




OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible

This is an author's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/> 25394

To cite this version:

Guilloton, Chloé . *Étude génétique d'un variant de pigmentation du plumage de Gallus gallus : Colombian Restriction*. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2018, 177 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr

ETUDE GENETIQUE D'UN VARIANT DE PIGMENTATION DU PLUMAGE DE *GALLUS GALLUS* : *COLUMBIAN RESTRICTION*

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

GUILLOTON Chloé

Née, le 26 novembre 1993 à LA ROCHE-SUR-YON (85)

Directeur de thèse : M. Alain DUCOS

JURY

PRESIDENT :

M. Patrick CALVAS

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

M. Alain DUCOS

Mme Christelle CAMUS

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

Mme Michèle TIXIER-BOICHARD

Directrice de Recherche à l'INRA (UMR 1313 GABI, équipe PSGEN)

REPARTITION DES ENSEIGNANTS PAR GRADE

(Mise à jour : 07/09/2018)

DIRECTRICE : ISABELLE CHMITELIN

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE (6)

Mme CLAUW Martine	SECTION C.N.E.C.A. N° 8	8
M. CONCORDET Didier		3
M. DELVERDIER Maxence		7
M. ENJALBERT Francis		6
M. PETIT Claude		1
M. SCHELCHER François		8

PROFESSEURS 1° CLASSE (17)

M BAILLY Jean-Denis		4
M. BERTAGNOLI Stéphane		1
M. BERTHELOT Xavier		6
M. BOUSQUET-MELOU Alain		7
M. BRUGERE Hubert		10
Mme CADIERGUES Marie-Christine		8
Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie		6
M. DUCOS Alain		6
M. FOUCRAS Gilles		8
Mme GAYRARD-TROY Véronique		7
M GUERIN Jean-Luc		6
Mme HAGEN-PICARD Nicole		6
M. JACQUIET Philippe		8
M. LEFEBVRE Hervé		7
M. MEYER Gilles		8
M. SANS Pierre		6
Mme TRUMEL Catherine		7

PROFESSEURS 2° CLASSE (7)

Mme BOULLIER Séverine		1
Mme BOURGES-ABELLA Nathalie		7
M. GUERRE Philippe		7
Mme LACROUX Caroline		7
M. MAILLARD Renaud		8
M MOGICATO Giovanni		7
Mme LETRON-RAYMOND Isabelle		7

PROFESSEUR CERTIFIÉ (P.C.E.A.)

Mme MICHAUD Françoise, Professeur d'Anglais	
M. SEVERAC Benoît, Professeur d'Anglais	

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE (11)

M. BERGONIER Dominique		6
Mme DIQUELOU Armelle		8
M. JAEG Jean-Philippe		7
M. JOUGLAR Jean-Yves		8
M. LYAZRHI Faouzi		3
M. MATHON Didier		8
Mme MEYNADIER Annabelle		6
Mme PRIYMENKO Nathalie		6
M. RABOISSON Didier		6
M VERWAERDE Patrick		8
M. VOLMER Romain		1

MAITRES DE CONFERENCES classe normale (24)

M. ASIMUS Erik		8
Mme BENNIS-BRET Lydie		7
Mme BIBBAL Delphine		4
Mme BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle		1
Mme BOUHSIRA Emilie		8
M CONCHOU Fabrice		8
M CORBIERE Fabien		8
M. CUEVAS RAMOS Gabriel		8
Mme DANIELS Hélène		1
Mme DAVID Laure		4
Mlle DEVIERS Alexandra		7
M. DOUET Jean-Yves		8
Mme FERRAN Aude		7
Mme LALLEMAND Elodie		8
Mme LAVOUE Rachel		8
M. LE LOC'H Guillaume		8
M LIENARD Emmanuel		8
Mme MILA Hanna		6
Mme MEYNAUD-COLLARD Patricia		8
M. NOUVEL Laurent		6
Mme PALIERNE Sophie		8
Mme PAUL Mathilde		6
M. VERGNE Timothée		7
Mme WARET-SZKUTA Agnès		6

A.E.R.C. (6)

Mme BLONDEL Margaux		8
M. CARTIAUX Benjamin		7
M. COMBARROS-GARCIA Daniel		8
Mme COSTES Laura		4
M. GAIDE Nicolas		7
M. JOUSSERAND Nicolas		8

MAITRES DE CONFERENCES CONTRACTUEL (2)

Mme DORE-BORDE Laura		8
M. LEYNAUD Vincent		8

REMERCIEMENTS

A Monsieur le professeur Patrick Calvas, président du jury,
Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse, praticien hospitalier
Génétique médicale - Pôle biologie - CHU de Toulouse - Hôpital Purpan

Pour avoir accepté de présider le jury de soutenance de ma thèse.
Hommages respectueux.

**A Monsieur le professeur Alain Ducos, directeur de thèse et premier
assesseur du jury,**
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
*Productions Animales – Zootechnie - Génétique Quantitative et des
Populations*

Pour son aide dans la recherche d'un sujet de thèse correspondant à mes
attentes,
Pour ses encouragements,
Pour sa disponibilité et son écoute,
Pour ses relectures attentives et ses précieux conseils,
Toute ma reconnaissance et mes remerciements les plus sincères.

**A Madame le docteur Christelle Bouclainville-Camus, deuxième
assesseur du jury,**
Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Biologie cellulaire et moléculaire

Pour avoir accepté de participer à mon jury de
thèse.
Sincères remerciements.

A Madame le docteur Michèle Tixier-Boichard, invitée au jury,
Directrice de recherche
*INRA - unité GABI (Génétique Animale et Biologie Intégrative) – Equipe PSGEN - Centre de
recherche de Jouy-en-Josas*

Pour m'avoir donné la chance de travailler sur ce sujet,
Pour avoir pris le temps de me guider et de m'expliquer
patiemment,
Pour votre curiosité communicative sur de multiples sujets,
Veuillez trouver ici l'expression de ma gratitude et de mon plus profond respect.

Aux équipes PSGEN et GIS de l'unité GABI, et notamment au docteur Bertrand Bed'hom,
pour sa disponibilité, son encadrement rigoureux et son accompagnement lors de la réalisation
de cette thèse, à Madame Agathe Vieaud, pour son aide et sa gentillesse, à Madame Claudia
Bevilacqua pour son aide et sa relecture, et à Monsieur Jean Luc Coville, pour son
accompagnement et son aide très précieuse lors de ce travail.

TABLE DES MATIERES

Liste des photographies	10
Liste des figures.....	12
Liste des tableaux.....	15
Liste des annexes	15
Liste d'abréviations	16
Introduction	21
1 Partie bibliographique	23
1.1 Caractéristiques phénotypiques et génotypiques de <i>Gallus gallus domesticus</i>	23
1.1.1 Evolution de <i>Gallus gallus domesticus</i>	23
1.1.1.1 Place phylogénétique de <i>Gallus gallus domesticus</i>	23
1.1.1.2 Origine mixte de <i>Gallus gallus domesticus</i>	23
1.1.1.3 La domestication de <i>Gallus gallus domesticus</i>	24
1.1.2 Génome de <i>Gallus gallus</i>	25
1.1.2.1 Séquençage du génome.....	25
1.1.2.2 Organisation chromosomique.....	26
1.1.2.3 Organisation génomique	30
1.1.2.4 Génomique comparative	31
1.1.3 Dimorphisme de l'expression génétique.....	32
1.1.3.1 Définition des gènes biaisés par le sexe.....	32
1.1.3.2 Distribution et sélection des gènes biaisés par le sexe	33
1.2 Ontogénie du dimorphisme sexuel chez <i>Gallus gallus</i>	34
1.2.1 Théories d'évolution du dimorphisme sexuel.....	34
1.2.1.1 Le succès reproducteur.....	34
1.2.1.2 La sélection sexuelle	34
1.2.1.3 Divergence de niches intraspécifique.....	45
1.2.2 Mise en place du dimorphisme sexuel.....	49
1.2.2.1 Lors de l'embryogenèse.....	49
1.2.2.2 A l'éclosion.....	51
1.2.2.3 Développement du dimorphisme sexuel de taille	52
1.2.2.4 Développement des caractères sexuels secondaires.....	55
1.3 Le plumage chez <i>Gallus gallus</i>	57
1.3.1 Structure du plumage	57
1.3.1.1 Anatomie d'une plume.....	57
1.3.1.2 Diversité des plumes	59

1.3.2	Morphogenèse du plumage.....	61
1.3.2.1	Mise en place des différentes parties du plumage	61
1.3.2.2	Formation d'une plume.....	63
1.3.3	Cyclicité du plumage	68
1.3.3.1	Mécanismes généraux	68
1.3.3.2	Avant la puberté	69
1.3.3.3	A l'âge adulte	70
1.3.4	Mécanismes de pigmentation du plumage	72
1.3.4.1	Migration des mélanocytes	72
1.3.4.2	Production des pigments mélaniques	77
1.3.4.3	Transfert des pigments mélaniques	84
1.3.4.4	Régulation de la pigmentation	85
1.3.5	Variants de couleur du plumage	87
1.3.5.1	Nomenclature	88
1.3.5.2	Détermination de la présence de la coloration noire	89
1.3.5.3	Détermination de l'étendue de la coloration noire	91
1.3.5.4	Détermination de la présence et de l'étendue de la coloration rouge.....	99
1.3.5.5	Détermination des dessins de plumage.....	101
1.3.5.6	Détermination du dimorphisme sexuel du plumage	108
2	Partie expérimentale	111
2.1	Introduction	111
2.1.1	Matériel et méthodes	114
2.1.1.1	Primolocalisation de la région candidate	114
2.1.1.2	Cartographie fine du locus Columbian Restriction	120
2.1.1.3	Etude d'expression des gènes candidats	123
2.1.1.4	Recherche du variant causal de Columbian.....	131
2.1.2	Résultats	131
2.1.2.1	Primolocalisation de la région candidate	131
2.1.2.2	Cartographie fine du locus Columbian Restriction	132
2.1.2.3	Etude d'expression des gènes candidats	133
2.1.2.4	Recherche du variant causal par comparaison de séquences	140
2.1.3	Discussion.....	141
2.1.3.1	Primolocalisation de la région candidate	141
2.1.3.2	Cartographie fine du locus Columbian Restriction	144
2.1.3.3	Etude d'expression des gènes candidats	146
2.1.3.4	Recherche du variant causal de Columbian.....	148

Conclusion.....	151
Bibliographie	152
Annexes.....	174

Liste des photographies

Photographie 1: A gauche : coq Leghorn blanc. Extrait de : Feathersite (Cohen 2018). A droite : coq doré. Extrait de : BRUGERE-PICOUX Jeanne et al. Manuel de pathologie aviaire (Brugère-Picoux et al. 2015)	25
Photographie 2: Comparaison de la taille de la crête de deux races sélectionnées pour la ponte. Rhode Island rousse (à gauche). Extrait de Le Monde (Le Monde.fr 2011). Leghorn blanche (à droite). Extrait d’Odisha News Insight (Dr. Purna Chandra Mahapatra 2015).	57
Photographie 3: Caille de couleur jaune (à gauche) ou de type sauvage (à droite). Extrait de Nadeau et al., Characterization of Japanese quail yellow as a genomic deletion upstream of the avian homolog of the mammalian ASIP (agouti) gene (Nadeau et al. 2008).....	82
Photographie 4: Couple de Leghorn dorée (ou dit de type ancien). Extrait de Wikimedia Commons (De Sousa 2008; Quintin 2006).....	86
Photographie 5: Poule Gâtinaise au plumage et tarse blancs. Extrait de Wikimedia Commons (Smith 2006).	89
Photographie 6: Coqs homozygotes porteurs de l’allèle I*I (à gauche) et I*N (à droite). Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (Coquerelle 2000)	90
Photographie 7: Coq cotentin au plumage et tarse noirs (à gauche). Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (Coquerelle 2000). Poule hollandaise au plumage caillouté (au centre). Poule orpington au plumage lavande (à droite). Extrait de Wikimedia Commons (Thomon 2018; Wikipedia 2011)	91
Photographie 8: Couple de marans au plumage noir cuivré. Extrait de Marans club de France (Marans Club de France 2017a).....	92
Photographie 9: Couple de Faverolles au plumage froment. Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (Coquerelle 2000).....	93
Photographie 10: Poule sauvage dénommée ‘Bankiva’ (à gauche), coq ‘Bankiva’ (au centre) et poussin de type sauvage (à droite). Extrait de Wikimedia Commons (Yap 2008; Subramanya 2012; Tórizs 2008).....	93
Photographie 11: Poussin porteur d’E*B (à gauche) et poule Pictave porteuse d’E*B. Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (coquerelle, 2000).....	94
Photographie 12: Coq Bresse-gaulois gris. Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (Coquerelle, 2000).....	97
Photographie 13: Poule Hambourg bleue (à gauche). Extrait de Wikimedia Commons (Mabel 2016a). Coq de combat « blanc sale » (à droite). Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (coquerelle, 2000).	98
Photographie 14: Couple d’Orpington naines au plumage chocolat. Extrait de la ferme de Beaumont (Ferme de Beaumont 2018a).	98
Photographie 15: Poule de race Orpington au plumage lavande. Extrait de Wikimedia Commons (Wikipedia 2011).	99
Photographie 16: Coqs Sebright à plumage doré (à gauche) et argenté (à droite). Extrait de Wikimedia Commons (Pelardy 2014; Latropox 2012).	100
Photographie 17: Couple de Rhode Island au plumage rouge acajou. Extrait de Wikimedia Commons (Zahn 2008; HeatherLion 2014).....	101
Photographie 18: Poules porteuses de l’allèle IG*IG (à gauche) et IG*N (à droite). Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (Coquerelle, 2000).	101
Photographie 19: Couple de Marans au plumage coucou. Extrait de Marans Club de France (Marans Club de France 2017b). Plume au dessin barrure autosomale liée au sexe. Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (Coquerelle, 2000).	102

Photographie 20: Couple porteur de l'allèle B*SD avec le mâle homozygote et la femelle hémizygote. Extrait de Schwochow Thalmann et al., the evolution of Sex-linked barring alleles in chickens involves both regulatory and coding changes in CDKN2A (Schwochow Thalmann et al. 2017).	103
Photographie 21: Couple de Sussex au plumage tricolore (à gauche). Extrait de la ferme de Beaumont (Ferme de Beaumont 2018b). Poules Sabelpoot au plumage mille fleurs (au centre). Extrait de Wikimedia commons (JvL 2012). Plume au dessin mille fleurs (à droite). Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (coquerelle, 2000).....	104
Photographie 22: Poule Hollandaise au plumage caillouté (à gauche). Extrait de Wikimédia Commons (Thomon 2018). Plume au dessin caillouté (à droite). Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (coquerelle, 2000).....	104
Photographie 23: Troupeau de poules Leghorn Exchequer au plumage bariolé. Extrait de Feathersite (Stephenson 2018).	105
Photographie 24: Poules Minohiki porteuses de l'allèle MO*N (à gauche) ou MO*W (au centre). Les flèches montrent quelques plumes faiblement pigmentées. C : plumes d'un animal MO*N (à gauche) et MO*W (au centre et à droite) dessous. Extrait de Kinoshita et al. , endothelin receptor B2 (EDNRB2) is responsible for the tyrosinase-independent recessive white (mow) and mottled (mo) plumage phenotypes in the chicken (Kinoshita et al. 2014).	106
Photographie 25: De gauche à droite : poule Brahma au plumage perdrix argenté. Extrait de Wikimédia Commons (Seattle 2008). Plume au dessin perdrix argenté (A) et doré (B). Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (coquerelle, 2000). Poule Fayoumi au plumage à barrure autosomale. Extrait de Wikimédia Commons (Mabel 2016b). Plume au dessin barrure autosomale argentée (A) et dorée (B). Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (coquerelle, 2000).	106
Photographie 26: De gauche à droite : plumes au dessin liseré simple, liseré double et pailleté noir. Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (Coquerelle, 2000).	107
Photographie 27: Structure du plumage sexe-dépendante. Extrait de Yu et al., the developmental biology of feather follicles (Yu et al. 2004a).	108
Photographie 28: Couple de Sebright argenté montrant un plumage de femelle chez les deux sexes. Extrait de eXtension (Jacob 2015).	109
Photographie 29: Deux frères, porteurs de l'allèle CO*N à gauche et CO*CO à droite. Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (Coquerelle, 2000).	110
Photographie 30: A gauche : Couple de Leghorn de type sauvage, porteurs de l'allèle CO*N. Extrait de Wikimédia Commons (De Sousa 2008; Quintin 2006). A droite : Couple de race Nagoya, porteurs de l'allèle CO*CO. Extrait d'Inagaki breeding farm (Inagaki Breeding Farm 2004).	110
Photographie 31: Couple de Rhode Island au plumage rouge acajou. Extrait de Wikimédia Commons (Zahn 2008; HeatherLion 2014).	112
Photographie 32: Phénotype d'animaux de la lignée INRA. A gauche: poitrine et dos d'un individu de type sauvage. A droite: poitrine et dos d'un individu de type Columbian. Photos de GOURICHON David, VIEAUD Agathe et BRUNEAU Nicolas.	112

Liste des figures

Figure 1: Caryotype de <i>Gallus gallus</i> . Extrait de NCBI (Genome Reference Consortium 2015).	26
Figure 2: Longueur physique (en Mb) des chromosomes de <i>Gallus gallus domesticus</i> . Inspiré de NCBI (Genome Reference Consortium 2015).....	27
Figure 3: Densité des gènes dans le génome de <i>Gallus gallus</i> . Inspiré de NCBI (Genome Reference Consortium 2015).....	29
Figure 4: Evolution de la population avec une pression de sélection disruptive. Extrait de Wikimedia Commons (Colvin 2010)	48
Figure 5: Evolution de la population suite à une pression de sélection directionnelle (à gauche) et stabilisatrice (à droite). Extrait de Wikimedia Commons (Colvin 2010)	49
Figure 6: Dimorphisme sexuel à l'éclosion permettant le sexage. A gauche : femelle ayant les rémiges primaires plus longues que les secondaires, ou plumes de couverture. Au centre : mâle ayant les rémiges primaires plus courtes que les rémiges secondaires. A droite : mâle ayant toutes les plumes de la même longueur. Extrait de Ross broiler management handbook 2018 (Aviagen 2018).....	52
Figure 7: dimorphisme sexuel du GMQ de poulets de chair entre 0 et 2 mois. Extrait de Johnson, Diminution of pulsatile growth hormone secretion in the domestic fowl (<i>Gallus domesticus</i>): evidence of sexual dimorphism (Johnson 1988).	53
Figure 8: Différences morphologiques visibles entre le coq et la poule. Encadrés respectivement en rouge, bleu et vert : Dimorphisme sexuel de la crête, de la queue et des ergots. Inspiré de Jacob et Mather, Capons (Jacob et Mather, 2000).....	55
Figure 9: Structure d'une plume. Extrait de Harvey et al., Directional reflectance and milli-scale feather morphology of the African Emerald Cuckoo, <i>Chrysococcyx cupreus</i> (Harvey et al. 2013).....	58
Figure 10: Structure d'une barbule proximale (à gauche) et distale (à droite). Extrait de Harvey et al., Directional reflectance and milli-scale feather morphology of the African Emerald Cuckoo, <i>Chrysococcyx cupreus</i> (Harvey et al. 2013).	58
Figure 11: Plumes à symétrie radiale (à gauche) ou bilatérale (à droite). En rouge : axes de symétrie. En noir : centre de symétrie. A gauche : symétrie radiale représentée en 3D, inspiré de la représentation de Cram. Inspiré de Chen et al., Development, regeneration, and evolution of feathers (Chen et al. 2015).	59
Figure 12: Morphologie des plumes. Extrait d'Arizona University State (Deviche 2009).	60
Figure 13: Nom usuel des plumes de contour et des parties du plumage d'un coq. Plumes de l'aile : rémiges secondaires, petites et grandes couvertures, pommeau. Les rémiges primaires ne sont pas indiquées car elles sont sous les rémiges secondaires lorsque l'aile est repliée. Plumes de la queue : grandes et petites faucilles, rectrices. Image extraite de Wikimedia Commons (Subramanya 2012). Légende extraite de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (Coquerelle 2000).	61
Figure 14: A gauche : schéma des différents ptéryles. Extrait de Wikimedia Commons (Shyamal 2007). A droite : Photo de certains ptéryles visibles sur un coq. Extrait de Yu et al., the developmental biology of feather follicles (Yu et al. 2004a).	62
Figure 15: Schéma d'une plume en croissance. Structure détaillée de la région de multiplication (à droite). Extrait de Prum et Brush, Which Came First, the Feather or the Bird? (Prum, Brush 2014)....	63
Figure 16: Structure détaillée de la plume en croissance. Bulbe du collier : réserve de mélanoblastes. Extrait de Couteaudier et Denesvre, le virus de la maladie de Marek et ses interactions avec la peau (Couteaudier, Denesvre 2014).	64
Figure 17: formation du follicule plumeux. Extrait de Prum et Brush, Which Came First, the Feather or the Bird? (Prum, Brush 2014).	65
Figure 18: Croissance d'une plume de contour. Les couleurs représentent les épisodes de croissance de la plume au cours du temps. Du plus ancien au plus récent: mauve, bleu, orange, vert, jaune.	

S=gaine de la plume, RCO= zone ramogénique, M=marginal plate. Extrait d'Alibardi, follicular patterns during feather morphogenesis in relation to the formation of asymmetric feathers, filoplumes and bristles. Extrait de Prum et Williamson, reaction–diffusion models of within-feather pigmentation patterning (Alibardi 2009; Prum, Williamson 2002).....	66
Figure 19: Croissance d'une plume de duvet. Les couleurs représentent les épisodes de croissance de la plume au cours du temps. Du plus ancien au plus récent: mauve, bleu. RCO= zone ramogénique IBR= crêtes barbares. Extrait d'Alibardi, follicular patterns during feather morphogenesis in relation to the formation of asymmetric feathers, filoplumes and bristles. Extrait de Prum et Williamson, reaction–diffusion models of within-feather pigmentation patterning (Alibardi 2009; Prum, Williamson 2002).	67
Figure 20: Croissance d'une crête barbare. En bleu: cellules épithéliales, en rose : pulpe de la plume, en rouge : structure de soutien, en vert et jaune: crêtes barbulaires. Jaune : les plus anciennes, vert : les plus récentes. Extrait de Yu et al., the morphogenesis of feathers (Yu et al. 2002).....	68
Figure 21: Activité cyclique du follicule plumeux. Extrait de Chen et al., development, regeneration, and evolution of feathers (Chen et al. 2015).....	68
Figure 22: A gauche : duvet, plumage juvénile et plumage adulte d'un individu. Extrait de Lin et al., topology of feather melanocyte progenitor niche allows complex pigment patterns to emerge (Lin et al. 2013). A droite : Structure des plumes au cours de leur croissance en fonction de la mue. Extrait de Yu et al., the developmental biology of feather follicles (Yu et al. 2004a).	70
Figure 23: Mécanismes génétiques de détermination des mélanoblastes. Inspiré de Mort et al., the melanocyte lineage in development and disease (Mort et al. 2015).	73
Figure 24: Migration et différenciation des mélanocytes. Extrait de Schwochow Thalmann et al., the evolution of Sex-linked barring alleles in chickens involves both regulatory and coding changes in CDKN2A (Schwochow Thalmann et al. 2017).	76
Figure 25: Expression de certains gènes selon le stade de migration des cellules. PE: papille ectodermique, LB: bulbe bas, MB: bulbe moyen, UB: bulbe haut. RGZ: zone ramogénique. Extrait de Lin et al., topology of feather melanocyte progenitor niche allows complex pigment patterns to emerge (Lin et al. 2013).	77
Figure 26: Mécanisme d'action du récepteur transmembranaire MC1R des mélanocytes. Extrait de D'Mello et al., signaling Pathways in Melanogenesis (D'Mello et al. 2016).....	78
Figure 27: Production et rôle des ligands de MC1R. Inspiré de Wolf Horrell et al., melanocortin 1 Receptor: Structure, Function, and Regulation (Wolf Horrell et al. 2016).....	79
Figure 28: Mécanisme de biosynthèse de la mélanine. Entourées en jaune : enzymes intervenant dans la biosynthèse. Extrait de Hsiao et Fisher, the roles of Microphthalmia Transcription Factor and pigmentation in melanoma (Hsiao et Fisher 2014).	80
Figure 29: Formation des mélanosomes dans les mélanocytes. Extrait de Gunnarsson et al., genetic studies of pigmentation in chicken (Gunnarsson et al. 2009)	82
Figure 30: Mécanismes de structuration des mélanosomes par PMEL17. Extrait de Delevoye et al., la biogenèse des mélanosomes (Delevoye et al. 2011).....	83
Figure 31: Transfert des mélanosomes aux kératinocytes. Extrait de Prum et Williamson, reaction–diffusion models of within-feather pigmentation patterning (Prum, Williamson 2002)	84
Figure 32: Transfert des pigments des mélanocytes aux kératinocytes. Extrait d'Ando et al., “melanosomes are transferred from melanocytes to keratinocytes through the processes of packaging, release, uptake, and dispersion” (Ando et al. 2011).....	85
Figure 33: Chronologie des travaux de recherche portant sur Columbian restriction.....	114
Figure 34: Graphique représentant le rapport entre le niveau d'homozygotie attendue et observée, en fonction du sexe, pour chaque animal.	116

Figure 35: Distance génétique entre les familles de l'étude décrite dans 3 dimensions. En haut et en bas: graphique en 3D vu sous deux angles différents.	117
Figure 36: Respect du modèle de HWE pour les SNPs sélectionnés pour l'analyse. En rouge: $ F > 0,5$ (SNP exclus de l'analyse).	119
Figure 37: Graphiques représentant le niveau de fluorescence d'un SNP pour chaque allèle par échantillon. Entouré en rouge : échantillons sur la plaque de génotypage 2. Entouré en noir : échantillons sur la plaque de génotypage 1.	121
Figure 38: Graphique représentant le niveau de fluorescence pour chaque allèle par échantillon. ...	122
Figure 39: Distance génétique entre les individus selon leur phénotype, décrite en deux dimensions.	123
Figure 40: Protocole de prélèvement des échantillons sur un animal lors de la première campagne.	124
Figure 41: Manhattan plot représentant le niveau d'association des SNPs de chaque chromosome avec le variant columbian restriction.	132
Figure 42: Graphique représentant le niveau d'association entre les marqueurs de la région candidate et le variant Columbian.	133
Figure 43: Etude par PCR de l'expression de <i>MITF</i> (à gauche) et <i>CABLES1</i> (à droite) sur plusieurs échantillons de follicules plumeux.	134
Figure 44: Etude par PCR de l'expression de <i>MITF</i> , <i>RBBP8</i> , <i>HPRT1</i> , <i>CABLES1</i> , <i>TMEM241</i> , <i>LOC107052000</i> , <i>LOC107051998</i> et <i>LOC101751137</i> sur plusieurs échantillons à partir de 320 ng de matrice.	135
Figure 45: Niveau d'expression de <i>HPRT1</i> selon la plaque de qPCR et le phénotype de l'échantillon.	138
Figure 46: Quantification relative des gènes étudiés.	139
Figure 47: Représentation des SNPs dont l'allèle diffère entre la race porteuse de CO*CO et les races porteuses de CO*N.	141
Figure 48: Représentation du contexte génomique de la région riche en SNPs.	141
Figure 49: Cibles de <i>CABLES1</i> pour la régulation du cycle cellulaire. Extrait de Roussel-Gervais et al., the <i>CABLES1</i> gene in glucocorticoid regulation of pituitary corticotrope growth and cushing disease (Roussel-Gervais et al. 2016).	145
Figure 50: Représentation des transcrits présents dans la région candidate. En rouge: gènes codants recensés dans Ensembl. En noir: transcrits issus de données non publiées. Entouré en rouge : transcrit de <i>RBBP8</i> . Entouré en noir : transcrit de <i>LOC107052000</i> . Entouré en vert : transcrit de <i>CABLES1</i>	148

Liste des tableaux

Tableau 1: Longueur du cycle des plumes de différents ptéryles. Extrait de Yu et al., the developmental biology of feather follicles (Yu et al. 2004a).	69
Tableau 2: Abréviations utilisées pour la description des variants de pigmentation de la plume chez <i>Gallus gallus</i> (Coquerelle 2000).....	88
Tableau 3: Mutations de MC1R associées aux différents allèles. Inspiré de Dávila et al., association between polymorphism in the melanocortin 1 receptor gene and E locus plumage color phenotype (Dávila et al. 2014a).....	95
Tableau 4: Dessin de plumage en fonction du contexte génétique. Inspiré de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (coquerelle, 2000).	108
Tableau 5: Amorces utilisés pour la PCR et la qPCR. *=amorce à cheval entre deux exons.	128
Tableau 6: Efficacité des couples d'amorces à 150 nM, évaluée par une gamme de dilution au demi entre 1,6 et 50 ng de foie d'une femelle de type sauvage.	136
Tableau 7: Significativité de l'influence du sexe et/ou du phénotype sur l'expression des gènes étudiés par calcul de la p-value. * si < 0,05 - ** si <0,01 - *** si < 0,001	139
Tableau 8: Rôles connus des gènes de la région candidate	142

Liste des annexes

Annexe 1: Dimères d'amorces visibles à des concentrations d'amorces de 150 (à gauche) et 300 nM (à droite).	174
Annexe 2: Courbes standards des couples d'amorces à 150 nM évaluées à partir de duplicats de 1,6 - 3,13 - 6,25 - 12,5 - 25 et 50 ng de foie de <i>Gallus gallus</i>	176

Liste d'abréviations

ABHD3: abhydrolase domain containing 3

ACTH: adrenocorticotrophic hormone

ADN: acide désoxyribonucléique

AGRP: agouti related-protein

AMH: anti-mullerian hormone

AMPC: adénosine monophosphate cyclique

ANKRD29 ankyrin repeat domain 29

ANOVA: analysis of variance

APEX1: apurinic/aprimidinic endodeoxyribonuclease 1

ARF: alternate reading frame

ARN: acide ribonucléique

ARNm: acide ribonucléique messenger

ARNnc: acide ribonucléique non codant

ASIP: Agouti signaling protein

BCL2: B-cell lymphoma 2

BCL2A1: B-cell lymphoma 2 related protein A1

BIRC7: Baculoviral IAP repeat-containing protein 7

BMP2: bone morphogenetic protein 2

CABLES1: Cdk5 and Abl enzyme substrate 1

CABYR: calcium binding tyrosine phosphorylation regulated

CDK2: cycline dependant kinase 2

CDKN2A: cycline-dependent kinase Inhibitor 2A

c-KIT: tyrosine-protein kinase Kit

cM: centimorgan

CpG: cytosine triphosphate deoxynucleotide phosphodiester guanine triphosphate deoxynucleotide

CREB: cAMP response element-binding protein

Ct: cycle threshold

DCT: dopachrome tautomérase

DMRT1: doublesex and mab-3 related transcription factor 1

EDNRB: endothelin Receptor Type B

ESCO1: establishment of sister chromatid cohesion N-acetyltransferase 1

EST: expressed sequence tag

FOXD3: forkhead box D3

GATA6: GATA binding protein 6

GC: paire de base contenant une guanine et une cytosine

GDP: guanosine diphosphate

GH: growth hormone

GMQ: gain moyen quotidien

GnRH: gonadotropin Releasing Hormone

GREB1L: growth regulation by estrogen in breast cancer 1 like

GWAS: genome wide association study

HAO1: hydroxyacid oxidase 1

HPA: hypothalamic-pituitary-adrenal axis

HPG: hypothalamic-pituitary-gonadal axis

HPT: hypothalamic-pituitary-thyroid axis

HRH: histamine receptor H4

IDS: index de dimorphisme sexuel

IMPACT: imprinted and ancient gene

INRA: institut national de la recherche agronomique

Kb: kilobases

KITL: kit-ligand

LAMA3: laminin subunit alpha 3

LH: luteinizing hormone

MART-1: melanoma antigen recognized by T cells 1

Mb: mégabases

MC1R: melanocortin 1 receptor

MDM2: mouse double minute 2 homolog

MDS: multi dimensional scaling

MHM: male hypermethylated region

miARN: micro acide ribonucléique

MIB1: mindbomb E3 ubiquitin protein ligase 1

MITF: melanogenesis/microphthalmia associated transcription factor

MITF-M: melanogenesis associated transcription factor isoform M

MLPH: melanophilin

nM: nanomol/L

NPC1: NPC (Niemann-Pick type C) intracellular cholesterol transporter 1

OSBPL1A/ORP1: oxysterol binding protein like 1A

PAX3 : paired box 3

Pb: paire de bases

PC1 : proprotein convertase 1

PC2: proprotein convertase 2

PCR: polymerase chain reaction

PEAT: pôle d'expérimentation avicole de Tours

PGC1 α : peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1- α

PKA: protein kinase A

PMEL17/gp100/ MMP15: premelanosome protein 17

POMC: proopiomelanocortin

qPCR: quantitative polymerase chain reaction

RBBP8/CtIP: retinoblastoma binding protein 8

REF1: redox factor-1

RIOK3: right open reading frame kinase 3

RT: reverse transcriptase

SCF: stem cell factor

siARN: petit acide ribonucléique interférent

SLC45A2: solute carrier family 45 member 2

SNP: single nucleotide polymorphism

SOX10: SRY (Sex-determining Region of Y chromosom) -Box 10

SOX2: SRY (Sex-determining Region of Y chromosom) -Box 2

T4 : thyroxine

TBX2 : T-box transcription factor 2

TMEM241: transmembrane protein 241

TRP1/TYRP1: tyrosinase-related protein 1

TTC39C: tetratricopeptide repeat domain 39C

TYR: tyrosinase

TYRP2: tyrosinase-related protein 1

VRG4: vandate resistance glycosylation 4

Wnt: wingless integration site

ZNF521/ EHZF: zinc finger protein 521

α -MSH: α -melanocyte stimulating hormone

Introduction

L'évolution de caractère morphologique dans un des sexes, comme le plumage brillant dans certaines espèces d'oiseaux, semble contredire la théorie de la sélection naturelle émise par Darwin (Darwin 1859). Leur étude a mené Darwin à formuler, quelques années plus tard, la théorie de la sélection sexuelle (Darwin 1872) : selon lui, certains caractères ornementaux, défavorables à la survie, sont sélectionnés pour améliorer le succès reproducteur de l'animal. Or, les exigences pour la reproduction diffèrent entre les mâles et les femelles. Des forces évolutives différentes se sont donc exercées sur les deux sexes, menant à une divergence morphologique et/ou comportementale dans certaines espèces : c'est l'apparition du dimorphisme sexuel (Fairbairn et al. 2007).

Dans l'espèce *Gallus gallus* (ou coq doré), ancêtre majeur de nos poules domestiques, ce dimorphisme sexuel est important : les deux sexes divergent, que ce soit par la taille, l'apparence ou encore le comportement. Le mâle a notamment un plumage chatoyant, que ne possèdent ni la femelle, ni les poussins chez qui le plumage plus terne contribue au camouflage (Oribe et al. 2012). Cette différence de couleur de plumage entre les sexes, nommée dichromatisme sexuel, disparaît chez certaines races sélectionnées comme la Rhode Island rouge.

Les variations dans la pigmentation du plumage de *Gallus gallus* sont causées par la nature et la quantité de pigments mélaniques présents : la phéomélanine donne une couleur rouge à la plume alors que l'eumélanine lui donne une couleur noire (Ellett 2000). La génétique mendélienne a identifié au moins seize loci modifiant la pigmentation de la plume de la poule domestique. Ils peuvent provoquer des variations dans les mécanismes de multiplication, de différenciation et de migration des mélanocytes - cellules synthétisant les pigments mélaniques (Coquerelle 2000). Le gène correspondant au locus défini par la génétique mendélienne a été identifié pour huit d'entre eux (Chang et al. 2006a; Schwochow Thalmann et al. 2017; Xu et al. 2016; Minvielle et al. 2010; Gunnarsson et al. 2011; Kerje et al. 2004; Ellett 2000; Gunnarsson et al. 2007).

Ce n'est pas le cas pour le variant Columbian, qui est à l'origine de la disparition du dichromatisme sexuel décrit précédemment. Il cause également un éclaircissement du plumage en inhibant la production des eumélanines (Coquerelle 2000).

Aucun gène associé à un variant de pigmentation équivalent n'a encore été identifié dans d'autres espèces. En effet, les mécanismes génétiques à l'origine du dichromatisme sexuel sont encore mal connus. Un seul variant a été identifié : Henny Feathering, qui implique une dégradation de la testostérone dans les tissus périphériques et induit un plumage de poule chez le coq (Matsumine et al. 1991).

L'objectif de cette thèse est donc d'essayer d'identifier le gène associé à Columbian, ainsi que la mutation causale du variant 'perte de dichromatisme'.

La première partie de cette thèse est une étude bibliographique. Tout d'abord, elle rappelle les connaissances acquises sur le génome de *Gallus gallus domesticus*. Ensuite, les causes d'évolution du dimorphisme sexuel et son expression chez la poule domestique sont décrites. Enfin, les mécanismes de formation d'une plume et de sa pigmentation sont décrits, ainsi que les variants de pigmentation du plumage de *Gallus gallus domesticus* et les mécanismes génétiques associés, lorsqu'ils sont connus.

La deuxième partie de cette thèse a pour thème les travaux réalisés pour identifier le gène associé à Columbian. Une étude d'association a tout d'abord été réalisée, ce qui a permis d'isoler quelques gènes candidats. Leur expression a ensuite été étudiée par PCR, puis PCR quantitative. En parallèle, les données de séquençage d'une race porteuse de l'allèle Columbian et de races porteuses de l'allèle sauvage ont été comparées afin d'identifier la mutation causale.

1 Partie bibliographique

1.1 Caractéristiques phénotypiques et génotypiques de *Gallus gallus domesticus*

1.1.1 Evolution de *Gallus gallus domesticus*

1.1.1.1 Place phylogénétique de *Gallus gallus domesticus*

Aujourd'hui, plusieurs espèces semblent être à l'origine de la poule domestique (*Gallus gallus domesticus*) mais celle-ci est toujours classifiée comme un variant de l'espèce *Gallus gallus*, ou coq doré.

Sa classification phylogénétique actuelle est précisément la suivante :

- Règne : animaux
- Sous règne : bilatériens
- Infra règne : deutérostomiens
- Embranchement : chordés
- Sous embranchement : vertébrés
- Infra embranchement : gnathostomes
- Classe : tétrapodes
- Sous classe : oiseaux
- Ordre : galliformes
- Famille : phasianidés
- Sous famille : phasianinés
- Genre : gallus (Brisson, 1760) - coq sauvage
- Espèce : *Gallus gallus* (Linnaeus, 1758) - coq doré

(ITIS standard report 2017).

1.1.1.2 Origine mixte de *Gallus gallus domesticus*

Les quatre espèces de coq sauvages sont :

- ***Gallus gallus***: coq Bankiva ou coq doré
- ***Gallus lafayettei***: coq de Lafayette, ou coq de Sri Lanka
- ***Gallus sonnerati*** : coq de Sonnerat ou coq gris
- ***Gallus varius***: coq vert de Java ou coq vert.

Leur aire de répartition se trouve en Asie du sud-est. Le coq doré est l'espèce présentant la plus large répartition. Elle couvre une grande partie de l'Inde, de l'Indonésie, du Myanmar, de la péninsule du sud-est asiatique et du sud de la chine.

(Jean 2013). Le coq vert se situe le long des côtes de Java, en Indonésie. Le coq gris se retrouve uniquement dans le sud-ouest de l'Inde, en forêt. Enfin, le coq de Sri Lanka se situe à Ceylan, dans les régions forestières également (Coquerelle 2000).

Pendant longtemps, le coq doré a été considéré comme le seul ancêtre de la poule domestique. Des caractéristiques morphologiques militent cependant pour une origine diversifiée: la peau jaune du poulet domestique ne peut provenir du coq doré, qui a la peau grise. Cette caractéristique semblerait être héritée de *Gallus sonnerati* (Eriksson et al. 2008). Ces éléments méritent d'être confortés afin de préciser l'hypothèse d'une origine mixte.

La divergence du coq doré et du poulet domestique remonterait à 58 000 ans avant J.C à plus ou moins 16 000 ans (Sawai et al. 2010), bien avant la date présumée de domestication, entre 6000 et 5500 ans avant J.C .

1.1.1.3 La domestication de *Gallus gallus domesticus*

La domestication modifie les aptitudes physiques, cognitives et comportementales des animaux, en modelant les traits assurant la survie en milieu sauvage pour répondre aux besoins des hommes, tels que l'intensité de la ponte, la croissance rapide ou encore la docilité (Callaway 2016). Cependant, il existe encore de nombreux polymorphismes ancestraux dans les races modernes de *Gallus gallus domesticus* : la variabilité ancestrale, bien que diminuée par la sélection, reste importante. Certaines caractéristiques sélectionnées, comme la pigmentation par exemple, présentent même une plus grande variabilité phénotypique et génotypique que *Gallus gallus*.

La race Leghorn, qui est une race sélectionnée moderne, montre de fortes différences morphologiques et comportementales par rapport au coq doré :

- maturité sexuelle plus précoce (environ 20 % plus jeune)
- ponte plus importante
- poids de l'œuf plus élevé
- crêtes plus larges (réponse corrélée à la sélection sur la ponte)

(Wright et al. 2012)

- individus moins peureux
- baisse d'expression des comportements coûteux en énergie (recherche de nourriture, interactions sociales, ...)

(Schutz, Jensen 2001; Schütz et al. 2004).

Un exemple de différence morphologique entre une espèce domestique et un coq doré est visible sur les photos ci-dessous.



Photographie 1: A gauche : coq Leghorn blanc. Extrait de : Feathersite (Cohen 2018). A droite : coq doré. Extrait de : BRUGERE-PICOUX Jeanne et al. Manuel de pathologie aviaire (Brugère-Picoux et al. 2015)

La modification de caractères comportementaux est un effet indirect de la domestication, et s'explique par le phénomène de pléiotropie¹, ou par la coségrégation de gènes régulant les caractères sélectionnés (par exemple la croissance) et de gènes régulant le comportement. Par exemple, *HAO1* et *BMP2* sont deux gènes voisins, localisés sur le chromosome 3, qui régulent à la fois la taille de la crête et la fécondité de *Gallus gallus* (Johnsson et al. 2012).

Certains comportements trop coûteux en énergie (interactions sociales, ...) ont ainsi été contre-sélectionnés afin de maximiser les ressources disponibles pour des caractères tels que la ponte ou la croissance (Schütz et al. 2004).

1.1.2 Génome de *Gallus gallus*

1.1.2.1 Séquençage du génome

Chez les oiseaux, le sexe mâle est homogamétique (ZZ) et le sexe femelle hétérogamétique (ZW). Pour disposer de la séquence génomique de l'ensemble des chromosomes de l'espèce, le premier assemblage du génome de *Gallus gallus* a été réalisé à partir d'une femelle. C'est un individu issu de la lignée consanguine de coq doré UCD001 qui a été séquencé, afin de limiter l'hétérozygotie du génome pour

¹ La pléiotropie est « un état où un même gène gouverne plusieurs caractères » (Larousse 2017a).

faciliter l'assemblage de novo du génome. Cet assemblage a été publié en 2004 (Hillier et al. 2004).

Depuis, des techniques de séquençage plus précises ont été mises au point et de nouvelles parties du génome ont été mieux caractérisées : de nouvelles versions apparaissent régulièrement (Schmid et al. 2015).

La version de référence utilisée dans ce travail est la 5.0 (GCA_000002315.3), apparue depuis le 16/12/2015 et accessible à l'adresse suivante : https://www.ensembl.org/Gallus_gallus/Info/Index.

La version 6 du génome (GRCg6) est disponible depuis le 23/02/2018 (Genome Reference Consortium 2018) à l'adresse suivante :

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=gallus%20gallus>

1.1.2.2 Organisation chromosomique

La taille du génome de *Gallus gallus* est de 1230,26 Mb (Genome Reference Consortium 2015).

Une des caractéristiques de la plupart des génomes aviaires est la forte variabilité de taille des chromosomes, exception faite des rapaces. Ils sont répartis en macro- et micro-chromosomes, comme le montre la figure ci-dessous.

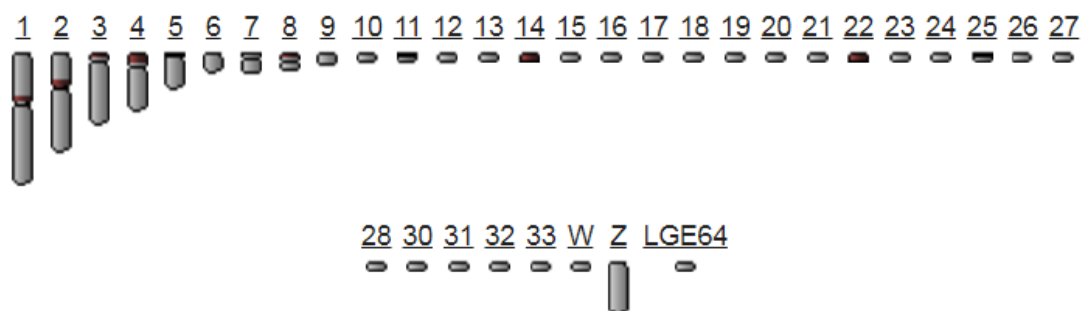


Figure 1: Caryotype de *Gallus gallus*. Extrait de NCBI (Genome Reference Consortium 2015).

En plus de la paire de chromosomes sexuels Z et W, le génome de *Gallus gallus* compte 33 paires d'autosomes (38 paires d'autosomes et une paire de chromosomes sexuels sont recensés en cytogénétique), un groupe de liaison (LGE64), et un ensemble de 15 411 séquences non attribuées à un chromosome et constituant le groupe Unaff (non représenté sur la figure 1) (Genome Reference Consortium 2015).

Le groupe de liaison LGE64 est composé d'allèles pouvant être reliés de proche en proche les uns aux autres. Il pourrait correspondre à un micro-chromosome, mais son origine n'a pas encore été résolue depuis 2004 (Hillier et al. 2004).

La longueur de chaque chromosome est représentée ci-dessous.

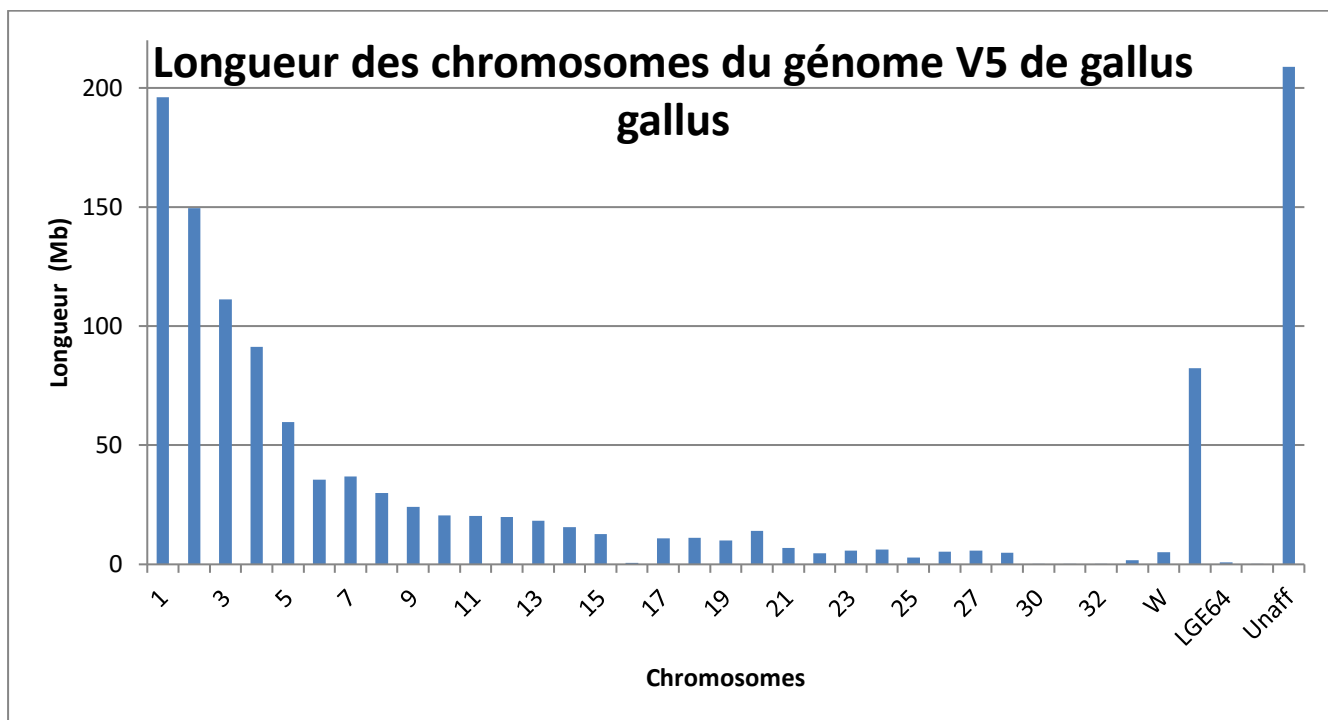


Figure 2: Longueur physique (en Mb) des chromosomes de *Gallus gallus domesticus*. Inspiré de NCBI (Genome Reference Consortium 2015).

Dans chaque chromosome, que ce soit les autosomes ou les chromosomes sexuels, il y a un certain nombre de séquences mal localisées. Ce sont des séquences qui ont pu être attribuées à un chromosome sans que leur localisation exacte ait pu être déterminée.

1.1.2.2.1 Les chromosomes sexuels

Le chromosome W est beaucoup plus petit que le Z : il représente moins de 2 % de la longueur du génome de *Gallus gallus* et contient peu de séquences codantes (0,4 % des gènes). Ces séquences codantes comprennent quelques paralogues² de gènes présents sur le chromosome Z et quelques gènes spécifiques de la femelle (Muir, Aggrey 2003; Ellegren 2011).

² Paralogues : Gènes créés par duplication, présents au sein d'une même espèce. Ils codent pour des protéines à fonction similaire mais non identique (Ruckpaul 2006).

Le chromosome Z représente 80 Mb et 1345 gènes y sont recensés dans la version 5 du génome, ce qui représente 1,4 % des gènes totaux chez le poulet. Peu de gènes sont recensés sur les chromosomes sexuels comparativement à d'autres espèces. Par exemple, chez l'humain, 5,6 % des gènes sont liés au chromosome X et 0,19 % au chromosome Y.

Le chromosome Z porte donc un nombre de gènes beaucoup plus important que le chromosome W, comme chez les mammifères ($X \gg Y$, en nombre de gènes). Chez ces derniers, un certain équilibre de l'expression génique (ou compensation de dose) entre les sexes (femelles XX et mâles XY) est assuré par l'inactivation aléatoire et quasi-complète de l'un des deux chromosomes X chez la femelle (Gendrel, Heard 2011). Un tel mécanisme n'a pas été mis en évidence chez les oiseaux, qui présentent un ratio d'expression des gènes portés par le chromosome Z pour les mâles/femelles de 1,5 :1 (Ellegren 2011).

Cependant, d'autres mécanismes permettent d'éviter une différence d'expression trop importante, comme le niveau de méthylation de l'ADN en fonction du sexe (Kaiser, Ellegren 2006). En effet, la méthylation des régions régulatrices d'un gène peut réguler son niveau de transcription. Par exemple, il existe une région du chromosome Z appelée MHM (région hyperméthylée du mâle), où la transcription est inhibée de manière sélective. L'expression génétique de cette région n'est pas inhibée totalement mais elle est régulée de manière spécifique pour chaque gène, et la régulation varie au cours de la croissance des individus. Si certains gènes de la région sont surexprimés chez la femelle (pour compenser la présence d'un unique chromosome Z), le niveau d'expression de la plupart des gènes du chromosome Z reste plus faible chez la femelle que chez le mâle (Ellegren 2011).

Ainsi, plus l'expression des gènes du chromosome Z est importante chez le mâle, plus l'écart d'expression entre les sexes sera important puisque la femelle ne pourra pas compenser (Naurin et al. 2012).

Sur 900 gènes recensés en 2010 sur les chromosomes sexuels, seuls 21 s'exprimaient dans les tissus somatiques, car la plupart sont liés à la reproduction. Par exemple, les gènes codant pour les ornements des mâles et les préférences des

femelles pour ces ornements sont souvent localisés sur les chromosomes sexuels (Li et al. 2010).

1.1.2.2.2 Les autosomes

Les micro-chromosomes ont une plus forte densité de gènes que les macro-chromosomes, comme le montre la figure 3.

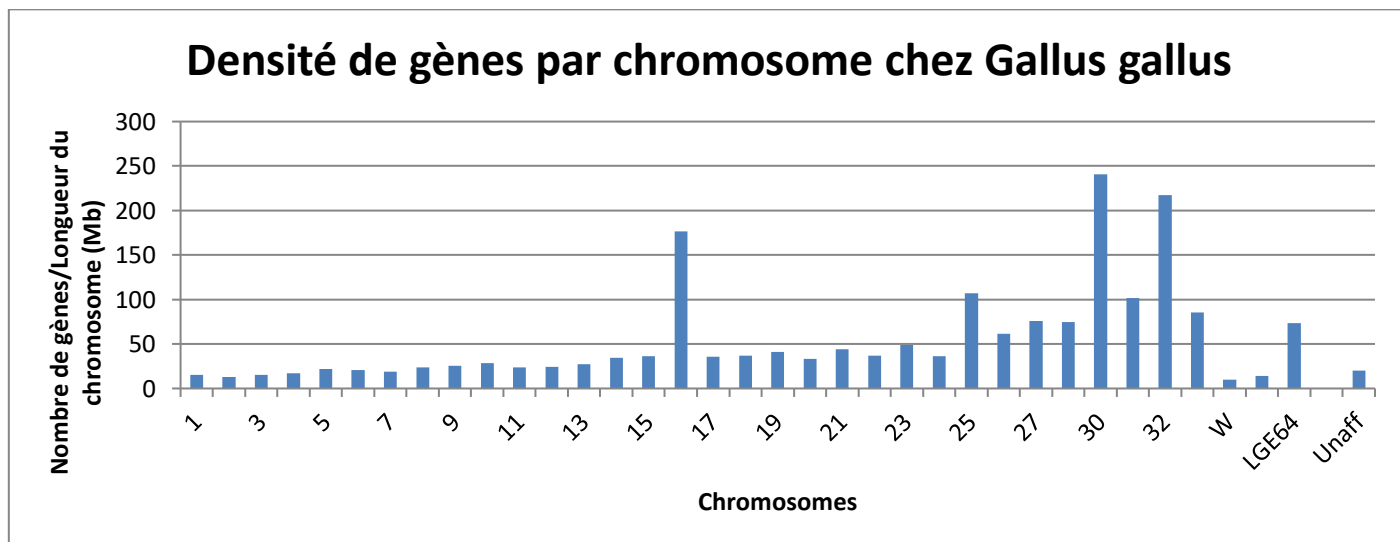


Figure 3: Densité des gènes dans le génome de *Gallus gallus*. Inspiré de NBCI (Genome Reference Consortium 2015).

Cela est confirmé par la présence de régions riches en GC (majoritairement présentes dans les régions transcrites) et en îlots CpG (séquences riches en GC, présentes au niveau du promoteur et des premiers exons de certains gènes). Cela implique également une plus faible densité en introns, régions inter-géniques et séquences répétitives (Guizard 2016).

Les macro-chromosomes, quant à eux, ont une densité plus élevée d'éléments transposables (éléments capables de se déplacer dans le génome) (Burt 2005; Mank et al. 2007; Guizard 2016).

