



HAL
open science

La coquille de l'oeuf: formation, critères de qualité et piste d'amélioration

Joël Gautron

► **To cite this version:**

Joël Gautron. La coquille de l'oeuf: formation, critères de qualité et piste d'amélioration. Journée Professionnelle de la Poule Pondeuse et de l'Oeuf, CNPO - ITAVI, Dec 2017, Pacé, France. hal-03625767

HAL Id: hal-03625767

<https://hal.inrae.fr/hal-03625767v1>

Submitted on 31 Mar 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License



Interprofession des Oeufs



La coquille de l'oeuf : formation, critères de qualité et pistes d'amélioration

Joël Gautron

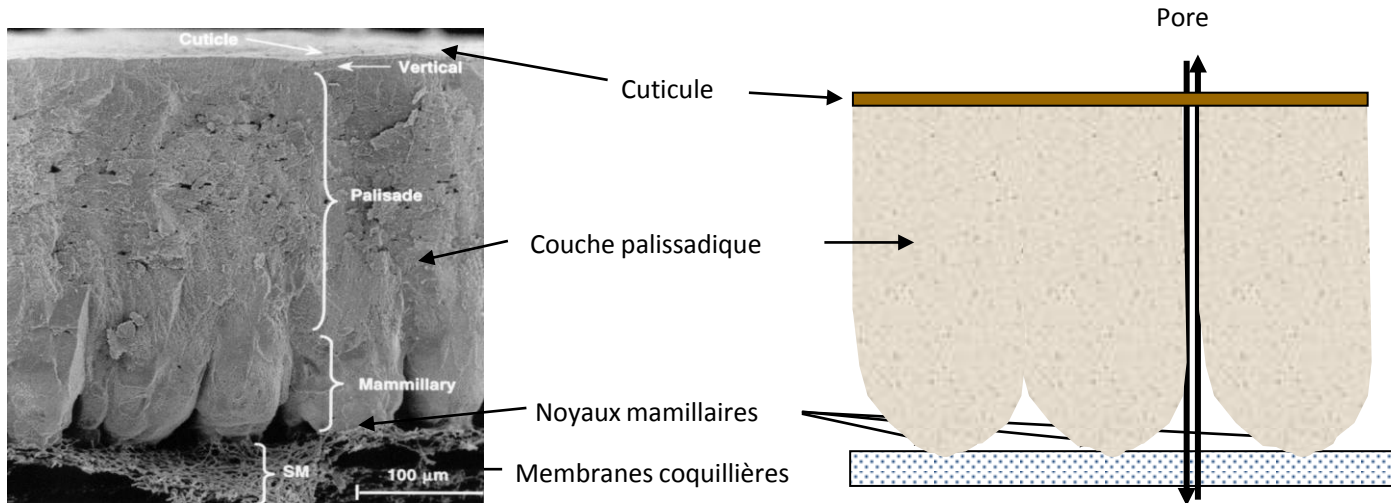
INRA, « Défenses de l'œuf, valorisation, évolution »

UR83 Recherches Avicoles, Unité mixte de recherches Biologie des Oiseaux et Aviculture,
37380 Nouzilly, France

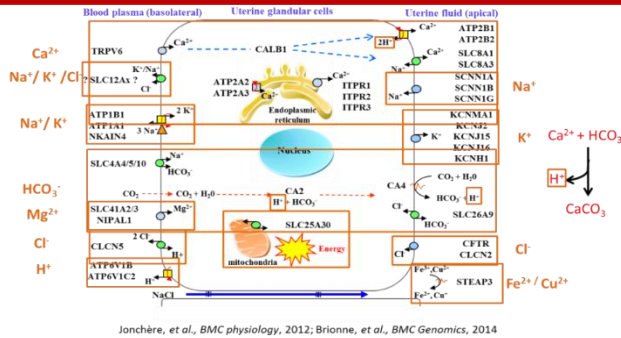


La coquille : une barrière physique contre la pénétration bactérienne

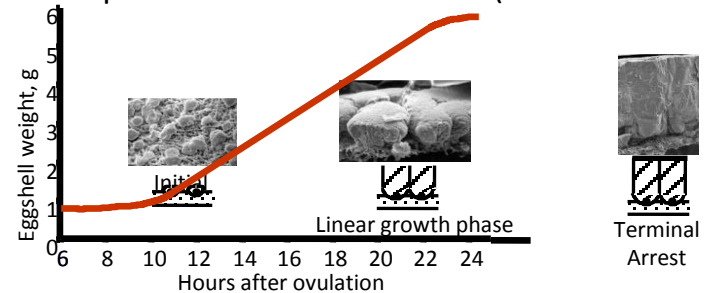
La coquille se forme dans l'utérus selon le processus de biominéralisation le plus rapide du vivant
5-6 g de biominéral déposé en 17-18 heures



Supply of minerals for shell mineralization



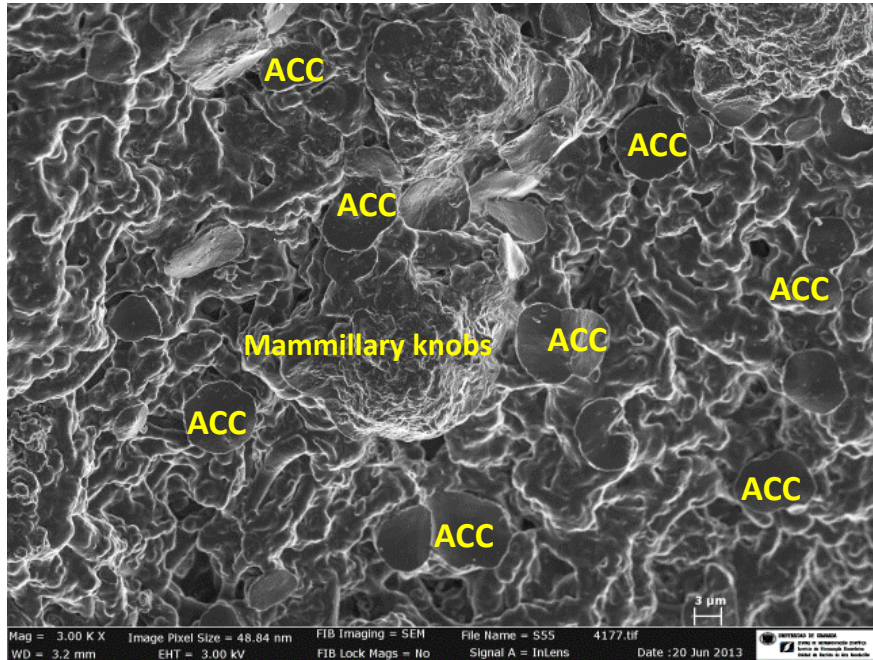
3 main phases in the uterine fluid (acellular milieu)



- 95 % de minéral (carbonate de calcium)
- 3,5 % de matière organique (protéines et sucres complexes)
- 1,5 % d'eau

La formation de la coquille

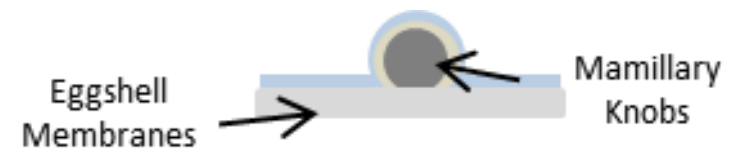
- 95 % de minéral (carbonate de calcium)
- 3,5 % de matière organique (protéines et sucres complexes)
- 1,5 % d'eau



