

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem

جامعة عبد الحميد بن باديس - مستغانم

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة



Département des Sciences Agronomiques

قسم العلوم الزراعية

Mémoire de Magister en sciences Agronomiques Option

Génétique et Reproduction Animale

Présenté par Melle :

DRIZI Nadja

Sous le thème

Caractérisation morpho-pondérale et qualité nutritionnelle
des œufs de volaille locale ; Influence du gène Na sur les
profils lipidiques et protéiques

Laboratoire de Physiologie Animale Appliquée, Université de Mostaganem

Composition du jury de soutenance

Nom et Prénom	Grade	Qualité	Appartenance administrative
Mouats Aziz	Professeur	Président	Université de Mostaganem
Halbouche Miloud	Professeur	Promoteur	Université de Mostaganem
Bouderoua Kaddour	Professeur	Examineur	Université de Mostaganem
Karam Noureddine	Professeur	Examineur	Université ES- SENIA Oran
Homrani Abdelkader	Maitre conférence A	Examineur	Université de Mostaganem

2012/2013

Remerciement

Les mots ne seront jamais assez forts pour exprimer toute ma gratitude au Professeur HALBOUCHE Miloud qui m'a fait l'honneur d'accepter d'être mon encadreur. Il a su m'accompagner et me guider tout au long de ce travail.

Je suis reconnaissante envers les membres du Jury qui ont accepté d'évaluer ce mémoire, tout d'abord M. MOUATS Aziz, Professeur à l'université de Mostaganem, qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider le jury.

Je souhaite également remercier M. BOUDEROUA Kaddour, Professeur à l'université de Mostaganem et responsable du laboratoire de technologie alimentaire et nutrition et M. KARAM Noureddine, Professeur à l'université d'Oran et responsable du laboratoire de biologie des micro-organismes et biotechnologie qui ont accepté d'examiner ce travail, et pour m'avoir accueillie au sein de leurs laboratoires.

Mes remerciements les plus sincères vont également à M. HOMRANI Abdelkader maître de conférences à l'université de Mostaganem qui a accepté d'examiner mon travail.

Je tiens également à remercier M. AMRANI Mohamed pour son implication et son énergie dans la réalisation technique des expériences nécessaires au bon déroulement de ce sujet, et M. MEDJAHED Mustapha pour le temps passé à l'analyse statistique.

Je tiens également à remercier l'équipe de la ferme au niveau de Hassi Mameche.

Enfin, Je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont aidée de près ou de loin à parcourir le long chemin du Mémoire sans oublier le directeur du laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem M. BEN MEHDI Tarek et M^{elle} BOUSSEROUEL Aïcha.

Dédicace

Je dédie le fruit de mes trois ans d'étude

- ✿ *A mes chers parents pour avoir accepté de consentir un si lourd sacrifice, à gérer financièrement et moralement mes travaux pendant ces années.*
- ✿ *A mes chers Sœurs et frères.*
- ✿ *A la mémoire de mon grand-père Ahmed.*
- ✿ *A mes deux Grands -mères et mon grand-père Larbi que dieu les protège.*
- ✿ *A toute la famille DRIZI et BELABDI.*
- ✿ *A mes chères amies qui m'ont soutenue et m'ont encouragée pendant toute la période de réalisation de ce travail sans exception.*
- ✿ *A toute ma promotion de magister et à tous mes enseignants.*

Résumé

Les œufs sont une source importante des composés biologiquement actifs qui sont bénéfiques pour la santé humaine et sont largement utilisés par les industries pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires, il devient donc impératif de fournir des œufs de bonne qualité. Dans le but de comparer entre trois populations aviaires (poules locales connue « CN », poules locales normales « PL » et souche sélectionnée « SS ») cette étude a été faite.

Les paramètres morpho-pondéraux des œufs présentent une différence pour tous les caractères entre les œufs des poules CN et PL sauf pour le poids de la coquille et la longueur de l'œuf ce qui explique l'existence d'une certaine variabilité chez PL. Les œufs CN et SS diffèrent dans les poids de l'albumen et de vitellus. Les œufs PL et SS diffèrent dans le poids total, poids de l'albumen et la largeur de l'œuf.

La comparaison des teneurs en lipides totaux (en g / 100g des parties comestibles) a présenté une différence significative entre CN et les deux autres populations (10,12g; 9,53g ; 9,44g pour les œufs CN, PL et SS respectivement) alors que les teneurs en protéines totales (en g/ 100g des parties comestibles) n'ont pas présenté une différence (13,07g ; 13,18g et 13,73g pour les œufs CN, PL et SS respectivement).

Enfin l'électrophorèse SDS-PAGE nous a permis de séparer quatre protéines importantes : L'ovomucine, l'ovo flavoprotéine, l'ovalbumine et la dernière correspond aux lysozymes.

Mots clés : Œufs, poules, lipides, protéines.

Summary

Eggs are an important source of biologically active compounds that are beneficial to human health and are widely used by the pharmaceutical, cosmetics and food, it becomes imperative to provide good quality eggs. In order to compare between three avian population's (naked neck chickens "NN", normal local chickens "LC" and selected strains "SS") this study was done.

Morpho-weight parameters of eggs have shown a difference for all characters between CN and PL except for the shell's weight and length which explains the existence of a certain genetic variability in PL. CN and SS eggs are different in the weight of albumen and yolk. PL and SS eggs are different in the total weight, albumen weight and width.

Comparing the levels of total lipids (g / 100g of edible parts) showed a significant difference between CN and the other two populations (10.12 g, 9.53 g, 9.44 g for CN, PL and SS eggs respectively) while the levels of total protein (g / 100g of edible parts) have not shown a difference (13.07 g, 13.18 g and 13.73 g for CN, PL and SS eggs respectively).

Finally, the SDS-PAGE electrophoresis allowed us to separate four major proteins. Ovomucin, the ovoflavoprotein, albumin, and the latter correspond to lysozyme.

Keywords: eggs, chickens, lipids, proteins.

تلخيص

البييض مصدر هام من المركبات النشطة بيولوجيا التي تعود بالفائدة على صحة الإنسان، وتستخدم على نطاق واسع من قبل الأدوية ومستحضرات التجميل والمواد الغذائية، لهذا اصبح من الضروري توفير بييض ذو نوعية جيدة. من أجل المقارنة بين ثلاثة سلالات من الدواجن (الدجاجات المحلية عارية العنق "CN" الدجاجات العادية المحلية «PL» سلالة المنتقاة «SS») قمنا بهذه الدراسة.

وقد أظهرت المعلمات المورفولوجية للبيض فرق كبير لكافة الصفات بين دجاجات الرقبة العارية و الدجاجات المحلية العادية باستثناء وزن القشرة وطول البيضة وهو ما يفسر وجود تنوع بين مختلف الدجاجات المحلية. المقارنة بين بييض دجاجات الرقبة العارية و السلالة المنتقاة أظهرت فرق في ما يتعلق بوزن البياض والصفار. المقارنة بين الدجاجات المحلية العادية والمنتقاة أظهرت فرق في الوزن الكلي ووزن البياض و قطر البيضة

مقارنة محتوى البيضة من الدسم الكلية (غ / 100 غ من الأجزاء الصالحة للأكل) أظهرت فارقا كبيرا بين CN و الدجاجات الأخرى (10.12 غ، 9.53 غ، 9.44 غ بالنسبة لـ CN، PL و SS على التوالي) في حين لم تظهر كمية البروتينات الكلية (غ / 100 غ من الأجزاء الصالحة للأكل) أي فرق (13.07 غ، 13.18 غ، 13.73 غ بالنسبة لـ CN، PL و SS على التوالي)

أخيرا، سمحت لنا تقنية فصل البروتينات بإيجاد أربع بروتينات رئيسية. الاوفوميسين الاوفوفلافوبروتين الاوفاليمين و منطقة اخيرة تخص الليزوزومات

كلمات البحث: البيض والدجاج، والدهون، والبروتينات.

Sommaire

Introduction générale

Partie bibliographique

Chapitre I : Formation, structure et composition de l'œuf

1. Anatomie et formation de l'appareil génital femelle	02
1.1. Développement de l'appareil reproducteur durant la vie embryonnaire	03
A / Mise en place de l'ovaire	03
B / Mise en place de l'oviducte	03
1.2. Développement de l'appareil reproducteur après éclosion	03
1.3. Anatomies de l'ovaire et de l'oviducte	03
A- L'infundibulum	04
B- Le magnum	04
C- L'isthme	04
D- L'utérus	04
E- La jonction utéro-vaginale	05
F- Le vagin	05
2. Formation de l'œuf	05
2.1. Formation du jaune sur l'ovaire	05
2.2. Dépôt des constituants de l'œuf dans l'oviducte	07
A- L'infundibulum	07
B- Le magnum	07
C- L'isthme	09
D- L'utérus	09
E- Le vagin	09
3. Structure interne de l'œuf	10
3.1. Le vitellus	11
3.2. L'albumen	11
A- L'albumen liquide externe	11
B- L'albumen épais ou dense	12
C- L'albumen liquide interne	12
D- Les chalazes	12
3.3. Les membranes coquillières	12

3.4. La coquille	12
A- La couche mamillaire	12
B- La couche spongieuse	13
3.5. La cuticule	13
4. Composition et valeur nutritionnelle de l'œuf	14
4.1. Protéines d'œuf de poule	14
4.2. Lipides de l'œuf	15
4.3. Glucides	17
4.4. Minéraux	18
4.5. Vitamines	18
4.6. Pigments	19

Chapitre II : Qualité de l'œuf et facteurs de variation

1. Qualité de l'œuf	22
A- Le producteur d'œufs de consommation	22
B- Pour l'accoureur	22
C- Pour le consommateur d'œuf en coquille	22
D- Pour l'industrie	22
2. Méthodes d'estimation de la qualité des œufs	23
2.1. Le mirage	23
2.2. Le calibrage des œufs	23
A- Le poids à maturité	23
B- La maturation sexuelle	23
C- La nutrition	23
2.3 Estimation de la qualité de la coquille	24
2.4 Estimation de la qualité de l'albumen	25
2.5 Estimation de la qualité du vitellus	25
2.6 Estimation des inclusions	25
3. Facteurs de variation de la qualité de l'œuf	25
3.1-Effets du poids de l'œuf et de l'âge de la poule	26
3.2-Facteurs de l'origine génétique des animaux et de la sélection	27
3.3-Effets de la saison et de la température	29
3.4-Effets du mode d'élevage des animaux	30

3.5-Effets de l'alimentation	30
A- Rôle des protéines du régime	30
B- Rôle des lipides de régime	31
C- Effet des glucides	31
D- Effet des minéraux et vitamines alimentaires	31
E- Effet de résidus contaminants dans les œufs	31

Chapitre 111 : Electrophorèse des protéines SDS-PAGE

1. Relation entre polymorphisme protéique et variabilité génétique	34
2. Principe de l'électrophorèse	35
3. Intérêt de l'électrophorèse	35
4. Principes de base	36
4-1-Caractéristiques des protéines affectant la séparation	36
A- Charge	36
B- Taille	36
C- Hétéroprotéines	37
4-2 Facteurs physico-chimiques affectant la migration	37
4-3 Effets des conditions physiques et chimiques sur la polymérisation	38
4-4 Préparation des échantillons et conditions de migration	38
5. Méthodologie et techniques	40

Partie expérimentale

Chapitre IV : Matériels et méthodes

1. Objectif de travail	46
2. Phénotypes comparés, âge, conditions d'élevage	46
3. Les méthodes d'analyse	46
3.1. Mesures des paramètres morpho-pondéraux des œufs	46
3.2. Dosage des lipides totaux à froid par la méthode de Folch	47
A- préparation des solutions de NaCl à 0.73% et à 0.58%	47
B- Préparation de la solution de Folch	47
C- Méthode de dosage	47
3.3. Dosage des protéines totales par la méthode de Bradford (méthode du bleu de Coomassie)	48
A- Principe d'une gamme étalon et d'un droit étalon	48

B- Préparation d'une gamme étalon	49
C- Préparation des échantillons à doser	49
3.4. Electrophorèse des protéines de l'œuf	50
A- Préparation du matériel	50
B- Montage	50
C- Préparation des échantillons	51
D- Dépôt des échantillons et migration	52
E- Révélation	53

Chapitre V : Résultats et discussion

1. Comparaison des paramètres morpho-pondéraux	55
1.1. La taille des œufs	55
1.2. Le poids total des œufs	55
1.3. La masse de la coquille	56
1.4. La masse du vitellus	56
1.5. La masse de l'albumen	56
2. Comparaison des teneurs en lipides totaux	58
3. Comparaison des teneurs en protéines totales	60
3.1-Gamme étalon	60
3.2. La courbe d'étalonnage	60
3-3. calcul de la quantité des protéines en g/100g des parties comestibles	60
4. Profil protéiques des protéines de blanc d'œufs des trois populations CN, PL et SS	62

Conclusion finale	68
--------------------------	----

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Tableau 01 : Composition du jaune d'œuf en pourcentage de la matière sèche	06
Tableau 02 : Principales protéines du blanc d'œuf	08
Tableau 03 : Les dimensions moyennes de l'œuf de poule	10
Tableau 04 : Proportions des différentes parties de l'œuf de poule	11
Tableau 05 : Composition moyenne d'un œuf de poule en % de poids	14
Tableau 06 : Composition des parties comestibles d'un œuf de poule de 60 g	20
Tableau 07 : Les différentes catégories des œufs de poule	24
Tableau 08 : Exemples d'effets de températures élevées sur la part relative de chaque constituant de l'œuf	29
Tableau 09 : Effet du taux protidique du régime sur le poids de l'œuf et de ses constituants	31
Tableau 10 : Comparaison des paramètres morpho-pondéraux des œufs CN, PL et SS	57
Tableau 11 : Comparaison des teneurs en lipides totaux des œufs de poules CN, PL et SS (en g / 100g de parties comestibles)	59
Tableau 12 : La gamme étalon	60
Tableau 13 : Teneurs en protéines totales des œufs des poules NA, PL et SS (en g/ 100g des parties comestibles)	61
Tableau 14 : les différentes bandes observées et leurs protéines correspondantes	64

Liste des figures

Figure 01 : Représentation de l'ovaire et de l'oviducte de poule mature	02
Figure 02 : Cinétique des dépôts et lieu de formation de l'œuf de poule	09
Figure 03 : Principaux constituants de l'œuf	14
Figure 04 : Influence de l'âge des animaux sur la hauteur du blanc d'œuf (convertie en unités Haugh)	27
Figure 05 : dispositif de l'électrophorèse	42
Figure 06 : Un exemple d'un gel électrophorétique	43
Figure 07 : le matériel de l'électrophorèse	50
Figure 08 : Dépôt des échantillons	52
Figure 09 : la migration	53
Figure 10 : courbe d'étalonnage	60
Figure 11 : représentation des différentes bandes du marqueur de taille	62
Figure 12 : Analyse SDS-PAGE des protéines de blanc d'œuf de poules NA, PL et SS sur gel de polyacrylamide à 15%	63

Liste des Abréviations

BSA : Albumine sérique bovine

CN : poules cou nu

Na : gène cou nu

PAGE : électrophorèse sur gel de polyacrylamide

PL : poules locales

SDS : dodécylsulfate de sodium

SS : souche sélectionnée

TCA : Acide trichloracétique

TEMED : N, N, N', N'-tetraméthyl-éthylène diamine

Tris : tris hydroxy-méthyl-éthylène diamine

Introduction générale

Introduction

L'œuf de poule est un ovocyte télolécithe, contenant une très grande quantité de vitellus, réserves nutritionnelles qui assureront entièrement le développement de l'embryon jusqu'à l'éclosion. Ainsi, l'œuf est entouré d'une barrière physique protectrice, la coquille d'œuf, qui permet de définir le milieu dans lequel l'embryon se développera (Jonchère, 2010).

La génétique a largement contribué au développement considérable de la filière avicole, notamment du fait des caractéristiques biologiques des espèces avicoles, particulièrement favorables à la sélection. Les demandes actuelles des consommateurs et des professionnels de la filière avicole amènent le généticien à considérer de nouveaux caractères : qualité des produits, résistance aux maladies (infectieuses ou non), réduction des rejets d'effluents, bien-être des animaux... En parallèle les méthodes d'analyse progressent vers une meilleure modélisation des caractères et des effets génétiques mais aussi vers une intégration des résultats de génétique moléculaire. L'ensemble permet non seulement d'introduire en sélection de nouveaux critères, mais aussi de renouveler l'étude des caractères déjà sélectionnés, tels que la croissance ou la ponte (Beaumont et Chapuis, 2003).

L'amélioration génétique de la production d'œufs chez la poule repose généralement sur l'utilisation des critères «nombre d'œufs» ou «intensité de ponte» déterminés sur une ou plusieurs périodes, auxquels sont associés des critères de poids, de qualité de l'œuf et d'efficacité alimentaire. Parmi les alternatives à la sélection, on peut envisager d'une part l'utilisation de gènes majeurs comme le gène de nanisme lié au sexe (DW), qui améliore l'efficacité alimentaire de la pondeuse, ou le gène Cou nu (Na), qui améliore le poids de l'œuf, et d'autre part le choix de critères plus proches du rythme de ponte, comme la longueur des séries de ponte ou l'intervalle entre ovipositions (Mcclung *et al.*, 1976 ; Yoo *et al.*, 1984 ; Lillpers et Wilhelmson, 1993 cité par Boichard, 2003).

La variabilité génétique de la couleur de la coquille, de la proportion de jaune et de la composition en lipides du jaune a été explorée, chez la poule, par la sélection expérimentale et l'étude des races locales. Cependant, les gènes contrôlant les caractères de ponte et de la qualité technologique de l'œuf sont encore mal connus.

Le blanc de l'œuf des oiseaux ou albumen est un mélange de diverses protéines qui assurent des fonctions variées au cours du développement embryonnaire : réserve d'acides aminés, stockage du fer, activité antimicrobienne, activité antiprotéase, etc. L'électrophorèse permet de les séparer et de les identifier car elles diffèrent notamment par leur masse

moléculaire et par leur charge électrique. Ceci permet d'illustrer la variabilité individuelle toute relative de l'expression des gènes, notamment lorsque les animaux proviennent d'un élevage industriel. Il peut être intéressant de comparer des œufs provenant d'élevages industriels avec des œufs provenant d'une basse-cour artisanale dans le but de comparer la variabilité génétique, généralement plus élevée dans ce dernier cas.

Dans le présent travail nous avons voulu observer cette variabilité entre trois populations dont les deux premières appartiennent aux poules algériennes locales (la première possède le gène cou nu et la deuxième comporte les autres poules locales qui ne possèdent pas ce gène) en comparaison avec une troisième population qui provient de la sélection (ou dite commerciale).

Dans la partie bibliographique du présent travail, nous avons recueilli des informations sur la formation et la composition de l'œuf, puis nous avons parlé en deuxième chapitre sur la qualité de l'œuf et les facteurs qui sont responsables de sa variation. Nous avons développé ensuite un dernier chapitre sur la technique de l'électrophorèse en conditions dénaturantes SDS-PAGE.

Concernant la partie expérimentale du présent travail, nous nous sommes tout d'abord intéressés à l'étude de quelques paramètres morpho-pondéraux directement liés à l'œuf (longueur, largeur, poids total, poids de blanc, poids de jaune et poids de la coquille), puis nous avons étudié quelques paramètres physico-chimiques par un dosage des lipides totaux après leurs extractions (Méthode de Folch) et un dosage colorimétrique des protéines totales (Méthode de Bradford).

Nous nous sommes, à la fin du travail, penchés sur la réalisation d'une électrophorèse des protéines du blanc d'œuf en nous intéressant à la comparaison des profils protéiques de ces trois populations à l'aide d'un marqueur de taille, et nous avons pu envisager leur séparation en conditions dénaturantes par électrophorèse SDS-PAGE.

Chapitre I

Formation, structure et composition de l'œuf

1. Anatomie et formation de l'appareil génital femelle

En opposition avec la symétrie de l'appareil génital des femelles des mammifères, celui des oiseaux est dissymétrique, la partie droite du tractus génital (ovaire et oviducte) est restée à l'état vestigial alors que la partie gauche occupe progressivement un volume important (Brugère, 1988).

L'appareil reproducteur des oiseaux femelles est composé de deux parties l'ovaire et l'oviducte. Chez la poule comme dans la plupart des espèces aviaires, l'appareil génital femelle est composé uniquement de l'ovaire et de l'oviducte gauche. La figure 01 illustre les différentes parties de l'oviducte et de l'ovaire d'une poule en production.

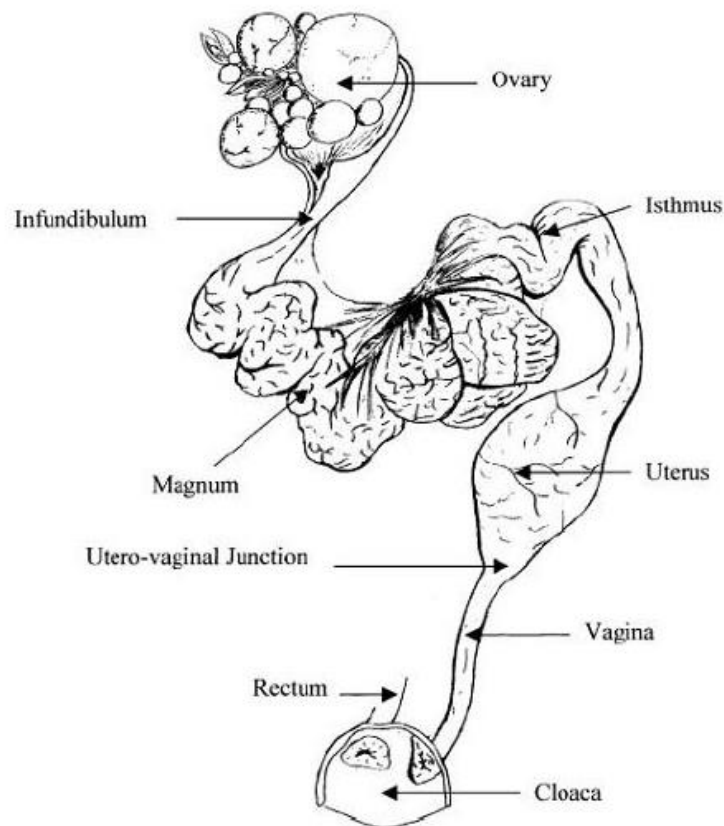


Figure 01 : Représentation de l'ovaire et de l'oviducte de poule mature (Nys *et al.*, 2004).

1.1. Développement de l'appareil reproducteur durant la vie embryonnaire

A / Mise en place de l'ovaire

Jusqu'au 3^{ème} jour de la vie embryonnaire, les cellules germinales primordiales (futurs gamètes), s'accumulent à gauche et à droite de l'embryon, puis, au-delà du 8^{ème} jour l'apport se concentre à gauche. A ces cellules germinales, s'ajoutent des cellules de l'épithélium cœlomique (cellules somatiques), qui se différencieront en cellules de la granulosa. La différenciation sexuelle gonadique est accomplie au 7^{ème} jour et seule la gonade gauche se développe en ovaire, tandis que la gonade droite régresse (Jonchère , 2010).

