

Analyse des hémoglobines du zébu arabe (*Bos indicus*)

par R. QUEVAL, J. P. PETIT, M. C. HASCOET

RESUME

L'étude électrophorétique des hémoglobines de bovins africains a été entreprise dans le double but de déterminer les constantes raciales et de rechercher des facteurs biochimiques de la trypanotolérance. Dans ce cadre de recherche, les auteurs déterminent les hémoglobines de 173 zébus arabes (CHOA) sur acétate de cellulose Phoroslide.

Les fréquences observées sont pour les types AA de 35,26 p. 100, AB de 45,08 p. 100 et BB de 19,65 p. 100.

L'interprétation statistique des résultats permet de comparer les fréquences géniques de races voisines ou éloignées.

I. INTRODUCTION

Le polymorphisme de l'hémoglobine chez différentes espèces animales a été signalé depuis 1955 par de nombreux auteurs (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9).

Diverses propriétés de la molécule ont été utilisées pour le démontrer, notamment la solubilité dans les sels neutres, la résistance à la dénaturation alcaline (10, 11), la composition en acides aminés (10), enfin la mobilité électrophorétique (2). Actuellement la plupart des typages d'hémoglobines sont effectués par électrophorèse sur divers supports.

Chez les bovins, il existe deux types physiologiques d'hémoglobine : fœtale et adulte (4, 12, 11).

Au cours de la croissance du veau, l'hémoglobine fœtale (HbF) disparaît progressivement pour laisser la place dans les 70 à 90 premiers jours à l'hémoglobine adulte. Il existe deux types principaux d'hémoglobine adulte, l'hémoglobine A (HbA) et l'hémoglobine B (HbB), cette dernière peut être confondue jusqu'au 3^e mois avec HbF.

Les hémoglobines adultes existent seules ou associées dans les hématies et possèdent des

vitesses de migration électrophorétique différentes, qualifiées par CABANNES et SERAIN (2) de lente et de rapide. Ces vitesses de migration sont analogues à celles des globulines bêta et se situent entre $2 \text{ et } 3 \times 10^{-5} \times \text{cm}^3 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{Sec}^{-1}$. Ces premières observations ont depuis été confirmées par de nombreux travaux (13, 14, 15, 16), l'appellation primitive de lente et de rapide ayant fait place à celle de HbA et HbB.

Chez les homozygotes, on a observé la grande fréquence du type HbA. Chez les hétérozygotes les proportions relatives des deux types sont : 46 à 59 p. 100 pour HbA et 41 à 54 p. 100 pour HbB. Parmi les races bovines, HbA a été trouvé actuellement chez les races : Rouge Danoise, Holstein, Frisonne, Ayrshire, Normande et Montbéliarde. Les HbA et HbB s'observent chez les races de Jersey, de Guernesey, South Devon, chez la plupart des races françaises, la Brune Suisse, les races d'Afrique du Sud, la White Fulani du Nigéria, l'Ankolé et la Nganda de l'Ouganda. Pour les animaux originaires des Indes, on remarque la présence du phénotype Hb AB.

Les résultats rapportés par l'un d'entre nous (17) montrent que la fréquence du gène B est plus élevée chez les zébus que chez les taurins;

parmi les taurins, chez les N'Dama l'HbB est absente ou rare, sa présence a été détectée chez quelques rares animaux au phénotype caractéristique de la race dans le troupeau de Minankro. L'amélioration de cette race y a depuis longtemps été réalisée par croisement des bovins Jersey à hémoglobine B; des animaux qu'on peut croire de race pure mais qui ont les hémoglobines A et B pourraient avoir hérité cette hémoglobine B d'un ancêtre possédant du sang d'importation Jersey. On essaie de rapporter le phénomène de trypanotolérance présenté par les races N'Dama et Muturu à leur hémoglobine, de la même manière que la sicklémie a pour conséquence une malariotolérance. Parmi les zébus, HbB se rencontre avec une grande fréquence à l'exception de la race Gobra qui ne possède pas l'HbB (17), cette fréquence s'accroît de l'Afrique Orientale vers les Indes.