Images: A. Rodriguez-Navarro, University of Granada

- Carbonate de calcium amorphe (ACC)
- Calcite

Premiers évènements de nucléation

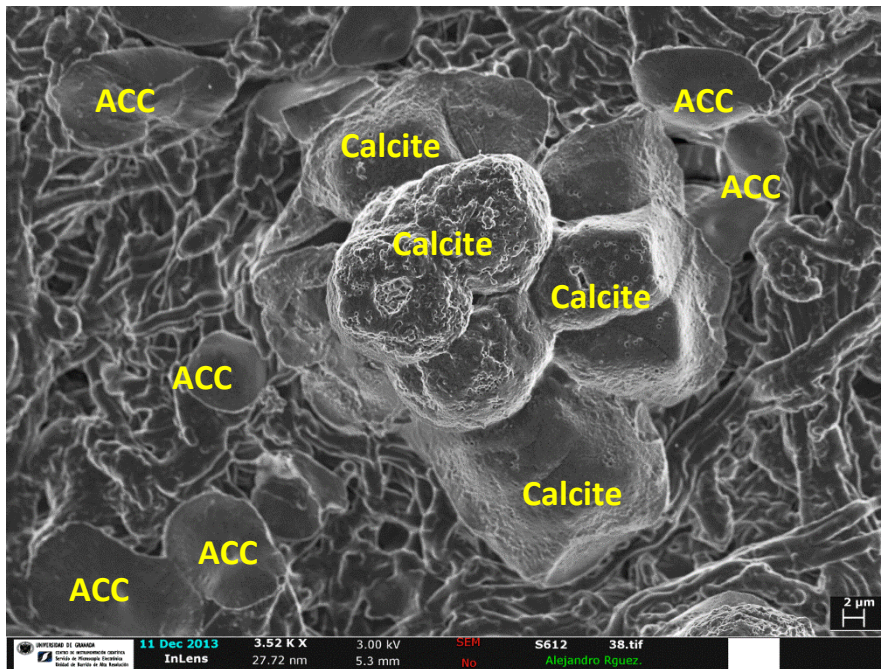


Time 1 (5-6 h Post ovulation):
Particules d'ACC se déposent de manière massive sur la totalité des membranes coquillières



La formation de la coquille

- 95 % de minéral (carbonate de calcium)
- 3,5 % de matière organique (protéines et sucres complexes)
- 1,5 % d'eau



Images: A. Rodriguez-Navarro, University of Granada



Calcite formation

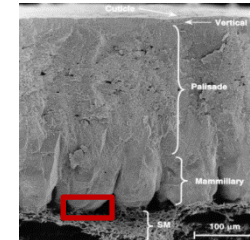
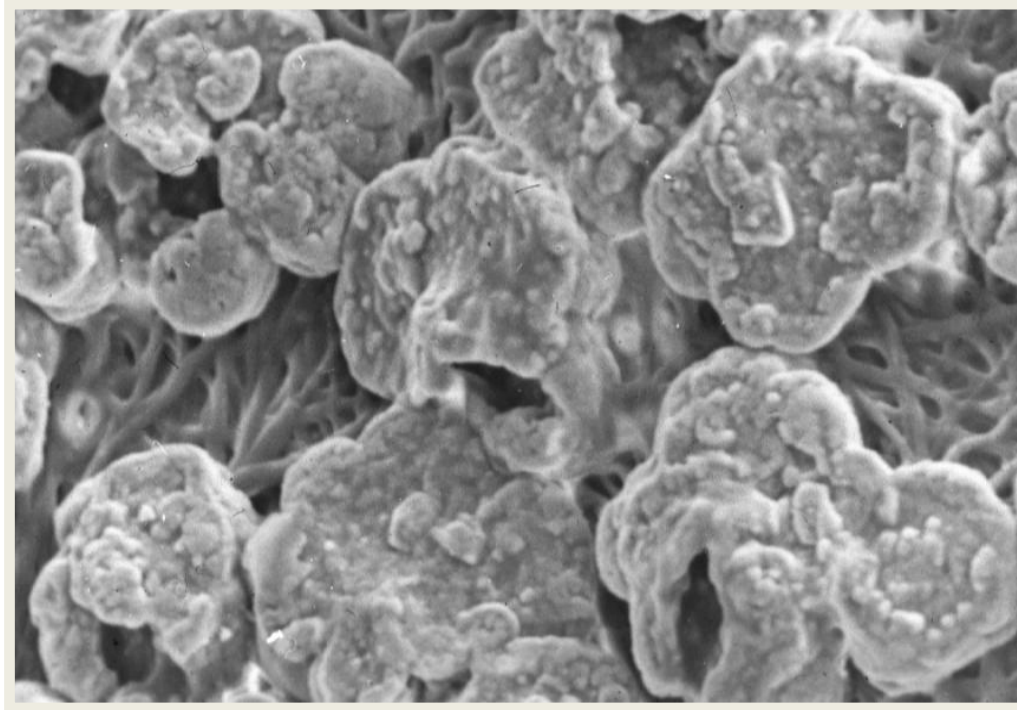


Time 2 (6-7 h post ovulation):
Transformation directe de l'ACC
en agrégats de calcite sur les
noyaux mammillaires



La formation de la coquille

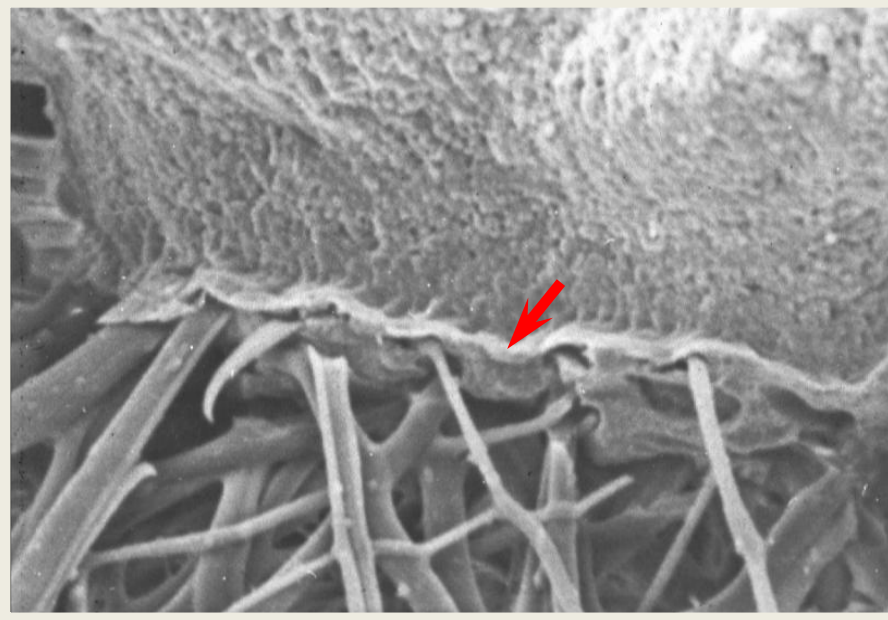
- 95 % de minéral (carbonate de calcium)
- 3,5 % de matière organique (protéines et sucres complexes)
- 1,5 % d'eau



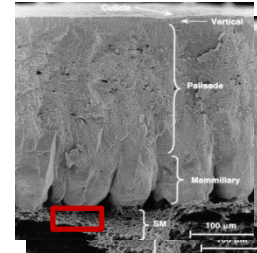
Peu à peu les noyaux mamillaires sont recouverts de calcite

La formation de la coquille

- 95 % de minéral (carbonate de calcium)
- 3,5 % de matière organique (protéines et sucres complexes)
- 1,5 % d'eau

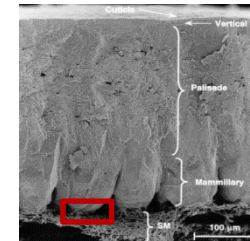
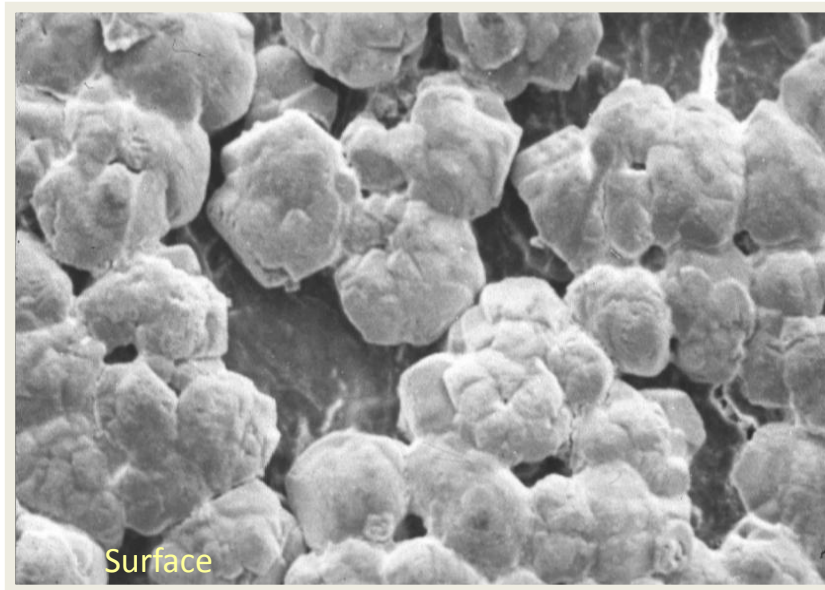


