
LES LIQUIDES AMNIOTIQUE ET ALLANTOÏQUE DE L'ŒUF DE POULE : CARACTÉRISATION ET RÔLES DANS LA PROTECTION DE L'EMBRYON AU COURS DU DÉVELOPPEMENT

Thèse de Mylène **DA SILVA**¹

Analysée par Michel **DUCLOS**²

Directrice de thèse : Sophie REHAULT-GODBERT, BOA (Biologie des Oiseaux et Aviculture)
Chargé de recherche INRA, Université de Tours, 37380 Nouzilly

L'œuf de poule est une enceinte close au service du développement du futur poussin. Il contient pour l'ovule fécondé tous les nutriments nécessaires au développement et assure sa protection vis-à-vis du milieu extérieur. L'équipe qui accueillait la doctorante avait déjà caractérisé nombre de protéines à activité bactérienne dans les différents composants de l'œuf non fertile, destiné à la consommation humaine. Le travail de thèse reposait sur l'hypothèse que le développement d'un embryon et de ses annexes embryonnaires devait modifier, non seulement la structure interne de l'œuf, mais aussi les protéines qu'il contient et leur activité. La compréhension des mécanismes de défense de l'œuf est un préalable à la maîtrise de l'éclosabilité des œufs et donc de la production de poussins, secteur économique capital qui fournit chaque année de l'ordre d'un milliard d'œufs à couvrir en France. Avec un taux de succès de l'ordre de 90%, la perte est donc de 100 millions de poussins par an, dont une moitié due à des infertilités et l'autre à des mortalités embryonnaires précoces ou tardives qui pourraient s'expliquer pour partie par des mécanismes étudiés dans ce travail.

Les deux rapporteurs de la thèse, chercheurs renommés de l'INRA et de l'INSERM, se sont accordés sur la qualité du manuscrit de thèse qui présente le contexte bibliographique puis le travail expérimental de manière soignée et extrêmement didactique. Ils ont aussi souligné la qualité des résultats publiés sous forme de deux publications originales dans des revues internationales de rang A, et l'implication de l'étudiante dans trois revues de synthèse dont une en première auteure.

L'examen du manuscrit de thèse et des publications nous permet de confirmer ces évaluations. La candidate a mené une recherche rigoureuse, s'appuyant sur un large éventail d'approches méthodologiques allant de la physico-chimie et de la biochimie à l'analyse protéomique, en passant par l'étude d'activités biologiques *in vitro* (activités protéasiques et activités antibactériennes). Elle

¹ Thèse de doctorat soutenue le 1^{er} décembre 2017 à l'Université FRANÇOIS-RABELAIS de TOURS, Spécialité : Sciences Vie Santé, ED SSBCV, Équipe Défense de l'Œuf, Valorisation Evolution, UR 83 de recherches Avicoles, INRA Centre Val de Loire

² Membre correspondant de l'Académie d'agriculture de France (section 3 - Productions animales).

a su interpréter ses résultats analytiques en utilisant différentes approches relevant des statistiques et de la bio-informatique et les discuter en s'appuyant sur une analyse approfondie de la bibliographie allant des références classiques depuis les années 1960 jusqu'aux plus récentes.

Nous nous sommes intéressés aux publications de la doctorante, qui constituent la base du travail expérimental décrit dans le manuscrit de thèse.

Le premier travail porte sur l'étude des fluides amniotique et allantoïque, de leurs propriétés physicochimiques, ainsi que de leur composition en protéines au cours de l'incubation. Il est publié dans *Poultry Science*, un journal classé excellent dans le domaine des Sciences Animales. Le résultat majeur porte sur l'évolution du contenu protéique du liquide amniotique avec un afflux massif de protéines issues du blanc d'œuf au 12^{ème} jour d'incubation. Ces protéines peuvent être associées à la nutrition de l'embryon et à des activités antibactériennes. Le liquide allantoïque contient des protéines issues du jaune d'œuf, dont la concentration ne varie pas sensiblement avec le stade d'incubation. Dans les deux liquides, la doctorante a identifié des activités protéolytiques portées par des métalloprotéases et des protéases à sérine. Ce travail de recherche fondamentale apporte des arguments en faveur d'un rôle important des deux fluides lors du développement embryonnaire, et notamment dans la nutrition de l'embryon et dans la protection vis-à-vis d'éventuelles contaminations bactériennes.

Le second travail porte sur une caractérisation détaillée des protéines présentes dans le liquide amniotique au jour 11 de l'incubation, avant l'afflux massif de protéines du blanc décrit dans le premier travail. Il est publié dans *Molecular and Cellular Proteomics*, un journal de référence pour les études de protéomique. La composition protéique de ce fluide est comparée expérimentalement à celle du liquide amniotique d'embryons de 16 jours et à celle du blanc d'œuf. Ce travail a permis l'identification de 91 protéines non redondantes, associées au métabolisme des nutriments, à la réponse immune ou à des processus développementaux. Pour la plupart, elles sont issues de l'œuf (blanc et jaune dans une moindre mesure) par diffusion passive, mais au moins une protéine majeure l'alpha-feto protéine est d'origine foetale. Nombre d'entre elles présentent une activité antibactérienne vis-à-vis de *Salmonella enteritica* Enteritidis ou de *Listeria monocytogenes*, activité qui augmente avec l'afflux de blanc d'œuf dans le liquide amniotique au stade ED12. La doctorante compare ensuite ces protéines à celles décrites dans le liquide amniotique humain et en identifie 48 qui sont homologues. Les protéines du liquide amniotique humain sont beaucoup plus nombreuses, ce qui la conduit à formuler l'hypothèse qu'une partie du complément serait à rechercher dans le liquide allantoïque. Enfin, elle replace les protéines qu'elle a identifiées dans le liquide amniotique d'embryon de poulet dans une perspective évolutive plus globale grâce à une analyse phylogénétique. Certaines sont spécifiques des ovipares ou plus précisément des oiseaux.

Au total, ces résultats apportent de nouvelles connaissances importantes pour le développement embryonnaire du poulet et plus globalement pour la biologie comparée du développement des vertébrés. Ceci ouvre des perspectives pour une meilleure maîtrise de l'incubation d'œufs à couver. Une amélioration même modeste pourrait avoir des conséquences majeures sur la production française de poussins éclos, avec 10 millions de poussins pour 1% de succès supplémentaires. Certains des candidats identifiés dans la présente étude pourraient être des marqueurs pour évaluer l'efficacité de nouvelles stratégies d'incubation, sous réserve de pouvoir développer des mesures plus rapides et moins coûteuses. Ce travail ouvre donc des perspectives d'application sur le long terme.

En conclusion, ce travail original et de qualité ouvre des perspectives de recherches à court et moyen terme et d'application à plus long terme dans un secteur stratégique, celui de l'accoupage. **Pour toutes ces raisons, il mérite amplement d'être valorisé sur le site de l'Académie d'agriculture de France.**