B / Mise en place de l'oviducte

Durant les 4 premiers jours de la vie embryonnaire, un groupe de cellules également issues de l'épithélium cœlomique, migre et s'accumule de façon symétrique à gauche et à droite de l'embryon (Guioli *et al.*, 2007). L'oviducte droit cesse de croître au 8^{ème} jour. Celui-ci régressera ensuite jusqu'à ne constituer qu'un résidu de tissu médullaire au moment de l'éclosion. L'oviducte gauche sera le seul à se développer et constituera à l'âge adulte l'appareil génital fonctionnel. L'oviducte gauche se régionalisera en plusieurs segments, qui constitueront l'infundibulum, le magnum, l'isthme, l'utérus et le vagin (Jonchère ,2010).

1.2. Développement de l'appareil reproducteur après éclosion

Lors de l'éclosion, l'ovaire contient principalement du tissu conjonctif et a l'aspect d'un triangle plat de 6 à 7 mm. A 3 mois, il atteint une taille d'environ 1 cm et est constitué d'une partie centrale très irriguée, la médulla, et d'une partie périphérique, le cortex, qui prend un aspect granuleux dès 5 semaines d'âge lors du développement progressif des follicules. L'ovaire présente une croissance très rapide entre 16 et 20 semaines, passant de 5 à 60 g et pouvant atteindre 120 à 150 g chez une poule reproductrice. Après éclosion, la croissance de l'oviducte est sensiblement proportionnelle à celle de l'ovaire, qui tous deux sont sous la dépendance des sécrétions stéroïdiennes ovariennes. Chez l'embryon, l'oviducte a l'aspect d'un fil et pèse quelques mg. Sa croissance et sa différenciation cellulaire se produisent essentiellement lors de la maturité sexuelle, 2 à 3 semaines avant la production du 1^{er} œuf. Son poids augmente alors de moins de 1 g à plus de 40 g en 2 semaines; sa taille passe de 12-15 cm à 70 cm (Jonchère, 2010).

1.3. Anatomies de l'ovaire et de l'oviducte

L'ovaire est situé dans la partie médio ventrale de l'abdomen. A l'âge adulte, l'ovaire est un organe largement différencié qui assurera deux rôles : une fonction de reproduction liée à la production de gamètes et une fonction endocrine liée à la production d'hormones.

Formation, structure et composition de l'œuf

Il est constitué de deux régions bien distinctes, une enveloppe externe ou cortex qui entoure une partie centrale très vascularisée : la zone médullaire. Dans la zone médullaire, se trouvent les vaisseaux sanguins et lymphatiques. La zone corticale contient les follicules ovariens, siège de l'ovogenèse et de la folliculogenèse. C'est le lieu de formation du jaune. L'oviducte est le lieu de dépôt des autres constituants de l'œuf. Il est en position latérale gauche, replié contre la paroi de l'abdomen. L'irrigation artérielle de l'oviducte se fait à quatre niveaux à partir du système artériel général. L'innervation de la partie distale est particulièrement développée : elle joue un rôle essentiel dans la progression de l'œuf en formation (Jonchère , 2010).

De l'ovaire au cloaque, on distingue 6 régions anatomiques successives.

A- L'infundibulum (également appelé pavillon), est situé dans la partie haute de l'oviducte. En forme d'entonnoir et ouvert à son extrémité la plus large, il capte l'ovocyte au moment de l'ovulation. Sa paroi est particulièrement fine et sa muqueuse contient plusieurs catégories cellulaires ayant pour les unes une fonction sécrétoire (dépôt des protéines formant la membrane périvitelline externe de l'œuf), et pour les autres une fonction de stockage des spermatozoïdes (glandes infundibulaires) (Jonchère , 2010).

L'infundibulum est le lieu de la fécondation de l'œuf.

B- Le magnum, d'une longueur de 30 à 35 cm chez une poule adulte, est la zone dans laquelle l'albumen (ou blanc), est synthétisé puis déposé. Dans sa partie inférieure, le magnum est séparé de l'isthme par un net rétrécissement en diamètre ; la partie interne ne laissant plus paraître de replis dans cette zone (Jonchère , 2010).

C- L'isthme, est moins long (environ 15 cm), et légèrement plus étroit que le magnum. Les replis internes de sa muqueuse sont également moins prononcés. De couleur très comparable à celle du magnum dans la partie haute, la muqueuse devient rougeâtre dans la région proche de l'utérus. Les deux régions sont ainsi respectivement appelées isthme blanc et isthme rouge (Jonchère , 2010).

D- L'utérus (également appelé glande coquillière), est la partie la plus épaisse de l'oviducte. De forme plus ou moins arrondie, ses parois épaisses sont entourées d'une musculature très développée. La muqueuse utérine, de couleur rouge foncée, est formée de nombreux replis recouverts d'un épithélium de surface, parsemé de nombreuses glandes tubulaires ramifiées responsables de la sécrétion des constituants de la coquille. Cette muqueuse se distingue nettement de la muqueuse utéro-vaginale par l'absence d'orientation des replis (Jonchère, 2010).

E- La jonction utéro-vaginale, d'une longueur de 1 à 2 cm seulement et de forme évasée se rétrécissant dans la partie basse. Elle est rattachée à l'utérus par une structure fibreuse épaisse, qui l'accrole plus ou moins contre celui-ci. Cette région joue un rôle essentiel dans le stockage prolongé des spermatozoïdes (Bakst *et al.*, 1994).

F- Le vagin, d'une longueur d'une dizaine de centimètres, est la partie la plus distale de l'oviducte et débouche dans le cloaque (Figure 01). Il est constitué d'une couche importante de tissus musculaires qui permettront l'expulsion finale de l'œuf (Jonchère , 2010).

2. Formation de l'œuf

Les constituants de l'œuf de poule sont élaborés en 2 phases distinctes. Une phase longue au niveau de l'ovaire qui correspond au dépôt des constituants du jaune. Une phase courte d'environ 24 heures qui se produit dans l'oviducte après ovulation du jaune et dépôts des autres constituants de l'œuf dans les différents segments de l'oviducte (Jonchère , 2010).

2.1. Formation du jaune sur l'ovaire

A la naissance, les ovocytes primaires présents dans l'ovaire (12000 environ), constituent le stock définitif de gamètes pour la poule. A ce stade, les entrées en méiose des ovocytes sont terminées et leurs noyaux se trouvent dans la prophase de la première division méiotique. Seuls quelques-uns (moins de 2000), feront l'objet d'un développement aboutissant à la production d'un jaune au cours des différents cycles de production de la poule (7 à 10 cycles possibles). La phase initiale d'accroissement lent affecte l'ensemble des ovocytes, et correspond à une individualisation des ovocytes par la mise en place de l'épithélium folliculaire au cours des premières semaines après éclosion, puis à une accumulation de protéines issues de la granulosa ou du fluide périvitellin. Un grand nombre de ces follicules disparaît par atrophie à ce stade, ou à une phase ultérieure du développement. Un nombre limité de follicules poursuit leur croissance par accumulation de matériel protéique puis lipidique (Jonchère , 2010).

On assiste ensuite au recrutement d'un groupe de follicules pré-antaux qui quittent par vagues successives la réserve des follicules en croissance. Ce recrutement est dû en majeure partie à la FSH (hormone folliculo-stimulante), et se produit au cours de plusieurs cycles précédents l'ovulation (au moins 3). Parmi la cohorte de follicules recrutés, la sélection d'un seul follicule dominant est principalement due à la diminution de la FSH. Le follicule préovulatoire augmente considérablement en taille au cours de la phase de croissance rapide de l'ovule. La division réductionnelle se réalise dans le follicule prêt à ovuler quelques heures avant l'ovulation. Cette reprise de la méiose est déclenchée par la décharge préovulatoire de LH (hormone lutéinisante) par l'hypophyse, environ 6 h avant l'ovulation (Etches, 1996).

Formation, structure et composition de l'œuf

La production pratiquement journalière d'un œuf, est rendue possible grâce au développement simultané sur l'ovaire d'un ensemble d'environ huit follicules répartis selon une hiérarchie précise, aboutissant à la présence régulière d'un seul follicule prêt à ovuler. Parallèlement à cette acquisition de compétences de l'ovocyte, on assiste à la vitellogenèse. Celle-ci correspond à une accumulation du vitellus (jaune) dans l'ovocyte. La vitellogenèse comprend trois étapes :

- la phase initiale, « d'accroissement lent » coïncidant avec le dépôt de quelques gouttelettes lipidiques (4 à 5 mois),
- la phase « intermédiaire » coïncidant avec le dépôt des protéines (60 jours),
- la phase de « grand accroissement » où la croissance s'accélère rapidement par dépôt de protéines et de lipides (6 à 14 jours).

Tableau 01 : Composition du jaune d'œuf en pourcentage de la matière sèche
(Sauveur, 1988).

Constituants	Proportion (%)
Lipides	63
Protéines	33
Vitelline	4 à 15
Vitellinine	8 à 9
Livétines	4 à 10
Phosvitine	5 à 6
Minéraux	2,1
Vitamines	1,5
Glucose libre	0,4

Tous les lipides du jaune sont associés à des protéines, constituant ainsi des lipoprotéines. Ceux du jaune sont synthétisés dans le foie, puis transportés vers l'ovaire sous forme de vitellogénine et de VLDL (lipoprotéines de très basse densité) (Leclercq *et al.*, 1990 ; Nimpf et Schneider, 1998). Ces précurseurs sont transférés après fixation sur des récepteurs spécifiques de l'ovocyte, par endocytose. Par spectrométrie de masse, il a été identifié 255 protéines dans le jaune (Mann et Mann, 2008 ; Farinazzo *et al.*, 2009). Ces études ont confirmé la présence dans le jaune de protéines majeures (sérum albumine, apovitellénines, phosvitine, glycoprotéines du jaune, vitellogénines), mais aussi de protéines liant des vitamines (retinol, vitamine D, biotine, riboflavine), d'immunoglobulines Y, de protéases (nothepsine et thrombine), d'antiprotéases, d'enzymes antioxydantes et de protéines du sérum sanguin.

C'est également au niveau de l'ovaire, que le jaune est entouré de la membrane vitelline interne sécrétée par les cellules de la granulosa (Bellairs *et al.*, 1963). L'ovulation correspond à la rupture du follicule et à la libération de l'ovocyte dans l'infundibulum. L'ovulation du jaune précède l'oviposition (ponte), de 24 à 26 heures et se produit 15 à 45 min après l'oviposition de l'œuf précédent (Sauveur, 1988 ; Etches, 1996).

2.2. Dépôt des constituants de l'œuf dans l'oviducte

Entre l'ovulation ou émission de l'ovule et la ponte s'écoulent de 24 à 26 heures pendant lesquelles se formeront les membranes et coquilles de l'œuf. L'oviducte de poule présente plusieurs régions ayant chacune un rôle précis : Lors de l'ovulation, le jaune est libéré et est capté par l'oviducte. Il y a alors dépôts successifs des autres constituants de l'œuf dans les segments de l'oviducte au cours d'un processus qui durera 24 à 26 heures (Figure 02).

A- L'infundibulum : L'ovule est capté à ce niveau puis franchit l'endroit en une vingtaine de minutes (Tétry; Crimail, 1981). Le jaune ovulé ne séjourne que quelques minutes dans l'infundibulum. Il est le siège éventuel de la fécondation. C'est dans l'infundibulum que la membrane vitelline externe est déposée à partir des sécrétions infundibulaires (Bain et Hall, 1969). L'ensemble des membranes vitellines ont une épaisseur totale de 8 à 11 μm . Elles sont constituées de glycoprotéines, qui pourraient s'apparenter aux protéines majeures de la zone pellucide (Takeuchi *et al.*, 1999). Une étude protéomique récente a identifié 137 protéines comme étant des composants des membranes vitellines, dont seulement 13 avaient été identifiées au préalable (Mann, 2008). La plupart de ces protéines sont également identifiées dans le jaune, le blanc et la coquille d'œuf. Cette analyse protéomique identifie un total de 8 protéines de la zone pellucide, dont 5 non identifiées au préalable dans les membranes vitellines de l'œuf.

B- Le magnum : L'œuf en formation pénètre dans le magnum environ 20 minutes après l'ovulation et ressort 3 h 30 plus tard. Le jaune s'entoure alors des protéines du blanc (albumen). L'albumen ne contient pas de lipides et est constitué à 88% d'eau, de protéines (90% de la matière sèche), et de glucose libre (3,5% de la matière sèche). On distingue 4 zones dans le blanc d'œuf (Gilbert, 1971 ; Sauveur, 1988) :

- le blanc liquide interne présent entre le blanc épais et le jaune (17%).
- le blanc épais attaché aux deux extrémités de l'œuf et présentant l'aspect d'un gel (57%).
- le blanc liquide externe au contact des membranes coquillières (23%).
- les chalazes, filaments spiralés allant du jaune vers les deux extrémités de l'œuf à travers le blanc et assurant sa suspension (3%).

Formation, structure et composition de l'œuf

La texture «gélifiée» du blanc épais et des chalazes est due à un enrichissement en ovomucine de ces zones et à son niveau de glycosylation. Toutes les protéines de l'albumen sont synthétisées puis sécrétées localement par le magnum. Les protéines du blanc, synthétisées par les glandes tubulaires et épithéliales, s'accumulent dans le cytoplasme sous forme de grains de sécrétion et dans les canaux tubulaires avant le passage de l'œuf (Etches, 1996 ; Nys *et al.*, 2004). La distension associée au passage de l'œuf en formation provoque la sécrétion rapide de ces protéines. Le tableau 02 indique les protéines majeures du blanc d'œuf.

Tableau 02 : Principales protéines du blanc d'œuf (Li-Chan et Nakai, 1989)

Protéine	% des protéines totales	Caractéristiques importantes
ovalbumine	54	phosphoglycoprotéine immunogénique
ovotransferrine	12	fixe le fer, antimicrobien
ovomucoïde	11	inhibiteur de trypsine
ovomucine	1,5-3,5	viscosité; hémagglutination virale
lysozyme	3,4-3,5	lyse les parois des bactéries Gram+ ; antimicrobien
globuline G1	4	antibactérien
globuline G2	4	antibactérien
ovoinhibiteur	0,1-1,5	inhibiteur de protéase à serine
ovoglycoprotéine	0,5-1,0	
flavoprotéine	0,8	fixe la riboflavine
ovomacroglobuline	0,5	propriétés antigéniques
cystatine	0,005	inhibiteur des protéases à SH
avidine	0,005	fixe la biotine ; antimicrobien

La composition du blanc d'œuf a récemment été complétée par des analyses protéomiques (Guerin-Dubiard *et al.*, 2006 ; Mann, 2007 ; D'Ambrosio *et al.*, 2008). Ces études ont permis l'identification d'un total de 148 protéines différentes. Parmi celles-ci, il est intéressant de noter la présence de nombreuses protéines présentant des activités antimicrobiennes potentielles ou avérées.

C- L'isthme : Il est moins contourné et reçoit l'œuf durant 01 heure pendant laquelle se déposent les fibres de kératine qui formeront la double membrane coquillière. Ces dernières

Formation, structure et composition de l'œuf

sont encore plissées à la sortie de l'isthme, elles sont accolées sur toute leur surface à l'exception de la chambre à air (Tétry ; Crimail, 1981).

D- L'utérus : L'œuf y séjournera de 20 à 22 heures, à ce niveau l'albumen est achevé par imbibition (les 50-60% restants), il y a apport d'une solution saline qui hydrate l'albumen et lui donne son volume définitif.

Les membranes coquillières sont formées en 03 couches successives :

- Une couche mamillaire,
- Une couche spongieuse,
- Une couche cuticulaire qui peut fixer des pigments.

La coquille minéralisée se dépose, elle est composée de sels de calcium d'où l'apport important de calcium au moment de la ponte (Wolff cité par Tétry ; Crimail, 1981).

E- Le vagin : L'œuf y séjourne environ un quart d'heure, il assure le transit de l'œuf vers l'extérieur lors de l'oviposition (ponte). L'évagination de cette dernière portion évite le contact direct avec les parois du cloaque et les souillures d'origine fécale (Tétry ; Crimail, 1981).

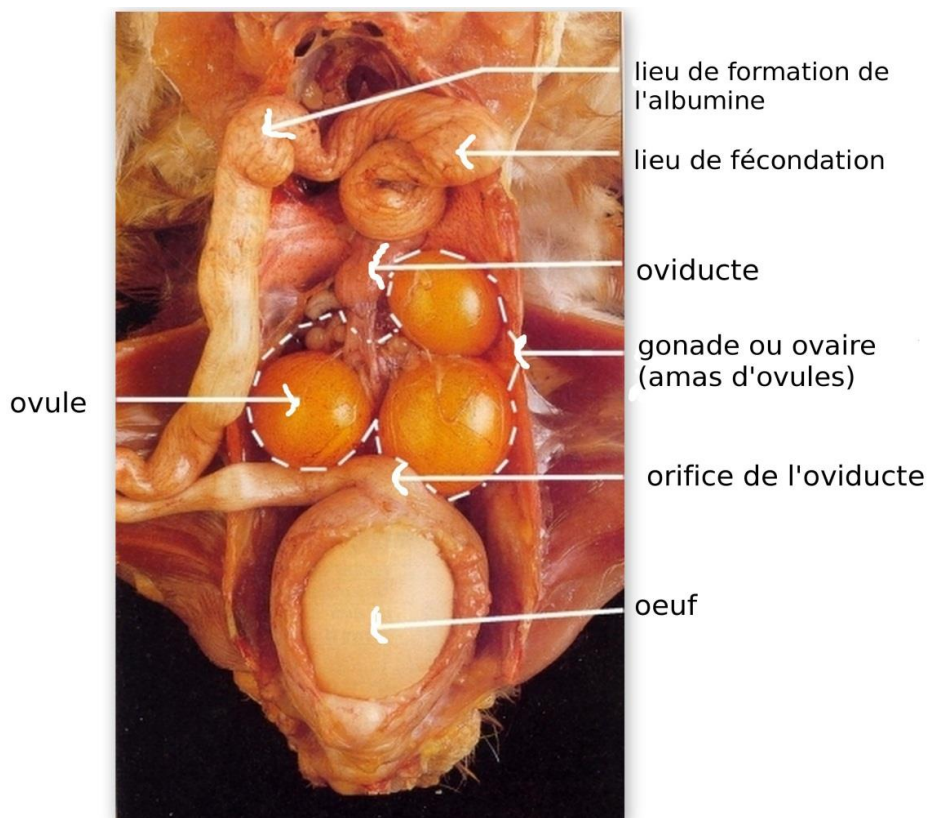


Figure 02 : Cinétique des dépôts et lieu de formation de l'œuf de poule (Anonyme 1).

3. Structure interne de l'œuf

L'œuf d'oiseau se caractérise par l'abondance des éléments de réserve ; le jaune s'élabore au niveau de l'ovaire et le blanc et la coquille se forment autour de l'œuf pendant le passage dans l'oviducte.

L'accroissement de l'ovocyte est rapide, en effet une semaine avant l'ovulation chez la poule, son poids passe de 0.2g à près de 16g, le diamètre augmente chaque jour de 0.4mm. La croissance est continue ; pendant la nuit le vitellus contenant d'avantage de protéines et d'eau que de lipides forme des couches minces de vitellus clair ; dans la journée l'alimentation apportant des lipides et des pigments caroténoïdes ; il se dépose alors des couches épaisses de vitellus jaune (Gallien cité par Tétry ; Crimail, 1981).

Dans la partie centrale où se trouvait la vésicule germinative, le premier vitellus clair élaboré forme la latebra. La vésicule germinative entourée d'un peu de cytoplasme pur étant plus légère glisse vers la surface de l'œuf et l'ensemble constituera la cicatrice ou disque germinatif, la trace de ce déplacement est marquée par une traînée depuis la latebra jusqu'à un épaississement : le noyau de Pander (Rostand cité par Tétry ; Crimail, 1981).

Les dimensions moyennes d'un œuf de poule sont résumées dans le tableau 03.

Tableau 03 : Les dimensions moyennes de l'œuf de poule (Anonyme 2, 2003).

Poids	Grand axe	Petit axe	Grande circ.	Petite circ.	Volume	Surface
60 g	5.8 cm	4.2 cm	16 cm	13 cm	55 cm ²	70 cm ²

Les principales parties de l'œuf sont dans l'ordre de leur dépôt (de l'intérieur vers l'extérieur) :

- le vitellus (ou "jaune"),
- l'albumen (ou "blanc"),
- les membranes coquillières,
- la coquille.

Les parts pondérales relatives de ces constituants de l'œuf de poule sont : coquille 9,5%, albumen 61,5%, vitellus 29%. Se conférer dans le tableau 04.

Tableau 04 : Proportions des différentes parties de l'œuf de poule (Sauveur, 1988).

Parties de l'œuf	Poids (g)	En % de l'œuf total	
	Moyennes	Moyenne	Extrêmes (*)
Coquille	5.50	9.1	8.5-10
Membranes coquillières	0.25 : 5.75	0.4 : 9.5	
Blanc	37	61.5	57-65
Jaune	17.3	29.0	25-33
Sous-total : parties comestibles	54	90.5	89-92
Total	60	100	

(*) A poids d'œuf variable

3.1. Le vitellus

Le vitellus ou "jaune" est constitué d'environ 50% d'eau et 50% de solide dont 99% sont des protéines et des lipides. Les 3/5 de ces protéines sont des lipo- et phosphoprotéines. Le vitellus est également très riche en cholestérol. Rappelons que ces protéines sont d'origine hépatique et constituent la principale source nutritive de l'embryon. Son origine hépatique explique l'importance de l'alimentation tant pour la qualité et la quantité que pour la couleur du vitellus (Anonyme 2, 2003).

Le vitellus est limité par la membrane plasmique de l'ovocyte, lui-même contenu à l'intérieur d'une très fine membrane acellulaire transparente appelée membrane vitelline. Elle est très résistante et perméable à l'eau et aux sels. Elle est composée de 4 couches successives dont les deux plus internes sont d'origine ovarienne (la zona radiata et la couche périvitelline) et les deux plus externes synthétisées par l'infundibulum. A la surface du vitellus est visible un petit disque blanc : le blastodisque; lieu de division des cellules embryonnaires. Lorsque l'œuf est fécondé le blastodisque porte le nom de blastoderme (Anonyme 2, 2003) Le reste de la surface du jaune présente normalement une couleur jaune - orange sans tâche visible. Au centre se trouve la petite masse sphérique du vitellus blanc (centre de la latébra) réunie par une mince colonne (col de la latébra) à un disque conique (disque de la latébra) situé sous le blastodisque. C'est la trace de la migration du noyau de l'ovocyte (Anonyme 2, 2003).

3.2. L'albumen

L'albumen ou "blanc" n'est pas un milieu homogène, mais résulte de la juxtaposition de quatre zones distinctes physiquement (Anonyme 2, 2003).

A- L'albumen liquide externe : Il représente 23% du volume total et se trouve au contact de la membrane coquillière interne, c'est la portion qui s'étale rapidement lorsque l'œuf est cassé.

B- L'albumen épais ou dense : Il représente 57% du volume total. Il est attaché aux deux extrémités de l'œuf et se présente sous la forme d'un gel. Cet albumen épais a tendance à perdre sa structure au cours du temps ; un œuf frais pondu (quelques jours) s'étalera moins lorsqu'il est cassé qu'un œuf pondu quelques semaines auparavant.

C- L'albumen liquide interne : Il représente 17% du volume total, il est enfermé entre le blanc épais et le vitellus.

D- Les chalazes : Ils représentent 3% du volume total, ce sont des sortes de filaments spiralés rattachant le vitellus aux deux extrémités de l'œuf. Ils assurent la suspension du vitellus au centre de la coquille. Leur aspect torsadé provient de la progression en spirale de l'œuf dans le tractus génital et leur rupture conduit à des adhérences du vitellus à la membrane coquillière interne. Ces adhérences peuvent gêner, voire interrompre le développement embryonnaire. C'est pour cette raison, que la poule retourne régulièrement ses œufs durant l'incubation (une opération également réalisée par les couveuses automatiques) (Anonyme 2, 2003).

