf et au sérum, concernant les conalbumines et transferrines.

En 1962, LUSH, cité par BOREL (1964), appliquant la technique de coloration des estérases décrite par URUEL (1960) à des électrophorèses en gel d'amidon, démontrait l'existence d'un polymorphisme d'une diastase de l'œuf. BOREL (1964) en retrouvait un semblable au niveau du sérum.

En 1965, LAW et MUNRO à partir de sérum de *Leghorn* blanches en décrivaient un nouveau, relatif à la phosphatase alcaline.

Nous avons entrepris l'inventaire des variants génétiques des protéines du blanc de l'œuf à l'aide de l'électrophorèse.

L'examen classique d'un électrophorégramme des protéines de l'albumen permet d'y distinguer quatre régions : celle de l'ovalbumine, des ovoglobulines G₃ et G₂ et de la conalbumine. Pour chaque région plusieurs fractions protéiques ou bandes peuvent être décelées. Jusqu'à présent on en a décrit 19, numérotées par LUSH (1961) et OGDEN et *al.* (1962). Leur nombre, leur place et leur groupement caractérisent plusieurs phénotypes. La numérotation peut servir de référence pour comparer les résultats des laboratoires.

L'étude de ces bandes et leur signification font l'objet du présent mémoire. Grâce à l'analyse de races françaises non encore étudiées à ce jour, nous avons pu élargir l'éventail des polymorphismes.

I. — MATÉRIEL, ET MÉTHODES

Matériel animal

Les 1 088 poules analysées sont issues de 26 troupeaux et se classent en quatre groupes selon leur origine géographique et la structure génétique des populations dont elles font partie.

- Groupe I Races pures françaises.
- Groupe II Races pures étrangères.
- Groupe III Populations expérimentales.
- Groupe IV Croisements de première génération.

Les races pures dont proviennent directement — ou par suite de croisements — les sujets analysés sont les suivantes :

Bresse, Combattant du Nord, Cornish, Faverolles, Gâtinaise, Houdan, Langshan, Leghorn, Marans, Rhode-Island, Wyandotte et Sussex.

Technique d'électrophorèse

L'électrophorèse de zones s'effectue dans de petits bacs parallélépipédiques de 3 × 150 × 200 mm. Le gel contient 10 g d'amidon (Connaught Toronto) dans 100 ml de solution tampon.

Le système de solutions tampons utilisé est le système discontinu de POULIK (1957) légèrement modifié par LUSH (1961). La dilution dans le rapport 1 volume d'eau, 7 volumes de tampon *Tris-citrique*, nous a donné les meilleures séparations pour les ovalbumines.

L'électrophorèse se poursuit pendant 4 heures. Trois plaques de quinze échantillons chacune sont mises à migrer ensemble.

En début d'électrophorèse la différence de potentiel est de 200 V aux extrémités du gel et il passe 40 mA par plaque. La résistance électrique globale des plaques augmente notablement au cours de la séparation des protéines, 15 mA seulement sont enregistrés à la fin de l'opération.

Les protéinogrammes sont révélés au noir amide. La lecture des plaques se fait directement sur la face inférieure du gel après disparition de l'excès de colorant par lavage avec un mélange de méthanol, eau distillée, acide acétique de rapport volumétrique (50 : 50 : 10).

II. — RÉSULTATS

L'ensemble de l'analyse des populations aviaires étudiées à Jouy-en-Josas est résumé dans les tableaux 1 et 2.

1. *Polymorphisme de l'ovalbumine*

Trois phénotypes ont été classiquement décrits : Ov.A, Ov.B. et Ov.AB., LUSH (1961). On retrouve ces polymorphismes chez les souches *Faverolles III*, *Gâtinaise I* et *II*, *Marans I* et dans les populations, H 101, H 303, MR 111, F 88 × J 66 et J 66 × F 88. Le phénotype Ov.A est présent dans toutes les populations alors que les autres sont beaucoup moins fréquents.

Par ailleurs, nous avons révélé la présence de phénotypes non encore décrits, chez la souche *Faverolles I*. Un examen attentif de son ovalbumine permet de distinguer des sous-types des phénotypes Ov.A., Ov.B. et Ov.AB.

Le phénotype Ov.A., le plus répandu, présente par rapport au phénotype Ov.B, une migration légèrement plus lente des trois bandes de l'ovalbumine. Le phénotype Ov.AB se caractérise principalement par la fusion des deux bandes les plus rapides.