La couche calcifiée est étroitement liée aux fibres de la membrane de la coquille



La formation de la coquille

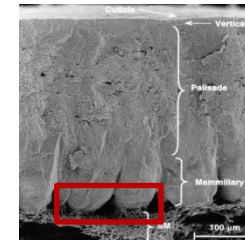
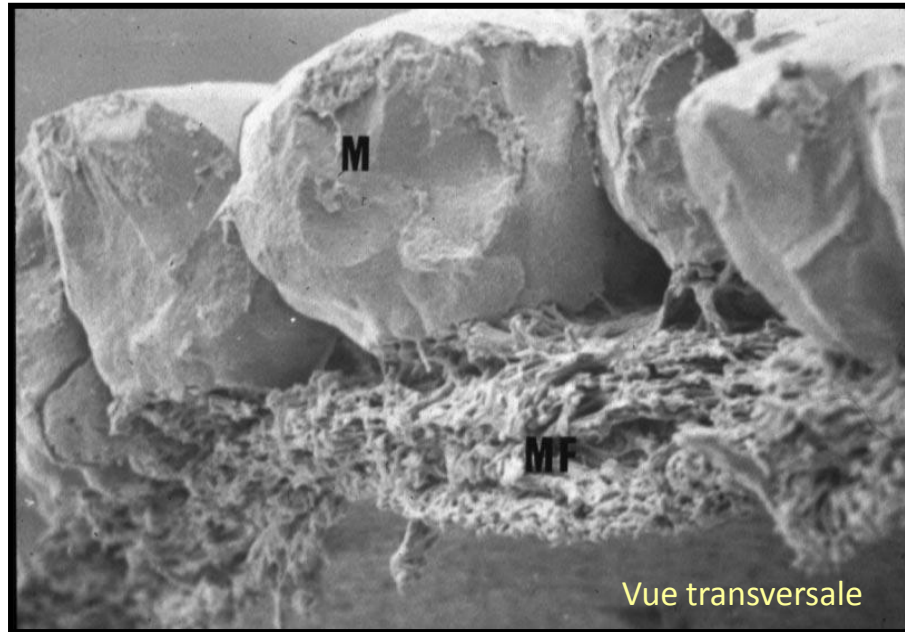
- 95 % de minéral (carbonate de calcium)
- 3,5 % de matière organique (protéines et sucres complexes)
- 1,5 % d'eau



Les noyaux mamillaires recouverts de carbonate de calcium (calcite) forment des cônes qui fusionnent au fur et à mesure que la calcification se poursuit

La formation de la coquille

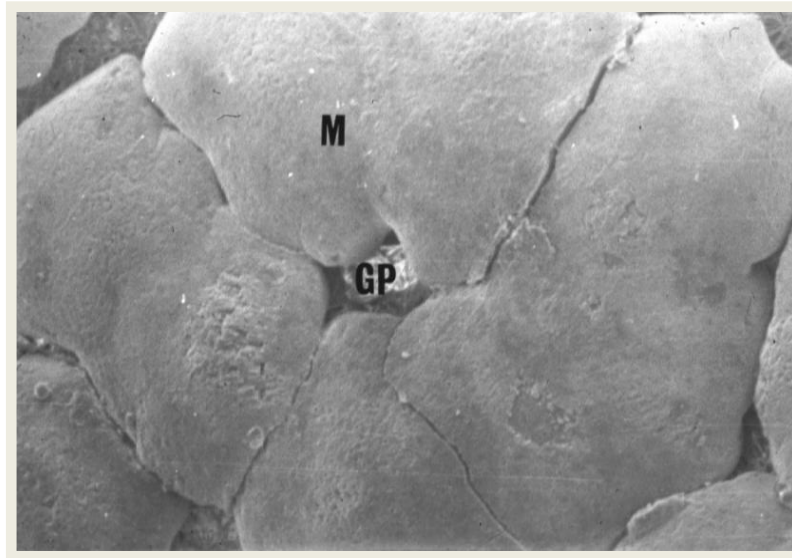
- 95 % de minéral (carbonate de calcium)
- 3,5 % de matière organique (protéines et sucres complexes)
- 1,5 % d'eau



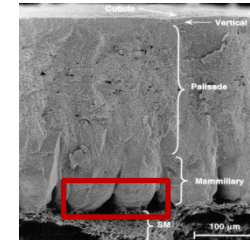
Les noyaux mamillaires recouverts de carbonate de calcium (calcite) forment des cônes qui fusionnent au fur et à mesure que la calcification se poursuit

La formation de la coquille

- 95 % de minéral (carbonate de calcium)
- 3,5 % de matière organique (protéines et sucres complexes)
- 1,5 % d'eau

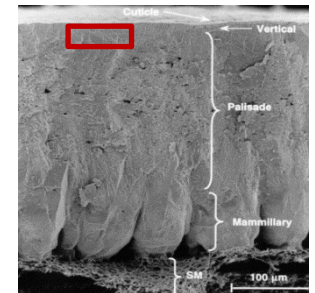
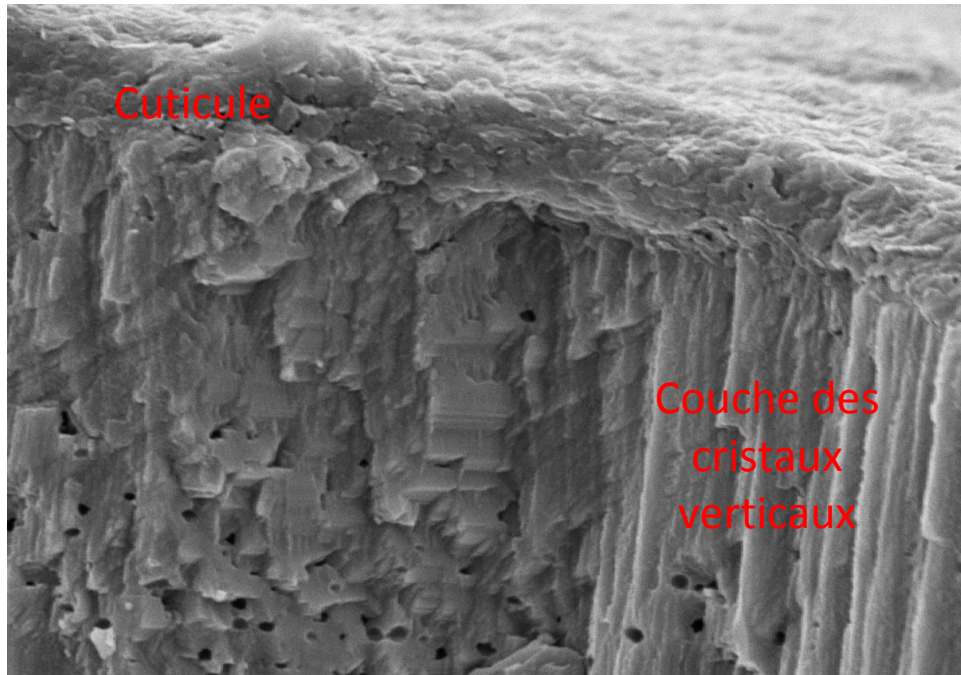


Surface de la couche calcifiée avec apparition d'un pore obtenu en absence de fusion des pores



La formation de la coquille

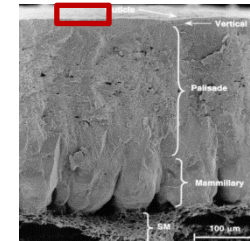
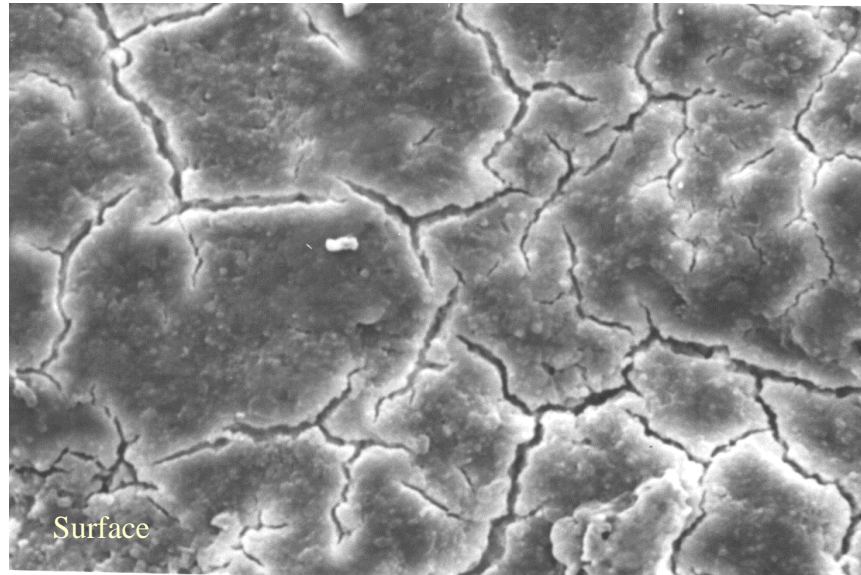
- 95 % de minéral (carbonate de calcium)
- 3,5 % de matière organique (protéines et sucres complexes)
- 1,5 % d'eau