En cohérence avec la règle du « crossing-over obligatoire » (présence d'au moins un CO par bras chromosomique lors de la méiose) on observe un taux de recombinaison plus élevé sur les micro-chromosomes (6,4 cM/Mb ; 1 cM équivaut à 1% de recombinaison environ) que sur les macro-chromosomes (2,8 cM/Mb). Les changements phénotypiques sont facilités par ce taux de recombinaison élevé (« brassage génétique »). Par comparaison, les chromosomes humains présentent une densité de recombinaison comprise entre 1 et 2 cM/Mb (Guizard 2016).

1.1.2.3 Organisation génomique

1.1.2.3.1 L'ADN codant

L'annotation a permis de mettre en évidence 25 062 gènes, qui représentent 49,96 % du génome (6,63 % pour la partie codante).

La comparaison de la séquence de référence du coq doré avec celles de lignées chair et ponte a permis de mettre en évidence 15 millions de SNP, ce qui fait donc une diversité de 2,7 variants par 100 nucléotides (Gheyas et al. 2015). 70 % étaient communs à toutes les races, laissant supposer que leur origine précède la domestication (Ka-Shu Wong et al. 2004).

1.1.2.3.2 L'ADN non codant

Jusqu'à une période récente, 98% des régions non codantes étaient considérées non fonctionnelles. Aujourd'hui, certains auteurs considèrent que près de 80% des régions non codantes pourraient jouer un rôle dans la régulation de l'expression des gènes (Fatima, Morris 2013).

Les gènes ne codant pas pour des protéines peuvent être transcrits en ARN non codants (ARNnc). Ils sont situés dans les régions inter-géniques ou les introns des gènes traduits. Comme pour les ARN messagers (ou ARNm), des facteurs de transcription et des mécanismes épigénétiques régulent l'expression des ARNnc. Leur taille varie de 20 nt à 100 kb, avec des structures très variées. Ils se répartissent en trois catégories principales :

- Les ARNs nécessaires à traduction : les ARN ribosomiques et les ARN de transfert.
- Les longs ARN non codants, dont les mécanismes d'action sont encore assez mal connus.
- Les petits ARN non codants, comme :
 - Les ARNsno, ou petits ARN nucléolaires
 - Les ARNsn, ou petits ARN nucléaires
 - Les ARNpi, ou ARN interagissant avec la protéine Piwi
 - Les miARN ou microARN
 - les siARN ou petits ARN interférents (Romero et al. 2012).

Ces deux derniers jouent un rôle central dans les mécanismes d'interférence ARN. L'interférence ARN est une voie de régulation de l'expression post-transcriptionnelle des gènes (Kim, Rossi 2008).

Les siARN sont une classe d'ARN double-brin d'environ 20 nucléotides. Ils sont issus soit de matériel exogène à la cellule, comme de l'ARN viral, soit de matériel endogène, comme de l'ARN double brin. Ces ARN double brin proviennent de séquences répétées-inversées ou de transposons.

Les microARN (ou miARN) sont une classe d'ARN non codants simple brin dont la longueur est de 19 à 25 nucléotides (Fatima, Morris 2013). Ils sont endogènes aux cellules, c'est-à-dire qu'ils sont transcrits à partir du génome comme les gènes codant pour des protéines. Ils participeraient à la régulation de l'expression de 60% des gènes.

Deux mécanismes d'action ont été décrits:

- Si l'ARNm et le miARN ne sont pas parfaitement complémentaires l'un de l'autre (ce qui est le cas le plus fréquent chez les animaux), il y a soit une inhibition de la traduction, soit une accélération de la désadénylation de la queue poly-A de l'ARNm, et donc une dégradation de l'ARNm plus rapide.
- S'ils sont parfaitement complémentaires, l'ARNm cible sera dégradé par clivage (Wang et al. 2013).

La première identification de miARN chez le poulet date de 2006 (Xu et al. 2006). Aujourd'hui 907 miARN sont recensés dans la miRBase pour le poulet. Ils ont été isolés à tous les âges, dans un grand nombre de tissus et interviennent dans divers mécanismes: développement des muscles squelettiques par régulation du récepteur à la GH (Growth hormone), régulation de la prolifération cellulaire et de l'apoptose, chondrogenèse, immunité, différenciation sexuelle, etc (Wang et al. 2013).

1.1.2.4 Génomique comparative

1.1.2.4.1 Taille du génome de *Gallus gallus* par rapport aux mammifères

La taille physique (en Mb) du génome de *Gallus gallus* représente environ 1/3 de celle des génomes de mammifères. Les hypothèses explicatives envisagées sont les suivantes :

- Les introns des gènes aviaires codant des protéines sont en moyenne 50% plus courts que ceux des mammifères (Zhang et al. 2014).
- L'ancêtre commun des oiseaux et des reptiles aurait subi un grand nombre de délétions, ce qui se retrouverait sur les séquences des espèces actuelles.

- Les éléments transposables représentent 4 à 10% seulement du génome aviaire contre 34 à 52% chez les mammifères. Il y aurait donc moins de répétitions dans le génome aviaire (Guizard 2016).

Ces phénomènes n'expliquent cependant que 25 % de la différence de taille entre les génomes aviaires et mammifères. D'autres mécanismes non encore élucidés participent donc à cette différence de taille du génome (Mank et al. 2007).

1.1.2.4.2 Conservation du génome de *Gallus gallus* par rapport à l'Homme

Le génome du poulet est assez proche de celui de l'homme : le taux estimé de réarrangements inter-chromosomiques entre le poulet et l'homme semble plus bas qu'entre la souris et l'homme (Farce 2000).

75 % des régions codantes et 30 à 40 % des éléments régulateurs sont conservés entre les génomes de l'Homme et du poulet, avec, au final, 2,5 % de séquences identiques entre les deux espèces. 400 régions ultra-conservées de plus de 200 paires de base ont été identifiées. Ces régions représentent globalement 95 % du génome commun aux deux espèces. Certaines sont localisées dans ce qui est nommé des « déserts de gènes », des régions non codantes mais qui sont certainement impliquées dans des mécanismes de régulation à distance.

1.1.3 Dimorphisme de l'expression génétique

1.1.3.1 Définition des gènes biaisés par le sexe

Lors de l'évolution, la sélection de traits intéressants pour la reproduction chez le mâle (exemple : une grande taille du mâle permet d'augmenter le succès reproducteur) provoque logiquement l'évolution des traits femelles homologues comme les deux sexes ont un génome commun. Or, cette évolution peut diminuer les performances reproductrices de la femelle (si la taille de la femelle augmente, sa fertilité peut diminuer), et donc éloigner la femelle de son optimum de succès reproducteur. De même, s'il y a sélection de traits intéressants pour les femelles au cours de l'évolution, le risque est un impact négatif sur le succès reproducteur du mâle. Cela est décrit comme le conflit sexuel intra-locus.

Une expression génétique différente selon le sexe est alors apparue au niveau des loci soumis à des contraintes évolutives différentes.

Ces gènes sont qualifiés de « sexuellement antagonistes », c'est à dire bénéficiant à un sexe, tout en étant neutres ou négatifs pour l'autre (Ellegren 2011). Leur expression sera donc biaisée par le sexe. L'évolution de ces gènes a une influence significative sur le succès reproducteur.

Un autre mécanisme permettant d'améliorer le succès reproducteur de chaque sexe est l'empreinte génomique, où certaines portions du génome ne s'expriment que dans un sexe. Ce mécanisme est bien décrit chez les mammifères, mais son absence a été démontrée chez le poulet (Frésard et al. 2014; Wang et al. 2015).

1.1.3.2 Distribution et sélection des gènes biaisés par le sexe

La distribution des gènes biaisés par le sexe n'est pas aléatoire dans le génome : il y a une surreprésentation des gènes biaisés vers le mâle sur le chromosome Z, et une surreprésentation des gènes biaisés vers la femelle sur les autosomes (Kaiser, Ellegren 2006; Naurin et al. 2012; Frings et al. 2012). Dans tous les cas, les gènes biaisés par le sexe et pléiotropes sont souvent localisés sur les autosomes car ces gènes influencent également d'autres paramètres pouvant être indispensables à la survie.

Cette distribution aurait été causée à l'origine par des migrations de gènes entre les chromosomes sexuels et autosomiques. En effet, les gènes favorables à la femelle ont tendance à disparaître du chromosome Z. Au contraire, un allèle dominant favorable au mâle sera plus facilement sélectionné lorsqu'il est sur le chromosome Z puisqu'il sera porté les 2/3 du temps par un mâle (Kaiser, Ellegren 2006; Ellegren 2011). De plus nombreuses mutations avantageuses pour le mâle sont donc fixées sur le chromosome Z plutôt que sur les autosomes.

De plus, les gènes évoluent plus vite lorsqu'ils sont sur le chromosome Z car pour 4 copies du même autosome présentes lors de la reproduction, il y aura seulement 3 copies du chromosome Z. Or, une population réduite permet une pression de sélection plus importante et donc une plus grande vitesse d'évolution. C'est le « fast Z-effect » (Mank et al. 2007; Li et al. 2010). Les gènes avantageant le mâle évoluent donc plus vite lorsqu'ils sont situés sur le chromosome Z, alors que ceux intéressants pour la femelle évoluent plus vite lorsqu'ils sont sur les autosomes du fait du faible nombre ou de l'absence de recombinaisons du Z chez la femelle.

1.2 Ontogénie du dimorphisme sexuel chez *Gallus gallus*

1.2.1 Théories d'évolution du dimorphisme sexuel

1.2.1.1 Le succès reproducteur

Le succès reproducteur, ou fitness en anglais, est la capacité d'un individu d'un certain génotype à se reproduire. Il peut être mesuré par le nombre de descendants viables et fertiles que produit cet individu par génération (Earl, Whiteman 2015).

Un phénotype permettant le succès reproducteur d'un sexe n'est pas toujours favorable à l'autre sexe. En effet, des individus de la même espèce ayant des fonctions biologiques identiques ont des forces évolutives différentes, de par leur nature ou leur intensité, qui s'exercent sur eux: c'est la cause de l'apparition et de l'évolution du dimorphisme sexuel. Une des forces sélectives majeures du dimorphisme sexuel est la sélection sexuelle.

1.2.1.2 La sélection sexuelle

La sélection sexuelle selon Darwin est « l'avantage reproductif de certains individus sur leurs congénères de même sexe ». Le succès reproducteur chez un mâle peut donc être mesuré relativement à celui des autres mâles, de même chez les femelles. Les mâles peuvent gagner le droit de se reproduire avec une femelle en combattant les autres mâles ou en la séduisant.

Cela induit des comportements tels que la recherche du partenaire, la parade nuptiale, les combats, le choix du partenaire, la coopération ou la séquestration, etc (Parker et al. 2013).

1.2.1.2.1 Compétition intra-sexuelle

La compétition intrasexuelle recouvre la compétition pré-copulatoire, c'est à dire la compétition des individus du même sexe pour l'accès à la reproduction, et la compétition post-copulatoire, c'est à dire la compétition spermatique. Un choix doit alors être fait lors de l'allocation des ressources. En effet, chez le mâle, elles peuvent être destinées à avoir accès aux femelles grâce à des caractères ornementaux coûteux qui serviront lors des combats entre mâles, ou favoriser le mâle lors de la compétition spermatique en améliorant la quantité et/ou la qualité du sperme (Glutton-Brock, Vincent 1991; Parker et al. 2013).

1.2.1.2.1.1 Sexe soumis à la sélection

Le sexe pour lequel l'accès à la reproduction est limité est celui où la compétition intrasexuelle est la plus intense. C'est généralement le mâle, car une partie n'a pas accès à la reproduction. Pour beaucoup d'espèces, cet accès restreint entraîne donc une compétition et un choix du partenaire revenant aux femelles, ce qui est le cas chez *Gallus gallus*.

Le sex-ratio opérationnel, le taux potentiel de reproduction et l'investissement parental sont trois paramètres qui permettent de définir quel sera le sexe soumis à une sélection sexuelle intense.

1.2.1.2.1.2 Taux potentiel de reproduction

C'est le nombre maximal de descendants indépendants qu'un individu peut produire par unité de temps. Le sexe pour lequel ce taux est le plus fort a naturellement tendance à être le plus sujet à compétition.

Il dépend de deux paramètres :

- De l'anisogamie. Les gamètes du mâle sont plus petits, il peut donc en produire beaucoup plus que la femelle pour un même coût, ce qui augmente son taux potentiel de reproduction.
- De l'investissement parental (voir aussi le point suivant). Le temps passé à s'occuper de la progéniture n'est pas dédié à la reproduction, cela limite le taux potentiel de reproduction des femelles (Glutton-Brock et Vincent 1991).

1.2.1.2.1.3 L'investissement parental

C'est l'ensemble des investissements qu'un parent consent pour augmenter les chances de survie de ses descendants. Cela réduit la possibilité du parent d'investir dans d'autres descendants (Trivers 1972). Cet investissement couvre toute la durée du cycle de reproduction, de la production de gamètes à la garde et l'élevage de la progéniture.

Les femelles investissent toujours plus que les mâles dans les espèces anisogames. Cela explique la répartition classique des rôles sexuels, avec la femelle choisissant son partenaire.

1.2.1.2.1.4 Sex-ratio opérationnel

Il est défini comme le nombre de femelles fécondables par rapport au nombre de mâles sexuellement actifs à un moment donné (Emlen, Oring 1977). Cela ne prend donc en compte que les individus fertiles et disponibles pour la reproduction.

Il permet d'avoir une idée du nombre de reproducteurs potentiels dans chaque sexe, et donc de l'intensité de la sélection sexuelle : si un plus grand nombre de mâles est disponible, la compétition aura lieu entre eux et le choix reviendra aux femelles.

Lorsque la reproduction des femelles n'a lieu que pendant des périodes de chaleur, ou lorsque la femelle n'est plus disponible pour la reproduction pendant l'élevage de la progéniture, le sex-ratio est en faveur du mâle, puisque celui-ci est toujours sexuellement actif.

En pratique, le sex-ratio opérationnel est très difficile à mesurer précisément, mais il peut être estimé : il est relié au taux de reproduction potentiel, à corriger en fonction de la mortalité propre à chaque sexe.

1.2.1.2.1.5 Compétition pré-copulatoire

On observe généralement l'évolution de nombreux traits du mâle sans que ces mêmes caractéristiques soient modifiées chez les femelles, de par la compétition intrasexuelle entre mâles. Le fait que dimorphisme sexuel et polygynie³ soient étroitement liés appuie cette hypothèse. Une autre preuve est la corrélation positive entre la force du dimorphisme sexuel au sein d'une espèce et l'intensité de la compétition entre mâles pour l'accès aux femelles.

En effet, la grande taille d'un mâle l'avantageant lors des combats, cela lui permet un accès exclusif à plusieurs femelles, et donc l'augmentation de son succès reproducteur. Comme seuls les plus grands mâles se reproduiront, il y aura peu à peu une augmentation du dimorphisme sexuel de la taille en faveur du mâle (Fairbairn et al. 2007; Shine 1989).

De même, des caractères sexuels secondaires spécifiques du mâle, comme par exemple les ergots chez *Gallus gallus*, peuvent apparaître au cours de l'évolution, comme « armes de combat ». La sélection sexuelle favorise une « course à l'armement » entre mâles, où l'ornement augmentera de taille par exemple. Cette

■ ³ Polygynie : « Cas particulier de la polygamie, dans lequel un homme peut avoir plusieurs épouses. » (Larousse 2017b)

course stoppera lorsque le coût de production du caractère dépassera l'avantage évolutif de le posséder (David, Heeb 2007).

Il existe aussi d'autres types de caractères sexuels secondaires qui permettent, en déterminant la valeur du mâle, d'éviter les combats dont l'issue est certaine. La taille de la crête de *Gallus gallus*, par exemple, permet aux mâles d'évaluer la valeur de leurs adversaires potentiels, et donc l'issue du combat. Cela évite une dépense énergétique inutile.

Ces caractères sexuels secondaires peuvent cependant avoir un coût de production et/ou d'entretien non négligeable pour les mâles. Une crête développée peut, par exemple, les rendre plus repérables pour les prédateurs et compliquer leurs déplacements. Ainsi, un mâle avec un potentiel génétique adapté à un milieu donné peut supporter le coût de l'ornement, contrairement aux individus moins adaptés.

Etant donné que les mâles les plus aptes à la reproduction seront ceux qui arrivent à survivre tout en ayant les plus grands ornements, cela devient alors un critère important pour le choix de la femelle : c'est la théorie du handicap (Zahavi 1975).

Cela implique que la qualité de l'ornement varie au cours du temps suivant l'environnement et les qualités de reproduction de l'individu: un coq parasité peut avoir la crête de couleur moins vive par exemple (David, Heeb 2007).

1.2.1.2.1.6 Compétition post-copulatoire : la compétition spermatique

Augmenter les dépenses liées à la production spermatique permet d'augmenter le succès reproducteur du mâle lors d'un accouplement, mais diminue le nombre possible d'accouplements totaux. Adapter la taille et la qualité de l'éjaculat selon les rivaux potentiels et la fécondité de la femelle permet d'augmenter le succès reproducteur des mâles tout en limitant les dépenses énergétiques (Zizzari et al. 2013).

1.2.1.2.1.7 Expression chez Gallus gallus

La compétition intrasexuelle chez *Gallus gallus* passe par des combats lors de la mise en place d'une hiérarchie qui déterminera l'accès aux femelles. En effet, le pic de sécrétion d'androgènes à 30 jours d'âge chez le coquelet correspond à la période où les relations de dominance entre mâles se mettent en place.

L'accouplement d'une poule et d'un coq est appelé cochage. Lorsque le nombre de poules est assez bas pour qu'un coq arrive à s'accoupler avec toutes, 65 % des descendants du lot sont issus du seul mâle dominant. Les femelles se reproduisent le plus souvent avec le mâle dominant, mais s'accouplent aussi avec les mâles subordonnés, même si dans ce cas les dominants interrompent très souvent l'accouplement des subordonnés, diminuant ainsi le succès reproductif de ces derniers.

La hiérarchie n'est pas fixée, avec des mâles se défiant et la faisant évoluer au cours du temps. De plus, elle n'est pas linéaire, la corrélation entre rang social et fréquence d'accouplements reste donc modérée.

La paternité d'une descendance, et donc le succès de la compétition intrasexuelle dépend :

- du moment et du succès de l'accouplement des femelles avec les autres mâles : si un accouplement avec un second mâle a lieu 4h après le premier, 80 % des descendants seront issus du second mâle car le sperme le plus récent est utilisé en premier pour la fécondation (Pizzari et al. 2002).
- du nombre d'accouplements avec chaque mâle : lorsque les poules domestiques vivent en colonie, le nombre d'accouplements par animal a tendance à augmenter pour être compétitif lors de la compétition intrasexuelle post-copulatoire.
- de la durée de survie du sperme : chez la poule domestique, le sperme peut être stocké pendant plus de 2 semaines, mais la fertilité diminue avec l'âge du sperme, après la première semaine.
- de la quantité du sperme des autres mâles : pendant la compétition spermatique, c'est un des deux facteurs qui va jouer avec la qualité du sperme. Comme dit précédemment, un mâle libère plus ou moins de sperme en fonction de la qualité de la femelle, et diminue peu à peu la quantité de sperme libérée s'il est le seul à copuler avec la femelle car il n'y aura pas de compétition post-copulatoire.
- de la qualité du sperme des autres mâles : elle est évaluée en mesurant la motilité des spermatozoïdes, car ces deux paramètres sont étroitement corrélés. Plus la mobilité est haute, meilleures sont leurs chances de féconder car ils survivent plus longtemps en meilleur état. Les mâles subordonnés ont des spermatozoïdes plus mobiles que les mâles dominants: les dominants investissent plus d'énergie dans la

compétition pré-copulatoire, contrairement aux dominés qui investissent dans la compétition post-copulatoire.

1.2.1.2.2 Compétition intersexuelle

La sélection intersexuelle est la pression sélective exercée sur les individus d'un sexe par l'autre sexe, dû au choix des individus qui lui donneront des descendants. Cette forme de sélection, décrite initialement par Darwin, est complémentaire de la sélection intrasexuelle, les deux étant très dépendantes l'une de l'autre. Généralement, ce sont les femelles qui choisissent, mais il arrive que ce soit les mâles, ce qui est nommé « espèces à rôle sexuel inversé », ou même les deux sexes (Kokko, Jennions 2008). Cette sélection intersexuelle ne se limite pas au choix du partenaire, ou choix pré-copulatoire, il y a aussi un choix post-copulatoire.

1.2.1.2.2.1 Modèles de sélection intersexuelle chez la femelle

- Coût de la sélection intersexuelle

La sélection intersexuelle des femelles sélectionnera certains caractères ou comportements des mâles, via les préférences de la femelle. Elles peuvent être apparues par hasard du fait de l'exploitation par les mâles d'un biais de leur système sensoriel, ou avoir été sélectionnées car ces préférences augmentent le succès reproducteur des femelles.

Ce choix du partenaire a un coût, qui doit être inférieur ou égal à l'avantage obtenu, sinon ce modèle ne serait pas sélectionné. Le coût de cette sélection est dû à l'énergie dépensée pour la recherche du partenaire et au fait que la femelle ne peut se consacrer à d'autres activités tels que les soins à la progéniture ou la recherche de nourriture pendant ce temps. Il peut aussi y avoir des coûts indirects, comme une plus grande vulnérabilité aux prédateurs lors de cette recherche.

Cependant, choisir permet d'augmenter le succès reproducteur de la femelle, via des avantages directs ou indirects.

Les avantages directs peuvent être de la nourriture apportée par le mâle, ou des soins parentaux à la progéniture sous forme de nutrition ou de protection. Le mâle peut également être plus apte à défendre la femelle, ou posséder un territoire avantageux car riche en ressources.

Les avantages indirects sont des allèles apportés à la descendance, capables d'augmenter la viabilité des descendants en favorisant l'hétérozygotie, ou capables

d'augmenter le succès reproducteur des descendants en codant pour des ornements particulièrement avantageux pour la reproduction par exemple. L'emballement Fisherien⁴ explique la sélection sexuelle de caractères n'augmentant pas la viabilité des descendants (Fisher 1915).

- Méthodes de sélection intersexuelle

Le choix de la femelle commence par l'évaluation de la diversité des mâles, via un échantillonnage. Il peut être aléatoire ou non, avec une ampleur qui dépend du coût que peut y consacrer la femelle en fonction du bénéfice espéré. Il y a ainsi 6 stratégies différentes (Jennions, Petrie 2007):

- L'accouplement aléatoire, avec le premier partenaire rencontré : il n'y a pas de choix mais le coût est nul.
- La stratégie de seuil fixe : les mâles sont évalués jusqu'à en trouver un de qualité supérieure à un seuil fixé.
- La comparaison séquentielle : évaluation successive de tous les mâles, dès que la qualité du dernier mâle est inférieure au précédent, choix de l'avant-dernier (Bateson 1983).
- La décision en une étape : évaluation successive de tous les mâles rencontrés, choix dès que le mâle se révèle avantageux vis à vis de l'échantillonnage et du coût de l'évaluation (Janetos 1980).
- règle d'interruption optimale : choix en fonction des qualités probables des autres mâles, mais ignorance de la réelle distribution de ces qualités (Dombrovsky, Perrin 1994)
- comparaison groupée : évaluation d'un groupe de mâles rassemblés et choix du meilleur (Reynolds, Gross 1990; Janetos 1980).

1.2.1.2.2 Critères de sélection intersexuelle chez la femelle

Les critères influençant la sélection peuvent être visuels, chimiques, sonores ou tactiles. Ils peuvent correspondre à des caractéristiques physiques, comportementales ou écologiques du mâle.

⁴ Un caractère attirant le sexe opposé est sélectionné. L'attraction du sexe opposé rend ce caractère avantageux à posséder car cela augmentera la fertilité de l'individu. Au cours des générations, le caractère deviendrait alors de plus en plus prononcé, jusqu'à ce que le coût de production de ce caractère dépasse l'avantage sélectif de le posséder (Fisher 1915).

Ces critères donnent des informations directes telles que la possibilité de transmettre ou non des parasites à la femelle, la vigueur du mâle, ... et indirectes telles que la qualité génétique.

Plusieurs critères sont pris en compte, car ils peuvent n'être pas assez pertinents à eux seuls ou apporter des informations différentes sur le mâle. Une combinaison de signaux est donc nécessaire pour connaître la valeur d'un mâle (Moller, Pomiankowski 1993).

Les femelles peuvent être plus sensibles à des signaux composés qu'à des signaux simples. Cela est dû à une coévolution antagoniste : les mâles exploitent les biais sensoriels des femelles pour être choisis, mais si ce choix diminue le succès reproducteur de la femelle, il ne sera pas sélectionné et les femelles seront donc moins sensibles à ce signal. Retenir l'attention des femelles nécessite alors d'accumuler les signaux (Holland, Rice 1998).

Ces signaux ont une influence les uns sur les autres, avec un signal pouvant modifier le coût d'un autre, se potentialiser ou encore modifier l'attention portée par la femelle aux autres signaux (Ryan 1990).

La décision d'accouplement ne dépendra pas que du choix de la femelle : il peut être modifié par la sélection intrasexuelle, si le mâle choisi a été rendu inapte à la reproduction par des combats par exemple. Des facteurs tels que le milieu de vie ou une stringence trop importante pour retrouver le partenaire choisi peuvent aussi modifier le choix final.

1.2.1.2.2.3 Sélection post-copulatoire chez la femelle

Une fois l'accouplement terminé, la femelle a encore la possibilité d'influer sur le géniteur de sa progéniture, via le devenir des gamètes. Ce choix est nommé « choix cryptique des femelles » (Eberhard 1996). Quelques mécanismes vont être décrits ensuite, mais il en existe de nombreux autres.

Chez certains oiseaux, la femelle peut rejeter le sperme tout juste entré par des contractions cloacales (Pizzari, Birkhead 2000). Elle peut aussi choisir les spermatozoïdes fécondants en empêchant la progression de certains gamètes dans les voies génitales, ou en empêchant leur activation ou leur survie (Eberhard 1996). Chez certaines espèces comme le vison, la copulation avec un autre partenaire choisi par la femelle induit un avortement si cet accouplement peut mener à une nouvelle progéniture (Hansson 1947). Si un autre mâle que le géniteur va tuer les

petits à la naissance, il est inutile que la femelle supporte le coût d'une gestation. C'est le cas chez plusieurs espèces de rongeurs, où une femelle mise en contact avec un mâle inconnu va avorter (Eberhard 1996; Cunningham, Birkhead 1998).

1.2.1.2.2.4 Sélection intersexuelle chez le mâle

La compétition intersexuelle n'est pas que le fait de la femelle. Le mâle exprime également des préférences, plus ou moins fortement. En théorie, il serait logique que les préférences du mâle soient plus marquées si les partenaires sexuels disponibles sont de qualité très différente, si le coût de recherche du partenaire est bas, ou si l'investissement parental du mâle est important. Dans ces cas de figure, l'amélioration du succès reproducteur obtenu en réalisant une sélection compense largement les dépenses énergétiques engendrées (Chenoweth et al. 2006). Le mâle s'accouplera toujours avec une femelle, même si celle-ci a un taux de fertilité très faible, s'il peut le faire sans impacter le succès reproducteur de ses futurs accouplements.

Lorsqu'un mâle choisit sa partenaire, le but est de trouver la femelle la plus fertile possible pour avoir une meilleure probabilité de survie de la descendance, et donc une augmentation du succès reproducteur.

Le choix d'une femelle doit donc dépendre de critères morphologiques fortement corrélés à la fertilité. Ce peut être la taille ou la masse, mais dans certaines espèces ces critères ne sont pas pertinents. Il y a alors nécessité pour la femelle de développer des caractères ornementaux ou des signaux corrélés à la fécondité. Cela est plus complexe que dans le cas des mâles, car la majorité des ressources de la femelle sont dédiées à la survie de la progéniture. Comme produire un signal efficace a un certain coût, si ce coût est trop important, il sera négativement corrélé à la fertilité car ces ressources ne seront pas dépensées pour la survie de la progéniture. La conséquence est que généralement les femelles ont une sélection sexuelle convexe. Il y a une stabilisation de la sélection sexuelle en faveur de femelles possédant une certaine taille des caractères ornementaux, et les femelles qui ne possèdent pas ces caractères, comme les femelles chez qui ils sont trop importants, ne seront pas préférées par les mâles.

Les mâles, au contraire, ont une sélection sexuelle linéaire car les femelles choisissent les mâles avec les caractères ornementaux les plus coûteux. Ils sont

donc souvent de grande taille, ou très colorés (Chenoweth et al. 2006). Cependant, cette linéarité ne reste valable que jusqu'au moment où le coût de production de l'ornement devient trop important : ensuite, le succès reproducteur et/ou la survie seront impactés. Les ornements ne dépassent donc jamais une certaine taille. Par exemple, une sélection artificielle pour produire des mâles à large crête a démontré une corrélation négative entre le succès reproducteur et une trop grande crête, car cela impacte les performances de reproduction de l'animal étant donné le coût de production de l'organe (von Schantz et al. 1995).

1.2.1.2.2.5 Expression chez *Gallus gallus*

La parade nuptiale de *Gallus gallus domesticus* n'a pas évolué et reste similaire à celle du coq doré. Les femelles montrent une préférence pour les mâles à haut statut hiérarchique. Elles passent plus de temps près d'eux, car ils attirent l'attention des femelles via l'émission de vocalises caractéristiques lors de la découverte de nourriture, les mâles dominants consacrant beaucoup plus de temps à la parade nuptiale.

Ils sont également plus vigilants vis à vis des prédateurs. Seuls leurs signaux d'alarme sont liés de façon certaine à la présence, ou non, de prédateurs (Pizzari et al. 2002). La conséquence est que le nombre d'accouplements et le succès reproducteur d'un mâle sont liés à la fréquence des signaux d'alarmes que celui-ci émet.

De plus, l'éjection du sperme via des contractions cloacales est négativement corrélée au statut social : plus un mâle est dominant, moins il aura de chances de voir son sperme éjecté (Pizzari et al. 2002).

En présence de femelles, les mâles battent plus souvent des ailes, et le choix des femelles se porte sur les mâles exprimant le plus ce comportement. Les mâles sexuellement actifs l'expriment le plus car il est coûteux en énergie. Ce comportement donne donc une indication sur la condition physique de l'individu et sur son intérêt comme partenaire. Il donne aussi une idée du statut social, les dominants battant plus souvent des ailes (Leonard, Zanette 1998).

Le plumage du coq ne semble pas être un critère de choix pour la femelle chez *Gallus gallus* (Ligon, Zwartjes 1995). Cependant, dans de nombreuses autres espèces d'oiseaux, le dichromatisme sexuel semble être associé au choix de la

femelle (Owens, Hartley 1998), ou à la compétition intrasexuelle entre mâles (Dunn et al. 2015; Greene et al. 2000)

- Exemple d'évolution d'un caractère sexuel secondaire : la crête

La préférence des femelles pour des mâles à crête large et de couleur vive a été démontrée, tant chez le coq doré que chez le poulet domestique. Cet ornement est directement lié au statut social de l'animal, à sa condition physique et à sa résistance aux parasites (Zuk et al. 1998). Cependant, une autre étude n'a pas retrouvé l'influence de ce caractère ornemental sur le choix de femelles de race Leghorn, sans proposer d'explication à ce résultat (Leonard, Zanette 1998). C'est peut-être parce que les coqs Leghorn ont tous des crêtes de grande taille que ce critère ne semble pas discriminant pour les femelles de cette race.

Lorsque l'on étudie une population de poulets domestiques revenus à l'état sauvage, trois des gènes évoluant le plus rapidement concernent la taille de la crête, qui va augmenter. C'est un des caractères ornementaux non sélectionné chez les lignées industrielles, car il y a peu de place pour la sélection sexuelle.

Ceci démontre bien qu'une pression de sélection très forte s'exerce sur les caractères sexuels secondaires des mâles dès qu'une sélection sexuelle se met en place (Callaway 2016).

Chez la femelle, la taille de la crête suit une sélection sexuelle linéaire, dans la mesure où la taille de la crête n'entraîne pas un coût de production prohibitif. La crête, dont la croissance chez la femelle est sous contrôle du 17- β -œstradiol, est un fort marqueur de la disponibilité sexuelle de l'animal car l'âge de maturité sexuelle est étroitement lié à la taille de la crête. En effet, les deux caractères sont supposés être régulés par un même gène ayant des effets pléiotropiques, ou par des gènes voisins (Wright et al. 2012). D'autres paramètres peuvent influencer la taille de la crête : elle joue un rôle important dans la déperdition de chaleur en augmentant la chaleur dissipée. Cela permet une adaptation à la chaleur ambiante et cela joue également un rôle dans l'efficacité alimentaire chez le poulet.

Les femelles à plus grande crête auront la préférence des mâles, qui s'accoupleront plus avec elles, et libéreront une plus grande quantité de sperme lors de la fécondation. Ce signal est efficace car la taille de la crête est positivement corrélée

avec le poids de l'œuf, et donc la fertilité (Cornwallis, Birkhead 2006; Pizzari et al. 2003).

Ces signaux varient au cours du temps pour éviter une fécondation qui ne déboucherait sur aucune descendance. Pendant la couvaison, lorsque la femelle n'est pas disponible pour une fécondation, la taille de la crête diminue. Elle augmentera une fois la femelle de nouveau disponible, après l'éclosion (Cornwallis, Birkhead 2006).

1.2.1.3 Divergence de niches intraspécifique

Les études ayant défendu cette théorie reposent souvent sur un niveau de preuve assez faible, la rendant très controversée (Shine 1989).

1.2.1.3.1 Rôles propres à chaque sexe

L'évolution du dimorphisme sexuel serait influencée par les différences dans le rôle reproducteur des mâles et des femelles. Les femelles, qui supportent le coût énergétique de l'oviposition, de la couvaison et de l'élevage des petits chez *Gallus gallus*, utilisent leurs ressources énergétiques pour la reproduction plutôt que leur propre croissance. Au contraire, les mâles qui ont un rôle de défense du territoire, privilégieront leur propre croissance. Cette différence de rôle engendrerait un dimorphisme sexuel de taille. Le sexe assurant les soins à la progéniture a souvent un plumage plus cryptique, pour mieux se dissimuler (Shine 1989).

Mais les forces sélectives ne s'exercent pas toutes dans le même sens chez un même individu: la fécondité et la taille sont positivement corrélées chez les femelles. Or, elles sont souvent de petite taille lorsqu'elles consacrent leur énergie à la progéniture (Fairbairn et al. 2007). Il existe donc un optimum, où la masse de la femelle est assez grande pour supporter le coût engendré par la reproduction, et pas assez pour que les ressources consacrées à la croissance pénalisent sa fécondité.

1.2.1.3.2 Diminution de la compétition intersexuelle

Une autre théorie, rejoignant la sélection naturelle, est que le dimorphisme sexuel permet la diminution de la compétition intersexuelle. En effet, des tailles différentes permettent l'occupation de niches écologiques différentes. La longueur du tarse est un des paramètres mesurés pour la quantification du dimorphisme sexuel chez les oiseaux, et une différence de taille entraîne une séparation des niches écologiques entre les sexes dans le groupe des échassiers (Shine 1989).

Dans le cas de régimes alimentaires différents, trois explications peuvent être avancées : un besoin nutritionnel différent pour les femelles, une différence de taille entre les sexes empêchant l'accès à la même ressource, et l'occupation de deux habitats différents. Par exemple, en période de reproduction, la cane mange plus d'aliments d'origine animale que le canard, qui mange plus de végétaux. La morphologie des lamelles de leur bec est donc différente (Shine 1989).

L'intérêt de cette divergence des niches est la coopération dans l'exploitation, c'est à dire que les ressources d'un écosystème sont exploitées à leur maximum par une même espèce avec une diminution de la compétition entre les sexes. Dans une espèce de salamandre semi-aquatique, le régime alimentaire est plus ou moins sexe-dépendant selon la densité de la population : lorsque la densité augmente, la différence d'exploitation des ressources augmente entre les sexes pour diminuer la compétition intersexuelle (De Lisle, Rowe 2015).

1.2.1.3.3 Dimorphisme sexuel et différences écologiques

Les différences entre les sexes dans l'exploitation de leur environnement peuvent être (Shine 1989):

- Une source de forces sélectives pour le dimorphisme sexuel (Stephens, Wiens 2009).
- Une conséquence passive du dimorphisme sexuel, qui a évolué pour d'autres raisons, telle que la sélection sexuelle.
- Une adaptation qui, en minimisant la compétition intra spécifique, a diminué le dimorphisme sexuel.
- L'expression de contraintes empêchant l'évolution vers un degré extrême de dimorphisme sexuel.

Dans certains taxons, il existe un fort dimorphisme sexuel sans divergences écologiques, suggérant que le modèle de différences écologiques comme cause d'évolution ne suffit pas à expliquer tous les cas de dimorphisme sexuel.

Si l'activité sexuelle est saisonnière et que les caractères ornementaux sont défavorables à l'alimentation de par la théorie du handicap, il peut exister des variations saisonnières de l'intensité du dimorphisme.

Lorsque les différences écologiques entre les sexes ne sont ni des adaptations, ni des forces évolutives du dimorphisme sexuel, alors elles peuvent être qualifiées d'épiphénomène, c'est à dire sans rôle évolutif significatif (Shine 1989).

La plasticité phénotypique sexuelle peut évoluer en fonction de l'environnement où vit l'animal, comme toute autre caractéristique phénotypique. Généralement, un des sexes est plus sensible que l'autre aux perturbations environnementales. Par exemple, le dimorphisme de pigmentation retrouvé chez une espèce de libellule est corrélé au niveau d'exposition aux radiations solaires (Cooper et al. 2016).

Les facteurs environnementaux peuvent donc contribuer à modifier le dimorphisme sexuel, que ce soit par la disponibilité des ressources ou des mécanismes épigénétiques.

De plus, les traits dimorphiques sont coûteux en énergie pour l'animal lors de la croissance : l'accès à la nourriture peut, par exemple, influencer l'évolution du dimorphisme de taille. Moins de nourriture restreindra la croissance des animaux de grande taille, ce qui diminuera la différence entre les sexes (Fairbairn et al. 2007).

Une hypothèse avancée pour expliquer cette différence de réponse serait que le mâle est capable de se reproduire quel que soit sa taille, contrairement aux femelles pour lesquelles une taille minimale est requise.

Conclusion :

La variation des ornements entre mâles et femelles n'est pas le produit d'un mécanisme unique. Par exemple, la couleur du plumage et le poids corporel sont très différents entre les deux sexes, mais l'un est associé au choix de la femelle, et l'autre à la compétition intrasexuelle (Owens, Hartley 1998).

Les sélections intra- et intersexuelles définissent, ensemble, la sélection sexuelle. Longtemps, les deux phénomènes ont été étudiés séparément. Pourtant, ils interagissent très souvent, de manière simultanée ou décalée dans le temps. La femelle qui incite aux combats entre mâles rivaux en est un exemple. Autre exemple, une forte compétition intrasexuelle interdira l'accès à la reproduction à certains mâles, avant même que le choix des femelles intervienne. Ensuite, ce sont les femelles qui détermineront quels seront les mâles qui pourront se reproduire parmi ceux restants.

C'est donc le bilan des forces qui permet de prédire l'évolution d'un caractère. Par exemple, la taille corporelle du mâle ne dépendant pas que d'une force, il est impossible de prévoir son évolution en ne prenant en compte qu'un paramètre (Fairbairn et al. 2007).

Ces forces peuvent être de même nature (linéaire ou disruptive), et prendre des directions similaires ou opposées. Les deux forces, compétition intra et intersexuelle, agissent simultanément et toutes deux de manière linéaire sur la couleur et la taille de la crête chez le coq doré, par exemple (Hunt et al. 2009).

Si les forces sont de même nature et de même direction, et ne divergent que par leur intensité, le gradient sera identique. Mais si les forces divergent, le gradient final sera identique à la nature et à la direction de la force la plus importante, et différera totalement des caractéristiques de la plus faible. L'étude d'une seule force peut donc être trompeuse (Fairbairn et al. 2007).

Chez la plupart des espèces d'oiseaux, le mâle est l'individu de plus grande taille. On parle alors de dimorphisme sexuel en faveur du mâle. Cela est vrai pour les cinq traits morphologiques suivants : masse corporelle, longueur de l'aile, du tarse, du bec et de la queue.

Or, les corrélations entre ces 5 traits sont généralement faibles dans les espèces d'oiseaux sauvages étudiées, ce qui peut laisser supposer que le dimorphisme sexuel de chaque trait est dû à des forces évolutives différentes (Fairbairn et al. 2007).

Il y aura une augmentation de dimorphisme sexuel lorsque le gradient des forces met en place une sélection disruptive comme représentée ci-dessous.

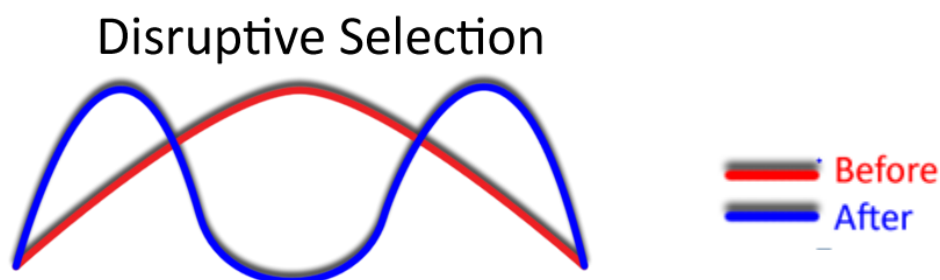


Figure 4: Evolution de la population avec une pression de sélection disruptive. Extrait de Wikimedia Commons (Colvin 2010)

Par exemple, un mâle au plumage brillant aura un succès reproducteur augmenté de par son succès dans la compétition intrasexuelle. La sélection des mâles ira donc vers un plumage de plus en plus chatoyant jusqu'à atteindre un optimum qui n'impacte pas trop la survie. Au contraire, une femelle au plumage terne sera plus apte au camouflage, et augmente donc ses chances d'élever sa progéniture : la sélection des femelles ira vers un plumage plus terne. Dans ce cas-là, la sélection est dite disruptive et le dimorphisme sexuel de couleur du plumage augmente.

Au contraire, une pression de sélection directionnelle ou stabilisatrice diminuera le dimorphisme sexuel, comme représentée ci-dessous.

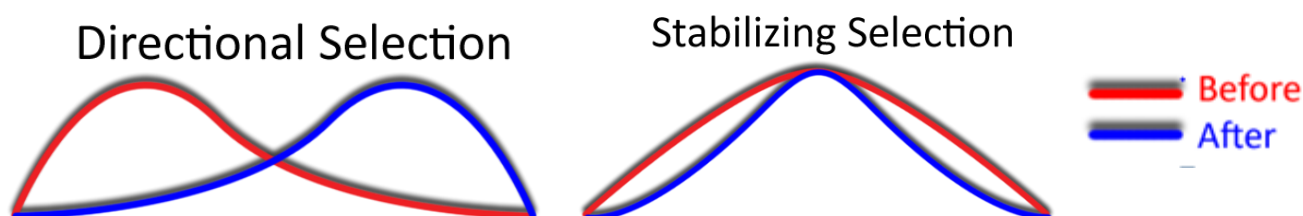


Figure 5: Evolution de la population suite à une pression de sélection directionnelle (à gauche) et stabilisatrice (à droite). Extrait de Wikimedia Commons (Colvin 2010)

Les paramètres influençant le dimorphisme sexuel peuvent varier au cours du temps, être sexe-dépendant ou encore s'influencer les uns par rapport aux autres (Renard 2008).

Le dimorphisme sexuel diffère en fonction de l'environnement où grandissent les individus et la sensibilité de réponse est espèce-dépendante.

Il existe une très grande variété de formes de dimorphisme sexuel chez les oiseaux, certaines espèces ayant des morphologies si différentes que les mâles et les femelles ont d'abord été classifiés comme deux espèces distinctes. D'autres espèces ne diffèrent que par de fortes variations de masse corporelle (Owens et Hartley 1998).

1.2.2 Mise en place du dimorphisme sexuel

1.2.2.1 Lors de l'embryogenèse

1.2.2.1.1 Détermination sexuelle

DMRT1 est un gène qui code pour un facteur de transcription conservé entre oiseaux et mammifères. C'est le principal régulateur de la différenciation des gonades lors de l'embryogenèse. Son mode d'action semble être dose-dépendant, puisque le gène

DMRT1 doit être impérativement présent en double exemplaire pour l'induction de l'organogenèse des testicules (Smith et al. 2009). S'il est présent en un seul exemplaire chez les oiseaux, les gonades deviendront des ovaires (Lambeth et al. 2014). Il est donc porté par le chromosome Z, où le manque de compensation de dosage du chromosome Z permet d'orienter la différenciation des gonades selon le sexe (Bellairs, Osmond 2014). En conclusion, l'initiation de la différenciation vers des testicules est possible par la surexpression de *DMRT1* chez le mâle, causée par la présence de deux copies du gène.

Une fois l'organogenèse des gonades initiée grâce à *DMRT1*, la quantité d'aromatase va conditionner le devenir des gonades lors des premiers stades de différenciation. A ce moment, le nombre de copies de *DMRT1* que possède l'animal n'a plus d'influence sur le devenir des gonades. L'aromatase est une enzyme du cytochrome P450 qui catalyse de manière irréversible la dernière étape de conversion des androgènes en œstrogènes. A concentration d'aromatase élevée, il y a majoritairement présence d'oestrogènes, et à concentration d'aromatase basse, ce sont les androgènes qui sont majoritaires.

Une réversion de sexe (femelle --> mâle) peut être obtenue en injectant *in ovo* avant le 5ème jour d'incubation du fadrozole, un inhibiteur de l'aromatase. Les animaux sont alors hétérogames (des femelles génétiquement), mais possèdent 1 ou 2 testicules (Baéza, E., Brillard, J.P 2005). Une forte concentration d'aromatase permet donc le développement d'ovaires, même chez un oiseau génétiquement mâle, c'est-à-dire homogamétique. Au contraire, chez un animal n'ayant pas assez d'aromatase, ce sont des testicules qui se développeront quels que soit ses chromosomes sexuels (Lambeth et al. 2016).

Cependant, plus tardivement au cours du développement embryonnaire, ces gonades deviennent insensibles à l'influence de cette hormone (Lambeth et al. 2016).

1.2.2.1.2 Dimorphisme sexuel embryonnaire

A 30h de développement embryonnaire, les mâles sont à un stade de développement plus avancé et ont une activité de transcription plus élevée que les femelles, cette différence disparaissant ensuite vers 50h. En effet, comme dès le début de l'embryogenèse il n'y a pas de compensation de dosage des chromosomes sexuels, la quantité de transcription au niveau des chromosomes sexuels est plus

importante chez le mâle. C'est le cas pour dix gènes portés par le chromosome Z et surexprimés chez le mâle qui participent au métabolisme des sucres (dont le cycle principal est la néoglucogenèse) et des acides gras, ainsi qu'aux cycles énergétiques cellulaire et mitochondrial dès les stades embryonnaires les plus précoces. A 25h d'incubation, les embryons mâles grandissent donc plus vite que les femelles (Tagirov, Golovan 2015). En conclusion, les différences phénotypiques retrouvées chez les jeunes embryons seraient dues à une non-compensation de dosage du chromosome Z, qui entrainerait une expression plus élevée de gènes stimulant le cycle cellulaire (Tagirov, Golovan 2015).

Ceci suggère que des prémices du dimorphisme sexuel s'établissent très tôt lors du développement.

Une réversion de sexe avant le 5^{ème} jour influence la typologie et la croissance des muscles qui se développent avant l'éclosion, comme le muscle Sartorius, mais les muscles se développant plus tardivement ne sont pas modifiés (Baéza, E., Brillard, J.P 2005).

1.2.2.2 A l'éclosion

Généralement, les différences morphologiques sont infimes, avec l'absence de caractères sexuels secondaires visibles et un poids identique à l'éclosion (Jacob, Mather 2000).

Il existe cependant des exceptions comme la longueur des rémiges (ou plumes des ailes) primaires et secondaires chez certaines races qui est utilisée pour le sexage dans les filières industrielles. En effet, le locus K porté par le chromosome Z contrôle la vitesse d'emplumement des ailes. Il possède deux allèles, K*N (emplumement rapide) et K*K (emplumement lent). L'allèle dominant est K*K. Si la mère est hémizygote K*K, et le père homozygote K*N/K*N, les poussins mâles seront hétérozygotes K*N/K*K et donc à emplumement lent et les femelles K*N et donc à emplumement rapide.

Ainsi, les femelles auront une de leurs rangées de plumes (les primaires) qui seront déjà plus longues à l'éclosion que l'autre (les plumes de couverture). Au contraire, les deux types de plumes sont quasiment de la même longueur chez le mâle comme le montre la figure ci-dessous.



Figure 6: Dimorphisme sexuel à l'éclosion permettant le sexage. A gauche : femelle ayant les rémiges primaires plus longues que les secondaires, ou plumes de couverture. Au centre : mâle ayant les rémiges primaires plus courtes que les rémiges secondaires. A droite : mâle ayant toutes les plumes de la même longueur. Extrait de Ross broiler management handbook 2018 (Aviagen 2018).

D'autres croisements peuvent mener à des couleurs de duvet spécifiques de chaque sexe. C'est le cas de la mutation B*B, pour barrure liée au sexe, où les mâles homozygotes B*B ont une tache blanche sur la tête que les femelles hémizygotés B*B n'ont pas.

La visualisation de caractères dimorphiques présents chez l'embryon est une piste de recherche aujourd'hui pour permettre un sexage dans l'œuf. Cela éviterait la destruction des poussins mâles d'un jour dans la filière ponte par exemple.

Le dimorphisme sexuel à la naissance ne permet donc pas de prédire celui des adultes.

1.2.2.3 Développement du dimorphisme sexuel de taille

A l'âge adulte, chez des poulets de chair de lignée Ross de 50 jours, le mâle pèse 3,4 kg, contre 2,9 kg pour la femelle (Rondelli et al. 2003).

Une telle différence se vérifie dans 139 races différentes, avec des mâles en moyenne 1.22 fois plus lourds que les femelles (Remeš, Székely 2010).

Les mâles ont un meilleur indice de conversion alimentaire, ce qui peut s'expliquer par un démarrage plus tardif du dépôt de graisse, avec un dépôt de gras abdominal, intra et intermusculaire plus faible que les femelles (Rondelli et al. 2003).

A l'inverse, les mâles ont une masse musculaire plus développée, avec une carcasse, des filets, des gésiers, des ailes, des pattes et un foie plus lourds que les femelles à l'abattage (Johnson 1988; Benyi et al. 2015; Rondelli et al. 2003).

1.2.2.3.1 Apparition du dimorphisme de taille

Le dimorphisme sexuel de taille en faveur du mâle peut se mettre en place de trois manières différentes : les mâles peuvent être plus gros que les femelles dès la naissance, la durée de croissance des mâles peut être plus longue, ou le GMQ des mâles peut être plus important (Renard 2008). Chez *Gallus gallus domesticus*, les deux sexes ont le même poids à la naissance. La figure ci-dessous montre que le GMQ des mâles est plus important que celui des femelles (Johnson 1988).

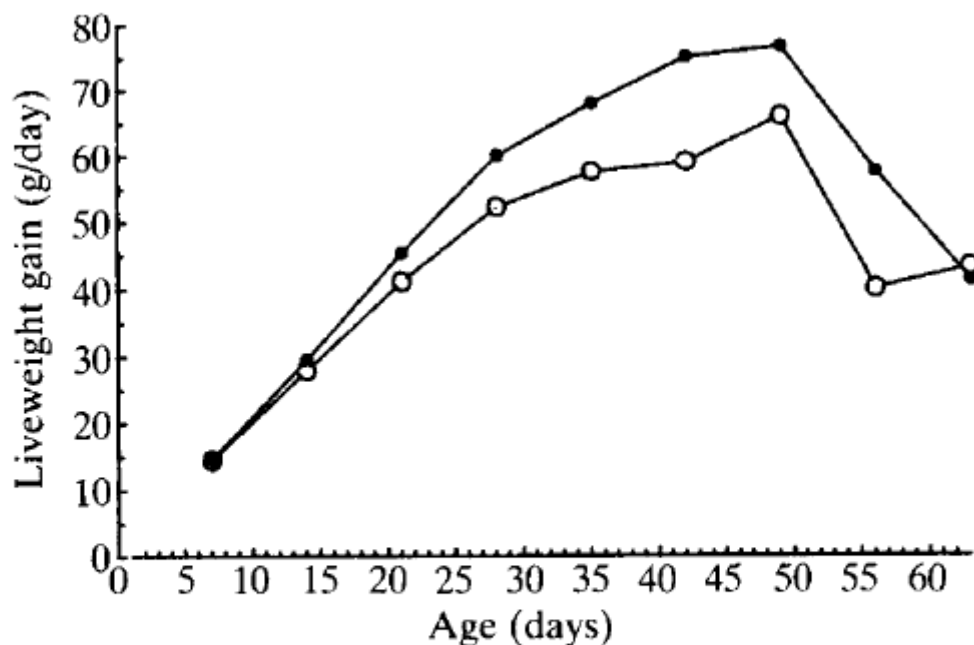


FIGURE 1. Liveweight gain of male (●) and female (○) broiler chickens from two commercial strains from 1 to 63 days of age.

Figure 7: dimorphisme sexuel du GMQ de poulets de chair entre 0 et 2 mois. Extrait de Johnson, Diminution of pulsatile growth hormone secretion in the domestic fowl (*Gallus domesticus*): evidence of sexual dimorphism (Johnson 1988).

Selon d'autres auteurs, le dimorphisme sexuel de taille chez le coq doré serait expliqué à la fois par un plus fort GMQ des mâles, mais également par une durée de croissance plus longue (Parker, Garant 2005).

Les traits liés à la taille du corps sont fortement corrélés entre eux car si l'un d'entre eux est sélectionné, les autres co-évoluent généralement de la même manière (Parker, Garant 2005; Baéza, E., Brillard, J.P 2005; Jacob, Mather 2000).

Ces différences semblent être causées par une variation du niveau de sécrétion de GH selon le sexe de l'animal à partir de 7 jours d'âge. Cette hormone agit sur la synthèse protéique : elle pourrait jouer un rôle dans le taux de croissance supérieur des mâles ainsi que dans les différences musculaires observées. Une perturbation des hormones stéroïdiennes affectera aussi la croissance (Johnson 1988).

Les hormones sexuelles ne semblent pas avoir d'influence sur l'apparition du dimorphisme sexuel de taille (Lambeth et al. 2016).

1.2.2.3.2 Influence de la domestication

La différence de poids entre mâles et femelles d'une même espèce, mesurée par l'Index de Dimorphisme Sexuel (IDS), n'a pas été modifiée par la domestication mais elle l'a été par la sélection, comme par exemple chez la dinde. Les espèces sauvages ont généralement une plus grande hétérogénéité d'IDS, avec une valeur extrême pour le coq doré chez qui le mâle pèse 1.7 fois plus que la femelle (Fairbairn et al. 2007).

La règle de Rensch (Rensch 1950) définit une relation allométrique entre le poids corporel des femelles et celui des mâles. Cette relation est la suivante : avec l'augmentation du poids corporel de l'espèce, le dimorphisme sexuel de taille en faveur du mâle augmente et le dimorphisme en faveur des femelles diminue.

Cette règle est bien étudiée et valable dans de nombreux taxons mais des exceptions existent, particulièrement lorsque la femelle est plus grosse que le mâle.

La cause de cette relation allométrique n'est pas encore bien comprise, et de nombreuses hypothèses ont été formulées. La plus solide est une sélection sexuelle qui conduit le sexe le plus influencé (souvent le mâle) à une évolution de son poids corporel, sans que l'autre sexe soit soumis à la même intensité de pression évolutive.

