

PIGMENTS MÉLANIQUES DU PELAGE DE QUELQUES RACES BOVINES : LE SCHÉMA POSSIBLE DE CERTAINES ACTIONS GÉNIQUES

Giovanna MISURACA, G. PROTA et J.-J. LAUVERGNE*

*Istituto di Chimica organica e biologica,
Università di Napoli,
Via Mezzocannone 16, Napoli*

**Département de Génétique animale,
Centre national de Recherches zootechniques, I. N. R. A.,
78350 Jouy en Josas*

RÉSUMÉ

A l'instar des autres espèces de *Mammifères* et d'*Oiseaux* déjà étudiées, certaines colorations observées dans des races bovines rouges sont dues aux phaeomélanines. Ces pigments exigent pour leur synthèse, outre la présence de tyrosine oxydée, celle de cystéine. Ils diffèrent définitivement des eumélanines, les pigments noirs présents dans des races bovines noire et gris souris. Comme une action enzymatique est nécessaire pour la production des phaeomélanines, on propose d'attribuer la fabrication de cette enzyme au locus agouti (A) dont la présence constante dans beaucoup d'espèces de *Mammifères* est attestée par des séries alléliques phénotypiquement homologues et où il contrôle le dosage en eu- et phaeomélanine dans le poil et dans le pelage. Ce locus serait apparu dans le phylum *Mammifères-Oiseaux* avant le clivage de ces deux ordres car les oiseaux ont aussi de la phaeomélanine. Dans les ordres de Vertébrés inférieurs, en effet, on constate la présence des seules eumélanines. Le locus A semble présent chez les Bovins, d'après la série phénotypiquement parfaitement homologable à celle des *Mammifères* mieux étudiés. Toutefois, dans cette espèce, comme d'ailleurs chez d'autres ruminants, dans des cas où ils devraient apparaître en alternance avec les eumélanines les pigments phaeomélaniques ne se manifestent pas, en particulier dans le patron coloré dit provisoirement « agouti à ventre clair » de la *Brune des Alpes* dont la couleur est gris-souris.

Jusqu'à une époque récente les pigments rouges appelés phaeomélanines, parfois présents dans les phanères des Oiseaux et des *Mammifères*, étaient considérés comme chimiquement très proches des eumélanines ou mélanines noires, pigments azotés très courants dans le règne animal. Cependant, de récentes études (PROTA et NICOLAUS, 1967 ; MISURACA *et al.*, 1970 ; PROTA, 1972) ont montré que les phaeomélanines contenaient du soufre et résultaient d'une combinaison de la cystéine avec la dopa-

quinone produite par oxydation enzymatique de la tyrosine et intermédiaire dans la formation des eumélanines (fig. 1).

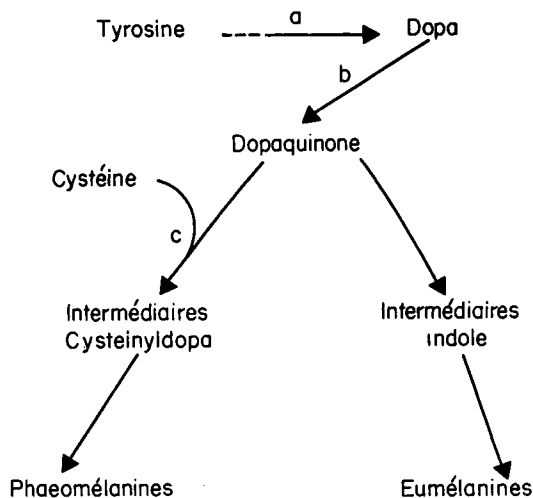


FIG. 1. — Interrelations biogénétiques entre les eumélanines et les phaeomélanines
Les réactions a et b sont contrôlées par la tyrosinase, c n'est certainement pas enzymatique mais le contenu en cystéine du mélanocyte est probablement sous contrôle enzymatique

Ces considérations nouvelles ont amené à réexaminer la situation des pigments mélaniques dans les phanères des Mammifères et des Oiseaux. Une première série d'espèces comprenant la Poule, le Faisan, la Perdrix, le Pigeon, le Lapin, la Chèvre, le Mouton, le Sanglier, le Daim rouge et l'Homme a été analysée (FATTORUSSO *et al.*, 1970). Dans le présent article, nous voudrions étendre cette étude aux Bovins domestiques. Il s'agit de préciser quels types de pigments sont présents dans les poils des phénotypes colorés les plus courants et de tenter de préciser l'action biochimique de gènes qui, jusqu'à présent, ne sont connus que par les actions visibles de leurs différents mutants.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. — Matériel

On a prélevé du poil de races bovines noires (*Frisonne Pie Noire*), rouges (*Valdotaine*, *Reggiana* et *Tachetée Rouge* du *Simmenthal*) et gris-souris (*Brune des Alpes*).