En particulier on remarque dans ce cas le phénotype Ov.F, caractérisé par la présence de 2 bandes surnuméraires, l'une située entre les bandes 3 et 4, la seconde, moins marquée, s'insère entre les bandes 4 et 5.

2. *Polymorphisme de l'ovoglobuline G₃*

Les bandes 9 et 10 de LUSH dont la présence ou l'absence définit les phénotypes G₃.A, G₃.AB et G₃.B ont été retrouvées dans la majorité des troupeaux avec une prédominance marquée pour le phénotype A.

Notons par ailleurs que les troupeaux de *Marans II* purs ou en croisement présentent l'allèle G₃.J. Le phénotype G₃.JA, qui avait été décrit par BAKER (1964) chez la poule de Jungle se retrouve chez les animaux de ces populations. Par ailleurs nous mettons en évidence le phénotype G₃.JB au niveau du croisement.

Il convient donc de souligner que l'on retrouve chez la poule domestique non seulement le phénotype G₃.JA autrefois réservé à une espèce sauvage mais aussi un phénotype non encore observé (G₃.JB). Ce résultat paraît particulièrement important du point de vue théorique parce qu'il permet de formuler l'hypothèse d'une série triallélique au locus G₃ chez la poule.

3. Polymorphisme de l'ovoglobuline G_2

Les bandes 12, à migration rapide et 14 à migration lente décrites par LUSH (1961-1964 *a*) représentent des ovoglobulines G_2 . Elles ont été observées dans 18 troupeaux sur 26. Notons que l'allèle B est présent dans toutes les populations.

Rappelons que BAKER (1964) a trouvé pour la bande B de l'ovoglobuline G_2 , un comportement électrophorétique particulier à une souche de *Sebright Bantam* et à une souche de poules de Jungle avec un système tampon acétate (pH 4,7). Dans cette condition d'électrophorèse la bande B de ces deux souches migre plus vite que la bande correspondante des autres souches comparées. Nous n'avons pas essayé ce type d'électrophorèse dans cette étude.

4. Polymorphisme de la conalbumine

Les deux allèles codominants Tf^A et Tf^B d'OGDEN *et al.* (1962) sont caractérisés par le comportement des bandes 16 et 17. Nous les avons retrouvés dans les troupeaux étudiés ici ; on remarque que le phénotype Tf.A généralement assez rare n'est pas mentionné dans nos tableaux. Nous l'avons seulement observé sur l'albumen d'œuf de poules issues du croisement : Coq Tf^A/Tf^B × poule Tf^A/Tf^B. Ce phénotype a été trouvé à la fois sur la conalbumine de l'œuf, la transferrine sérique et la transferrine du vitellus (résultats à paraître).

Dans un troupeau de *Marans*, (tabl. 1) et dans un croisement avec les coqs pris dans ce troupeau (tabl. 2) nous avons observé un nouveau variant des conalbumines. Le phénotype Tf.BC diffère du phénotype Tf.B par l'apparition d'une bande à migration plus lente que la bande 17. La vérification de l'hypothèse d'une série triallélique Tf^A, Tf^B, Tf^C au locus Tf est entreprise.

III. — DISCUSSION ET CONCLUSIONS

A — Critique des méthodes

L'analyse de 26 populations de poules représentant 12 races et des structures de reproduction variées (races pures, croisements...) apporte de nombreuses indications

FIG. 1. — Protéinogrammes du blanc d'œuf après électrophorèse en gel d'amidon et tampon Tris basique

Remarquer les quatre régions sièges de polymorphismes

Ov : Ovalbumine ; G_3 : Ovoglobuline G_3 .

G_2 : Ovoglobuline ; G_2 : Conalbumine.