Cette règle a été étudiée sur des populations animales sauvages (faisan, coq doré, etc), mais elle ne s'applique pas au poulet domestique (Remeš, Székely 2010). En effet, lors de la sélection effectuée par l'Homme à des fins zootechniques, les facteurs qui font d'un animal un reproducteur ne sont pas les mêmes qu'en milieu sauvage (GMQ, intensité de ponte, ...). De plus, la compétition entre mâles est faible voire inexistante dans les populations d'élevage : la sélection sexuelle n'existe

presque plus. Il a aussi été démontré que la direction et l'intensité de sélection de traits communs aux deux sexes aurait tendance à augmenter le dimorphisme sexuel (Cox, Calsbeek 2009). Or, en captivité, on recherche une homogénéité d'évolution de ces traits.

1.2.2.4 Développement des caractères sexuels secondaires

1.2.2.4.1 Description des caractères sexuels secondaires

Chez les oiseaux, le sexe qui est soumis à une compétition intrasexuelle est souvent de plus grande taille et possède plus d'ornements. C'est donc le coq qui est concerné chez *Gallus gallus*.

De façon assez schématique, le mâle (Jacob, Mather 2000; Leonard, Zanette 1998):

- est plus gros
- a une crête et des oreillons plus développés
- a une crête rigide et qui reste dressée alors que celle de la femelle peut tomber d'un côté chez les races à crête simple
- possède des ergots à chaque patte, absents chez la poule
- a un chant différent de la poule
- a une couleur de plumage plus variée et plus vive
- a les plumes de la queue plus longues et plus dressées
- a des plumes de couverture sur le dos que ne possède pas la poule.

Les différences morphologiques sont visibles sur la figure ci-dessous.

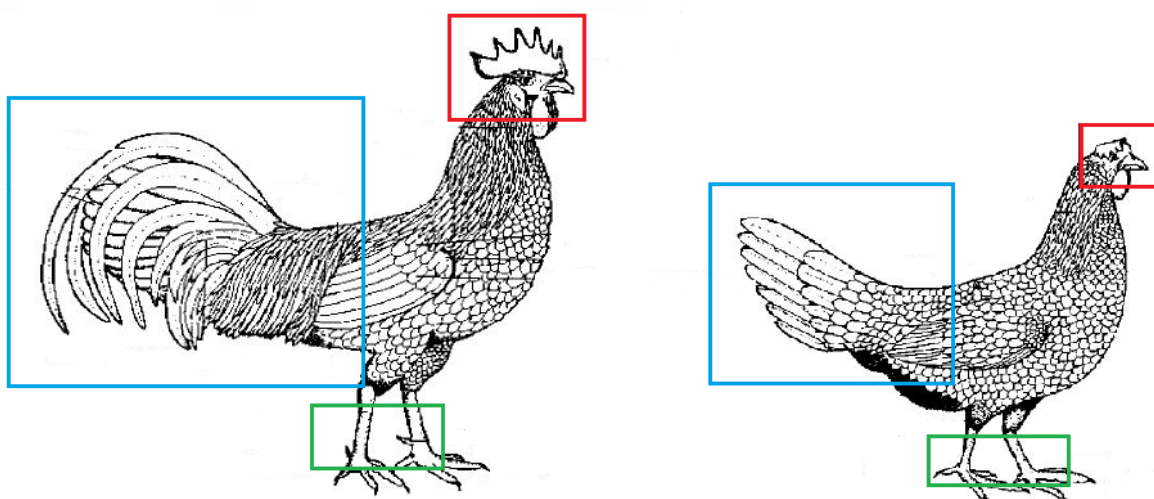


Figure 8: Différences morphologiques visibles entre le coq et la poule. Encadrés respectivement en rouge, bleu et vert : Dimorphisme sexuel de la crête, de la queue et des ergots. Inspiré de Jacob et Mather, Capons (Jacob et Mather, 2000).

Il existe toutefois de nombreuses races de poules très différentes, et, pour certaines, un ou plusieurs points évoqués ci-dessus ne sont pas exacts.

1.2.2.4.2 Apparition des caractères sexuels secondaires

L'apparition des caractères sexuels secondaires est contrôlée majoritairement par les hormones sexuelles qui jouent un rôle prépondérant. Les androgènes sont produits par les testicules et les cellules médullaires des ovaires. Ils seront ensuite convertis en œstrogènes grâce à la présence d'aromatases chez la femelle (Sturkie 2012).

Cependant, la pousse des ergots n'est déterminée que par le sexe génétique de l'animal. Des caractères comme celui-ci, qui se développent indépendamment des profils hormonaux de l'animal, montrent qu'une partie de la différenciation sexuelle des cellules est autonome : quel que soit le contexte dans lequel est placée la cellule, elle exprimera toujours des caractéristiques spécifiques à un sexe (Sturkie 2012; Jacob, Mather 2000; Lambeth et al. 2016; Zhao et al. 2010; Tagirov, Golovan 2015).

Un des caractères sexuels secondaires dépendant de la concentration d'hormones sexuelles est la crête. En effet, la maturité sexuelle de l'animal et le développement de sa crête sont étroitement liés dans les deux sexes (Joseph et al. 2003; Yoshioka et al. 2010). La croissance de la crête et des caroncules est contrôlée par les concentrations sanguines d'androgènes principalement, ces appendices étant beaucoup moins sensibles aux œstrogènes. La concentration de testostérone est plus faible chez la femelle, qui a donc des appendices plus petits. Elle est maximale 3-4 semaines avant l'entrée en ponte chez les pondeuses, et diminue ensuite. Il y a donc, annuellement, une augmentation de taille de la crête lors de l'entrée en ponte, puis une régression lorsque celle-ci est terminée.

La sensibilité de la crête à la production d'androgènes diffère selon les races. La Leghorn blanche y est 15 fois plus sensible que la Rhode-Island rouge, et a par conséquent une crête plus grande, comme le montrent les photos ci-dessous (Joseph et al. 2003; Sturkie 2012).



Photographie 2: Comparaison de la taille de la crête de deux races sélectionnées pour la ponte. Rhode Island rousse (à gauche). Extrait de Le Monde (Le Monde.fr 2011). Leghorn blanche (à droite). Extrait d'Odisha News Insight (Dr. Purna Chandra Mahapatra 2015).

La féminisation du plumage est liée à la production d'œstrogènes qui agissent sur le follicule plumeux, selon des mécanismes encore peu connus (Valdez et al. 2010; Lambeth et al. 2016). *MC1R* et *ASIP* sont deux gènes majeurs de la pigmentation des poulets qui semblent impliqués dans le dichromatisme du plumage. En effet, il existe une corrélation positive entre la force de sélection s'exerçant sur *MC1R* et le degré de dichromatisme sexuel des différentes espèces de galliformes (Nadeau et al. 2007). Quant à *ASIP*, il semble jouer un rôle majeur dans le contrôle du dichromatisme sexuel chez le poulet (Oribe et al. 2012). Le rôle de ces gènes sera abordé plus en détail dans la partie ci-dessous.

1.3 Le plumage chez *Gallus gallus*

1.3.1 Structure du plumage

1.3.1.1 Anatomie d'une plume

La plume est une production tégumentaire constituée de kératine spécifique des oiseaux. Comme les poils ou les ongles, les plumes sont des phanères.

Elle est composée d'un axe central sur lequel s'insèrent les différentes structures de la plume.

Cet axe central se divise en deux régions :

- La région proximale est appelée calamus, ou hampe. C'est un cylindre creux très kératinisé, correspondant à la partie germinative née dans une invagination épidermique. Il est ouvert aux deux extrémités.
- La région distale est le rachis. C'est un cylindre plein situé dans la continuité du calamus. Il constitue la plus grande partie de l'axe central de la plume. C'est le rachis qui porte les barbes.

La plume compte trois niveaux d'organisations : l'étendard, les barbes et les barbules comme le montre le schéma ci-dessous (Beaumont et al. 2009).

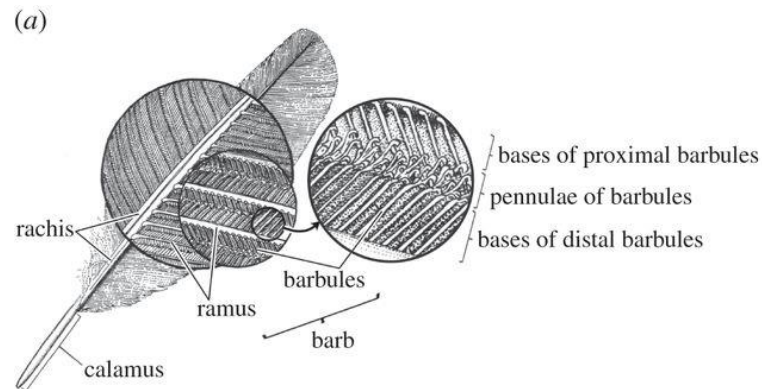


Figure 9: Structure d'une plume. Extrait de Harvey et al., Directional reflectance and milli-scale feather morphology of the African Emerald Cuckoo, *Chrysococcyx cupreus* (Harvey et al. 2013).

- L'étendard, ou vexille : c'est la partie plane de la plume, partagée en deux parties par le rachis. Il est constitué de barbes, qui sont des lames insérées de manière oblique de part et d'autre de l'axe.
- Les barbes : Elles ont un axe central, ou branche (ramus sur la figure 10), sur lequel s'insèrent les barbules, réparties sur les faces proximale et distale.
- Les barbules : les barbules distales portent des crochets, ou barbicelles, qui assurent la cohésion de la plume lors du vol, en se liant avec les barbules proximales lisses de la barbule voisine, comme le montre le schéma ci-dessous (Beaumont et al. 2009).

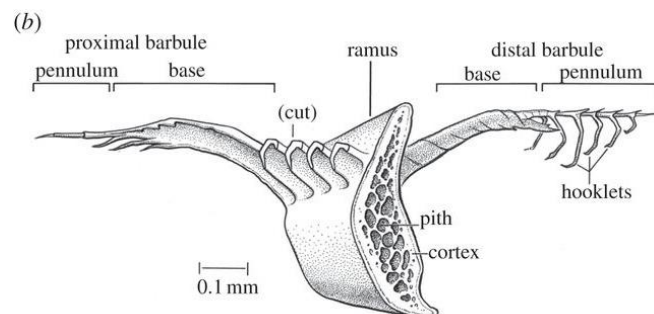


Figure 10: Structure d'une barbule proximale (à gauche) et distale (à droite). Extrait de Harvey et al., Directional reflectance and milli-scale feather morphology of the African Emerald Cuckoo, *Chrysococcyx cupreus* (Harvey et al. 2013).

La plume a deux axes de symétrie :

- L'axe antéro-postérieur

Les plumes peuvent être à symétrie bilatérale, comme la plume à droite de la figure ci-dessous, ou à symétrie radiale, comme la plume de gauche.

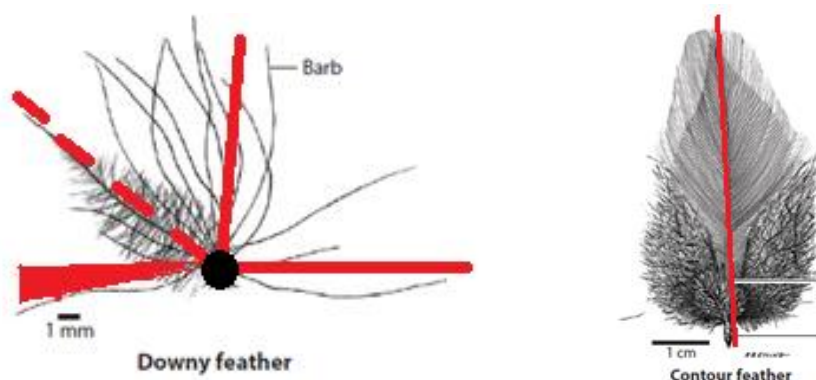


Figure 11: Plumes à symétrie radiale (à gauche) ou bilatérale (à droite). En rouge : axes de symétrie. En noir : centre de symétrie. A gauche : symétrie radiale représentée en 3D, inspiré de la représentation de Cram. Inspiré de Chen et al., Development, regeneration, and evolution of feathers (Chen et al. 2015).

- L'axe proximal-distal

Les caractéristiques de l'axe proximal-distal sont définies par l'implantation des barbes, la longueur et la largeur de la plume, etc. Les caractéristiques de cet axe diffèrent énormément selon le type de plumes. Pour reprendre l'exemple précédent, la plume de gauche est par exemple plus courte et plus large que la plume de droite (Chen et al. 2015).

1.3.1.2 Diversité des plumes

Les trois niveaux d'organisation ainsi que les deux axes de symétrie permettent une grande diversité structurelle des plumes, qui auront des morphologies très différentes selon leur fonction, comme le montre la figure ci-dessous.

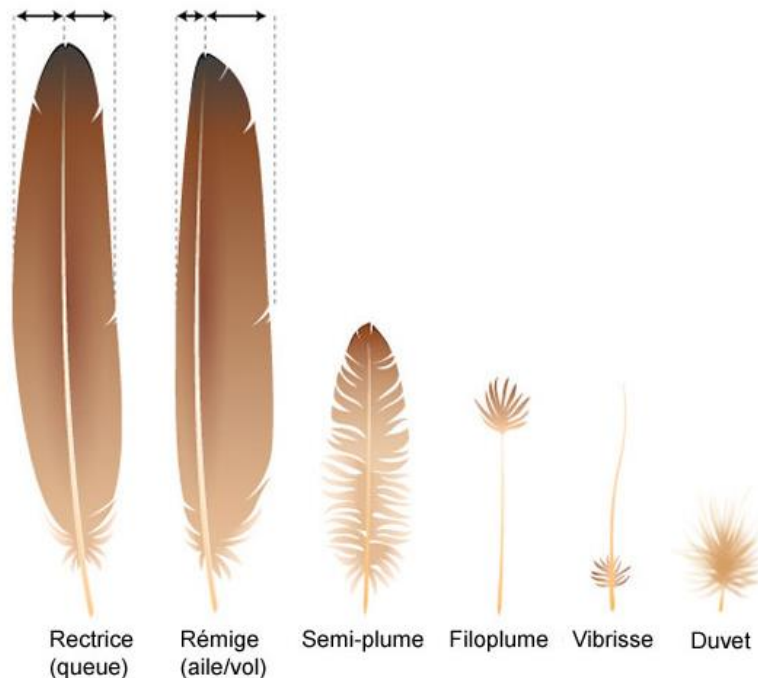


Figure 12: Morphologie des plumes. Extrait d'Arizona University State (Deviche 2009).

2 grands groupes de plumes existent :

- Les plumes de contour

Aussi appelées pennes, elles regroupent les rectrices (situées sur la queue) et les rémiges (situées sur les ailes). Ce sont les plumes les plus longues, celles qui sont visibles en premier sur le plumage. Les rectrices sont symétriques, au contraire des rémiges qui sont des plumes asymétriques: le rachis partage l'étendard en deux parties inégales pour améliorer l'aérodynamisme lors du vol (Beaumont et al. 2009).

Les filoplumes se forment sur la paroi latérale du follicule des plumes de contour, elles sont donc dans les mêmes zones du plumage. Leur base est particulièrement bien innervée. Elles permettent à l'oiseau de remettre ses plumes en place lors de sa toilette. Elles sont constituées d'un rachis filiforme, avec quelques barbes à son extrémité (Beaumont et al. 2009).

- Les plumes de couverture

Aussi appelées tectrices, elles désignent le duvet, les semi-plumes et les vibrisses. Les semi-plumes facilitent la pénétration dans l'air et sont donc essentielles au vol. Le duvet joue un rôle d'isolation thermique, en emprisonnant une couche d'air entre les barbes et les barbules. La structure du duvet est peu variable: dans tous les cas, ce sont des plumes à symétrie radiale constituées d'une touffe de barbes s'insérant directement sur le calamus (rachis absent ou très court). Les barbules sont lisses et

plus développées à la base de chaque barbe. Elles sont situées sous les plumes de contour (Beaumont et al. 2009).

Les vibrisses sont des plumes tectrices modifiées disposées sur le front, la commissure des yeux et le coin du bec (Beaumont et al. 2009).

Il existe enfin des plumes qui ont un rôle dans la sélection sexuelle, comme les faucilles, le bouquet d'oreille (groupe de plumules qui protège le conduit auditif) et les lancettes (plumes qu'on ne retrouve que sur le dos du coq).

Les différentes plumes visibles au premier abord sont détaillées sur le schéma ci-dessous.

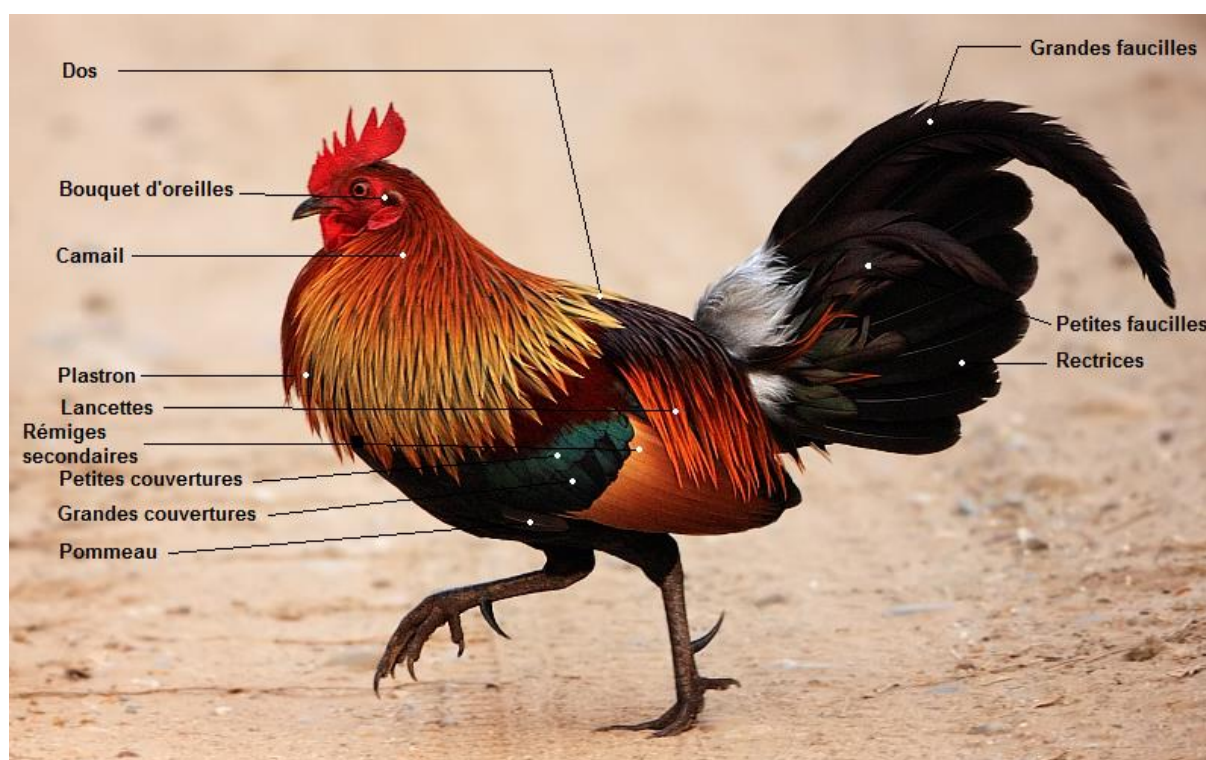


Figure 13: Nom usuel des plumes de contour et des parties du plumage d'un coq. Plumes de l'aile : rémiges secondaires, petites et grandes couvertures, pommeau. Les rémiges primaires ne sont pas indiquées car elles sont sous les rémiges secondaires lorsque l'aile est repliée. Plumes de la queue : grandes et petites faucilles, rectrices. Image extraite de Wikimedia Commons (Subramanya 2012). Légende extraite de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (Coquerelle 2000).

1.3.2 Morphogenèse du plumage

1.3.2.1 Mise en place des différentes parties du plumage

Le pattern cutané commence à se former à partir de 6.5 jours d'embryogenèse.

Il faut distinguer les aptéries qui sont les régions du corps ne portant pas de plumes (ou simplement du duvet), et les ptérylies ou ptéryles, qui sont les régions où les plumes sont présentes. Ces régions sont définies lors de l'embryogenèse, et leur localisation restera identique tout au long de la vie de l'animal : des plumes ne pousseront pas spontanément sur les aptéries.

Les caractéristiques de chaque ptéryle dépendent de l'origine embryogénique du derme (WIDELITZ et al. 2003).

Il existe un ptéryle par région corporelle : le ptéryle spinal (ensemble de plumes de la région occipitale à la queue), le ptéryle fémoral (ensemble de plumes sur le segment proximal de la patte), ...

La figure ci-dessous décrit la disposition de ces ptéryles.

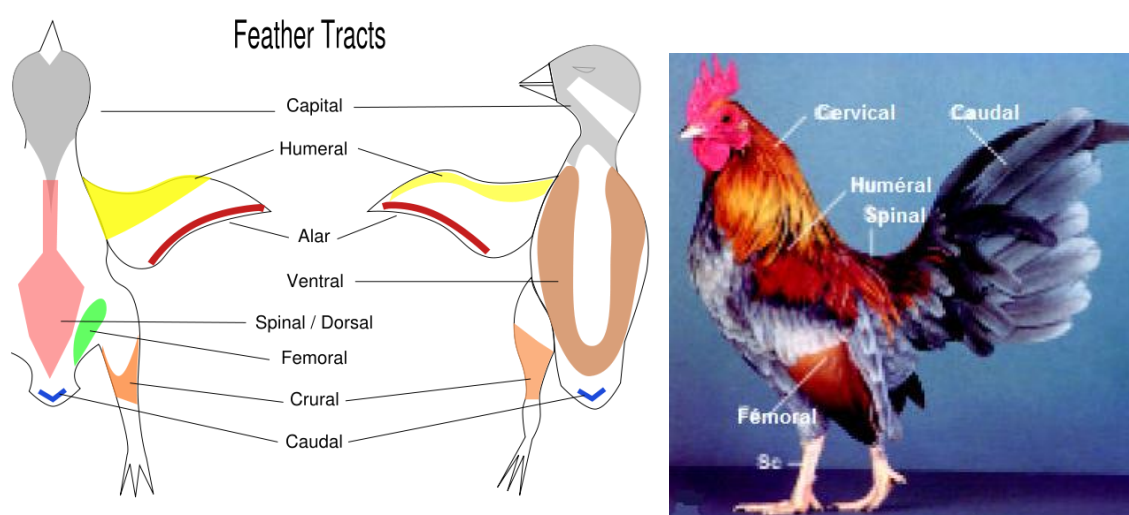


Figure 14: A gauche : schéma des différents ptéryles. Extrait de Wikimedia Commons (Shyamal 2007). A droite : Photo de certains ptéryles visibles sur un coq. Extrait de Yu et al., the developmental biology of feather follicles (Yu et al. 2004a).

Pendant l'embryogenèse, le pattern des différentes régions n'est pas fixé et interchangeable, mais est la résultante d'une compétition entre ptéryles pour la colonisation de l'espace disponible.

Par exemple, le ptéryle spinal est dérivé du dermatome⁵ médial des somites⁶. La suppression du dermatome d'un somite entraînera une diminution de taille de ce

⁵ Le dermatome est « l'ensemble de cellules constituant la partie dorsale de chaque somite, qui, à la suite d'une migration, vont former le derme de la peau » (*Encyclopédie Larousse en ligne - dimorphisme sexuel* [sans date]).

ptéryle. Il y aura alors une augmentation de taille des ptéryles fémoraux pour coloniser l'espace libre (WIDELITZ et al. 2003).

Autour de chaque plume, une zone d'inhibition concentrique inhibe la pousse de tout autre bourgeon plumeux. Les plumes de chaque ptéryle s'étendent sur une ligne primaire, puis de nouveaux follicules plumeux apparaissent de part et d'autre de cette ligne, et les zones d'inhibition se déplacent latéralement au fur et à mesure de la croissance du ptéryle.

L'étude de la mutation Cou Nu a révélé une différence de régulation de l'implantation des plumes en fonction de la région du corps, principalement entre le cou et le dos (Mouet al., 2011).

1.3.2.2 Formation d'une plume

1.3.2.2.1 Structure du bourgeon plumeux

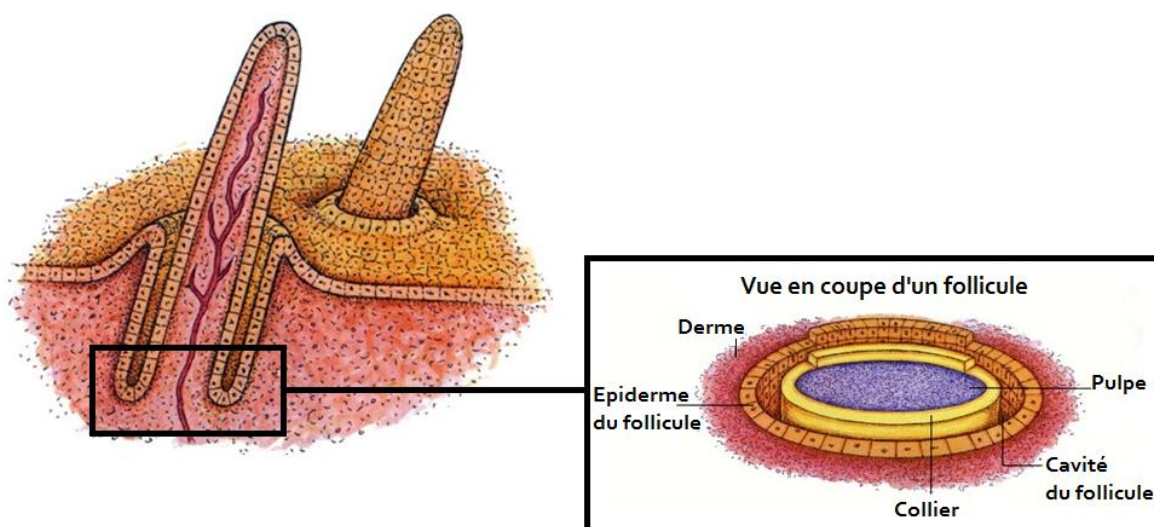


Figure 15: Schéma d'une plume en croissance. Structure détaillée de la région de multiplication (à droite). Extrait de Prum et Brush, Which Came First, the Feather or the Bird? (Prum, Brush 2014).

A la base d'une plume se trouve une invagination dans l'épiderme, appelée follicule plumeux. La paroi de ce follicule, formée à partir de l'épiderme, comprend 3 couches : la couche germinative, la couche intermédiaire et la couche cornée. Elle est représentée par une couche unique de cellules marron sur le schéma ci-dessus.

⁶ Les somites sont des structures embryonnaires d'origine mésodermique situées de part et d'autre du tube neural et de la corde et composées d'unités répétées.

Le bourgeon plumeux, ou plumaire, est la formation embryonnaire de la plume, séparée de la paroi (ou épiderme) du follicule par une cavité, comme on peut le voir sur le schéma ci-dessus.

Sa paroi ayant également une origine épidermique, elle est répartie en 3 couches. La plus externe est une structure qui va se kératiniser pour former la gaine de la plume. Elle protège la plume lors de sa croissance. A l'extrémité proximale du bourgeon, les deux autres couches, intermédiaire et germinative, forment le collier épidermique, un anneau en 3D visible sur la coupe ci-dessus.

Le collier est séparé en deux régions : au niveau proximal se trouve le bulbe du collier, qui est le siège de la multiplication cellulaire et au niveau distal la zone ramogénique, siège de la différenciation (Yu et al. 2004b). Le bulbe du collier contient les précurseurs des kératinocytes et des mélanocytes.

Plus distalement, ils formeront les structures de la plume : rachis, barbes, etc., comme le montre le schéma ci-dessous représentant un bourgeon plumeux plus mature.

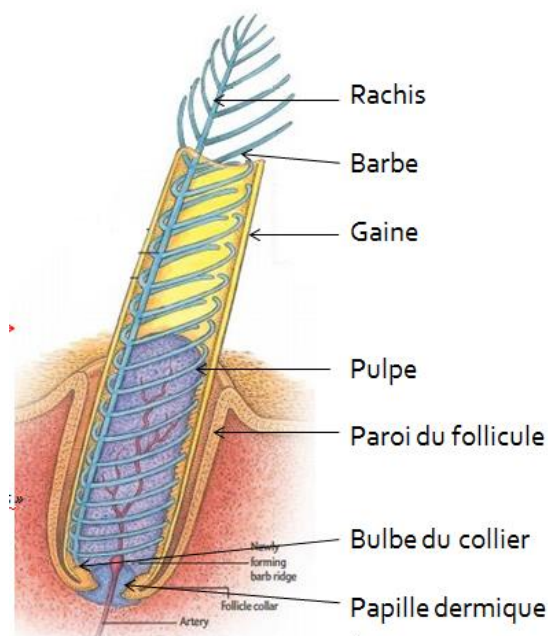


Figure 16: Structure détaillée de la plume en croissance. Bulbe du collier : réserve de mélanoblastes. Extrait de Couteaudier et Denesvre, le virus de la maladie de Marek et ses interactions avec la peau (Couteaudier, Denesvre 2014).

A l'interface follicule/derme se trouve la papille dermique, en forme de sablier. La pulpe, représentée en bleue sur le schéma, est issue de cette papille dermique. Elle est formée de mésenchyme, et est donc composée d'une matrice extracellulaire

(contenant par exemple de la fibronectine et de la laminine) et de fibroblastes, ainsi que de nombreux vaisseaux sanguins et des nerfs : elle est responsable de la vascularisation et de l'innervation du bourgeon plumeux.

1.3.2.2.2 Formation du bourgeon plumeux

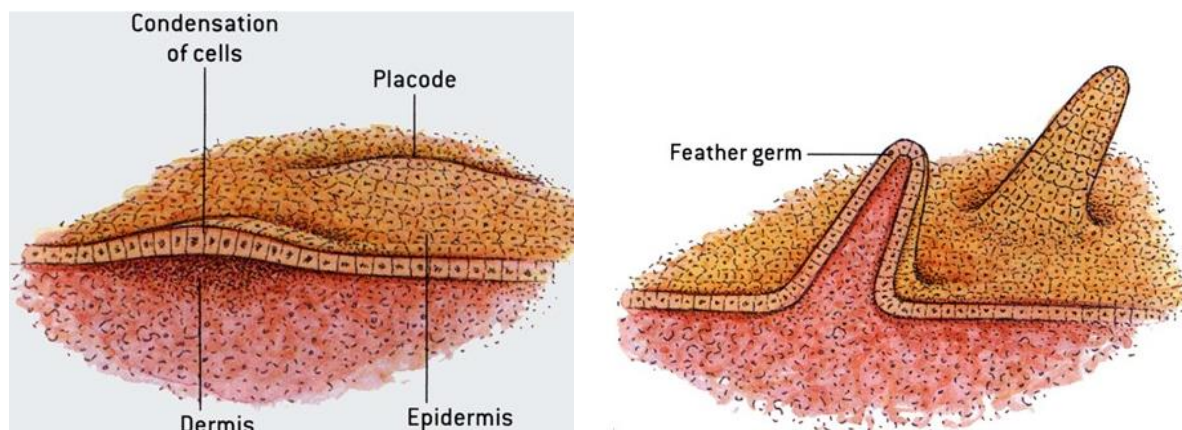


Figure 17: formation du follicule plumeux. Extrait de Prum et Brush, Which Came First, the Feather or the Bird? (Prum, Brush 2014).

Comme l'illustre le schéma ci-dessus, la plume naît à partir d'un bourgeon épidermique, ou placode. L'origine de la multiplication des cellules épithéliales est tout d'abord distale, puis elle devient proximale au cours de la croissance.

Le bourgeon va s'allonger en un cylindre épidermique oblique en suivant l'axe rostral-caudal, tout en entourant la pulpe. Il va ensuite s'enfoncer progressivement par sa base sous la surface de la peau, en entraînant l'épiderme : cette invagination permet la formation du follicule plumeux et entraîne la formation de la cavité folliculaire (Chen et al. 2015).

Ces étapes sont communes à toutes les plumes, puis la différenciation diffère ensuite suivant la structure finale de la plume. La différenciation d'une plume de contour sera prise en exemple ci-dessous.

- Formation des barbes

La structure finale de la plume dépend de l'orientation du collier. Il sera oblique avec un angle de 60° en moyenne pour une plume de contour, comme sur le schéma ci-dessous.

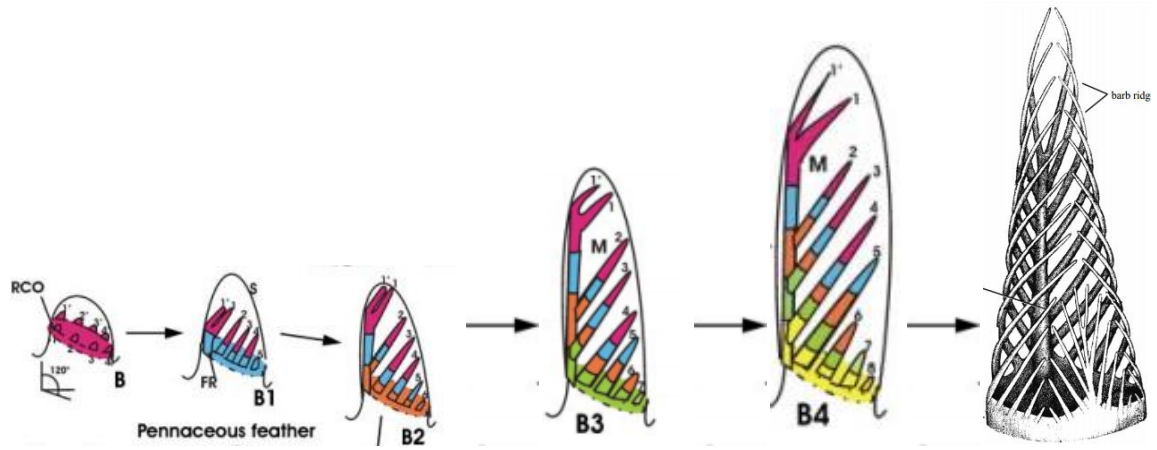


Figure 18: Croissance d'une plume de contour. Les couleurs représentent les épisodes de croissance de la plume au cours du temps. Du plus ancien au plus récent: mauve, bleu, orange, vert, jaune. S=gaine de la plume, RCO= zone ramogénique, M=marginal plate. Extrait d'Alibardi, follicular patterns during feather morphogenesis in relation to the formation of asymmetric feathers, filoplumes and bristles. Extrait de Prum et Williamson, reaction-diffusion models of within-feather pigmentation patterning (Alibardi 2009; Prum, Williamson 2002).

Au niveau du bulbe du collier, des lignes de cellules vont proliférer longitudinalement. Dans la zone ramogénique, chaque file de cellules épithéliales va commencer à se différencier pour devenir soit une crête barbaire soit l'ébauche du rachis.

Au fur et à mesure de la croissance de la plume, les crêtes barbares vont s'insérer en demi-cercle oblique sur l'ébauche du rachis. L'angle du collier est nécessaire à l'insertion de chaque crête barbaire sur l'ébauche du rachis.

Tant que la plume ne s'est pas déployée, les barbes auront une disposition hélicoïdale sous la gaine, leurs extrémités se rejoignant le long d'une ligne médio-ventrale.

Au contraire, pour une plume de duvet, le collier sera parallèle à la peau car les crêtes barbares ne s'insèrent pas sur le rachis, mais seulement sur un calamus très court, comme le montre le schéma ci-dessous.

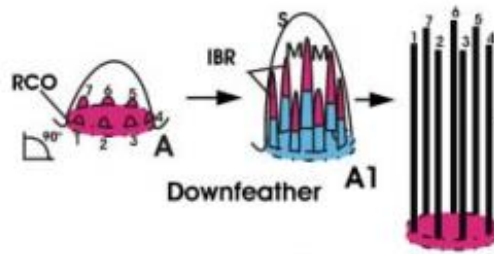


Figure 19: Croissance d'une plume de duvet. Les couleurs représentent les épisodes de croissance de la plume au cours du temps. Du plus ancien au plus récent: mauve, bleu. RCO= zone ramogénique IBR= crêtes barbares. Extrait d'Alibardi, follicular patterns during feather morphogenesis in relation to the formation of asymmetric feathers, filoplumes and bristles. Extrait de Prum et Williamson, reaction–diffusion models of within-feather pigmentation patterning (Alibardi 2009; Prum, Williamson 2002).

- Différenciation des barbes

Cette différenciation a lieu parallèlement à la croissance des barbes.

Une crête barbare est formée à partir de cellules épithéliales. Elle est composée:

- Des crêtes barbulaires, représentées en vert ci-dessous, qui donneront ensuite les barbules. Elles apparaissent de manière centripète et vont se différencier pour produire les barbilles, etc.
- De la branche du rachis sur laquelle s'insèrent les barbules, en gris sur le schéma. C'est une des dernières structures formées.
- De trois structures de soutien :
 - Une structure centrale à la crête barbare, présente entre les crêtes barbulaires. Elle dégénérera une fois la kératinisation des barbes et des barbules terminées. Cela permettra l'individualisation des barbules les unes par rapport aux autres (Yu et al. 2002).
 - Deux structures latérales représentées en rouge, qui séparent les crêtes barbares les unes des autres. Elles dégénéreront une fois la kératinisation des barbes et des barbules terminées. Cela permettra l'individualisation des barbes les unes par rapport aux autres (Yu et al. 2002).

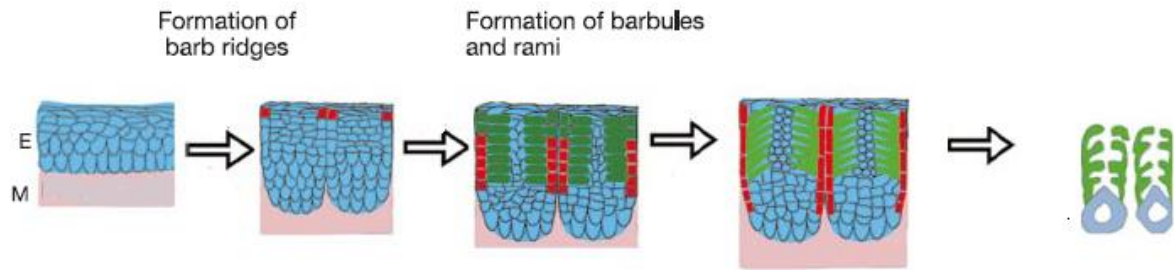


Figure 20: Croissance d'une crête barbare. En bleu: cellules épithéliales, en rose : pulpe de la plume, en rouge : structure de soutien, en vert et jaune: crêtes barbulaires. Jaune : les plus anciennes, vert : les plus récentes. Extrait de Yu et al., *the morphogenesis of feathers* (Yu et al. 2002).

Lors de l'émergence du cylindre plumaire, la gaine plumaire se déchire et la plume apparaît. La croissance de la plume continuera encore pendant un certain temps.

1.3.3 Cyclicité du plumage

1.3.3.1 Mécanismes généraux

Lorsque la plume est en croissance, elle est dite en phase « anagène ».

Lorsque la croissance de la plume est terminée, la pulpe va dégénérer et le calamus ne sera plus qu'une structure kératinisée morte, sans innervation ni vascularisation comme le montre le schéma ci-dessous. La papille dermique va rentrer en phase de repos. Les précurseurs des kératinocytes et des mélanocytes migreront du bulbe du collier jusqu'à la partie dorsale de la papille ectodermique, où la prolifération sera maintenue à son niveau basal. Cette phase est dite « catagène ».

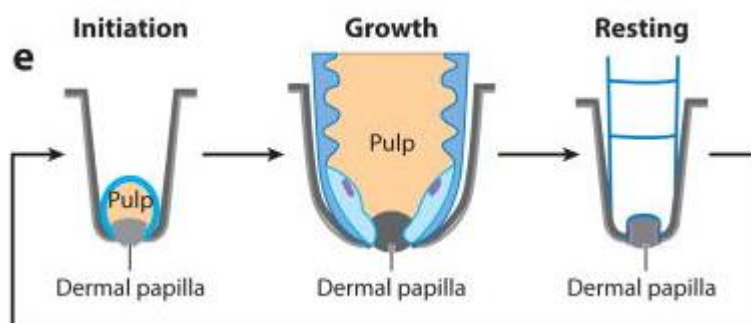


Figure 21: Activité cyclique du follicule plumeux. Extrait de Chen et al., *development, regeneration, and evolution of feathers* (Chen et al. 2015)

La plume est alors maintenue dans le follicule plumeux par des muscles, jusqu'à sa chute lors de la prochaine mue, où elle est expulsée du follicule plumeux par la pousse d'une nouvelle plume (Beaumont et al. 2009). Cette phase est dite « télogène ».

En moyenne, une plume arrachée émergera du calamus en deux semaines (Yu et al. 2004b), mais la vitesse de pousse dépend du type de plume. Par exemple, une rémige arrachée repousse à une vitesse de 0,5 cm/jour (Yu et al. 2002).

Les durées du cycle de chaque type de plume sont décrites dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1: Longueur du cycle des plumes de différents ptéryles. Extrait de Yu et al., the developmental biology of feather follicles (Yu et al. 2004a).

Ptéryle	Phase anagène (jours)	Phases catagène et télogène (jours)	Longueur totale du cycle (jours)
Rémiges primaires	70	70	140
Rémiges secondaires	68	68	136
Rectrices	56	36	92
Région dorsale	52	63	115
Région du cou	26	54	80
Région dorso-cervicale	54	34	88

Pendant la phase télogène, les nouvelles plumes grandiront à partir des follicules plumeux des anciennes par reprise d'activité de la papille dermique. Par conséquence, le nombre maximal de plumes sur un individu est déterminé dès l'embryogenèse.

1.3.3.2 Avant la puberté

Chez les oiseaux, il existe plusieurs types de plumage : un plumage de poussin, un plumage juvénile, un plumage « éclipse » et un plumage nuptial. Le plumage « éclipse » facilite le camouflage. Ce dernier est observé chez le coq doré, mais à de rares exceptions près ce caractère a disparu chez le poulet domestique.

Le passage d'un plumage à un autre est appelé mue. La succession de ces différents plumages est très différente selon les espèces.

Le duvet de poussin, aussi appelé duvet néoptile, est mis en place lors de l'embryogenèse. Son niveau de développement est variable. Il peut ne recouvrir que partiellement l'animal dans les espèces nidicoles ou bien être dense dans les espèces nidifuges, ce qui est le cas chez la poule. Dans ce cas, il est similaire au duvet présent chez les adultes, le duvet téléoptile. Entre 1 et 6 semaines d'âge, le

duvet sera remplacé par le plumage juvénile lors de la première mue complète de l'oiseau.

Le plumage juvénile commence à se former dès les derniers stades embryonnaires. Il n'est constitué que de plumes de contour, le duvet sera éjecté hors des follicules plumeux au fur et à mesure de leur croissance.

Ce plumage distingue les oiseaux non matures sexuellement. Il diffère par la taille, la forme, la pigmentation et la structure (plumes moins rigides) du plumage de l'adulte, comme le montre la figure ci-dessous (Beaumont et al. 2009).

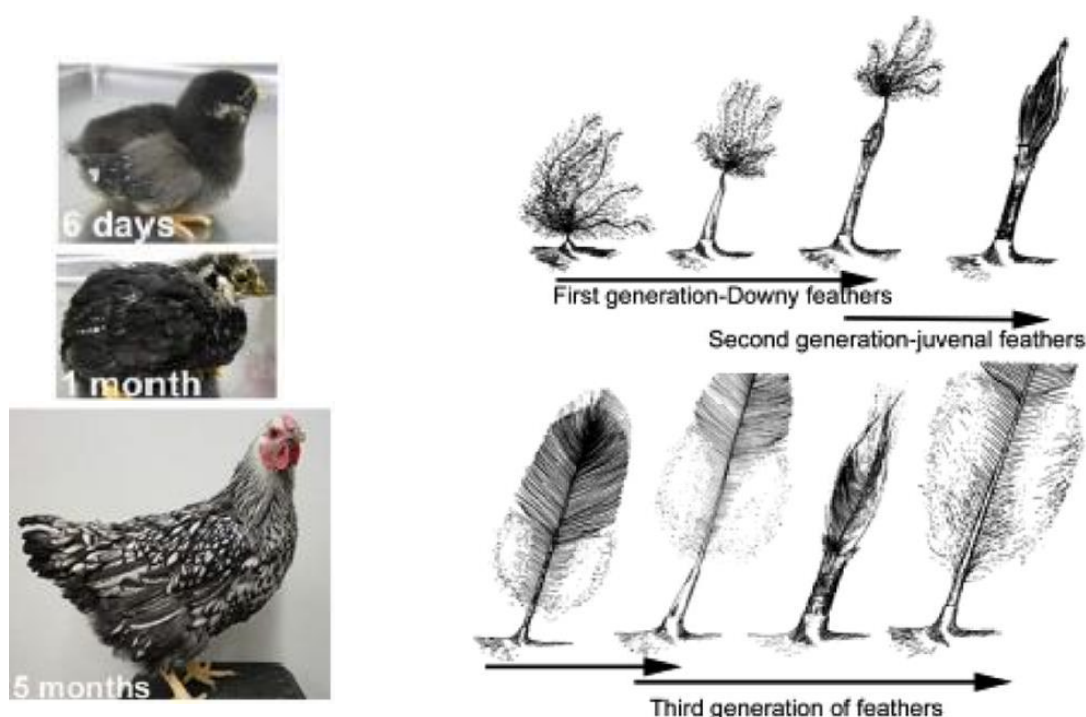


Figure 22: A gauche : duvet, plumage juvénile et plumage adulte d'un individu. Extrait de Lin et al., topology of feather melanocyte progenitor niche allows complex pigment patterns to emerge (Lin et al. 2013). A droite : Structure des plumes au cours de leur croissance en fonction de la mue. Extrait de Yu et al., the developmental biology of feather follicles (Yu et al. 2004a).

Il disparaîtra lors de l'arrivée à maturité sexuelle de l'oiseau.

Au total, une poule domestique réalisera une mue complète et trois mues partielles avant son entrée en ponte, et donc sa maturité sexuelle. La mue complète permet le passage du duvet au plumage juvénile. Les mues partielles ont lieu entre 7 et 9, 12 et 16 puis 20 et 22 semaines d'âge respectivement (Ellis 2004).

1.3.3.3 A l'âge adulte

Le coq doré est une espèce à deux mues par an. Aujourd'hui, les poules domestiques muent généralement une fois par an, parfois deux fois et rarement une

fois tous les deux ans (Ellis 2004). Les mues marquent le début et la fin de la période de reproduction, elles permettent le passage du plumage éclipse au plumage nuptial et vice-versa chez le coq doré. La mue postnuptiale intervient entre juin et septembre.

Elle est généralement partielle mais son étendue varie selon l'espèce et le sexe : Chez le coq doré, elle est plus importante chez le mâle. Les plumes dorées de son camail (et quelques-unes de la selle) seront remplacées par des plumes noires et arrondies peu brillante, sa crête sera plus petite et plus terne. Ainsi, les atouts pour la reproduction sont remplacés au profit d'un plumage facilitant le camouflage (Coquerelle 2000). Il y a également une mue chez la femelle, mais ses deux plumages sont identiques.

Les plumes sont remplacées progressivement pour que l'oiseau conserve ses capacités de vol et d'isolement thermique. Cela se déroule selon un ordre défini, spécifique à chaque espèce. Chez la poule domestique, ce sont d'abord les plumes de la tête et du camail qui sont remplacées, puis celles du dos, ensuite celles du plastron et de la poitrine, suivies de celles des ailes et enfin les plumes de la queue (Ellis 2004). Les vieilles plumes sont expulsées du follicule plumeux par la croissance des nouvelles.

Les périodes de mue sont corrélées avec des changements d'activité des axes HPA (hypothalamo-hypophyso-surrénalien), HPG (hypothalamo-pituito-gonadique), et HPT (hypothalamo-pituito-thyroïdien). Ces changements sont liés à la modification du statut reproducteur de l'animal.

Au moment de la mue postnuptiale, il y a une baisse d'activité de l'axe HPG qui marque la diminution, voire la disparition de certaines hormones sexuelles : LH, testostérone, œstradiol ou encore progestérone. Ainsi, une augmentation artificielle de la testostérone peut reporter la mue et au contraire, l'administration d'un agoniste de la GnRH ou une hausse de la prolactine permettra de la déclencher.

L'axe surrénalien connaît également une baisse d'activité, avec un plus faible taux de cortisol basal et une diminution de sensibilité de réponse des surrénales à l'environnement (stress, etc). Une faible cortisolémie améliore la mobilisation protéique et augmente la qualité de la plume produite.

Le rôle de l'axe HPT est moins connu. Il y a une augmentation de la T4 lors de l'induction de la mue postnuptiale, ou lorsque la mue est déclenchée par retrait de la nourriture. Une augmentation de T4 est capable de déclencher la mue à elle seule (Chen et al. 2015).

1.3.4 Mécanismes de pigmentation du plumage

La richesse de coloration existant au sein des oiseaux peut jouer un rôle pour la reproduction, le camouflage ou la fuite des prédateurs. Comme cela a été décrit précédemment, la pigmentation varie selon la saison ou le statut reproducteur de l'individu.

Chez les oiseaux, il existe différentes familles de pigments mais, dans le plumage de la poule, seuls les pigments mélaniques, produits par les mélanocytes, interviennent. Ce n'est pas le cas au niveau cutané où l'ingestion de caroténoïdes, par exemple, modifie la coloration de la peau.

La coloration du plumage de *Gallus gallus* dépend donc entièrement de la présence de pigments mélaniques au niveau des barbes. Pour qu'ils soient présents, des migrations et une différenciation des mélanocytes sont nécessaires.

1.3.4.1 Migration des mélanocytes

1.3.4.1.1 Pendant l'embryogenèse

1.3.4.1.1.1 Détermination de la lignée mélanocytaire

Les mélanoblastes sont les précurseurs des mélanocytes, incapables de synthétiser la mélanine. Ils sont issus des cellules des crêtes neurales ou des précurseurs des cellules de Schwann, eux-mêmes issus des cellules des crêtes neurales (Gunnarsson et al. 2011).

L'induction de la lignée mélanocytaire à partir des cellules souches des crêtes neurales est déclenchée par l'expression de MITF-M (melanogenesis associated transcription factor) dans la cellule. *MITF* est le gène majeur de régulation de la mélanogenèse, et MITF-M est l'isoforme spécifique des mélanocytes (Harris et al. 2010).

L'initiation de la transcription de MITF-M dans les précurseurs est contrôlée par la voie de la β -caténine : lors de la liaison entre le récepteur Frizzled et son ligand Wnt (Hsiao, Fisher 2014), le facteur de transcription LEF1 va être activé et va ensuite interagir avec *MITF* (Hou, Pavan 2008).

La transcription de MITF-M nécessite également l'activité synergique de deux autres facteurs de transcription, SOX10 et PAX3 (Mort et al. 2015).

SOX10 est nécessaire au maintien du pool de cellules souches des crêtes neurales, ainsi qu'à la migration et à la survie des mélanocytes (Wegner 2006).

Ces deux gènes sont exprimés aussi bien dans les précurseurs des mélanoblastes que dans ceux des cellules de Schwann. C'est l'inhibition de *FOXD3* et de *SOX2* qui, en permettant la transcription de *MITF*, va permettre l'orientation vers la lignée mélanocytaire. En effet, *FOXD3* va interagir avec *PAX3* et l'empêcher d'activer *MITF*. *SOX2* va quant à lui directement se lier à *MITF* pour inhiber sa transcription (Mort et al. 2015). Ces deux gènes doivent donc être inhibés pour que *MITF* soit exprimé.

Les mécanismes génétiques menant des cellules des crêtes neurales aux mélanoblastes sont résumés ci-dessous.

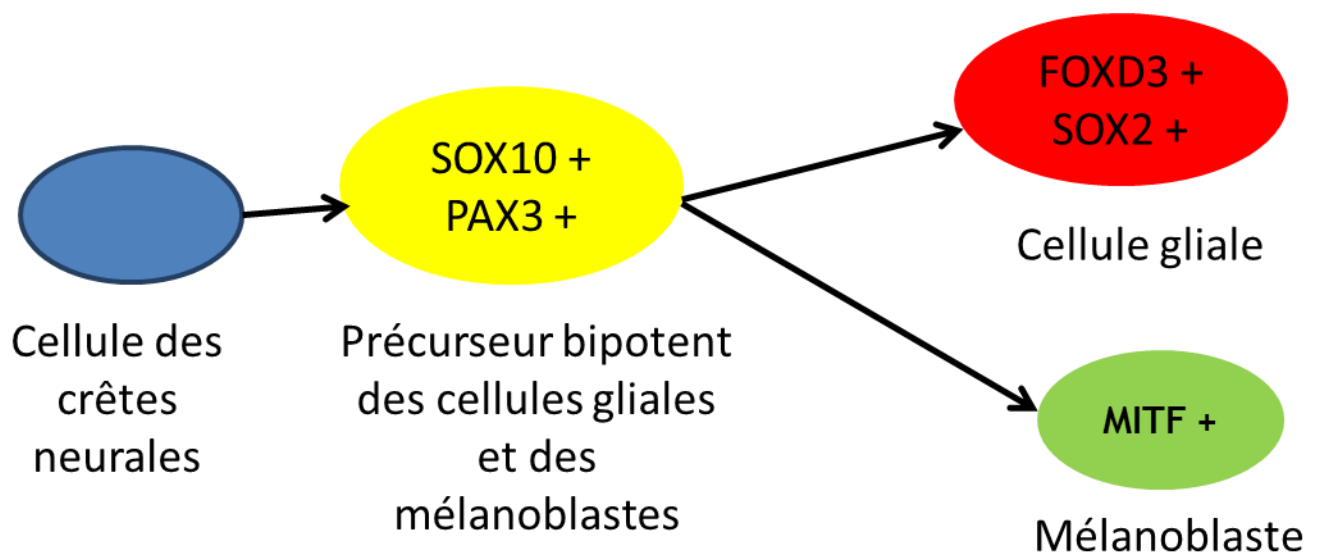


Figure 23: Mécanismes génétiques de détermination des mélanoblastes. Inspiré de Mort et al., the melanocyte lineage in development and disease (Mort et al. 2015).

Lorsque l'orientation d'un précurseur vers une lignée est amorcée, des rétrocontrôles positifs accélèrent l'évolution de cette cellule et évitent un retour à une cellule bipotente (Mort et al. 2015).

1.3.4.1.1.2 Migration cutanée

Une fois la lignée mélanocytaire déterminée, les mélanoblastes vont migrer dans le derme et l'épiderme lors de l'embryogenèse. Ils s'y multiplieront entre J4 et J7.

Deux voies de régulation de *MITF* contrôlent cette migration :

- Les récepteurs à l'endothéline de type B (EDNRB) et leurs ligands, les endothélines, sont indispensables au début de cette migration. Une mutation d'EDNRB2, par exemple, modifiera le pattern de migration de certains mélanoblastes de ventral à dorso-latéral (Mort et al. 2015).
- Le récepteur à la tyrosine kinase (c-KIT) et son ligand, le kit-ligand (KITL) aussi nommé Stem Cell Factor (SCF), est nécessaire à la survie, la migration et la prolifération des mélanoblastes. Il n'est pas nécessaire à l'induction de la migration (Mort et al. 2015; Hsiao, Fisher 2014; Hou, Pavan 2008).

Les mélanoblastes migreront ensuite dans les bourgeons plumeux justes formés, et disparaîtront de l'épiderme. Une réserve de ces précurseurs sera conservée à la base de chaque follicule plumeux, dans le bulbe du collier, toute la vie de l'animal.

En effet, après la première semaine d'embryogenèse et jusqu'à la mort de l'animal, il n'y a plus de migration de mélanoblastes des crêtes neurales vers les follicules plumeux. Un pool de cellules souches est donc toujours conservé à la base de chaque follicule, même lorsqu'il est au repos.

1.3.4.1.2 Lors de la croissance de la plume

Les mélanoblastes vont se multiplier, avant de connaître, en parallèle, une migration et une différenciation.