La minéralisation s'arrête. Une fine couche de matière organique vient se déposer en surface (cuticule)

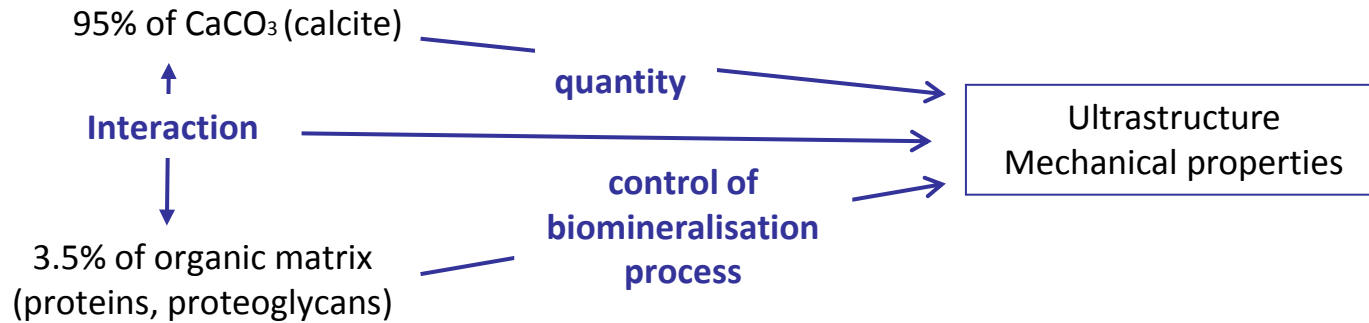
La formation de la coquille

- 95 % de minéral (carbonate de calcium)
- 3,5 % de matière organique (protéines et sucres complexes)
- 1,5 % d'eau



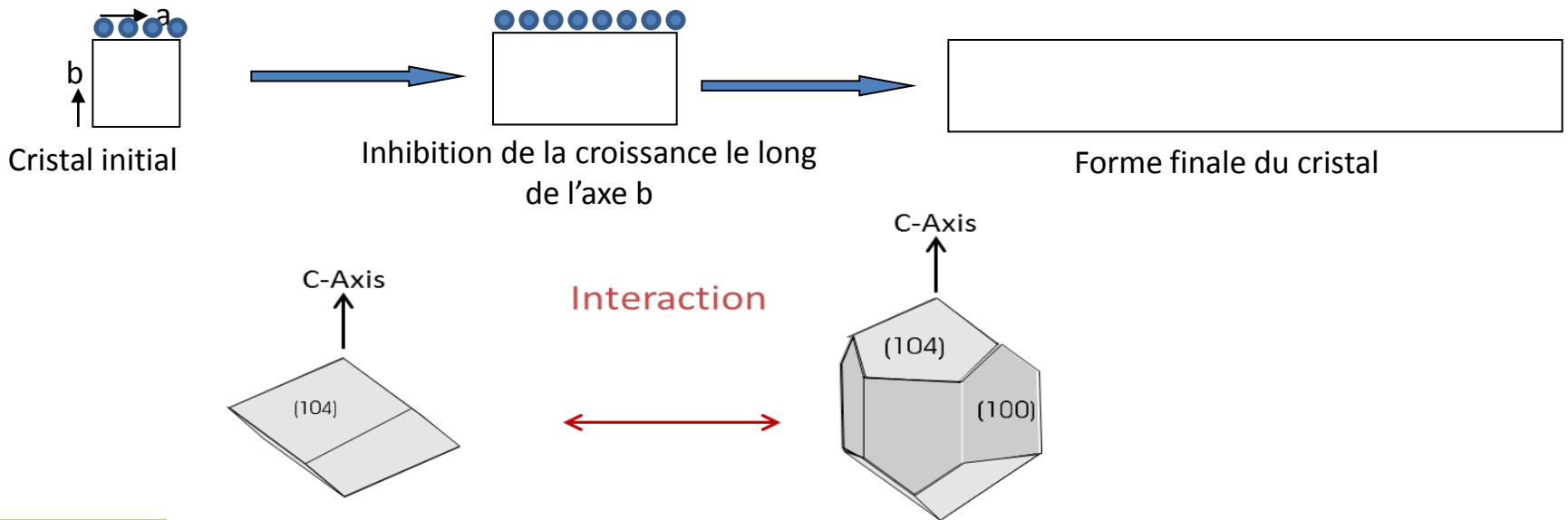
La cuticule recouvre la totalité de l'œuf. En séchant, elle se fissure pour permettre les échanges gazeux via les pores

La formation de la coquille, un processus de biominéralisation

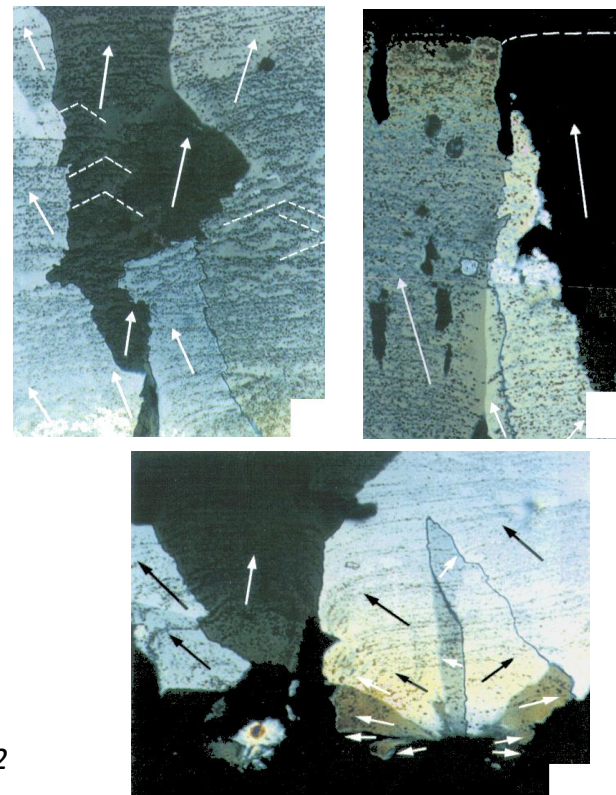
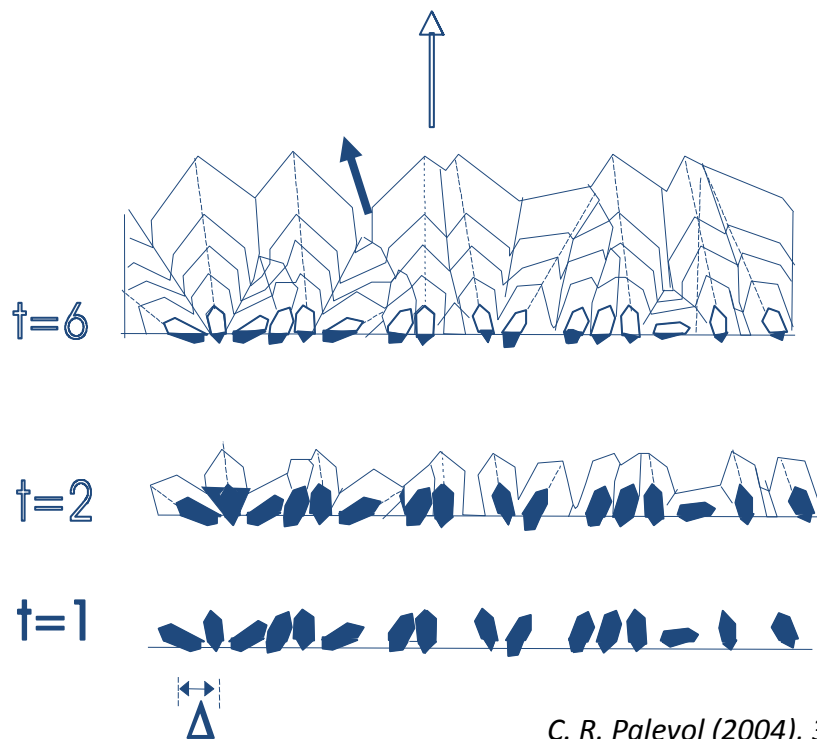