3.3. Les membranes coquillières

Les deux membranes coquillières ont une épaisseur totale de 70 μm (20 μm pour la membrane interne et 50 μm pour la membrane externe). Chacune est formée d'une superposition de couches de fibres protéiques entrecroisées synthétisées par l'isthme. Elles sont fortement adhérentes l'une à l'autre sauf au niveau de la chambre à air qui n'existe pas au moment de la ponte mais qui apparaît par la suite lorsque le refroidissement de l'œuf après la ponte entraîne une légère contraction de ses constituants (Anonyme 2, 2003).

3.4. La coquille

La coquille a une épaisseur comprise entre 300 et 400 μm . Elle est composée d'une trame protéique sur laquelle se déposent des cristaux de carbonate de calcium (CaCO_3). Cette trame protéique est synthétisée par l'utérus et comprend deux zones (Anonyme 2, 2003) :

A- La couche mamillaire : C'est une juxtaposition de protubérances coniques (mamelons) dont la pointe est constituée de fibres très entremêlées avec celles de la membrane coquillière externe. Ceci permet d'assurer l'adhérence de la coquille à la membrane coquillière externe. Au centre de chaque mamelon se trouve un nodule protéique bien individualisé, le noyau mamillaire, sur lequel débute la calcification (Anonyme 2, 2003).

B- La couche spongieuse : C'est un réseau de fibres protéiques disposées parallèlement à la surface de l'œuf.

La partie minérale de la coquille peut être divisée de la même façon en 04 couches :

- Le capuchon basal des cristaux : c'est la partie minérale qui entoure le noyau mamillaire.

Elle y est accrochée par une association de type "bouton pression" et est la première à se déposer.

- La couche des cônes cristallins : c'est la partie qui poursuit le capuchon basal vers l'extérieur. Elle se dépose sur les fibres de la couche mamillaire.

- La couche palissadique : La calcification se poursuit vers l'extérieur. Cette couche présente un développement linéaire parallèle à la surface de l'œuf et se dépose sur les fibres de la couche spongieuse.

- La couche amorphe : C'est une fine couche minérale qui se dépose à l'extérieur de la couche palissadique. Elle ne possède aucune trame protéique et est formée en partie de phosphate tricalcique. La distribution des noyaux mamillaires engendre des défauts linéaires de calcification : les pores. Ils sont plus particulièrement nombreux au gros pôle de l'œuf où se forme la chambre à air. Ils assurent la respiration de l'embryon durant son développement.

Le calcium nécessaire à la constitution de la coquille provient des ions Ca^{++} du sang. La calcémie augmente en période de ponte (de 100 à 250 mg/litre) sous l'effet des œstrogènes. Ces ions Ca^{++} proviennent de la mobilisation du calcium lié aux protéines sanguines et du calcium osseux mais surtout du calcium alimentaire dont l'efficacité de l'absorption intestinale est augmentée. La coquille renferme 1,6% d'eau et 3,3% de protéines. La partie minérale (95,1%) est essentiellement composée de carbonate de calcium : CaCO_3 .

La pigmentation de la coquille est assurée par des pigments dérivés de l'hémoglobine : les ooporphyrines : Ce sont les cellules de l'utérus qui les élaborent et les déposent sur la coquille (minoritairement au sein de la couche palissadique et plus abondamment au niveau de la couche amorphe et de la cuticule). Le contrôle de la couleur et de la distribution de ces pigments est génétique et est souvent une caractéristique d'espèce. Contrairement à la croyance populaire, la valeur nutritive d'un œuf de poule coloré est, à poids égal, identique à celle d'un œuf blanc (Anonyme 2, 2003).

3.5- La cuticule : Toute la surface de l'œuf est recouverte d'une cuticule organique sécrétée par l'utérus, elle possède une épaisseur de moins de 10 μm , elle limite les pertes d'eau de l'œuf (Anonyme 2, 2003).

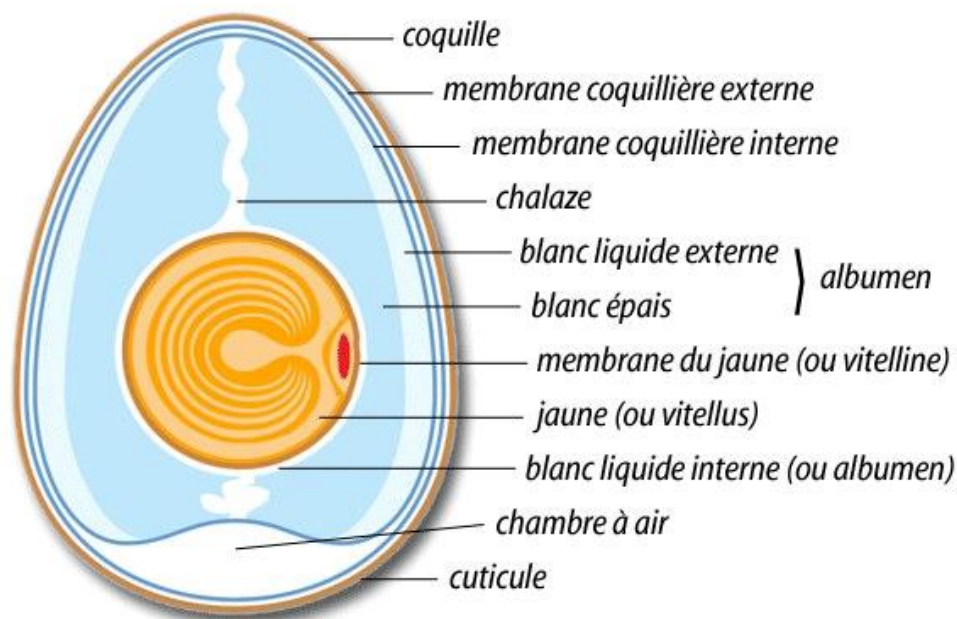


Figure 03 : Principaux constituants de l'œuf (Anonyme 3)

4. Composition et valeur nutritionnelle de l'œuf

Tableau 05 : Composition moyenne d'un œuf de poule en % de poids (Gilbert, 1971 cité par Protais, 1988).

	Coquille	Albumen	vitellus
Eau	1	88.5	47.5
Protéines	4	10.5	17.4
Lipides	/	/	33.0
Glucides	/	0.5	0.2
Minéraux	95	0.5	1.1
Autres	/	/	0.8

4.1. Protéines d'œuf de poule

L'œuf de poule constitue un aliment riche en protéines et il est admis que ces protéines sont de très bonne valeur nutritionnelle bien que peu de données récentes soient disponibles à ce sujet. Leur composition en acides aminés ne comporte aucun facteur limitant. Il faut toutefois signaler que, contrairement au jaune, les protéines du blanc d'œuf sont très mal digérées par l'homme à l'état cru en raison de la présence de nombreux facteurs antinutritionnels (inhibiteurs des protéases pancréatiques : ovomucoïde et ovoïnhibiteur notamment) (Nys et Sauveur, 2004).

Le blanc d'œuf peut être considéré comme une solution aqueuse de protéines. Moins d'une vingtaine de ces protéines est actuellement identifiée (Tableau 02). Ces protéines présentent par ailleurs des activités biologiques nombreuses et variées.

Le jaune d'œuf est beaucoup plus riche en matière sèche que le blanc et a une composition chimique plus complexe. D'un point de vue structurel, le jaune peut être assimilé à une suspension de particules appelées « granules » dans une solution appelée « plasma ». Le ratio protéines / lipides est très différent entre ces deux fractions : 60 % de protéines et 34 % de lipides dans les granules, contre 20 % de protéines et 80 % de lipides dans le plasma (exprimé en % de l'extrait sec). On distingue essentiellement quatre types de protéines, dont les 2/3 sont associées à des lipides pour former des lipoprotéines (Nys et Sauveur, 2004).

4.2. Lipides de l'œuf

Tous les lipides de l'œuf (6 g par œuf) sont contenus dans le jaune. Ils sont associés aux protéines dans la proportion de 2/1. Les lipides représentent de 33 à 35 % du poids du jaune frais et 65 % de sa matière sèche. Les lipides de l'œuf sont composés pour les deux tiers de triglycérides (65 %) mais incluent des phospholipides (31 %) et du cholestérol (4 %). La digestibilité des triglycérides est excellente (98 %), celle des phospholipides très satisfaisante (90 %) (Nys et Sauveur, 2004).

Les lipoprotéines de l'œuf, synthétisées dans le foie, sont transportées sous forme de vitellogénine et de VLDL (lipoprotéines de très basse densité) dont la composition (7 % cholestérol, 56 % triglycérides et 31 % de phospholipides pour les VLDL) est pratiquement constante (Burley *et al.*, 1993 ; Hermier, 1997). Ces molécules sont fixées sur des récepteurs spécifiques de l'ovocyte (Bujoh *et al.*, 1997) et incluses dans celui-ci par endocytose sans aucun remaniement (Griffin, 1992). Il est donc impossible de modifier la teneur globale du jaune en lipides à travers la teneur en lipides de l'aliment distribué à la poule. A l'opposé, le profil des acides gras (AG) présents dans les lipides du jaune est très dépendant de l'alimentation de la poule (Hermier, 1997) : les acides gras mono- (AGI) ou polyinsaturés (AGPI) sont les plus variables, par substitution réciproque tandis que les acides gras saturés (palmitique C16 :0 et stéarique C18 :0) sont relativement stables.

Les poules sont alimentées classiquement avec du blé, du maïs et du tourteau de soja. Dans ces conditions, un tiers environ des AG du jaune sont saturés. L'œuf est donc plutôt riche en AG insaturés par rapport aux autres lipides d'origine animale. Il est une excellente source d'AG indispensables, notamment d'acide linoléique (18:2, n-6). Les acides gras polyinsaturés à longue chaîne (AGPI-LC), acide arachidonique (20:4, n-6), acide docosahéxaénoïque (DHA, n-3) sont présents en faible quantité dans l'œuf alors qu'ils sont

absents des plantes couramment présentes dans l'alimentation humaine. Leur teneur dans l'œuf peut être augmentée de 5 à 10 fois (par rapport à celle de l'œuf issu de poules nourries avec un régime classique) en incorporant dans l'alimentation de la poule des extraits d'huile de poisson ou des huiles végétales riches en AGPI : tournesol, carthame riche en n-6, millet, colza mais surtout lin et poisson riches en n-3 (Farrel ,1998 ; Hermier, 1997 ; Sim ,2000). Il est possible ainsi de réduire le rapport AGPI, n-3/n-6 à 1,9 (Botsoglou *et al.*, 1998). Cette possibilité d'enrichir le jaune d'œuf en AGPI a été démontrée il y a de nombreuses années.

Les nouveautés concernent davantage la mise en évidence de l'intérêt des AGI à longues chaînes dans différentes situations physiologiques humaines : développement du système nerveux de l'enfant prématuré (Van Elswyk *et al.*, 2000 ; Maki *et al.* , 2003), prévention de la mort subite induite chez l'homme par l'arythmie ventriculaire (Leaf *et al.* ,2000), optimisation de l'acuité visuelle, fonctionnement du système nerveux central (avec la série en n-3), fonction de reproduction, fonction plaquettaire ou activité du système immunitaire (avec la série n-6).

Le cholestérol est un nutriment essentiel à l'embryon ; il est également un précurseur indispensable des sels biliaires ou des hormones sexuelles et corticoïdiennes chez l'enfant. La teneur élevée en cholestérol de l'œuf (220 mg/œuf ; très inférieure cependant à celle des abats animaux tels que cervelles ou rognons) a contribué au déclin de sa consommation en lien avec la suspicion d'un rôle du cholestérol alimentaire dans l'apparition des maladies cardiovasculaires. De nombreuses tentatives ont été conduites en conséquence, pour réduire la teneur de l'œuf en cholestérol en agissant sur la poule par voie alimentaire, génétique ou même pharmacologique. Toutes ces tentatives se sont soldées par des échecs ou des effets trop limités. Cette quasi impossibilité à diminuer la teneur en cholestérol de l'œuf est attribuable au fait que 95 % de cette molécule sont associés aux VLDL, dont 80 % sous une forme estérifiée, associée aux phospholipides en surface des VLDL (Hermier, 1997). Seule la part présente dans le noyau, qui ne représente que 20 % du cholestérol total, est potentiellement modifiable. Il est à l'inverse facile d'augmenter la teneur en cholestérol de l'œuf via une alimentation enrichie de la poule.

L'importance en nutrition humaine de l'apport alimentaire de cholestérol est relativisée par la plupart des travaux récents qui indiquent que le taux plasmatique de cholestérol n'est qu'un des facteurs favorisant l'apparition des maladies cardiovasculaires (Kritchevsky ;Kritchevsky et Kritchevsky, 2000). La quantité de cholestérol ingéré influence peu le taux plasmatique chez la majorité des humains (l'exception étant les patients hypercholestérolémiques) : les trois quarts de la variation de la cholestérolémie dépendent

effectivement de facteurs alimentaires mais tout d'abord de l'apport en AG saturés (+ 49 mM pour 1 % de l'apport énergétique total sous forme d'AGS) et relativement peu de l'ingestion de cholestérol lui-même (0,57 mM pour 1 mg de cholestérol). Enfin, la cholestérolémie est diminuée par la consommation d'acides gras polyinsaturés (-23 mM pour un apport de 1 % de l'énergie sous la forme d'AGPI) (Howell, 2000).

Le jaune de l'œuf est riche en phospholipides, notamment en phosphatidylcholine (70 %), phosphatidyléthanolamine (14 %) et, en moindres proportions, en lysophosphatidylcholine et sphingomyeline (2 %). Les phospholipides de l'œuf sont donc trois fois plus riches en phosphatidylcholine que la lécithine de soja et sont, à 90 %, des dérivés de la choline.

L'homme étant directement dépendant de l'apport alimentaire de ce nutriment, indispensable au développement du cerveau, à la fonction hépatique et à la prévention de cancers (Zeisel, 1992), peut trouver dans l'œuf une contribution à la couverture de ce besoin spécifique (Zeisel *et al.*, 2003).

Les AGPI alimentaires sont oxydables et peuvent conduire à la formation de peroxydes. L'œuf, bien que riche en AGPI, est relativement moins sensible que d'autres produits à l'oxydation, du fait de sa forte teneur en phospholipides qui participent à la régénération des antioxydants primaires en fournissant des radicaux hydrogènes et renforcent ainsi l'action bénéfique du tocophérol. La phosvitine du jaune possède également un effet antioxydant du fait de son pouvoir chélateur du fer (Nys et Sauveur, 2004).

4.3. Glucides

L'œuf ne contient pas de fibres glucidiques. Sa teneur en sucres simples est extrêmement faible (1 % de l'œuf) répartis entre le blanc et le jaune. Le glucose est la forme libre dominante (98 % des 0,5 % de sucres libres). L'œuf contient de nombreux glyco-conjugués notamment des glycoprotéines (ovomucoïde, ovalbumine, ovotransferrine, ovomucine et avidine dans le blanc ; phosvitine et riboflavine dans le jaune). Les glycanes sont constitués de monosaccharides, d'osamines et d'un acide sialique, l'acide N-acétylneuraminique. Ce dernier présente une concentration élevée (2,4 %) dans les chalazes ligaments suspenseurs du jaune dans le blanc et dans la membrane vitelline (1,8 %) ; il est aussi présent dans le jaune (0,19 % MS) (Koketsu *et al.*, 2003). Ce composé pourrait avoir un intérêt comme agent inhibiteur de la multiplication de rotavirus, agents provoquant des gastroentérites chez l'enfant (Koketsu, 1997).

4.4. Minéraux

L'œuf est riche en phosphore, fer et soufre, leur contenu dans deux œufs (100 g) couvrant respectivement 26, 26 et 18 % du besoin journalier de l'homme. L'œuf contient environ 1 mg

de fer dont la disponibilité ne serait que de 60 % dans l'œuf cuit, du fait de la présence de protéines (phosvitine, ovotransferrine) ayant une forte capacité de liaison du fer (Burley et Vadehra, 1989). La teneur en sodium de l'œuf est faible, surtout dans le jaune qui peut donc être utilisé dans les régimes hyposodés.

L'œuf contient un éventail très large d'oligoéléments, la plupart présents dans le jaune. Les teneurs en oligo-éléments de l'œuf présentent des coefficients de variation élevés. Elles dépendent de l'alimentation de la poule et il est possible d'enrichir la teneur de l'œuf en oligo-éléments de 60 fois pour l'iode, 5 à 10 fois pour le sélénium, fluor ou manganèse (Stadelman et Pratt, 1989). En revanche, les teneurs en cuivre et zinc sont relativement plus stables car ces éléments sont associés à des protéines avant d'être transférés dans le jaune. L'œuf peut contenir de nombreux autres oligo-éléments à des concentrations extrêmement faibles (Dobrzanski *et al.*, 1999).

4.5. Vitamines

L'œuf, et notamment son jaune, est un aliment à teneur élevée en vitamines A, D, E, K, et B. La consommation de deux œufs assure 10 à 30 % du besoin journalier de l'homme en ces vitamines. En revanche, il ne contient pas de vitamine C. Les vitamines B, bien qu'hydrosolubles, peuvent être accumulées dans le jaune grâce à leur transfert par des protéines spécifiques de liaison.

La teneur en vitamines liposolubles de l'œuf est très variable et dépend de l'alimentation de la poule (Stadelman et Pratt, 1989 ; Leeson et Caston, 2003). Ainsi, la teneur en vitamine D3 augmente en proportion de l'apport alimentaire et peut être décuplée alors que celle de son précurseur, le 25-hydroxycholecalciferol reste relativement stable (Mattila *et al.*, 1999 ; 2004). La vitamine A est transférée avec une efficacité proche de 80 % jusqu'à des teneurs de 8000 UI/kg. La teneur en vitamine E, qui exerce un rôle primordial dans le contrôle de l'oxydation des AGPI et dans la prévention de goûts désagréables (Sim, 2000), augmente de 144 à 477 µg/g de jaune quand la poule reçoit une supplémentation de 400 mg/kg d'aliment (Jiang *et al.*, 1994).

La teneur en vitamine E dans l'œuf peut donc être multipliée par 6 à 10 par voie alimentaire (Surai et Sparks, 2001 ; Galopart *et al.*, 2002). Il existe par ailleurs une compétition de transfert entre les vitamines liposolubles A et E, et les pigments caroténoïdes (xanthophylles ou b carotènes). L'accumulation possible des vitamines acheminées par une protéine de liaison est plus limitée, avec apparition de plateaux, par exemple 10 mg pour la riboflavine.

La vitamine B12 est transférée avec une efficacité proche de 40 %. Enfin, une particularité de l'œuf réside dans la capacité de l'avidine du blanc cru à lier la biotine et donc à réduire la disponibilité de cette vitamine. 35 % de l'œuf à l'état cru n'est pas digéré ni absorbé, 6 % pour l'œuf cuit (Evenepoel *et al.*, 1999).

4.6. Pigments

Les poules sont incapables de synthétiser les caroténoïdes mais les accumulent très facilement dans le jaune de l'œuf. Leur alimentation contient des pigments (présents dans les matières premières ou ajoutés) qui permettent d'ajuster la coloration du jaune d'œuf à la demande des consommateurs. Seules les xanthophylles (caroténoïdes présentant un groupement oxygène) ont un effet colorant (Nys, 2000). S'ils possèdent une activité provitamine A, ces caroténoïdes perdent leur pouvoir pigmentant lors de leur conversion en vitamine A. Le β -carotène ne colore pas le jaune mais possède comme les xanthophylles un pouvoir anti-oxydant qui pourrait expliquer leur effet protecteur vis-à-vis du cancer ou de maladies cardiovasculaires. Il a donc été proposé d'enrichir l'œuf en b-carotènes (15 à 500 $\mu\text{g}/100$ g de jaune (Jiang *et al.*, 1994) mais la contribution de l'œuf par rapport à d'autres sources (carottes, 10 mg/100 g) ne peut que rester mineure. L'œuf est par contre relativement riche en lutéine (1mg / 100 g d'œuf) au même titre que des aliments comme l'épinard ou le chou. La lutéine réduirait le risque de dégénérescence maculaire chez les personnes âgées (Mares-Perlman *et al.*, 2002). De part ses propriétés anti-oxydantes, elle pourrait également contribuer à une diminution du risque d'artériosclérose (Herron et Fernandez , 2004).

Formation, structure et composition de l'œuf

Tableau 06 : Composition des parties comestibles d'un œuf de poule de 60 g (Sauveur, 1988).

	En g par œuf			En g pour 100 g de chaque partie		
	Entier	Blanc	Jaune	Entier	Blanc	jaune
Total	53,5 - 55	35 - 37	17 - 18,5	100	100	100
Eau	39,5 - 41,5	30 - 33	8,0 - 9,2	74,0 - 75,5	87,0 - 89,0	46,5 - 49,0
Matière sèche	13 - 14,3	3,8 - 4,5	8,7 - 10,0	24,5 - 26,0	11,0 - 13,0	51,0 - 53,5
Protéines	6,4 - 7,0	3,3 - 4,0	2,7 - 3,2	12,0 - 12,8	9,5 - 11,5	16 - 17
Lipides	6,1 - 6,9	--	6,0 - 6,8	11,8 - 12,3	--	33 - 34
Saturés	2,3 - 2,5	--	2,1- 2,4	4,3 - 4,5	--	11,2 - 11,7
Insaturés	3,5 - 4,0	--	3,3 - 3,8	6,7 - 7,0	--	18,2 - 19,0
Cholestérols	0,24 - 0,27	--	0,24 - 0,27	0,47 - 0,50	--	1,31 - 1,38
Glucides	0,15 - 0,20	0,12 - 0,16	0,03 - 0,05	0,3 - 0,4	0,4 - 0,5	0,15 - 0,25
Cendres	0,45 - 0,55	0,16 - 0,24	0,2 -0,3	0,8 - 1,0	0,5 - 0,7	1,1 - 1,6
Calories	88 - 95	14 - 18	74 -80	160 - 180	40 - 55	380 - 400

Chapitre II

Qualité de l'œuf et facteurs de variation

1. Qualité de l'œuf

Le fait même que l'œuf soit à la fois le support du développement embryonnaire des oiseaux et un aliment de l'homme, implique que sa qualité ne puisse être définie de façon simple. Il est donc préférable de parler des différents aspects de la qualité qui varient avec la destination du produit et le niveau des opérations de marché considéré (Sauveur, 1988).

A- Le producteur d'œufs de consommation, est surtout intéressé par le poids de l'œuf et par la solidité de la coquille. Il recherche en outre une propreté maximale et l'absence de défauts internes (facteurs entraînant un déclassement de l'œuf au centre de conditionnement). Enfin, il participe, par la qualité de ses installations et de son travail, à la qualité bactériologique du produit (Sauveur, 1988).

B- Pour l'accoureur, la notion de qualité de l'œuf est difficile à cerner car les caractéristiques idéales d'un œuf à couvrir sont mal connues. Les critères sanitaires sont souvent les premiers considérés suivis du poids de l'œuf, de l'intégrité de la coquille et de sa porosité gouvernant les échanges gazeux de l'embryon ; l'évolution de l'œuf après la ponte agit également sur les résultats d'incubation (Sauveur, 1988).