1.3.4.1.2.1 Conservation du pool de cellules souches

MITF-M permet la survie du pool de cellules souches de chaque follicule plumeux en:

- Modifiant le métabolisme oxydatif de la cellule

Par l'activation d'une endonucléase, l'apurinic/apirimidinic endonuclease I (APEX1), aussi nommée redox factor-1 (REF1), il réduit le stress oxydatif subit par le mélanocyte. Cependant, il active aussi le principal régulateur mitochondrial, le peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 α (PGC1 α), et augmente ainsi la phosphorylation oxydative dans la cellule.

- Evitant l'apoptose cellulaire

Il régule des gènes pro-apoptotiques comme le B-cell lymphoma 2 (*BCL2*), le B-cell lymphoma 2 related-protein A1 (*BCL2A1*) ou encore le Baculoviral IAP repeat-containing protein 7 (*BIRC7*) (Hsiao, Fisher 2014).

1.3.4.1.2.2 Multiplication du pool de cellules souches

Le pool de cellules souches conservé dans le bulbe du collier lorsque le follicule plumeux est en phase télogène est minimal. Une multiplication de ces mélanoblastes avant leur migration et leur différenciation est donc nécessaire lors du retour en phase anagène.

MITF-M régule à la fois des inhibiteurs et des activateurs du cycle cellulaire : il active les kinases cycline-dépendante (CDK), comme CDK2, qui favorisent le cycle cellulaire. Cependant, il active aussi les inhibiteurs de ces molécules, comme CDKN2A (aussi nommé p16), qui stoppent le cycle cellulaire.

Il contrôle donc la multiplication des mélanoblastes au niveau du bulbe du collier.

Il peut aussi agir sur les inhibiteurs de CDKN2A comme T-Box transcription factor 2 (TBX2) et éviter ainsi la sénescence des mélanoblastes (Hsiao, Fisher 2014; D'Mello et al. 2016).

1.3.4.1.2.3 Migration des mélanocytes

Ils migrent dans trois plans différents (Chen et al. 2015) :

- Selon l'axe médial-ventral. En phase de repos, les mélanoblastes sont en quiescence dans la partie dorsale du collier. Une migration vers la partie ventrale lors de la reprise d'activité est nécessaire.
- Selon l'axe proximal-distal. Ils s'éloignent du bulbe du collier afin de se retrouver au niveau des barbes.
- Selon l'axe antéro-postérieur. Ils se positionnent le long des barbes, comme le montre la figure ci-dessous.

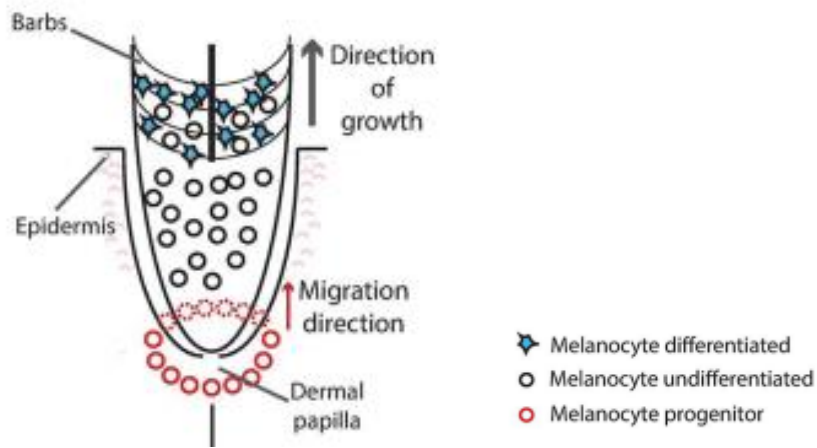


Figure 24: Migration et différenciation des mélanocytes. Extrait de Schwochow Thalmann et al., the evolution of Sex-linked barring alleles in chickens involves both regulatory and coding changes in CDKN2A (Schwochow Thalmann et al. 2017).

Les mélanocytes migrent en même temps que la plume grandit: ils vont s'aligner longitudinalement aux barbes pendant leur croissance et la formation des barbules.

La régulation locale de la migration des mélanocytes est assurée par des molécules présentes dans la pulpe. Des molécules systémiques (hormones, etc) peuvent aussi modifier cette migration : selon le type de molécules (activateurs ou inhibiteurs) dominant à un moment donné, la pigmentation d'une plume est variable (Lin et al. 2013).

Les dessins sur la plume sont obtenus grâce à une régulation temporelle de l'activité des mélanocytes : par exemple, la migration des mélanocytes peut s'interrompre pendant une période puis reprendre ensuite, ce qui crée une barre blanche sur la plume. Lors de l'interruption de la migration, des précurseurs sont toujours conservés au niveau du collier pour les prochains cycles (Lin et al. 2013).

La migration et la différenciation sont deux étapes qui ont lieu en même temps, comme le montre le schéma ci-dessus. La différenciation des mélanocytes commence dès le début de la migration, comme le montre le schéma ci-dessous : TRP1 et TYR, deux enzymes nécessaires à la synthèse des pigments, sont exprimés dès que la cellule se trouve dans la partie moyenne à haute du bulbe.

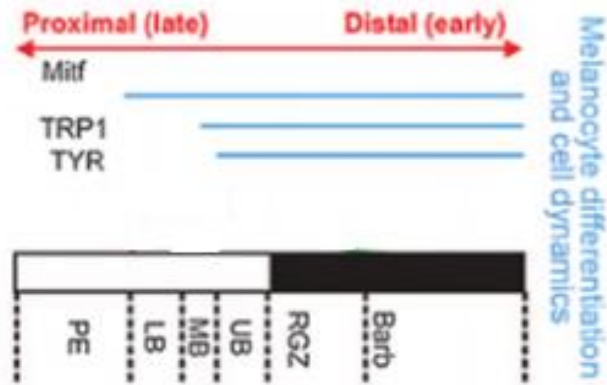


Figure 25: Expression de certains gènes selon le stade de migration des cellules. PE: papille ectodermique, LB: bulbe bas, MB: bulbe moyen, UB: bulbe haut. RGZ: zone ramogénique. Extrait de Lin et al., topology of feather melanocyte progenitor niche allows complex pigment patterns to emerge (Lin et al. 2013).

Comme *MITF* joue aussi un rôle dans la survie et la multiplication des mélanoblastes, il est exprimé dès la partie basse du bulbe, où se trouve le pool de cellules non différenciées (Lin et al. 2013).

1.3.4.2 Production des pigments mélaniques

1.3.4.2.1 Différenciation des mélanoblastes

La différenciation des mélanocytes commence vers J7-8 chez l'embryon. Elle aura lieu tout au long de la vie de l'animal, dès qu'un follicule plumeux sera en phase anagène. Les deux caractères que le mélanoblaste acquiert lors de la différenciation sont la capacité à synthétiser la mélanine et à produire des dendrites (Lin et al. 2013).

De nombreuses molécules interagissent pour permettre le développement des mélanocytes, mais celle qui joue un rôle central est MITF-M.

Il active la production des trois principales enzymes de la mélanogénèse que sont la tyrosinase (TYR), la tyrosinase related protein 1 (TYRP1) et la dopachrome tautomérase (DCT ou TYRP2).

La voie de régulation majeure de MITF-M lors de la différenciation des mélanoblastes est contrôlée par un récepteur transmembranaire aux mélanocortines, MC1R (melanocortin-1 receptor) et son ligand extracellulaire, α -MSH (α -melanocyte Stimulating Hormone). Les deux voies de régulation évoquées précédemment, le récepteur Kit et son ligand et la voie des β -caténines, influencent également la transcription de MITF-M.

En résumé:

MITF-M est le facteur de transcription majeur des mélanocytes, car il intervient à tous les niveaux : il a une action sur la production, la migration, la survie et la prolifération des mélanoblastes, ainsi que sur la différenciation des mélanocytes.

La mélanogénèse est activée via la liaison de MC1R avec α -MSH. Ce récepteur est codé par le gène *MC1R* dont les nombreux allèles modulent son activation basale (Guo et al. 2010).

C'est un récepteur couplé à une protéine G, dont l'activation va permettre la transduction du signal, par production intracellulaire d'AMPc et activation de la protéine kinase A (PKA), comme l'illustre le schéma ci-dessous. La PKA va activer le facteur de transcription CREB, dont la liaison au promoteur de MITF-M va rendre possible son activation par l'AMPc (Hsiao, Fisher 2014; Wolf Horrell et al. 2016). Ainsi, l'activation de MC1R déclenche la synthèse de MITF-M.

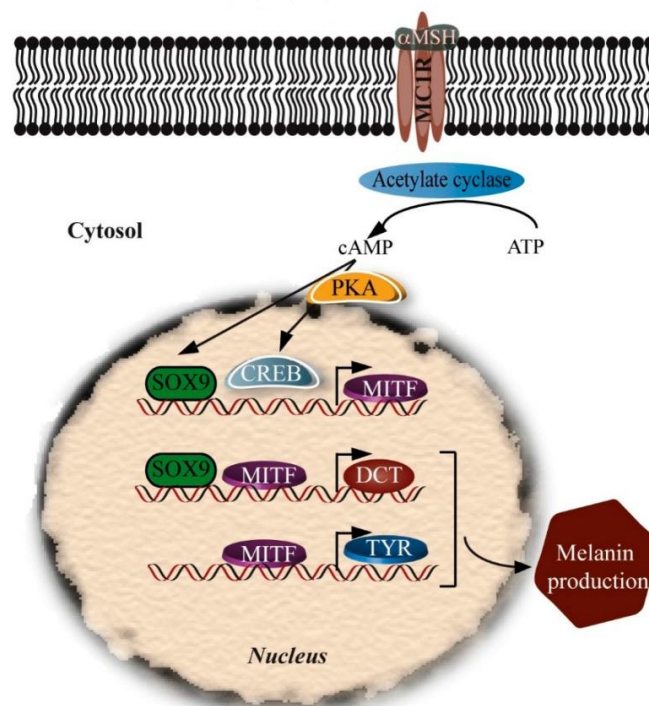


Figure 26: Mécanisme d'action du récepteur transmembranaire MC1R des mélanocytes. Extrait de D'Mello et al., signaling Pathways in Melanogenesis (D'Mello et al. 2016).

Les agonistes connus de ce récepteur sont :

- α -MSH, ou mélanocortine : c'est le principal ligand connu.
- ACTH (adrenocorticotrop hormone). Son affinité pour MC1R est supérieure à celle de la mélanocortine chez *Gallus gallus*, mais son rôle dans la pigmentation n'a jamais été démontré (Gluckman, Mundy 2017).

Les antagonistes connus sont :

- ASIP (agouti signaling protein) : c'est le principal antagoniste connu (Yoshihara et al. 2012).
- AGRP (agouti related protein), dont le rôle dans la pigmentation n'a jamais été démontré.

Les agonistes ont pour origine commune un peptide, le pro-opio-melanocortin peptide (POMC). Son clivage par la protéine convertase 1 (PC1) va donner de l'ACTH, alors que son clivage par la PC2, ou protéine convertase 2, va donner de l' α -MSH ou du désacétyl- α -MSH. La PC2 peut également cliver l'ACTH pour donner de l' α -MSH, comme le montre le schéma ci-dessous (Wolf Horrell et al. 2016).

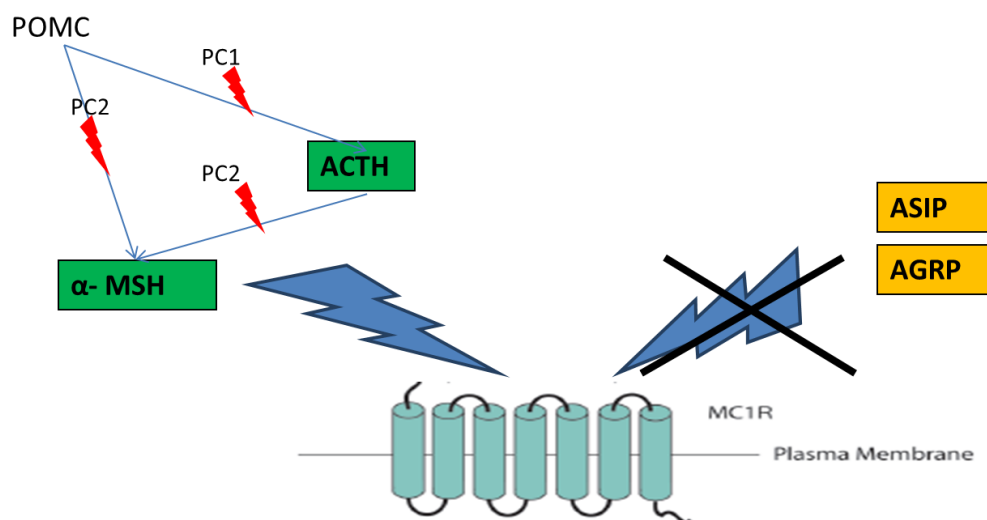


Figure 27: Production et rôle des ligands de MC1R. Inspiré de Wolf Horrell et al., melanocortin 1 Receptor: Structure, Function, and Regulation (Wolf Horrell et al. 2016).

POMC, PC1 et PC2 sont tous exprimés dans le follicule plumeux des individus adultes.

Les antagonistes ASIP et AGRP sont des protéines codées directement à partir des gènes portant le même nom.

1.3.4.2.2 Synthèse des pigments mélaniques

Les deux pigments responsables de la coloration du plumage de *Gallus gallus* sont des pigments mélaniques :

- La phéomélanine, qui donne une coloration jaune à rouge.
- L'eumélanine, qui donne une coloration plus foncée, brune à noire.

Les xanthophylles ne semblent pas avoir de rôle dans la coloration du plumage chez *Gallus gallus*. La pigmentation de la peau peut être provoquée par l'ingestion de pigments comme les caroténoïdes, mais cela n'a pas d'action sur la coloration du plumage.

Le mécanisme de biosynthèse des pigments mélaniques est détaillé ci-dessous.

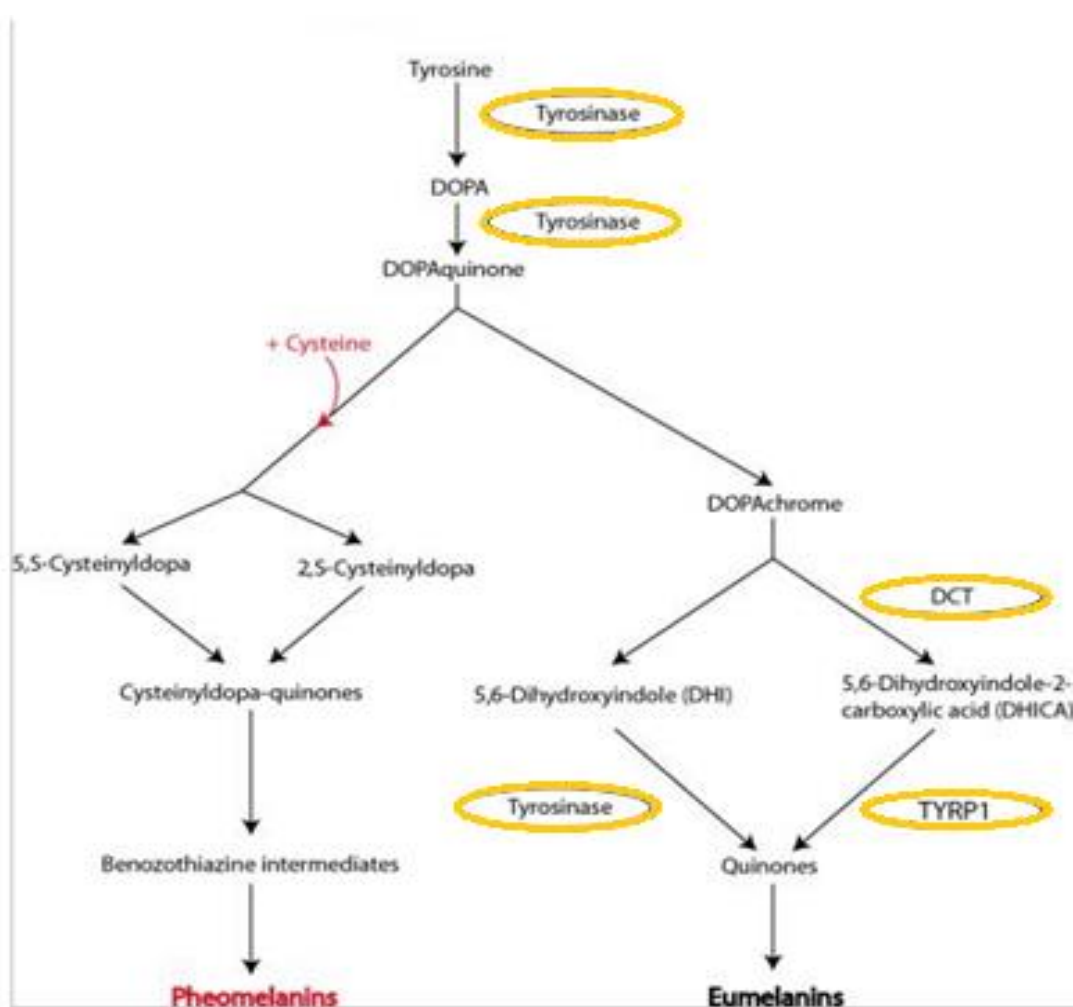


Figure 28: Mécanisme de biosynthèse de la mélanine. Entourées en jaune : enzymes intervenant dans la biosynthèse. Extrait de Hsiao et Fisher, the roles of Microphthalmia Transcription Factor and pigmentation in melanoma (Hsiao et Fisher 2014).

La tyrosinase est synthétisée sous forme de précurseur inactif. C'est une enzyme clé des deux premières étapes de la mélanogénèse, communes aux deux pigments

mélaniques. Elle intervient une fois encore en aval, pour la synthèse d'eumélanine spécifiquement : si elle est fortement activée, la production d'eumélanine sera favorisée. Sinon, il y aura production de phéomélanine (Chang et al. 2006b).

L'activation de *MC1R* régule l'activité de la tyrosinase en augmentant la transcription du gène.

TYRP1 et DCT sont des enzymes qui ont des rôles similaires :

- Elles interviennent directement dans la synthèse d'eumélanine, comme le montre le schéma ci-dessus.
- Elles augmentent la survie du mélanocyte. En effet, la tyrosinase est cytotoxique. TYRP1 et DCT peuvent, par formation d'un complexe avec la tyrosinase, la stabiliser et éviter une mort précoce des mélanocytes (Ghanem, Fabrice 2011; Rad et al. 2004).
- Elles peuvent moduler indirectement la synthèse de pigments, par action sur l'activité de la tyrosinase. TYRP1 semble diminuer l'activité de l'enzyme, au contraire de DCT qui l'augmenterait (Manga et al. 2000; Xu et al. 2013). Cette propriété est encore controversée car certains auteurs montrent une absence de modulation de l'activité de la tyrosinase (Rad et al. 2004).

Ainsi, plus la quantité et le niveau d'activation de ces enzymes sont importants, plus la production d'eumélanine est élevée : l'animal aura un plumage noir. Au contraire, de la phéomélanine sera synthétisée en présence de cystéine et d'une faible quantité de tyrosinase: le plumage sera de couleur rouge.

Un allèle du gène codant pour *MC1R* provoque une activation constitutive⁷ du récepteur : cet allèle est nommé E*E ou noir étendu car le plumage est entièrement noir, puisque la production d'eumélanine est maximale (Ellett 2000).

Au contraire, une transcription importante du gène *ASIP*, antagoniste de *MC1R*, conduit à un plumage où le jaune/rouge prédomine, puisque la synthèse de phéomélanine est augmentée au détriment de l'eumélanine. C'est le mécanisme à l'origine de la couleur jaune de la souris ou de la caille, comme le montre la photo ci-dessous.

⁷ Activation constitutive : activation spontanée d'un récepteur indépendamment de tout ligand.



Photographie 3: Caille de couleur jaune (à gauche) ou de type sauvage (à droite). Extrait de Nadeau et al., Characterization of Japanese quail yellow as a genomic deletion upstream of the avian homolog of the mammalian ASIP (agouti) gene (Nadeau et al. 2008).

1.3.4.2.3 Formation des mélanosomes

Les mélanosomes sont des organites apparentés aux lysosomes dans lesquels se déroule la mélanogénèse. Ils permettent le transfert des pigments du mélanocyte aux kératinocytes. Il existe deux types de mélanosomes, nommés selon le type de pigments qu'ils contiennent : les eumélanosomes ou les phéomélanosomes. Un mélanocyte contient un seul type de mélanosome, et donc un seul type de pigment.

La différenciation des eumélanosomes se découpe en quatre stades, comme le montre le schéma ci-dessous.

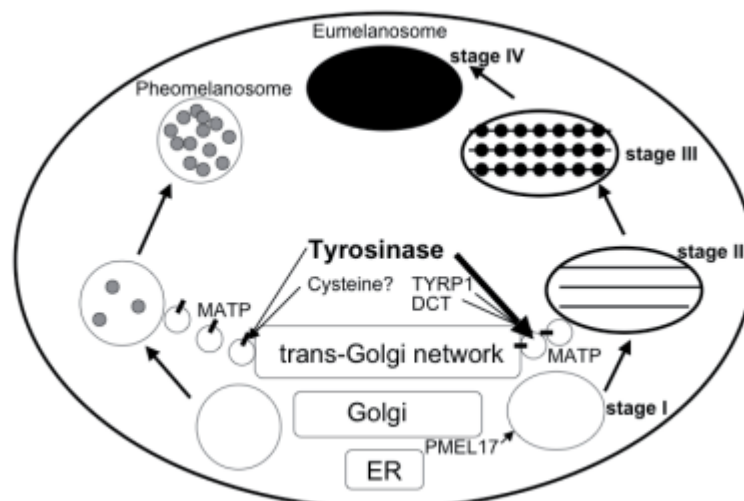


Figure 29: Formation des mélanosomes dans les mélanocytes. Extrait de Gunnarsson et al., genetic studies of pigmentation in chicken (Gunnarsson et al. 2009)

La différenciation décrite ci-dessous est celle d'un eumélanosome. Les mécanismes menant au phéomélanosome sont encore mal définis.

Le mélanosome de stade I est une vésicule ronde et non structurée issue du réticulum endoplasmique.

Pour devenir un mélanosome de stade II, l'organite doit acquérir deux caractéristiques :

- Les enzymes nécessaires à la mélanogénèse.

Ces enzymes sont produites par l'appareil de Golgi. Elles transitent par des vésicules de transport dans lesquelles la protéine de transport associée aux membranes (MATP), aujourd'hui nommée Solute carrier family 45 member 2 (SLC45A2), joue un rôle essentiel mais encore mal défini. MITF régule la synthèse de SLC45A2.

- Une matrice fibreuse.

La protéine prémélanosomale PMEL17 (ou GP100/MMP115) est le principal composant structural de cette matrice, et est également régulée par MITF. C'est une protéine transmembranaire chez les mélanosomes de stade I. Après clivage, la partie libérée va former des fibres, organisées en feuillets amyloïdes, qui détermineront la forme des mélanosomes, comme le montre la figure ci-dessous (Kerje et al. 2004; Mochii et al. 1991).

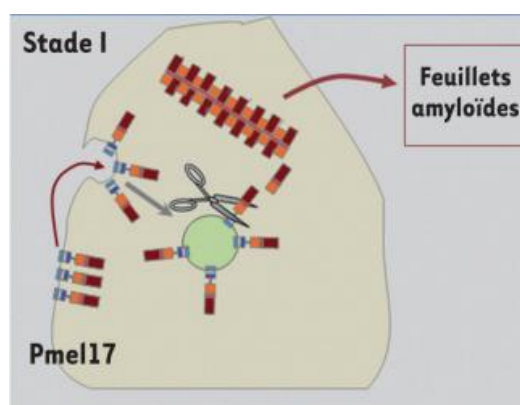


Figure 30: Mécanismes de structuration des mélanosomes par PMEL17. Extrait de Delevoye et al., la biogenèse des mélanosomes (Delevoye et al. 2011).

La protéine mélan-A (MART-1) est un marqueur classique des mélanocytes. Son rôle est encore mal défini, mais elle semble se complexer avec PMEL17 et être nécessaire au fonctionnement de cette protéine (Hoashi et al. 2005, p.). Elle n'est pas uniquement exprimée dans les mélanocytes, mais aussi dans les mélanoblastes (Lin et al. 2013).

Le mélanosome est dit de stade III lorsque la mélanogénèse commence. Il y aura dépôt des pigments sur les feuillets de la matrice.

Enfin, le mélanosome sera mature, et donc dit de stade IV, lorsque la synthèse d'eumélanine sera terminée. L'eumélanosome sera alors saturé de pigments et de forme ovale de par sa forte structuration.

Au contraire, un phéomélanosome mature sera moins structuré et donc de forme ronde, et la synthèse de la phéomélanine s'arrêtera avant arrivée à saturation de l'organite (Delevoye et al. 2011).

1.3.4.3 Transfert des pigments mélaniques

L'étendard de la plume mature ne possède pas de mélanocytes : les pigments sont donc contenus dans les kératinocytes des barbules.

Les mélanosomes matures permettent le transfert des pigments aux kératinocytes des barbules. Pour chaque barbe, entre un et quatre mélanocytes vont s'aligner longitudinalement aux barbules, comme le montre le schéma ci-dessous. Le transfert des pigments est centripète, il concerne d'abord les cellules les plus externes. Une fois tous les mélanosomes transférés, les mélanocytes dégénéreront (Prum, Williamson 2002).

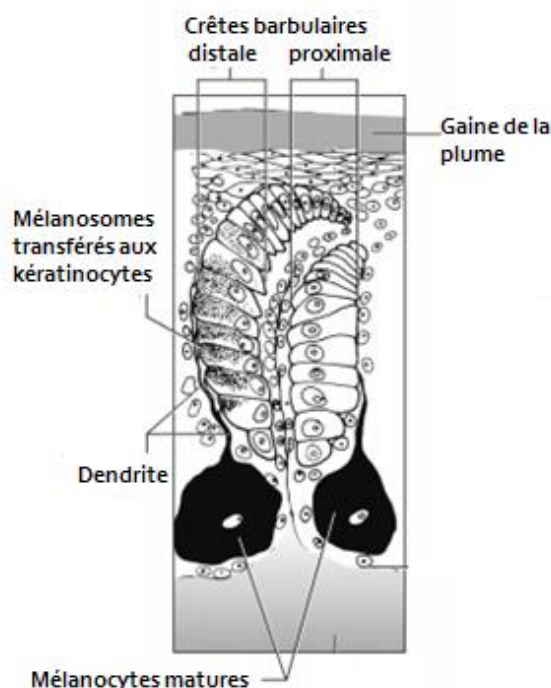


Figure 31: Transfert des mélanosomes aux kératinocytes. Extrait de Prum et Williamson, reaction–diffusion models of within-feather pigmentation patterning (Prum, Williamson 2002)

Les mélanosomes sont donc essentiels pour permettre le passage des pigments d'une cellule à l'autre. Au départ, ils sont situés proches du centre des mélanocytes, comme le montre le schéma ci-dessous.

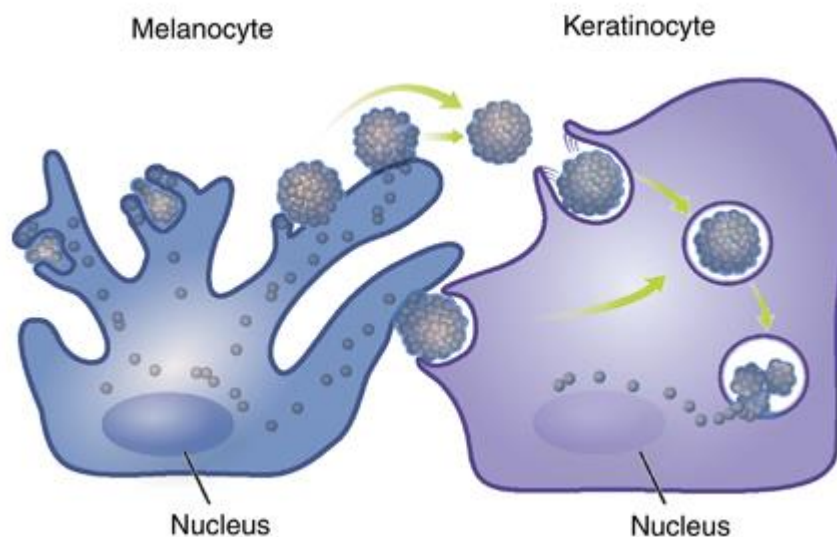


Figure 32: Transfert des pigments des mélanocytes aux kératinocytes. Extrait d'Ando et al., "melanosomes are transferred from melanocytes to keratinocytes through the processes of packaging, release, uptake, and dispersion" (Ando et al. 2011).

La formation d'un complexe avec la mélanophiline (MLPH), va permettre leur migration jusqu'à l'extrémité des dendrites, au fur et à mesure de leur maturation.

Les mécanismes régissant le transfert des organites sont encore mal définis. Les deux cellules semblent jouer un rôle actif. De plus, un haut niveau d'activation de MC1R par l' α -MSH semble améliorer le transfert et le dépôt de pigments dans les kératinocytes (Virador et al. 2001).

1.3.4.4 Régulation de la pigmentation

1.3.4.4.1 Régulation sexuelle

Le dimorphisme sexuel de pigmentation du plumage se nomme le dichromatisme sexuel.

Chez les oiseaux, le dichromatisme sexuel peut être dû à deux mécanismes, distinguant différents groupes d'espèces (Owens, Short 1995):

- Espèces à plumage « œstrogènes-dépendant ».

Dans ces espèces, le plumage de mâle est le plumage « par défaut » : c'est la présence d'œstrogènes qui permet aux animaux d'avoir un plumage de type

femelle. Le plumage brillant des mâles reflète plus le manque d'œstrogènes que la présence de testostérone. Dans ce cas, la castration ne modifie pas le plumage, mais l'ovariectomie post-éclosion donne aux animaux un plumage de type mâle (Valdez et al. 2010; Lambeth et al. 2016). Ce sont des espèces où les mâles ont souvent deux mues par an, et donc un plumage éclipse en dehors des périodes de reproduction. Les espèces concernées sont par exemple le paon, le canard colvert ou encore la poule.

- Espèce à plumage sous contrôle génétique direct.

Dans ces espèces, le dichromatisme est une conséquence directe du manque de compensation de dosage des chromosomes sexuels. Les hormones sexuelles circulantes de l'animal ne jouent aucun rôle. Ce sont souvent les espèces à une seule mue annuelle, comme les moineaux ou les oiseaux de paradis.

Dans toutes les autres espèces, les mécanismes sont, à des degrés divers, un mélange des mécanismes décrits précédemment. Dans tous les cas, les hormones sexuelles responsables du dichromatisme sont avant tout les œstrogènes et non la testostérone.

La seule espèce dont le dichromatisme est testostérone-dépendant est le combattant varié, où c'est la présence de testostérone qui permet au mâle d'avoir un plumage coloré (Owens, Short 1995).

Chez *Gallus gallus*, les animaux dont le plumage est dit « de type sauvage » ont une pigmentation similaire à celle du coq doré, comme le couple de Leghorn dorée sur la photo ci-dessous.



Photographie 4: Couple de Leghorn dorée (ou dit de type ancien). Extrait de Wikimedia Commons (De Sousa 2008; Quintin 2006).

Les mécanismes d'action des œstrogènes sur le follicule plumeux ne sont pas encore connus.

En plus du dichromatisme sexuel, les œstrogènes sont aussi responsables de la taille et de la forme des plumes de la poitrine, du dos, et de la queue, plus longues et plus effilées chez le mâle.

Dans les espèces au plumage « œstrogènes-dépendant », une réversion de sexe phénotypique des adultes est possible. En effet, seul l'ovaire gauche est fonctionnel chez la poule. Un événement (comme une maladie) peut le rendre non-fonctionnel et entraîner une régression de la gonade. Le tissu résiduel de la gonade droite va alors proliférer pour donner un tissu qui sécrètera des androgènes, des œstrogènes, ou les deux. La poule peut alors, s'il n'y a pas suffisamment de sécrétion d'œstrogènes, développer un plumage de coq (Jacob, Mather 2000).

1.3.4.4.2 Régulation régionale

Chez les vertébrés, la région dorsale est classiquement plus sombre que la région ventrale. Chez *Gallus gallus*, ce phénotype s'exprime chez les femelles et les poussins, qui ont un plumage utile au camouflage. Le coq possède un plumage brillant pour attirer les femelles, il a un plumage plus coloré dans la région dorsale que dans la région ventrale.

ASIP, en inhibant la production d'eumélanine, rend les régions où il s'exprime moins noires que le reste du plumage. Ainsi, de par son expression ventrale et dorsale chez le mâle, et uniquement ventrale chez la femelle et les poussins, il est responsable de la régulation régionale de la pigmentation chez *Gallus gallus* (Oribe et al. 2012).

Son expression étant variable selon le sexe de l'animal, il pourrait être une cause possible du dichromatisme sexuel. L'explication pourrait être une action des œstrogènes sur son promoteur (Oribe et al. 2012; Gluckman, Mundy 2017).

Différents travaux visant à étudier les interactions entre ces hormones sexuelles et les cellules des papilles dermiques des plumes suggèrent que cette variation de réponse est due à des différences intrinsèques entre les follicules du corps, mais les mécanismes précis sont encore inconnus (Oribe et al. 2012).

1.3.5 Variants de couleur du plumage

Un même phénotype peut avoir plusieurs causes. Par exemple, la couleur blanche est une absence de pigmentation qui peut être causée par (Chen et al. 2015) :

- Un défaut de différenciation des mélanocytes.

- Une absence de précurseurs des mélanocytes dans le follicule plumeux (très rare sur tout le corps, cause plutôt un phénotype de panachures).
- Un manque de maturation des mélanocytes.
- Un défaut de transfert du pigment aux kératinocytes (cause généralement une dilution de la couleur).

1.3.5.1 Nomenclature

Auparavant, un allèle dominant était noté en majuscules 'A', un allèle récessif en minuscules 'a' et un allèle sauvage était noté +. Par exemple, un allèle sauvage dominant s'écrivait A+. En 1996, une nouvelle nomenclature a été adoptée pour décrire la génétique du poulet dans les publications et les bases de données (Crittenden et al. 1996) : les allèles sont notés A*B, pour l'allèle B d'un locus A et A*N pour l'allèle sauvage de même locus. Cette notation est valide quel que soit leur dominance, et ce pour faciliter le traitement informatique des données.

Les abréviations utilisées pour les variants sont décrites dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2: Abréviations utilisées pour la description des variants de pigmentation de la plume chez *Gallus gallus* (Coquerelle 2000).

Abréviation	Signification
AL	albinos
B	barred
BC	buttercup
BL	blue
C	non colored
CHA	charcoal
CHO	chocolate
CO	columbian
D	dilute
DB	dark brown
E	extended black
E*B	brown
E*R	brown red
E*S	speckled head

Abréviation	Signification
HF	hen-feathering
I	inhibitor of black
IG	inhibitor of gold
LAV	lavander
MH	mahogany
ML	melanotic
MO	mottled
PG	pattern gene
PI	pied
PK	pink eyes
RE	red eyes
S	silver
SD	sex linked dilution
Y	yellow

Sauf mention d'une autre source, les informations de la partie ci-dessous sont issues de l'ouvrage de Gérard Coquerelle, « Les poules: diversité génétique visible » (Coquerelle 2000).

1.3.5.2 Détermination de la présence de la coloration noire

❖ La série C (blanc récessif) C*N/ C*C/ C*RE/ C*AL

L'allèle dominant C*N permet la coloration du plumage/duvet par des pigments colorés (noirs, bruns et rouges) : toutes les races colorées portent donc cet allèle.

L'allèle récessif C*C cause le phénotype nommé blanc récessif : les rémiges du poussin d'un jour sont blanches avec un duvet jaune très clair, des traces de coloration étant possibles. L'adulte a un plumage blanc, comme le montre la photo ci-dessous. Des reflets sont possibles chez certains sujets (rosé sur le dos pour le coq, saumoné devant le cou et en haut de la poitrine pour la poule). Cet allèle n'influence que la couleur du plumage : la Silky est une race homozygote C*C et a donc un plumage blanc, mais sa peau est noire.



Photographie 5: Poule Gâtinaise au plumage et tarses blancs. Extrait de Wikimedia Commons (Smith 2006).

L'insertion d'une séquence rétrovirale dans un des introns du gène autosomal *TYR* est responsable de ce phénotype. Elle conduit à une enzyme tronquée, ce qui empêche la réalisation de la mélanogénèse dans les follicules plumeux, mais pas dans la rétine (Chang et al. 2006b; Sato et al. 2007).

Les deux derniers allèles, C*RE et C*AL, sont responsables d'albinisme. Les animaux ont les yeux rouges foncés pour C*RE et roses pour C*AL. La cause de la mutation C*A est une délétion de 6 pb dans l'un des introns de *TYR* (Chang et al. 2006b; Tobita-Teramoto et al. 2000). Ces mutations ne sont pas caractéristiques d'une race : elles sont très rares.

❖ La série I (blanc dominant)/ I*I/ I*S/I*D/ I*N

L'allèle I*N est l'allèle récessif sauvage de la série. Il permet la pigmentation noire du plumage (Kerje et al. 2004).

L'allèle I*I est l'allèle dominant de la série, le phénotype associé est donc appelé blanc dominant. Ce variant cause l'inhibition totale de la formation d'eumélanine, et partielle de la phéomélanine. La couleur du duvet et du plumage va donc du jaune très clair au rouge brun, avec absence totale de couleur noire comme le montre la photo ci-dessous.



Photographie 6: Coqs homozygotes porteurs de l'allèle I*I (à gauche) et I*N (à droite). Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (Coquerelle 2000) .

Cependant, la dominance de cet allèle est incomplète et un animal hétérozygote I*I/I*N peut présenter des taches ou des plumes noires.

La nature moléculaire de l'allèle I*I est une insertion de 9 pb dans l'exon 10 du gène autosomal *PMEL17* qui cause la mort prématurée des mélanosomes (Kerje et al. 2004).

L'allèle I*S est récessif par rapport à I*I et partiellement dominant sur I*N. Il donne un plumage grisâtre. Une double mutation en est la cause : une insertion de 9 pb dans l'exon 10 (comme pour I*I), accompagnée d'une délétion de 12 pb dans l'exon 6 (Kerje et al. 2004).

L'allèle I*D il a été décrit en 1987 et n'est pas caractéristique d'une race. A l'état homozygote, il donne un plumage similaire à un animal hétérozygote I*I : blanc avec des taches noires possibles. Le duvet d'un animal hétérozygote sera gris-bleu (couleur noire diluée), cette couleur disparaissant à l'âge adulte. La mutation causale semble être une délétion de 15 pb dans l'exon 10 de *PMEL17* (Kerje et al. 2004).

Tous les animaux dont le plumage présente du noir, du noir dilué ou du noir barré ont donc comme génotype I^*N à l'état homozygote et sont porteurs de l'allèle C^*N .

1.3.5.3 Détermination de l'étendue de la coloration noire

1.3.5.3.1 Extension de la coloration noire

❖ La série E : $E^*E/ E^*R/ E^*WH/ E^*N/ E^*B/ E^*S/ E^*BC/ E^*Y$

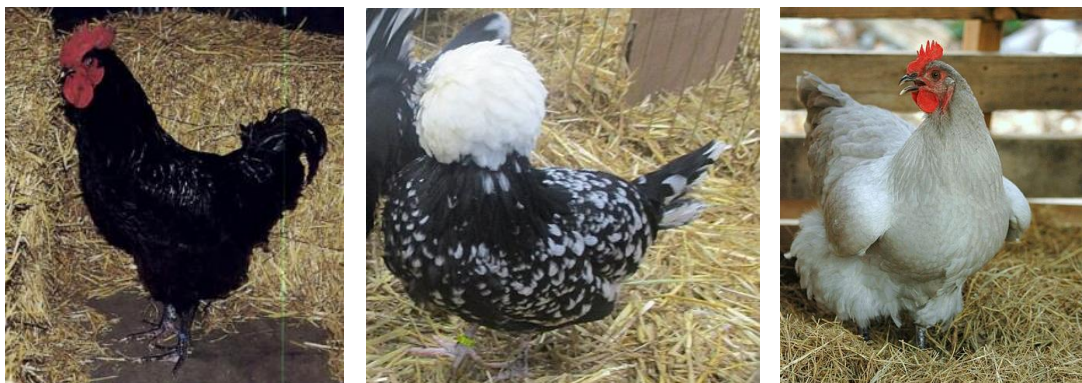
C'est le génotype au locus *MC1R* qui détermine principalement l'extension de la couleur noire. Les mutations modifient le taux d'activation du récepteur, qui va de l'activation constitutive à la perte de fonction.

Cependant, d'autres loci que nous décrivons par la suite modifient l'extension du noir : par exemple, ML et CHA accentuent la présence de noir. Au contraire, MH, DB et CO diminuent son étendue.

La dominance des allèles de cette série semble être la suivante : $E^*E > E^*R > E^*WH > E^*N > E^*B > E^*Y$ (Guo et al. 2010). Cette dominance est généralement incomplète. Par ailleurs, le sens de la dominance des allèles E^*S et E^*BC vis à vis des autres n'a pas été établi.

L'allèle dominant E^*E provoque une activation constitutive du récepteur *MC1R* : à l'état homozygote, le plumage a donc une couleur uniformément noire. L'épiderme est généralement noir comme le montre la photo de gauche ci-dessous.

D'autres gènes modifient la couleur en déterminant des dessins de plumage (exemple : taches blanches pour le phénotype caillouté) ou une dilution du noir (exemple : couleur bleue ou lavande) comme le montrent les photos ci-dessous.



Photographie 7: Coq cotentin au plumage et tarse noirs (à gauche). Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (Coquerelle

2000). Poule hollandaise au plumage caillouté (au centre). Poule orpington au plumage lavande (à droite). Extrait de Wikimedia Commons (Thomon 2018; Wikipedia 2011)

Les hétérozygotes E^*E/E^*N ressemblent à des animaux E^*R .

L'allèle E^*R , souvent dénommé 'noir cuivré' est responsable d'un plumage noir étendu, mais d'autres couleurs, rouge doré ou argenté, sont également présentes, comme le montre la photo ci-dessous. Les tarsi sont moins noirs qu'avec E^*E , mais plus sombres qu'avec les autres allèles. La poule est plus noire que le coq. Un hétérozygote E^*R/E^*WH ressemblera à un animal E^*B du fait de la dominance incomplète de E^*R .



Photographie 8: Couple de marans au plumage noir cuivré. Extrait de Marans club de France (Marans Club de France 2017a).

L'allèle E^*WH (WH pour wheaten, c'est à dire froment) donne des animaux de couleur rouge clair, comme le montre la photo ci-dessous : le duvet des poussins est clair, avec une couleur noire possible uniquement sur les rémiges. Le coq est identique au type sauvage avec un sous-plumage plus clair, et la poule est de couleur crème à brun clair avec les régimes primaires noirs. Elle ne possède jamais de couleur saumon, contrairement au type sauvage. Cet allèle diminue la couleur grise bleutée sur les tarsi.



Photographie 9: Couple de Faverolles au plumage froment. Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (Coquerelle 2000).

L'allèle E*N est l'allèle du type sauvage. Le poussin a un duvet rayé par 3 bandes longitudinales dorsales, avec un œil qui semble maquillé. La poitrine, les cuisses, le ventre, la queue et les rémiges primaires du coq sont noirs avec une partie duveteuse blanche à la base de la queue. La poule a une poitrine saumonée soutenue se dégradant vers les cuisses, un ventre gris, une queue et des rémiges noires bordées de doré ou d'argenté. Le camail est doré ou argenté et noir. Le dessus du corps et les ailes sont pointillés de noir, et le sous-plumage est gris. Le poussin, le coq et la poule de type sauvage sont visibles sur les photos ci-dessous.



Photographie 10: Poule sauvage dénommée 'Bankiva' (à gauche), coq 'Bankiva' (au centre) et poussin de type sauvage (à droite). Extrait de Wikimedia Commons (Yap 2008; Subramanya 2012; Tórizs 2008).

L'allèle E*B, avec b pour brown, brunit le duvet du poussin avec la tête chocolat et la barre dorsale brune, élargie, et plus ou moins nette. Le coq a un plumage semblable au type sauvage, avec une poitrine plus rouge pour le juvénile. La poule a également un plumage similaire, seule la poitrine diffère et présente non pas du saumoné mais un pointillé grossier, présent aussi sur le dos et les ailes comme le montre la photo de droite ci-dessous.



Photographie 11: Poussin porteur d'E*B (à gauche) et poule Pictave porteuse d'E*B. Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (coquerelle, 2000).

A l'état homozygote, l'allèle E*Y (Y pour yellow) donne un phénotype identique à celui de E*WH, hormis des plumes noires sur le cou et la selle du coq si l'animal porte CO*N/CO*N (voir plus loin). Ainsi, certains auteurs pensent que E*Y et E*WH seraient un seul et même allèle. E*WH et E*Y sont respectivement nommés froment dominant et récessif (Dávila et al. 2014a).

L'allèle E*S (S pour speckled, c'est-à-dire tacheté) donne un duvet similaire au type sauvage, mais avec des variations de tachetures sur la tête. Le phénotype de la poule est similaire au type E*B, en plus clair. Le coq ressemble au type sauvage.

L'allèle E*BC (BC pour buttercup, c'est-à-dire renoncule) donne un duvet similaire au type sauvage, mais avec une discontinuité des bandes latérales sur le dos et de bande la centrale sur la tête. Le phénotype du coq est similaire au type sauvage et celui de la poule au type E*B.

Etant donné l'importance de MC1R dans la pigmentation, les variants de cette série ont été étudiées par différents auteurs, mais dans des races et des lignées différentes. Cela peut expliquer le polymorphisme retrouvé pour un même allèle, comme le montre le tableau ci-dessous.

Tableau 3: Mutations de MC1R associées aux différents allèles. Inspiré de Dávila et al., association between polymorphism in the melanocortin 1 receptor gene and E locus plumage color phenotype (Dávila et al. 2014a).

Allèle	Mutations	Référence	Remarques
E*E	Glu92Lys	(Dávila et al. 2014b; Kerje et al. 2003; K Ling et al. 2003; Takeuchi et al. 1996; Ellett 2000)	Mutation qui semble nécessaire mais non suffisante
	Met71Thr et Arg213Cys	(Kerje et al. 2003; Takeuchi et al. 1996)	
E*R	Glu92Lys	(Ellett 2000; Dávila et al. 2014a; K Ling et al. 2003)	
	Leu133Gln	(Ellett 2000; Dávila et al. 2014a)	
E*N	Arg213Cys	(Takeuchi et al. 1996; Ellett 2000; Kerje et al. 2003)	Non retrouvé dans Dávila, 2014
E*WH	Thr143Ala	(Ellett 2000; Dávila et al. 2014a)	
E*Y	Thr143Ala	(Ellett 2000)	
	Arg213Cys	(Dávila et al. 2014a)	En contradiction avec les autres articles
E*B	Glu92Lys	(Dávila et al. 2014a; Ellett 2000; K Ling et al. 2003)	
	His215Pro	(Ellett 2000)	
	Ala137Thr	(Dávila et al. 2014a)	Hypothèse : atténuation mutation Glu92Lys
E*BC	Glu92Lys, His215Pro and Met71Thr	(Kerje et al. 2003)	
	Leu133Pro, Thr143Ala, and Arg213Cys	(Dávila et al. 2014a)	

❖ La série ML*ML/ ML*N

L'allèle dominant incomplet ML*N (ML pour melanotic) noircit plus ou moins les parties rouges du plumage.

Cela donne un phénotype très variable selon les allèles des autres gènes. Il est souvent sélectionné dans les races exprimant E*E, afin de s'assurer d'obtenir des animaux complètement noirs.

❖ La série CHA*CHA/ CHA*N

Le gène responsable de ce phénotype semble être situé sur le chromosome 1. Cette série est peu connue, elle se nomme CHA pour charcoal c'est-à-dire charbon de bois : c'est un facteur mélanisant. Il peut se manifester en présence des allèles E*WH, E*Y et E*B. Il n'est pas visible si le locus E présente d'autres allèles. La couleur noire ne s'observe pas à la naissance et s'établit pendant la croissance.

1.3.5.3.2 Restriction de la coloration noire

❖ La série DB*N/ DB*DB

L'allèle sauvage DB*N est l'allèle récessif de cette série. Il ne modifie pas la pigmentation du plumage.

Le gène associé à cette série est *SOX10*, localisé sur le chromosome 1. Le variant causal de DB*DB est une délétion de 8.3 kb située à 14 kb en amont du début de transcription de *SOX10*. Cette mutation, en diminuant l'expression de *SOX10* et donc de *MITF*, pourrait diminuer la régulation d'enzymes clés telles que la tyrosinase et la dopachrome tautomérase (DCT), menant à une diminution de la pigmentation (Gunnarsson et al. 2011).

L'allèle DB*DB, pour dark brown, transforme un duvet noir en brun foncé.

A l'état homozygote, DB*DB peut être à l'origine de dessins de plumages, et notamment de barrure sur la plume, en combinaison avec d'autres mutations. Selon le sexe de l'animal et l'allèle présent au locus E, DB*DB a une action différente et peut se comporter comme un allèle dominant ou récessif.

En effet, les poules porteuses d'E*B ont la poitrine, le dos et les ailes barrés, alors que celles portant E*N ou E*WH n'ont que le dos et les ailes barrés. De plus, avec ces trois allèles, DB*DB agira comme un allèle dominant alors qu'il se comportera comme un récessif si la femelle porte E*R.

Pour le coq, le noir sera absent de la poitrine et limité aux ailes et à la queue quel que soit l'allèle au locus E, comme le montrent la photo ci-dessous (où le camail est blanc car l'animal est porteur de S*S, qui inhibe le rouge : ce n'est pas l'action de DB*DB). Cet allèle a une dominance incomplète, puisque les mâles hétérozygotes ont les plumes du camail noires mis à part une tache rouge à l'extrémité.



Photographie 12: Coq Bresse-gaulois gris. Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (Coquerelle, 2000).

1.3.5.3.3 Dilution de la coloration noire

❖ La série BL*BL/ BL*N

Le gène lié à cette série n'a pas encore été identifié. Le gène codant pour MITF, localisé sur le chromosome 12, semblerait être un candidat intéressant, mais rien n'a encore été prouvé chez la poule domestique (Minvielle et al. 2010).

L'allèle BL*BL est dominant incomplet, il est appelé BL pour blue. Ce variant modifie la forme des eumélanosomes :

- Chez les animaux homozygotes BL*N, l'allèle sauvage, ils sont en forme de bâtonnets avec un phénotype de couleur noire.
- Chez les animaux hétérozygotes BL*BL/BL*N, ils sont arrondis et le phénotype est gris bleuté, comme sur la photo de gauche ci-dessous.
- Chez les animaux homozygotes BL*BL, le phénotype est blanc plus ou moins tacheté de bleu ou de noir, ce qui est nommé « splash » ou « blanc sale », comme sur la photo de droite ci-dessous.



Photographie 13: Poule Hambourg bleue (à gauche). Extrait de Wikimedia Commons (Mabel 2016a). Coq de combat « blanc sale » (à droite). Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (coquerelle, 2000).

❖ La série CHO*N/CHO*CHO

Le gène responsable du phénotype est porté par le chromosome Z. L'allèle récessif est le variant CHO*CHO, avec CHO pour chocolat. Comme il est porté par Z, une femelle porteuse de CHO*CHO exprimera toujours le phénotype.

Il donne un animal à duvet, plumage, bec, tarsi et iris chocolat foncé, comme le montre la photo ci-dessous.



Photographie 14: Couple d'Orpington naines au plumage chocolat. Extrait de la ferme de Beaumont (Ferme de Beaumont 2018a).

❖ La série LAV*N/LAV*LAV

L'allèle récessif autosomal LAV*LAV, avec LAV pour lavande, dilue le rouge doré en chamois-crème, et le noir en gris clair ou perle comme sur la photo ci-dessous.



Photographie 15: Poule de race Orpington au plumage lavande. Extrait de Wikimedia Commons (Wikipedia 2011).

Une substitution dans l'exon 1 du gène *MLPH* est la cause de ce phénotype. En effet, elle perturbe le complexe que la protéine *MLPH* forme avec les protéines *RAB27A* et *MYOSIN5*. Cela diminue la possibilité de translocation des mélanosomes à la périphérie des mélanocytes, et diminue donc son transfert vers les kératinocytes (Vaez et al. 2008).

❖ La série PK*N/PK*PK

C'est une mutation très rare, apparue à deux reprises chez des Plymouth Rock blanches.

Elle est récessive et autosomale, et nommée PK*PK, pour pinkeye. Un animal homozygote PK*PK présente une dilution du noir en bleu grisâtre. Seules les eumélanines sont affectées par ce variant. L'œil est rosé clair en présence de C*C et plus foncé en présence de C*N.

1.3.5.4 Détermination de la présence et de l'étendue de la coloration rouge

❖ La série S*S/S*N/S*AL

C'est un locus situé sur le chromosome Z, ce qui permet le sexage à la naissance dans des croisements appropriés. Il est utilisé dans certaines lignées industrielles.

L'allèle dominant incomplet S*S (S pour silver) donne une couleur argentée au plumage en supprimant l'expression des phéomélanines. Comme c'est une mutation à dominance incomplète, un animal hétérozygote sera argenté avec des traces possibles de doré sur le dos. En présence de CO*N à l'état homozygote, la poitrine des poules ne sera pas argentée mais restera saumonée. Une substitution (Leu347Met) dans le gène *SLC45A2* (ou *MATP*) définit l'allèle S*S pour la plupart des races, sauf la Leghorn blanche, pour laquelle il semblerait qu'une autre substitution (Tyr277Cys) cause ce phénotype. L'inhibition spécifique de la phéomélanine et non de l'eumélanine ne s'explique pas clairement pour l'instant,

étant donné la fonction de ce gène (transport d'enzymes dans le mélanosome ; (Gunnarsson et al. 2007).

Au contraire, avec l'allèle S^*N , qui est l'allèle sauvage, il y a expression des phéomélanines : le plumage peut aller de froment clair à rouge acajou comme le montre la photo de gauche ci-dessous.



Photographie 16: Coqs Sebright à plumage doré (à gauche) et argenté (à droite). Extrait de Wikimedia Commons (Pelardy 2014; Latropox 2012).

Le sexage à la naissance est possible lorsque le père est rouge (S^*N/S^*N) et la mère est argentée (S^*S/S^*S). Comme les femelles héritent du chromosome Z de leur père, elles ont un duvet rouge doré à la naissance. Les mâles, hétérozygotes S^*S et S^*N sont blancs avec un reflet jaunâtre.

L'allèle S^*AL provoque un albinisme imparfait. Il est récessif vis-à-vis des deux autres allèles. Le plumage/duvet est blanc pur à rosé et l'œil est rouge dès la naissance. Cela en fait un allèle également utilisable pour le sexage à la naissance, voire avant par mirage de l'embryon et reconnaissance de la couleur de l'œil (non utilisé pour l'instant). C'est une délétion de 1 pb dans l'exon 1 de *SLC45A2* qui en est la cause. Cela crée un codon stop prématurément, et cause une destruction du transcrit modifié. En conséquence, le passage de la tyrosinase de l'appareil de Golgi aux prémélanosomes est perturbé, puisque *SLC45A2* code pour une protéine membranaire utile au transport (Gunnarsson et al. 2007).

❖ La série MH^*MH/MH^*N

L'allèle autosomal dominant MH^*MH (MH pour mahogany, c'est-à-dire acajou) ne modifie pas la couleur du duvet. Il rend le plumage rouge plus foncé, en réduisant la quantité d'eumélanines sur la poitrine du coq. Chez la poule, il agit de la même manière sur la poitrine, le dos et le dessus des ailes, comme le montre la photo ci-dessous.