En plus divers échantillons en provenance d'animaux croisés ont pu être examinés : *Brune des Alpes* × *Piémontaise* (gris-souris × gris) *Brune des Alpes* × *Frisonne Pie Noire* (gris-souris × noir).

2. — Méthodes

Eumélanines.

Il est facile de faire la différence entre ces pigments et les phaeomélanines, du fait de leur couleur plus sombre et, surtout, de leur insolubilité dans les alcalis dilués.

Phaeomélanines.

Les phaeomélanines se divisent en deux groupes : les trichochromes et les gallophaeomélanines. Les gallophaeomélanines ont un poids moléculaire élevé et sont difficiles à étudier. Par

contre les trichochromes (1) constituent un groupe plus simple, de caractère amphotérique, avec un spectre d'absorption en UV caractéristique. En outre, ils peuvent être aisément identifiés par chromatographie sur papier.

Les gallophaeomélanines et les trichochromes vont toujours ensemble, la présence des seuls trichochromes est donc une preuve décisive que le pigment analysé appartient au groupe des phaeomélanines. Comme, par ailleurs, la quantité de matériel disponible était réduite on s'est limité à l'étude des trichochromes en utilisant la méthode suivante :

Un échantillon de 20 à 30 g de poils est mis dans du chloroforme, laissé à la température ambiante pendant une nuit, puis lavé deux fois dans l'acétone et plusieurs fois dans l'éthanol bouillant. Ensuite, on procède à l'extraction avec de la soude à 0,1N, à la température ambiante. Après 6 heures, l'extrait est décanté et le résidu réextrait plusieurs fois, jusqu'à ce que le surnageant soit presque incolore. Après filtration les extraits mélangés sont ramenés à pH 1 avec HCl 6N chauffé à 80° pendant 30 minutes. A cette étape de l'analyse les trichochromes B et C subissent une décarboxylation donnant les dérivés décarboxylés correspondants. Ensuite on centrifuge pour enlever les pigments insolubles dans l'acide et/ou les protéines. Le surnageant est alors passé dans une colonne (1 x 5 cm) de Dowex 50 W-X2 (100-200 mesh, forme H⁺) ; après lavage avec HCl 1N et eau distillée les biochromes sont séparés de la résine par NaOH 0,5N. L'éluat est acidifié à pH 1 avec HCl 6N et analysé par chromatographie sur papier Whatman n° 1 (en technique descendante) en utilisant comme éluant un mélange de n-butanol, d'acide acétique et d'HCl 0,3N (20 : 30 : 50 v/v).

RÉSULTATS

Lorsqu'ils étaient traités avec NaOH 0,1N à la température ambiante, les poils de certaines races donnaient des extraits incolores dans lesquels il n'était pas possible d'extraire de phaeomélanines, ce qui indiquait que seul les pigments eumélaniques étaient présents. Les autres échantillons, au contraire, ne présentaient que des pigments de type phaeomélanique. La situation est résumée dans le tableau I.

TABLEAU I

Mise en évidence des deux types de mélanine dans les poils de quelques races bovines

	Couleur du poil	Types de pigments décelés (*)	
		phaeomélaniques	eumélaniques
<i>Frisonne Pie Noire</i>	noire	—	+
<i>Valdotaine</i>	rouge	+	—
<i>Reggiana</i>	rouge	+	—
<i>Tachète rouge Simmental</i>	rouge	+	—
<i>Brune des Alpes</i>	gris-souris	—	+
<i>Brune des Alpes x Piémontaise</i>	gris-souris	—	+
<i>Frisonne x Brune des Alpes</i>	noire	—	+

(*) + présence
— absence

(1) Dans le présent article on emploiera le terme plus approprié de trichochrome à la place du terme trichosidérine précédemment employé. Il a été en effet, récemment démontré que cette substance ne contenait pas de fer (Thomson, 1974).

L'analyse des échantillons contenant de la phaeomélanine s'est alors déroulée selon les méthodes décrites ci-dessus et a donné les résultats consignés dans le tableau 2.

TABLEAU 2

Caractéristiques des pigments phaeomélaniques trichochromes des divers échantillons qui en présentaient

Espèces et races	Trichochromes			
	B (1)	C (1)	E	F
Bovins				
<i>Valdotaine</i>	++	++++	0	0
<i>Reggiana</i>	++	++++	+	+
<i>Simmental</i>	++	++++	traces	traces

(1) Les trichochromes B et C sont instables en milieu acide et, au cours de l'extraction ils subissent une décarboxylation en C-3 pour donner les dérivés décarboxylés correspondants.