C- Pour le consommateur d'œuf en coquille, le critère de choix le plus souvent retenu est celui de la fraîcheur (sans que l'intéressé sache bien toujours définir de quoi il s'agit) ; vient en deuxième position la grosseur de l'œuf et enfin le prix. A ces caractéristiques s'ajoutent des appréciations subjectives telles que la couleur de la coquille et du jaune qui représentent de véritables comportements sociaux pour une population donnée mais très variable d'un pays à l'autre. Viennent ensuite des exigences sur les propriétés d'usage de l'œuf (structure du blanc, pouvoir moussant...), ses qualités hygiéniques, diététiques et organoleptiques. Enfin, le consommateur rejette tout œuf porteur d'une anomalie vraie (colorations anormales du blanc et du jaune) ou supposée telle (taches de sang...).

Cet ensemble de critères est donc retenu par les centres de conditionnement assurant la mise en marché de l'œuf de consommation (Sauveur, 1988).

D- Pour l'industrie : les exigences de l'industrie agro-alimentaire sont encore différentes. Elles relèvent pour une part de qualités d'usage telles que facilité de d'écouage des œufs durs, propriétés coagulantes, anti-cristallisantes, émulsifiantes, etc... s'y ajoutent des exigences sur la composition du produit (rapport blanc/jaune notamment, teneurs en certaines protéines...) et une demande permanente sur la qualité bactériologique (Sauveur, 1988).

2. Méthodes d'estimation de la qualité des œufs

La qualité des œufs va dépendre dans un premier temps du poids des volailles atteint à la fin de la période d'élevage, et surtout de l'uniformité du troupeau de pondeuses. Un élevage de poules pondeuses arrivé en période de maturité sexuelle en même temps va donner des œufs d'une qualité constante. Ainsi, il est important que l'uniformité individuelle des volailles s'approche du poids moyen du troupeau et il est souhaitable que 80% des poules aient un poids individuel qui ne s'écarte pas du poids moyen du troupeau dans une proportion de 10% (Anonyme 4, 2004).

2.1. Le mirage

Les œufs sont classés en fonction de leur qualité au mirage d'une part, et de leur poids d'autre part.

Le mirage permet d'observer :

- Les fêlures, les micro-fêlures, ou toute rupture de la coquille.
- La localisation et la dimension de la chambre à air.
- L'aspect du vitellus, de l'albumen, et des chalazes.
- La présence de grosses inclusions (taches de sang et/ou de viande).

Durant cette manipulation, les œufs présentant des coquilles fêlées, tachées de sang ou de déjections seront déclassés ou écartés et destinés aux caisseries (Protais, 1988).

2.2. Le calibrage des œufs

C'est la génétique qui généralement détermine le poids d'un œuf, cependant on peut dans une certaine mesure agir sur le poids de l'œuf. Ainsi, certains éléments de contrôle méritent une attention particulière (Arzour, 2006).

A- Le poids à maturité : Plus la poule est lourde à la ponte de son premier œuf, plus les œufs seront gros durant sa vie. Afin d'optimiser le poids des œufs, il ne faut jamais stimuler le lot avant que le poids de la poule n'atteigne 1550-1600 g (Anonyme 4, 2004).

B- La maturation sexuelle : Le poids moyen de l'œuf augmente lorsqu'on retarde la maturation sexuelle. On peut se servir de l'éclairage pour agir sur la maturation sexuelle, en effet une diminution progressive de l'éclairage durant la croissance retardera le processus de maturité et augmentera en moyenne la grosseur de l'œuf (Anonyme 4, 2004).

C- La nutrition : Le poids de l'œuf est grandement influencé par la consommation de protéines brutes, d'acides aminés spécifiques tels que la méthionine et la cystine, d'énergie, et des acides gras essentiels tels que l'acide linoléique.

On augmentera en conséquent la quantité de ces éléments nutritifs afin d'améliorer le poids des œufs pondus précocement, et en contrepartie, on en diminuera la consommation pour exercer un contrôle sur les œufs pondus tardivement (Anonyme 4, 2004).

Tableau 07: Les différentes catégories des œufs de poule (Anonyme 2, 2003)

Catégorie	Poids
A+	> 70 grammes
A	65 - 70 grammes
B	60 - 65 grammes
C	55 -60 grammes
D	< 55 grammes

Dans le commerce, les œufs de poule sont répartis en catégories de poids et par conséquent de taille. Se conférer (Tableau 07). Seules les trois catégories supérieures sont généralement proposées au consommateur, les deux dernières sont utilisées par l'industrie alimentaire (biscuiteries, plats préparés, ...).

Les œufs de la catégorie A ou frais doivent présenter les particularités suivantes : avoir une chambre à air immobile dont la hauteur ne dépasse pas 6 mm (les œufs extra frais A+ présentent une chambre à air dont la hauteur est inférieure à 04 mm), répondre à un certain nombre de caractères concernant la coquille, la cuticule, le blanc, le jaune et le germe, n'avoir subi aucun nettoyage avec un procédé sec ou humide, n'avoir subi aucun traitement de conservation, avoir été stockés à une température d'au moins 08°C, ils peuvent être maintenus à une température moindre si la durée du séjour ne dépasse pas les 03 jours (Protais, 1988).

2.3. Estimation de la qualité de la coquille

Quatre paramètres permettent d'apprécier la qualité de la coquille, ce sont la propreté, la couleur, la solidité et la forme :

- La propreté est mesurée par le pourcentage d'œufs sales c'est à dire présentant des souillures d'origine intestinale (fèces), génitale (taches de sang) ou poussières,
- La couleur de la coquille est appréciée au gros bout de l'œuf à l'aide d'un réflectomètre,
- La forme de la coquille est représentée par un indice de forme qui correspond au rapport (largeur/longueur) $\times 100$, il varie entre 65 pour un œuf allongé et 82 pour un œuf arrondi (Protais, 1988).

- La solidité de la coquille peut être appréciée soit en exerçant une force ne provoquant pas la rupture de la coquille (méthode indirecte), soit en exerçant une force entraînant la fracture de la coquille (méthode directe).

Les méthodes non destructives sont les plus employées, mais dans les deux cas on cherche à évaluer le taux de casse des œufs (Hamilton, 1982 cité par Protais, 1988).

2.4. Estimation de la qualité de l'albumen

La qualité de l'albumen est en général estimée par les unités Haugh qui traduisent la relation existante entre l'albumen dense et la qualité du blanc. Le pH de l'albumen se situant entre 7.8 et 8.2 le lendemain de la ponte, il croît avec le vieillissement de l'œuf (Haugh, 1937 cité par Protais, 1988).

2.5. Estimation de la qualité du vitellus

La coloration du vitellus est appréciée à l'aide d'un éventail colorimétrique dont les valeurs s'échelonnent entre 6 (jaune clair) et 13 (jaune orangé)

L'index vitellenique correspond au rapport (hauteur du vitellus/ largeur du vitellus), il est situé entre 40 et 45 pour un œuf frais (Protais, 1988).

2.6. Estimation des inclusions

Les inclusions peuvent être observées durant le mirage, mais celui-ci ne permet pas d'apprécier le pourcentage des grosses taches, la casse des œufs est donc obligatoire dans ce cas (Protais, 1988).

3. Facteurs de variation de la qualité de l'œuf

Dans leur remarquable ouvrage, Jacquot et Adrian (1954) classaient les constituants de l'œuf en deux grands groupes :

- Ceux qui sont peu ou pas variables : les teneurs en eau, en protéines, en acides aminés, en lipides totaux, en macrominéraux sont remarquablement fixes. Ce sont des éléments constants, indépendants des conditions d'élevage et surtout de l'alimentation.
- Ceux qui varient avec la nature des aliments ingérés. Ce sont les oligoéléments minéraux et vitaminiques et les acides gras des lipides.

Cette distinction reste globalement possible aujourd'hui mais il faut y ajouter que le rapport des constituants de l'œuf (blanc/jaune) peut lui-même varier dans des proportions importantes entraînant simultanément des variations de concentration des macro-constituants. Aux extrêmes, le jaune peut représenter de 24 à 34% du poids total de l'œuf même s'il reste usuellement compris entre 26 et 31%. Il y a donc lieu de préciser davantage les différents facteurs de variation de la composition de l'œuf.

3.1. Effets du poids de l'œuf et de l'âge de la poule

A l'intérieur d'un troupeau d'un âge donné, la proportion de jaune diminue tandis que celle de blanc augmente lorsque le poids de l'œuf augmente. Dans ces mêmes conditions, la teneur en matière sèche du blanc croît aussi avec le poids de l'œuf (Sauveur, 1988).

A l'inverse, dans des œufs de poids voisin mais provenant de poules d'âge croissant, le vieillissement de l'animal se traduit, en tant que tel, par les modifications suivantes (observée entre 27 et 60 semaines d'âge) totalement opposées aux précédentes :

- Augmentation du pourcentage de jaune de 4.5 points.
- Diminution du pourcentage de blanc de 3.4 points.
- Diminution de la teneur en extrait sec du blanc de 0.4 points.
- Maintien à un niveau constant de la teneur en extrait sec du jaune.
- Augmentation de la teneur en extrait sec du mélange (jaune + blanc) de 1.3 points.

En pratique, le poids de l'œuf augmente en même temps que la poule vieillit et les deux sources de variation ne peuvent être dissociées.

Les résultats de plus de dix expériences montrent de façon non ambiguë que, lorsque le poids de l'œuf augmente du fait du vieillissement de la poule :

- La part relative de jaune augmente, souvent de 4 points environ.
- La teneur en extrait sec de ce jaune est stable ou augmente légèrement.
- La teneur en extrait sec du blanc diminue toujours d'environ un point.

La teneur en extrait sec du mélange (jaune + blanc) est sensiblement constante ; il semble en fait qu'elle passe par un léger maximum en milieu de ponte.

L'effet du poids de l'œuf sur la part de ses constituants est donc très différent selon que l'on raisonne à âge de troupeau constant ou croissant. Pour surmonter les difficultés d'expression qui en résultent, Fletcher *et al.* (1983) ont mis au point des abaques tridimensionnelles qui permettent de prévoir le poids de jaune et celui du blanc en fonction du poids d'œuf et de l'âge de la poule en toute rigueur, ces abaques sont effectivement plus satisfaisantes que des courbes exprimant un pourcentage de jaune (ou de blanc) en fonction du poids de l'œuf, puisque le calcul même du pourcentage fait déjà appel au poids de l'œuf. Il faut reconnaître cependant qu'elles ne sont pas d'une lecture facile et que leur usage nécessite beaucoup d'attention.

Puisque, dans les œufs de vieilles poules, la part de blanc et sa teneur en matière sèche sont réduits, les quantités de protéines qui peuvent en être extraites sont notablement diminuées. A un moindre degré, les teneurs en lipides totaux et cholestérol du jaune diminuent également en fin de ponte (Sauveur, 1988).

L'âge de la poule exerce une influence considérable sur les unités Haugh de l'œuf frais (Figure 04). Les poules plus âgées produisent des valeurs moins élevées. C'est pourquoi en cas de doute, il vaut mieux tenir compte également de l'âge de la poule lors de la détermination de la fraîcheur de l'œuf au moyen des unités Haugh (MSDA, 2004).

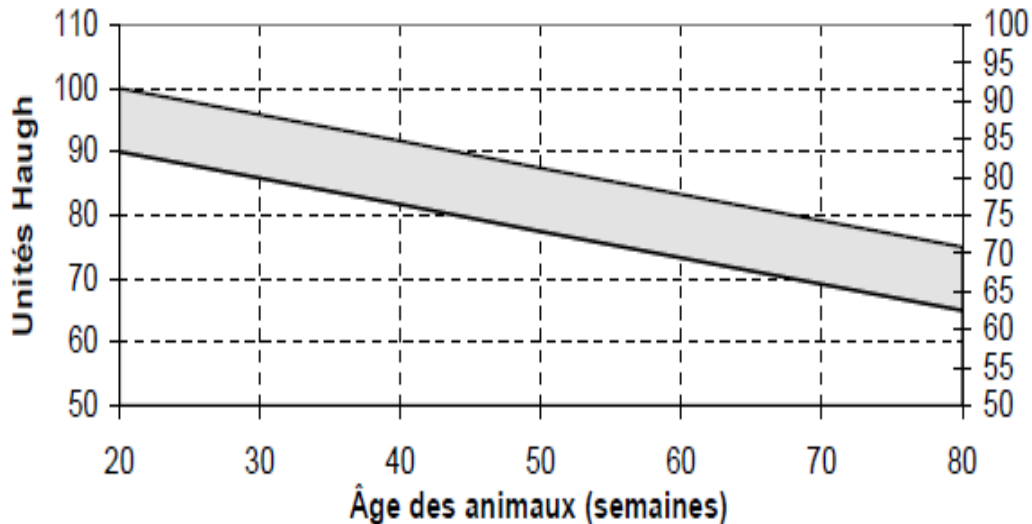


Figure 04 : Influence de l'âge des animaux sur la hauteur du blanc d'œuf (Convertie en unités Haugh) (MSDA, 2004)

3.2. Effets de l'origine génétique des animaux et de la sélection

La conservation dans certaines stations expérimentales de lignées « témoins » (sans dérivé génétique) depuis plusieurs décennies permet de se faire une idée des effets de la sélection génétique des animaux sur la composition de l'œuf. On sait ainsi que, pour une même classe de poids d'œuf, une sélection visant à augmenter le nombre d'œufs se traduit par :

- Une légère diminution de la part de jaune (-1.5 à 2 points).
- L'absence d'altération du contenu en matière sèche du jaune et une légère augmentation de l'extrait sec du blanc.
- Une très faible diminution (-0.3 à 0.7 points) de l'extrait sec du mélange (jaune + blanc).

Lorsque la correction pour le poids moyen de l'œuf n'est pas faite, les œufs de souches « anciennes » d'un poids moyen relativement faible, contiennent relativement plus de jaune que les œufs plus lourds des souches « modernes ». C'est là un effet principal du poids de l'œuf pour un troupeau d'un âge donné. Une sélection ne visant qu'à augmenter le poids de l'œuf sans prendre en compte les parts de ses constituants risquerait donc de conduire à

l'obtention d'œufs plus gros contenant moins de jaune et plus de blanc. Il semble cependant que le poids moyen des œufs ne soit que peu ou pas du tout augmenté actuellement par les sélectionneurs (Sauveur, 1988). Il a été montré aussi :

- Qu'il existe une corrélation génétique positive entre le poids de l'œuf et la teneur en matière sèche du blanc. Ces deux paramètres peuvent donc croître simultanément.
- Qu'il n'y a pas d'antagonisme génétique entre le poids de chaque constituant et sa teneur en extrait sec. Ils peuvent donc aussi augmenter simultanément.
- Qu'il n'y a que peu ou pas de relation entre les teneurs en extrait sec du blanc et du jaune.

Le contrôle génétique de la composition de l'œuf s'exerce aussi mais de façon moins visible au niveau moléculaire ; sa manifestation la plus connue et le polymorphisme des protéines du blanc qui existe pour la quasi-totalité d'entre elles. Ce polymorphisme se traduit par la substitution de un ou plusieurs acides aminés de la chaîne protéique ; il est généralement mis en évidence par migration électrophorétique et a surtout été utilisé pour étudier des filiations entre groupe d'animaux. Il existe aussi un certain contrôle génétique de la teneur du blanc en protéines spécifiques (lysozyme par exemple). De même, toute sélection visant à abaisser la teneur en cholestérol du jaune s'est avérée inefficace (alors qu'elle peut très bien l'augmenter). Enfin, l'œuf de poule a l'une des plus faibles teneurs relatives en cholestérol des principaux œufs de volailles : exprimée par gramme de jaune, elle est plus élevée de 6% dans l'œuf de caille, de 28% dans l'œuf de cane et de 70% dans l'œuf de pigeon (Sauveur, 1988).

Il a été longtemps admis que les œufs à coquille colorée contenaient, à poids égal, proportionnellement plus de jaune que ceux à coquille blanche mais ceci ne ressort pas toujours des données les plus récentes (Sauveur, 1988).

Un dernier point d'impact connu d'effets génétiques est relatif aux odeurs anormales (odeur de poisson ou de crabe) émanant de certains œufs. Ce problème est lié à la présence dans le jaune de triméthylamine, due à l'absence d'une enzyme hépatique permettant normalement l'oxydation de cette substance en un composé inodore : cette absence est contrôlée par un gène autosomal semi-dominant affectant plus de 50% des poules produisant des œufs à coquille colorée contre moins de 10% des poules à œufs blancs (Sauveur, 1988).

3.3. Effets de la saison et de la température

Les effets saisonniers sont difficilement différenciables de ceux dus à l'âge des animaux en outre, la notion même de saison perd son sens pour des poules placées en bâtiment sans fenêtre et exposées à une température ambiante toujours comprise entre 20 et 28°C. Lorsque le poids de l'œuf diminue en réponse à une température supérieure à 28-30°C, cette réduction porte sur tous les compartiments de l'œuf et seul le pourcentage final de coquille est réellement réduit : les parts de blanc et de jaune sont assez peu modifiées, chacun contribuant à la réduction totale dans une proportion proche de sa part initiale (Tableau 08). Il n'est cependant pas exclu que la part finale de jaune soit légèrement réduite. La baisse de poids d'œuf due à un stress thermique ne se répartit donc pas comme celle consécutive à une carence nutritionnelle, ou à des différences génétiques (Sauveur, 1988).

Tableau 08 : Exemples d'effets de températures élevées sur la part relative de chaque constituant de l'œuf (Sauveur, 1988).

Auteurs	Températures comparées (°C)	Chute de poids de l'œuf (g)	Part de cette chute (%)		
			Au jaune	Au blanc	A la coquille
Smith-Oliver, 1972	26 vs 32	7.6	28	53	19
El Jack-Blum, 1978	15 vs 32	3.5	40	45	15
	15 vs 32	4.0	39	50	11
Lignée 1					
Lignée 2					
Les parts initiales sont :			29	61	10

Les teneurs relatives en matière sèche de chaque compartiment ne sont généralement pas altérées (Tant que la mesure est bien effectuée aussitôt après la ponte) par une température ambiante élevée. Les seuls effets connus de celle-ci sur la composition de l'œuf seraient une faible diminution de teneur en lipides du jaune et une augmentation de teneur en calcium du blanc (Sauveur, 1988).

3.4. Effets du mode d'élevage des animaux

L'expression « mode d'élevage » désigne ici le type de logement des poules. Il peut s'agir :

- De cages (quel que soit leur plan d'assemblage) placées dans un bâtiment muni ou non de fenêtres.
- D'un élevage « au sol » (habituellement litière et caillebotis) à l'intérieur d'un bâtiment,
- D'un élevage « au sol en liberté », faisant appel à un bâtiment ouvert sur un parcours extérieur important.

Une dizaine d'études effectuées de 1975 à 1985 dans toute l'Europe permet d'affirmer que le mode de production n'affecte pratiquement pas la composition de l'œuf. Les seules variations significatives quelquefois attribuables à une production au sol (toujours comparée à une production en cages) sont :

- Une tendance à la baisse de la part de jaune (-2 à -4 %).
- Une augmentation notable de teneur en cholestérol (+3 à +25 % selon les auteurs).
- Une ou deux modifications d'oligo-constituants telle qu'une augmentation des teneurs en vitamines B12, acide folique (+50 %) et peut être vitamine E ou une diminution des teneurs en vitamine A, calcium et fer (-2 à -8%) (Sauveur, 1988).

Aucune variation significative et constante des teneurs en extrait sec, lipides, protéines et acides aminés n'est observée. Les modifications de composition de l'œuf ne sont pas plus importantes lorsque les poules ont accès à un parcours en plein air. La seule tendance, non significative, mais retrouvée trois fois dans l'œuf réellement « fermier », est une augmentation de teneur en lipides, une certaine augmentation de l'acide linoléique aux dépens du stéarique et de l'oléique (Sauveur, 1988).

3.5. Effets de l'alimentation

Les effets de l'alimentation sur le rapport blanc / jaune sont à distinguer de ceux s'exerçant directement sur une substance constitutive de l'œuf : parmi ces dernières, les oligo-éléments, vitamines et acides gras sont les plus susceptibles de variation conformément au classement de Jacquot et Adrian (Sauveur, 1988).

A- Rôle des protéines du régime

Un abaissement du taux protéidique alimentaire entraîne une réduction du poids de l'œuf portant davantage sur le blanc que sur le jaune. La composition du blanc est peu affectée. Au-delà de 15% de protéines dans l'aliment, la part des constituants de l'œuf ne varie pas (Tableau 09).

Tableau 09 : Effet du taux protidique du régime sur le poids de l'œuf et de ses constituants
(d'après Fisher, 1969 cité par Sauveur, 1988)

Taux protidique (%)	20.5	13.7	9.3
Poids de l'œuf (g)	63.3	62.2	56.4
Poids de jaune (g)	20.0	19.9	18.3
Poids de blanc (g)	37.6	36.9	32.9
Pourcentage de jaune	31.6	32.0	32.4

B- Rôle des lipides de régime

Les lipides alimentaires sont, pour une grande part, directement utilisés pour la synthèse des lipides du jaune : ils agissent à la fois sur l'intensité de la vitellogénèse et la composition des dépôts. L'effet le plus connu est celui de l'acide linoléique : lorsque le régime en est totalement dépourvu, le poids de l'œuf peut être réduit de 10g et, dans ce cas, la part de jaune l'est également, ainsi que sa teneur en matière sèche (Sauveur, 1988).

C- Effet des glucides

Les constituants énergétiques de la ration ne paraissent pas agir notablement sur la composition de l'œuf. Seule l'incorporation de sucre en substitution d'amidon (intéressante dans les cas de surproduction sucrière) permet d'accroître significativement le poids du jaune (Sauveur, 1988).

D- Effet des minéraux et vitamines alimentaires

Dans les conditions normales d'alimentation, aucune variation notable des teneurs en macro-minéraux de l'œuf n'est observable. Des suppléments du régime en magnésium augmentant la teneur du blanc en cet élément. Il en est de même lors de suppléments en manganèse, zinc, iode et sélénium alors que la teneur en fer est plus stable (Sauveur, 1988).

Les vitamines, comme la plupart des oligo-constituants organiques, sont certainement les éléments de l'œuf les plus sujets à variation en réponse à l'apport alimentaire (Sauveur, 1988).

E- Effet de résidus contaminants dans les œufs

Le problème de contamination des œufs par les insecticides et pesticides se pose de façon réelle comme pour tous les autres produits agricoles ; il semble cependant que, si la fréquence de contamination est élevée (de 80 à 90%), les doses rencontrées soient toujours inférieures aux limites pratiques fixées par l'OMS. Aucun type d'élevage n'offre de ce point de vue plus de garantie qu'un autre.

Le problème des additifs alimentaires concerne principalement les antibiotiques ; ceux autorisés à être incorporés dans l'aliment comme facteurs d'efficacité alimentaire ne franchissent à peu près pas la barrière intestinale et ne peuvent donc être retrouvés dans l'œuf. Il n'en va pas de même pour certains antibiotiques à pouvoir curatif dont le transfert à l'œuf peut être non négligeable mais toujours bref (demi-vie comprise entre 1 et 1,5 jours) ; il cesse donc rapidement après la fin des traitements (Sauveur, 1988).

Les antibiotiques autorisés dans les aliments pour volailles sont ceux utilisés en alimentation humaine. Aucun composé de nature hormonale n'est ajouté à l'alimentation des poules (Sauveur, 1988).