FIG. 2. — Protéinogrammes de blancs d'œufs appartenant à des poules de divers phénotypes

a : Ov.A, G_3 .AB, G_2 .AB, Tf.AB ;

b : Ov.A, G_3 .JA, G_2 .A, Tf.B ;

c : Ov.A, G_3 .AB, G_2 .B, Tf.BC ;

FIG. 3. — Détail des ovalbumines

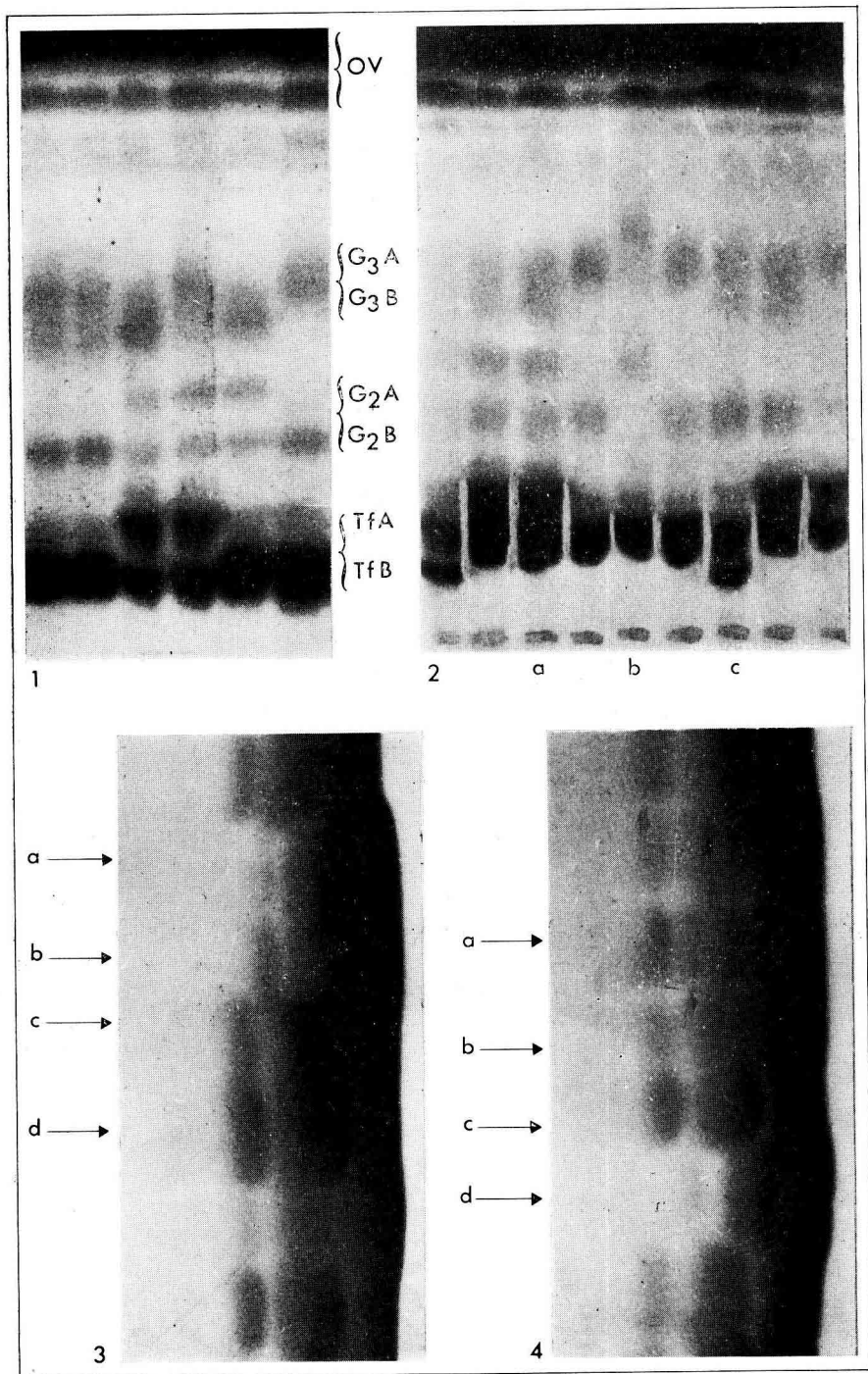
a : Ov.B⁻ ; b : Ov.B⁺ ;

c : Ov.A⁻ ; d : Ov.A⁺

FIG. 4. — Détails des ovalbumines

a : Ov.F ; b : Ov.AB.

c : Ov.A ; c : Ov.B.



et constitue un excellent « sondage » en vue de l'étude des troupeaux les plus intéressants. Cette étude purement descriptive ne permet pas une interprétation génétique définitive des résultats. Des croisements, actuellement en cours, doivent compléter ce travail.