DISCUSSION

Le tableau 1 montre d'abord, qu'à l'instar des autres espèces déjà étudiées de Mammifères et d'Oiseaux (FATTORUSSO *et al.*, 1970), les poils des bovins peuvent présenter les deux types de pigments mélaniques. Les races noires (*Frisonne*) portent de l'eumélanine, les races rouges (*Valdotaine*, *Reggiana*) de la phaeomélanine. Ce résultat n'est pas aussi évident qu'on pourrait le croire à première vue car, si la phaeomélanine paraît toujours rouge, il n'en est pas de même de l'eumélanine souvent sombre mais qui, sous diverses influences, peut prendre des nuances variées. Par exemple, il existe dans plusieurs espèces un mutant au locus appelé B qui peut la rendre brune (SEARLE, 1968) mais la couleur brune peut aussi résulter d'une oxydation du pigment noir. Quand le poil a une seule couleur, dans les bruns-rouges, une telle étude biochimique est donc nécessaire.

Le tableau 2 montre que, dans les races rouges (qui présentent seulement des phaeomélanines) il y a une certaine variation de la teneur en trichochromes E et F. Il pourrait être intéressant de relier cette variabilité avec des nuances de la couleur du pelage ou avec certaines actions géniques.

Chez les Mammifères, à la suite d'études comparées des séries alléliques faites principalement chez les Rongeurs et les Carnivores (HALDANE, 1927 ; LITTLE, 1958) on reconnaît comme très constante la présence d'un locus dit Agouti (A) qui contrôle la répartition des eu- et des phaeomélanines à travers le poil (donnant parfois des poils zonés) et à travers le manteau (donnant un certain nombre de « patrons » symétriques

(comme agouti, agouti ventre clair, tout noir, noir et feu...) (cf. SEARLE, 1968, pour revue plus récente).

Cherchant une correspondance gène/enzyme dans le système qui produit les pigments mélaniques on doit d'abord se rappeler qu'une action enzymatique est nécessaire et suffisante pour la production d'eumélanine : celle de la tyrosinase. Certains auteurs comme FOSTER (1966) sont alors enclins à penser que le gène de structure qui contrôle cet enzyme serait, chez les Mammifères, précisément le gène C dit d'albinisme, dont une série allélique quasi stéréotypée a été mise en évidence dans plusieurs espèces.

Pour la formation des phaeomélanines les études de NICOLAUS (1972) ont montré la nécessité d'une autre action enzymatique qui consisterait à régler le contenu en cystéine des mélanocytes. Il est alors tentant d'attribuer ce rôle de régulation de la cystéine dans le mélanocyte au locus Agouti évoqué plus haut. Ses manifestations visibles consistent précisément à doser le mélange d'eu- et de phaeomélanines dans le poil et, plus généralement, dans tout le manteau. Chez les Bovins, si les tests d'allélisme n'ont pu être menés aussi loin que dans les espèces de Rongeurs et de Carnivores passées en revue par SEARLE (1968) on peut néanmoins identifier une série de « patrons » colorés parfaitement homologables phénotypiquement aux séries A des espèces où l'expérimentation mendélienne est plus facile (LAUVERGNE, 1966). Cette homologation phénotypique pourrait même — avec la découverte récente d'un phénotype noir et feu (LAUVERGNE, 1970) et avec la prise en compte des termes rouge et noir dont l'alternance avait été, probablement à tort, laissée au jeu d'allèles à un autre locus : le locus E, dit d'extension — comprendre au moins 6 termes qui seraient, provisoirement, les suivants (1) :

A^s (s pour solid) : Non agouti (tout noir), ex : race *Angus*

A⁺ Agouti (dun), ex : dun du *Galloway*

A^y (y pour yellow) : Jaune à extrémités noires : ex : race *Aubrac*

A^w (w pour white belly) : Agouti ventre clair, ex : Race *Brune des Alpes*

A^t (t pour black and tan) : Noir et feu, ex : certains zébus de Madagascar

A^r (r pour red) : Rouge, ex : *Simmental*

Il est à remarquer que, dans les patrons présentant des poils zonés comme celui de la *Brune des Alpes*, que nous avons attribué à l'allèle A^w (Agouti ventre blanc) et où l'alternance des bandes claires et foncées a été remarquée pour la première fois par BERGE, 1961, la phaeomélanine n'existe pas (cf. tabl. 1). Ce comportement de la phaeomélanine, qui disparaît de certains patrons colorés où l'alternance est de règle chez les Rongeurs et les Carnivores, ne semble pas rare chez d'autres Ruminants, comme nous l'avons noté précédemment (LAUVERGNE, 1970) chez la Chèvre et le Mouton).