En Europe, on a remarqué une répartition assez précise d'HbB qui ne se rencontre qu'au Sud d'une ligne allant de Calais à la Mer Noire.

Selon PETIT (17), la fréquence des génotypes des hémoglobines AA, AB et BB sont respectivement de 95; 2,5 et 2,5 p. 100 chez les taurins et de 35,52; 46,9; et 17,8 p. 100 chez les zébus.

D'autres variants, de très faibles fréquences, ont été décelés : l'hémoglobine C (HbC) (18, 19), chez des bovins originaires soit d'Afrique, soit de l'Inde, l'hémoglobine D (HbD) (16), chez la race africaine Muturu; enfin l'hémoglobine Khillari (20) chez les bovins de l'Inde. Toutes ces recherches montrent une plus grande variété d'hémoglobines chez *Bos indicus* que chez *Bos taurus*. Dans l'Union Indienne et aux Etats-Unis le variant X (HbX) spécifique aux zébus adultes est associé à HbA et à HbB. HbX est un variant similaire à HbC rencontré chez le bétail Brahma et chez le croisement Brahma et Hereford.

Le génotype HbC n'a encore jamais été trouvé et on suppose qu'il est léthal.

Hb-Khillari et HbX sont des variants différents, leurs mobilités électrophorétiques les font migrer de part et d'autre de HbA.

Ces variétés d'hémoglobines reflètent des différences structurales au niveau des chaînes bêta et gamma, les chaînes alpha étant similaires (21).

Le principal intérêt de l'étude des hémoglobines réside dans l'analyse de la génétique des populations et dans la recherche de la phylogénie des races bovines.

Il a paru utile dans ce contexte d'analyser la nature et la fréquence des hémoglobines du zébu arabe (*Bos indicus*) originaire d'Asie, qui, adapté aux régions chaudes et sèches d'Afrique a été classé par JOSHI (S.R.) et Mc LAUGHLIN (E.A.) (22) dans un groupe (II) qui renferme les zébus à moyennes et courtes cornes de la zone sud-saharienne.

II. MATERIEL ET METHODES

a) *Animal*

Le zébu arabe ou zébu choa désigné également sous les appellations de bovin Wadara ou Shuwa est un animal médioligne, ellipsométrique et rectiligne. Le cornage est généralement court et la bosse moyennement développée chez le mâle et peu marquée chez la femelle. La robe est de couleur variable souvent pie rouge, roux ou brun foncé. Le dimorphisme sexuel est très accusé, c'est ainsi que les poids vifs moyens varient de 350 à 400 kg chez le taureau et de 250 à 300 kg chez la vache. Les tailles moyennes au garrot sont de 135 cm chez le mâle et de 125 cm chez la vache.

b) *Prélèvements*

Les prélèvements sanguins ont été effectués sur 173 animaux et récoltés sur anticoagulant ou sur papier filtre (17). Pour les premiers, les hémolysats ont été réalisés par la méthode de Drabkin (23), soit immédiatement, soit après conservation pendant 18 à 24 heures à + 7° C.

c) *Technique*

L'électrophorèse a été réalisée sur acétate de cellulose Phoroslide (*).

Le tampon de migration (I) est à base de véronal sodique de pH 8,6 et de force ionique 0,08.

Les bandes d'acétate de cellulose sont imbibées avant la migration dans un tampon TEB (II).

(*) Millipore-France.

Tampon I :

— Véronal acide	2,758 g
— Véronal sodique	15,400 g
— Eau distillée	1.000 ml

l'acide acétique à 5 p. 100 jusqu'à ce que le fond de la bande apparaisse blanc.

III. RESULTATS

Tampon II :

— Tris (tris hydroxyaminométh.)	16,1 g
— Disodium EDTA	1,56 g
— Acide borique	0,92 ml
— Eau distillée	1.000 ml

La nature des hémoglobines de zébu arabe figure dans le tableau 1, ainsi que la fréquence correspondante des génotypes avec leur intervalle de confiance à 5 p. 100.