Pour des raisons théoriques, nous interprétons les situations présentées par les ovoglobulines G_3 et conalbumines à l'aide de séries trialléliques. La confirmation de cette hypothèse ne peut être obtenue en moins de deux ou trois ans, car il faut des poulettes F_2 (seconde génération) en ponte et d'autre part des coqs testés sur leur descendance. L'interprétation du déterminisme génétique des variants de l'ovalbumine de la souche *Faverolles II* est plus délicate. Avant le dépouillement des résultats de croisements faits en vue d'analyse génétique, on ne peut préjuger du déterminisme génétique de ce polymorphisme.

Il est assez facile d'identifier des phénotypes observés à partir d'œufs de plusieurs origines génétiques : il suffit de comparer directement sur une plaque d'électrophorèse des échantillons provenant des différents troupeaux. Le résultat est alors très sûr. L'identification est aussi possible dans le cas des protéines du blanc d'œuf à partir des descriptions et illustrations publiées. Pour qu'elle soit sûre, il faut que les techniques d'électrophorèse soient très comparables. Nous avons fait appel à ces deux types d'identification.

Mais l'identité des phénotypes en électrophorèse ne sous-entend pas nécessairement celle des génotypes. Le phénotype « $G_2.B$ » obtenu avec des tampons basiques (borate et *Tris-E.D.T.A.*) pour des poules *Sebright* ne se différencie pas du phénotype $G_2.B$ des autres races. En tampon acide (acétate pH 4,7) cette ovoglobuline migre plus rapidement pour les poules *Sebright* que dans les autres races (BAKER, 1964). Le génotype des premières pour le locus G_2 est donc particulier et nécessite l'emploi d'un symbole propre.

Une protéine présente des formes électrophorétiques différentes, par suite de modifications de ses charges électriques. Ces modifications sont induites par la substitution de certains acides aminés, consécutive à des mutations. Les techniques d'électrophorèse ne permettent pas de détecter la totalité des mutations affectant une protéine. Cette limite qui leur est attachée présente deux aspects. Une mutation peut n'être pas détectée parce qu'elle n'entraîne pas de modifications électrophorétiques, ou deux mutations sont indifférenciables si elles entraînent des modifications électrophorétiques similaires. Il n'est pas, en particulier, possible de déceler les régions d'une molécule affectées par les mutations. En résumé, ces techniques permettent simplement la mise en évidence de différences et sont inaptes à démontrer des identités entre allèles.

L'adoption des mêmes symboles pour les allèles responsables de phénotypes comparables dans différentes conditions d'électrophorèse —, et des troupeaux différents, répond à un souci de simplification de la nomenclature. L'identité de tels allèles reste aléatoire

B — Critique des résultats

Les résultats obtenus à partir des races françaises diffèrent peu de ceux mis en évidence en Angleterre (LUSH, 1961 et 1964) et aux États-Unis (BAKER et MANWELL, 1962).

L'ovalbumine et la conalbumine, par opposition aux ovoglobulines G₂ et G₃, présentent assez rarement, chez la poule, des variants génétiques, différenciables par électrophorèse, (LUSH, 1964; OGDEN et al., 1962). Nos résultats confirment cette observation.

La poule de Jungle présente les mêmes variantes des protéines du blanc d'œuf que la poule domestique (BAKER, 1964), nous identifions l'allèle G₃^J trouvé dans la souche S 33 de race *Marans* à l'allèle G₃^J trouvé antérieurement uniquement chez la poule de Jungle. Cette identification présente la même valeur conditionnelle que celles tentées antérieurement.

Lorsqu'un polymorphisme disparaît, il y a dans la presque totalité des cas fixation du type A pour l'ovalbumine et pour l'ovoglobuline G₃ tandis que pour l'ovoglobuline G₂ et la conalbumine la protéine qui subsiste est du type B comme le laissent prévoir les fréquences géniques généralement rencontrées à ces loci.

Par ailleurs l'équilibre de HARDY-WEINBERG paraît respecté dans toutes les populations où il est possible de le rechercher.

C — Conclusion

L'étude des polymorphismes des protéines du blanc d'œuf chez les races françaises de poules montre qu'il existe des particularités dans certaines de ces races (*Faverolles*, *Marans*). Elles constituent donc un réservoir de variabilité génétique auquel on peut éventuellement avoir recours.