On peut enfin remarquer que les phaeomélanines sont absentes chez les Poissons et les Reptiles et penser que ce gène Agouti, qui contrôlerait l'introduction de la cystéine dans les mélanocytes a pu faire son apparition dans le phylum qui a conduit aux Oiseaux et aux Mammifères, avant sa différenciation.

Reçu pour publication en décembre 1974.

(1) A la lecture du manuscrit, le Dr SEARLE a fait remarquer qu'il sera souhaitable d'adopter une nomenclature allélique calquée sur celle de la Souris, c'est-à-dire en désignant par des lettres minuscules les allèles récessifs à l'allèle sauvage. Cela n'est malheureusement guère possible pour les bovins domestiques : tout d'abord notre choix de l'allèle sauvage (exposant +) est très arbitraire, en outre l'ordre de dominance n'est encore connu que très approximativement.

REMERCIEMENTS

Les échantillons de poils ont été fournis par W. STUDER Institut für Zuchthygiene Universitäts Zürich et par le Pr. SUCCI, Istituto de Zootechnia generale, Facolta di Agraria, Milano.

Le manuscrit a été lu par le Dr A. G. SEARLE Medical Research Council, Radiobiology Unit, Harwell, Didcot, Grande-Bretagne.

SUMMARY

MELANIC PIGMENTS OF HAIR IN SOME CATTLE BREEDS :
A POSSIBLE PLAN OF ACTION FOR CERTAIN GENES

As other species of mammals and birds already studied, some red cattle breeds have their colorings due to phaeomelanins. These pigments require cysteine as well as oxydized tyrosine for synthesis. They are definitely different than the black pigments, eumelanines, whose existence has been proved in black and in grey cattle. As enzyme action is necessary for phaeomelanin production, we propose that production of this enzyme may be attributed to the agouti locus (A). The constant presence of this locus is attested to in many mammals by homologically phenotypic allelic series ; it controls eumelanins and phaeomelanins determination in hair and fur.

This locus must have appeared in the mammal — bird phylum before the branching of these two orders because birds present also phaeomelanin. In fact, only eumelanins are present in the lower vertebrates. Locus A seems present in cattle according to the series, which is perfectly phenotypically homologable to that of better studied mammals. However, in that species, as in some other ruminants, phaeomelanin pigments are not present in some cases where they should appear alternatively with eumelanins, particularly in the color pattern provisionally called « white-belly agouti » in the *Brown Alpine*.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BERGE S., 1961. Influence of dun on brown and brindle in cattle. *Z. Tierz. ZüchtBiol.*, **75**, 298-306.
- FATTORUSSO E., MINALE L., G. SODANO, 1970. Feomelanine e eumelanine da nuove fonti naturali. *Gaz. chimica ital.*, **100**, 452-460.
- FOSTER M., 1967. Genetic aspects of mammalian melanogenesis, in MONTAGU W., FUNAN H. U., *Adv. Biol. Skin.*, **8**. The pigmentary Systems, 467-477, Pergamon Press, London.
- HALDANE J. B. S., 1927. The comparative genetics of Colour in Rodents and Carnivora. *Biol. Rev.*, **2**, 199-212.
- LAUVERGNE J. J., 1966. Génétique de la couleur du pelage des Bovins domestiques (*Bos taurus* L.). *Bibliogr. Genet.*, **20**, 1-68.
- LAUVERGNE J.-J., 1970. Mise en évidence du phénotype noir et feu dans deux nouvelles espèces de Mammifères. *Rev. Roum. Biol., sér. Zool.*, **15**, 113-118.
- LITTLE C. C., 1958. Coat Color genes in Rodents and Carnivores. *Quarterl. Rev. Biol.*, **33**, 103-137.
- MISURACA G., NICOLAUS R. A. G., PROTA, GHIARA G., 1970. A cytochemical Study of Phaeomelanin Formation in Feather Papillae of *New Hampshire* Chick embryos. *Experientia*, **25**, 920-922.
- NICOLAUS R. A., 1972. The nature of mammalian colors. *Chimica Industria.*, **54**, 427-433.
- PROTA G., NICOLAUS R. A., 1967. On the biogenesis of Phaeomelanins. *Adv. Biol. Skin.*, **8**. The pigmentary Systems, 323-328, Pergamon Press, London.
- PROTA G., 1972. Structure and Biogenesis of Phaeomelanins, in V. RILEY, *Pigmentation : its genesis and biologic control*, Appleton Century Croft, New York, 615-629.
- SEARLE A. G., 1968. *Comparative Genetics of Coat Colour in Mammals*. Logos Press, Academic Press. London.
- THOMSON R. N., 1974. Pigment of reddish hairs and feathers. *Angew. Chem. (Int. Edit.)*, **13**, 305-312.