La matrice organique détermine la texture de la coquille et ses propriétés mécaniques

La matrice contrôle la nucléation, la forme, la taille et le type cristallin des cristaux déposés dans la coquille



La formation de la coquille, un processus de biominéralisation



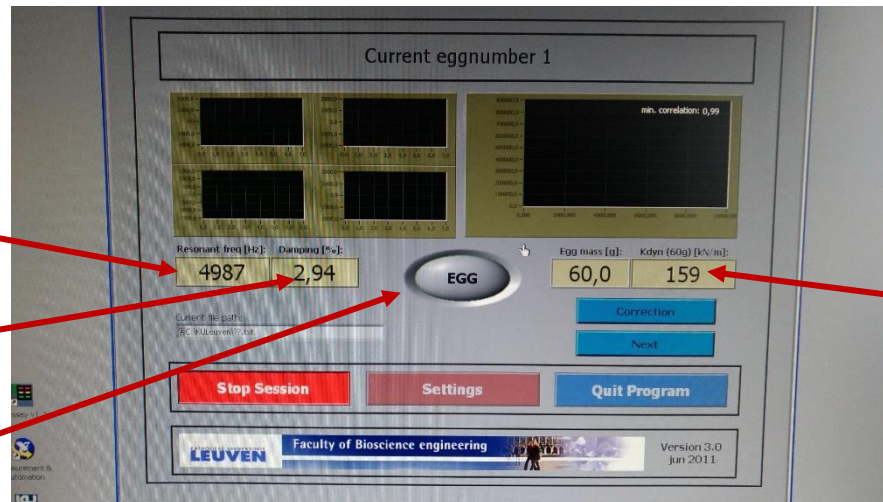
C. R. Palevol (2004), 3, 549-562

La mesure des propriétés biomécaniques

Acoustic egg tester :

Un marteau vient frapper l'œuf en rotation en 4 endroits.

Un micro enregistre la fréquence vibratoire sonore de la coquille et le traduit en différentes valeurs



RF: Fréquence (Hz).

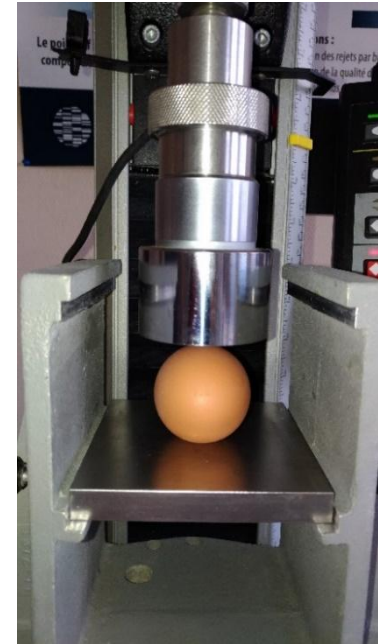
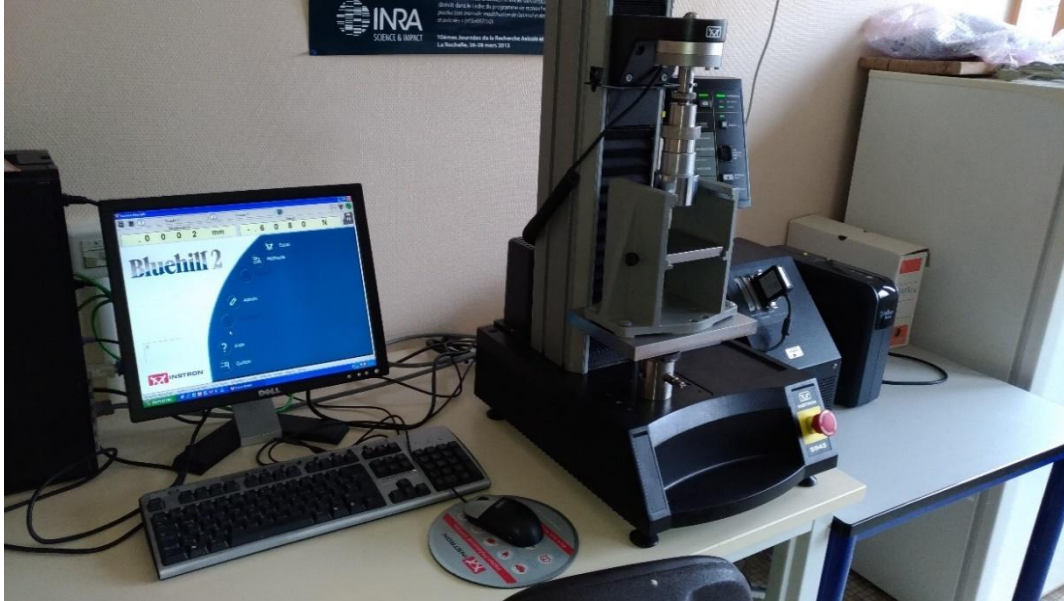
dumping: amortissement.

œuf cassé (1) / non cassé (0).

Rigidité dynamique
Kdyn (KN/m)

La mesure des propriétés biomécaniques

Mesures mécaniques sur l'instron :



Rigidité (**Sd**) (stiffness en N/mm) : Déformation de la coquille obtenue sous une charge donnée
Charge à la rupture (**F**) (Breaking strength en N). Charge appliquée sur l'œuf jusqu'à la rupture.

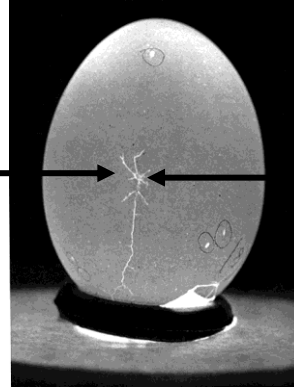
Paramètres biomécaniques déduits des mesures :

- Pourcentage de coquille %
- Index de coquille (g/100cm²)
- Epaisseur de la coquille (mm) : $T = 1/23.5$
- Le module élastique qui décrit la contribution des matériaux de la coquille à sa rigidité globale
- La dureté (eggshell fracture toughness) (Kc) en N/mm^{3/2}

La coquille : une barrière physique contre la pénétration bactérienne

→ L'intégrité de la coquille est cruciale pour le producteur et la sécurité alimentaire du consommateur