Photographie 17: Couple de Rhode Island au plumage rouge acajou. Extrait de Wikimedia Commons (Zahn 2008; HeatherLion 2014).

❖ La série IG^*IG/IG^*N

La mutation est appelée IG, pour inhibitor of gold c'est-à-dire crème.

A l'état homozygote l'allèle récessif autosomique IG^*IG donne un phénotype semblable à l'argenté chez le coq, mais plus chamois jaunâtre chez la poule, comme le montre la photo ci-dessous. Le duvet du jeune est plus clair. IG^*IG ne s'observe pas en présence de E^*E/E^*E (activation constitutive de MC1R).



Photographie 18: Poules porteuses de l'allèle IG^*IG (à gauche) et IG^*N (à droite). Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (Coquerelle, 2000).

1.3.5.5 Détermination des dessins de plumage

❖ La série $B^*SD/B^*B/B^*N/B^*B0$: la barrure liée au sexe

Elle est nommée « barrure liée au sexe » car le gène lié à cette série, *CDKN2 A/B*, est situé sur le chromosome Z. Il code pour la protéine Alternate Reading frame (ARF) qui, par sa liaison avec MDM2, protège le facteur de transcription p53 de la dégradation. Or, p53 inhibe le cycle cellulaire.

Ce variant entraîne l'arrêt de la multiplication des mélanoblastes et une différenciation prématurée des mélanocytes. La réserve de précurseurs s'épuise peu

à peu, et la pigmentation diminue. Comme ce phénomène est cyclique, cela explique l'apparition successive de barrures colorées et blanches.

L'allèle B*N est l'allèle sauvage, présent dans toutes les races colorées non barrées.

Il existe quatre SNP du gène. Ils sont à l'origine de trois allèles : B*B0, B*B et B*SD. Deux de ces SNP, situés dans des régions non codantes, sont communs aux trois allèles. Chez B*B et B*SD, il existe en plus une substitution spécifique à chacun (respectivement V9D et R10C) localisée dans le site de liaison à la protéine MDM2 (Schwochow Thalmann et al. 2017).

L'allèle dominant incomplet B*B se traduit par une tache blanchâtre sur la tête du poussin. Cet allèle permet, en général un sexage à la naissance car la tâche du mâle homozygote B*B est plus large que celle des femelles et ses tarses sont plus clairs, par manque de compensation de dosage. En pratique, cette différence est plus facile à observer sur un fond eumélanique.

Le plumage des adultes est de type « coucou » (si le reste du génome permet une coloration, qu'elle soit noire ou rouge). Chaque plume a alors des bandes transversales blanches, visibles également sur le sous-plumage si celui-ci est foncé. C'est le contraire pour les animaux à barrure autosomale : ce sont des bandes noires sur un plumage à fond blanc ou rouge.

Comme B*B a une dominance incomplète, les bandes des animaux B*B/B*B sont plus larges que celles des animaux B*B/B*N ou B*B (femelles) : les coqs homozygotes sont plus clairs que les femelles, comme le montre la photo de gauche ci-dessous.



Photographie 19: Couple de Marans au plumage coucou. Extrait de Marans Club de rance (Marans Club de France 2017b). Plume au dessin barrure autosomale liée au sexe. Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (Coquerelle, 2000).

L'allèle B*SD, ou dilution liée au sexe, est le plus dominant de la série. Il est peu fréquent. Il induit une coloration bleue barrée chez les hétérozygotes, et une forte dilution donnant un plumage plus ou moins blanchâtre suivant les régions du corps chez les homozygotes, comme le montrent les photos ci-dessous.



Photographie 20: Couple porteur de l'allèle B*SD avec le mâle homozygote et la femelle hémizygote. Extrait de Schwochow Thalmann et al., the evolution of Sex-linked barring alleles in chickens involves both regulatory and coding changes in CDKN2A (Schwochow Thalmann et al. 2017).

L'allèle B*B0, ou dilution extrême liée au sexe, a uniquement été trouvé chez la Leghorn blanche, qui porte l'allèle I*I : le phénotype lié à cet allèle est caché par le blanc dominant. Cependant, il a été prouvé qu'en absence de blanc dominant, il induit une diminution de pigmentation bien plus importante que les deux autres allèles. Un animal B*B0/B*B0 devrait donc être très peu pigmenté. Comme les deux mutations causales de ce variant sont dans des régions non codantes, il semblerait qu'au moins une des deux joue un rôle de cis-régulateur et provoque une surexpression d'*ARF*, et donc une perturbation du cycle cellulaire.

Les substitutions responsables des allèles B*B et B*SD semblent tempérer l'effet cis-régulateur et éviter une trop forte augmentation de l'expression d'*ARF* : cela expliquerait que la diminution de pigmentation soit moins importante avec ces deux allèles. V9D, responsable de l'allèle B*B, contre plus fortement les deux mutations que R10C puisque les animaux porteurs de B*B sont plus foncés que ceux porteurs de B*SD (Schwochow Thalmann et al. 2017).

❖ La série MO*N/MO*MO/MO*PI : le caillouté et le bariolé

Cette série se nomme MO pour mottling, c'est-à-dire moucheture.

L'allèle sauvage, présent chez toutes les races colorées sans taches blanches est l'allèle dominant MO*N.

L'allèle récessif MO*MO donne une tache blanche en bout de plume. Le reste de la plume comporte une zone noire en V sous la tache suivie d'une pigmentation due aux phéomélanines ou eumélanines. Ce plumage est nommé, selon les races concernées et les allèles présents aux loci E et Co : tricolore (Sussex), mille fleurs ou porcelaine (naines belges), comme le montrent les photos ci-dessous.



Photographie 21: Couple de Sussex au plumage tricolore (à gauche). Extrait de la ferme de Beaumont (Ferme de Beaumont 2018b). Poules Sabelpoot au plumage mille fleurs (au centre). Extrait de Wikimedia commons (JvL 2012). Plume au dessin mille fleurs (à droite). Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (coquerelle, 2000).

Si l'allèle E*E est présent, il n'y a pas de phéomélanine : la plume est entièrement noire avec une tache blanche à l'extrémité, la zone en V ne se voit donc pas. Ce dessin se nomme « caillouté » comme sur les photos ci-dessous.



Photographie 22: Poule Hollandaise au plumage caillouté (à gauche). Extrait de Wikimedia Commons (Thomon 2018). Plume au dessin caillouté (à droite). Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (coquerelle, 2000).

Le plumage des adultes va comporter de plus en plus de blanc au fur et à mesure des mues.

L'étendue du noir sur le duvet est diminuée en présence d'E*E ou d'E* R, mais pas des autres allèles du locus E pour lesquels l'animal est moins sombre : il y aura moins d'effet visible.

Selon l'âge de l'animal et l'allèle du locus E, MO*MO se comporte donc comme un allèle récessif. La mutation causale est une substitution dans l'exon 7 du gène *EDNRB2* (endothelin receptor B2), qui perturbe la fonction du récepteur. *EDNRB2* est un récepteur ayant pour ligands les endothélines (EDN1, 2 et 3), et qui a une action sur *MITF*. La mutation modifie donc la migration, la prolifération et la différenciation des mélanocytes (Kinoshita et al. 2014).

L'allèle MO*PI donne un phénotype panaché ou bariolé : sur une même zone du plumage, il peut y avoir des plumes totalement blanches, des plumes colorées et des plumes colorées tachées de blanc comme on le voit sur la photo ci-dessous. Il existe un doute sur le fait que ce phénotype panaché soit bien dû à cet allèle, ou que le responsable soit un locus totalement différent.



Photographie 23: Troupeau de poules Leghorn Exchequer au plumage bariolé. Extrait de Feathersite (Stephenson 2018).

Enfin, un dernier allèle découvert récemment dans la race Minohiki se nomme MO*W, avec un phénotype appelé blanc récessif indépendant de la tyrosinase (en opposition avec le locus C, qui donne un phénotype blanc à cause de mutations sur le gène *TYR*). La mutation causale est une substitution dans l'exon 5 du gène *EDNRB2*.

Les poussins sont plus clairs, avec possiblement une tache brune sur la tête. Les adultes sont entièrement blancs, à l'exception de quelques plumes en partie pigmentées sur la partie dorsale du plumage, comme le montre la photo du milieu ci-dessous (Kinoshita et al. 2014).



Photographie 24: Poules Minohiki porteuses de l'allèle MO*N (à gauche) ou MO*W (au centre). Les flèches montrent quelques plumes faiblement pigmentées. C : plumes d'un animal MO*N (à gauche) et MO*W (au centre et à droite) dessous. Extrait de Kinoshita et al. , endothelin receptor B2 (EDNRB2) is responsible for the tyrosinase-independent recessive white (mow) and mottled (mo) plumage phenotypes in the chicken (Kinoshita et al. 2014).

Le locus PG a été associé à différents types de dessin : la barrure autosomale, le pailleté noir, le perdrix et les liserés simple et double.

Cette mutation se nomme PG pour pattern gene, et le gène responsable semble être situé sur le chromosome 1 mais il n'a pas encore été identifié au niveau moléculaire. L'allèle récessif PG*N permet le pointillé noir diffus observé avec le phénotype sauvage.

L'allèle PG*PG, transforme ce pointillé en trois bandes en ellipse. Elles forment le maillé du plumage perdrix comme le montre la photo de gauche ci-dessous.



Photographie 25: De gauche à droite : poule Brahma au plumage perdrix argenté. Extrait de Wikimedia Commons (Seattle 2008). Plume au dessin perdrix argenté (A) et doré (B). Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (coquerelle, 2000). Poule Fayoumi au plumage à barrure autosomale. Extrait de Wikimedia Commons (Mabel 2016b). Plume au dessin barrure autosomale argentée (A) et dorée (B). Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (coquerelle, 2000).

En présence de DB*DB, ce pointillé se transforme en bandes parallèles de la barrure autosomique, comme le montre la photo de droite ci-dessus. Cela se produit chez les

deux sexes si l'animal est E*R et uniquement chez la femelle si l'animal est E*B. Cette barrure n'est pas visible sur le sous-plumage (contrairement à la barrure liée au sexe).

Si l'animal est E*BC, cela devient la barrure autosomale modifiée.

Chez un animal porteur de PG*PG et de ML*N, des bandes en ellipse sont visibles, dont au moins une borde la plume. Une seule bande est visible si l'animal est porteur de CO*N, ce dessin est alors nommé liseré simple. Si l'animal est porteur de CO*CO, il y aura deux bandes de visible. Le dessin sera nommé liseré double, comme le montre la photo centrale ci-dessous.



Photographie 26: De gauche à droite : plumes au dessin liseré simple, liseré double et pailleté noir. Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (Coquerelle, 2000).

Enfin, l'association de DB*DB, PG*PG et ML*ML forme le pailleté noir, où une tache noire est visible à l'extrémité de la plume comme le montre la photo à droite ci-dessus.

L'influence de ces quatre loci sur les dessins de plumage est résumée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4: Dessin de plumage en fonction du contexte génétique. Inspiré de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (coquerelle, 2000).

Présence de l'allèle	Locus E	PG*PG	DB*DB	ML*ML	CO*CO
Dessin					
Pointillé noir diffus	Tout allèle				
Perdrix	Tout allèle	x			
Barrure autosomale	E*R et E*B	x	x		
Barrure autosomale modifiée	E*BC	x	x		
Liseré simple	Tout allèle	x		x	
Liseré double	Tout allèle	x		x	x
Pailleté noir	Tout allèle	x	x	x	

Tous les loci de dilution ou de restriction de la couleur noire peuvent se combiner avec les dessins de plumage. Par exemple, on peut avoir un plumage 'maillé bleu' avec la mutation PG*PG chez un animal hétérozygote BL*BL porteur de l'allèle E*E eumélanisant.

1.3.5.6 Détermination du dimorphisme sexuel du plumage

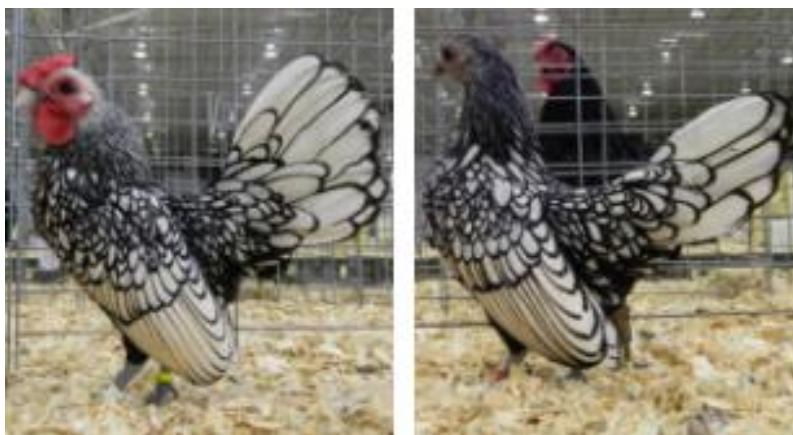
1.3.5.6.1 La structure du plumage : le plumage de poule chez un coq

Les femelles ont non seulement une couleur différente des mâles (en présence de CO*N, voir plus loin), mais également une structuration du plumage différente : les femelles ont des plumes courtes et arrondies à leur extrémité, tandis que les mâles ont les lancettes, les faucilles et les plumes du camail longues et effilées comme le montrent les photos ci-dessous.



Photographie 27: Structure du plumage sexe-dépendante. Extrait de Yu et al., the developmental biology of feather follicles (Yu et al. 2004a).

Il existe une mutation nommée HF*HF pour henny-feathering qui induit une suppression du dimorphisme sexuel du plumage (les animaux des deux sexes ont un plumage de femelle), comme chez ce couple de Sebright visible ci-dessous.



Photographie 28: Couple de Sebright argenté montrant un plumage de femelle chez les deux sexes. Extrait de eXtension (Jacob 2015).

Cela semble être dû à une augmentation d'activité de l'aromatase au niveau des follicules plumeux. Cette enzyme étant responsable de la transformation des androgènes en œstrogènes, sa surexpression entraîne une féminisation du plumage.

Généralement, les coqs hétérozygotes HF*HF/HF*N ont un plumage intermédiaire la première année : mélange de plumes rondes et effilées, et de couleur intermédiaire. Ce sera seulement à deux ans, après la mue, que ces individus auront un plumage identique en tout point à celui des poules, comme les homozygotes.

Il est possible que HF*HF renforce la netteté de la barrure autosomale (Carefoot 2002).

1.3.5.6.2 Suppression du dichromatisme: la mutation Columbian restriction

Ce variant fait partie de ceux restreignant l'étendue du noir, comme le montre la photo ci-dessous.



Photographie 29: Deux frères, porteurs de l'allèle CO*N à gauche et CO*CO à droite. Extrait de COQUERELLE Gérard, les poules: diversité génétique visible (Coquerelle, 2000).

Ce variant restreint l'étendue du noir mais pas celle du rouge. C'est pourquoi, chez certaines races où l'allèle dominant CO*CO est fixé, les animaux sont entièrement rouges, comme le montre la photo de droite ci-dessous.



Photographie 30: A gauche : Couple de Leghorn de type sauvage, porteurs de l'allèle CO*N. Extrait de Wikimedia Commons (De Sousa 2008; Quintin 2006). A droite : Couple de race Nagoya, porteurs de l'allèle CO*CO. Extrait d'Inagaki breeding farm (Inagaki Breeding Farm 2004).

Cette mutation supprime le dichromatisme sexuel, comme le montre la photo de droite ci-dessus. Son action est beaucoup plus marquée chez le coq que chez la poule, puisque les deux sexes ont la même couleur alors qu'en présence de CO*N les coqs ont un phénotype de type sauvage.

Il peut s'exprimer en présence d'E*B, E*N, E*R ou E*WH (dans ce dernier cas le sous-plumage est plus clair). En revanche, lorsque MC1R a une expression constitutive (allèle E*E), l'allèle CO*CO n'a pas d'effet.

De plus, CO*CO semble améliorer la netteté de la barrure liée au sexe en éclaircissant les zones claires, tout en ayant un effet contraire sur la barrure autosomique : il la rendrait moins nette.

Tous les auteurs ne sont pas d'accord sur l'identité des races porteuses de CO*CO. Par exemple, un désaccord existe sur la présence de CO*CO chez l'Andalouse bleue (Coquerelle, 2000). La Fayoumi est également une race où la présence de CO*CO est controversée (Carefoot 2002; Coquerelle 2000). Cependant, la ségrégation du phénotype de la Fayoumi lors de croisements semble effectivement confirmer l'absence de l'allèle CO*CO dans cette race (données non publiées).

La présence de CO*CO dans les races entièrement blanches (comme la Leghorn blanche ou la Gauloise blanche) n'est pas visible, puisque son action est masquée par le blanc dominant. De même, pour les races qui sont entièrement noires à cause de la présence d'E*E, le statut vis-à-vis de CO*CO est inconnu.

Le gène lié à cette série est autosomal, mais il n'a pas encore été identifié. La cartographie et la caractérisation moléculaire de la mutation Columbian Restriction font l'objet de la partie expérimentale de la Thèse (voir ci-après).

2 Partie expérimentale

2.1 Introduction

La lignée utilisée pour l'étude de la mutation Columbian Restriction, nommée cheptel 1, est hébergée à l'élevage expérimental INRA de Tours (unité PEAT). L'allèle CO*CO y est en ségrégation depuis 1967. L'intervalle de génération dans cette lignée est d'un an.

C'est une lignée composite issue d'un croisement entre plusieurs races :

- Rhode Island rouge
- Combattant indien
- Gâtinaise
- Sussex
- Marans
- Wyandotte
- Ardennais nain

L'allèle CO*CO semble originaire de la Rhode Island rousse dans laquelle il est fixé, comme le montre la photo ci-dessous.



Photographie 31: Couple de Rhode Island au plumage rouge acajou. Extrait de Wikimedia Commons (Zahn 2008; HeatherLion 2014).

Son expression dans la lignée de l'INRA donne une pigmentation identique aux poules et aux coqs, et diminue la couleur noire au niveau de la poitrine des animaux. La différence de pigmentation est beaucoup moins visible au niveau du dos, comme le montrent les photos ci-dessous.



Photographie 32: Phénotype d'animaux de la lignée INRA. A gauche: poitrine et dos d'un individu de type sauvage. A droite: poitrine et dos d'un individu de type Columbian. Photos de GOURICHON David, VIEAUD Agathe et BRUNEAU Nicolas.

L'analyse de la transmission héréditaire des profils de coloration au sein des différentes familles de la lignée suggère que la mutation Columbian Restriction serait autosomale avec un effet dominant.

Plusieurs hypothèses ont été émises concernant son mode d'action :

- Les allèles dominants ont souvent tendance à provoquer une activation du gène : un seul allèle muté suffit à en augmenter l'expression, ou conduisent parfois à un gain de fonction, qui s'observe avec une seule copie mutée. A l'inverse, les allèles récessifs inhibent plus généralement l'expression du gène

ou inactivent la fonction de la protéine, car la présence d'un seul allèle sauvage suffit dans ce cas à maintenir le niveau d'expression et la production d'une protéine active. Comme la mutation *Columbian Restriction* a un effet dominant, il est probable que son action provoque une plus grande expression du gène ou entraîne un gain de fonction.

- Ce gène pourrait être régulé par les hormones sexuelles : l'action des œstrogènes expliquant le dichromatisme sexuel observé habituellement, sa suppression par l'allèle *CO*CO* pourrait être médiée par une régulation de l'effet des hormones sexuelles sur les mélanocytes.
- L'allèle *CO*CO* inhibe la synthèse d'eumélanine de façon régionale: le gène responsable de ce phénotype pourrait donc être un antagoniste de *MC1R* (une plus grande expression de ce gène empêcherait la synthèse de pigments noirs).

Ces différentes hypothèses orientaient vers un gène candidat, connu pour être à la fois un antagoniste de *MC1R* et régulé par les hormones sexuelles : *ASIP*.

Des travaux initiaux ont donc consisté à génotyper des SNPs de ce gène chez des animaux de la lignée INRA porteurs de *CO*CO* ou de *CO*N*. Malheureusement, aucune association entre ces variants, *ASIP* et les génotypes prédits au locus *Columbian Restriction* n'a pu être mise en évidence (données non publiées).

En l'absence d'autres gènes candidats évidents, une étude d'association pangénomique a été réalisée pour localiser la région du génome où serait le locus associé à *Columbian*.

Tous les résultats de primo-localisation décrits ci-dessous étaient déjà disponibles lorsque cette thèse a été initiée: j'ai d'abord refait ces analyses afin de m'approprier les méthodes et le sujet et mon apport personnel a consisté à diminuer la taille de la région candidate et à étudier l'expression des gènes connus dans cette région. Cela m'a conduit à identifier un petit nombre de gènes candidats, dont le niveau d'expression selon le phénotype a été mesuré par PCR quantitative. Enfin, en parallèle de ces études, les données de séquençage d'une race où l'allèle *CO*CO* était fixé ont été comparées à celles de races où l'allèle *CO*N* était fixé pour essayer de déterminer le/s SNP/s causal/aux de *Columbian*.

L'enchaînement de ces expériences est résumé dans la figure ci-dessous.

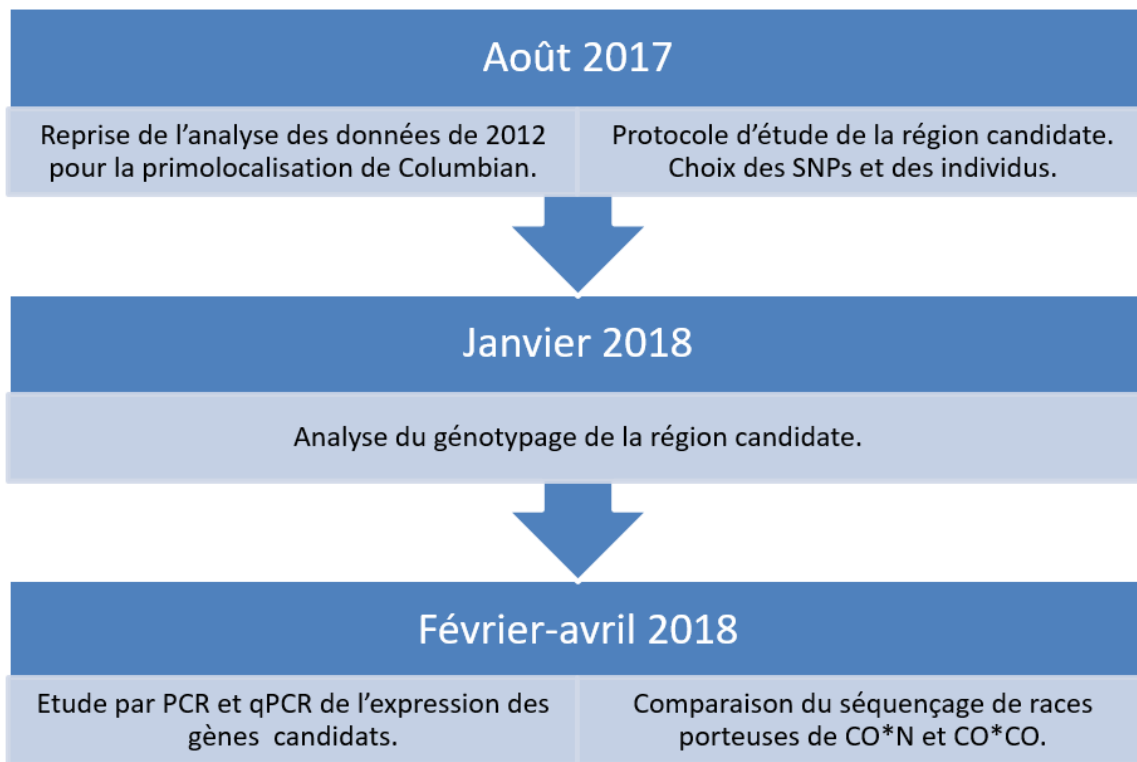


Figure 33: Chronologie des travaux de recherche portant sur Colombian restriction.

2.1.1 Matériel et méthodes

2.1.1.1 Primolocalisation de la région candidate

Les animaux génotypés sont issus de la lignée INRA déjà mentionnée. A chaque génération, les animaux sont photographiés et un prélèvement sanguin est réalisé à l'âge de 8 semaines.

Les familles sélectionnées en priorité avaient la structure suivante (de type « back-cross ») :

- L'un des parents était hétérozygote CO*N/CO*CO et l'autre parent était homozygote CO*N/CO*N.
- Les descendants étaient donc soit hétérozygotes CO*N/CO*CO (fréquence théorique attendue 50%) soit homozygotes CO*N/CO*N (fréquence théorique attendue 50%).

Au moins une famille avait une structure de type hétérozygote x hétérozygote, car des descendants homozygotes CO*CO ont été retrouvés à l'issue de l'étude.

127 animaux nés en 2010 ainsi que 22 animaux nés en 2009 (les 16 mères et 6 pères des 127 animaux de 2010) ont été sélectionnés. 69 étaient de phénotype Columbian et 80 de phénotype sauvage. Il y avait 68 mâles et 81 femelles.

Les SNPs de cette étude proviennent d'une puce 6K dont les 6 000 SNPs ont été choisis pour un autre protocole de détection de QTL.

Le logiciel utilisé pour l'analyse et le traitement des données est PLINK version 1.9.

Pour toutes les instructions PLINK, les commandes `-dog` et `-allow-no-sex` ont été appliquées, car le logiciel considère par défaut que les données proviennent d'un génome humain. La commande `-dog` permet au logiciel de prendre en compte des numérotations de chromosomes supérieures à 23. La commande `-allow-no-sex` permet de prévenir les erreurs du logiciel dues au fait que c'est la femelle qui est hémizygote chez *Gallus gallus*, au contraire de l'homme.

Les résultats ont été visualisés avec R, version 3.4.1. Les packages utilisés sont :

- Qqman version 0.1.4 pour la création du manhattan plot et du diagramme quantile-quantile des p-values
- Scatterplot3d version 0.3-40 pour la visualisation en 3D des familles génétiques

Des données de génotypage étaient disponibles pour 5314 SNPs.

Avant analyse, des contrôles pour s'assurer de la qualité et de la fiabilité de l'échantillonnage et des génotypes reçus ont été effectués.

➤ **Contrôle du sexe**

La correspondance entre le sexe phénotypique et le sexe génotypique des individus a été vérifiée par mesure de l'hétérozygotie du chromosome Z. Les femelles ne possédant qu'un seul chromosome Z sont en effet censées être homozygotes pour tous les marqueurs de ce chromosome.

C'était bien le cas pour nos animaux, comme le montre le graphique ci-dessous (toutes les femelles sont homozygotes et les mâles ont des niveaux d'hétérozygoties variables).

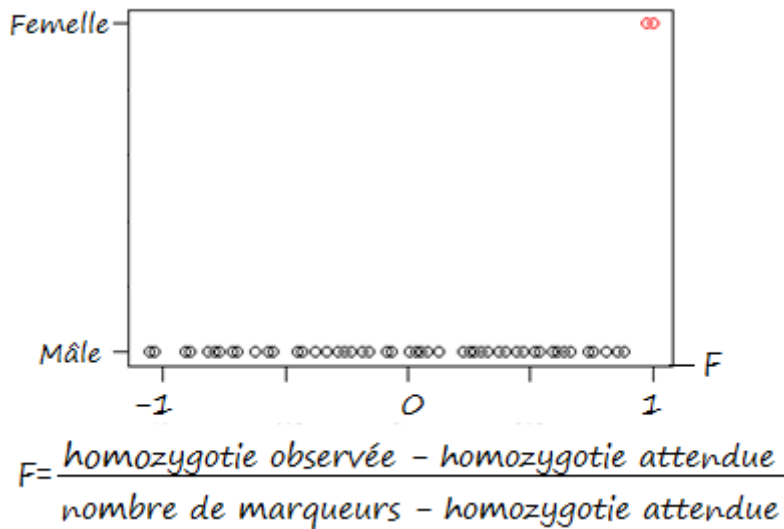


Figure 34: Graphique représentant le rapport entre le niveau d'homozygotie attendue et observée, en fonction du sexe, pour chaque animal.

Rouge =femelles ; noir = mâles

➤ **Contrôle du pedigree**

Un contrôle de parenté est effectué par vérification de la compatibilité des allèles de la descendance avec ceux des parents. Le chromosome sexuel est exclu de cette analyse puisque PLINK ne tient pas compte de son mode de transmission particulier pour les espèces autres que l'Homme.

Un descendant a été trouvé incompatible avec ses parents. Cet animal n'ayant visiblement pas la bonne filiation, il sera noté comme étant de parents et de famille inconnus dans la suite de l'étude.

➤ **Stratification de la population**

Les individus ont été répartis en 6 familles en se basant sur la paternité puisque certains individus sont de mères différentes mais ont le même père. Une analyse en trois dimensions de la distance génétique entre ces familles est présentée ci-dessous.

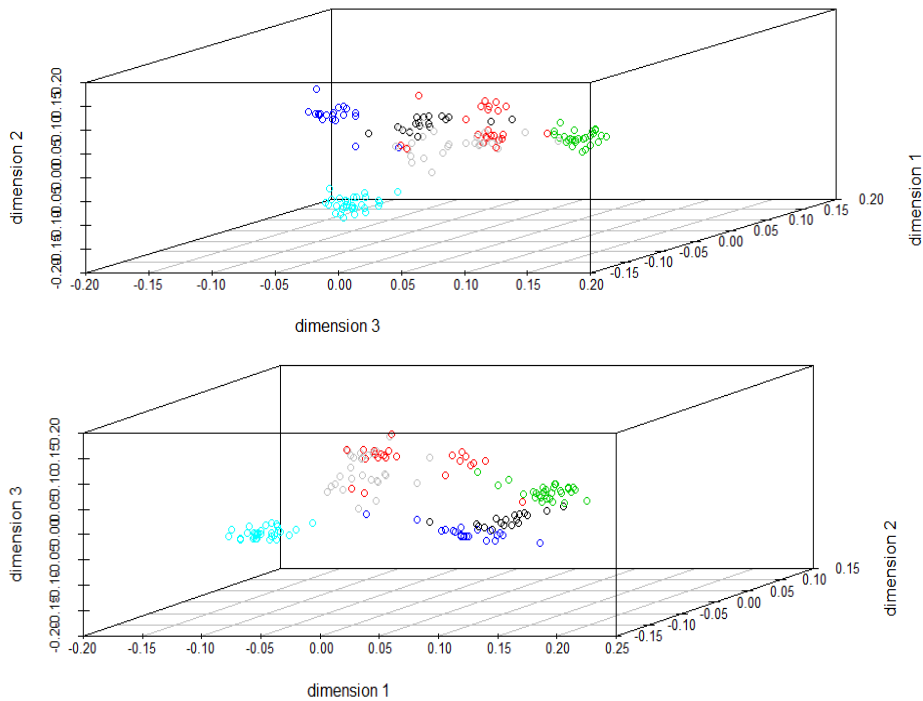


Figure 35: Distance génétique entre les familles de l'étude décrite dans 3 dimensions. En haut et en bas: graphique en 3D vu sous deux angles différents.

Cette représentation a été obtenue par positionnement multidimensionnel (ou MDS multidimensional scaling) de la matrice contenant les données d'identité par état (ou IBS, identical by state) de tous les individus comparés deux à deux.

Elle montre que deux familles (en bleu clair et en vert sur le schéma) sont plus éloignées génétiquement des quatre autres.

L'analyse sera donc conduite en prenant en compte la structure familiale de la population.

- **Qualité des marqueurs**
 - **Taux de génotypage**

Suite à des problèmes techniques lors du génotypage, les données d'un grand nombre d'échantillons peuvent manquer pour un SNP donné. Il est nécessaire d'éliminer ces marqueurs de qualité médiocre car ils n'apportent aucune information voire une information erronée et risquent de biaiser les résultats de l'étude d'association.

Tous les SNPs ayant plus de 2% de génotypes manquants ont donc été éliminés de l'étude. Ce seuil de 0,02 permet l'élimination des marqueurs ayant eu des problèmes de génotypage, mais de conserver ceux pour lesquels les quelques données

manquantes sont dues à la mauvaise qualité d'un échantillon donné (Turner et al. 2011; Taing 2012). 171 marqueurs ont été enlevés de l'étude, dont 110 pour lesquels il manquait la totalité des génotypes.

- Anomalies de transmission mendélienne

Le contrôle des anomalies de transmission mendélienne permet aussi un contrôle de la qualité du génotypage des SNP. La cause de l'erreur sera imputée à un mauvais génotypage du marqueur plutôt qu'à une erreur de filiation de l'échantillon lorsque, pour un même marqueur:

- On compte plus de 2 erreurs de transmission mendélienne
- Les individus concernés ont moins de 0,1% de leurs marqueurs présentant ce type d'erreur.

9 marqueurs ont ainsi été exclus de l'analyse.

➤ **Contrôle de l'information apportée par les marqueurs**

Pour un SNP, s'il existe un seul allèle dans la population étudiée, il est impossible de savoir si la présence de cette allèle est corrélée à la présence du variant CO*CO : c'est un marqueur dit « non informatif ». Un marqueur sera informatif si deux allèles sont en ségrégation dans la population étudiée.

Tous les SNPs dont la fréquence d'un des allèles était inférieure à 1% ont été écartés de l'étude : 1611 marqueurs non informatifs ont été ainsi exclus.

➤ **Equilibre de Hardy-Weinberg**

Un écart trop important à l'équilibre de Hardy Weinberg, pour un marqueur donné, peut être le signe d'un génotypage de mauvaise qualité pouvant gêner l'interprétation finale.

Cependant, cet écart révèle pour certains marqueurs une association avec le phénotype recherché. Notamment, tous les marqueurs en fort déséquilibre de liaison avec la mutation CO*CO devraient être à l'état hétérozygote chez les descendants Columbian. Ce sont ces SNPs que nous souhaitons identifier, il ne faut donc pas les éliminer. C'est pourquoi seuls les 80 animaux de type sauvage ont été choisis pour cette analyse. Les SNP localisés sur le chromosome sexuel Z n'ont pas été considérés dans cette analyse.

Cet écart à l'hétérozygotie se visualise grâce à la distribution de l'indice de fixation F , ou $F_{IS} = 1 - h_o/h_e$, avec h_o = fréquence d'hétérozygotes observée et h_e = fréquence d'hétérozygotes attendue (Wright 1969).

Si la distribution est centrée sur $F=0$, la distribution des marqueurs ne présente pas d'écart global à l'hétérozygotie, c'est une population en parfait équilibre d'Hardy Weinberg.

En revanche, une distribution décalée vers les valeurs négatives signe une hétérozygotie excédentaire. C'est le cas sur le graphique ci-dessous, qui représente la distribution de F des SNPs conservés pour l'étude.

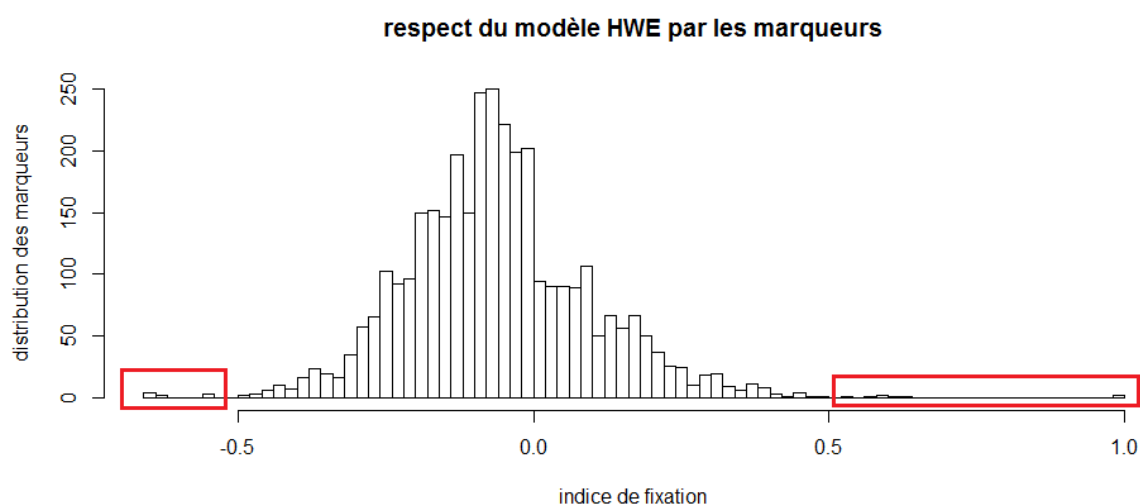


Figure 36: Respect du modèle de HWE pour les SNPs sélectionnés pour l'analyse. En rouge: $|F| > 0,5$ (SNP exclus de l'analyse).

Cette hétérozygotie excédentaire est due au retrait de tous les marqueurs non informatifs, qui étaient tous homozygotes par définition. Normalement, une population fermée et sélectionnée depuis des années, et donc consanguine, présente un déficit en hétérozygotes (Ahmed et al. 2010).

17 SNPs ont été éliminés, ils sont encadrés en rouge dans le graphique ci-dessus. Le seuil d'exclusion appliqué est : $|F| > 0,5$.

➤ Contrôle du génotypage des échantillons

Il peut arriver que l'ADN d'un échantillon ait été partiellement dégradé au cours du stockage ou lors d'un problème d'expérimentation. Il y aura dans ce cas de nombreux SNPs non génotypés pour cet individu, et un risque de mauvais génotypage pour les autres. Les échantillons pour lesquels les génotypes de plus de

2% des SNPs sont manquants devraient être éliminés. Ce ne fut le cas pour aucun échantillon de notre dispositif.

➤ **Bilan des contrôles**

Après contrôles, 3506 SNPs et 149 individus ont été analysés.

3,7% des SNPs ont été éliminés suite aux contrôles qualité, et 34% parce qu'ils étaient non informatifs dans notre dispositif. 69 individus étaient de phénotype Columbian et 80 de type sauvage, répartis en 6 familles.

2.1.1.2 Cartographie fine du locus Columbian Restriction

➤ **Sélection des individus**

Cette étude a été réalisée en 2017 sur la même lignée de l'INRA que celle précédemment utilisée. L'allèle CO*CO a été maintenu en ségrégation pendant 7 générations supplémentaires entre les deux séries de travaux. Comme des recombinaisons sont attendues de manière aléatoire à chaque reproduction, l'objectif de l'échantillonnage était de détecter ces recombinaisons dans la région de CO afin de réduire l'intervalle de la région candidate.

190 animaux nés entre 2012 et 2017 ont été sélectionnés en appliquant les critères suivants :

- Choix de familles de type « back-cross » (cf paragraphe 12) avec des descendants des deux phénotypes.
- Confirmation du phénotype par examen des photographies individuelles.
- Nombre plus élevé d'individus génotypés que précédemment.

L'organisation de la population est donc un peu plus complexe que précédemment étant donné que certains individus sont à la fois géniteurs et descendants.

➤ **Sélection des marqueurs**

Deux sœurs issues de l'étude précédente ont été génotypées sur une puce à haute densité de 600K (Kranis et al. 2013) en 2014 (données non publiées). L'une était homozygote CO*CO, et l'autre homozygote CO*N.

A partir de ces données, une sélection de SNPs situés dans la région candidate et informatifs pour ces deux animaux a pu être effectuée.

Le but était de minimiser la probabilité d'obtenir des marqueurs non informatifs dans l'étude. 192 SNPs ont ainsi été génotypés par chimie KASPar (Fluidigm).

➤ Vérification de la qualité des marqueurs

Etant donné le petit nombre de SNPs, les génotypes définis par l'algorithme du logiciel Fluidigm SNP Genotyping Analysis ont été vérifiés individuellement pour chaque marqueur. Ce contrôle permet d'améliorer la qualité du génotypage, et donc d'éviter l'exclusion de certains marqueurs de l'étude lors de l'application de filtres comme ceux précédemment utilisés.

Comme les SNPs étudiés sont proches les uns des autres, les marqueurs voisins sont en déséquilibre de liaison: si plusieurs animaux sont hétérozygotes pour un SNP et homozygotes pour ses deux voisins, cette différence est certainement due à un mauvais génotypage du SNP par l'algorithme, peut-être parce que l'un des deux fluorophores a mal fonctionné.

Un exemple de définition du génotype pour un marqueur est représenté ci-dessous, avec à gauche le résultat fourni par le logiciel et à droite le résultat après contrôle.

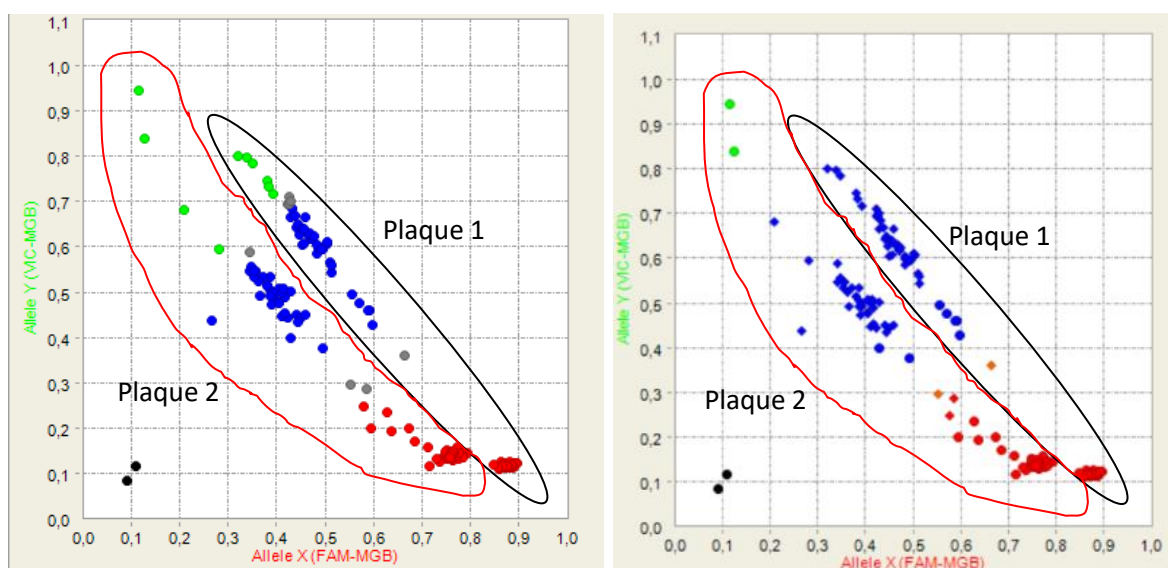


Figure 37: Graphiques représentant le niveau de fluorescence d'un SNP pour chaque allèle par échantillon. Entouré en rouge : échantillons sur la plaque de génotypage 2. Entouré en noir : échantillons sur la plaque de génotypage 1.

A gauche: génotypes des échantillons définis par l'algorithme du logiciel. A droite: génotype des échantillons du même SNP après relecture manuelle.

En vert: échantillons génotypés Y/Y. En rouge: échantillons génotypés X/X. En bleu: échantillons génotypés X/Y. En gris: échantillons au génotype non déterminable par le logiciel. En orange : échantillons au génotype non déterminable après relecture. En noir : échantillons de H2O, témoins négatifs.

Deux plaques ont été utilisées pour le génotypage. Un fort effet plaque est notable pour certains marqueurs, notamment celui ci-dessus. Cet artefact n'a pas modifié l'analyse des données.

Les SNPs non interprétables ont été éliminés de l'étude. Il peut s'agir de SNPs pour lesquels aucune fluorescence n'a été détectée, comme sur le graphique de gauche ci-dessous, ou ceux pour lesquels les trois groupes de génotype étaient indistincts, comme sur le graphique de droite ci-dessous.

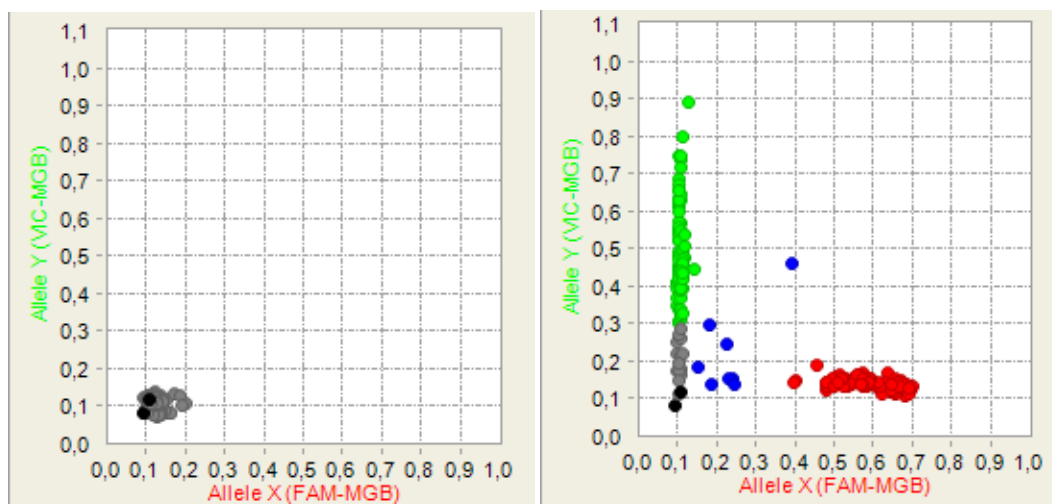


Figure 38: Graphique représentant le niveau de fluorescence pour chaque allèle par échantillon.

En vert: échantillons génotypés Y/Y. En rouge: échantillons génotypés X/X. En bleu: échantillons génotypés X/Y. En gris: échantillons au génotype non déterminable par le logiciel. En noir : échantillons de H₂O, témoins négatifs. A droite : SNP AX-75950987, pas de groupes distincts détectables. A gauche : SNP AX-75952547, pas de fluorescence détectée.

Lorsque la fluorescence n'est pas détectée, cela peut être dû à un problème d'hybridation des sondes, ou au fluorophore associé qui n'émet pas. Au total, 21 SNPs ont été éliminés.

De plus, certains échantillons ont posé des problèmes récurrents de génotypage, certainement dus à une qualité médiocre de l'ADN. Pour ce motif, 7 individus ont été écartés de l'analyse.

➤ **Contrôle de la qualité du dispositif**

Tous les marqueurs sélectionnés pour l'étude étaient informatifs.

Lors du contrôle du pedigree, un parent était incompatible avec sa descendance. Deux marqueurs ont été enlevés de l'analyse car ils contenaient plus de 2% d'erreurs mendéliennes.

Etant donné que la région qui nous intéresse est étroite et associée au phénotype, la distance génétique entre les individus est liée au phénotype columbian, et ne permet

donc pas de visualiser les liens de parenté comme dans l'étude précédente. Cette distance génétique est représentée ci-dessous.

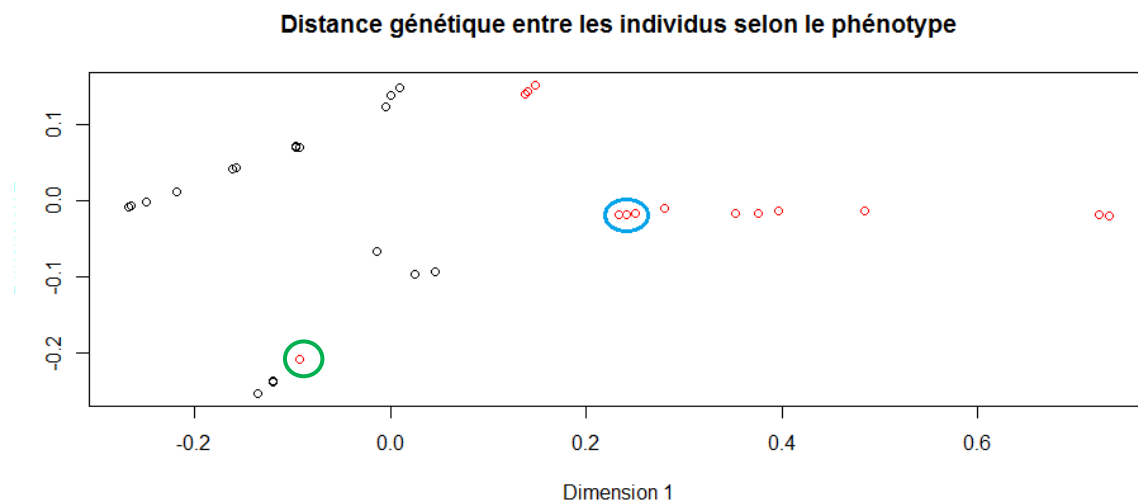


Figure 39: Distance génétique entre les individus selon leur phénotype, décrite en deux dimensions.

En noir : individus de type sauvage. En rouge : individus porteurs de CO*CO. Entouré en bleu : 4 individus notés de phénotype sauvage, non visibles car situés au même endroit que des animaux CO*CO. Entouré en vert : individu noté de phénotype Columbian.

Les trois animaux entourés en bleu sur le graphique ci-dessous sont notés homozygotes CO*N dans le dispositif.

Leur génotype est pourtant équivalent à ceux des individus porteurs hétérozygotes de CO*CO. Un autre individu entouré en vert est noté de phénotype Columbian, mais son génotype est similaire aux animaux de type sauvage (homozygotes CO*N).

Le phénotype de ces animaux a été soumis à une nouvelle évaluation visuelle (sur photo), et une erreur de phénotypage semble probable. Les phénotypes de ces animaux ont donc été modifiés pour la suite de l'étude.

2.1.1.3 Etude d'expression des gènes candidats

➤ Prélèvement des échantillons

Les animaux utilisés pour cette étude sont des adultes âgés de 1 an. Ce sont les reproducteurs de l'année 2018 issus de la lignée INRA précédemment utilisée.

Les prélèvements ont été réalisés en deux campagnes.

○ Première campagne de prélèvements

10 animaux ont été prélevés : 3 animaux de type Columbian et 2 animaux de type sauvage de chaque sexe.

Les prélèvements ont été réalisés dans les 15 minutes suivant la mise à mort de l'animal de façon à éviter la contamination par des RNAses et la dégradation des ARN.

Sur chaque animal, 8 prélèvements ont été effectués et traités comme le montre la figure ci-dessous.

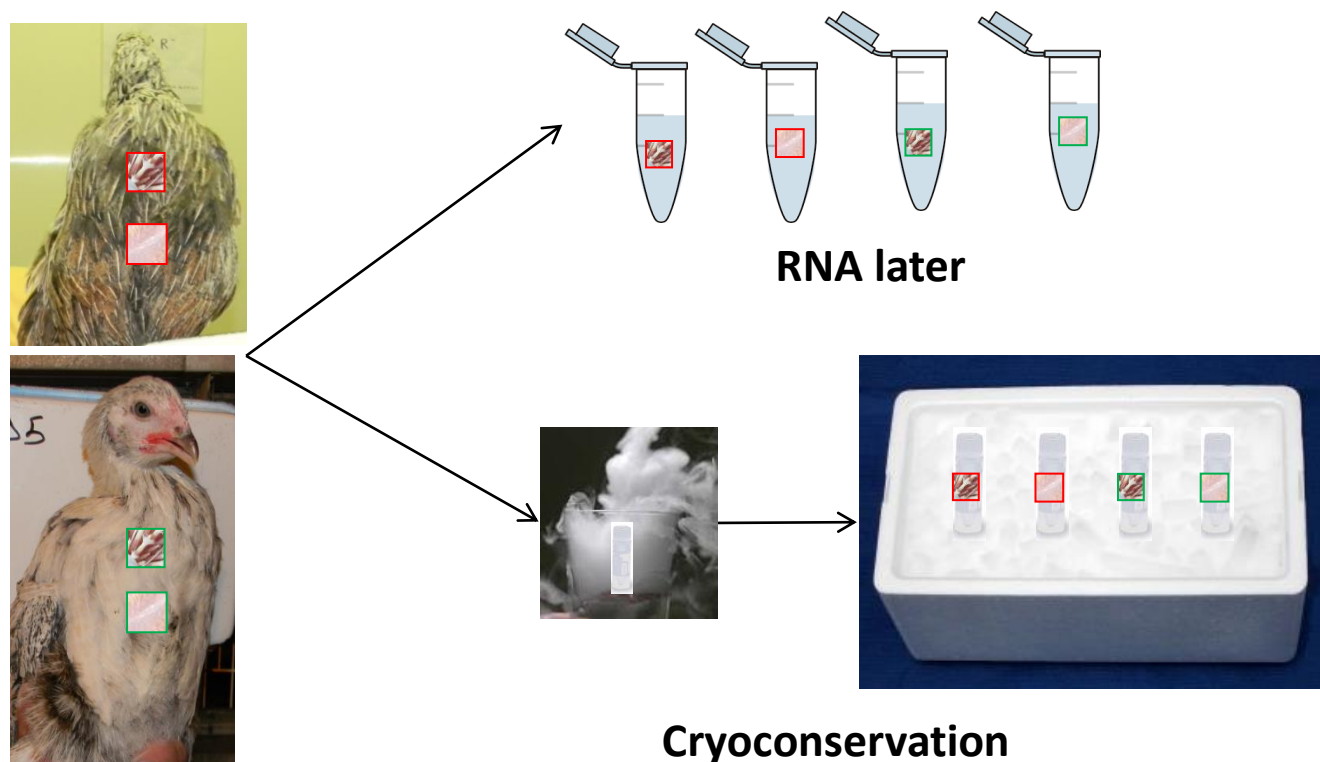


Figure 40: Protocole de prélèvement des échantillons sur un animal lors de la première campagne.

Pour chaque animal, deux follicules de plume en croissance ont été prélevés sur la poitrine et deux sur le dos, ainsi que deux morceaux de peau ne contenant pas de follicule sur chaque région du corps.

Les morceaux de peau étaient de 5 mm de diamètre maximum, et le follicule plumeux était disséqué de manière à conserver la papille dermique et la pulpe.

La nature des prélèvements a été définie sur la base des hypothèses suivantes :

- Le SNP causal de CO*CO modifie le niveau de transcription du gène associé.
- L'expression du gène associé à CO*CO devrait varier au niveau du follicule plumeux de la poitrine entre les animaux de type sauvage et ceux porteurs du variant, puisque le phénotype diffère dans cette région.
- L'expression du gène associé à CO*CO ne devrait pas varier au niveau du follicule plumeux du dos entre les animaux de type sauvage et ceux porteurs du variant, puisque le phénotype ne diffère pas dans cette région.
- L'expression du gène associé à CO*CO pourrait varier au niveau du follicule plumeux de la poitrine entre les mâles et les femelles de type sauvage, mais devrait être identique entre les mâles et les femelles de type Columbian.

Etant donné qu'une dissection fine du follicule plumeux n'est pas possible dans les conditions de prélèvement (délai de 15 minutes post-mortem trop court), de la peau est toujours présente autour du follicule prélevé.

L'étude de l'expression des gènes candidats sur la peau nue permet de s'assurer que sa présence n'influencera pas le résultat de cette étude. De plus, elle peut être utilisée comme tissu témoin pour étudier la spécificité tissulaire de l'expression des gènes.

La solution de préservation de RNAlater doit pénétrer au cœur des tissus très rapidement pour stopper la dégradation de l'ARN. Nous avons une incertitude au sujet de la vitesse de pénétration du liquide au cœur du follicule plumeux car la gaine kératinisée présente autour pourrait être un obstacle. Cependant, l'utilisation de RNAlater est intéressante car une des possibilités envisagées est l'étude séparée de l'expression des gènes dans la pulpe de la plume et au niveau du bulbe du collier. Cela nécessite une dissection du follicule plumeux avant l'extraction de l'ARN. Si cette opération est réalisée au moment du prélèvement, le temps nécessaire risque de conduire à la dégradation de la qualité des ARN à cause des RNAses. Il faut donc protéger les ARN par conservation dans le RNAlater avant de procéder à la dissection.

