

### III.3.2. Recherche de gènes candidats chez le chien pour la couleur bleue des yeux

Les gènes responsables de la couleur des yeux chez l'homme sont assez bien connus. Ainsi, ces gènes connus chez l'homme ont été recherchés chez le chien pour voir s'ils pouvaient jouer un rôle dans la couleur des yeux chez le beagle.

Chez l'homme, la transmission génétique de la couleur des yeux est polygénique. Les gènes potentiellement responsables seraient *OCA2/HERC2*, *SLC2A4*, *TYR*, *TYRP1*, *SCLA5A2*, *IRF4*, *LYST* et *DSCR9* (ce dernier gène existant uniquement chez les primates). La région *OCA2/HERC2* serait le principal déterminant de la couleur des yeux. Ainsi, nous avons limité notre étude aux gènes *OCA2* et *HERC2* pour la recherche des gènes candidats canins.

Dans la base de données Ensembl (19) se trouve la séquence complète du génome du chien. Les gènes *OCA2* et *HERC2* y étaient présents et situés sur le chromosome 3 canin.

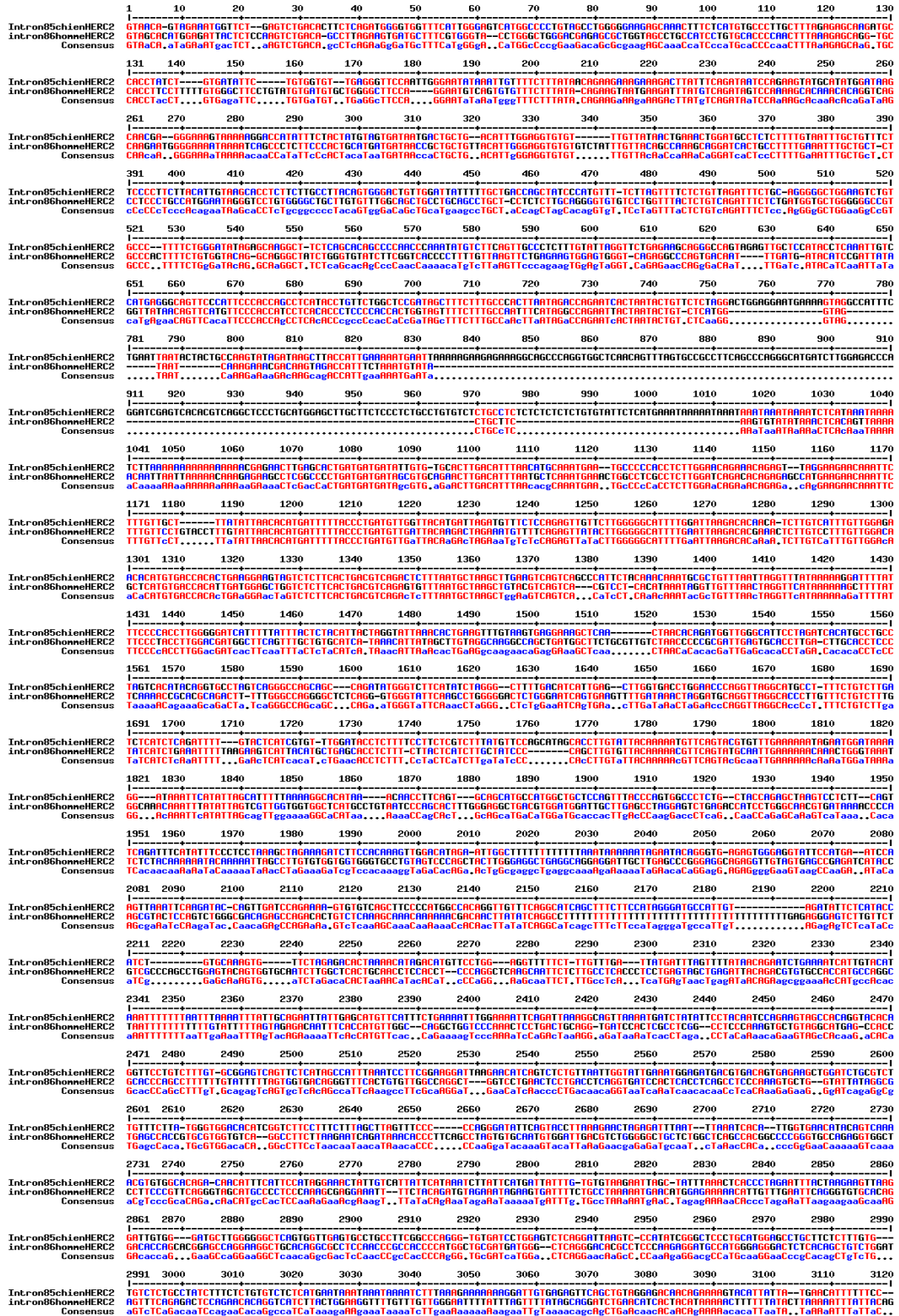
Le gène *OCA2* possède 22 exons chez le chien alors que chez l'homme il en possède 24 (19). En effet, les deux premiers exons du gène *OCA2* sont manquants dans la base de données Ensembl chez le chien (19).