Apparition de fêlures



Pénétration de bactéries

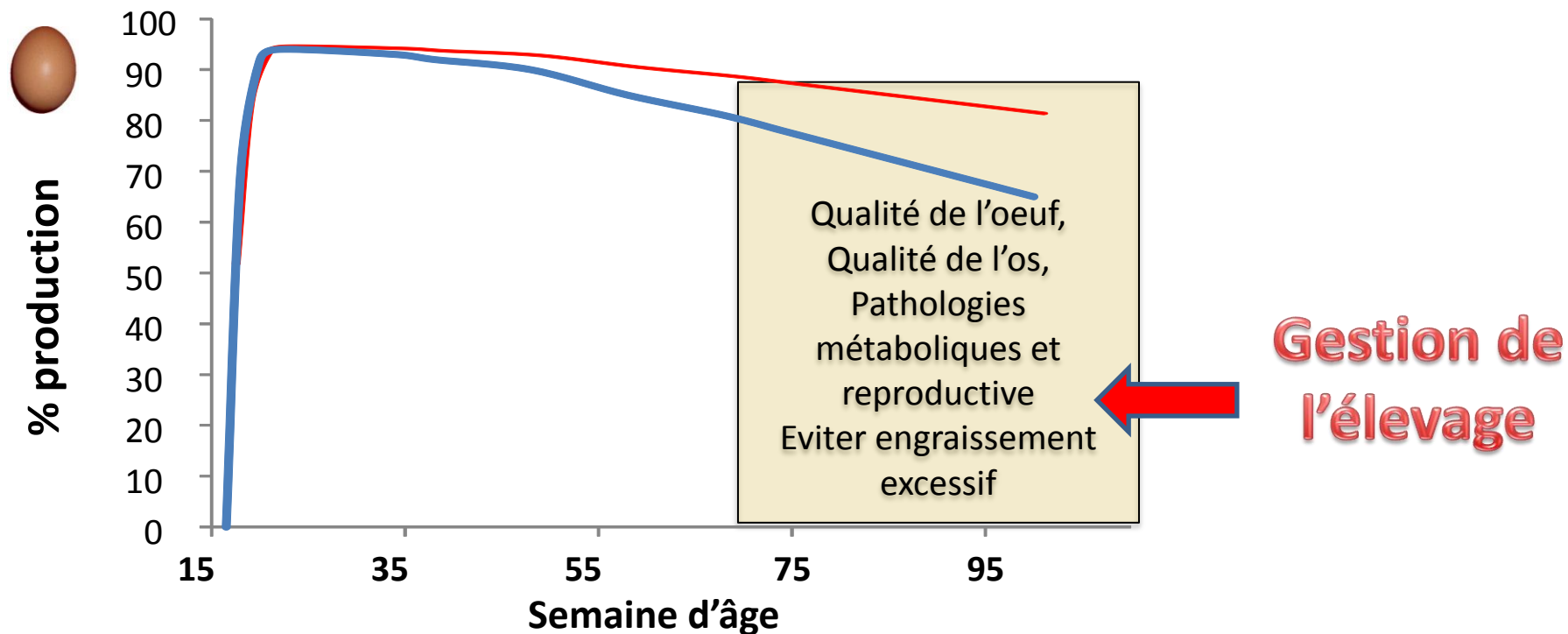
Facteurs influençant la qualité de la coquille

- Génétique
- Nutrition, environnement et élevage de la poule (lumière, températures...)
- Physiologie (Age → Allongement de la période de ponte)
- Chocs : système d'élevage, transports...

→ La nutrition optimisée, la génétique et la maîtrise de ses facteurs limitent la casse, mais ne l'élimine pas totalement

Allongement de la période de ponte

La stratégie actuelle est d'augmenter la persistance de ponte et ainsi augmenter le cycle de ponte (intérêt financier et pour l'environnement)

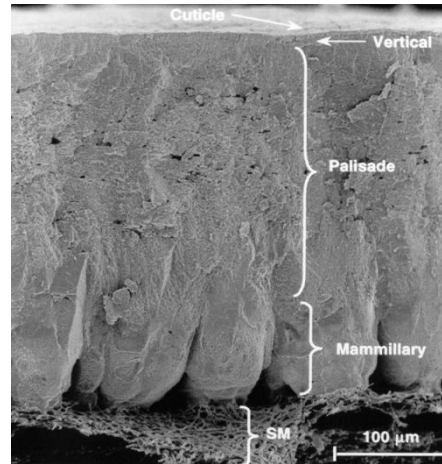


La perte en terme de qualité de l'œuf est linéaire entre 70 et 90 semaines : Par semaine - 0.4 Unités Haught, - 0,02% de coquille, + 0,05 cm² de surface d'œuf (European data, 2015, conditions terrain)

Améliorer la qualité de la coquille

Calcium Carbonate (calcite) 95 %

Organic matrix 3.5 %



Quantité

Contrôle du processus de calcification

Propriétés mécaniques exceptionnelles

Masse ou fabrique ?

☞ Masse : nutrition, génétique, environnement, programmes lumineux

☞ fabrique : génétique (Protéines de la matrice), nutrition (trace elements) ?

Améliorer la qualité de la coquille

Nutrition

Toute diminution de l'ingéré en calcium diminue la quantité de coquille

Effect of dietary calcium levels on eggshell (Hartel, 1990)

	Dietary calcium (%)		
	<2.5	3.5	>4
Shell thickness (μm)	348 ^a	374 ^b	378 ^b

Supplémentation en oligo éléments (Mn) améliore la résistance à la rupture des coquilles sans changer la quantité de coquille

Effect of Mn -Zn supplementation on eggshell quality (Mabe et al. 2003)

Supplementation Mn-Zn	Eggshell %	Breaking strength (N)
0-0	9,7	29,5a
30-30	9,5	30,8ab
60-60	9,7	32,2b

Améliorer la qualité de la coquille

Génétique

Depuis les années 2000 forte sélection sur la résistance à la rupture

Change in eggshell strength in pedigree brown egg hen (2001 / 2007)

Hen age (weeks)	18-45	46-65	>65
Increased breaking strength	0.24	0.56	0.64
Heritability breaking strength	0.29	0.32	0.30
deformation	0.34	0.31	

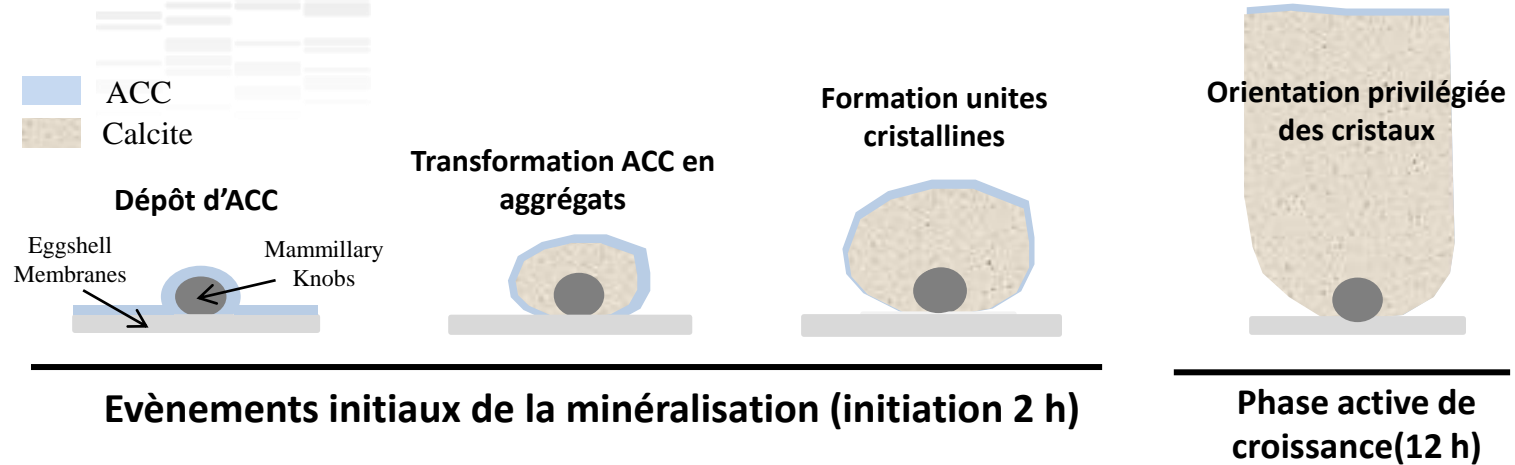
(Nys 2016)

Sélection basée sur des critères de qualités d'œufs des descendants (phénotype) et de marqueurs moléculaires non identifiés (génotypes)

Développements récents et perspectives futures :

- ✓ La sélection génomique (précision, prise en compte de l'effet mâle)
- ✓ Prise en compte des avancées scientifiques sur la connaissance des mécanismes
 - Approche gènes candidats