Chapitre III

Electrophorèse des protéines

SDS-PAGE

1. Relation entre polymorphisme protéique et variabilité génétique

L'électrophorèse permet de séparer des molécules chargées en solution sous l'action d'un champ électrique. Les protéines sont des molécules constituées d'une ou plusieurs chaînes polypeptidiques, elles-mêmes formées d'une succession d'acides aminés. Certains acides aminés possèdent un radical qui peut s'ioniser et être chargé électriquement. La charge électrique (+/-) de chaque acide aminé dépend du pH du milieu qui l'entoure. Chaque acide aminé est caractérisé par un pH isoélectrique (pHi), qui est le pH pour lequel sa charge est nulle. En deçà de ce pH, l'acide aminé est chargé positivement, au-delà, il est chargé négativement. L'ensemble de ces acides aminés donne à la protéine en solution une certaine charge électrique qui provoque sa migration lorsqu'elle est soumise à un champ électrique. De la même manière que précédemment, la protéine est caractérisée par un pHi qui est la résultante de tous les pHi des acides aminés qui la composent. Chaque acide aminé est codé par une séquence de trois nucléotides au sein de la molécule d'ADN qui est tout d'abord transcrite en ARN avant d'être traduite. Une mutation (changement d'un nucléotide par un autre, délétion, insertion, etc.) intervenant sur la molécule d'ADN, sera répercutée au niveau de l'ARN messager et l'acide aminé résultant de la traduction sera changé (exception faite des mutations dites silencieuses qui ne changent pas le sens du codon). Si ce nouvel acide aminé a une charge différente de celui qu'il remplace, la protéine aura alors une charge globale différente et ses potentialités de migration dans un champ électrique seront modifiées. Cette nouvelle protéine pourra être distinguée de la précédente sur le gel d'électrophorèse car elle ne se trouvera pas au même niveau à l'issue de la migration (Agnès, 1994).

De cette manière, en accédant à la variabilité des protéines, nous avons également accès à celle de l'ADN, donc du génome. Il faut cependant émettre quelques restrictions : une substitution de nucléotide n'entraîne pas forcément un changement d'acide aminé (plusieurs triplets de nucléotides codent pour le même acide aminé), un changement d'acide aminé n'entraîne pas forcément un changement de charge (plusieurs acides aminés ont la même charge). D'une manière générale, on admet que le polymorphisme révélé par l'électrophorèse enzymatique représente environ un tiers du polymorphisme de la molécule protéique. (Agnès, 1994).

2. Principe de l'électrophorèse

Lorsqu'une particule est placée dans un milieu fluide, elle est soumise à deux forces, celle de sédimentation, qui est la force gravitationnelle et la force opposée, qui est la force de friction et qui est proportionnelle à la vitesse de la particule. Ces forces agissent dans des directions opposées et finissent par se compenser, menant à un mouvement uniforme de la particule dans le milieu liquide (c'est à dire que la particule se déplace à une vitesse constante). Si le champ gravitationnel est remplacé par un champ électrique, une macromolécule peut y répondre de deux façons différentes. Si la molécule est chargée, elle va migrer dans le champ électrique, vers l'électrode de charge opposée. C'est le principe sur lequel repose l'électrophorèse (Gillet, 2007).

Les électrophorèses modernes sont conduites dans des gels solides (p. ex. Polyacrylamide), qui sont formés à partir de solutions d'acrylamide liquide après addition d'un agent de polymérisation. Le gel solide est poreux aux molécules de solvant et de soluté et sert de milieu pour l'électrophorèse, tout en aidant à éliminer les forces de convection dans le liquide, qui interfèreraient avec la séparation. Une complication qui affecte la description de l'électrophorèse résulte du fait que les gels ont des pores à travers lesquels les macromolécules se déplacent. Les molécules les plus petites peuvent passer plus facilement à travers les pores que les grosses molécules, il y a donc un effet de tamisage additionnel qui contribue à la mobilité effective. Cet effet de tamisage du gel tend à augmenter le pouvoir de résolution de cette technique (Gillet, 2007).

3. Intérêt de l'électrophorèse

La technique d'électrophorèse permet de :

- Déterminer le nombre de sous-unités d'une protéine et de déterminer leur masse respective.
- D'évaluer le degré de purification d'une protéine.
- De séparer des protéines pour les révéler par la technique de Western blot (réaction avec un ou plusieurs anticorps) par exemple.
- De séparer des protéines sur des gels bidimensionnels, selon 2 paramètres : point isoélectrique (isofocalisation), puis masse molaire.
- De séquencer l'ADN.
- De déterminer la taille de fragments d'ADN.
- De séparer des acides nucléiques pour les analyser par la technique de Northern blot (ARN) ou de Southern blot (ADN)
- D'établir le profil de restriction (hydrolyse par des enzymes de restriction) de fragments d'ADN (Gillet, 2007).

4. Principes de base

4.1. Caractéristiques des protéines affectant la séparation

A- Charge

La charge nette d'une protéine est évidemment le principal facteur qui détermine la direction (d'après sa polarité vers l'anode ou la cathode) et la vitesse (donc la distance) de migration (proportionnelle à la densité de la charge) d'une protéine. La charge nette d'une protéine dépend du pHi de la protéine et du pH du milieu ambiant (Gauthier, 2004).

Si on veut être rigoureux, il faudrait aussi tenir compte des contre-ions de petites tailles (K^+ , Na^+ , Cl^- , etc.) qui s'associent aux groupements ionisables de charge opposée. Ces ions migrent en sens opposés aux protéines et, ce faisant, entraînent des molécules d'eau, c'est qu'on appelle l'endo-osmose. Ce déplacement des molécules d'eau ralentit la migration des protéines. En pratique cependant, ces considérations complexes sont plutôt académiques et ont un impact faible en PAGE (Gauthier, 2004).

Souvent, on ajoute aux protéines un agent (généralement un détergent) qui se complexe à elles. Dans ce cas, la charge de cet agent peut déterminer la charge nette de la protéine, en fait du complexe protéine-détergent. Cela permet d'égaliser artificiellement la densité de charge de toutes les protéines de l'échantillon et de les séparer seulement sur la base de leur masse moléculaire.

Pour deux protéines ayant des charges nettes égales, il faut tenir compte de la densité de la charge (nombre de charge / unité de masse moléculaire). Ainsi, les autres facteurs étant égaux, une protéine ayant 80 charges négatives (nettes) ayant une masse relative 50 kDa migrera plus vite qu'une protéine de 100 kDa ayant aussi 80 charges négatives nettes. (Gauthier, 2004).

B- Taille

La taille est un autre facteur qui détermine la vitesse de migration des protéines dans une PAGE. Plus la protéine est grosse plus elle sera retardée par les mailles du gel, donc plus elle migrera lentement. Il peut arriver qu'une protéine soit tellement grosse qu'elle ne puisse même pas se mouvoir dans le gel. Inversement il peut arriver qu'elle soit tellement petite qu'elle ne soit pas retardée du tout par les pores du gel (Gauthier, 2004).

Comme la taille d'une protéine est dépendante de sa masse moléculaire, on a souvent tendance à dire que la masse moléculaire est, en soi, le facteur qui détermine la séparation des protéines sur PAGE. Mais en général il s'agit d'une approximation (quelquefois trompeuse) puisque c'est bel et bien la taille qui est le facteur fondamental lié à la masse moléculaire (Gauthier, 2004).

La forme d'une protéine est importante. À masse moléculaire égale, une protéine globulaire (qui est plus ou moins sphérique) aura tendance à se déplacer un peu plus rapidement qu'une protéine fibrillaire (plus ou moins en forme de bâtonnet) parce qu'elle "se faufile" mieux dans les mailles du gel, sans avoir besoin de se réorienter constamment (Gauthier, 2004).

On peut contrôler la forme et la densité de charge des protéines pour les uniformiser afin de pouvoir les séparer sur la base de la masse moléculaire. Pour cela, on utilise des détergents anioniques, comme le dodécylsulfate de sodium (SDS), ou cationiques, comme le bromure de cétyltrimmonium (CTAB) (Gauthier, 2004).

C- Hétéroprotéines

Beaucoup de protéines ne sont pas constituées uniquement d'acides aminés. Certaines d'entre elles contiennent divers types de groupements: polysaccharides (glycoprotéines), des acides gras (lipoprotéines), etc. D'autres peuvent avoir été modifiées par phosphorylation (phosphoprotéines), méthylation, acétylation, etc. Ce sont des hétéroprotéines. Ces modifications covalentes peuvent affecter la migration. Ainsi l'addition de molécules chargées (le phosphate d'une phosphoprotéine) va augmenter ou diminuer la charge nette d'une protéine, avec les conséquences sur la vitesse de migration (Gauthier, 2004).

La présence d'oligosaccharides (glycoprotéine) aura aussi un effet. Évidemment cela va augmenter la masse moléculaire de la protéine. Mais comme ces groupements sont beaucoup moins compacts que les acides aminés et ont peu d'affinité pour les détergents, la géométrie (forme de la protéine) et la densité de charge sont affectées. Ce phénomène explique pourquoi la migration de protéines fortement glycosylées est anormalement lente par rapport à des protéines non glycosylées de masse moléculaire identique (Gauthier, 2004).

4.2. Facteurs physico-chimiques affectant la migration

Les conditions physico-chimiques dans lesquelles on fait l'électrophorèse vont influencer sur la migration. Par exemple, il peut arriver que certaines des protéines à séparer puissent avoir une affinité non covalente (lien hydrogène, interaction van der Waals, hydrophobe, etc.) pour la matrice dans laquelle la migration se fait. Cette affinité va évidemment retarder la migration des molécules. C'est une des raisons pourquoi l'acrylamide est une matrice très utile elle n'est pas chargée et n'a pas d'affinité particulière pour les chaînes latérales des acides aminés apolaires (Gauthier, 2004).

Le pH peut évidemment avoir un rôle capital dans les électrophorèses. C'est lui déterminera la charge des acides aminés des protéines, donc une composante importante du processus électrophorétique. De plus, il faut tenir compte que les protéines ne sont pas

solubles ou stables dans toute la gamme des pH. Ainsi, des pH acides (< 5 pour la majorité des protéines) font précipiter les protéines en agrégats plus ou moins massifs qui ne peuvent se déplacer dans le gel. D'un autre côté des conditions trop alcalines conduisent à l'hydrolyse de certains acides aminés ou du lien peptidique. En général, on maintient des conditions entre pH 6 et 10. Les histones, protéines très basiques, supportent bien des conditions acides et requièrent des conditions spéciales d'électrophorèse: milieu acide, urée concentrée (Gauthier, 2004).

4-3. Effets des conditions physiques et chimiques sur la polymérisation

Quelques produits peuvent inhiber la réaction de polymérisation de l'acrylamide. En particulier, ceux qui réagissent avec les radicaux libres sans s'intégrer dans la chaîne, ont un effet très nuisible. En effet de tels produits vont "étouffer" la réaction en bloquant la propagation de la réaction d'une molécule d'acrylamide à l'autre.

L'oxygène moléculaire (O_2) inhibe la polymérisation de l'acrylamide de cette façon. Lors de la préparation il faut donc minimiser le brassage excessif du mélange pour réduire la présence d'air dans le mélange. On peut aussi dégazer la solution d'acrylamide avant de la couler et d'induire la polymérisation (Gauthier, 2004).

D'autres produits peuvent interférer au niveau des réactifs eux-mêmes. Par exemple le TEMED doit être sous sa forme basique pour accélérer la réaction de polymérisation. Donc un produit abaissant le pH (donc un acide plus ou moins fort) ralentira ou bloquera la formation de gel d'acrylamide (Gauthier, 2004).

Les conditions physiques peuvent affecter la polymérisation de l'acrylamide. La température est un exemple. Plus la température est forte, plus les réactions chimiques en général sont accélérées. La polymérisation de l'acrylamide n'est pas différente des autres réactions et est donc plus rapide à haute qu'à basse température (Gauthier, 2004).

4.4. Préparation des échantillons et conditions de migration

Les échantillons de protéines qu'on dépose dans un puit de gel doivent être le plus possibles exempts de produits contaminants. Les ions sont particulièrement à éviter puisqu'ils peuvent nuire au déroulement correct des phénomènes électriques permettant la concentration des protéines dans le gel de tassement. Si on veut séparer des protéines métaboliquement marquées, par exemple avec un acide aminé, du phosphate, des précurseurs d'oligosaccharides, etc., il faut aussi enlever les molécules qui ne se seraient pas incorporées dans les protéines. En effet elles peuvent souvent créer un bruit de fond réduisant la sensibilité d'une autoradiographie ou d'une fluographie (Gauthier, 2004).

Plusieurs approches sont couramment utilisées pour éliminer ces contaminants. La plus simple est la précipitation acide des protéines avec de l'acide trichloracétique. Les protéines précipitent dans ces conditions et peuvent être récupérées sous forme de sédiment après centrifugation, tandis que les petites molécules contaminants restent dans le surnageant. Cette méthode a cependant plusieurs défauts. Elle ne permet pas une récupération de toutes les protéines et le précipité de protéines est souvent difficile à redissoudre. Une approche plus efficace quoique plus longue est la précipitation au phénol (Sauvé *et al.*, 1995). Cette méthode vient du fait que les protéines en solution aqueuse mises en présence de phénol se dénaturent et, soit deviennent soluble dans le phénol, soit forment un film à l'interface eau-phénol; les petites molécules contaminantes demeurent dans la phase aqueuse. On peut donc récupérer les protéines et les soumettre à une électrophorèse. D'autres précipitation avec des solvants organiques (éthanol, acétone) sont aussi faisables mais ont aussi des inconvénients. Une façon très efficace, mais un peu plus coûteuse, est l'emploi de tubes à centrifuger munis d'une membrane à dialyse (Salodof, 2003). En centrifugeant, on force les petites molécules et la grande majorité du solvant aqueux à travers la membrane et on peut recueillir à la surface de la membrane des protéines concentrées et débarrassées des contaminants ayant une masse inférieure à la limite d'exclusion, de l'ordre de 5 à 10 kDa (Gauthier, 2004).

Il faut aussi que les conditions ioniques et de pH soient compatibles avec la stabilité des protéines analysées. On évite généralement les milieux trop acides ou trop alcalins. Pour la plupart des protéines, les pH acceptables sont de l'ordre de 6 à 10.

La chaleur perturbe aussi la migration électrophorétique. Il faut particulièrement éviter les situations où le gel est soumis à des températures différentes. Les gels en plaque sont particulièrement sensibles et il était fréquent que les bordures des gels surchauffaient. Cela causait une migration plus lente des échantillons des puits périphériques caractérisé par des bandes protéiques ayant migré plus rapidement au centre du gel. De nos jours cependant, les dispositifs à électrophorèse sont conçus pour assurer un refroidissement uniforme de tout le gel.

Le tampon dans lequel est dissout l'échantillon de protéine contient aussi un marqueur de migration, une petite molécule colorée, qui migre devant toutes les protéines permettant de suivre le progrès de la migration (Gauthier, 2004).

5. Méthodologie et technique (SDS-PAGE)

La technique du gel d'électrophorèse en conditions dénaturantes ("sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis" ou SDS-PAGE) a été décrite par Laemmli en 1970. On fait bouillir un mélange de protéines, pendant environ 3 minutes en présence :

- D'un détergent anionique fort (agent dénaturant) : le sodium dodécyl sulfate (SDS).

Ce détergent se lie et dénature la plupart des protéines, avec environ 1,4 g de SDS lié par gramme de protéine (soit environ 1 SDS / 2 acides aminés). Comme il y a une charge négative par molécule de SDS, sa liaison masque toutes les charges de la protéine, et lui confère une charge globale négative élevée. En outre, les complexes protéine/SDS ont généralement une forme allongée cylindrique. Comme la quantité de SDS lié par unité de masse de la protéine est constante, la densité de charge globale de toutes les protéines est similaire, donc la mobilité électrophorétique est seulement déterminée par les effets de tamisage. Le SDS élimine également les différences dues à la forme des protéines au niveau des effets de tamisage, puisque toutes les protéines ont la même forme générale cylindrique. La mobilité devient seulement une fonction de la masse moléculaire de la protéine, et non de sa forme.

- D'un agent réducteur : le β -mercaptoéthanol qui réduit les ponts disulfures, ce qui permet une dénaturation complète des protéines et leur permet d'adopter la forme cylindrique. Des masses moléculaires apparentes peuvent être obtenues sous des conditions non réductrices, mais elles ne doivent être considérées que comme des estimations. L'analyse de protéine à la fois en présence et en absence d'agent réducteur peut fournir des informations importantes sur la structure des sous-unités d'une protéine. Une protéine multimérique dont les sous-unités sont maintenues ensemble par des ponts disulfures peut être résolue en ses différents composants individuels lorsque l'agent réducteur est ajouté. Si les sous-unités sont maintenues ensemble par des attractions intermoléculaires non covalentes, les protéines vont éluer de la même façon dans des conditions dénaturantes (ce qui va éliminer les interactions des sous-unités), en présence ou en absence d'agent réducteur. Pour déterminer la composition en sous-unités d'une protéine, lorsqu'elles sont maintenues ensemble par des interactions non covalentes, l'électrophorèse doit être réalisée en absence d'agent dénaturant.

En résumé :

- Les protéines sont dénaturées : elles ont perdu leur structure tridimensionnelle native.
- Les protéines n'ont plus de ponts disulfures : elles sont sous une forme monomérique
- Les protéines de l'échantillon sont ensuite séparées par une électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS. C'est un gel réticulé obtenu par polymérisation :
- D'acrylamide qui forme des chaînes.

Electrophorèse des protéines

- Et de bis-acrylamide qui pontent les chaînes d'acrylamide.

La réaction de polymérisation est :

- Initiée par la formation de radicaux libres par le persulfate d'ammonium (APS)

- Catalysée par le TEMED (N,N,N',N'-tétraméthyl-1-2-diaminométhane)

Rappelons-nous que plus le pourcentage d'acrylamide est élevé, plus la densité des chaînes est élevée et les mailles du réseau sont serrées. En conséquence :

- Plus le pourcentage d'acrylamide est élevé, moins les molécules volumineuses peuvent migrer

- Une protéine globulaire (assimilable à une sphère) migre d'autant moins que sa masse molaire est élevée.

Le gel est coulé, en deux étapes, entre des plaques de verre fixées sur un support.

La partie inférieure du gel, appelé "gel de migration" est celui au niveau duquel la séparation va avoir lieu. Son pH se situe habituellement vers 8,7 et sa concentration en acrylamide (entre 7 et 15 %, en général) dépend de la taille des protéines que l'on désire analyser. La partie supérieure du gel, dans lequel un peigne est enchâssé pour former des puits, est appelé "gel de concentration".

Son pH se situe vers 6,5 et sa concentration en acrylamide est de l'ordre de 2 à 4 % seulement. L'utilité d'un gel divisé en deux parties réside dans le fait que les protéines vont se déplacer rapidement dans le gel de concentration et s'accumuler à l'interface avec le gel de migration avant de pénétrer ce dernier. Cela accroît la concentration des protéines avant qu'elles n'entrent dans le gel de migration, ce qui augmente la résolution. Comment cela marche-t-il ?

Lorsque les électrodes sont branchées, les ions glycine, de la partie supérieure du réservoir à pH environ 8,7, qui ont à ce pH, une charge partielle moyenne négative, entrent dans le gel de concentration. (Gillet, 2007)

Les ions du tampon du gel de concentration continuent de se déplacer dans le gel de concentration, mais les ions glycines, eux, lorsqu'ils se trouvent à pH 6,5, deviennent des zwitterions avec une charge nette de zéro et donc cessent de se déplacer. La résistance électrique dans le gel de concentration augmente alors, puisque le nombre d'ions se déplaçant à travers le gel de concentration diminue. Pour maintenir le courant constant dans le circuit, il va y avoir une augmentation locale du potentiel dans le gel de concentration. Cela va provoquer une migration rapide des protéines et leur accumulation dans une tranche très étroite juste derrière les ions Cl⁻ dans le gel de concentration (lesquels sont en front de migration, puisqu'ils possèdent la plus grande densité de charge et mobilité électrophorétique

Electrophorèse des protéines

de tous les ions se trouvant dans le gel de concentration). Les protéines ne vont pas dépasser les ions Cl^- puisque si ils le faisaient, ils seraient immédiatement ralentis, ne se trouvant plus dans une zone appauvrie en porteurs de charges et donc de haut potentiel. A l'interface gel de concentration / gel de migration, les protéines ne peuvent toutes se déplacer à la même vitesse à cause de l'effet de tamisage du gel plus concentré et donc elles se séparent dans le gel de migration. La glycine finit par entrer dans le gel de migration, si on suppose qu'elle est totalement chargée à pH 8,7, dépasse les protéines et comble la déficience de charge qui était apparue dans le gel de concentration. (Gillet, 2007).

Après polymérisation du gel, le peigne est retiré formant ainsi des puits. La taille et le nombre de dents des peignes sont variables, ce qui permet de déposer des volumes allant de 20 μl à 200 μl d'échantillon de protéines à séparer. Les plaques de verre contenant le gel polymérisé sont placées dans une cuve d'électrophorèse. Du tampon d'électrophorèse conducteur (électrolytes) est mis dans la cuve et la migration s'effectue sous l'action d'un champ électrique :

- Tampon d'électrophorèse : Tris 50 mM – Glycine 0,2 M – SDS 0,1 % - pH 8,3 – 8,8
- Glycine : acide faible
- Voltage : 100 – 150 V

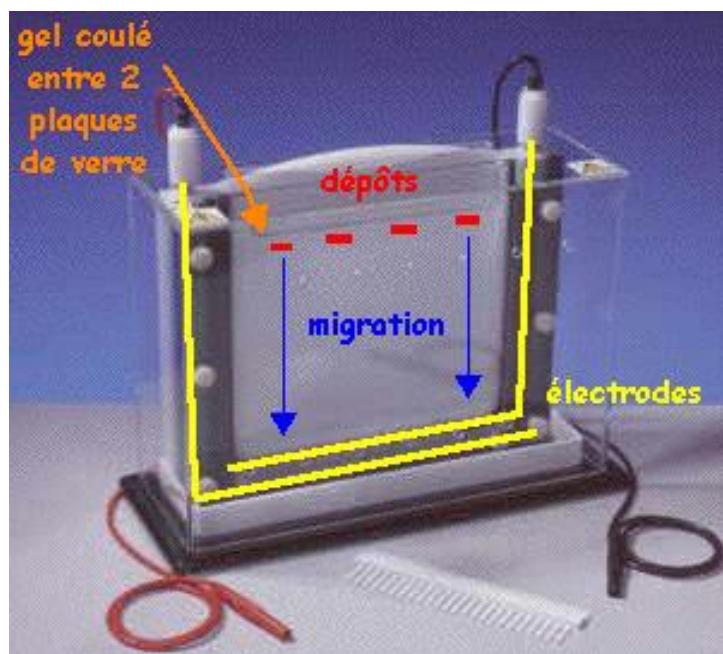


Figure 05 : dispositif de l'électrophorèse

Electrophorèse des protéines

Les échantillons de protéines dénaturées sont déposés dans les puits (Figure 05). La plupart des protéines n'absorbent pas la lumière dans les longueurs d'onde visible, elles ne seront donc pas visibles durant la migration. Pour s'assurer que les protéines ne soient pas éluées dans le réservoir inférieur (analyse trop longue) un colorant anionique de faible masse moléculaire, le bleu de bromophénol est ajouté aux protéines avant qu'elles ne soient placées sur le gel. L'électrophorèse est arrêtée lorsque le colorant approche de l'extrémité inférieure du gel de migration. A noter également que l'on ajoute un peu de glycérine à l'échantillon de protéines pour rendre cette solution plus dense que le tampon, ce qui va lui permettre de se déposer dans le fond du puits plutôt que de diffuser dans le tampon d'électrophorèse. Après migration, le gel est démoulé. Les protéines sont fixées dans le gel par une solution qui contient du méthanol et de l'acide acétique qui dénaturent de manière irréversible les protéines dans les mailles du gel. Les protéines sont révélées par une coloration : par exemple avec le bleu de Coomassie ou le nitrate d'argent (10 à 50 fois plus sensible). On peut également modifier les protéines avec un marqueur fluorescent ou radioactif, avant séparation par électrophorèse, ce qui augmente encore la sensibilité (Gillet, 2007).