Deux modes de conservation ont donc été utilisés, afin de s'assurer d'avoir au moins un échantillon ayant une qualité d'ARN exploitable :

- Echantillon plongé dans le RNAlater® aussitôt après le prélèvement, puis conservation à +4°C.
- Echantillon plongé dans l'azote liquide pour une congélation immédiate des tissus et conservation dans de la glace carbonique le temps du transport. Conservation à -80°C.

- Deuxième campagne de prélèvement

16 animaux ont été prélevés, soit :

- 6 femelles de type CO*CO
- 4 femelles de type sauvage
- 4 mâles de type CO*CO
- 2 mâles de type sauvage

Le but était d'obtenir des échantillons pour 6 animaux par catégorie au total. Cependant, ce nombre n'a pas pu être atteint pour des raisons pratiques. Il n'y avait par exemple que 4 mâles de type sauvage disponibles pour les prélèvements (deux ont été prélevés à chaque campagne).

Lors de cette seconde campagne, trois follicules plumeux en croissance ont été prélevés sur le dos et trois sur la poitrine de chaque animal, ainsi qu'un morceau de foie inférieur à 50 mg comme tissu témoin. Chacun de ces follicules plumeux a été mis individuellement dans des cryotubes et plongé dans de l'azote liquide puis conservé dans de la glace carbonique pour le transport.

➤ Extraction d'ARN

L'ARN total a été extrait par utilisation du kit Nucléospin® RNA (Macherey-Nagel), après broyage à l'Ultraturrax des échantillons. Le broyat a été réalisé dans un mélange de 350 µL de tampon de lyse appelé « RA1 » et de 3,5 µL de β-mercaptoéthanol.

Les étapes suivantes sont :

- Filtration sur colonne.
- Précipitation par de l'éthanol 70%.
- Fixation sur colonne.
- Digestion de l'ADN résiduel.
- Récupération de l'échantillon d'ARN total.

La pureté et la quantification de l'ARN total suite à l'extraction ont été estimés à l'aide du Nanodrop, qui est un spectrophotomètre mesurant l'absorbance de l'échantillon pour la comparer à celle des acides nucléiques. L'ARN absorbe vers 260 nm, les protéines purifiées vers 280 nm et les contaminants possibles comme les alcools vers 230 nm.

Seuls les échantillons ayant un ratio A260/A280 supérieur à 1,8 (qui indique l'absence de protéines) et un ratio A260/A230 supérieur à 2 (qui indique l'absence de contaminants tels que l'éthanol, phénol, etc.) ont été conservés (Sambrook et al. 1989).

Lorsque l'échantillon était un follicule plumeux et que sa concentration était inférieure à 5 ng/ µL, celui-ci n'était pas conservé. L'ARN total d'un prélèvement identique du même animal était alors extrait.

Lorsque l'échantillon avait une concentration inférieure à 40 ng/µL, une précipitation par l'éthanol suivie d'une mise en solution dans un volume plus petit a permis de concentrer l'ARN. La nouvelle concentration des échantillons a ensuite été mesurée au Qubit, qui est un fluoromètre. Un colorant qui devient fluorescent par liaison à l'ARN est ajouté à l'échantillon. L'intensité du signal est alors directement proportionnelle à la quantité d'ARN que contient l'échantillon. La comparaison de l'échantillon et de standards permet donc de déterminer la concentration d'ARN total dans l'échantillon.

Au total, 2 échantillons issus de mâles de chaque phénotype ont été précipités.

La qualité de l'ARN total a été mesurée au Bioanalyseur par électrophorèse capillaire sur puce, à l'aide du kit Agilent® RNA 6000 Nano (Agilent). Un facteur d'intégrité, ou RIN (RNA Integrity Number) est calculé par l'algorithme de l'appareil à partir de l'ensemble de l'électrophorégramme de l'échantillon. Seuls les échantillons ayant un RIN supérieur à 8 ont été conservés.

Avant réalisation de la transcription inverse (RT) des ARN, les concentrations de tous les échantillons ont été mesurées au Qubit.

L'ARN extrait a été conservé à -80°C jusqu'à utilisation.

➤ Synthèse d'ADNc

A partir de 320 ng de matériel total, la synthèse de l'ADN complémentaire (ADNc) a été réalisée à l'aide du kit Superscript® III First-Strand Synthesis System (Thermo Fischer) dans un volume de 20 µL. La quantité de matériel total a été définie selon la plus petite quantité d'ARN total qui a été extraite d'un échantillon. Les étapes de la transcription inverse ont été :

- Dénaturation (65°C - 5mn).
- Appariement avec des hexanucléotides aléatoires (25°C – 10 mn).
- Synthèse de l'ADNc par une transcriptase reverse (50°C - 50 mn).
- Arrêt de la synthèse par dénaturation de l'enzyme (85°C – 5 mn).
- Digestion de l'ARN résiduel par une RNase (37°C – 20 mn).

➤ Création de couples d'amorces

Les gènes dont l'expression a été mesurée par qPCR sont :

- Les 6 gènes candidats : *LOC17051998*, *LOC101751137*, *LOC107052000*, *RBBP8*, *TMEM241* et *CABLES1*
- *HPRT1*, utilisé comme gène référence pour la normalisation des résultats obtenue en qPCR. Il avait déjà été validé comme gène référence dans une précédente expérience chez *Gallus gallus*, mais sur des tissus différents que ceux étudiés ici.
- *MITF*, comme marqueur de présence des mélanocytes.

Les amorces ont été dessinées à l'aide de Primer-BLAST (Ye et al. 2012), et leur existence dans les autres bases de données a été confirmée à l'aide des outils BLAST et BLAT d'Ensembl (Zerbino et al. 2018), ainsi que de l'outil BLAT d'UCSC (Kent 2002) . Les séquences des amorces sont détaillées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5: Amorces utilisés pour la PCR et la qPCR. *=amorce à cheval entre deux exons.

Gène	Forward	Reverse	Taille amplicons	Exons cibles
<i>LOC17051998</i>	TACTTGCTGCTACCTTCC AGG	ATGCTTCCAGCAGTCATT TTCG	143	1
<i>LOC101751137</i>	TTGTACATTAGGACAGCG GG *	CTTGCTCACTGGTTGGTG ATG	102	1 à 3
<i>RBBP8</i>	ACACAAGCGAGCAGTCAT CA	GGACACTCTGGGACTCG GAT *	190	8 à 10
<i>LOC107052000</i>	TGGGGTGACACAGTATAG TCAG *	CAACTCTACGGAGCGAC GTT	139	1 et 2
<i>CABLES1</i>	ATGCAGGAAGTGACCTG GGA*	GCGCATTTCTCTCTTCAA GCTTCTT*	236	4 et 5
<i>TMEM241</i>	TCCCTTATGTGACACGCA GTT*	GCACTGAAGAGATCACCT GCT *	201	8 à 13
<i>MITF</i> (Deux signaux présents)	TGGCTATGCTCACCTCA AC	TCCCAGACACTGGTAACG TAT *	234	5 et 6
<i>MITF</i> (un signal commun à tous les ARNm)	TGGCAAATACGTTACCAG TGTCT*	CAGTGCTCTCGCTTCTGA CT	281	5 à 7

➤ PCR

La réalisation d'une PCR classique avait pour but:

- De valider le fonctionnement des amorces.
- De détecter une forte différence d'expression liée à Columbian.

La première réaction réalisée devait valider la quantité de matrice de départ : vérifier si une quantité de 320ng de matrice d'ADNc était suffisante pour obtenir un résultat.

Dans cette réaction, l'expression de *CABLES1* et de *MITF* a été évaluée. Les échantillons testés sont :

- 320 ng d'ADNc issus d'un follicule plumeux de poitrine d'une femelle de type sauvage.
- 320 ng d'ADNc issus d'un follicule plumeux de dos de la même femelle de type sauvage.
- 320 ng d'ADNc issus d'un follicule plumeux de poitrine d'une femelle de type Columbian.
- 320, 500 et 750 ng d'ADNc issus d'un follicule plumeux de poitrine d'une femelle de type Columbian.

Il a été choisi de ne pas tester de follicule plumeux du dos de la femelle Columbian, car le but de cette expérience était la validation de la quantité de matrice et non pas l'évaluation des différences d'expression entre les tissus.

Lors de la deuxième PCR, l'expression de tous les gènes candidats, de *MITF* et de *HPRT1* ont été testées. Elle a été réalisée à partir de 320 ng de matrice issue :

- Du foie d'une femelle de type sauvage.
- Des deux follicules plumeux de poitrine ayant été utilisés lors de la précédente PCR.

Les réactions de PCR ont été préparées dans un volume total de 10 μ L, à partir de 1 μ L de matrice, 0,1 μ L de chaque amorce à 100 μ M, 5 μ L de kit QIAGEN® Multiplex PCR Kit et 3,8 μ L d'eau pure.

Le résultat a été visualisé par électrophorèse suite à une migration de 10 μ L de la réaction de PCR et de 2 μ L de tampon de charge 15x sur un mélange de gel d'agarose à 2.5% et de TAE 1x.

➤ qPCR

Nous avons utilisé la chimie SYBR Green pour les analyses qPCR. Des concentrations d'amorces à 50, 150 et 300 nM dans le milieu réactionnel ont été testées sur 5 ng d'ADNc de foie d'une femelle de type sauvage, en double, pour déterminer quelle était la concentration d'amorces la plus efficace. Une courbe de fusion a été réalisée en fin de réaction pour s'assurer de la spécificité de l'amplification, notamment l'absence de dimère d'amorces.

L'efficacité des amorces à 150 nM a été déterminée par la méthode des dilutions en série d'ADNc (Bustin et al. 2009). La gamme de quantité de matrice testée était 1,6-3,13 - 6,25 - 12,5 - 25 et 50 ng du même échantillon que précédemment. Les courbes ont été réalisées en double dans des plaques de 96 puits. Un blanc pour chaque couple d'amorces a été incorporé au cours de chaque analyse.

La gamme de concentrations d'amorces et les courbes standards ont été réalisées sur du foie en raison de la quantité limitée de matériel disponible issu des follicules plumeux. Etant donné que la différence d'expression recherchée est attendue au niveau des follicules plumeux de poitrine, c'est ce tissu qui a été testé en priorité en qPCR.

Au total, cinq plaques de 96 puits ont été réalisées. Un animal de chaque sexe et de chaque phénotype a été testé sur chacune des plaques pour les quatre premières plaques de qPCR pour limiter le biais expérimental. Deux animaux de chaque sexe de phénotype Columbian ont été testés sur la dernière plaque. Au total, 6 animaux CO*CO de chaque sexe ont été testés, ainsi que 4 animaux CO*N de chaque sexe.

Le milieu réactionnel de qPCR, d'un volume total de 20 μ L, a été réalisée à partir de :

- 2 μ L de solution à 1,5 μ M pour chaque amorce
- 5 μ L de matrice à 2 ng/ μ L
- 10 μ L de kit Power SYBR® green PCR Mastermix 2X (Thermo Fisher)
- 1 μ L d'eau pure.

Les réactions ont toutes été réalisées en triplicata à l'aide de l'appareil QuantStudio® 12K Flex de la plateforme @BRIDGE de l'UMR GABI. Lorsque les trois triplicatas différaient et que l'écart type était supérieur à 0,2 Ct, la donnée a été éliminée de l'étude. Six données liées au gène LOC107052000 ont été écartées de l'étude pour cette raison.

Les courbes standards ont été analysées à l'aide du logiciel associé à l'instrument QuantStudio 12k Flex®. Une courbe standard permet de calculer l'efficacité d'un couple d'amorces. Pour cela, des dilutions en série de la quantité de matrice sont réalisées (ici, 6 dilutions au demi). Cela permet l'obtention d'une droite tracée avec le Ct obtenu en fonction de la quantité de matrice initiale. Le coefficient directeur de la droite est :

$-1/\log(1+\text{Eff})$ avec eff = l'efficacité du couple d'amorces (en %).

Pour une efficacité de 100%, il sera égal à -3,32.

L'expression des gènes est exprimée par quantification relative, elle a été représentée sur Excel par la méthode du $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ (Livak, Schmittgen 2001).

La quantification relative d'un gène se calcule en deux étapes. Tout d'abord, l'expression du gène étudié est normalisée par comparaison avec un gène de référence, dont l'expression est stable quel que soit l'individu, le tissu ou les conditions expérimentales. Ce contrôle endogène permet d'éviter les biais expérimentaux.

L'expression normalisée d'un gène étudié se marque ΔCT et se calcule par la formule :

$$\Delta\text{CT} = \text{CT (cible)} - \text{CT (référence)}$$

Ensuite, un calibrateur est utilisé pour exprimer les résultats : c'est l'échantillon auquel tous les autres seront comparés.

L'expression du gène étudié d'un individu donné sera donc exprimée sous forme de ratio, avec l'expression du gène chez le calibrateur ayant un ratio de 1. La formule est :

$$\text{Ratio} = 2^{-\Delta\Delta\text{CT}} \text{ avec } \Delta\Delta\text{CT} = \Delta\text{CT (calibrateur)} - \Delta\text{CT (éch)}$$

Dans notre étude, le gène de référence est HPRT1 et le calibrateur les femelles de type sauvage (Ho-Pun-Cheung et al. 2008).

Les données ont été analysées statistiquement par réalisation d'une ANOVA puis d'un test de Tukey HSD lorsque les conditions d'utilisation étaient remplies. Dans le cas contraire, des tests de Kruskal-Wallis et de Mann-Whitney ont été réalisés.

2.1.1.4 Recherche du variant causal de *Columbian*

Les données de séquençage pour la région ciblée ont été extraites du projet Domesticchick. Des informations pour 18 populations sont disponibles, dont neuf où l'allèle CO*N est fixé, une où l'allèle CO*CO est fixé et 8 dont le statut vis-à-vis de *Columbian* reste indéterminé.

La population porteuse de CO*CO est la race Nagoya. Les neuf populations de type sauvage sont : la GUA-H6, la Côte d'ivoire, la Cameroun, la Jaerhoens, la Marans, la Villafranquina rouge, la Cochin, la Gauloise dorée et la Hua-Tung.

Les données de séquence pour ces différentes races ont été comparées à l'aide de PLINK et d'Excel, afin d'identifier les SNPs qui sont :

- Homozygotes pour un allèle dans la race Nagoya
- Homozygotes pour l'autre allèle dans les races de type sauvage.

Seuls les SNPs avec un QD (Quality by Depth) supérieur à 2 et un FS (FisherStrand) inférieur à 60 ont été conservés (DePristo et al. 2011; Van der Auwera et al. 2013).

Les résultats ont été visualisés à l'aide des outils de traitement de données personnalisées d'UCSC (Raney et al. 2014).

2.1.2 Résultats

2.1.2.1 Primolocalisation de la région candidate

Le manhattan plot issu de l'étude pangénomique du génome est représenté ci-dessous.

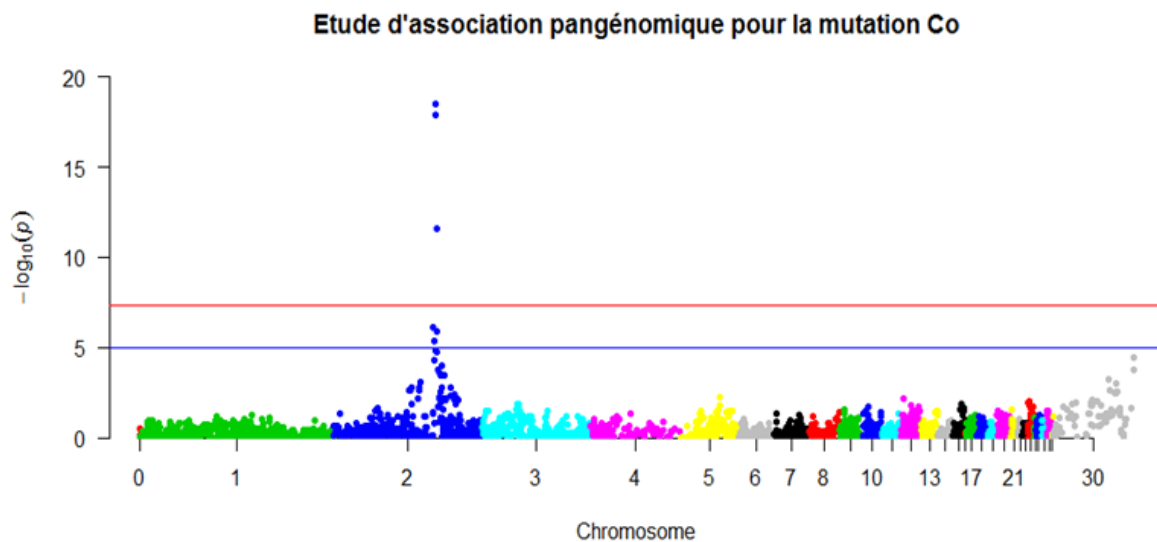


Figure 41: Manhattan plot représentant le niveau d'association des SNPs de chaque chromosome avec le variant columbian restriction.

En bleu : seuil de significativité pour $p=10^{-5}$. En rouge: seuil de significativité pour $p=5 \cdot 10^{-8}$

Comme le montre très clairement le graphique, trois marqueurs sont associés de manière significative au phénotype columbian.

Ces trois marqueurs, nommés rs14228181, rs13707100 et rs14229075 sur Ensembl (Zerbino et al. 2018), sont respectivement situés aux positions 103 232 946, 103 404 861 et 104 068 656 de la version 5 du chromosome 2 de *Gallus gallus*.

La taille de la région du génome supposée contenir le variant causal est donc de 1,47 Mb. Elle s'étend de la position 102 598 561 à 104 068 656 du chromosome 2. La borne aval représente la position du SNP précédant rs14228181. En effet, la région de 650 kb entre les deux SNPs ne possède aucun marqueur informatif. Il est donc nécessaire de l'inclure dans la région candidate.

2.1.2.2 Cartographie fine du locus Columbian Restriction

Le graphique résultant de l'analyse d'association réalisée sur la région du génome de 1,47 Mb localisée ci-dessus est représenté ci-dessous.

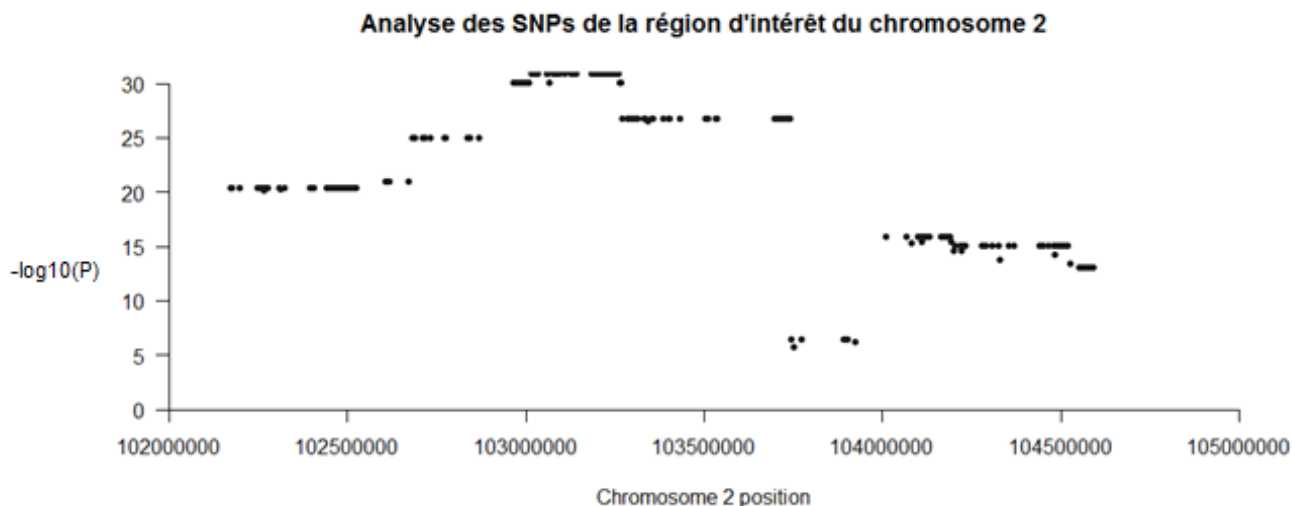


Figure 42: Graphique représentant le niveau d'association entre les marqueurs de la région candidate et le variant *Columbian*.

La région la plus fortement associée au variant *columbian* s'étend donc de la position 102 964 570 à 103 265 892 du chromosome 2 (version 5 du génome), pour une taille de 300 kb.

Cette deuxième étude a donc permis de réduire la taille de la région candidate de 1,47 Mb à 300 kb.

2.1.2.3 Etude d'expression des gènes candidats

➤ Méthode de conservation et choix des tissus

Le RNAlater et la cryoconservation ont tous deux permis une extraction d'ARN de bonne qualité (RIN>8). La quantité d'ARN total extraite des follicules plumeux était faible, inférieure à 100 ng/μL pour un total de 20 μl d'échantillon. Afin d'obtenir une quantité suffisante pour réaliser une qPCR (10 ng d'ADNc par puits de réaction), il a donc été décidé de ne pas séparer la pulpe du bulbe du collier pour l'analyse. Cela rendait inutile la conservation des échantillons dans le RNAlater, la cryoconservation a donc été choisie pour la suite des prélèvements.

L'extraction d'ARN total à partir de la peau n'a pas permis d'obtenir une quantité d'ARN total quantifiable au Nanodrop (limite de quantification 1 ng) sur plus de 10 échantillons testés. L'ARN présent dans la peau autour des follicules plumeux sera donc considéré comme négligeable comparé à la quantité d'ARN isolée des follicules plumeux.

La peau ne pouvant donc pas servir de tissu témoin pour la différence tissu-spécifique, du foie a été prélevé lors de la seconde campagne de prélèvement pour servir de tissu témoin.

➤ Validation de la quantité de matrice de départ pour la PCR

L'expression de *MITF* et *CABLES1* est visible sur la figure ci-dessous.

MITF

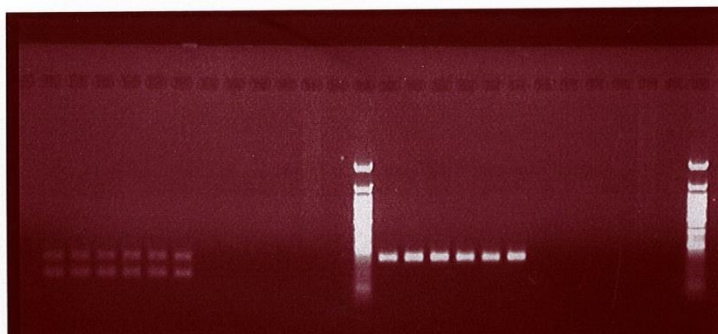
CABLES₁

Figure 43: Etude par PCR de l'expression de *MITF* (à gauche) et *CABLES1* (à droite) sur plusieurs échantillons de follicules plumeux.

De gauche à droite pour chaque gène: poitrine de femelle CO*CO avec 320 ng de matrice, dos puis poitrine de femelle CO*N avec 320 ng de matrice, poitrine de femelle CO*CO avec 320, 500 puis 750 ng de matrice, 4 témoins de RT sans enzyme SSIII (RT-), 1 ADN génomique témoin de *Gallus gallus*, 1 témoin H₂O.

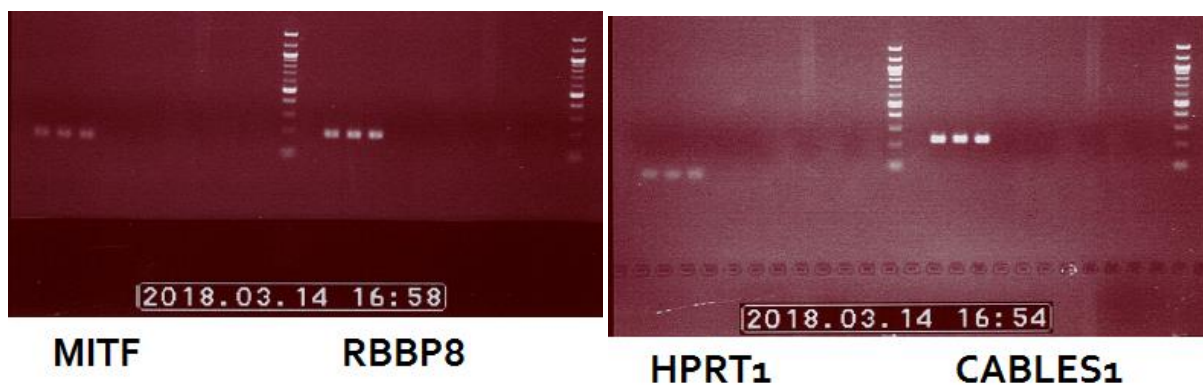
CABLES1 est exprimé dans tous les tissus étudiés, avec une bande dont la fluorescence semble d'intensité égale quel que soit le type de tissus et la quantité de matrice au départ.

Deux bandes de faible intensité sont visibles pour *MITF*, de tailles respectives de 148 et 232 pb. Elles représentent les deux ARNm du gène, l'isoforme MITF-M et l'isoforme non spécifique des mélanocytes. Comme ce double signal peut empêcher la quantification lors d'une qPCR, un nouveau couple d'amorces a été créé pour obtenir un signal unique pour tous les ARNm. C'est ce nouveau couple qui a été testé lors de la PCR suivante.

L'utilisation de 320ng de matrice au départ est donc validée et c'est cette quantité qui sera utilisée lors de la prochaine PCR.

➤ Validation des couples d'amorces pour la qPCR

Pour tous les gènes, hormis *LOC107051998* et *LOC101751137*, un signal unique est visible dans tous les échantillons, comme le montre la figure ci-dessous.



MITF

RBBP8

HPRT₁CABLES₁

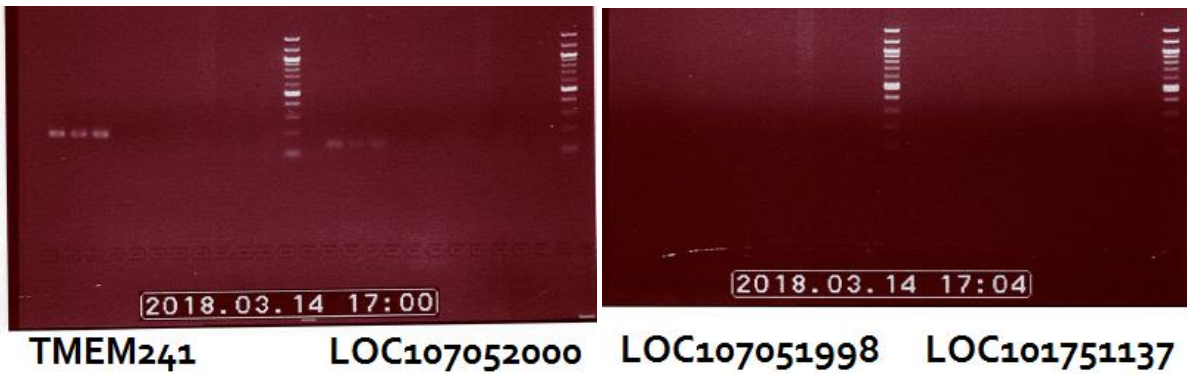


Figure 44: Etude par PCR de l'expression de *MITF*, *RBBP8*, *HPRT1*, *CABLES1*, *TMEM241*, *LOC107052000*, *LOC107051998* et *LOC101751137* sur plusieurs échantillons à partir de 320 ng de matrice.

De gauche à droite: foie de femelle CO*N, follicule plumeux de poitrine d'une femelle CO*N, puis d'une femelle CO*CO, 3 témoins de RT sans enzyme SSIII (RT-), 1 ADN génomique témoin de *Gallus gallus*, H₂O.

Ces résultats valident donc l'utilisation des couples d'amorces de *MITF*, *HPRT1*, *CABLES1*, *RBBP8*, *TMEM241* et *LOC107052000* pour la PCR.

Tous les gènes cités précédemment sont exprimés dans les follicules plumeux et le foie des animaux étudiés.

Pour les deux gènes pour lesquels aucun signal n'est visible, il existe deux hypothèses explicatives :

- Les couples d'amorces ne sont pas valides et ne sont donc pas en mesure d'amplifier les ARNm.
- Ces deux gènes n'existent pas en réalité. Il n'y a donc pas d'ARNm associés, et le couple d'amorces ne peut rien amplifier.

L'hypothèse privilégiée dans cette étude a été la deuxième, car ces gènes ne sont présents que dans la base de données du NCBI, et non dans celle d'Ensembl. De plus, il n'existe aucun transcrite similaire dans d'autres espèces.

Leur existence étant incertaine, ils ont été écartés de la suite de l'étude, pour se concentrer sur l'étude de l'expression des autres gènes.

En conclusion, nous n'avons pas pu apprécier une différence d'expression par l'approche PCR classique pour ces gènes. Nous avons donc décidé de quantifier leurs transcrits par une méthode plus quantitative et sensible telle que la qPCR.

➤ Optimisation des condition d'amplification des couples d'amorces en qPCR

Nous avons testé 3 concentrations d'amorces : 50, 150 et 300 nM dans 20 µl de réaction. A des concentrations de 300 nM d'amorces, de nombreux dimères apparaissent dans le blanc, c'est-à-dire dans la solution ne contenant pas de matrice. Ces dimères d'amorces disparaissent du blanc lorsque la concentration des amorces est de 150nM, comme on le voit en annexe 1.

La concentration d'amorce utilisée pour la qPCR a donc été de 150 nM.

L'efficacité calculée sur la base de la courbe standard pour chaque couple d'amorces est détaillée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6: Efficacité des couples d'amorces à 150 nM, évaluée par une gamme de dilution au demi entre 1,6 et 50 ng de foie d'une femelle de type sauvage.

Gène	Efficacité (%)
<i>HPRT1</i>	92.18
<i>CABLES1</i>	83.87
<i>MITF</i>	90.6
<i>TMEM241</i>	77.24
<i>RBBP8</i>	80.46
<i>LOC107052000</i>	91.01

Les courbes standards correspondantes sont visibles en annexe 2.

L'efficacité des couples d'amorces de notre étude est inférieure au minimum de 90% recommandé pour trois gènes sur six (Svec et al. 2015). Ce seuil est conseillé pour avoir une sensibilité de détection élevée, permettant de détecter une différence d'expression d'un Ct, c'est-à-dire une différence de concentration de facteur 2.

Dans notre étude, les cellules qui nous intéressent sont les mélanocytes. C'est une population très minoritaire dans la plume. Si la différence d'expression recherchée n'existe que dans cette population, la variation d'expression totale du gène dans notre échantillon sera si faible qu'elle peut être impossible à détecter en qPCR.

Cependant, la différence d'expression recherchée est supposée ne pas être spécifique d'un type cellulaire, mais se retrouver dans toutes les populations de la plume, même si cela n'entraîne pas toujours de variation du phénotype associé.

De plus, pour inhiber totalement la synthèse d'eumélanine, notre hypothèse est que ce variant induit une forte différence d'expression du gène qui pourrait être quantifiable donc en qPCR.

La différence d'expression recherchée est donc supposée être de l'ordre de plusieurs Ct.

C'est pourquoi chercher à obtenir une meilleure efficacité des couples d'amorces n'a pas été jugé nécessaire : soit la différence recherchée est tellement infime qu'elle ne sera pas détectée même avec une qPCR parfaitement optimisée, soit elle est si importante qu'elle sera détectée même avec une qPCR non optimisée.

Un autre critère à prendre en compte dans l'évaluation des amorces est la fiabilité des réplicats : si elle est basse, les données devront être écartées de l'étude.

Lors de la réalisation des courbes standards, lorsque la quantité de matrice utilisée est égale à celle utilisée par la suite (12,5 ng), l'écart type des duplicats est inférieur à 0,2 pour tous les gènes sauf *HPRT1* et *LOC107052000*.

Cependant, ces courbes ont été obtenues à partir de foie : les Ct des gènes étudiés y sont plus élevés que dans la plume, ce qui indique un faible niveau d'expression, Ainsi, *HPRT1* et *LOC107052000* ont respectivement un Ct de 23,67 +/- 0,43 et 28,64 +/- 0,63 dans tous les follicules plumeux de poitrine étudiés par la suite, alors que leurs Ct sont de 29,95 et 32,05 en moyenne dans l'échantillon de foie étudié. Nous sommes donc partis sur l'hypothèse qu'avec une expression plus élevée dans la plume que dans le foie et en travaillant en triplicats, la fiabilité des réplicats techniques serait suffisante pour cette étude.

La différence de niveau d'expression entre la plume et le foie pourrait s'expliquer par le fait que même si une quantité de matrice égale a été utilisée au départ, l'expression génique totale des cellules est de manière générale bien plus importante dans le foie. Pour une même quantité d'ARN total, l'ARNm des gènes étudiés représente donc certainement une part plus importante du total dans la plume que dans le foie, ce qui peut expliquer le plus grand niveau d'expression observé dans les échantillons de plume.

En conclusion, il a donc été décidé de réaliser l'étude avec ces couples d'amorces.

➤ Résultats des analyses d'expression par qPCR quantitative

○ Etude des biais expérimentaux

Le niveau d'expression du gène de normalisation (ou référence) *HPRT1* est supposé être constant pour les paramètres étudiés (ici, le sexe et le phénotype des animaux), afin de ne pas biaiser l'analyse des résultats.

Deux principaux facteurs de variation d'origine expérimentale ont été envisagés: la précipitation des échantillons et « l'effet-plaque ».

En effet, la précipitation réalisée sur quatre échantillons peut avoir diminué la concentration d'inhibiteurs présents, ce qui peut conduire à une amélioration de l'efficacité de la qPCR et donc influencer nos résultats. Le niveau d'expression de *HPRT1* n'est pas significativement modifié par la précipitation des échantillons ($p > 0,05$).

Par contre, ce niveau d'expression diffère significativement entre les plaques de PCR quantitative ($p < 0,05$) : sur la plaque 5, qui contient quatre animaux de phénotype Columbian, le niveau d'expression de *HPRT1* est significativement plus faible que sur les autres, comme le montre le graphique ci-dessous. Etant donné que cette plaque est la seule à contenir uniquement des animaux de type Columbian, cette différence peut aussi s'expliquer par une influence du génotype.

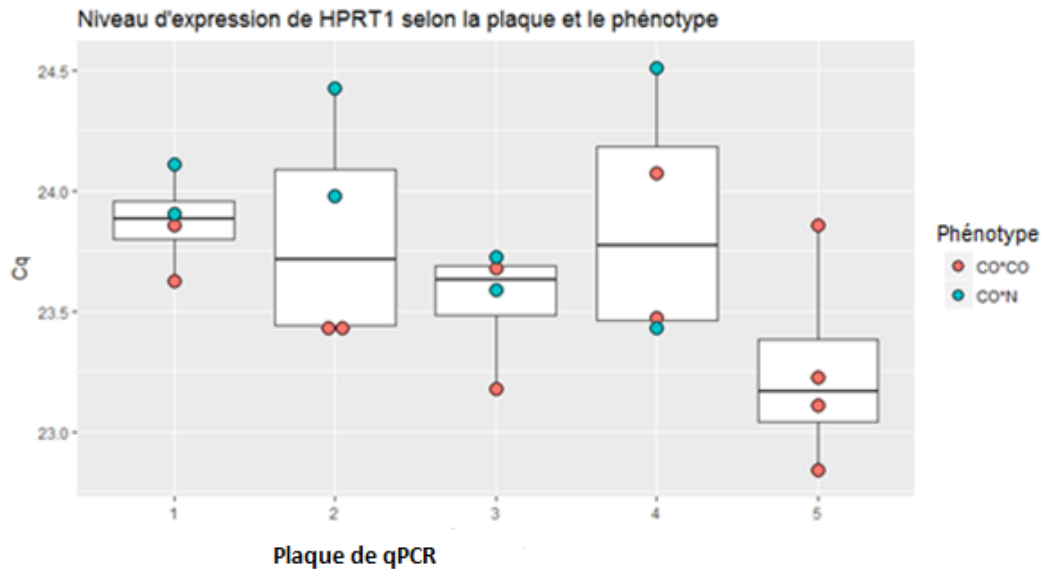


Figure 45: Niveau d'expression de *HPRT1* selon la plaque de qPCR et le phénotype de l'échantillon.

L'impact de cette différence est cependant à nuancer. Le niveau d'expression de *HPRT1* est de 23,5 +/- 0,36 pour les animaux de type Columbian et de 24 +/- 0,38 pour les animaux de type sauvage, c'est-à-dire 0,5 Ct d'écart en moyenne. Or, des réplicats techniques sont considérés comme valides s'ils ont un écart de moins de 0,5 cycle.

Cependant, si la quantité d'ADNc au départ est la même, les variations de *HPRT1* ne doivent pas être si importantes entre les groupes s'il est vraiment stable: il varie entre les groupes et est différentiellement exprimé. La normalisation est donc biaisée. Par conséquent, ce n'est pas un bon gène de référence, et il aurait fallu tester au moins un autre gène de référence.

- Analyse des résultats par la méthode du $2^{-\Delta\Delta Ct}$

Nous avons testé l'hypothèse que la quantité de mélanocytes présents dans la plume varie en fonction du sexe et/ou du phénotype. En se basant sur l'hypothèse de départ que tous les gènes étudiés sont exprimés dans le mélanocyte, la moyenne de l'expression de l'ensemble des gènes chez un individu a été calculée, puis la moyenne de chaque groupe a été réalisée. Si la quantité de mélanocytes diffère entre les groupes, l'expression globale de tous les gènes devrait être impactée. Cependant, il n'y a pas de différence significative de niveau d'expression entre les groupes ($p < 0,05$).

L'expression relative des gènes standardisés par *HPRT1* par rapport au groupe témoin des femelles de type sauvage est représentée dans la figure ci-dessous.

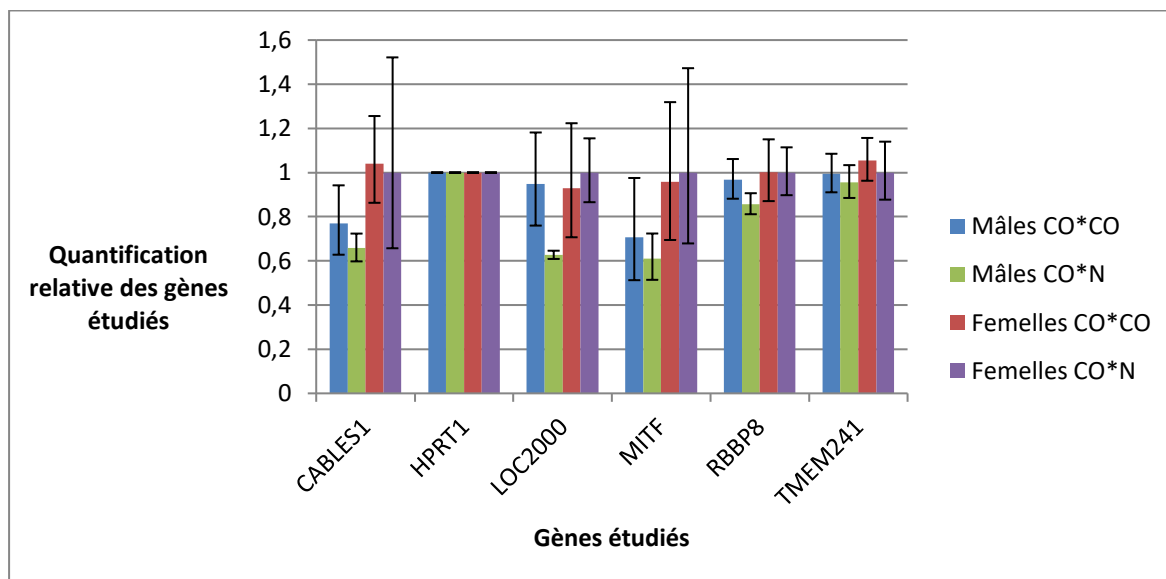


Figure 46: Quantification relative des gènes étudiés.

Nombre d'animaux par groupe :

Pour les gènes autres que *LOC107052000*: 6 par sexe pour les animaux de phénotype Columbian et 4 pour les animaux de phénotype sauvage.

Pour *LOC107052000*: 2 pour les femelles CO*N, 3 pour les mâles CO*N, 4 pour les mâles CO*CO et 5 pour les femelles CO*CO.

La significativité statistique de l'influence du sexe et du phénotype sur l'expression relative des gènes étudiés est représentée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 7: Significativité de l'influence du sexe et/ou du phénotype sur l'expression des gènes étudiés par calcul de la p-value. * si < 0,05 - ** si < 0,01 - * si < 0,001**

Gène	Effet sexe	Effet mutation	Interaction sexe x mutation (p)
CABLES1	<0,0001***	0,36	0,48
TMEM241	0,26	0,3	0,92
HPRT1	0,37	0,01*	0,87
RBBP8	0,10	0,21	0,19
LOC107052000	NA	NA	NA
MITF	<0,001**	0,81	0,35

TMEM241 et *RBBP8* ont un niveau d'expression équivalent quel que soit le sexe et le phénotype de l'animal.

La comparaison d'animaux de phénotype Columbian et sauvage du même sexe ne montre pas de différence significative d'expression des gènes étudiés, hormis pour *HPRT1*, comme cela a été discuté dans le paragraphe d'étude des biais expérimentaux ci-dessus.

La comparaison de mâles et de femelles du même phénotype montre une différence d'expression de *CABLES1* et *MITF* significative en fonction du sexe.

Chez *MITF*, cette différence se retrouve chez les animaux de type sauvage, mais elle n'est plus significative chez les animaux de type Columbian.

Cependant, étant donné la forte variabilité interindividuelle de l'expression de ce gène, il serait nécessaire de tester un plus grand nombre d'animaux pour conclure avec certitude que le variant Columbian supprime la différence sexuelle d'expression de *MITF*. De plus, la différence de niveau d'expression entre les groupes est inférieure à un Ct : comme pour *HPRT1*, la différence observée peut être due à l'imprécision expérimentale étant donné le petit nombre d'animaux et l'optimisation de la PCR quantitative qui pourrait être améliorée.

Six données issues de *LOC107052000* ont été éliminées par manque de reproductibilité entre les triplicats. Il ne reste donc plus que 2 données disponibles pour les femelles de type sauvage, empêchant ainsi toute conclusion ou comparaison de ce groupe.

LOC107052000 montre une expression significativement différente entre les mâles Columbian et sauvages. Cependant, les données où l'écart type des réplicats est trop important ont été éliminées. Or, les données éliminées sont parmi les valeurs de Ct les plus élevées, ce tri influence donc le résultat. Notamment, deux animaux ont été éliminés dans le groupe des mâles Columbian, contre un seul dans les mâles sauvages. Il est donc compliqué de conclure sur l'existence d'une réelle différence d'expression, d'autant plus que si toutes les données pour ce gène sont conservées, son niveau d'expression est constant, quel que soit le sexe ou le phénotype de l'animal.

Il serait donc nécessaire d'optimiser la qPCR pour améliorer la reproductibilité des réplicats. Cela permettrait de pouvoir interpréter les données même dans le cas d'une faible expression. La qPCR pour ce gène pourrait être optimisée en utilisant par exemple un couple d'amorces avec une meilleure efficacité et en testant un autre gène de référence, afin de rendre l'analyse $2^{-\Delta\Delta Ct}$ plus robuste.

En conclusion, des mises au points supplémentaires sont nécessaires pour rendre les résultats plus fiables.

2.1.2.4 Recherche du variant causal par comparaison de séquences

Il existe 28 SNPs dont un des allèles est uniquement retrouvé chez la race Nagoya dans la région candidate. Ces variant candidats sont encadrés par deux flèches dans la figure ci-dessous.

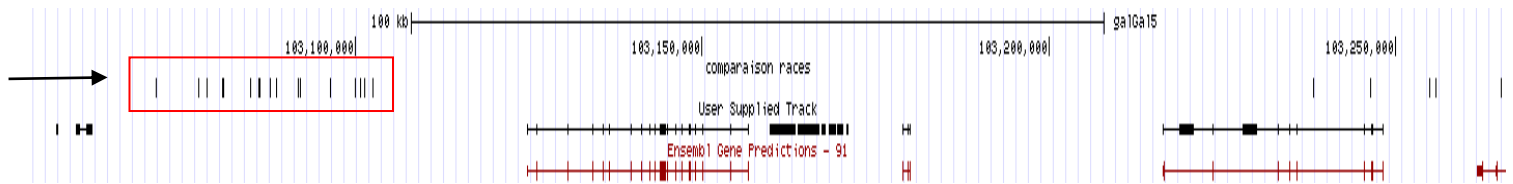


Figure 47: Représentation des SNPs dont l'allèle diffère entre la race porteuse de CO*CO et les races porteuses de CO*N.

En rouge : Transcrits issus de gènes recensés dans la base de donnée Ensembl.

En noir, milieu : Transcrits issus d'une étude de l'INRA (données non publiées).
Transcrits : ligne continue : ensemble de la séquence transcrite, barres/blocs verticaux : exons.

Encadré de deux flèches : représentation des SNPs candidats pour Columbian.
Encadré en rouge : région contenant la majorité des SNPs spécifiques à la race Nagoya, homozygote pour CO*CO.

Une région située en amont de *RBBP8* contient 23 SNPs sur les 28 identifiés. Ils ne forment pas un haplotype, puisqu'il existe d'autres SNPs dans cette région qui ne sont pas spécifiques du phénotype Columbian.

Aucun gène annoté n'est connu dans cette région. Cependant, en représentant les marqueurs de transcrits, ou EST (Expressed Sequence Tag)⁸, un EST existe dans cette région, comme le montre la figure ci-dessous.



Figure 48: Représentation du contexte génomique de la région riche en SNPs.

En bas : représentation des EST.

Aucune information n'est disponible sur la fonction possible du transcrit BU215082.

2.1.3 Discussion

2.1.3.1 Primolocalisation de la région candidate

Dans cette région, 18 gènes ayant une fonction connue sont recensés dans la base de données NCBI en 2018 (O'Leary et al. 2016). Aucun d'eux ne possède une

⁸ EST: Séquence d'ADNc synthétisée à partir de l'ARNm d'un gène. En les alignant sur le génome, cela permet de localiser les gènes transcrits et d'identifier les gènes homologues entre espèces.

fonction qui le désignerait comme un gène candidat évident, comme le montre le tableau ci-dessous.

Tableau 8: Rôles connus des gènes de la région candidate

Gène présent dans la région candidate		Rôle(s) connu(s)
<i>GREB1L</i>	growth regulation by estrogen in breast cancer 1 like	Voie de signalisation de l'acide rétinoïque (Brophy et al. 2017) : contrôle de la prolifération et de la différenciation cellulaire chez l'embryon
<i>ABHD3</i>	abhydrolase domain containing 3	Lipase : régulation des phospholipides (Demirkan et al. 2012; Long et al. 2011)
<i>ESCO1</i>	establishment of sister chromatid cohesion N-acetyltransferase 1	Régulation cohésine: contrôle cohésion chromatides (Kouznetsova et al. 2016, p. 1; Rivera-Colón et al. 2016, p. 1)
<i>MIB1</i>	mindbomb E3 ubiquitin protein ligase 1	Voie de signalisation Notch : Régulation de la différenciation des cellules souches (Song et al. 2008)
<i>GATA6</i>	GATA binding protein 6	Facteur de transcription. Multiples rôles.
<i>RBBP8/CtIP</i>	retinoblastoma binding protein 8	Endonucléase : réparation des cassures doubles brins de l'ADN lors du cycle cellulaire (Yun, Hiom 2009; Nakamura et al. 2010)
<i>CABLES1</i>	Cdk5 and Abl enzyme substrate 1	Inhibition des kinases cyclines-dépendantes : régulation du cycle cellulaire (Shi et al. 2015)
<i>TMEM241</i>	transmembrane protein 241	Protéine transmembranaire. Hypothèse: transporteur de nucléotides-oses pour l'appareil de Golgi (Rodríguez et al. 2016)
<i>RIOK3</i>	Right Open reading frame kinase 3	Protéine cytoplasmique. Multiples rôles (Baumas et al. 2012; Feng et al. 2014; Singleton et al. 2015).
<i>NPC1</i>	NPC (Niemann-Pick type C) intracellular cholesterol transporter 1	Transporteur de lipides : régulation de la circulation intracellulaire du cholestérol (Carstea et al. 1997)

<i>ANKRD29</i>	ankyrin repeat domain 29	Mémediation des interactions des ankyrines et de leurs ligands (Bennett, Chen 2001; Sedgwick, Smerdon 1999). Rôle exact d'ANKRD29 non déterminé.
<i>LAMA3</i>	laminin subunit alpha 3	Sous unité de la laminine 5, composant structurel de la matrice extra-cellulaire : Rôle dans l'organisation et la survie de l'épithélium (Ryan et al. 1999).
<i>TTC39C</i>	tetratricopeptide repeat domain 39C	Multiple rôle des TTC (régulation du cycle cellulaire, transport de protéines, ...) (White et al. 2005). Rôle exact de TTC39C non déterminé.
<i>CABYR</i>	calcium binding tyrosine phosphorylation regulated	Rôle dans la capacitation des spermatozoïdes (Naaby-Hansen et al. 2002). Hypothèse : rôle pendant le développement cérébral (Hsu et al. 2005)
<i>OSBPL1A/O RP1</i>	oxysterol binding protein like 1A	Récepteur lipidique intracellulaire : Principal agoniste : acide phosphatidique (Xu et al. 2001).
<i>HRH4</i>	histamine receptor H4	Récepteur couplé à une protéine G. Principal agoniste : histamine (Nakamura et al. 2000).
<i>IMPACT</i>	Imprinted and Ancient gene	Liaison aux ribosomes : Régulation du développement du système nerveux embryonnaire (Pereira et al. 2005; Roffé et al. 2013). Gène soumis à une empreinte génomique chez la souris (Okamura et al. 2000)
<i>ZNF521/ EHZF</i>	zinc finger protein 521	Facteur de transcription : orientation de la différenciation de lignées cellulaires embryonnaires (Kamiya et al. 2011; Bond et al. 2004)

La région candidate du génome est encore trop large pour envisager une étude de l'expression de l'ensemble de ces gènes. Un nouveau génotypage de marqueurs dans la région candidate pourrait permettre de cibler la zone. C'est donc l'approche qui a été réalisée dans un second temps.

2.1.3.2 Cartographie fine du locus *Columbian Restriction*

Les gènes annotés dans cette région sur les bases de données Ensembl et NCBI sont :

- *CABLES1*
- *RBBP8*
- *TMEM241*

Il semblerait y avoir en plus trois régions transcrites et épissées, qui seraient potentiellement des gènes, mais dont les transcrits ne ressemblent à rien de connu dans d'autres espèces. Ils sont nommés par le terme « LOC » :

- *LOC107051998*
- *LOC101751137*
- *LOC107052000*

Ces trois gènes sont recensés dans la base de données du NCBI, mais seul le dernier, *LOC107052000*, se retrouve dans la base de données Ensembl.

De plus, il n'existe pas de microARN recensé dans cette région dans la MiRBase pour *Gallus gallus*.

➤ **Fonctions connues des trois gènes annotés**

○ ***CABLES1***

CABLES1, pour cdk5 and Abl enzyme substrate 1, est une protéine qui se lie aux kinases cyclines-dépendantes (ou CDK) (Zukerberg et al. 2004; Shi et al. 2015).

Elle a une action sur le cycle cellulaire, et donc sur la prolifération, la différenciation et la survie des cellules. Ce gène cible plusieurs régulateurs du cycle cellulaire en plus des CDK, comme le montre la figure ci-dessous.

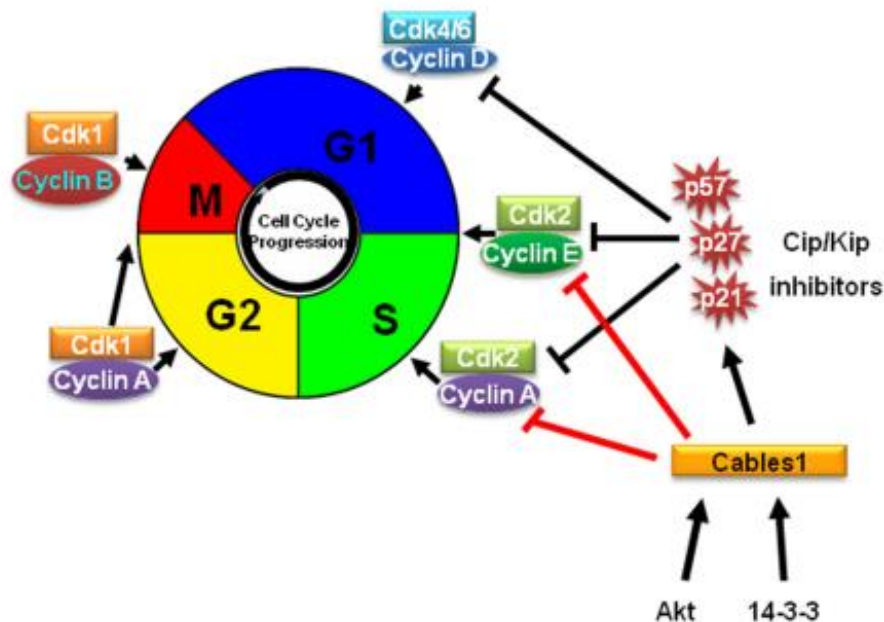


Figure 49: Cibles de *CABLES1* pour la régulation du cycle cellulaire. Extrait de Roussel-Gervais et al., the *CABLES1* gene in glucocorticoid regulation of pituitary corticotrope growth and cushing disease (Roussel-Gervais et al. 2016).

Il inhibe l'action des cyclines, qui favorisent la prolifération cellulaire. Il active des inhibiteurs du cycle cellulaire comme p21: une augmentation d'activité de *CABLES1* inhibe donc la prolifération cellulaire.

Par ce mécanisme, il pourrait donc être à l'origine d'une diminution de prolifération des mélanoblastes dans le bulbe du collier, et donc d'une baisse de pigmentation des plumes.

De plus, la transcription de *CABLES1* est modulée par les hormones sexuelles : la progestérone semble induire sa transcription, et les œstrogènes semblent au contraire l'inhiber (Zukerberg et al. 2004).

- ***RBBP8***

RBBP8, pour retinoblastoma-binding protein 8, se nomme aussi CtIP, pour CTBP-interacting protein. Il code pour une nucléase qui joue un rôle dans la réparation des dommages causés à l'ADN. Via la formation d'un complexe avec Brca1, cette nucléase permet la réparation des cassures doubles-brins de l'ADN. Ces cassures causent une instabilité génomique et l'arrêt du cycle cellulaire (Yun, Hiom 2009; Nakamura et al. 2000; Sartori et al. 2007).

Une inhibition de *RBBP8* peut donc mener à une diminution de la prolifération cellulaire.

○ **TMEM241**

TMEM241, pour transmembrane protein 241, est une protéine transmembranaire homologue au transporteur VRG4 existant chez les levures (Rodríguez et al. 2016).

VRG4 fait partie de la famille des transporteurs de nucléotides-oses pour l'appareil de Golgi. Il permet le transport de GDP et de mannose chez *Saccharomyces cerevisiae* (Dean et al. 1997).

Ces résidus sont ensuite utilisés dans des processus tels que la N-glycosylation, indispensables pour la formation de glycoprotéines et de sphingolipides. VRG4 est donc nécessaire à la sécrétion et la sortie de protéines et la maintenance des endomembranes (Dean et al. 1997).

Ainsi, TMEM241 serait un transporteur de nucléotides et d'oses chez les vertébrés nécessaire pour la synthèse des triglycérides (Rodríguez et al. 2016).

Conclusion :

Suite à cette deuxième étude, il ne reste donc plus que 6 gènes candidats. En se basant sur l'hypothèse que le variant Columbian modifie le niveau de transcription du gène associé, une étude d'expression de ces gènes a donc été mise en place.