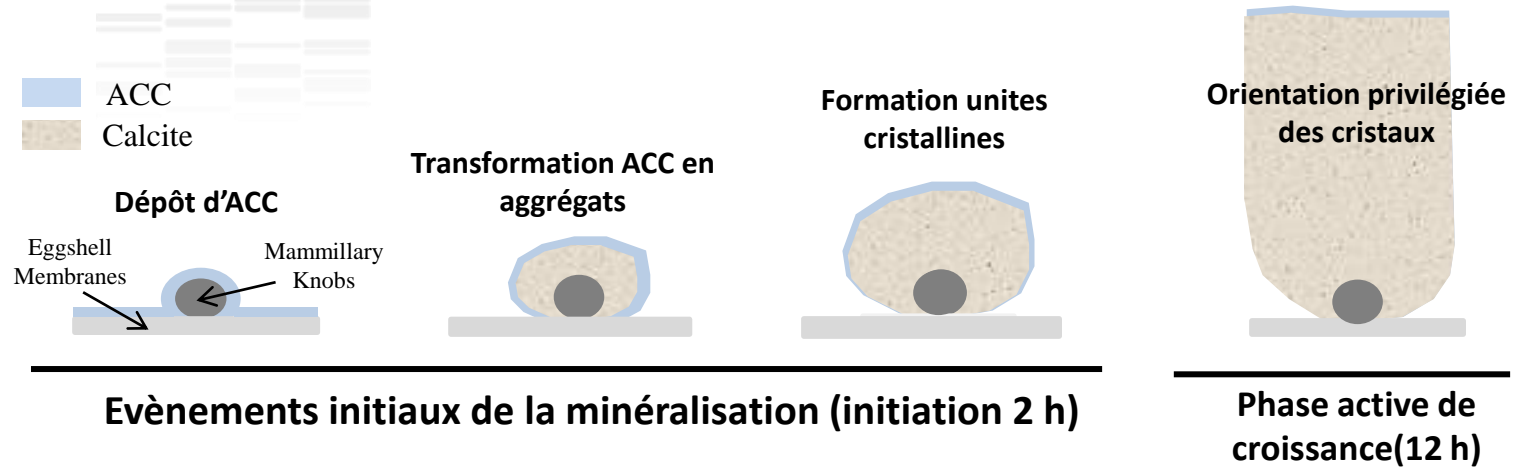
Analyse des gènes et les protéines impliquées aux étapes clés du processus de biominéralisation de la coquille



Techniques quantitatives à haut débit (protéomique, séquençage des ARN), statistiques et analyses bioinformatique des fonctions des protéines de la matrice organique

Déterminer les protéines majeures de la coquille qui contrôlent la minéralisation

Analyse des gènes et les protéines impliquées aux étapes clés du processus de biominéralisation de la coquille



444 protéines pouvant être impliquées dans le processus de formation de la coquille

Analyse bioinformatique des fonctions de ces protéines ?

(Marie et al., 2014, 2015a,b)

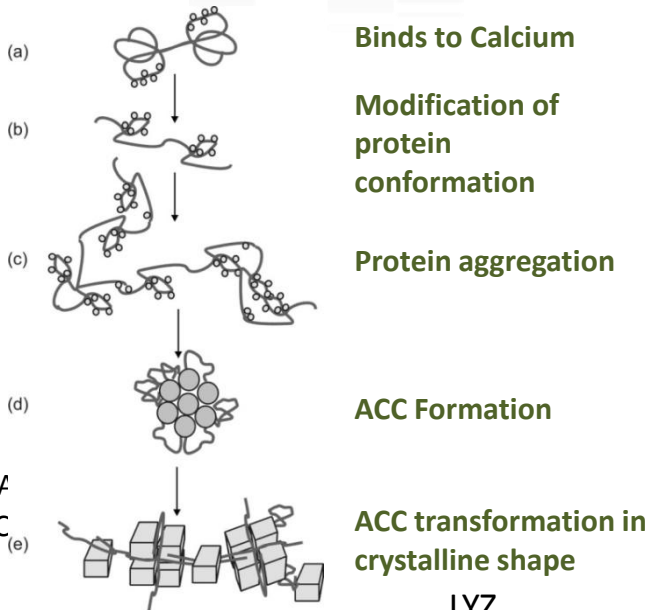
Classées en 2 groupes différents

Rôle direct associé au processus de minéralisation

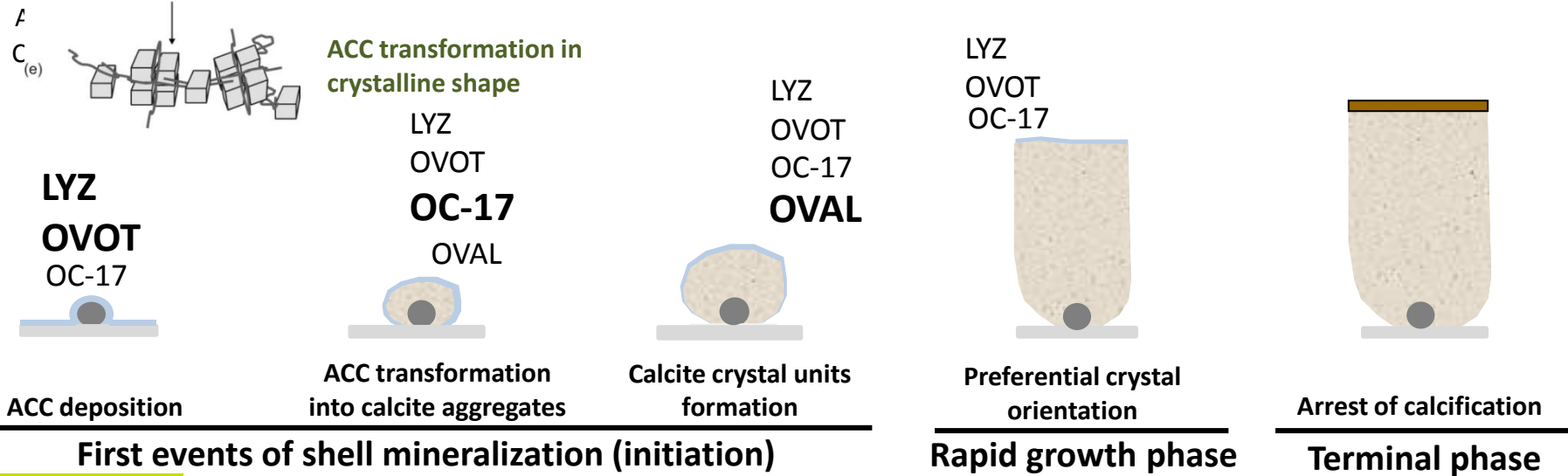
Rôle indirect associé à la régulation des protéines qui guident la minéralisation

Protéines ayant un rôle crucial

Protéines jouant un rôle direct dans la minéralisation



Etudes In vitro du rôle de l'ovalbumine sur la cristallisation du CaCO_3 c (Pipitch et al., 2008, Schwahn et al., 2003)



Protéines ayant un rôle crucial

□ Protéines jouant un rôle direct dans la minéralisation

Freeman et al, 2010

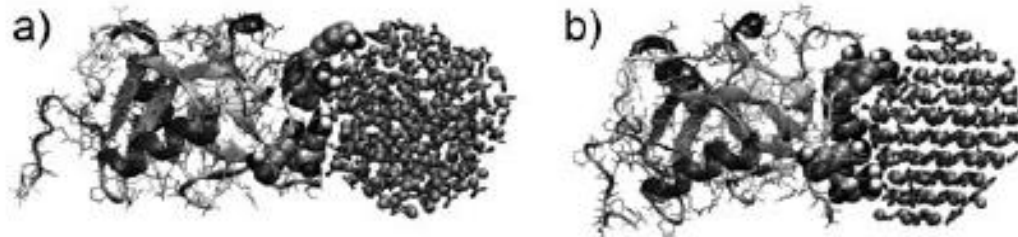
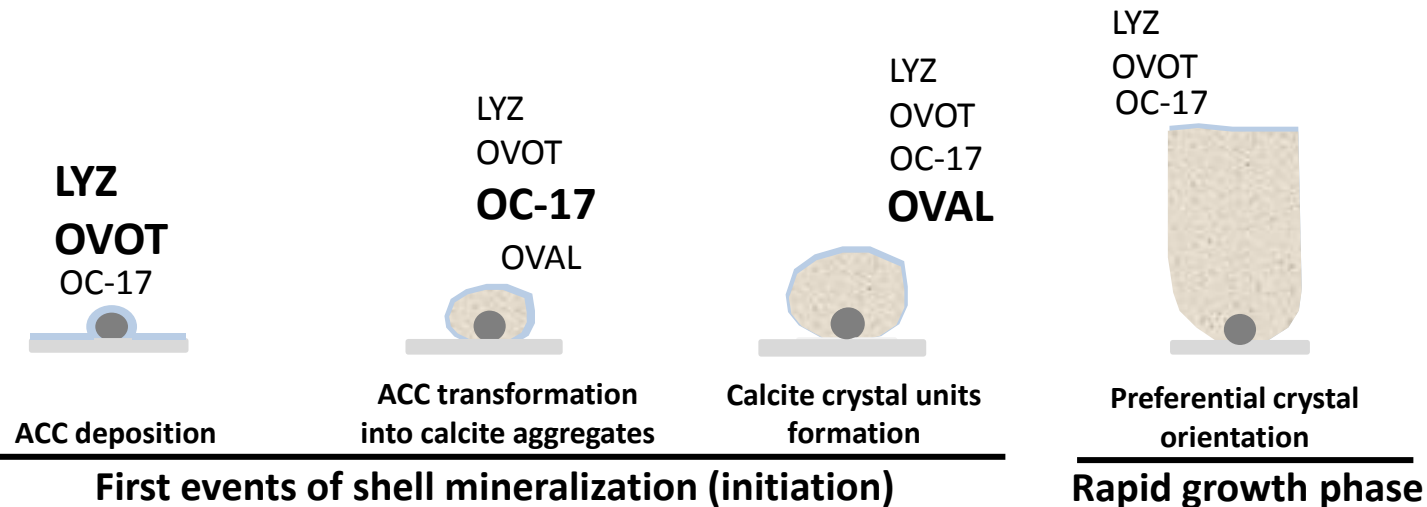