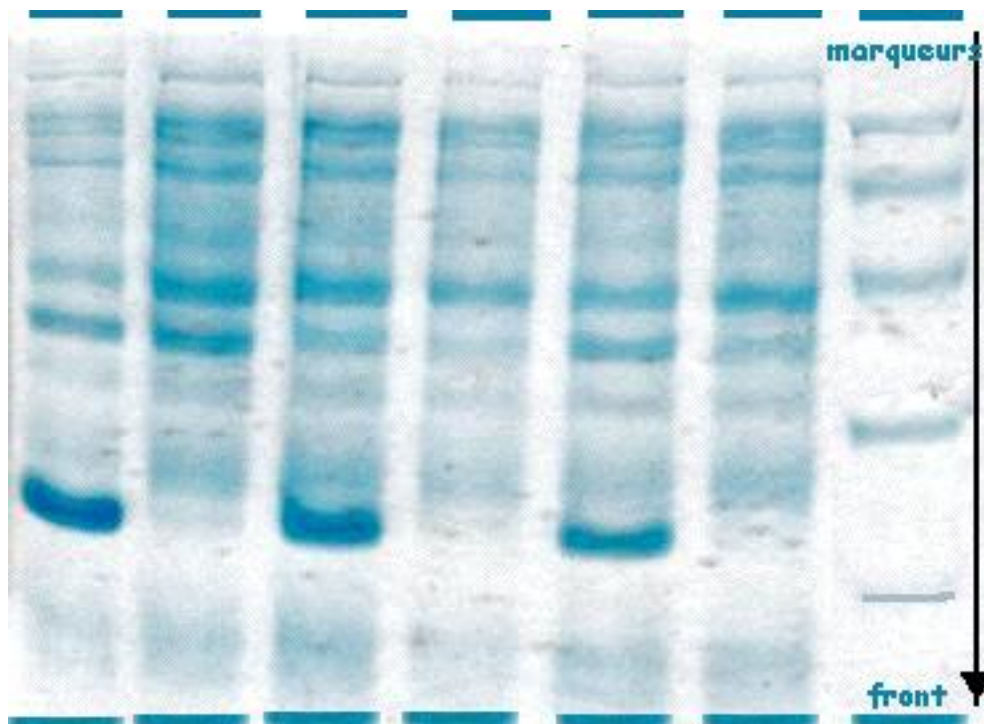


Figure 06 : Un exemple d'un gel électrophorétique (Gauthier, 2004)

Electrophorèse des protéines

On obtient différentes bandes pour chaque puits (Figure 06). La masse molaire des protéines est déterminée à l'aide de marqueurs qui sont des protéines standards de masses molaires connues.

Exemple de marqueurs :

- Myosine (205 kDa)
- B-galactosidase (116 kDa)
- Phosphorylase (97,4 kDa)
- Albumine (66 kDa)
- Ovalbumine (45 kDa)
- Anhydrase carbonique (29 kDa)

Chapitre IV

Matériel et méthodes

1. Objectif de travail

Le présent travail a pour but d'étudier l'effet du gène cou nu « Na » sur les paramètres morpho-pondéraux des œufs et sur les profils lipidiques et protéiques afin de comparer entre les œufs locaux et sélectionnés.

2. Phénotypes comparés, âge, conditions d'élevage

- Les œufs analysés provenaient de trois populations différentes :

Population 01 « CN »: Poules locales âgées portantes du gène Na « cou nu ».

Population 02 « PL »: Poules locales âgées dont le gène Na est absent « poules normales ».

Population 03 « SS » : Pondeuses commerciales « souche sélectionnée ».

- Les poules étaient contrôlées en cages individuelles. Elles recevaient toutes le même aliment dont la composition est : Céréales, tourteaux de soja, issues de meunerie, calcaire, phosphate, sel, oligo-éléments, vitamines.

Chaque jour, les œufs étaient prélevés pour la détermination :

- Des dimensions de chaque œuf (longueur et largeur) (en cm).
- Poids total de l'œuf (en g).
- Poids de chaque partie de l'œuf (blanc, jaune et coquille) (en g).
- La teneur en lipides totaux (en g /100g des parties comestibles).
- La teneur en protéines totales (en g/100g des parties comestibles).
- Profil protéique du blanc d'œuf.

3. Les méthodes d'analyse

1- Chaque œuf est marqué, pesé à l'aide d'une balance électronique. Leurs mesures (largeur et longueur) ont été réalisées à l'aide d'un pied à coulisse.

2- Le blanc et le jaune d'œuf sont séparés et pesés, ainsi que la coquille.

3- La totalité des œufs a été envoyée au laboratoire pour doser certains constituants (lipides totaux et protéines totales) et la réalisation d'une électrophorèse des protéines du blanc SDS-PAGE.

3.1. Mesure des paramètres morpho-pondéraux des œufs

- A l'aide d'un pied à coulisse, nous avons mesuré la longueur, puis la largeur des œufs.
- En utilisant une balance électronique de haute précision nous avons mesuré le poids total de chaque œuf.
- On casse l'œuf pour peser chaque constituant séparément (blanc, jaune et coquille).

3.2. Dosage des lipides totaux à froid par la méthode de Folch

Les lipides totaux ont été extraits, puis purifiés à partir d'une fraction aliquote de chaque œuf en utilisant le mélange chloroforme-méthanol (2/ 1 ; v/v) et selon la méthode proposée par Folch *et al.*, (1957). Les teneurs en lipides totaux ont été déterminées par pesée après évaporation des solvants. Elles sont exprimées en g /100g des parties comestibles.

A-Préparation des solutions de Nacl à 0.73% et à 0.58%

- Peser précisément 0,73g dans un verre de montre préalablement taré.
- Introduire le solide dans une fiole jaugée de 100 ml avec un entonnoir à solide. Rincer le verre de montre et l'entonnoir avec de l'eau distillée : verser l'eau de rinçage dans la fiole jaugée.
- Remplir la fiole jaugée aux trois quarts avec de l'eau distillée puis agiter pour dissoudre le solide.
- Une fois la dissolution terminée, ajouter de l'eau distillée à la pissette pour ajuster au trait de jauge
- La solution est prête : elle peut être stockée dans un flacon, étiquetée et utilisée ultérieurement.

De la même façon on prépare la solution de Nacl à 0,58%

B- Préparation de la solution de Folch

- On prépare seulement la quantité nécessaire pour le travail du jour même pour éviter l'évaporation du chloroforme.
- Il faut préparer au minimum 100 ml de la solution de Folch par échantillon en prenant à chaque fois deux volumes de chloroforme avec un volume de méthanol et en prenant en considération un volume supplémentaire pour le rinçage du matériel après chaque utilisation pour récupérer les lipides attachés aux matériaux.

C- Méthode de dosage

- On casse l'œuf et on jette la coquille.
- On pèse les parties comestibles.
- Bien homogénéiser par un batteur électrique.
- On prend 10 g de ce homogénéisât.
- Ajouter 60 ml de réactif de Folch (40 ml chloroforme + 20 ml méthanol).
- Bien homogénéiser le mélange.
- A ce stade, les lipides sont majoritairement passés en solution. Par filtration sur verre fritté à l'aide d'une pompe à vide, les composés solides non lipidiques et non solubilisés dans le mélange de solvant sont éliminés.

- Chaque perméat est versé dans une ampoule à décanter et dans laquelle est ajouté 0,2 volume d'eau salée (0,73% NaCl).

- Les ampoules à décanter sont ensuite placées à l'abri de la lumière pendant 2 heures.

- On obtient une saturation des deux mélanges méthanol-eau et chloforme- lipides

La phase organique (phase inférieure) contient les lipides neutres (LN), les glycolipides (GL) et les phospholipides (PL) tandis que la phase aqueuse (phase supérieure) contient les gangliosides (Gg), les lipides très ionisés et les autres composés solubles non lipidiques (protéines, sucres, sels...).

- La phase organique est récupérée dans un ballon taré puis évaporée à l'évaporateur

- La phase supérieure est rincée avec 50 ml d'un mélange à 20% de NaCl (0,58%) et 80% de réactif de Folch de façon à obtenir le reste de lipides entraînés dans cette phase au cours de l'agitation et on laisse décanter pendant 20 minutes.

- De la même façon on récupère la phase inférieure et on l'ajoute à la quantité précédente que l'on a met dans la fiole tarée.

- Après évaporation totale du solvant on peut savoir par un simple calcul la quantité des lipides contenus dans 100g des parties comestibles.

NB : Nous avons pris un effectif de 15 œufs par population

3.3. Dosage des protéines totales par la méthode de Bradford (1976), (méthode du bleu de Coomassie)

Bradford *et al.*, (1976) ont développé une méthode basée sur l'adsorption du colorant bleu de Coomassie G250. En milieu méthanolique acide, ce colorant s'adsorbe sur les protéines et cette complexation provoque un transfert de son pic d'adsorption qui passe du rouge au bleu. Cette adsorption se fait principalement par des liens ioniques avec des acides aminés basiques (arg, his, et lys) et des interactions hydrophobes (acides aminés hydrophobes).

C'est une méthode très sensible (2-5 µg de protéines) et très rapide. Elle est aussi assez résistante à la plupart des interférents qui nuisent à la plupart des autres méthodes.

A- Principe d'une gamme étalon et d'un droit étalon

On utilise trois types de solution :

1. Une solution de la protéine dont on veut déterminer la concentration.
2. Une solution de concentration connue d'une protéine considérée comme une référence ou un standard par rapport à la protéine dont on veut déterminer la concentration.

Dans ce travail nous avons pris comme protéine de référence (l'albumine de sérum bovin ou BSA).

3. Une solution de réactif qui développe une coloration en réagissant avec des acides aminés spécifiques de ces protéines. Le nom anglais du réactif de Bradford est : "Bradford Coomassie brilliant blue G-250 protein-binding dye".

La solution de concentration connue permet de constituer une gamme étalon : série des tubes qui contiennent un volume identique mais des quantités croissantes et connues de la protéine de référence.

En parallèle, une série des tubes, contenant différents échantillons des œufs dont on veut déterminer la concentration (l'échantillon à doser), préalablement préparés.

La solution de réactif est ajoutée au même moment dans tous les tubes afin que la coloration se développe dans les mêmes conditions pour la gamme étalon et l'échantillon à doser.

B- Préparation d'une gamme étalon

- On dispose d'une solution mère de BSA à 1 mg.ml^{-1} .
- Le volume total (BSA + diluant) doit être de $50 \mu\text{l}$ dans tous les tubes.
- On calcule les volumes à prélever de la solution mère de BSA et du diluant pour faire une gamme étalon de différentes concentrations de BSA (Annexe 01).

NB/ On utilise comme diluant l'eau distillée.

C- Préparation des échantillons à doser

- Casser l'œuf et bien mixer le blanc et le jaune à l'aide d'un batteur électrique pour obtenir un bon homogénéisât.
- On prend le poids et le volume des parties comestibles de chaque œuf.
- Le diluer dans du tampon pH 10 (tampon glycine - NaOH 0,1 M) jusqu'à un volume final de 200 ml.
- On prélève $50 \mu\text{l}$ de la solution des protéines préalablement préparée et on la met dans des tubes.
- On ajoute 2 ml de réactif de Bradford (Annexe 02) dans les 2 séries des tubes.
- On mélange et on laisse 5 à 15 min à l'obscurité

NB : Nous avons pris un effectif de 15 œufs par population.

3.4. Electrophorèse des protéines de l'œuf par SDS-PAGE

Dans le blanc d'œuf on trouve de nombreuses protéines telles que l'ovalbumine et le lysozyme. Nous cherchons dans cette manipulation à séparer et identifier les différentes protéines présentes dans le blanc des œufs provenant de différentes poules (CN, PL, SS) et de voir s'il y a une différence entre les trois populations étudiées. Pour cela nous avons réalisé une électrophorèse SDS-PAGE selon le protocole fourni par Laemmli (1970).

Le SDS est un détergent anionique a pour rôle la dissociation des complexes protéiques, il est associé à un agent réducteur, le β -Mercaptoéthanol, qui rompt les ponts disulfures. Le SDS, se fixe sur les protéines et leur conférant une charge négatif (Rabilloud *et al.*, 1993). Ainsi leur séparation se fait selon la différence de poids moléculaire.

Le gel de séparation est utilisé pour séparer les protéines selon leur vitesse de migration quand elles sont soumises à un champ électrique, nous avons réalisé un gel de séparation à 15% en tampon Tris-HCL, pH 8,8.

Le gel de concentration a pour but de concentrer les protéines avant leur migration, nous avons réalisé un gel de concentration à 5% en tampon Tris -HCL, pH 6,8.

A- Préparation du matériel

- Le matériel doit être propre, dégraissé.

B- Montage

Un joint est mis en place sur l'une des plaques en verre puis on positionne les deux espaceurs de chaque côté et on pose l'autre plaque par-dessus, le tout est solidarisé.

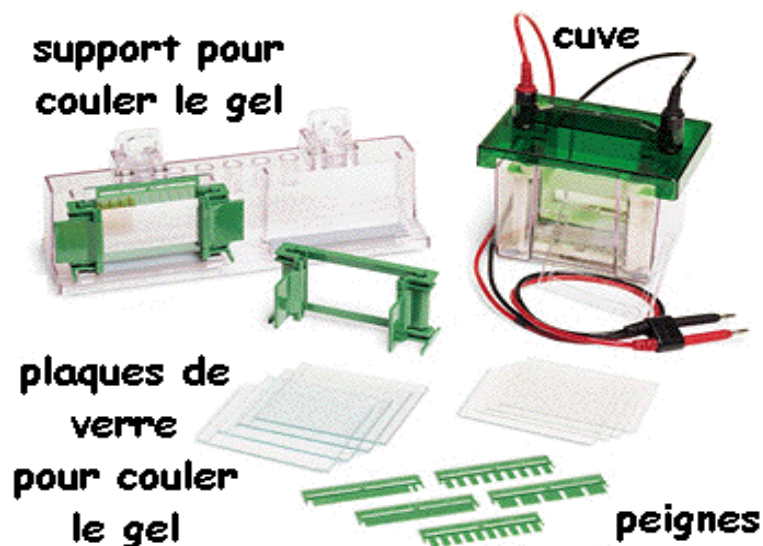


Figure 07 : Le matériel de l'électrophorèse

- Le gel de migration (Annexe 06) est coulé entre les deux plaques à l'aide d'une pipette. Nous avons pris soin d'éviter la présence des bulles d'air dans le gel afin d'obtenir une surface parfaitement horizontale. Le gel commence à polymériser dès la fin du remplissage.
- Nous avons retiré l'eau puis nous avons rempli le montage par le gel de concentration (Annexe 07) comme précédemment jusqu'au niveau supérieur des plaques de verre. Le peigne est alors mis en place pour former des puits dans le gel de concentration.
- On laisse le gel polymériser.
- Le temps de polymérisation peut être contrôlé en observant le reliquat de gel préparé
- Après polymérisation on enlève le peigne attentivement pour éviter d'abîmer les puits.

Les points critiques

- Pas de bulles d'air sous la plaque de gel.
- Attention à ne pas abîmer les puits lors du retrait du peigne.
- Pas de fuite de tampon de migration.

C- Préparation des échantillons

- Le blanc d'œuf est composé en quasi-totalité d'eau et de protéines, avec quelques minéraux (90% de la matière sèche sont des protéines). Il était suffisant donc d'utiliser le protocole suivant pour séparer les protéines du blanc d'œuf.
- Casser l'œuf et bien séparer le blanc du jaune.
- Bien homogénéiser le blanc à l'aide d'un batteur électrique
- Le diluer dans du tampon pH 10 (tampon glycine - NaOH 0,1 M) jusqu'à un volume final de 200 ml.
- Homogénéiser parfaitement, mais doucement, en évitant l'introduction d'air dans la préparation (sans faire mousser).
- Préparer une dilution au ¼ de cette solution-mère dans le tampon pH 10.
- Prendre 100µl de cette préparation et ajouter un volume identique de tampon d'échantillon (Annexe 03).
- Les préparations sont mettre à ébullition pendant 3min afin de favoriser la dénaturation des protéines

NB : Le bleu de bromophénol présent dans le tampon de dénaturation est utilisé comme marqueur de migration. Il migre très rapidement. C'est le glycérol présent dans le tampon de dénaturation qui donne une forte densité aux dépôts, ce qui les fait « couler » au fond des puits.

D- Dépôt des échantillons et migration

- Nous avons déposé 10 μ l d'échantillon protéique dénaturé dans chaque puits à l'aide d'une seringue et 5 μ l du marqueur de taille préalablement préparé (Figure 08).
- Les cuves sont remplies avec le tampon de migration en commençant par la partie supérieur puis inférieur.
- Les électrodes sont alors connectées au générateur avec le pole négatif dans la partie supérieure (Figure 09).
- La migration se fait jusqu'à ce que le bleu de bromophénol atteigne le bord inférieur des plaques.
- Mise sous tension : On commence par 50 v puis on augmente progressivement jusqu'à 150 v



Figure 08: Dépôt des échantillons



Figure 09: la migration (The studier Model SE400)

E- Révélation

- Le gel est retiré des plaques puis immergé dans une solution de précipitation ou de fixation (Annexe 08).
- On laisse 35 min pour assurer la précipitation des protéines sur le gel.
- Le gel est placé sur un agitateur et coloré pendant 1heure avec la solution de coloration (Annexe 09) puis décoloré avec la solution de décoloration (Annexe 10) trois fois ou plus jusqu'à retrouver un fond incolore

NB : La décoloration se fait avec agitation.

Chapitre V

Résultats et discussion

1. Comparaison des paramètres morpho-pondéraux

1.1. La taille des œufs

Les œufs des pondeuses SS ont tendance à être moins larges ($4.023 \pm 0,138$ et $4.057 \pm 0,77$ pour SS et CN respectivement) et moins longs ($5.487 \pm 0,233$ et $5.533 \pm 0,27$ pour SS et CN respectivement) que les œufs locaux CN mais de manière non significative.

La largeur de l'œuf présente une différence significative entre les œufs PL et les deux autres populations SS et CN. Les œufs des poules normales apparaissent moins larges ($3.79 \pm 0,214$) et moins longs ($5.177 \pm 0,414$) que les autres (Tableau 10).

Il n'y a pas une différence significative de longueur entre les trois populations.

Kennedy (1991) a prouvé que les poules domestiques, ont des couvées de tailles très variables et adaptables.

De même, la morphologie de l'œuf local a été significativement différente de celle de l'œuf de consommation.

Halbouche *et al.* (2012) ont prouvé que l'œuf local CN est plus long ($+0,2$ cm, $P < 0,01$) que l'œuf de consommation SS.

1.2. Le poids total des œufs

Les poids totaux enregistrés n'ont pas présenté une différence significative entre les œufs locaux CN et sélectionnés SS ($60.152 \pm 3,349$ et $62.766 \pm 5,361$ pour CN et SS respectivement). Par contre, il existe une différence remarquable pour les œufs des autres poules locales PL qui apparaissent plus légers ($51.537 \pm 8,084$) (Tableau 10).

Généralement, le nombre d'œufs pondus ne présage pas de leur poids (Christians, 2002). Ce poids, corrélé à la taille du squelette du poussin et au poids du jeune rapporté à sa taille, est un bon indice de la survie du jeune poussin (Bolton, 1991 ; Williams, 1994). Les caractéristiques du mâle influencent beaucoup plus la taille des œufs que celle de la ponte.

Les différents composants de l'œuf ont des rôles spécifiques dans le développement embryonnaire et celui du jeune poussin. Une augmentation de la taille de l'œuf ou de son poids, peut être générale et isométrique, ou peut ne concerner qu'un compartiment de l'œuf, chacun permettant des ajustements différents. Donc, l'étude des deux paramètres poids et taille sont très importants pour estimer la qualité des œufs surtout en comparant entre les différentes populations.

Selon la classification des œufs dans le commerce (Tableau 08), les œufs de poules CN et SS sont répartis en catégories B, tandis que les autres poules locales PL sont de catégorie D.

Les deux premières catégories sont généralement proposées au consommateur, la troisième population est conseillée pour l'industrie alimentaire (biscuiteries, plats préparés, ..).

1.3. La masse de la coquille

La coquille de l'œuf a un rôle primordial dans l'embryogénèse. Elle assure la protection mécanique de l'œuf, permet les échanges d'air et d'eau, et fournit avec le jaune d'œuf, le calcium nécessaire au bon développement du squelette, des muscles et du cerveau. D'où l'importance et la nécessité d'étudier un tel paramètre.

Les œufs commerciaux ont des coquilles plus lourdes que les œufs locaux ($7.642 \pm 1,177$; $6.174 \pm 0,94$; $8.244 \pm 0,788$ pour les œufs CN, PL, SS respectivement).

Les résultats obtenus (tableau 10) n'ont pas présenté une différence significative entre les trois populations. Ce résultat a été prouvé par le travail de Halbouche *et al.* (2012).

1.4. La masse du vitellus

Les œufs des poules CN ont été plus riches en vitellus ($21.357 \pm 2,034$), en présentant une différence significative avec les œufs SS et PL ($18.019 \pm 1,665$ et $16.958 \pm 3,856$ pour SS et PL respectivement), alors qu'il n'y a pas une différence significative entre ces deux dernières. Ce résultat a été confirmé par Halbouche *et al.* (2012).

La masse du jaune d'œuf et sa composition sont de bons indicateurs de la qualité d'œuf, car le jaune d'œuf contient des réserves énergétiques de l'embryon (Williams, 1994). La quantité de vitellus ne modifie pas son assimilation dans les tissus de l'embryon, mais augmente le résidu présent dans l'œuf à la fin de l'incubation (Finkler *et al.*, 1998). Le reste de jaune d'œuf est en effet conservé par les poussins comme une annexe du tube digestif jusqu'à la consommation complète des nutriments qui y sont stockés. Ils possèdent ainsi une réserve de nutriments pour leurs tout premiers jours de vie (Kear, 1965 ; Peach et Thomas, 1986). Ce résidu fournit au jeune poussin l'énergie utile lors des premiers jours de sa vie. Chez la poule, le jaune d'œuf influence la qualité et la survie du jeune poussin (Finkler *et al.*, 1998). Il devient impératif de passer par cette étude pour estimer la qualité des œufs.

1.5. La masse de l'albumen

D'après les résultats obtenus les œufs des poules SS sont plus riches en albumen ($36.057 \pm 3,684$) que les œufs CN ($30.931 \pm 2,107$) et ces derniers sont plus riches que ceux des autres poules locales PL ($28.219 \pm 3,962$).

La masse de l'albumen présente une différence significative entre les trois populations étudiées, ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Halbouche *et al.* (2012).

Résultats et discussion

Le blanc d'œuf est un composant majoritaire de l'œuf, et le principal facteur réagissant sur la taille de ce dernier. C'est le constituant le plus volumineux, composé majoritairement d'eau.

L'eau contenue dans le blanc d'œuf est déterminante: une déshydratation expérimentale du blanc diminue drastiquement la probabilité de l'éclosion (Davis et Ackerman, 1987) même si elle n'altère pas le développement embryonnaire.