2.1.3.3 Etude d'expression des gènes candidats

Une absence de différence d'expression visible des gènes étudiés peut avoir quatre explications :

- L'expression de ces gènes n'a aucun lien avec le variant Columbian.
- La population de mélanocytes est trop minoritaire dans la plume pour détecter une différence d'expression.
- L'efficacité de la PCR n'est pas suffisante pour détecter une différence d'expression.
- La mutation CO*CO ne modifie pas la quantité de transcrits du gène associé.

Comme cela a été expliqué précédemment, l'efficacité de la qPCR réalisée n'a pas été idéale : le gène de référence *HPRT1* semblerait être influencé par le phénotype de l'échantillon, et les couples d'amorces auraient pu être redéfinis pour gagner en efficacité. Cependant, nous avons décidé de réaliser tout de même cette étude en partant de l'hypothèse que la différence d'expression induite par le phénotype serait assez importante pour être détectée malgré des conditions expérimentales non

optimales. Au vu des résultats, il serait intéressant de tester de nouveau l'expression de ces gènes en optimisant les conditions de réalisation de la qPCR, surtout pour LOC107052000.

Afin de tester l'hypothèse de la population de mélanocytes trop minoritaire pour qu'une différence d'expression soit détectée, il serait intéressant de quantifier l'isoforme *MITF-M*, spécifique des mélanocytes et non pas l'ensemble des ARN de *MITF*, comme cela a été fait dans cette étude : cela permettrait d'étudier l'expression de *MITF* uniquement dans cette population, et si l'expression de *MITF-M* varie selon le sexe ou le phénotype, cela signifie que la PCR quantitative réalisée n'était pas assez sensible pour détecter une différence d'expression qui n'existe que dans les mélanocytes.

En effet, une étude transcriptomique de plumes noires et blanches de canard a retrouvé un niveau d'expression constant de l'autre isoforme de *MITF* quelle que soit la pigmentation de la plume, au contraire de *MITF-M* qu'on ne retrouve exprimé que dans les plumes noires (Li et al. 2012). Cependant, cette étude compare séparément les niveaux d'expressions de *MITF-M* et de l'autre isoforme : les proportions de chacun dans la plume sont donc inconnues.

De plus, il est impossible d'exclure l'hypothèse que le phénotype Columbian soit associé à un de ces gènes, sans être responsable d'une différence d'expression de l'ARN. En effet, ce variant pourrait provoquer :

- Une modification post-transcriptionnelle de l'ARNm.
- Un changement de séquence qui ne modifie pas la quantité de transcrits mais la structure/fonction de la protéine.

Dans ce cas, ces changements ne sont pas détectables par PCR quantitative.

De plus, deux gènes, *LOC107051998* et *LOC101751137*, ont dans un premier temps été écartés de l'étude puisque leur existence semble incertaine et qu'aucune amplification n'était visible en PCR. Il serait intéressant de s'assurer que cette région du génome ne présente réellement pas de transcription, par réalisation d'une PCR à l'aide d'un nouveau couple d'amorces.

Enfin, seuls les gènes codants présents dans la région candidate ont été étudiés. La mutation à l'origine de Columbian pourrait très bien être située dans de l'ADN non codant. Dans ce cas, il est possible que ce variant, situé dans la région candidate,

influence l'expression d'un gène présent dans une autre région du génome. Seule une étude transcriptomique de la plume, préférentiellement par RNAseq, pourrait permettre d'identifier le (ou les) gène(s) dont l'expression diffère entre des individus porteurs de CO*CO et des individus de type sauvage. Cependant cette approche suppose que le gène recherché est présent sur la puce d'expression disponible chez le poulet, ce qui n'est pas forcément le cas.

La figure ci-dessous montre les transcrits découverts dans la région candidate chez *Gallus gallus*, y compris de possibles gènes non codants (données non publiées).

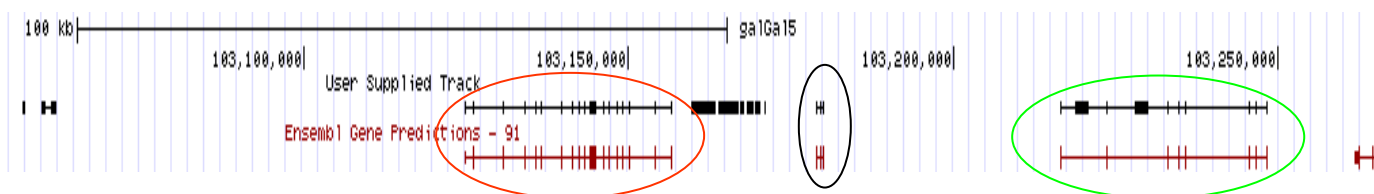


Figure 50: Représentation des transcrits présents dans la région candidate. En rouge: gènes codants recensés dans Ensembl. En noir: transcrits issus de données non publiées. Entouré en rouge : transcrit de *RBBP8*. Entouré en noir : transcrit de *LOC107052000*. Entouré en vert : transcrit de *CABLES1*.

Les transcrits correspondants aux gènes *RBBP8*, *CABLES1* et *LOC107052000* sont retrouvés. En plus, deux transcrits sont visibles en amont de *RBBP8*. Le deuxième transcrit est *LOC101751137*, un des deux gènes recensés uniquement sur NCBI, ont leur premier exon en commun.

Un bloc semblant être transcrit est également présent entre *RBBP8* et *LOC107052000*. Ce pourrait être un gène non codant.

Les travaux de cartographie fine du locus et l'étude de l'expression des gènes de la région candidate n'ont pas permis d'identifier le variant causal. La comparaison des séquences d'ADN d'une race porteuse de CO*CO et de races porteuses de CO*N a donc été entreprise dans le but d'identifier ce variant.

2.1.3.4 Recherche du variant causal de *Columbian*

L'existence d'une région divergente entre races porteuses de CO*CO et de CO*N constitue une piste de recherche intéressante.

Cependant, il est impossible de conclure plus précisément en l'absence de connaissance du statut des autres races vis-à-vis de *Columbian*. Un projet de séquençage est actuellement en cours, dans lequel plusieurs animaux homozygotes CO*CO sont impliqués.

L'allèle CO*CO étudié tout au long de ce travail provient à l'origine de la population Rhode Island rouge. Il est donc possible que la mutation responsable du phénotype Columbian chez la Nagoya diffère de la mutation responsable dans la lignée INRA. Etant donné qu'aucun des 28 SNPs identifiés dans la race Nagoya n'a été génotypé dans notre lignée, il n'existe à l'heure actuelle aucun élément de comparaison. Cependant, un individu homozygote CO*CO de la lignée INRA a été inclus dans le travail de séquençage mentionné précédemment. Cela peut permettre d'identifier un sous-ensemble de SNPs communs à tous les animaux porteurs homozygotes de CO, qu'il soit de la lignée INRA ou d'une autre race. Dans ce cas, le ou les SNP(s) responsable(s) du phénotype Columbian se trouveraient dans ce sous-ensemble.

Conclusion

Le variant *Columbian Restriction*, en supprimant le dichromatisme sexuel et en restreignant l'étendue de noir, est associé à un phénotype peu étudié au niveau génétique. Aucun gène associé à un tel phénotype n'a encore été découvert, et les mécanismes d'action des hormones sexuelles sur les phanères sont encore mal définis.

Ce travail a permis de cibler la région du génome associée au variant *Columbian Restriction* dans une lignée INRA. L'étude de l'expression des gènes candidats n'a pas permis d'identifier le gène qui lui est associé, mais l'allèle *CO*CO* peut entraîner des modifications qualitatives et quantitatives de la protéine associée sans modifier le niveau d'expression du gène : par exemple, un changement structurel de la protéine ou des modifications post-transcriptionnelle de l'ARNm peuvent modifier le phénotype exprimé.

Ces hypothèses sont actuellement à l'étude, par réalisation d'immunohistochimie et/ou hybridation *in situ* sur les gènes candidats et ceux caractéristiques des mélanocytes tel que *MITF*. Ces derniers devraient permettre une meilleure compréhension des mécanismes au niveau de la plume menant au phénotype *Columbian*.

Ce travail a également permis d'isoler un certain nombre de variants spécifiques d'une race porteuse de *Columbian*, mais cela reste un travail préliminaire non suffisant pour isoler le variant causal. Le séquençage d'autres races porteuses de *CO*CO* actuellement en cours permettra peut-être de l'isoler, si c'est la même mutation qui est à l'origine de *CO*CO* pour toutes les races.

Enfin, la région du génome isolée peut contenir le variant causal à l'origine de *Columbian*, sans pour autant contenir le gène associé : la mutation peut être apparue dans un élément de régulation (comme un microARN) situé dans la région candidate, mais le gène cible peut être à l'extérieur de cette région, et donc ne pas faire partie des gènes candidats étudiés. Dans ce cas, une étude du transcriptome total de la plume pourrait permettre d'identifier ce gène.

Cette thèse a donc permis certaines avancées dans l'étude de ce variant, mais de nombreuses interrogations demeurent. Les expériences actuellement en cours devraient permettre d'avoir quelques réponses sur le gène associé, le variant causal ou encore les mécanismes d'action de l'allèle *CO*CO*.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, **Alain DUCOS**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Chloé GUILLOTON** intitulée « **Etude génétique de la mutation *Columbian restriction* chez *Gallus gallus*** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 15 octobre 2018
Professeur **Alain DUCOS**
Enseignant Chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITELIN



Vu :
Le Président du jury :
Professeur **Patrick CALVAS**



Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université
Paul Sabatier
Monsieur **Jean-Pierre VINEL**

Mlle **Chloé GUILLOTON**
a été admis(e) sur concours en : 2013
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 04/07/2017
a validé son année d'approfondissement le : 18/07/2018
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
La Vice-Présidente de la CFVU
Régine ANDRE-OBRECHT



Bibliographie

- AHMED M. Ould, SALEM F. Ben, BEDHIAF S. et M'NAOUER D., (2010). Analyse moléculaire de la diversité génétique des dromadaires (*Camelus dromedarius*) en Tunisie. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. Vol. 14. n° 3. pp. 399-408.
- ALIBARDI L., (2009). Follicular patterns during feather morphogenesis in relation to the formation of asymmetric feathers, filoplumes and bristles. *Italian Journal of Zoology*. Vol. 76. n° 3. pp. 279-290. DOI 10.1080/11250000802555676.
- ANDO Hideya, NIKI Yoko, ITO Masaaki, AKIYAMA Kaoru, MATSUI Mary, YAROSH Daniel et ICHIHASHI Masamitsu, (2011). Melanosomes Are Transferred from Melanocytes to Keratinocytes through the Processes of Packaging, Release, Uptake, and Dispersion. *The Journal of investigative dermatology*. Vol. 132. pp. 1222-9. DOI 10.1038/jid.2011.413.
- AVIAGEN, (2018). *Ross broiler management handbook 2018* [en ligne]. [Consulté le 12 novembre 2018]. Disponible à l'adresse : <http://eu.aviagen.com/tech-center/download/18/Ross-BroilerHandbook2018-EN.pdf>
- BAÉZA, E. et BRILLARD, J.P, (2005). Effet d'une réversion du sexe sur le développement musculaire du poulet. In : *6èmes Journées de la Recherche Avicole* [en ligne]. saint malo. [Consulté le 26 septembre 2017]. Disponible à l'adresse : <http://prodinra.inra.fr/?locale=fr#!ConsultNotice:77401>
- BATESON Patrick, (1983). *Mate Choice*. Cambridge University Press. 484 p. ISBN 978-0-521-27207-0.
- BAUMAS Kamila, SOUDET Julien, CAIZERGUES-FERRER Michèle, FAUBLADIER Marlène, HENRY Yves et MOUGIN Annie, (2012). Human RioK3 is a novel component of cytoplasmic pre-40S pre-ribosomal particles. *RNA biology*. Vol. 9. n° 2. pp. 162-174. DOI 10.4161/rna.18810.
- BEAUMONT André, CASSIER Pierre et RICHARD Daniel, (2009). *Biologie animale - Les Cordés - 9e éd.: Anatomie comparée des vertébrés*. Dunod. 675 p. ISBN 978-2-10-054131-7.
- BELLAIRS Ruth et OSMOND Mark, (2014). *Atlas of Chick Development*. Academic Press. 693 p. ISBN 978-0-12-384952-6. Google-Books-ID: JAjGAgAAQBAJ
- BENNETT V. et CHEN L., (2001). Ankyrins and cellular targeting of diverse membrane proteins to physiological sites. *Current Opinion in Cell Biology*. Vol. 13. n° 1. pp. 61-67.
- BENYI Kow, TSHILATE Thendo Stanley, NETSHIPALE Avhafunani Justice et MAHLAKO Kgabo Tryphina, (2015). Effects of genotype and sex on the growth performance and carcass characteristics of broiler chickens. *Tropical Animal Health and Production*. Vol. 47. n° 7. pp. 1225-1231. DOI 10.1007/s11250-015-0850-3.
- BOND Heather M., MESURACA Maria, CARBONE Ennio, BONELLI Patrizia, AGOSTI Valter, AMODIO Nicola, ROSA Gennaro De, NICOLA Massimo Di, GIANNI Alessandro M., MOORE Malcolm A. S., HATA Akiko, GRIECO Michele, MORRONE Giovanni et VENUTA Salvatore, (2004). Early hematopoietic zinc finger protein (EHZF), the human homolog to mouse Evi3, is highly expressed in primitive human hematopoietic cells. *Blood*. Vol. 103. n° 6. pp. 2062-2070. DOI 10.1182/blood-2003-07-2388.
- BROPHY Patrick D., RASMUSSEN Maria, PARIDA Mrutyunjaya, BONDE Greg, DARBRO Benjamin W., HONG Xiaojing, CLARKE Jason C., PETERSON Kevin A., DENEGRE James, SCHNEIDER Michael, SUSSMAN Caroline R., SUNDE Lone, LILDBALLE Dorte L., HERTZ Jens Michael, CORNELL Robert A., MURRAY Stephen A. et MANAK J. Robert, (2017). A

Gene Implicated in Activation of Retinoic Acid Receptor Targets Is a Novel Renal Agenesis Gene in Humans. *Genetics*. Vol. 207. n° 1. pp. 215-228. DOI 10.1534/genetics.117.1125.

BRUGÈRE-PICOUX Jeanne, VAILLANCOURT Jean-Pierre, BOUZOUAIA Moncef, SHIVAPRASAD H. L. et VENNE Daniel, (2015). *Manual of Poultry Diseases*. AFAS. 701 p. ISBN 978-2-908014-02-0. Google-Books-ID: upNnrgEACAAJ

BURT David W., (2005). Chicken genome: Current status and future opportunities. *Genome Research*. Vol. 15. n° 12. pp. 1692-1698. DOI 10.1101/gr.4141805.

BUSTIN Stephen A., BENES Vladimir, GARSON Jeremy A., HELLEMANS Jan, HUGGETT Jim, KUBISTA Mikael, MUELLER Reinhold, NOLAN Tania, PFAFFL Michael W., SHIPLEY Gregory L., VANDESOMPELE Jo et WITTEWER Carl T., (2009). The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clinical Chemistry*. Vol. 55. n° 4. pp. 611-622. DOI 10.1373/clinchem.2008.112797.

CALLAWAY Ewen, (2016). When chickens go wild. *Nature News*. Vol. 529. n° 7586. pp. 270. DOI 10.1038/529270a.

CAREFOOT W. C., (2002). Hen-feathering mutation HF*H may act as a eumelanising factor and modify the expression of autosomal barring. *British poultry science*. Vol. 43. n° 3. pp. 391-394. DOI 10.1080/00071660120103666.

CARSTEADT E. D., MORRIS J. A., COLEMAN K. G., LOFTUS S. K., ZHANG D., CUMMINGS C., GU J., ROSENFELD M. A., PAVAN W. J., KRIZMAN D. B., NAGLE J., POLYMERPOULOS M. H., STURLEY S. L., IOANNOU Y. A., HIGGINS M. E., COMLY M., COONEY A., BROWN A., KANESKI C. R., BLANCHETTE-MACKIE E. J., DWYER N. K., NEUFELD E. B., CHANG T. Y., LISCUM L., STRAUSS J. F., OHNO K., ZEIGLER M., CARMIRI R., SOKOL J., MARKIE D., O'NEILL R. R., VAN DIGGELEN O. P., ELLEDER M., PATTERSON M. C., BRADY R. O., VANIER M. T., PENTCHEV P. G. et TAGLE D. A., (1997). Niemann-Pick C1 disease gene: homology to mediators of cholesterol homeostasis. *Science (New York, N.Y.)*. Vol. 277. n° 5323. pp. 228-231.

CHANG Chung-Ming, COVILLE Jean-Luc, COQUERELLE Gérard, GOURICHON David, OULMOUDEN Ahmad et TIXIER-BOICHARD Michèle, (2006a). Complete association between a retroviral insertion in the tyrosinase gene and the recessive white mutation in chickens. *BMC Genomics*. Vol. 7. pp. 19. DOI 10.1186/1471-2164-7-19.

CHANG Chung-Ming, COVILLE Jean-Luc, COQUERELLE Gérard, GOURICHON David, OULMOUDEN Ahmad et TIXIER-BOICHARD Michèle, (2006b). Complete association between a retroviral insertion in the tyrosinase gene and the recessive white mutation in chickens. *BMC genomics*. Vol. 7. pp. 19. DOI 10.1186/1471-2164-7-19.

CHEN Chih-Feng, FOLEY John, TANG Pin-Chi, LI Ang, JIANG Ting Xin, WU Ping, WIDELITZ Randall B. et CHUONG Cheng Ming, (2015). Development, regeneration, and evolution of feathers. *Annual Review of Animal Biosciences*. Vol. 3. pp. 169-195. DOI 10.1146/annurev-animal-022513-114127.

CHENOWETH Stephen F., DOUGHTY Paul et KOKKO Hanna, (2006). Can non-directional male mating preferences facilitate honest female ornamentation? *Ecology Letters*. Vol. 9. n° 2. pp. 179-184. DOI 10.1111/j.1461-0248.2005.00867.x.

COHEN Cheryl, (2018). Leghorns. In : *feathersite* [en ligne]. [Consulté le 18 juin 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.feathersite.com/Poultry/CGK/Leghorns/BRKLeghorns.html>

COLVIN Andrew Z., (2010). *A chart showing three types of selection*. [en ligne]. [Consulté le 4 août 2018]. Disponible à l'adresse :

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Selectiontypes-n0_images.png?uselang=fr Selection Types Chart.png

COOPER I. A., BROWN J. M. et GETTY T., (2016). A role for ecology in the evolution of colour variation and sexual dimorphism in Hawaiian damselflies. *Journal of Evolutionary Biology*. Vol. 29. n° 2. pp. 418-427. DOI 10.1111/jeb.12796.

COQUERELLE Gérard, (2000). *Les poules: Diversité génétique visible*. Editions Quae. 188 p. ISBN 978-2-7380-0934-0. Google-Books-ID: _TgnvBWYtdgC

CORNWALLIS Charlie K. et BIRKHEAD Tim R., (2006). SOCIAL STATUS AND AVAILABILITY OF FEMALES DETERMINE PATTERNS OF SPERM ALLOCATION IN THE FOWL. *Evolution*. Vol. 60. n° 7. pp. 1486. DOI 10.1554/06-098.1.

COUTEAUDIER Mathilde et DENESVRE Caroline, (2014). Le virus de la maladie de Marek et ses interactions avec la peau. *Virologie*. Vol. 18. n° 2. pp. 75-86. DOI 10.1684/vir.2014.0562.

COX Robert M. et CALSBEEK Ryan, (2009). Sexually Antagonistic Selection, Sexual Dimorphism, and the Resolution of Intralocus Sexual Conflict. *The American Naturalist*. Vol. 173. n° 2. pp. 176-187. DOI 10.1086/595841.

CRITTENDEN LB, BITGOOD JJ, BURT DW, DE LEON FA Ponce et TIXIER-BOICHARD M, (1996). Nomenclature for naming loci, alleles, linkage groups and chromosomes to be used in poultry genome publications and databases. *Genetics, Selection, Evolution : GSE*. Vol. 28. n° 3. pp. 289-297. DOI 10.1186/1297-9686-28-3-289.

CUNNINGHAM null et BIRKHEAD null, (1998). Sex roles and sexual selection. *Animal Behaviour*. Vol. 56. n° 6. pp. 1311-1321.

DARWIN Charles, (1859). *On the Origin of Species by Means of Natural Selection: Or the Preservation of Favored Races in the Struggle for Life*. W. B. Conkey. 552 p. Google-Books-ID: cAtfAAAAcAAJ

DARWIN Charles, (1872). *The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex*. D. Appleton. 432 p. Google-Books-ID: LYEQAAAAYAAJ

DAVID P. et HEEB P., (2007). Parasites et sélection sexuelle. In : *Ecologie et Evolution des Systèmes Parasités* [en ligne]. F. Thomas, J.-F. Guégan & F. Renaud eds. pp. 57-92. [Consulté le 18 septembre 2017]. Disponible à l'adresse : <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00160244>

DÁVILA S. G., GIL M. G., RESINO-TALAVÁN P. et CAMPO J. L., (2014a). Association between polymorphism in the melanocortin 1 receptor gene and E locus plumage color phenotype. *Poultry Science*. Vol. 93. n° 5. pp. 1089-1096. DOI 10.3382/ps.2013-03611.

DÁVILA S. G., GIL M. G., RESINO-TALAVÁN P. et CAMPO J. L., (2014b). Association between polymorphism in the melanocortin 1 receptor gene and E locus plumage color phenotype. *Poultry Science*. Vol. 93. n° 5. pp. 1089-1096. DOI 10.3382/ps.2013-03611.

DE LISLE Stephen P. et ROWE Locke, (2015). Ecological Character Displacement between the Sexes. *The American Naturalist*. Vol. 186. n° 6. pp. 693-707. DOI 10.1086/683775.

DE SOUSA Fernando, (2008). *A Brown Leghorn rooster at Collingwood Children's Farm* [en ligne]. [Consulté le 5 août 2018]. Disponible à l'adresse : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Brown_Leghorn_rooster_in_Australia.jpg Standing Tall

DEAN N., ZHANG Y. B. et POSTER J. B., (1997). The VRG4 gene is required for GDP-mannose transport into the lumen of the Golgi in the yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 272. n° 50. pp. 31908-31914.

DELEVOYE Cédric, GIORDANO Francesca, VAN NIEL Guillaume et RAPOSO Graça, (2011). La biogenèse des mélanosomes. *Medecine sciences : M/S*. Vol. 27. n° 2. pp. 153-162. DOI 10.1051/medsci/2011272153.

DEMIRKAN Ayşe, VAN DUIJN Cornelia M., UGOCSAI Peter, ISAACS Aaron, PRAMSTALLER Peter P., LIEBISCH Gerhard, WILSON James F., JOHANSSON Åsa, RUDAN Igor, AULCHENKO Yurii S., KIRICHENKO Anatoly V., JANSSENS A. Cecile J. W., JANSEN Ritsert C., GNEWUCH Carsten, DOMINGUES Francisco S., PATTARO Cristian, WILD Sarah H., JONASSON Inger, POLASEK Ozren, ZORKOLTSEVA Irina V., HOFMAN Albert, KARSSSEN Lennart C., STRUCHALIN Maksim, FLOYD James, IGL Wilmar, BILOGLAV Zrinka, BROER Linda, PFEUFER Arne, PICHLER Irene, CAMPBELL Susan, ZABOLI Ghazal, KOLCIC Ivana, RIVADENEIRA Fernando, HUFFMAN Jennifer, HASTIE Nicholas D., UITTERLINDEN Andre, FRANKE Lude, FRANKLIN Christopher S., VITART Veronique, DIAGRAM CONSORTIUM, NELSON Christopher P., PREUSS Michael, RADIOGRAM CONSORTIUM, BIS Joshua C., O'DONNELL Christopher J., FRANCESCHINI Nora, CHARGE CONSORTIUM, WITTEMAN Jacqueline C. M., AXENOVICH Tatiana, OOSTRA Ben A., MEITINGER Thomas, HICKS Andrew A., HAYWARD Caroline, WRIGHT Alan F., GYLLENSTEN Ulf, CAMPBELL Harry, SCHMITZ Gerd et EUROSPAN CONSORTIUM, (2012). Genome-wide association study identifies novel loci associated with circulating phospho- and sphingolipid concentrations. *PLoS genetics*. Vol. 8. n° 2. pp. e1002490. DOI 10.1371/journal.pgen.1002490.

DEPRISTO Mark A., BANKS Eric, POPLIN Ryan, GARIMELLA Kiran V., MAGUIRE Jared R., HARTL Christopher, PHILIPPAKIS Anthony A., ANGEL Guillermo del, RIVAS Manuel A., HANNA Matt, MCKENNA Aaron, FENNELL Tim J., KERNYTSKY Andrew M., SIVACHENKO Andrey Y., CIBULSKIS Kristian, GABRIEL Stacey B., ALTSHULER David et DALY Mark J., (2011). A framework for variation discovery and genotyping using next-generation DNA sequencing data. *Nature Genetics*. Vol. 43. n° 5. pp. 491-498. DOI 10.1038/ng.806.

DEVICHE Sabine, (2009). Feather Biology. In : *Arizona State University* [en ligne]. [Consulté le 5 février 2018]. Disponible à l'adresse : <https://askabiologist.asu.edu/explore/feather-biology>

D'MELLO Stacey A. N., FINLAY Graeme J., BAGULEY Bruce C. et ASKARIAN-AMIRI Marjan E., (2016). Signaling Pathways in Melanogenesis. *International Journal of Molecular Sciences* [en ligne]. Vol. 17. n° 7. [Consulté le 26 juin 2018]. DOI 10.3390/ijms17071144. Disponible à l'adresse : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4964517/>

DOMBROVSKY Y. et PERRIN N., (1994). On Adaptive Search and Optimal Stopping in Sequential Mate Choice. *The American Naturalist*. Vol. 144. n° 2. pp. 355-361. DOI 10.1086/285680.

DR. PURNA CHANDRA MAHAPATRA, (2015). Commercial Poultry Farming in Odisha -. *Odisha News Insight* [en ligne]. [Consulté le 21 juin 2018]. Disponible à l'adresse : <https://odishanewsinsight.com/features/commercial-poultry-farming-in-odisha/>

DUNN Peter O., ARMENTA Jessica K. et WHITTINGHAM Linda A., (2015). Natural and sexual selection act on different axes of variation in avian plumage color. *Science Advances*. Vol. 1. n° 2. pp. e1400155. DOI 10.1126/sciadv.1400155.

EARL Julia E. et WHITEMAN Howard H., (2015). Are Commonly Used Fitness Predictors Accurate? A Meta-analysis of Amphibian Size and Age at Metamorphosis. *Copeia*. Vol. 103. n° 2. pp. 297-309. DOI 10.1643/CH-14-128.

EBERHARD William, (1996). *Female Control: Sexual Selection by Cryptic Female Choice*. Princeton University Press. 520 p. ISBN 978-0-691-01084-7. Google-Books-ID: A0kcDzAIYy4C

ELLEGREN Hans, (2011). Emergence of male-biased genes on the chicken Z-chromosome: Sex-chromosome contrasts between male and female heterogametic systems. *Genome Research*. Vol. 21. n° 12. pp. 2082-2086. DOI 10.1101/gr.119065.110.

ELLETT Andrew, (2000). Melanocortin-1-Receptor (MCR-1) Gene Polymorphisms Associated with the Chicken E Locus Alleles. . Vol. 1. pp. 6.

ELLIS MR, (2004). Moulting - a natural process. In : *The Poultry Site* [en ligne]. [Consulté le 5 février 2018]. Disponible à l'adresse : <http://www.thepoultrysite.com/articles/217/moulting-a-natural-process/>

EMLEN S. T. et ORING L. W., (1977). Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems. *Science*. Vol. 197. n° 4300. pp. 215-223. DOI 10.1126/science.327542.

Encyclopédie Larousse en ligne - dimorphisme sexuel, [sans date]. In : [en ligne]. [Consulté le 8 juin 2017]. Disponible à l'adresse : http://www.larousse.fr/encyclopedie/divers/dimorphisme_sexuel/43586

ERIKSSON Jonas, LARSON Greger, GUNNARSSON Ulrika, BED'HOM Bertrand, TIXIER-BOICHARD Michele, STRÖMSTEDT Lina, WRIGHT Dominic, JUNGRIUS Annemieke, VEREIJKEN Addie, RANDI Ettore, JENSEN Per et ANDERSSON Leif, (2008). Identification of the Yellow Skin Gene Reveals a Hybrid Origin of the Domestic Chicken. *PLOS Genetics*. Vol. 4. n° 2. pp. e1000010. DOI 10.1371/journal.pgen.1000010.

FAIRBAIRN Daphne J., BLANCKENHORN Wolf U. et SZÉKELY Tamás (éd.), (2007). *Sex, Size and Gender Roles: Evolutionary Studies of Sexual Size Dimorphism*. Oxford, New York : Oxford University Press. 278 p. ISBN 978-0-19-920878-4.

FARCE Marie-Hélène, (2000). *Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales: Numéro hors série de la revue Productions animales*. Editions Quae. 268 p. ISBN 978-2-7380-0945-6.

FATIMA Attia et MORRIS Dermot G., (2013). MicroRNAs in domestic livestock. *Physiological Genomics*. Vol. 45. n° 16. pp. 685-696. DOI 10.1152/physiolgenomics.00009.2013.

FENG Jun, DE JESUS Paul D., SU Victoria, HAN Stephanie, GONG Danyang, WU Nicholas C., TIAN Yuan, LI Xudong, WU Ting-Ting, CHANDA Sumit K. et SUN Ren, (2014). RIOK3 Is an Adaptor Protein Required for IRF3-Mediated Antiviral Type I Interferon Production. *Journal of Virology*. Vol. 88. n° 14. pp. 7987-7997. DOI 10.1128/JVI.00643-14.

FERME DE BEAUMONT, (2018a). Orpington chocolat naine. In : *Ferme de Beaumont* [en ligne]. [Consulté le 6 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.fermedebeaumont.com/orpington-chocolat-naine-p-9341.html#description>

FERME DE BEAUMONT, (2018b). Sussex tricolore. In : *Ferme de Beaumont* [en ligne]. [Consulté le 6 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.fermedebeaumont.com/sussex-tricolore-p-6665.html>

FISHER R. A., (1915). The evolution of sexual preference. *The Eugenics Review*. Vol. 7. n° 3. pp. 184-192.

FRÉSARD Laure, LEROUX Sophie, SERVIN Bertrand, GOURICHON David, DEHAIS Patrice, CRISTOBAL Magali San, MARSAUD Nathalie, VIGNOLES Florence, BED'HOM Bertrand, COVILLE Jean-Luc, HORMOZDIARI Farhad, BEAUMONT Catherine, ZERJAL

Tatiana, VIGNAL Alain, MORISSON Mireille, LAGARRIGUE Sandrine et PITEL Frédérique, (2014). Transcriptome-wide investigation of genomic imprinting in chicken. *Nucleic Acids Research*. Vol. 42. n° 6. pp. 3768-3782. DOI 10.1093/nar/gkt1390.

FRINGS Oliver, MANK Judith E., ALEXEYENKO Andrey et SONNHAMMER Erik L. L., (2012). Network Analysis of Functional Genomics Data: Application to Avian Sex-Biased Gene Expression. *The Scientific World Journal* [en ligne]. Vol. 2012. [Consulté le 13 juin 2017]. DOI 10.1100/2012/130491. Disponible à l'adresse : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3540752/>

GENDREL Anne-Valerie et HEARD Edith, (2011). Fifty years of X-inactivation research. *Development (Cambridge, England)*. Vol. 138. n° 23. pp. 5049-5055. DOI 10.1242/dev.068320.

GENOME REFERENCE CONSORTIUM, (2015). Gallus gallus (ID 111) - Genome - NCBI. In : [en ligne]. [Consulté le 25 septembre 2017]. Disponible à l'adresse : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=gallus%20gallus>

GENOME REFERENCE CONSORTIUM, (2018). Gallus gallus (ID 111) - Genome - NCBI. In : [en ligne]. [Consulté le 17 novembre 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=gallus%20gallus>

GHANEM Ghanem et FABRICE Journée, (2011). Tyrosinase related protein 1 (TYRP1/gp75) in human cutaneous melanoma. *Molecular Oncology*. Vol. 5. n° 2. pp. 150-155. DOI 10.1016/j.molonc.2011.01.006.

GHEYAS Almas A., BOSCHIERO Clarissa, EORY LeI, RALPH Hannah, KUO Richard, WOOLLIAMS John A. et BURT David W., (2015). Functional classification of 15 million SNPs detected from diverse chicken populations. *DNA Research*. Vol. 22. n° 3. pp. 205-217. DOI 10.1093/dnares/dsv005.

GLUCKMAN Thanh-Lan et MUNDY Nicholas I., (2017). The differential expression of MC1R regulators in dorsal and ventral quail plumages during embryogenesis: Implications for plumage pattern formation. *PLoS ONE* [en ligne]. Vol. 12. n° 3. [Consulté le 22 août 2017]. DOI 10.1371/journal.pone.0174714. Disponible à l'adresse : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5371383/>

GLUTTON-BROCK T. H. et VINCENT A. C. J., (1991). Sexual selection and the potential reproductive rates of males and females. *Nature*. Vol. 351. n° 6321. pp. 58-60. DOI 10.1038/351058a0.

GREENE Erick, LYON Bruce E., MUEHTER Vincent R., RATCLIFFE Laurene, OLIVER Steven J. et BOAG Peter T., (2000). Disruptive sexual selection for plumage coloration in a passerine bird. *Nature*. Vol. 407. n° 6807. pp. 1000-1003. DOI 10.1038/35039500.

GUIZARD Sébastien, (2016). *Étude de l'organisation du génome de poulet à travers les séquences répétées.*

GUNNARSSON Ulrika, HELLSTRÖM Anders R., TIXIER-BOICHARD Michele, MINVIELLE Francis, BED'HOM Bertrand, ITO Shin'ichi, JENSEN Per, RATTINK Annemieke, VEREIJKEN Addie et ANDERSSON Leif, (2007). Mutations in SLC45A2 Cause Plumage Color Variation in Chicken and Japanese Quail. *Genetics*. Vol. 175. n° 2. pp. 867-877. DOI 10.1534/genetics.106.063107.

GUNNARSSON Ulrika, KERJE Susanne, BED'HOM Bertrand, SAHLQVIST Anna-Stina, EKWALL Olov, TIXIER-BOICHARD Michele, KÄMPE Olle et ANDERSSON Leif, (2011). The Dark brown plumage color in chickens is caused by an 8.3-kb deletion upstream of SOX10.

Pigment Cell & Melanoma Research. Vol. 24. n° 2. pp. 268-274. DOI 10.1111/j.1755-148X.2011.00825.x.

GUNNARSSON Ulrika, UPPSALA UNIVERSITET et INSTITUTIONEN FÖR MEDICINSK BIOKEMI OCH MIKROBIOLOGI, (2009). *Genetic Studies of Pigmentation in Chicken* [en ligne]. Uppsala : Acta Universitatis Upsaliensis. [Consulté le 14 mars 2018]. ISBN 978-91-554-7439-3. Disponible à l'adresse : <http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:uu:diva-98426> urn:nbn:se:uu:diva-98426

GUO X. L., LI X. L., LI Y., GU Z. L., ZHENG C. S., WEI Z. H., WANG J. S., ZHOU R. Y., LI L. H. et ZHENG H. Q., (2010). Genetic variation of chicken MC1R gene in different plumage colour populations. *British Poultry Science*. Vol. 51. n° 6. pp. 734-739. DOI 10.1080/00071668.2010.518408.

HANSSON Artur, (1947). THE PHYSIOLOGY OF REPRODUCTION IN MINK (*MUSTELA VISON*, SCHREB.) WITH SPECIAL REFERENCE TO DELAYED IMPLANTATION. *Acta Zoologica*. Vol. 28. n° 1. pp. 1-136. DOI 10.1111/j.1463-6395.1947.tb00023.x.

HARRIS Melissa L., BAXTER Laura L., LOFTUS Stacie K. et PAVAN William J., (2010). Sox proteins in melanocyte development and melanoma. *Pigment cell & melanoma research*. Vol. 23. n° 4. pp. 496-513. DOI 10.1111/j.1755-148X.2010.00711.x.

HARVEY Todd Alan, BOSTWICK Kimberly S. et MARSCHNER Steve, (2013). Directional reflectance and milli-scale feather morphology of the African Emerald Cuckoo, *Chrysococcyx cupreus*. *Journal of The Royal Society Interface*. Vol. 10. n° 86. pp. 20130391. DOI 10.1098/rsif.2013.0391.

HEATHERLION, (2014). *English: Cropped version of https://en.wikipedia.org/wiki/File:Royal_A_Rhode_Island_Red_Rooster.jpg by User:HeatherLion* [en ligne]. [Consulté le 5 août 2018]. Disponible à l'adresse : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Rhode_Island_Red_cock,_cropped.jpg edited version of https://en.wikipedia.org/wiki/File:Royal_A_Rhode_Island_Red_Rooster.jpg

HILLIER L. W., MILLER W., BIRNEY E., WARREN W., HARDISON R. C., PONTING C. P., BORK P., BURT D. W., GROENEN M. A., DELANY M. E., DODGSON J. B., CHINVALLA A. T., CLIFTEN P. F., CLIFTON S. W., DELEHAUNTY K. D. et SKJØDT Karsten, (2004). Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution: International Chicken Genome Sequencing Consortium. *Nature*. Vol. 432. n° 7018. pp. 695-716.

HOASHI Toshihiko, WATABE Hidenori, MULLER Jacqueline, YAMAGUCHI Yuji, VIEIRA Wilfred D. et HEARING Vincent J., (2005). MART-1 Is Required for the Function of the Melanosomal Matrix Protein PMEL17/GP100 and the Maturation of Melanosomes. *Journal of Biological Chemistry*. Vol. 280. n° 14. pp. 14006-14016. DOI 10.1074/jbc.M413692200.

HOLLAND Brett et RICE William R., (1998). Perspective: Chase-Away Sexual Selection: Antagonistic Seduction Versus Resistance. *Evolution*. Vol. 52. n° 1. pp. 1-7. DOI 10.2307/2410914.

HO-PUN-CHEUNG A., CELLIER D. et LOPEZ-CRAPEZ E., (2008). Considerations for normalisation of RT-qPCR in oncology. *Annales de Biologie Clinique*. Vol. 66. n° 2. pp. 121-129. DOI 10.1684/abc.2008.0204.

HOU Ling et PAVAN William J, (2008). Transcriptional and signaling regulation in neural crest stem cell-derived melanocyte development: do all roads lead to Mitf? *Cell Research*. Vol. 18. n° 12. pp. 1163-1176. DOI 10.1038/cr.2008.303.

HSIAO Jennifer J et FISHER David E, (2014). The roles of Microphthalmia Transcription Factor and pigmentation in melanoma. *Archives of biochemistry and biophysics*. Vol. 563. pp. 28-34. DOI 10.1016/j.abb.2014.07.019.

HSU Hui-Chun, LEE Yun-Lin, CHENG Tai-Shan, HOWNG Shen-Long, CHANG Li-Kwan, LU Pei-Jung et HONG Yi-Ren, (2005). Characterization of two non-testis-specific CABYR variants that bind to GSK3beta with a proline-rich extensin-like domain. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Vol. 329. n° 3. pp. 1108-1117. DOI 10.1016/j.bbrc.2005.02.089.

HUNT John, BREUKER Casper J., SADOWSKI Jennifer A. et MOORE Allen J., (2009). Male–male competition, female mate choice and their interaction: determining total sexual selection. *Journal of Evolutionary Biology*. Vol. 22. n° 1. pp. 13-26. DOI 10.1111/j.1420-9101.2008.01633.x.

INAGAKI BREEDING FARM, (2004). kohtin. In : *Inagaki Breeding Farm, Ltd* [en ligne]. [Consulté le 8 juin 2018]. Disponible à l'adresse : <http://www.k-net.or.jp/~kohtin/>

ITIS STANDARD REPORT, (2017). ITIS Standard Report Page: Gallus gallus. In : *Integrated Taxonomic Information System* [en ligne]. [Consulté le 5 août 2018]. Disponible à l'adresse : https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=176086#null

JACOB Jacqueline P. et MATHER F. Ben, (2000). *Capons* [en ligne]. University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agriculture Sciences, EDIS. [Consulté le 28 avril 2017]. Disponible à l'adresse : <http://ag.udel.edu/poultry/bm/part1old/capon.pdf>

JACOB Jacquie, (2015). Causes of Hen-Feathering in Male Chickens Kept in Small and Backyard Flocks. In : *eXtension* [en ligne]. [Consulté le 5 août 2018]. Disponible à l'adresse : <http://articles.extension.org/pages/65438/causes-of-hen-feathering-in-male-chickens-kept-in-small-and-backyard-flocks>

JANETOS Anthony C., (1980). Strategies of female mate choice: A theoretical analysis. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. Vol. 7. n° 2. pp. 107-112. DOI 10.1007/BF00299515.

JEAN Guillaume, (2013). *Ils ont domestiqué plantes et animaux: Prélude à la civilisation*. Quae. 468 p. ISBN 978-2-7592-1589-8. Google-Books-ID: CngjCwAAQBAJ

JENNIONS Michael D. et PETRIE Marion, (2007). VARIATION IN MATE CHOICE AND MATING PREFERENCES: A REVIEW OF CAUSES AND CONSEQUENCES. *Biological Reviews*. Vol. 72. n° 2. pp. 283-327. DOI 10.1111/j.1469-185X.1997.tb00015.x.

JOHNSON R. J., (1988). Diminution of pulsatile growth hormone secretion in the domestic fowl (*Gallus domesticus*): evidence of sexual dimorphism. *Journal of endocrinology*. Vol. 119. n° 1. pp. 101–109.

JOHNSSON Martin, GUSTAFSON Ida, RUBIN Carl-Johan, SAHLQVIST Anna-Stina, JONSSON Kenneth B., KERJE Susanne, EKWALL Olov, KÄMPE Olle, ANDERSSON Leif, JENSEN Per et WRIGHT Dominic, (2012). A Sexual Ornament in Chickens Is Affected by Pleiotropic Alleles at HAO1 and BMP2, Selected during Domestication. *PLoS Genetics*. Vol. 8. n° 8. pp. e1002914. DOI 10.1371/journal.pgen.1002914.

JOSEPH N. S., ROBINSON F. E., RENEMA R. A. et THORSTEINSON K. A., (2003). Comb growth during sexual maturation in female broiler breeders. *The Journal of Applied Poultry Research*. Vol. 12. n° 1. pp. 7–13.

JVL, (2012). *English: Two Booted Bantams at a peting zoo (De Waterster), in The Hague, Netherlands.* [en ligne]. [Consulté le 5 août 2018]. Disponible à l'adresse : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Booted_Bantam_-_peting_zoo,_The_Hague,_Netherlands_-two-8a.jpgBooted Bantam Uploaded by snowmanradio

K LING Maria, LAGERSTRÖM Malin, FREDRIKSSON Robert, OKIMOTO Ronald, I MUNDY Nicholas, TAKEUCHI Sakae et B SCHIÖTH Helgi, (2003). Association of feather colour with constitutively active melanocortin 1 receptors in chicken. *European journal of biochemistry / FEBS*. Vol. 270. pp. 1441-9. DOI 10.1046/j.1432-1033.2003.03506.x.

KAISER Vera B. et ELLEGREN Hans, (2006). Nonrandom distribution of genes with sex-biased expression in the chicken genome. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*. Vol. 60. n° 9. pp. 1945-1951.

KAMIYA Daisuke, BANNO Satoe, SASAI Noriaki, OHGUSHI Masatoshi, INOMATA Hidehiko, WATANABE Kiichi, KAWADA Masako, YAKURA Rieko, KIYONARI Hiroshi, NAKAO Kazuki, JAKT Lars Martin, NISHIKAWA Shin-ichi et SASAI Yoshiki, (2011). Intrinsic transition of embryonic stem-cell differentiation into neural progenitors. *Nature*. Vol. 470. n° 7335. pp. 503-509. DOI 10.1038/nature09726.

KA-SHU WONG Gane, LIU Bin, WANG Jun, ZHANG Yong, YANG Xu, ZHANG Zengjin, MENG Qingshun, ZHOU Jun, LI Dawei, ZHANG Jingjing, NI Peixiang, LI Songgang, RAN Longhua, LI Heng, ZHANG Jianguo, LI Ruiqiang, LI Shengting, ZHENG Hongkun, LIN Wei, LI Guangyuan, WANG Xiaoling, ZHAO Wenming, LI Jun, YE Chen, DAI Mingtao, RUAN Jue, ZHOU Yan, LI Yuanzhe, HE Ximiao, ZHANG Yunze, WANG Jing, HUANG Xiangang, TONG Wei, CHEN Jie, YE Jia, CHEN Chen, WEI Ning, LI Guoqing, DONG Le, LAN Fengdi, SUN Yongqiao, ZHANG Zhenpeng, YANG Zheng, YU Yingpu, HUANG Yanqing, HE Dandan, XI Yan, WEI Dong, QI Qihui, LI Wenjie, SHI Jianping, WANG Miaoheng, XIE Fei, WANG Jianjun, ZHANG Xiaowei, WANG Pei, ZHAO Yiqiang, LI Ning, YANG Ning, DONG Wei, HU Songnian, ZENG Changqing, ZHENG Weimou, HAO Bailin, HILLIER LaDeana W., YANG Shiaw-Pyng, WARREN Wesley C., WILSON Richard K., BRANDSTRÖM Mikael, ELLEGREN Hans, CROOIJMANS Richard P. M. A., VAN DER POEL Jan J., BOVENHUIS Henk, GROENEN Martien A. M., OVCHARENKO Ivan, GORDON Laurie, STUBBS Lisa, LUCAS Susan, GLAVINA Tijana, AERTS Andrea, KAISER Pete, ROTHWELL Lisa, YOUNG John R., ROGERS Sally, WALKER Brian A., VAN HATEREN Andy, KAUFMAN Jim, BUMSTEAD Nat, LAMONT Susan J., ZHOU Huaijun, HOCKING Paul M., MORRICE David, DE KONING Dirk-Jan, LAW Andy, BARTLEY Neil, BURT David W., HUNT Henry, CHENG Hans H., GUNNARSSON Ulrika, WAHLBERG Per, ANDERSSON Leif, KINDLUND Ellen, TAMMI Martti T., ANDERSSON Björn, WEBBER Caleb, PONTING Chris P., OVERTON Ian M., BOARDMAN Paul E, TANG Haizhou, HUBBARD Simon J., WILSON Stuart A., YU Jun, WANG Jian et YANG HuanMing, (2004). A genetic variation map for chicken with 2.8 million single-nucleotide polymorphisms. *Nature*. Vol. 432. n° 7018. pp. 717-722. DOI 10.1038/nature03156.

KENT W. J., (2002). BLAT---The BLAST-Like Alignment Tool. *Genome Research*. Vol. 12. n° 4. pp. 656-664. DOI 10.1101/gr.229202.

KERJE S., LIND J., SCHÜTZ K., JENSEN P. et ANDERSSON L., (2003). Melanocortin 1-receptor (MC1R) mutations are associated with plumage colour in chicken. *Animal Genetics*. Vol. 34. n° 4. pp. 241-248.

KERJE Susanne, SHARMA Preety, GUNNARSSON Ulrika, KIM Hyun, BAGCHI Sonchita, FREDRIKSSON Robert, SCHÜTZ Karin, JENSEN Per, VON HEIJNE Gunnar, OKIMOTO Ron et ANDERSSON Leif, (2004). The Dominant white, Dun and Smoky Color Variants in Chicken Are Associated With Insertion/Deletion Polymorphisms in the PMEL17 Gene. *Genetics*. Vol. 168. n° 3. pp. 1507-1518. DOI 10.1534/genetics.104.027995.

KIM Daniel H. et ROSSI John J., (2008). RNAi mechanisms and applications. *BioTechniques*. Vol. 44. n° 5. pp. 613-616. DOI 10.2144/000112792.

KINOSHITA Keiji, AKIYAMA Toyoko, MIZUTANI Makoto, SHINOMIYA Ai, ISHIKAWA Akira, YOUNIS Hassan Hassan, TSUDZUKI Masaoki, NAMIKAWA Takao et MATSUDA Yoichi, (2014). Endothelin Receptor B2 (EDNRB2) Is Responsible for the Tyrosinase-Independent Recessive White (mow) and Mottled (mo) Plumage Phenotypes in the Chicken. *PLoS ONE* [en ligne]. Vol. 9. n° 1. [Consulté le 22 août 2017]. DOI 10.1371/journal.pone.0086361. Disponible à l'adresse : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3900529/>

KOKKO Hanna et JENNIONS Michael D., (2008). Parental investment, sexual selection and sex ratios. *Journal of Evolutionary Biology*. Vol. 21. n° 4. pp. 919-948. DOI 10.1111/j.1420-9101.2008.01540.x.

KOUZNETSOVA Ekaterina, KANNO Takaharu, KARLBERG Tobias, THORSELL Ann-Gerd, WISNIEWSKA Magdalena, KURSULA Petri, SJÖGREN Camilla et SCHÜLER Herwig, (2016). Sister Chromatid Cohesion Establishment Factor ESCO1 Operates by Substrate-Assisted Catalysis. *Structure (London, England: 1993)*. Vol. 24. n° 5. pp. 789-796. DOI 10.1016/j.str.2016.03.021.

KRANIS Andreas, GHEYAS Almas A., BOSCHIERO Clarissa, TURNER Frances, YU Le, SMITH Sarah, TALBOT Richard, PIRANI Ali, BREW Fiona, KAISER Pete, HOCKING Paul M., FIFE Mark, SALMON Nigel, FULTON Janet, STROM Tim M., HABERER Georg, WEIGEND Steffen, PREISINGER Rudolf, GHOLAMI Mahmood, QANBARI Saber, SIMIANER Henner, WATSON Kellie A., WOOLLIAMS John A. et BURT David W., (2013). Development of a high density 600K SNP genotyping array for chicken. *BMC Genomics*. Vol. 14. pp. 59. DOI 10.1186/1471-2164-14-59.

LAMBETH Luke S., MORRIS Kirsten R., WISE Terry G., CUMMINS David M., O'NEIL Terri E., CAO Yu, SINCLAIR Andrew H., DORAN Timothy J. et SMITH Craig A., (2016). Transgenic Chickens Overexpressing Aromatase Have High Estrogen Levels but Maintain a Predominantly Male Phenotype. *Endocrinology*. Vol. 157. n° 1. pp. 83-90. DOI 10.1210/en.2015-1697.

LAMBETH Luke S., RAYMOND Christopher S., ROESZLER Kelly N., KUROIWA Asato, NAKATA Tomohiro, ZARKOWER David et SMITH Craig A., (2014). Over-expression of DMRT1 induces the male pathway in embryonic chicken gonads. *Developmental Biology*. Vol. 389. n° 2. pp. 160-172. DOI 10.1016/j.ydbio.2014.02.012.

LAROUSSE Éditions, (2017a). Définitions : Définitions de pléiotropie - Dictionnaire de français Larousse. In : [en ligne]. [Consulté le 17 novembre 2017]. Disponible à l'adresse : <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/pl%C3%A9%C3%AFotropie/186628>

LAROUSSE Éditions, (2017b). Définitions : polygynie - Dictionnaire de français Larousse. In : [en ligne]. [Consulté le 19 juin 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/polygynie/62322>

LATROPOX, (2012). *Français : Coq Sebright Argenté* [en ligne]. [Consulté le 5 août 2018]. Disponible à l'adresse : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Coq_Sebright_Argent%C3%A9.JPG Own work

LE MONDE.FR, (2011). Les poules pondeuses rêvent toujours de grands espaces. *Le Monde.fr* [en ligne]. [Consulté le 4 août 2018]. Disponible à l'adresse : https://www.lemonde.fr/planete/article/2011/12/29/les-poules-pondeuses-revent-toujours-de-grands-espaces_1624041_3244.html

LEONARD Marty L et ZANETTE Liana, (1998). Female mate choice and male behaviour in domestic fowl. *Animal Behaviour*. Vol. 56. n° 5. pp. 1099-1105.
DOI 10.1006/anbe.1998.0886.

LI Shijun, WANG Cui, YU Wenhua, ZHAO Shuhong et GONG Yanzhang, (2012). Identification of Genes Related to White and Black Plumage Formation by RNA-Seq from White and Black Feather Bulbs in Ducks. *PLoS ONE* [en ligne]. Vol. 7. n° 5. [Consulté le 28 février 2018]. DOI 10.1371/journal.pone.0036592. Disponible à l'adresse : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3352928/>

LI Yan, ZHANG Liqing, ZHANG Dexiang, ZHANG Xiquan et LU Xuemei, (2010). Faster evolution of Z-linked duplicate genes in chicken. *Journal of Genetics and Genomics = Yi Chuan Xue Bao*. Vol. 37. n° 10. pp. 695-702. DOI 10.1016/S1673-8527(09)60087-4.

LIGON J. David et ZWARTJES Patrick W., (1995). Ornate plumage of male red junglefowl does not influence mate choice by females. *Animal Behaviour*. Vol. 49. n° 1. pp. 117-125. DOI 10.1016/0003-3472(95)80159-6.

LIN S. J., FOLEY J., JIANG T. X., YEH C. Y., WU P., FOLEY A., YEN C. M., HUANG Y. C., CHENG H. C., CHEN C. F., REEDER B., JEE S. H., WIDELITZ R. B. et CHUONG C. M., (2013). Topology of feather melanocyte progenitor niche allows complex pigment patterns to emerge. *Science (New York, N.Y.)*. Vol. 340. n° 6139. pp. 1442-1445. DOI 10.1126/science.1230374.

LIVAK K. J. et SCHMITTGEN T. D., (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods (San Diego, Calif.)*. Vol. 25. n° 4. pp. 402-408. DOI 10.1006/meth.2001.1262.

LONG Jonathan Z., CISAR Justin S., MILLIKEN David, NIESSEN Sherry, WANG Chu, TRAUGER Sunia A., SIUZDAK Gary et CRAVATT Benjamin F., (2011). Metabolomics annotates ABHD3 as a physiologic regulator of medium-chain phospholipids. *Nature Chemical Biology*. Vol. 7. n° 11. pp. 763-765. DOI 10.1038/nchembio.659.

MABEL Joe, (2016a). *English: Blue Hamburg pullet* [en ligne]. [Consulté le 5 août 2018]. Disponible à l'adresse : [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cory%27s_chickens_08_-_Blue_Hamburg_pullet_\(28741561116\).jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cory%27s_chickens_08_-_Blue_Hamburg_pullet_(28741561116).jpg)Cory's chickens 08 - Blue Hamburg pullet

MABEL Joe, (2016b). *English: Egyptian Fayoumi pullet* [en ligne]. [Consulté le 5 août 2018]. Disponible à l'adresse : [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cory%27s_chickens_09_-_Egyptian_Fayoumi_pullet_\(28488787120\)_\(cropped\).jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cory%27s_chickens_09_-_Egyptian_Fayoumi_pullet_(28488787120)_(cropped).jpg)Cory's chickens 09 - Egyptian Fayoumi pullet

MANGA Prashiela, SATO Kiyoshi, YE Liyan, BEERMANN Friedrich, LAMOREUX M. Lynn et ORLOW Seth J., (2000). Mutational Analysis of the Modulation of Tyrosinase by Tyrosinase-Related Proteins 1 and 2 In Vitro. *Pigment Cell Research*. Vol. 13. n° 5. pp. 364-374. DOI 10.1034/j.1600-0749.2000.130510.x.

MANK Judith E., HULTIN-ROSENBERG Lina, AXELSSON Erik et ELLEGREN Hans, (2007). Rapid Evolution of Female-Biased, but Not Male-Biased, Genes Expressed in the Avian Brain. *Molecular Biology and Evolution*. Vol. 24. n° 12. pp. 2698-2706. DOI 10.1093/molbev/msm208.