Figure 1. Ovocleidin-17 bound to an amorphous (a) and a crystallized (b) calcium carbonate nanoparticle containing 192 formula units. The

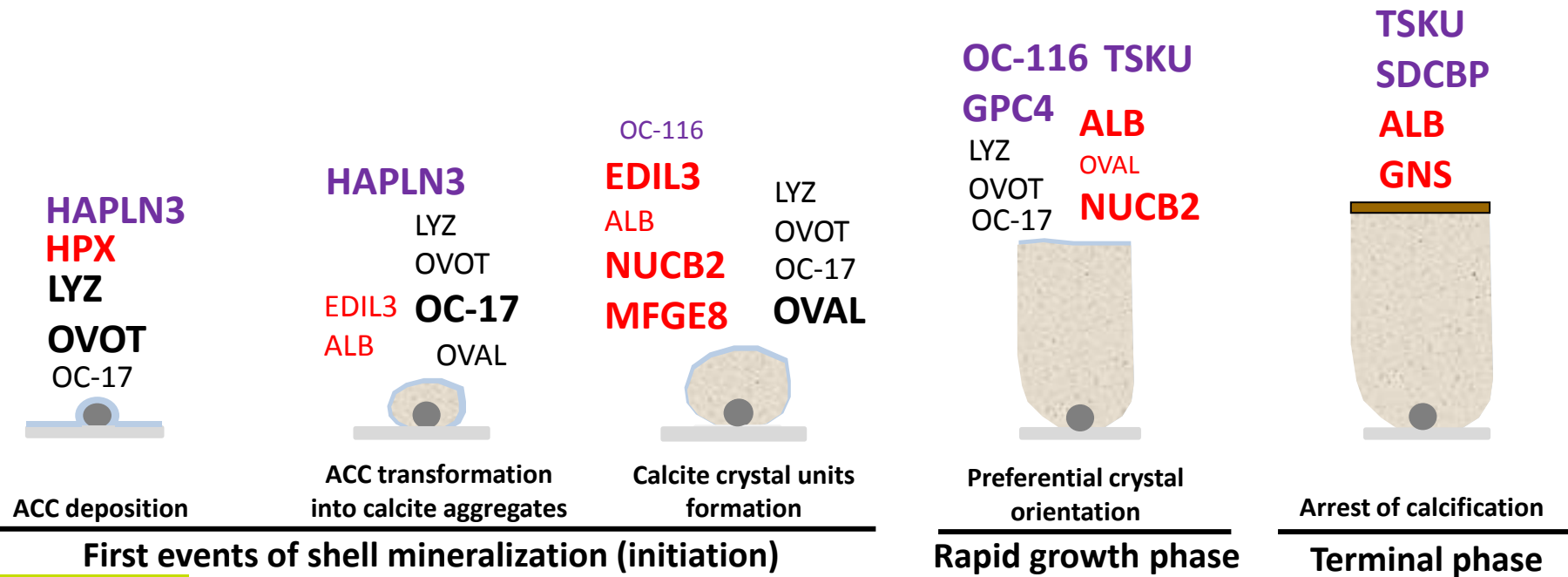


Protéines ayant un rôle crucial

□ Protéines jouant un rôle direct dans la minéralisation

✓ **Protéines de liaison au calcium (CaBPs)** qui interagissent avec le calcium, pour favoriser le nucleation cristalline et guider la morphologie des cristaux

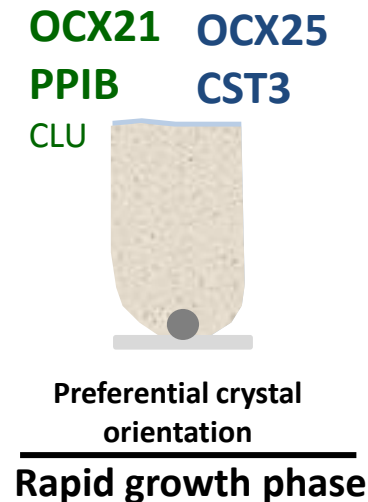
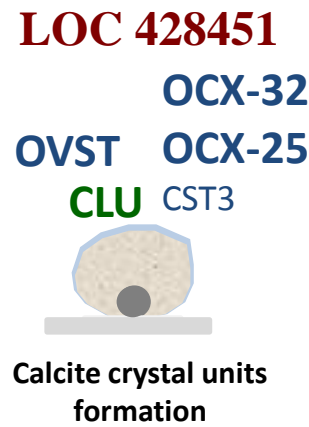
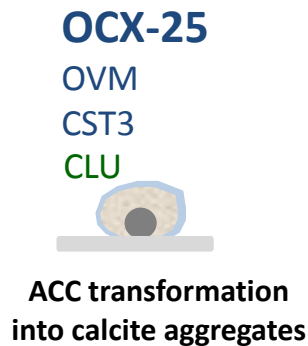
✓ **Protéoglycanes** et protéines de liaison aux protéoglycanes (charges négatives en surface pour attirer les ions Ca^{2+})



Protéines ayant un rôle crucial

□ Protéines régulant les protéines guidant la minéralisation

- ✓ impliquées dans le **repliement approprié** de la matrice pour servir de support à la structure minéralisée et pour permettre les interactions avec le calcium
- ✓ Protéines **inhibant ou activant les protéines présentes** dans le milieu de minéralisation
 - *Interaction directe avec les autres protéines*
 - **Molécules chaperones qui interagissent avec les protéines guidant la minéralisation**
 - **Inhibiteurs de protéases (rôle contrôlé pendant la calcification pendant le processus de calcification, soit en dégradant des protéines ou en régulant la maturation des protéines)**
- ✓ **Minéralisation dépend du degré de phosphorylation**



First events of shell mineralization (initiation)

Rapid growth phase

Terminal phase

Perspectives

Utilisation de marqueurs biologiques pour une sélection génomique afin de renforcer la résistance à la rupture de la coquille

- ✓ Associer les transcrits avec les SNPs publiques et privés, les QTLs associés à la qualité de coquille

(Collaboration avec les sélectionneurs et les équipes de sélection génomique)

Des polymorphismes impactant des codons start ou stop

Des mutations délétères dont 2 stop

Des protéines candidates dans les zones QTL associées à la qualité de l'œuf

Utilisation pour un phénotypage précis des propriétés mécaniques de la coquille

- ✓ Variants moléculaire → Structure/fonction
- ✓ Etude de l'interaction des protéines avec le minéral

Synchrotron, XRD, XANES, FTIRM, HRSEM pour permettre de nouvelles avancées dans les mécanismes qui contrôlent la texture et par conséquent les propriétés mécaniques de la coquille
(Collaboration with synchrotron SOLEIL and University of Granada (Spain))

Sélection des haplotypes de poules pour une amélioration accrue de la solidité de la coquille
Etude de la régulation de ces gènes selon l'apport nutritionnel (Vit D ???)

Remerciements



Interprofession des Oeufs

Equipe défenses de l'oeuf, évolution

Nathalie Le Roy

Lilian Stapane,

Thierry Moreau

Marie-Louise Zani,

Maryse Mills,

Jacky Ezagal

Sophie Réhault–Godbert

Nicolas Guyot

Magalie Chessé

Jean-Claude Poirier

Nelly Bernardet



Yves NYS

Universidad de Granada

and Centro de Instrumentación Científica

Alejandro Rodriguez-Navarro



Impact
(2013-2017)

Plate-forme d'Analyse Intégrative des Biomolécules
(PAIB)

Valérie Labas

Lucie Combes-Soia

Ana-Paula Teixeira



Unité Pégase (INRA Rennes)

Pascale Le Roy

Christian Diot

Frédéric Hérault

University of Ottawa

M. T. Hincke