La qualité et la quantité des composants de l'œuf (jaune et blanc) ont des rôles spécifiques dans le développement embryonnaire et celui du jeune poussin, donc, on peut constater le rôle important du calcul de ces simples paramètres pour la détermination de la qualité des œufs des différentes populations étudiées.

Tableau 10 : Comparaison des paramètres morpho-pondéraux des œufs des poules CN, PL et SS

Les paramètres morpho-pondéraux	Les moyennes ±Ecart type			Probabilité P
	CN	PL	SS	
Poids total (g)	60.152±3,349 _a	51.537±8,084 _b	62.766±5,361 _a	00
Poids de vitellus(g)	21.357±2,034 _a	16.958±3,856 _b	18.019±1,665 _b	00
Poids de l'albumen(g)	30.931±2,107 _a	28.219±3,962 _b	36.057±3,684 _c	00
Poids de coquille (g)	7.642±1,177 _a	6.174±0,94 _a	8.244±0,788 _a	00
Longueur (cm)	5.533±0,27 _a	5.177±0,414 _a	5.487±0,233 _a	0,00006
Largeur (cm)	4.057±0,77 _a	3.79±0,214 _b	4.023±0,138 _a	00
n =30				

(P=0,05)

2. Comparaison des teneurs en lipides totaux

En ce qui concerne les teneurs en lipides totaux, les résultats obtenus (Tableau 11) montrent qu'il existe une différence significative entre les œufs des poules CN et les deux autres populations par contre il n'y a pas une différence entre les œufs PL et SS.

La quantité des lipides est importante chez les œufs des poules CN, à cause de sa richesse en jaune d'œuf par rapport aux deux autres populations (Résultat obtenu dans ce travail).

La différence notée n'est pas assez importante si on compare les chiffres enregistrés respectivement chez les œufs de poules CN, PL et SS qui sont 10,12g ; 9,53g; 9,44g, elle peut être due au nombre d'effectif limité et/ou à la perte d'une quantité des lipides au cours de la manipulation qui s'attache aux matériaux.

Ces valeurs ne sont pas très loin de ceux citées par Sauveur (1988) dans son ouvrage *reproduction des volailles et production d'œuf* dans lequel a mentionné que la quantité des lipides est comprise entre 11,8 et 12,3g par 100 g d'œuf entier.

Dans leurs remarquable ouvrage, Jacquot et Adrian (1954) ont classé les lipides totaux parmi les constituants de l'œuf qui sont peu ou pas variables, selon ces derniers, les lipides sont des éléments constants, indépendants des conditions d'élevage et surtout de l'alimentation par contre les acides gras des lipides varient avec la nature des aliments ingérés.

Demarne *et al.* (1984) ont réalisé une étude comparative des lipides de l'œuf chez les poules Leghorn normales ou naines ne met donc pas en évidence de différences significatives pour ce qui concerne les teneurs en lipides totaux et la répartition des différentes classes de lipides (Demarne *et al.*, 1984). De plus, les valeurs présentées dans son travail sont similaires à celles rapportées antérieurement pour des œufs provenant d'autres souches.

Les seules différences significatives apparaissent au niveau de la composition en acides gras des triglycérides et se traduisent surtout par une teneur plus élevée en acide linoléique (18 : 2n - 6) et plus faible en acide oléique (18 : 1 n - 9) (Parkinson, 1966).

Les acides gras estérifiés dans les lipides de l'œuf proviennent de trois sources : l'aliment (lipides exogènes), la synthèse hépatique (lipides endogènes) et l'hydrolyse des triglycérides des réserves adipeuses, fournissant les acides gras libres plasmatiques (Leclercq, 1973). L'acide linoléique, à la différence de l'acide oléique, ne peut pas être synthétisé par l'animal, et son origine est donc exclusivement exogène (Bieri *et al.*, 1956 ; Hopkins et Nesheim , 1967).

Résultats et discussion

Tableau 11 : Comparaison des teneurs en lipides totaux des œufs de poules CN, PL et SS
(En g / 100g de parties comestibles)

Pop	CN	PL	SS	P
Lipides totaux (g)	10,12±0,47 _a	9,53±0,62 _b	9,44±0,47 _b	0,002
n=15				

(P=0,05)

3. Comparaison des teneurs en protéines totales

3-1-Gamme étalon

Tableau 12 : La gamme étalon.

BSA	00	10	20	30	40	50
DO	00	0,256	0,595	0,837	1,019	1,225

3-2. La courbe d'étalonnage

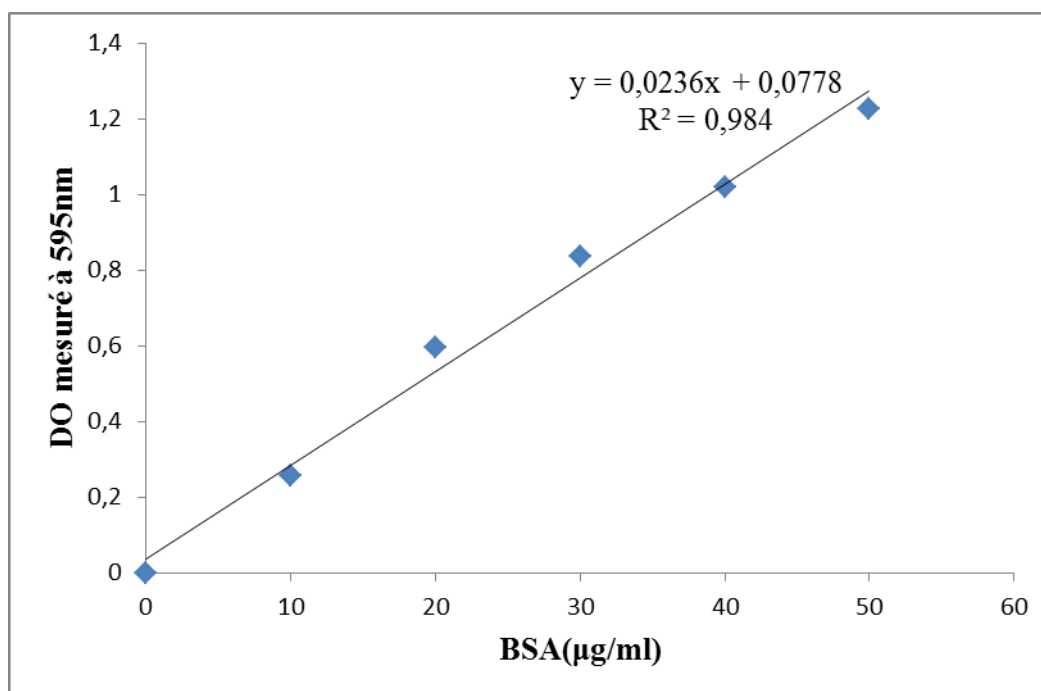


Figure 10 : Courbe d'étalonnage.

3-3. Calcul de la quantité des protéines en g/100g des parties comestibles

- La concentration en protéines des échantillons étudiés est déterminée soit graphiquement par l'utilisation du courbe étalon, soit en appliquant l'équation suivante pour calculer les concentrations à partir des valeurs de densités optiques enregistrées :

$$y = 0,0236x + 0,0778$$

- Nous avons calculé ensuite la quantité des protéines contenus dans 100g des parties comestibles à partir des valeurs de poids et de volume de chaque œuf que nous avons préalablement mesuré. Les résultats obtenus sont cités dans le tableau 13

D'après les résultats cités dans le tableau 13 les teneurs en protéines totales n'ont pas présenté une différence significative entre les œufs des poules CN, SS et les autres poules locales PL.

Résultats et discussion

Dans leur remarquable ouvrage, Jacquot et Adrian (1954) ont classé les protéines totales parmi les constituants de l'œuf qui sont peu ou pas variables, selon ces derniers, les protéines sont des éléments constants, indépendants des conditions d'élevage et surtout de l'alimentation.

La plupart des travaux de recherches réalisés ont basé sur la nature des protéines de l'œuf et pas sur les teneurs en protéines totales entre espèces puisque le facteur génétique ou facteur race n'influe pas sur la quantité protéique, par contre la nature de ces dernières varie beaucoup d'une population à une autre.

Les valeurs trouvées ne sont pas très loin de celles citées par Sauveur (1988) dans son ouvrage *reproduction des volailles et production d'œuf* dans lequel a mentionné que la quantité des protéines est comprise entre 12,0 - 12,8 g / 100g de l'œuf entier.

Tableau 13 : Teneurs en protéines totales des œufs des poules CN, PL et SS (En g/ 100g des parties comestibles)

Pop	CN	PL	SS	P
Protéines totales (g)	13,07± 2,66 _A	13,18±2,18 _A	13,73±1,39 _A	0,67085
n = 15				

(P=0,05)

4. Profil protéique des blancs des œufs des trois populations (CN, PL et SS)

Les protéines du blanc d'œuf ont été séparées selon leurs tailles, placées sur gel d'acrylamide à 15% en utilisant un volume d'échantillon de 10 μ l (Figure 12). La détection des différentes bandes a été effectuée à l'aide de la coloration par bleu de coomassie.

Deux œufs de chaque population ont été chargés sur le même gel donc un total de six œufs par gel.

La taille des différentes bandes du marqueur de taille utilisé pour extraire les poids des différentes protéines détectées dans notre gel, est mentionnée dans la figure 11.

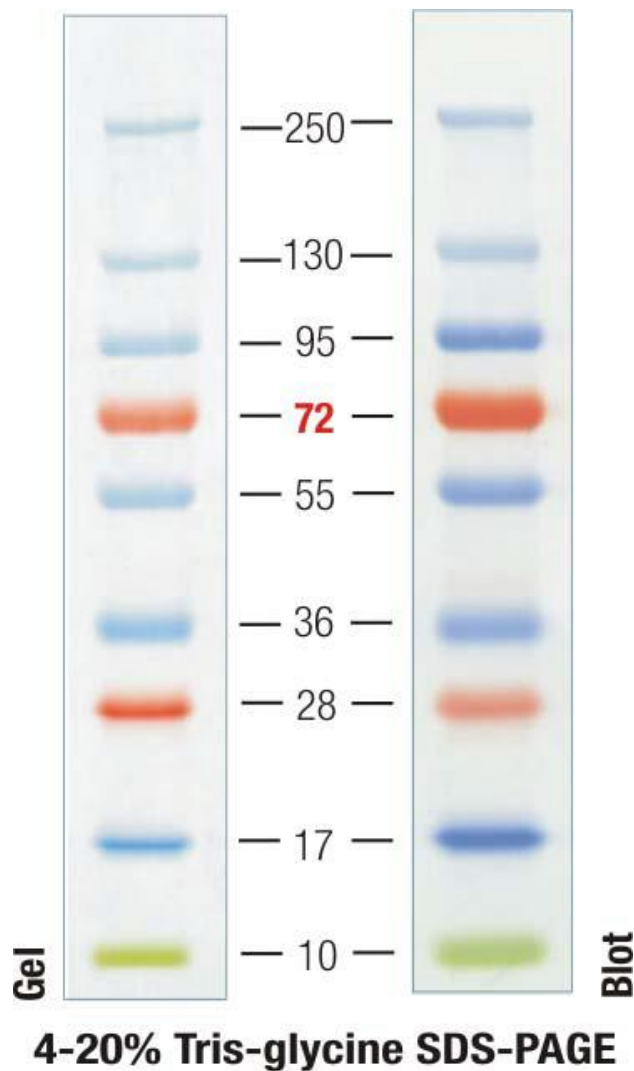


Figure 11 : Représentation des différentes bandes du marqueur de taille.

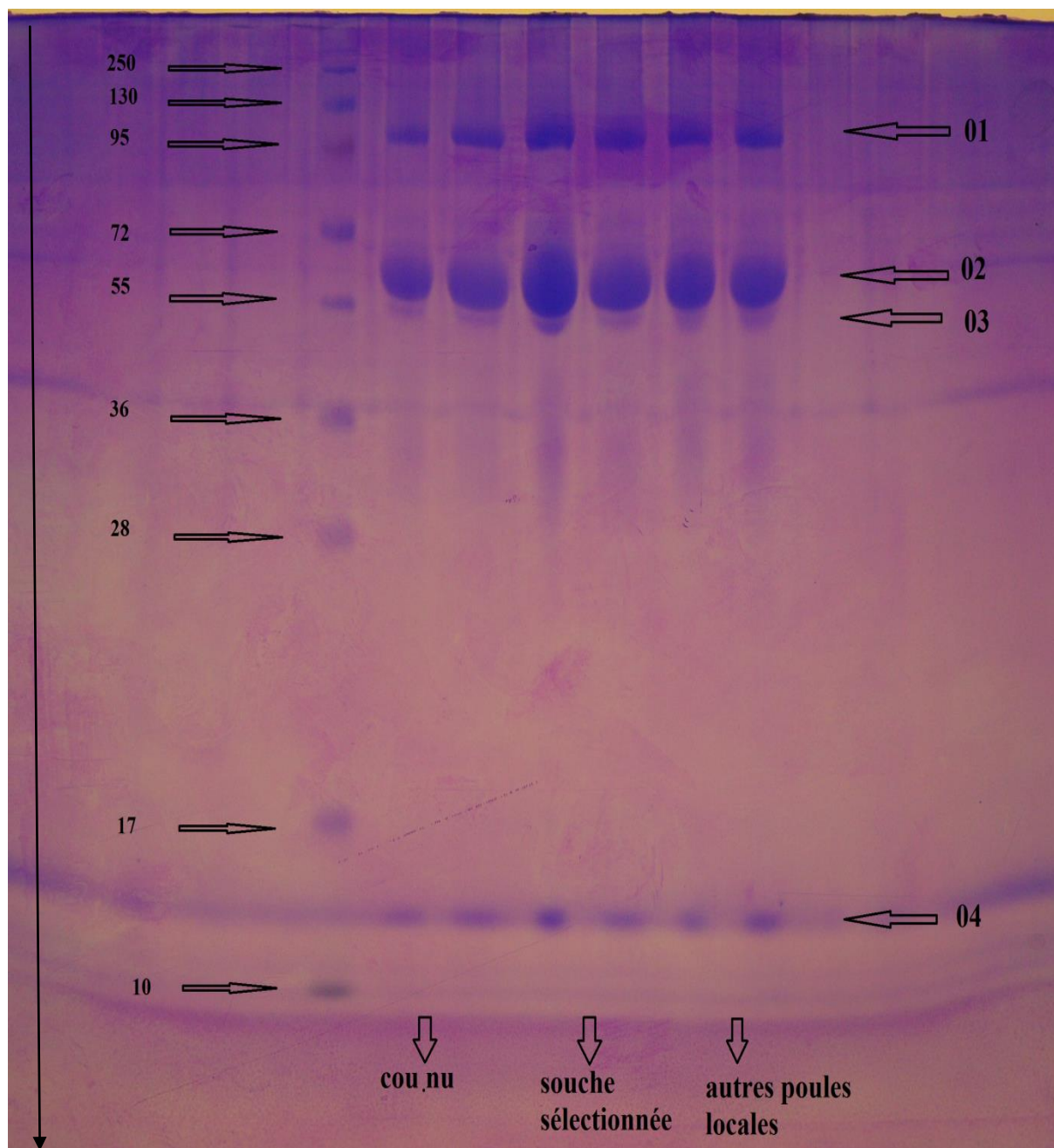


Figure 12 : Analyse SDS-PAGE des protéines de blanc d'œuf des poules CN, PL et SS sur gel de polyacrylamide à 15%

→ Sens de migration électrophorétique

Résultats et discussion

Le protocole que nous avons utilisé nous a permis après migration sur gel de polyacrylamide de distinguer quatre régions protéiques. Nous avons numéroté les bandes comme suit bande 01, bande 02, bande 03 et bande 04 selon leurs vitesses de migrations sur le gel. Les différentes protéines correspondantes sont résumées dans le tableau 14.

Tableau 14 : les différentes bandes observées et leurs protéines correspondantes

Régions observées	Intervalles de taille	Protéines correspondantes	Taille de la protéine dans la littérature
Rég 01	Entre 95 et 130KD	Ovomucine	au-dessus de 100 kDa
Rég 02	Entre 55 et 72 KD	Ovoflavoprotéine	66,5KD
Rég 03	Entre 36 et 55 KD	ovalbumine	50 KD
Rég 04	Entre 10 et 17 KD	lysozymes	14,3 KD

L'identification des différentes protéines a été hypothétique. Ainsi, cela nous a permis la localisation des lysozymes (bande 04), ovoflavoprotéine (bande 03), et ovalbumine ou (bande 02). Les poids moléculaires qui ont été déterminés dans ce travail pour l'ovomucine (au-dessus de 100 kDa), lysozymes (14,3 kDa), ovalbumine (50 KDa) et ovoflavoprotéine (66,5 kDa). Ces derniers ont été comparables avec ceux rapportés dans la littérature.

Nous avons obtenu une bande épaisse dans la région 02 qui correspond à la protéine ovoflavoprotéine peut être due à une dose élevée de l'échantillon protéique déposé, ou cette protéine possède plusieurs formes polymorphes. Il devient donc très intéressant d'accomplir ce travail par une extraction de cette protéine suivie par une électrophorèse pour détecter ce polymorphisme, puisque notre protocole expérimentale est basé seulement sur l'observation de la totalité des protéines existantes dans le blanc d'œuf.

La région 02 apparaisse plus épaisse chez la souche sélectionnée ce qui peut être due à la richesse de cette population aux protéines par rapport aux PL et CN (Résultats obtenus dans ce travail)

Chaque protéine est connue pour des propriétés spécifiques, fonctionnelles ou nutritionnelles.

L'ovalbumine est la principale protéine du blanc d'œuf. On conseille généralement d'introduire le jaune d'œuf avant le blanc d'œuf dans l'alimentation des nourrissons de moins de 1 an parce qu'elle peut provoquer des réactions allergiques.

L'ovomucine est une protéine large et filamenteuse retrouvée en petites quantités qui peut jouer un rôle de stabilisateur de mousse.

Les deux protéines les plus impliquées dans les problèmes de qualité du blanc à l'état cru sont l'ovomucine et le lysozyme, l'ovomucine est une glycoprotéine acide constituée de deux sous-unités α et β ; la seconde est particulièrement riche en résidus glucidique et notamment en acides sialiques, à même de former des liaisons électrostatiques avec des molécules chargées positivement. Comme la plupart des mucines animales, l'ovomucine est insoluble en solution diluée et peut donc être séparée du blanc par simple dilution. Elle est aussi la seule capable de former un gel et est présente en quantité 10 fois plus grande dans le blanc épais que dans les deux zones liquides. Le lysozyme est surtout connu pour son action hydrolysante des parois bactériennes ; il joue donc dans l'œuf un rôle antibiotique. Il a une très forte nature basique qui explique les liaisons électrostatiques qu'il peut établir avec l'ovomucine.

Des travaux réalisés par D'Ambrosio *et al.*, (2008) ont montré que le blanc d'œuf contient environ 148 protéines différentes. Parmi ceux-ci, sept protéines, à savoir l'ovalbumine (Lush, 1961 ; 1964a; Inafuku *et al.*, 1997), ovoglobulin G3 (Baker *et al.*, 1971), ovoglobulin G2 (Baker *et al.*, 1970), la transferrine (Ogden *et al.*, 1962; Baker, 1968a), ovo-macroglobuline, ovoflavoprotéine et le lysozyme (Baker, 1968b; Inafuku *et al.*, 1998), qui existent sous différentes formes polymorphes par électrophorèse.

Raikos *et al.* (2005) & D'Ambrosio *et al.* (2008) ont montré la présence de trois composants polypeptidiques dans la fraction de blanc d'œuf. Ovalbumine a été identifiée par comparaison avec les normes de mobilités. La plus grande bande sur le gel est la protéine la plus abondante dans le blanc d'œuf (54%) (Li-Chan *et al.* 1995). Les deux autres bandes de protéines détectées dans la fraction blanche ne peut que spéculer pour correspondre au lysozyme et conalbumine. Cette spéculation est fondée davantage sur leurs proportions relatives dans le blanc d'œuf (3,5% et 12%, respectivement) que sur leurs habitudes migratoires. C'est parce que leurs poids moléculaires estimés étaient légèrement inférieures aux valeurs théoriques (14,3 et 76 kDa, respectivement) (Li-Chan *et al.*, 1995).

On connaît depuis les années 1960 (Lush, 1961 ; Baker et, Manwell, 1962 ; Ogden *et al.*, 1962) l'existence de variants génétiques de plusieurs protéines du blanc d'œuf chez la poule. Depuis, de nombreux travaux ont été publiés à leur sujet. Quelques ouvrages généraux

ont fait le point sur les connaissances relatives à ces variants, tels Baker (1968 a), Baker, (1968 b), Baker *et al.*, (1970), Gilbert (1971). Quatre loci présentent un polymorphisme fréquent dans des populations aviaires : Ov (ovalbumine), G2, G3 (ovoglobulines), Tf (conalbumines). De nombreux auteurs, ont cherché des associations éventuelles du génotype à ces loci avec des caractères de production ou relatifs à la survie embryonnaire ou post embryonnaire. Au total, les résultats publiés paraissent peu concluants.

Les résultats obtenus à partir des races françaises diffèrent peu de ceux mis en évidence en Angleterre (Lush, 1961 ; 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).

Enfin, La dispersion électrophorétique des échantillons protéiques du blanc des œufs des trois populations étudiées est identique. Les quatre fractions sont bien individualisées. A l'opposé, les fractions observées dans la région 02 n'ont pas la même épaisseur pour les trois populations ce qui peut indiquer la présence d'une différence quantitative entre ces dernières ou la présence de plusieurs formes polymorphes dans cette région. Cette remarque peut être prise comme une problématique adoptée dans des prochains travaux de recherches.

En ce qui concerne le polymorphisme protéique, ce protocole n'est pas évident pour l'étudier, ce qui fait appel à l'importance d'étudier chaque protéine séparément après leur extraction.

Conclusion générale

Conclusion

Les œufs locaux CN contiennent moins d'albumen et plus de vitellus que les œufs de consommation SS. Par contre ils sont différents des œufs des autres poules locales PL dans tous les paramètres, sauf dans le poids de la coquille et la longueur de l'œuf. Ces derniers sont différents des œufs de consommation dans le poids total, poids de l'albumen et la largeur de l'œuf. Les œufs CN sont plus lourds, ils contiennent encore plus de vitellus et plus d'albumen que les œufs PL.

Ces différences de composition traduisent certainement les spécificités du cycle d'ovogenèse chez la poule locale. En tout état de cause, beaucoup de facteurs, d'origine génétique, photopériodique et nutritionnelle, interviennent dans la formation de l'œuf chez la poule et expliquent les différences obtenues (Blum, 1968 ; N'dri, 2006). Ces caractères influencent donc nettement le poids et la composition de l'œuf. L'effet des génotypes contenant Na sur le poids des œufs et les performances de ponte a été rapporté par Merat (1990).

Les œufs CN contiennent une quantité plus importante des lipides totaux par rapport aux autres populations. La comparaison des teneurs en protéines totales n'a pas présenté une différence entre les œufs des trois populations étudiées.

Quatre régions protéiques ont été identifiées par migration électrophorétique des protéines du blanc d'œuf (lysozymes, ovalbumine, Ovoflavoprotéine, ovomucine).

L'ovoflavoprotéine est la protéine qui nous a donné la bande la plus épaisse alors elle peut présenter un polymorphisme important. Si on complète ce travail par une extraction de cette dernière nous allons avoir des résultats très intéressants.