Les séparations s'effectuent pendant 30 minutes sous 13,3 volts/cm ou 1 heure sous 16 volts/cm. Ces bandes non séchées sont ensuite colorées, 10 minutes dans une solution colorante au Ponceau S et rincées dans de

On constate la présence des 3 génotypes correspondant aux deux hémoglobines principales des bovins. Comme dans la plupart des races européennes et africaines, la fréquence des types AA et AB est plus grande que celle de l'homozygote BB.

TABLEAU N° I

Pourcentage des différentes hémoglobines déterminées chez 173 zébus Arabe.

Types Hb	Nombre d'animaux	Pourcentage	Intervalle de confiance à 5 p. 100
AA	61	35,26	23,3 - 47,2
AB	78	45,08	34,1 - 56,1
BB	34	19,65	6,3 - 33,0
Total	N = 173	99,99	

IV. DISCUSSION ET CONCLUSION

Parmi les races déjà analysées antérieurement par l'un de nous (17), seul le zébu Bororo présente à peu près la même répartition de ses hémoglobines (tableau n° 2), ce qui appuie l'hypothèse de l'origine commune indo-pakistanaise de ces deux races classées par JOSHI et collab. (22), dans le même groupe II. Par contre chez le zébu Malgache et surtout Brahman (tableau n° 2) il y a une répartition exactement inverse des hémoglobines du point de vue des

homozygotes et identique en ce qui concerne les hétérozygotes.

En poussant l'analyse à celle des fréquences des gènes A et B (tableau n° 2) les similitudes entre les zébus Arabe et Bororo apparaissent avec évidence, de même que l'inversion des fréquences pour les zébus Malgache et Brahman.

La connaissance d'autres propriétés biologiques permettra dans l'avenir d'élargir la discussion en précisant la connaissance que l'on a de cette race zébu Arabe.

TABLEAU N° II

Fréquences comparées des gènes correspondant à la présence de l'hémoglobine A et de l'hémoglobine B.

Races	Fréquence du gène		N	Auteurs
	A	B		
Zébu Arabe	0,578 ± 0,073	0,422 ± 0,073	173	Chiffres originaux
Zébu Bororo	0,617 ± 0,061	0,383 ± 0,061	242	Petit (J.P.) (17)
Zébu Brahman	0,440 ± 0,150	0,560 ± 0,150	42	Petit (J.P.) (17)
Zébu Malgache	0,378 ± 0,063	0,622 ± 0,063	226	Petit J.P.) (17)

SUMMARY

Analysis of haemoglobins of Arab zebu cattle

The electrophoretic study of African cattle 'shaemoglobins began with a double object: to determine the racial constants and to investigate the biochemical factors of the trypanotolerance. For this purpose, the authors determine the hemoglobins of 173 Arab zebu cattle on cellulose acetat phoroslide.

Frequencies observed for the following types: — AA: 35,26 p. 100 — AB: 45,08 p. 100 — BB: 19,65 p. 100. With statistic interpretation of the results it is possible to compare the genetic frequencies of closely related species or not.

RESUMEN

Análisis de las hemoglobinas del cebú árabe (*Bos indicus*)

Se hizo el estudio electroforetico de los bovinos africanos con el objeto de determinar constantes raciales y de buscar factores bioquímicos de la tripanotolerancia. A este propósito, los autores determinan sobre acetato de celulosa Phoroslide las hemoglobinas de 173 cebues árabes (CHOA).

Son de 35,26 p. 100 las frecuencias observadas para los tipos AA, de 45,08 p. 100 para AB, de 19,65 p. 100 para BB.