MARANS CLUB DE FRANCE, (2017a). Variété NOIR-CUIVRE. In : *Marans Club de France* [en ligne]. [Consulté le 5 août 2018]. Disponible à l'adresse : <http://www.marans.eu/ncui.htm>

MARANS CLUB DE FRANCE, (2017b). Variété Coucou-argenté. In : *Marans Club de France* [en ligne]. [Consulté le 5 février 2018]. Disponible à l'adresse : <http://www.marans.eu/ca.htm>

- MATSUMINE H., HERBST M. A., OU S. H., WILSON J. D. et MCPHAUL M. J., (1991). Aromatase mRNA in the extragonadal tissues of chickens with the henny-feathering trait is derived from a distinctive promoter structure that contains a segment of a retroviral long terminal repeat. Functional organization of the Sebright, Leghorn, and Campine aromatase genes. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 266. n° 30. pp. 19900-19907.
- MINVIELLE Francis, BED'HOM Bertrand, COVILLE Jean-Luc, ITO Shin'ichi, INOUE-MURAYAMA Miho et GOURICHON David, (2010). The « silver » Japanese quail and the MITF gene: causal mutation, associated traits and homology with the « blue » chicken plumage. *BMC genetics*. Vol. 11. pp. 15. DOI 10.1186/1471-2156-11-15.
- MOCHII Makoto, AGATA Kiyokazu et EGUCHI Goro, (1991). Complete Sequence and Expression of a cDNA Encoding a Chicken 115-kDa Melanosomal Matrix Protein. *Pigment cell research / sponsored by the European Society for Pigment Cell Research and the International Pigment Cell Society*. Vol. 4. pp. 41-7. DOI 10.1111/j.1600-0749.1991.tb00312.x.
- MOLLER A. P. et POMIANKOWSKI A., (1993). Why have birds got multiple sexual ornaments? *Behavioral Ecology and Sociobiology*. Vol. 32. n° 3. pp. 167-176. DOI 10.1007/BF00173774.
- MORT Richard L., JACKSON Ian J. et PATTON E. Elizabeth, (2015). The melanocyte lineage in development and disease. *Development (Cambridge, England)*. Vol. 142. n° 4. pp. 620-632. DOI 10.1242/dev.106567.
- MUIR W. M. et AGGREY S. E., (2003). *Poultry Genetics, Breeding, and Biotechnology*. CABI. 724 p. ISBN 978-0-85199-845-9. Google-Books-ID: 0K8GHZl1Z3MC
- NAABY-HANSEN Soren, MANDAL Arabinda, WOLKOWICZ Michael J., SEN Buer, WESTBROOK V. Anne, SHETTY Jagathpala, COONROD Scott A., KLOTZ Kenneth L., KIM Young-Howan, BUSH Leigh Ann, FLICKINGER Charles J. et HERR John C., (2002). CABYR, a Novel Calcium-Binding Tyrosine Phosphorylation-Regulated Fibrous Sheath Protein Involved in Capacitation. *Developmental Biology*. Vol. 242. n° 2. pp. 236-254. DOI 10.1006/dbio.2001.0527.
- NADEAU Nicola J, BURKE Terry et MUNDY Nicholas I, (2007). Evolution of an avian pigmentation gene correlates with a measure of sexual selection. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Vol. 274. n° 1620. pp. 1807-1813. DOI 10.1098/rspb.2007.0174.
- NADEAU Nicola J., MINVIELLE Francis, ITO Shin'ichi, INOUE-MURAYAMA Miho, GOURICHON David, FOLLETT Sarah A., BURKE Terry et MUNDY Nicholas I., (2008). Characterization of Japanese quail yellow as a genomic deletion upstream of the avian homolog of the mammalian ASIP (agouti) gene. *Genetics*. Vol. 178. n° 2. pp. 777-786. DOI 10.1534/genetics.107.077073.
- NAKAMURA Kyoko, KOGAME Toshiaki, OSHIUMI Hiroyuki, SHINOHARA Akira, SUMITOMO Yoshiki, AGAMA Keli, POMMIER Yves, TSUTSUI Kimiko M., TSUTSUI Ken, HARTSUIKER Edgar, OGI Tomoo, TAKEDA Shunichi et TANIGUCHI Yoshihito, (2010). Collaborative action of Brca1 and CtIP in elimination of covalent modifications from double-strand breaks to facilitate subsequent break repair. *PLoS genetics*. Vol. 6. n° 1. pp. e1000828. DOI 10.1371/journal.pgen.1000828.
- NAKAMURA Takao, ITADANI Hiraku, HIDAKA Yusuke, OHTA Masataka et TANAKA Kenichi, (2000). Molecular Cloning and Characterization of a New Human Histamine Receptor, HH4R. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Vol. 279. n° 2. pp. 615-620. DOI 10.1006/bbrc.2000.4008.

NAURIN Sara, HASSELQUIST Dennis, BENSCH Staffan et HANSSON Bengt, (2012). Sex-biased gene expression on the avian Z chromosome: highly expressed genes show higher male-biased expression. *PLoS One*. Vol. 7. n° 10. pp. e46854. DOI 10.1371/journal.pone.0046854.

OKAMURA K., HAGIWARA-TAKEUCHI Y., LI T., VU T. H., HIRAI M., HATTORI M., SAKAKI Y., HOFFMAN A. R. et ITO T., (2000). Comparative genome analysis of the mouse imprinted gene *Impact* and its nonimprinted human homolog *IMPACT*: toward the structural basis for species-specific imprinting. *Genome Research*. Vol. 10. n° 12. pp. 1878-1889.

O'LEARY Nuala A., WRIGHT Mathew W., BRISTER J. Rodney, CIUFO Stacy, HADDAD Diana, MCVEIGH Rich, RAJPUT Bhanu, ROBERTSE Barbara, SMITH-WHITE Brian, AKO-ADJEI Danso, ASTASHYN Alexander, BADRETDIN Azat, BAO Yiming, BLINKOVA Olga, BROVER Vyacheslav, CHETVERNIN Vyacheslav, CHOI Jinna, COX Eric, ERMOLAEVA Olga, FARRELL Catherine M., GOLDFARB Tamara, GUPTA Tripti, HAFT Daniel, HATCHER Eneida, HLAVINA Wratko, JOARDAR Vinita S., KODALI Vamsi K., LI Wenjun, MAGLOTT Donna, MASTERSON Patrick, MCGARVEY Kelly M., MURPHY Michael R., O'NEILL Kathleen, PUJAR Shashikant, RANGWALA Sanjida H., RAUSCH Daniel, RIDDICK Lillian D., SCHOCH Conrad, SHKEDA Andrei, STORZ Susan S., SUN Hanzhen, THIBAUD-NISSEN Françoise, TOLSTOY Igor, TULLY Raymond E., VATSAN Anjana R., WALLIN Craig, WEBB David, WU Wendy, LANDRUM Melissa J., KIMCHI Avi, TATUSOVA Tatiana, DICUCCIO Michael, KITTS Paul, MURPHY Terence D. et PRUITT Kim D., (2016). Reference sequence (RefSeq) database at NCBI: current status, taxonomic expansion, and functional annotation. *Nucleic Acids Research*. Vol. 44. n° D1. pp. D733-D745. DOI 10.1093/nar/gkv1189.

ORIBE Eri, FUKAO Ayaka, YOSHIHARA Chihiro, MENDORI Misa, ROSAL Karen G., TAKAHASHI Sumio et TAKEUCHI Sakae, (2012). Conserved distal promoter of the agouti signaling protein (ASIP) gene controls sexual dichromatism in chickens. *General and Comparative Endocrinology*. Vol. 177. n° 2. pp. 231-237. DOI 10.1016/j.ygcen.2012.04.016.

OWENS I. P. F. et HARTLEY I. R., (1998). Sexual dimorphism in birds: why are there so many different forms of dimorphism? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Vol. 265. n° 1394. pp. 397-407. DOI 10.1098/rspb.1998.0308.

OWENS I. P. et SHORT R. V., (1995). Hormonal basis of sexual dimorphism in birds: implications for new theories of sexual selection. *Trends in Ecology & Evolution*. Vol. 10. n° 1. pp. 44-47.

PARKER Geoff A., LESSELLS Catherine M. et SIMMONS Leigh W., (2013). Sperm competition games: a general model for precopulatory male-male competition. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*. Vol. 67. n° 1. pp. 95-109. DOI 10.1111/j.1558-5646.2012.01741.x.

PARKER T. H. et GARANT D., (2005). Quantitative genetics of ontogeny of sexual dimorphism in red junglefowl (*Gallus gallus*). *Heredity*. Vol. 95. n° 5. pp. 401-407. DOI 10.1038/sj.hdy.6800742.

PELARDY Mathieu, (2014). *English: Golden Sebright Cock* [en ligne]. [Consulté le 5 août 2018]. Disponible à l'adresse : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Sebright_Gold_Dor%C3%A9.jpg Own work

PEREIRA Cátia M., SATTLEGGER Evelyn, JIANG Hao-Yuan, LONGO Beatriz M., JAQUETA Carolina B., HINNEBUSCH Alan G., WEK Ronald C., MELLO Luiz E. A. M. et CASTILHO Beatriz A., (2005). *IMPACT*, a protein preferentially expressed in the mouse brain, binds GCN1 and inhibits GCN2 activation. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 280. n° 31. pp. 28316-28323. DOI 10.1074/jbc.M408571200.

PIZZARI T. et BIRKHEAD T. R., (2000). Female feral fowl eject sperm of subdominant males. *Nature*. Vol. 405. n° 6788. pp. 787-789. DOI 10.1038/35015558.

PIZZARI T, FROMAN D P et BIRKHEAD T R, (2002). Pre- and post-insemination episodes of sexual selection in the fowl, *Gallus g. domesticus*. *Heredity*. Vol. 88. n° 2. pp. 112-116. DOI 10.1038/sj.hdy.6800014.

PIZZARI Tommaso, CORNWALLIS Charles K., LØVLIE Hanne, JAKOBSSON Sven et BIRKHEAD Tim R., (2003). Sophisticated sperm allocation in male fowl. *Nature*. Vol. 426. n° 6962. pp. 70-74. DOI 10.1038/nature02004.

PRUM Richard O. et BRUSH Alan H., (2014). Which Came First, the Feather or the Bird? *Scientific American*. Vol. 23. pp. 76-85. DOI 10.1038/scientificamericandinosau0514-76.

PRUM Richard O. et WILLIAMSON Scott, (2002). Reaction–diffusion models of within-feather pigmentation patterning. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. Vol. 269. n° 1493. pp. 781-792. DOI 10.1098/rspb.2001.1896.

QUINTIN Thaddeus, (2006). *A Brown Leghorn hen. This is the only one of the three leghorns that survived a recent fox attack*. [en ligne]. [Consulté le 5 août 2018]. Disponible à l'adresse : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Brown_Leghorn_hen,_Ohio.jpg And then there was one.

RAD Hesamaddin Hejazy, YAMASHITA Toshiharu, JIN Hai-Ying, HIROSAKI Kuninori, WAKAMATSU Kazumasa, ITO Shosuke et JIMBOW Kowichi, (2004). Tyrosinase-related proteins suppress tyrosinase-mediated cell death of melanocytes and melanoma cells. *Experimental Cell Research*. Vol. 298. n° 2. pp. 317-328. DOI 10.1016/j.yexcr.2004.04.045.

RANEY Brian J., DRESZER Timothy R., BARBER Galt P., CLAWSON Hiram, FUJITA Pauline A., WANG Ting, NGUYEN Ngan, PATEN Benedict, ZWEIG Ann S., KAROLCHIK Donna et KENT W. James, (2014). Track data hubs enable visualization of user-defined genome-wide annotations on the UCSC Genome Browser. *Bioinformatics*. Vol. 30. n° 7. pp. 1003-1005. DOI 10.1093/bioinformatics/btt637.

REMEŠ V. et SZÉKELY T., (2010). Domestic chickens defy Rensch's rule: sexual size dimorphism in chicken breeds: Sexual size dimorphism in chicken breeds. *Journal of Evolutionary Biology*. Vol. 23. n° 12. pp. 2754-2759. DOI 10.1111/j.1420-9101.2010.02126.x.

RENARD Aurélie, (2008). *L'origine du dimorphisme sexuel chez les mammifères carnivores ontogénie du dimorphisme sexuel de taille chez la mouffette rayée (Mephitis mephitis)* [en ligne]. Université du Québec à Rimouski. [Consulté le 28 avril 2017]. Disponible à l'adresse : <http://semaphore.uqar.ca/id/eprint/252>

RENSCH B., (1950). Die Abhängigkeit der relativen Sexualdifferenz von der Körpergröße. *Bonner Zoologische Beiträge*. Vol. 1. pp. 58-69.

REYNOLDS John D. et GROSS Mart R., (1990). Costs and Benefits of Female Mate Choice: Is There a Lek Paradox? *The American Naturalist*. Vol. 136. n° 2. pp. 230-243.

RIVERA-COLÓN Yadilette, MAGUIRE Andrew, LISZCZAK Glen P., OLIA Adam S. et MARMORSTEIN Ronen, (2016). Molecular Basis for Cohesin Acetylation by Establishment of Sister Chromatid Cohesion N-Acetyltransferase ESCO1. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 291. n° 51. pp. 26468-26477. DOI 10.1074/jbc.M116.752220.

RODRÍGUEZ Alejandra, GONZALEZ Luis, KO Arthur, ALVAREZ Marcus, MIAO Zong, BHAGAT Yash, NIKKOLA Elina, CRUZ-BAUTISTA Ivette, ARELLANO-CAMPOS Olimpia, MUÑOZ-HERNÁNDEZ Linda L., ORDÓÑEZ-SÁNCHEZ Maria-Luisa, RODRIGUEZ-GUILLEN Rosario, MOHLKE Karen L., LAAKSO Markku, TUSIE-LUNA Teresa, AGUILAR-

SALINAS Carlos A. et PAJUKANTA Päivi, (2016). Molecular Characterization of the Lipid Genome-Wide Association Study Signal on Chromosome 18q11.2 Implicates HNF4A-Mediated Regulation of the TMEM241 Gene. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. Vol. 36. n° 7. pp. 1350-1355. DOI 10.1161/ATVBAHA.116.307182.

ROFFÉ Martín, HAJJ Glaucia N. M., AZEVEDO Hátylas F., ALVES Viviane S. et CASTILHO Beatriz A., (2013). IMPACT is a developmentally regulated protein in neurons that opposes the eukaryotic initiation factor 2 α kinase GCN2 in the modulation of neurite outgrowth. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 288. n° 15. pp. 10860-10869. DOI 10.1074/jbc.M113.461970.

ROMERO Yannick, CALVEL Pierre et NEF Serge, (2012). Petits ARN non codants et spermatogénèse. *médecine/sciences*. Vol. 28. n° 5. pp. 490-496. DOI 10.1051/medsci/2012285013.

RONDELLI S, MARTINEZ O et GARCÍA Pt, (2003). Sex effect on productive parameters, carcass and body fat composition of two commercial broilers lines. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*. Vol. 5. n° 3. pp. 169-173. DOI 10.1590/S1516-635X2003000300002.

ROUSSEL-GERVAIS Audrey, COUTURE Catherine, LANGLAIS David, TAKAYASU Shinobu, BALSALOBRE Aurelio, RUEDA Bo R., ZUKERBERG Lawrence R., FIGARELLA-BRANGER Dominique, BRUE Thierry et DROUIN Jacques, (2016). The Cables1 Gene in Glucocorticoid Regulation of Pituitary Corticotrope Growth and Cushing Disease. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. Vol. 101. n° 2. pp. 513-522. DOI 10.1210/jc.2015-3324.

RUCKPAUL Detlev Ganten-Klaus, (2006). *Encyclopedia Reference of Genomics and Proteomics in Molecular Medicine, Springer-Verlag, 2006: Molecular medicine*. Bukupedia. 2117 p. Google-Books-ID: AwdfDwAAQBAJ

RYAN M. C., LEE K., MIYASHITA Y. et CARTER W. G., (1999). Targeted disruption of the LAMA3 gene in mice reveals abnormalities in survival and late stage differentiation of epithelial cells. *The Journal of Cell Biology*. Vol. 145. n° 6. pp. 1309-1323.

RYAN M. J., (1990). Sexual selection, sensory systems and sensory exploitation. *Oxford Surveys in Evolutionary Biology*. Vol. 7. pp. 157-195.

SAMBROOK J., FRITSCH E. et MANIATIS T., (1989). *Molecular cloning: A laboratory manual: Vol. 2*. 2. ed. S.I. : Cold Spring Harbor. ISBN 978-0-87969-309-1.

SARTORI Alessandro A., LUKAS Claudia, COATES Julia, MISTRİK Martin, FU Shuang, BARTEK Jiri, BAER Richard, LUKAS Jiri et JACKSON Stephen P., (2007). Human CtIP promotes DNA end resection. *Nature*. Vol. 450. n° 7169. pp. 509-514. DOI 10.1038/nature06337.

SATO S., OTAKE T., SUZUKI C., SABURI J. et KOBAYASHI E., (2007). Mapping of the recessive white locus and analysis of the tyrosinase gene in chickens. *Poultry Science*. Vol. 86. n° 10. pp. 2126-2133.

SAWAI Hiromi, KIM Hie Lim, KUNO Kaori, SUZUKI Sayaka, GOTOH Hideo, TAKADA Masaru, TAKAHATA Naoyuki, SATTA Yoko et AKISHINONOMIYA Fumihito, (2010). The Origin and Genetic Variation of Domestic Chickens with Special Reference to Junglefowls *Gallus g. gallus* and *G. varius*. *PLoS ONE*. Vol. 5. n° 5. pp. e10639. DOI 10.1371/journal.pone.0010639.

SCHMID Michael, SMITH Jacqueline, BURT David W., AKEN Bronwen L., ANTIN Parker B., ARCHIBALD Alan L., ASHWELL Chris, BLACKSHEAR Perry J., BOSCHIERO Clarissa, BROWN C. Titus, BURGESS Shane C., CHENG Hans H., CHOW William, COBLE Derrick J., COOKSEY Amanda, CROOIJMANS Richard P.M.A., DAMAS Joana, DAVIS Richard V.N.,

DE KONING Dirk-Jan, DELANY Mary E., DERRIEN Thomas, DESTA Takele T., DUNN Ian C., DUNN Matthew, ELLEGREN Hans, ERY L, ERB Ionas, FARR Marta, FASOLD Mario, FLEMING Damarius, FLICEK Paul, FOWLER Katie E., FR SARD Laure, FROMAN David P., GARCEAU Valerie, GARDNER Paul P., GHEYAS Almas A., GRIFFIN Darren K., GROENEN Martien A.M., HAAF Thomas, HANOTTE Olivier, HART Alan, H SLER Julien, HEDGES S. Blair, HERTEL Jana, HOWE Kerstin, HUBBARD Allen, HUME David A., KAISER Pete, KEDRA Darek, KEMP Stephen J., KLOPP Christophe, KNIEL Kalmia E., KUO Richard, LAGARRIGUE Sandrine, LAMONT Susan J., LARKIN Denis M., LAWAL Raman A., MARKLAND Sarah M., MCCARTHY Fiona, MCCORMACK Heather A., MCPHERSON Marla C., MOTEGI Akira, MULJO Stefan A., M NSTERBERG Andrea, NAG Rishi, NANDA Indrajit, NEUBERGER Michael, NITSCHKE Anne, NOTREDAME Cedric, NOYES Harry, O'CONNOR Rebecca, O'HARE Elizabeth A., OLER Andrew J., OMMEH Sheila C., PAIS Helio, PERSIA Michael, PITEL Fr d rique, PREEYANON Likit, PRIETO BARJA Pablo, PRITCHETT Elizabeth M., RHOADS Douglas D., ROBINSON Charmaine M., ROMANOV Michael N., ROTHSCHILD Max, ROUX Pierre-Fran ois, SCHMIDT Carl J., SCHNEIDER Alisa-Sophia, SCHWARTZ Matt, SEARLE Steve M., SKINNER Michael A., SMITH Craig A., STADLER Peter F., STEEVES Tammy E., STEINLEIN Claus, SUN Liang, TAKATA Minoru, ULITSKY Igor, WANG Qing, WANG Ying, WARREN Wesley C., WOOD Jonathan M.D., WRAGG David et ZHOU Huaijun, (2015). Third Report on Chicken Genes and Chromosomes 2015. *Cytogenetic and Genome Research*. Vol. 145. n° 2. pp. 78-179. DOI 10.1159/000430927.

SCHUTZ Karin E. et JENSEN Per, (2001). Effects of Resource Allocation on Behavioural Strategies: A Comparison of Red Junglefowl (*Gallus gallus*) and Two Domesticated Breeds of Poultry. *Ethology*. Vol. 107. n° 8. pp. 753-765. DOI 10.1046/j.1439-0310.2001.00703.x.

SCHÜTZ Karin E., KERJE Susanne, JACOBSSON Lina, FORKMAN Björn, CARLBORG Örjan, ANDERSSON Leif et JENSEN Per, (2004). Major growth QTLs in fowl are related to fearful behavior: possible genetic links between fear responses and production traits in a red junglefowl \times White Leghorn intercross. *Behavior genetics*. Vol. 34. n° 1. pp. 121–130.

SCHWOCHOW THALMANN Doreen, RING Henrik, SUNDSTRÖM Elisabeth, CAO Xiaofang, LARSSON Mårten, KERJE Susanne, HÖGLUND Andrey, FOGELHOLM Jesper, WRIGHT Dominic, JEMTH Per, HALLBÖÖK Finn, BED'HOM Bertrand, DORSHORST Ben, TIXIER-BOICHARD Michèle et ANDERSSON Leif, (2017). The evolution of Sex-linked barring alleles in chickens involves both regulatory and coding changes in CDKN2A. *PLoS Genetics* [en ligne]. Vol. 13. n° 4. [Consulté le 8 février 2018]. DOI 10.1371/journal.pgen.1006665. Disponible à l'adresse : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5384658/>

SEATTLE Art Bromage from, (2008). *A Dark Brahma hen. see also Image:Dark Brahma hen, Oregon.jpg for same bird.* [en ligne]. [Consulté le 5 août 2018]. Disponible à l'adresse : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Dark_Brahma_Hen,_Oregon_2.jpg

SEDGWICK S. G. et SMERDON S. J., (1999). The ankyrin repeat: a diversity of interactions on a common structural framework. *Trends in Biochemical Sciences*. Vol. 24. n° 8. pp. 311-316.

SHI Zhi, PARK Hae Ryon, DU Yuhong, LI Zijian, CHENG Kejun, SUN Shi-Yong, LI Zenggang, FU Haiyan et KHURI Fadlo R., (2015). Cables1 complex couples survival signaling to the cell death machinery. *Cancer Research*. Vol. 75. n° 1. pp. 147-158. DOI 10.1158/0008-5472.CAN-14-0036.

SHINE Richard, (1989). Ecological causes for the evolution of sexual dimorphism: a review of the evidence. *The Quarterly Review of Biology*. Vol. 64. n° 4. pp. 419–461.

SHYAMAL L. Shyamal, (2007). *Pterylosis or feather tracts of a bird* [en ligne]. [Consulté le 5 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pterylae.svg?uselang=fr> Travail personnel

SINGLETON Dean C., ROUHI Pegah, ZOIS Christos E., HAIDER Syed, LI Ji-Liang, KESSLER Benedikt M., CAO Yihai et HARRIS Adrian L., (2015). Hypoxic regulation of RIOK3 is a major mechanism for cancer cell invasion and metastasis. *Oncogene*. Vol. 34. n° 36. pp. 4713-4722. DOI 10.1038/onc.2014.396.

SMITH Craig A., ROESZLER Kelly N., OHNESORG Thomas, CUMMINS David M., FARLIE Peter G., DORAN Timothy J. et SINCLAIR Andrew H., (2009). The avian Z-linked gene DMRT1 is required for male sex determination in the chicken. *Nature*. Vol. 461. n° 7261. pp. 267-271. DOI 10.1038/nature08298.

SMITH Cyrrus, (2006). *poule gâtinaise* [en ligne]. [Consulté le 5 août 2018]. Disponible à l'adresse : [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gatinaise.png?uselang=frTravail personnel](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gatinaise.png?uselang=frTravail%20personnel)

SONG Ran, KIM Young-Woong, KOO Bon-Kyoung, JEONG Hyun-Woo, YOON Mi-Jeong, YOON Ki-Jun, JUN Dong-Jae, IM Sun-Kyoung, SHIN Juhee, KONG Myoung-Phil, KIM Kyong-Tai, YOON Keejung et KONG Young-Yun, (2008). Mind bomb 1 in the lymphopoietic niches is essential for T and marginal zone B cell development. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 205. n° 11. pp. 2525-2536. DOI 10.1084/jem.20081344.

STEPHENS Patrick R. et WIENS John J., (2009). Evolution of sexual size dimorphisms in emydid turtles: ecological dimorphism, rensch's rule, and sympatric divergence. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*. Vol. 63. n° 4. pp. 910-925. DOI 10.1111/j.1558-5646.2008.00597.x.

STEPHENSON Rupert, (2018). Leghorns. In : *feathersite* [en ligne]. [Consulté le 18 juin 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.feathersite.com/Poultry/CGK/Leghorns/BRKLeghorns.html>

STURKIE P. D., (2012). *Avian Physiology*. Springer Science & Business Media. 410 p. ISBN 978-3-642-96274-5. Google-Books-ID: o2LsCAAQAQBAJ

SUBRAMANYA K C., (2012). *English: Red Jungle fowl at Jim Corbett National Park, India* [en ligne]. [Consulté le 5 août 2018]. Disponible à l'adresse : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Red_jungle_fowl.pngOwn work

SVEC David, TICHOPAD Ales, NOVOSADOVA Vendula, PFAFFL Michael W. et KUBISTA Mikael, (2015). How good is a PCR efficiency estimate: Recommendations for precise and robust qPCR efficiency assessments. *Biomolecular Detection and Quantification*. Vol. 3. pp. 9-16. DOI 10.1016/j.bdq.2015.01.005.

TAGIROV Makhsud et GOLOVAN Serguei, (2015). Sexual dimorphism in the early embryogenesis of the chicken (*Gallus Gallus domesticus*). *Molecular Reproduction and Development*. Vol. 82. n° 5. pp. 332-343. DOI 10.1002/mrd.22476.

TAING Lieng, (2012). *Approches bioinformatiques pour l'exploitation des données génomiques* [en ligne]. phdthesis. Conservatoire national des arts et métiers - CNAM. [Consulté le 12 février 2018]. Disponible à l'adresse : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00814272/document>

TAKEUCHI Sakae, SUZUKI Hideyuki, YABUUCHI Masafumi et TAKAHASHI Sumio, (1996). A possible involvement of melanocortin 1-receptor in regulating feather color pigmentation in the chicken. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression*. Vol. 1308. n° 2. pp. 164-168. DOI 10.1016/0167-4781(96)00100-5.

THOMON, (2018). *Français : Poules hollandaises huppées. Salon de l'agriculture*. [en ligne]. [Consulté le 5 août 2018]. Disponible à l'adresse : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Poules_hollandaises_hupp%C3%A9es.jpgOwn work

TOBITA-TERAMOTO T., JANG G. Y., KINO K., SALTER D. W., BRUMBAUGH J. et AKIYAMA T., (2000). Autosomal albino chicken mutation (*ca/ca*) deletes hexanucleotide (-deltaGACTGG817) at a copper-binding site of the tyrosinase gene. *Poultry Science*. Vol. 79. n° 1. pp. 46-50.

TÓRIZS, (2008). *Poussins de race Phoenix doré « G. g. domesticus », de coloris semblable aux sous espèces sauvages* [en ligne]. [Consulté le 5 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Csibik.jpgsaját>

TRIVERS R.L, (1972). Parental investment and sexual selection. In : *sexual selection and the descent of man, 1871-1971*. 2e. Chicago : B. campbell. pp. 136-179.

TURNER Stephen, ARMSTRONG Loren L., BRADFORD Yuki, CARLSONY Christopher S., CRAWFORD Dana C., CRENSHAW Andrew T., ANDRADE Mariza de, DOHENY Kimberly F., HAINES Jonathan L., HAYES Geoffrey, JARVIK Gail, JIANG Lan, KULLO Iftikhar J., LI Rongling, LING Hua, MANOLIO Teri A., MATSUMOTO Martha M., MCCARTY Catherine A., MCDAVID Andrew N., MIREL Daniel B., PASCHALL Justin E., PUGH Elizabeth W., RASMUSSEN Luke V., WILKE Russell A., ZUVICH Rebecca L. et RITCHIE Marylyn D., (2011). Quality control procedures for genome-wide association studies. *Current Protocols in Human Genetics* [en ligne]. N° SUPPL.68. [Consulté le 12 février 2018]. DOI 10.1002/0471142905.hg0119s68. Disponible à l'adresse : <https://www.scholars.northwestern.edu/en/publications/quality-control-procedures-for-genome-wide-association-studies>

VAEZ Mohsen, FOLLETT Sarah A., BED'HOM Bertrand, GOURICHON David, TIXIER-BOICHARD Michèle et BURKE Terry, (2008). A single point-mutation within the melanophilin gene causes the lavender plumage colour dilution phenotype in the chicken. *BMC Genetics*. Vol. 9. pp. 7. DOI 10.1186/1471-2156-9-7.

VALDEZ Marcos B., MIZUTANI Makoto, KINOSHITA Keiji, FUJIWARA Akira, YAZAWA Hajime, SHIMADA Kiyoshi, NAMIKAWA Takao et YAMAGATA Takahiro, (2010). Differential development of sex-related characters of chickens from the GSP and PNP/DO inbred lines after left ovariectomy. *The Journal of Reproduction and Development*. Vol. 56. n° 1. pp. 154-161.

VAN DER AUWERA Geraldine A., CARNEIRO Mauricio O., HARTL Christopher, POPLIN Ryan, DEL ANGEL Guillermo, LEVY-MOONSHINE Ami, JORDAN Tadeusz, SHAKIR Khalid, ROAZEN David, THIBAUT Joel, BANKS Eric, GARIMELLA Kiran V., ALTSHULER David, GABRIEL Stacey et DEPRISTO Mark A., (2013). From FastQ Data to High-Confidence Variant Calls: The Genome Analysis Toolkit Best Practices Pipeline: The Genome Analysis Toolkit Best Practices Pipeline. In : *Current Protocols in Bioinformatics* [en ligne]. Hoboken, NJ, USA : John Wiley & Sons, Inc. pp. 11.10.1-11.10.33. [Consulté le 18 juillet 2018]. ISBN 978-0-471-25095-1. Disponible à l'adresse : <http://doi.wiley.com/10.1002/0471250953.bi1110s43>

VIRADOR Victoria M., MULLER Jacqueline, WU Xufeng, ABDEL-MALEK Zalfa A., YU Zu-Xi, FERRANS Victor J., KOBAYASHI Nobuhiko, WAKAMATSU Kazumasa, ITO Shosuke, HAMMER John A. et HEARING Vincent J., (2001). Influence of α -melanocyte-stimulating hormone and ultraviolet radiation on the transfer of melanosomes to keratinocytes. *The FASEB Journal*. Vol. 16. n° 1. pp. 105-107. DOI 10.1096/fj.01-0518fje.

VON SCHANTZ Torbjörn, TUFVESSON Måns, GÖRANSSON Görgen, GRAHN Mats, WILHELMSON Martin et WITZELL Håkan, (1995). Artificial selection for increased comb size and its effects on other sexual characters and viability in *Gallus domesticus* (the domestic chicken). *Heredity*. Vol. 75. n° 5. pp. 518-529. DOI 10.1038/hdy.1995.168.

WANG Qiong, LI Kaiyang, ZHANG Daixi, LI Junying, XU Guiyun, ZHENG Jiangxia, YANG Ning et QU Lujang, (2015). Next-Generation Sequencing Techniques Reveal that Genomic

Imprinting Is Absent in Day-Old Gallus gallus domesticus Brains. *PLoS ONE* [en ligne]. Vol. 10. n° 7. [Consulté le 20 juin 2017]. DOI 10.1371/journal.pone.0132345. Disponible à l'adresse : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4498732/>

WANG X., GU Z. et JIANG H., (2013). MicroRNAs in farm animals. *Animal: An International Journal of Animal Bioscience*. Vol. 7. n° 10. pp. 1567-1575. DOI 10.1017/S1751731113001183.

WEGNER Michael, (2006). Melanocytes and the Transcription Factor Sox10. In : *From Melanocytes to Melanoma* [en ligne]. Humana Press. pp. 71-80. [Consulté le 5 février 2018]. ISBN 978-1-58829-459-3. Disponible à l'adresse : https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-59259-994-3_4

WHITE Robert A., MCNULTY Steven G., NSUMU Ndona N., BOYDSTON Leigh A., BREWER Brandon P. et SHIMIZU Koji, (2005). Positional cloning of the Ttc7 gene required for normal iron homeostasis and mutated in hea and fsn anemia mice. *Genomics*. Vol. 85. n° 3. pp. 330-337. DOI 10.1016/j.ygeno.2004.11.008.

WIDELITZ RANDALL B., JIANG TING XIN, YU MINGKE, SHEN TED, SHEN JEN-YEE, WU PING, YU ZHICAO et CHUONG CHENG-MING, (2003). Molecular Biology of Feather Morphogenesis: A Testable Model for Evo-Devo Research. *Journal of experimental zoology. Part B, Molecular and developmental evolution*. Vol. 298. n° 1. pp. 109-122. DOI 10.1002/jez.b.29.

WIKIPEDIA Ospr3yy at English, (2011). *English: Lavender Orpington hen* [en ligne]. [Consulté le 5 août 2018]. Disponible à l'adresse : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Lavender_orpington_lilac.jpg Transferred from en.wikipedia to Commons by Innotata using CommonsHelper.

WOLF HORRELL Erin M., BOULANGER Mary C. et D'ORAZIO John A., (2016). Melanocortin 1 Receptor: Structure, Function, and Regulation. *Frontiers in Genetics* [en ligne]. Vol. 7. [Consulté le 22 août 2017]. DOI 10.3389/fgene.2016.00095. Disponible à l'adresse : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4885833/>

WRIGHT D, RUBIN C, SCHUTZ K, KERJE S, KINDMARK A, BRANDSTR?M H, ANDERSSON L, PIZZARI T et JENSEN P, (2012). Onset of Sexual Maturity in Female Chickens is Genetically Linked to Loci Associated with Fecundity and a Sexual Ornament: Linkage Between Onset of Sexual Maturity and a Sexual Ornament in the Chicken. *Reproduction in Domestic Animals*. Vol. 47. pp. 31-36. DOI 10.1111/j.1439-0531.2011.01963.x.

WRIGHT Sewall, (1969). *Evolution and the Genetics of Populations, Volume 2: Theory of Gene Frequencies*. University of Chicago Press. 520 p. ISBN 978-0-226-91050-5. Google-Books-ID: 1sRIMQAACAAJ

XU Hongtao, WANG Xiaobo, DU Zhenglin et LI Ning, (2006). Identification of microRNAs from different tissues of chicken embryo and adult chicken. *FEBS Letters*. Vol. 580. n° 15. pp. 3610-3616. DOI 10.1016/j.febslet.2006.05.044.

XU J. G., XIE M. G., ZOU S. Y., LIU X. F., LI X. H., XIE J. F. et ZHANG X. Q., (2016). Interactions of allele E of the MC1R gene with FM and mutations in the MLPH gene cause the five-gray phenotype in the Anyi tile-like gray chicken. *Genetics and molecular research: GMR*. Vol. 15. n° 2. DOI 10.4238/gmr.15027633.

XU Y., LIU Y., RIDGWAY N. D. et MCMASTER C. R., (2001). Novel members of the human oxysterol-binding protein family bind phospholipids and regulate vesicle transport. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 276. n° 21. pp. 18407-18414. DOI 10.1074/jbc.M101204200.

- XU Ying, ZHANG Xiao-Hui et PANG You-Zhi, (2013). Association of Tyrosinase (TYR) and Tyrosinase-related Protein 1 (TYRP1) with Melanic Plumage Color in Korean Quails (*Coturnix coturnix*). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. Vol. 26. n° 11. pp. 1518-1522. DOI 10.5713/ajas.2013.13162.
- YAP Lip Kee, (2008). *Gallus gallus* [en ligne]. [Consulté le 5 août 2018]. Disponible à l'adresse : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gallus_gallus_-_Kaziranga_National_Park,_Assam,_India-8.jpg originally posted to Flickr as Red Junglefowl (*Gallus gallus*) family
- YE Jian, COULOURIS George, ZARETSKAYA Irena, CUTCUTACHE Ioana, ROZEN Steve et MADDEN Thomas L, (2012). Primer-BLAST: A tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics*. Vol. 13. n° 1. pp. 134. DOI 10.1186/1471-2105-13-134.
- YOSHIHARA Chihiro, FUKAO Ayaka, ANDO Keita, TASHIRO Yuichi, TANIUCHI Shusuke, TAKAHASHI Sumio et TAKEUCHI Sakae, (2012). Elaborate color patterns of individual chicken feathers may be formed by the agouti signaling protein. *General and Comparative Endocrinology*. Vol. 175. n° 3. pp. 495-499. DOI 10.1016/j.ygcen.2011.12.009.
- YOSHIOKA K., WATAHIKI Y., KANIE A., TSUJIO M., IKADAI H., KASHIMOTO T. et MUTOH K., (2010). Morphology of the cockerel's comb after androgen administration. *British Poultry Science*. Vol. 51. n° 2. pp. 185-194. DOI 10.1080/00071661003745810.
- YU Mingke, WU Ping, WIDELITZ Randall B. et CHUONG Cheng-Ming, (2002). The morphogenesis of feathers. *Nature*. Vol. 420. n° 6913. pp. 308-312. DOI 10.1038/nature01196.
- YU Mingke, YUE Zhicao, WU Ping, WU Da-Yu, MAYER Julie-Ann, MEDINA Marcus, WIDELITZ Randall B., JIANG Ting-Xin et CHUONG Cheng-Ming, (2004a). The developmental biology of feather follicles. *The International journal of developmental biology*. Vol. 48. n° 0. pp. 181-191. DOI 10.1387/ijdb.031776my.
- YU Mingke, YUE Zhicao, WU Ping, WU Da-Yu, MAYER Julie-Ann, MEDINA Marcus, WIDELITZ Randall B., JIANG Ting-Xin et CHUONG Cheng-Ming, (2004b). The biology of feather follicles. *The International Journal of Developmental Biology*. Vol. 48. n° 2-3. pp. 181-191. DOI 10.1387/ijdb.031776my.
- YUN Maximina H. et HIOM Kevin, (2009). CtIP-BRCA1 modulates the choice of DNA double-strand-break repair pathway throughout the cell cycle. *Nature*. Vol. 459. n° 7245. pp. 460-463. DOI 10.1038/nature07955.
- ZAHAVI Amotz, (1975). Mate selection—A selection for a handicap. *Journal of Theoretical Biology*. Vol. 53. n° 1. pp. 205-214. DOI 10.1016/0022-5193(75)90111-3.
- ZAHN Erica, (2008). *English: A picture of our Rhode Island Red, her name is Amber Bock*. [en ligne]. [Consulté le 5 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Amberbock.jpg> Own work
- ZERBINO Daniel R, ACHUTHAN Premanand, AKANNI Wasiu, AMODE M Ridwan, BARRELL Daniel, BHAI Jyothish, BILLIS Konstantinos, CUMMINS Carla, GALL Astrid, GIRÓN Carlos García, GIL Laurent, GORDON Leo, HAGGERTY Leanne, HASKELL Erin, HOURLIER Thibaut, IZUOGU Osagie G, JANACEK Sophie H, JUETTEMANN Thomas, TO Jimmy Kiang, LAIRD Matthew R, LAVIDAS Ilias, LIU Zhicheng, LOVELAND Jane E, MAUREL Thomas, MCLAREN William, MOORE Benjamin, MUDGE Jonathan, MURPHY Daniel N, NEWMAN Victoria, NUHN Michael, OGEH Denye, ONG Chuang Kee, PARKER Anne, PATRICIO Mateus, RIAT Harpreet Singh, SCHUILENBURG Helen, SHEPPARD Dan, SPARROW Helen, TAYLOR Kieron, THORMANN Anja, VULLO Alessandro, WALTS

Brandon, ZADISSA Amonida, FRANKISH Adam, HUNT Sarah E, KOSTADIMA Myrto, LANGRIDGE Nicholas, MARTIN Fergal J, MUFFATO Matthieu, PERRY Emily, RUFFIER Magali, STAINES Dan M, TREVANION Stephen J, AKEN Bronwen L, CUNNINGHAM Fiona, YATES Andrew et FLICEK Paul, (2018). Ensembl 2018. *Nucleic Acids Research*. Vol. 46. n° D1. pp. D754-D761. DOI 10.1093/nar/gkx1098.

ZHANG Guojie, LI Cai, LI Qiye, LI Bo, LARKIN Denis M., LEE Chul, STORZ Jay F., ANTUNES Agostinho, GREENWOLD Matthew J., MEREDITH Robert W., ÖDEEN Anders, CUI Jie, ZHOU Qi, XU Luohao, PAN Hailin, WANG Zongji, JIN Lijun, ZHANG Pei, HU Haofu, YANG Wei, HU Jiang, XIAO Jin, YANG Zhikai, LIU Yang, XIE Qiaolin, YU Hao, LIAN Jinmin, WEN Ping, ZHANG Fang, LI Hui, ZENG Yongli, XIONG Zijun, LIU Shiping, ZHOU Long, HUANG Zhiyong, AN Na, WANG Jie, ZHENG Qiumei, XIONG Yingqi, WANG Guangbiao, WANG Bo, WANG Jingjing, FAN Yu, DA FONSECA Rute R., ALFARO-NÚÑEZ Alonzo, SCHUBERT Mikkel, ORLANDO Ludovic, MOURIER Tobias, HOWARD Jason T., GANAPATHY Ganeshkumar, PFENNING Andreas, WHITNEY Osceola, RIVAS Miriam V., HARA Erina, SMITH Julia, FARRÉ Marta, NARAYAN Jitendra, SLAVOV Gancho, ROMANOV Michael N, BORGES Rui, MACHADO João Paulo, KHAN Imran, SPRINGER Mark S., GATESY John, HOFFMANN Federico G., OPAZO Juan C., HÅSTAD Oille, SAWYER Roger H., KIM Heebal, KIM Kyu-Won, KIM Hyeon Jeong, CHO Seoae, LI Ning, HUANG Yinhu, BRUFORD Michael W., ZHAN Xiangjiang, DIXON Andrew, BERTELSEN Mads F., DERRYBERRY Elizabeth, WARREN Wesley, WILSON Richard K, LI Shengbin, RAY David A., GREEN Richard E., O'BRIEN Stephen J., GRIFFIN Darren, JOHNSON Warren E., HAUSSLER David, RYDER Oliver A., WILLERSLEV Eske, GRAVES Gary R., ALSTRÖM Per, FJELDSÅ Jon, MINDELL David P., EDWARDS Scott V., BRAUN Edward L., RAHBEK Carsten, BURT David W., HOUDE Peter, ZHANG Yong, YANG Huanming, WANG Jian, JARVIS Erich D., GILBERT M. Thomas P. et WANG Jun, (2014). Comparative genomics reveals insights into avian genome evolution and adaptation. *Science (New York, N.Y.)*. Vol. 346. n° 6215. pp. 1311-1320. DOI 10.1126/science.1251385.

ZHAO D., MCBRIDE D., NANDI S., MCQUEEN H. A., MCGREW M. J., HOCKING P. M., LEWIS P. D., SANG H. M. et CLINTON M., (2010). Somatic sex identity is cell autonomous in the chicken. *Nature*. Vol. 464. n° 7286. pp. 237-242. DOI 10.1038/nature08852.

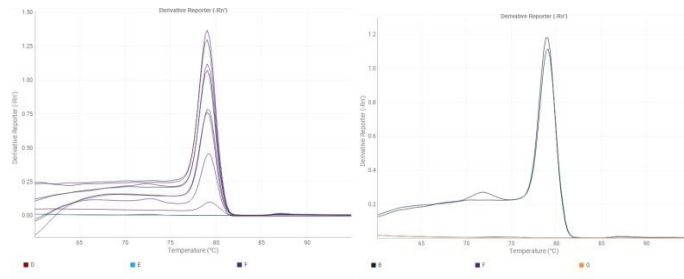
ZIZZARI Z. Valentina, VAN STRAALLEN Nico M. et ELLERS Jacintha, (2013). Male-male competition leads to less abundant but more attractive sperm. *Biology Letters*. Vol. 9. n° 6. pp. 20130762. DOI 10.1098/rsbl.2013.0762.

ZUK null, KIM null, ROBINSON null et JOHNSEN null, (1998). Parasites influence social rank and morphology, but not mate choice, in female red junglefowl, *Gallus gallus*. *Animal Behaviour*. Vol. 56. n° 2. pp. 493-499. DOI 10.1006/anbe.1998.0807.

ZUKERBERG Lawrence R., DEBERNARDO Robert L., KIRLEY Sandra D., D'APUZZO Massimo, LYNCH Maureen P., LITTELL Ramey D., DUSKA Linda R., BORING Landin et RUEDA Bo R., (2004). Loss of cdc2, a cyclin-dependent kinase regulatory protein, is associated with the development of endometrial hyperplasia and endometrial cancer. *Cancer Research*. Vol. 64. n° 1. pp. 202-208.

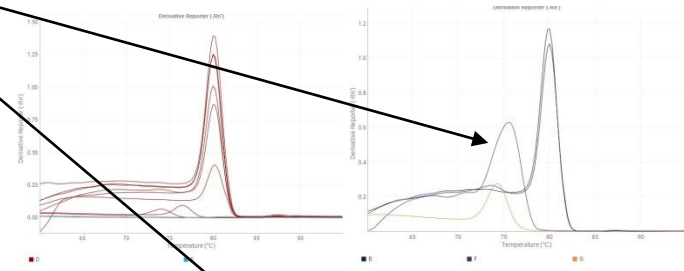
Annexes

Annexe 1: Dimères d'amorces visibles à des concentrations d'amorces de 150 (à gauche) et 300 nM (à droite).

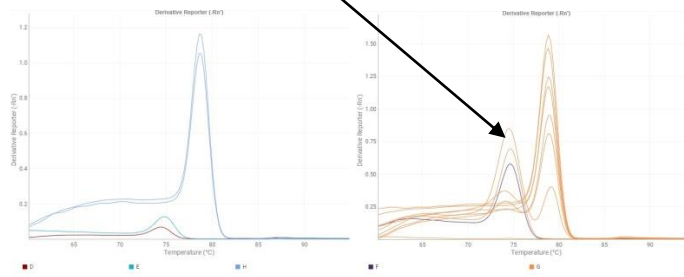


Signal marquant l'amplification de dimères d'amorces

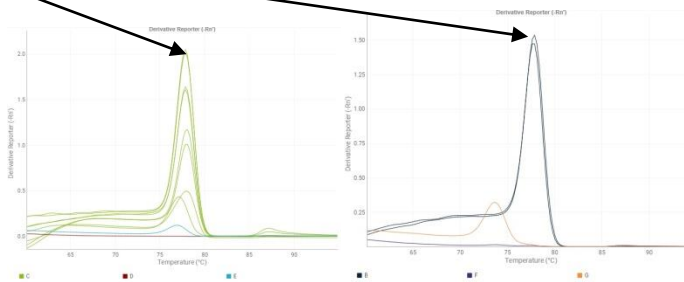
TMEM241



RBBP8

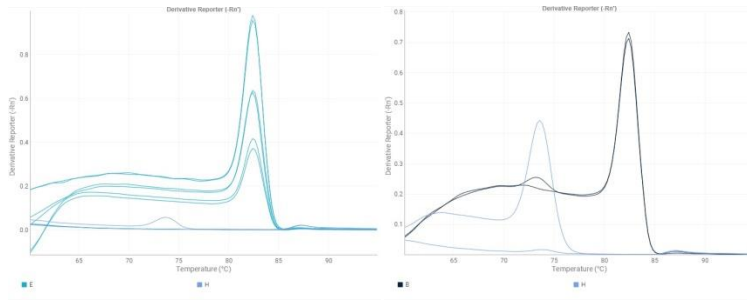


MITF



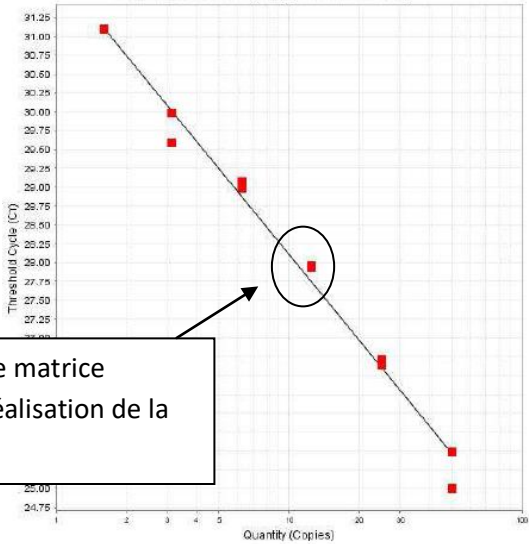
CABLES1

Signal marquant l'amplification d'ARNm du gène

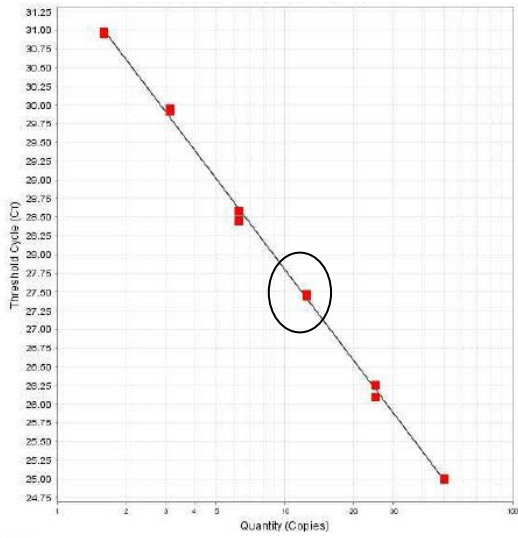


LOC107052000

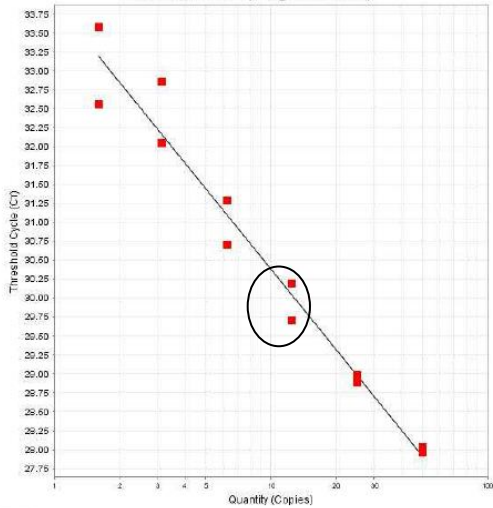
Annexe 2: Courbes standards des couples d'amorces à 150 nM évaluées à partir de duplicats de 1,6 - 3,13 - 6,25 - 12,5 - 25 et 50 ng de foie de *Gallus gallus*.



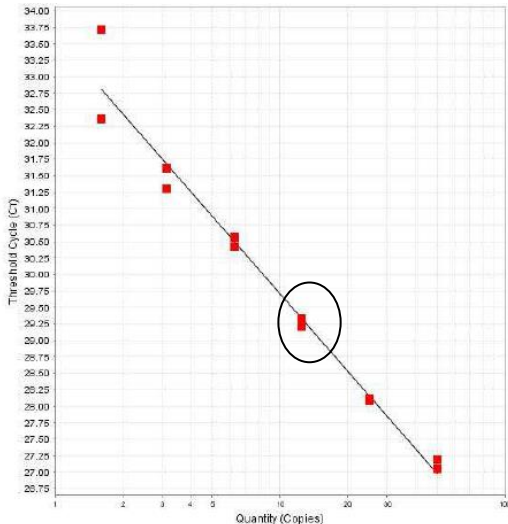
CABLES1: 83.87%



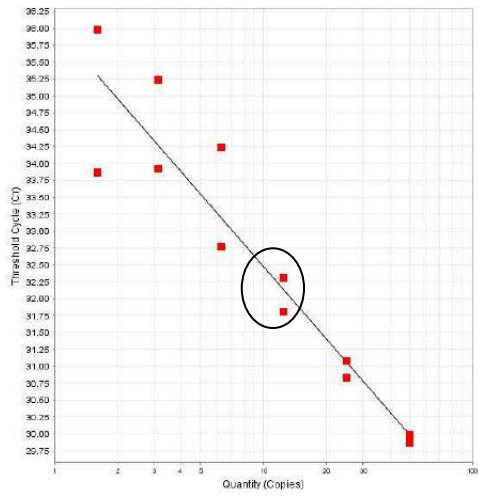
TMEM241: 77.24%



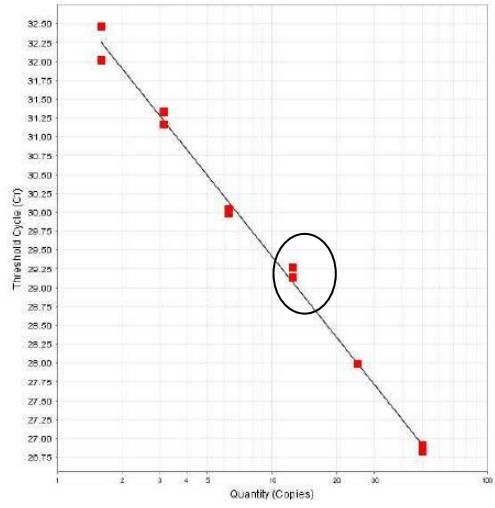
HPRT1: 92.18%



RBBP8: 80.46%



LOC107052000: 91.01%



MITF: 90.64%

Nom: GUILLOTON

Prénom: Chloé

Titre : Etude génétique d'un variant de pigmentation du plumage de *Gallus gallus* : Columbian Restriction.

Résumé:

Un des variants de pigmentation du plumage de *Gallus gallus*, Columbian Restriction, entraîne une suppression du dichromatisme sexuel ainsi qu'une restriction de l'étendue de noir. Des travaux préliminaires conduits au sein de l'UMR GABI, à l'INRA de Jouy-en-Josas, ont permis de d'identifier une région de 1,47 Mb située sur le chromosome 2 portant probablement la mutation responsable. Une étude d'association a été réalisée lors de cette thèse pour restreindre la taille de la région candidate et déterminer des gènes candidats. La quantification de l'expression de ces gènes a été réalisée. En complément, les données issues du séquençage du génome complet d'individus d'une race porteuse de la mutation et de races non porteuses ont été comparées afin d'identifier le variant causal. Au final, une région candidate de 300 kb a été déterminée et six gènes candidats isolés. L'étude de leur niveau d'expression n'a cependant pas montré d'association avec le phénotype Columbian Restriction. Vingt-huit variants génomiques spécifiques de la race porteuse de la mutation ont été identifiés grâce aux données de séquençage complet.

Abstract :

In chicken (*Gallus gallus*), a genomic mutation called "Columbian restriction" (CR) suppresses sexual dichromatism and black pigmentation in the plumage. Preliminary work realized at INRA (GABI unit, Jouy-en-Josas, France) allowed to map the CR locus within a 1.47-Mb region of chromosome GGA2. Fine mapping of the genomic region was carried out at the beginning of our thesis, and resulted in the identification of several candidate genes, whose expression was studied. Complementarily, whole genomes of both CR mutation carriers and wild-type individuals were sequenced in order to identify other candidate variants (n=28). We finally focused on a 300-kb region containing six candidate genes. Unfortunately, no association was found between their expression level and the CR phenotype.

Mots-clés : COLUMBIAN RESTRICTION, PIGMENTATION, PLUMAGE, PLUME, DICHROMATISME, GALLUS, POULE, GENE, LOCUS