La raison de la constance des polymorphismes des ovoglobulines et de la rareté de la variation des conalbumines et ovalbumines demeure encore inconnue.

La situation rencontrée pour l'ovalbumine dans une souche de *Faverolles*, la description d'une conalbumine Tf.BC dans un troupeau de *Marans*, l'observation de conalbumine de phénotype Tf.AB dans des souches autre que la *Light-Sussex* constituent un apport original du travail entrepris.

L'analyse systématique des races indigènes dans plusieurs pays peut être la source d'informations intéressantes et utiles.

Reçu pour publication en mars 1966.

REMERCIEMENTS

Nous remercions ici M^{me} Burn-Cosmi, sélectionneur S.N.A.A. pour la fourniture d'œufs de *Marans* et les É^{ts} J. Philippe pour la fourniture d'œufs de *Langshan*, *Faverolles* et *Gâtinaise*.

Nous remercions aussi M. G. Coquerelle pour un don d'œufs de *Combattant du Nord*, ainsi que le D^r COCHEZ, directeur de la Station expérimentale avicole du Magneraud qui nous a procuré des œufs de *Rhode Wyandotte*.

SUMMARY

BIOCHEMICAL POLYMORPHISMS OF THE DOMESTIC FOWL. I. GENETICAL ANALYSIS OF THE EGG-WHITE PROTEINS ON HENS FROM FRENCH AND FOREIGN BREEDS

The egg-whites of 1 088 hens belonging to 6 french breeds (*Bresse*, *Combattant du Nord*, *Faverolles*, *Gâtinaise*, *Houdan*, *Marans*) and 6 foreign breeds (*Cornish*, *Langshan*, *Leghorn*, *Rhode Island*, *Wyandotte*, *Sussex*) were studied by starch-gel electrophoresis. It enabled us to make investigations on 7 polymorphisms.

The Foreign breeds, already studied by several research workers, showed 4 polymorphisms (ovalbumin, ovoglobulin G₃, ovoglobulin G₂, conalbumin) identical to those described in the bibliography. The French breeds, which had not previously been studied, showed particular polymorphisms (ovalbumin, ovoglobulin G₃, conalbumin).

This study of biochemical polymorphism led us to the assumption that polyallelic series could account for the inheritance of the genetic variations of the egg-white proteins.

The allele G₃^J (ovoglobulin G₃) appears not to be specific to the Jungle fowl *Gallus gallus* L. : we found it also in *Marans*.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BAKER C. M., MANWELL C., 1962. Molecular genetics of avian proteins. I. The egg white proteins of the domestic fowl. *Brit. Poult. Sci.*, **3**, 161-174.
- BAKER C. M., 1964. Molecular genetics of avian proteins. III. The egg proteins of an isolated population of jungle fowl, *Gallus gallus* L. *Comp. Biochem. Physiol.*, **12**, 389-403.
- BOREL J. F., 1964. Recherches immunogénétiques sur des substances spécifiques de groupes chez la poule et sur leur utilisation comme marqueurs de gènes dans l'élevage. Thèse : École polytechnique fédérale, Zurich.
- GILMOUR D. G., 1960. Blood groups in chickens. *British Poult. Sci.*, **1**, 75-100.
- LAW G. R. J., MUNRO S. S., 1965. Genetically determined variations in alkaline phosphatase of white *Leghorn* chickens revealed by Starch-gel electrophoresis. (Abstr.). *Genetics*, **52**, 454-455.
- LUSH I. E., 1961. Genetic polymorphisms in the egg albumen proteins of the domestic fowl. *Nature, Lond.*, **189**, 981-984.
- LUSH I. E., 1964 a. Egg albumen polymorphisms in the fowl : Loci II and III. *Genet. Res., Camb.*, **5**, 39-49.
- LUSH I. E., 1964 b. Egg albumen polymorphisms in the fowl : the ovalbumin locus. *Genet. Res., Camb.*, **5**, 257-268.
- MCINDOE W. M., 1962. The occurrence of two plasma albumins in the domestic fowl. *Nature, Lond.*, **195**, 353-354.
- OGDEN A. L., et al., 1962. Inherited variants in the transferrins and conalbumins of the chicken. *Nature, Lond.*, **195**, 1026-1028.
- URIEL J., 1960. In GRABAR P., BURTIN P. *Analyse immuno-electrophorétique*. 50-53. Masson et C^{ie} Éditeur.