BIBLIOGRAPHIE

- HARRIS (H.) et WARREN (F.L.), « Occurrence of electrophoretically distinct haemoglobins in ruminants », *Bioch. J.*, 1955, **60**, 29.
- CABANNES (R.) et SERAIN (C.), « Hétérogénéité de l'hémoglobine des bovidés. Identification électrophorétique de deux hémoglobines bovines », *C.R. Séances. Soc. Biol.* 1955, **149**, 7.
- DRABKIN (D.I.), « Spectrophotometric studies. XIV. The crystallographic and optical properties of the hemoglobin of man in comparison with those of other species », *J. biol. Chem.*, 1946, **164**: 703-23.
- GRIMES (R.M.), DUNCAN (C.W.) et LASSITER (C.A.), « Bovine foetal haemoglobin. A. Postnatal persistence and relation to adult haemoglobin », *J. Dairy Sci.*, 1958, **41**, 1527.
- SALISBURY (G.W.) et SCHREFFLER (D.C.), « Haemoglobin variants in dairy cattle », *Dairy Sci.*, 1957, **40**: 1198.
- LEHMANN (M.), « The haemoglobins of 103 Indian gir cattle », *Man*, 1959, **59**: 66.
- HUISMAN (T.H.J.), VAN DER HELM (H.J.), VISSER (H.K.A.), VAN VLIET (G.), « Investigations on different haemoglobin types in some species of animals », Oxford, Paris, Blackwell sci. Publ., Masson et Cie, 1959, pp. 181-201.
- KHANOLKAR (V.R.), NAIK (S.N.), BAXI (A.J.) et BHATIA (H.M.), « Studies on haemoglobin variants and glucose 6 phosphate dehydrogenase in Indian sheep and goat », *Experientia*, 1963, **19**: 472.
- NAIK (S.N.) et SUKUMARAN (P.K.), « Haemoglobin polymorphism in Indian water buffaloes », X^e Congrès européen sur les groupes sanguins et le polymorphisme biochimique des animaux. Paris, 1966, 401.
- BRUMMERSTEDT-HANSEN (E.), HESSELHOLT (M.), LARSEN (B.), et Collab., « Recent Progress in Immunogenetic Research », The 8th Anim. Blood group Conf. in Europe, Ljubljana, Yugoslavia, 1962.
- NIKOLAJCZUK (M.), COQUELET (M.L.), EYQUEM (A.), TRAVERSE (P.M. de), « Etude des hémoglobines des bovidés à l'aide de l'électrophorèse sur papier, de la chromatographie et de la dénaturation alcaline », *Ann. Inst. Pasteur*, 1962, **103**, 421.
- VAN DER HELM (H.J.), VISSER (M.), VAN VLIET (G.), HUISMAN (T.H.J.), « Some investigations dealing with animal haemoglobins », *Clinica chim. Acta*, 1958, **3**, 114.
- BANGHAM (A.D.) et BLUMBERG (B.S.), « Distribution of electrophoretically different haemoglobins among some cattle breeds of Europe and Africa », *Nature*, 1958, **181**, 1551.
- LEHMANN (M.) et ROSS (J.G.), « Haemoglobin phenotypes in Nigerian cattle », *Man*, 1961, **61**, 81.
- MEYER (H.), WEGNER (W.), « Workommen und verteilung der hämoglobin typen in deutschen rinderrassen », *Dt. tierärztl. Wschr.*, 1964, **71**: 123-26.
- EFREMOV (G.) et BRAEND (M.), « A new haemoglobin in cattle », *Acta Vet. Scand.*, 1965, **6**, 109.
- PETIT (J.P.), « Détermination de la nature des hémoglobines chez 982 bovins africains et malgaches (taurins et zébus) par électrophorèse sur acétate de cellulose », *Rev. Elev. Med. vét. Pays trop.*, 1968, **21** (3): 405.
- VELLA (F.), « Haemoglobin types in ox and buffalo », *Nature*, 1958, **181**: 564.
- CROCKETT (J.R.), KOGER (M.), CHAPMAN (J.R.), « Genetic variations in haemoglobins of cattle », *J. Dairy Sci.*, 1963, **1**, 179.
- NAIK (S.N.), SUKUMARAN (P.K.) and SAN-

- GHVI (L.D.), « A note on blood groups and haemoglobin variants in zebu cattle », *Anim. Prod.* 1965, 7, 275.
21. EFREMOV (G.), « A modification system for fingerprinting haemoglobin », X^e Congr. europ. Groupes sang. Polymorph. biochim. Animaux. Paris 1966, 381-3.
22. JOSHI (N.R.), McLAUGHLIN et PHILLIPS (R.W.), « Les bovins d'Afrique. Types et races », Rome, F.A.O., 1957.