Nous n'avons pas obtenu suffisamment des résultats par contre le but du travail d'un magister est atteint car nous avons arrivé à cibler la problématique pour un prochain travail de recherche et à maîtriser plusieurs techniques de laboratoire.

Dans les prochains travaux nous allons renforcer ce protocole par une extraction de chaque protéine suivie par une électrophorèse pour chacun séparément, dans ce cas là nous allons détecter le polymorphisme de chaque protéine d'un côté, et les différences qui existe entre la souche commerciale et la poule locale d'autre côté. Donc ça sera un travail très important du point de vue économique et scientifique.

Références bibliographiques

Agnès J.F., 1994. Principes et analyse des données de l'électrophorèse des protéines enzymatiques. ORSTOM, Centre de Recherches Océanologiques, BP V18, Abidjan, Côte d'Ivoire, 53-54.

Anonyme1. <http://www.saporitalia.eu/origine.html>

Anonyme2, 2003. Chapitre 1 : Les gamètes.

Site : [http://www.vete1250/embryologie comparée des animaux.](http://www.vete1250/embryologie.comparée.des.animaux)

Anonyme3. [http://audomainedes3coqs.e-monsite.com/pages/generalites-sur-les-volailles-et-l-elevages/schema-de-l-oeuf.html.](http://audomainedes3coqs.e-monsite.com/pages/generalites-sur-les-volailles-et-l-elevages/schema-de-l-oeuf.html)

Anonyme 4, 2004. Hyline variety brown, guide d'élevage 2004 antimicrobienne de l'œuf de poule thèse de pour obtenir le grade de docteur de l'Université François.

Arzour née Lakehal Nedjouda, 2006. Appréciation des risques bactériologiques dans les œufs et les ovo produits. Mémoire de Magister en Médecine Vétérinaire , 1-24.

Bain J.M., Hall J.M., 1969. Observations on Development and Structure of Vitelline Membrane of Hens Egg - an Electron Microscope Study, Australian Journal of Biological Sciences, 653-665.

Baker C.M., Manwell C., 1962. Molecular genetics of avian proteins. 1. The egg white proteins of the domestic fowl. Brit. Pool. Sci., 3:161-174.

Baker C.M.A., 1968a. The protein of egg white. In egg quality, A study of the hen's egg (Ed. T. C. Carter), 67-108.

Baker C.M.A., 1968b. Molecular genetics of avian proteins. IX. Interspecific and intraspecific variation of egg white proteins of the genus Gallus. Genetics,58, 211-226.

Baker C.M.A., Croizier G., Stratil A. and Manwell C., 1970. Identity and nomenclature of some protein polymorphisms of chicken eggs and sera. Adv. Genet. 15,147-174.

Baker C.M.A., Manwell C., Javaprakash N. and Francis N., 1971. Molecular genetics of avian proteins. X. Egg white protein polymorphism of indigenous Indian chickens. Comp. Biochem. Physiol. 40,147-153

- Bakst M.R., Wishart G. et Brillard J. P., 1994.** Oviducal sperm selection
- Beaumont C.,Chapuis H., 2003.** Génétique quantitative et sélection : évolution des méthodes et des caractères. Cinquièmes Journées de la Recherche Avicole, Tours, 26 et 27 mars , p1.
- Bellairs R., Harkness M. et Harkness R. D., 1963.** The vitelline membrane of the hen's egg: a chemical an electron microscopical study, Journal of Ultrastructure Research, 8, 339-359.
- Bieri J.G., Briggs G.M., Spivey Fox M.R., Pollard C.J., Ortiz L.O., 1956.** Essential fatty acids in the chick. I. - Development of fat deficiency. Proc. Soc. Exp. Biol. Med ,93 , 237-240.
- Blum J.C., 1968.** Mode d'action de l'isoriboflavine sur l'utilisation de la vitamine b2 par la poule pondeuse. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 8(1), 87-93. Bologna, Italy, Cavalchini L.G, Baroli D., (eds), 283-285.
- Bolton M., 1991.** Determinants of chick survival in the lesser black-backed gull: Relative contributions of egg size and parental quality. J Anim Ecol, 60, 949-960
- Botsoglou N.A., Yannakopoulos A.L., Fletouris D.J., Tserveni G.A.S., Psomas I.E., 1998.** Yolk fatty acid composition and cholesterol content in response to level and form of dietary flaxseed. J. Agric. Food. Chem., 46 ,4652-4656.
- Bradford M., 1976.** Anal. Biochem. 72, Description originale de la méthode de Bradford, 248-254.
- Brugère H., 1988.** Particularité de la physiologie des oiseaux L'aviculture Française, Editions Rosset , 77-78
- Bujoh H., Hermann M., Linstedt K.A., Nimpf J., Schneider W.J., 1997.** Low density lipoprotein receptor gene family members mediate yolk deposition. J.Nutr. 127, 801-804.
- Burley R.W., Evans A.J., Pearson J.A., 1993.** Molecular aspects of the synthesis and deposition of hens' egg yolk with special reference to low density lipoprotein. Biochem. Biophys. Res. Comm., 72, 850-855.
- Burley R.W., Vadehra D.V., 1989.** Egg in human nutrition. In: The Avian Egg. John Wiley and Sons (eds), 351-364, New York. Chapitre 1 : Les gamètes chez

des poules Leghorn normales et naines combinatorial peptide ligand libraries, *Journal of Proteome Research*, 7 (8), 3461-3474.

Christians J.K., 2002. Avian egg size: Variation within species and inflexibility within individuals. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 77, 1-26.

D'Ambrosio C., Simona A., Andrea S., Luc G., Egisto B., Martha E.M., Attilio C., and Pier G.R., 2008. Exploring the chicken egg white proteome with combinatorial peptide ligand libraries. *J. Proteome Res.* 8, 3461-3474.

Davis T.A. et Ackerman R.A., 1987. Effects of increased water loss on growth and water content of the chick embryo. *J Exp Zool Suppl*, 1 , 357-364.

Demarne Y., Merat P., Andrée P., 1984. Composition des lipides de l'œuf des poules Leghorn normales et naines, Station de Recherches de Nutrition INRA , 213-218.

Dobrzanski Z., Gorecka H., Triska T., Gorecki H., 1999. Concentration of (macro) and microelements in the eggs of hens housed in three different systems. In: *Proceedings the VIII European symposium of the quality of eggs and egg products.*

Durand L. et Mérat P., 1982. Fréquence et comparaison des performances pour les génotypes à quatre loci affectant des protéines de l'œuf chez la poule.

Etches R .J., 1996. *Reproduction in poultry*, CAB International, Wallingford, UK.

Evenepoel P., Claus D., Geypens B., Hiele M., Geboes K., Rutgeerts P., Ghoos Y., 1999. Amount and fate of egg protein escaping assimilation in the small intestine of humans. *Am. J. Physiol.*, 277, 935-943.

Farinazzo A., Restuccia U., Bachi A., Guerrier L., Fortis F., Boschetti E., Rasoli E., Citterio A. et Righetti P.G., 2009. Chicken egg yolk cytoplasmic proteome, mined via combinatorial peptide ligand libraries, *Journal of Chromatography A*, 1216 (8), 1241-1252.

Farrell D.J., 1998. Enrichment of hen eggs with n-3 longchain fatty acids and evaluation of enriched eggs in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 68, 538-544.

Finkler M.S., Van O.J.B. et Sotherland P., 1998. Experimental manipulation of egg quality in chickens: Influence of albumen and yolk on the size and body

composition of near-term embryos in a precocial bird. *Journal of Comparative Physiology B*, 168, 17-24.

Fletcher D.L. *et al.*, 1983. The relationship of layer flock age and egg weight on egg component yields and solids content. *Poultry Sci.*, 62, 1800-1805.

Folch J., Lees M., TL- Sloane Stanley G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226, 497-509.

Galopart J., Barroeta A.C., Cortinas L., Baucells M.D., Codony R., 2002. Accumulation of alpha-tocopherol in eggs enriched with omega3 and omega6 polyunsaturated fatty acids. *Poult. Sci.*, 81,1873-1876.

Gauthier D., 2004. Introduction aux techniques utilisées en biochimie électrophorèse des protéines en gel de polyacrylamide (http://www8.umoncton.ca/umcm-gauthier_didier/siitub/elepgpa.html).

Gilbert A.B., 1971. Egg albumen and its formation. Bell J. and Freeman B. M., New York.

Gillet S., 2007. D.Sc. Chapitre 4 : La chromatographie et l'électrophorèse, 135-141.

Griffin H.D., 1992. Manipulation of egg yolk cholesterol: a physiologist's view. *World's Poult. Sci. J.*, 48 ,101-112.

Guerin-Dubiard C., Pasco M., Molle D., Desert C., Croguennec T. et Nau F., 2006. Proteomic analysis of hen egg white, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (11), 3901-3910.

Guioli S., Sekido R. et Lovell-Badge R., 2007. The origin of the Mullerian duct in chick and mouse, *Developmental Biology*, 302 (2), 389-398.

Halbouche M., Dahloum L., Mouats M., Didi M., Benabdelmoumene D., Dahmouni Z., 2012. Sélection D'une Souche Avicole locale Thermotolérante en Algérie. Programme et Résultats Préliminaires .*European Journal of Scientific Research* , 575-576.

Hermier D., 1997. Influence de l'alimentation sur la qualité des lipides de l'œuf. Colloque annuel Valicentre, Chambray-les-Tours, France, p14.

Herron K.L., Fernandez M.L., 2004. Are the current dietary guidelines regarding egg consumption appropriate. *J. Nut.* 134, 187-190. Hopkins D.T., Nesheim M.C., 1967. The linoleic acid requirement of chicks. *Poult. Sci.* 46, 872-881.

Hopkins D.T., Nesheim M.C., 1967. The linoleic acid requirement of chicks. *Poult. Sci.* 46, 872-881.

Howell W.J., 2000. Food cholesterol and its plasma lipid and lipoprotein response: is food cholesterol still a problem or overstated. In : *Egg Nutrition and Biotechnology*, Sim J.S., Nakai S. and Guenter W. (eds), 15-24, CAB Int. Publishing. New York.

Inafuku K., Maeda Y., Ishihara K., Okamoto S. and Hashiguchi T., 1997. A new mutant of ovalbumin in the chicken. *Jpn. Poult. Sci.* 34, 87-93.

Inafuku K., Maeda Y., Okamoto S., Ardiningsasi S.M. and Hashiguchi T., 1998. Polymorphisms of egg white proteins in native chickens in Indonesia. *Jpn. Poult. Sci.* 35, 278-284.

Jacquot et Adrian J., 1954. In la volaille et l'œuf. *Journées Scientifiques du CNERNA*, Vol.VI, CNRS Paris .

Jiang Y.H., Mcgeehan R.B., Bailey C.A., 1994. A tocopherol, carotene and retinal enrichment of chicken eggs. *Poult. Sci.*, 73, 1137-1143.

Jonchère V., 2010. Identification de gènes et de protéines de l'utérus impliqués dans le transfert minéral, la calcification de la coquille et la protection. Thèse de doctorat de l'université François – Rabelais de tours, 13-21.

Kear J., 1965. The internal food reserves of hatching mallard ducklings. *J. Wildl Manage*, 29, 523- 528.

Kennedy E.D., 1991. Determinate and indeterminate egg-laying patterns: A review. *The Cooper Ornithological Society*, 93, 106-124. Christians, J. K. 2002. Avian egg size: Variation within species and inflexibility within individuals. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 77, 1-26.

Koketsu M., 1997. Glycochemistry of hen eggs. In: *Hen eggs, their basic and applied science*, Yamanoto T., Juneja L.R., Hatta H., Kim M. (eds), CRC Press New York, London, 99-115.

Koketsu M., Sakuragawa E., Linhardt R.J., Ishihara H., 2003. Distribution of N-acetylneuraminic acid and sialylglycan in eggs of the Silky fowl. *Br. Poult. Sci.*, 44, 145-148.

Kritchevsky S.B., Kritchevsky D., 2000. Egg consumption and coronary heart disease: an epidemiologic overview. *J. Am. Coll. Nutr.*, 19(Suppl. 5), 549-555.

Kritchevsky D., 2000. Dietary fat and disease; what do we know and where do we stand. In: *Egg Nutrition and Biotechnology*. Sim J.S, Nakai S., Guenter W. (eds), CAB Int. Publishing. New York, 3-13.

Laemmli., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, [utilisation du système glycine-Cl⁻-tris avec traitement au SDS]. *Nature* 227, 680-5.

Leaf A., Kang J.X., Xiao Y.F., 2000. Antiarrhythmic effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. In : *Egg Nutrition and Biotechnology*; Sim J.S., Nakai S., Guenter W. (eds), , CAB Int.. Publishing. New York , 25-33.

Leclercq B., 1973. Contribution de l'aliment et des réserves corporelles à la genèse des lipides vitellins de la poule. Thèse doctorat sciences, Paris

Leclercq B., Hermier D. et Guy G., 1990. Metabolism of Very Low-Density Lipoproteins in Genetically Lean or Fat Lines of Chicken, *Reproduction Nutrition Development*, 30 (6), 701- 715.

Leeson S., Caston L.J., 2003. Vitamin enrichment of eggs. *J. Appl. Poult. Sci. Res.*, 12 , 24-26.

Li-Chan E.C., Powrie Y., Det W. et Nakai S., 1995. The chemistry of eggs and egg products. In W. J. Stadelman et O. J. Cotterill (Eds.), *Egg science and technology* ,4th ed New York, 105–175.

Li-Chan E. et Nakai S., 1989. Biochemical basis for the properties of egg white, *Critical Review of Poultry Biology*, 2 ,21-58

Lush, 1964a. Egg albumen polymorphisms in the fowl No: Loci II and III *Genet. Res, Camb.*, 5, 39-49.

Lush , 1964b. Egg albumen polymorphisms in the fowl : the ovalbumin locus. *Genet. Res, Camb.*, 5, 257-268.

Lush I.E., 1961. Genetics polymorphisms in the egg albumen proteins of the domestic fowls. *Nature* 189, 981-984.

Lush I.E., 1964. Egg albumen polymorphisms in the fowl, the ovalbumin locus. *Genet. Res.* 5, 257-268.

Maki K.C., Van Elswyk M.E., Mccarthy D., Seeley M.A., Veith P.E., Hess S.P., Ingram K.A., Halvorson J.J., Calaguas E.M., Davidson M.H., 2003. Lipid responses in mildly hypertriglyceridemic men and women to consumption of docosahexaenoic acid-enriched eggs. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 73, 357-368.

Mann K., 2007. The chicken egg white proteome, *Proteomics*, 7 (19), 3558-3568.

Mann K., 2008. Proteomic analysis of the chicken egg vitelline membrane, *Proteomics*, 8 (11), 2322-2332.

Mann K. et Mann M., 2008. The chicken egg yolk plasma and granule proteomes, *Proteomics*, 8 (1), 178-191.

Mares-Perlman J.A., Millen A.E., Ficek T.L., Hankinson S.E., 2002. The body of evidence to support a protective role for lutein and zeaxanthin in delaying chronic disease. *Overview. J. Nut.* 132, 518-524.

Mattila P., Lehtikoinen K., Kiiskinen T., Piironen V., 1999. Cholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol content of chicken egg yolk as affected by the cholecalciferol content of feed. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 4089-4092.

Mattila P., Valaja J., Rossow L., Venäläinen E., Tapasela T., 2004. Effect of vitamin D2 and D3 enriched diets on egg vitamin D content, production, and bird condition during an entire production period. *Poult. Sci.*, 83 ,433-440.

Merat P., 1990. Gènes majeurs chez la poule (*Gallus gallus*) : autres gènes que ceux affectant la taille. *INRA, Prod. Anim.*, 3(5), 355-368. mineralization: biochemical and functional characterization of matrix proteins, *ComptesRendus Palevol*, 3, 549-562.

MSDA Manuel suisse des denrées alimentaires, 2004. Œufs et ovoproduits
Élaboré par un groupe d'experts.

N'dri A. L., 2006. Etude des interactions entre génotype et environnement chez le poulet de chair et la poule pondeuse. Thèse de Doctorat, INA Paris-Grignon, Département des sciences animales, 225.

Nimpf J. et Schneider W.J., 1998. The VLDL receptor: an LDL receptor relative with eight ligand binding repeats, LR8, *Atherosclerosis*, 141 (2), 191-202

Nys, Sauveur B., 2004. Valeur nutritionnelle des œufs, *INRA Prod. Anim.*, 17 (5), 385-393.

Nys Y., 2000. Dietary carotenoids and Egg yolk coloration. A review. *Arch. Geflügelk.*, 64, 45-54.

Nys Y., 2010. Production et qualité de l'œuf, Nau F. et C. Guerin et F. Baron, J. L. Thapon. *Science et technologie de l'œuf et des ovoproduits*, Lavoisier. Paris

Nys Y, Gautron J., Garcia-Ruiz J. Met H.M.T., 2004. Avian eggshell mineralization: biochemical and functional characterization of matrix proteins, *Comptes Rendus Palevol*, 3, 549-562.

Ogden A.L., Morton J.R., Gilmour D.G. and Mcdermid E.M., 1962. Inherited variants in the transferrins and conalbumins of the chickens. *Nature* 195,1026-1028.

Parkinson T.L., 1966. The chemical composition of eggs. *J. Sci. food Agric.*, 17,101-111.

Peach H.C. et Thomas V.G., 1986. Nutrient composition of yolk in relation to early growth of canada geese. *Physiol Zool*, 59, 344-356.

Prager E.M. et Jollés P., 1996. Lysozymes: Model enzymes in biochemistry and biology. In: *Animal lysozymes c and g: An overview* (Ed. by P. Jollés), Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland, 9-31.

Protais J., 1988. La qualité de l'œuf de consommation L'aviculture Française, Editions Rosset , 761-772.

Rabilloud T., Fath S., Baur E., Egly J., Revelant O., 1993. Détergents et protéines membranaires. *Biofutur*, 126 , 2-12.

Salodof M.J., 2003. Preparing Proteins For 2-D Gel Analysis, new kits add speed and reproducibility to old method, *the-scientist* (May).

Sato Y. et Watanabe K., 1976. Lysozyme in hen blood serum. Poultry Science, 55 , 1749-1756.

Sauvé *et al.*,1995 . Concentration of dilute protein dor gel electrophoresis, Anal. Biochem. (Concentration des protéines par precipitation au phénol), 226,382,3.

Sauveur B., 1988. Reproduction des volailles et production d'œufs Paris ,347-370.

Sim J.S., 2000. Designer egg concept: perfecting egg through diet enrichment with w-3 PUFA and cholesterol stability. In: Egg Nutrition and Biotechnology. Sim J.S, Nakai S., Guenter W. (eds), CABI Publishing, New York, 135-150.

Site : [http:// www.vete1250/embryologie comparée des animaux](http://www.vete1250/embryologie%20compar%C3%A9e%20des%20animaux)

Stadelman W. J., Pratt D.E., 1989. Factors influencing composition of the hen's egg. Word's Poult. Sci. J., 45,247- 266.

Surai P.F., Sparks N.H.C., 2001. Designer eggs: from improvement of egg composition to functional food. Trends Food Sci.Techn., 12,7-16.

Takeuchi Y., Nishimura K., Aoki N., Adachi T., Sato C., Kitajima K. et Matsuda T., 1999. A 42-kDa glycoprotein from chicken egg-envelope, an avian homolog of the ZPC family glycoproteins in mammalian zona pellucida - Its first identification, DNAC cloning and granulose cell-specific expression, European Journal of Biochemistry, 260 (3),736-742.

Tétry A., Crimail P., 1981. La grande Encyclopédie Larousse, Œuf, 14, 8732 – 8736 transport, and storage in poultry, Poultry Science, 5, 117-143.

Van Elswyk M.E., Hatch S.D., Stella G.G., Mayo P.K., Kubena K.S., 2000. Eggs as a functional food alternative to fish and supplements for the consumption of DHA.In: Egg Nutrition and Biotechnology. Sim J.S, Nakai S., Guenter W. (eds), CABI Publishing, New York, 121-133.

Vassilios R., Rasmus H., Lydia C., Stephen R.E., 2005. Separation and identification of hen egg protein isoforms using SDS–PAGE and 2D gel electrophoresis with MALDI-TOF mass spectrometry.

Williams T.D., 1994. Intraspecific variation in egg size and egg composition in birds: Effects on offspring fitness. Biol Rev Camb Philos Soc, 69, 35-59.

Zeisel S.H., Mar M.H., Howe J.C., Holden J.M., 2003. Concentrations of choline-containing compounds and betaine in common foods. *J. Nut.*, 133,1302-1307.

Zeisel S.H., 1992. Choline: an important nutrient in brain development, liver function and carcinogenesis. *J. Am. Coll. Nut.*, 11, 473-481.

Annexes

Annexe 01 : Gamme étalon

Volume de BSA à 1mg/ml (µl)	00	10	20	30	40	50
Volume de H2O (µl)	00	40	30	20	10	00

Annexe 02 : Préparation du réactif de Bradford

Produit	Quantité
Bleu de coomassie G250	50 ml
Ethanol 95%	50 ml
Acide orthophosphorique 85%	100 ml
Quantité suffisante pour 1l	

Annexe 03 : Le tampon d'échantillon

Produit	Quantité
SDS	0,4g
glycérol	2g ou 2,5ml
bleu de bromophénol	0,01g
Tris	1,5g
β-mercaptoéthanol	1ml
Quantité suffisante pour 100 ml pH=6,8	

Il faut ajuster le pH avant l'ajout du bleu de bromophénol et le β –mercaptoéthanol pour éviter d'abimer l'électrode.

Annexe 04 : Le tampon de migration

Nous avons préparé 5 litres de tampon de migration selon le protocole fournit soit :

Produit	Quantité
Tris	3,03g
Glycine	14,4g
SDS	1g
Quantité suffisante pour 1l pH=8,3	

Annexe 05 : La solution d'acrylamide

Acrylamide	36g
Bisacrylamide	1g
Eau distillée	100ml

Annexe 06 : Gel de séparation (migration)

Nous avons préparé 40ml de gel à 15% selon le protocole fourni soit :

Produit	Quantité
Acrylamide /bis-acrylamide	20 ml
Tris HCL Ph 8,8 0 à 1,5 M	10 ml
SDS à 10%	0,4 ml
Eau distillée	9,2 ml
Pour la polymérisation nous avons ajouté	
TEMED	0,016 ml
Et après agitation	
persulfate d'ammonium 10%	0,4 ml

Annexe 07 : Gel de concentration

Nous avons préparé 8ml de gel à 5% selon le protocole fourni soit

Produit	Quantité
Acrylamide/ bis-acrylamide (30%)	1,3 ml
Tris HCL Ph 6,8	1 ml
SDS à 10%	0,08 ml
Eau distillée	5,5 ml
Pour la polymérisation nous avons ajouté	
TEMED	0,008ml
Et après agitation	
Persulfate d'ammonium 10%	0,08ml

Annexe 08 : Solution de fixation

TCA	12g
Eau distillée	100ml

Annexe 09 : Solution de coloration

Produit	Quantité
Bleu de coomassie (R 250)	0,5g
Méthanol : eau (1 :1) (v /v) (45ml+45ml)	90 ml
Acide acétique	10 ml

Annexe 10 : Solution de décoloration

Produit	Quantité
Méthanol	30%
Acide acétique	10%
Eau distillée.	60%

Annexe 11: Solution de persulfate d'ammonium

Produit	Quantité
Persulfate d'ammonium	0,1g
Eau distillée	1ml