Chez l'homme, trois SNP dans l'intron 1 ont été identifiés comme associés à la couleur des yeux. Ainsi, pour déterminer si la région de l'intron 1 de l'homme était conservée chez le chien, l'utilitaire BLAST (40) a permis de rechercher la séquence homologue de l'intron 1 d'*OCA2* humain dans le génome du chien. Aucun résultat n'a été trouvé ; nous pouvons penser qu'il y avait peu de conservation entre le chien et l'homme en ce qui concerne l'intron 1 d'*OCA2*, ou bien que cette région n'a pas été correctement séquencée chez le chien et qu'elle n'est donc pas présente dans la base de données.

Le gène *HERC2* a été décrit avec 94 exons chez le chien et 93 chez l'homme. La comparaison des séquences de *HERC2* humain et canin a permis de supposer que le chien avait un exon n°1 en plus par rapport à l'homme. Ainsi, il y avait un décalage entre les exons et introns de l'homme et du chien et donc l'exon 1 chez l'homme correspondait à l'exon 2 chez le chien. Chez l'homme, quatre SNP dans le gène *HERC2* ont été associés à la couleur des yeux : un SNP dans l'intron 86, un dans le 3'UTR, un dans l'intron 4 et un dans l'intron 12.

Le logiciel Multalin (13) a permis de confirmer que l'intron 86 chez l'homme correspondait à l'intron 85 chez le chien et a permis d'identifier une région conservée entre l'homme et le chien (*Figure 45*), en particulier au niveau de la position du SNP rs12913832 humain (*Figure 46*). Ainsi, cette région était candidate pour la couleur bleue des yeux chez le beagle.

Figure 45 : Alignement entre l'intron 86 de l'homme et l'intron 85 du chien du gène HERC2





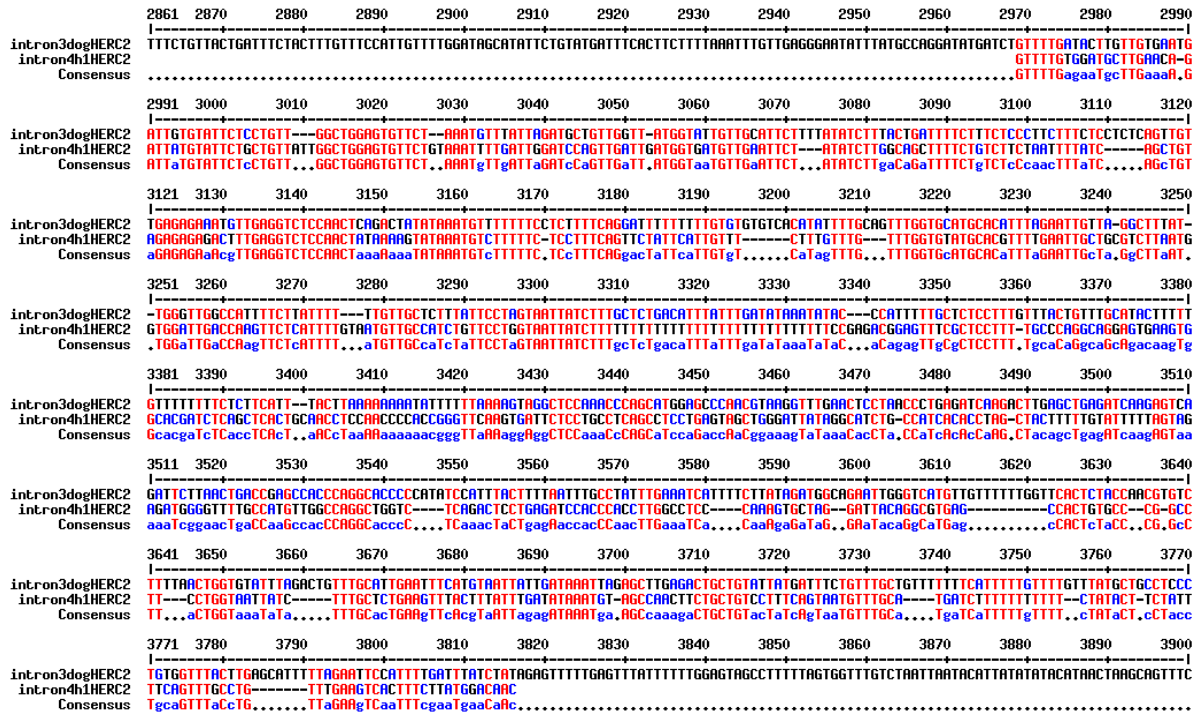
L'utilisation du logiciel BAST n'a pas pu permettre d'identifier la région homologue du 3'UTR de l'homme dans le génome du chien.

L'utilisation du logiciel Multalin (13) nous a également permis de mettre en évidence que l'intron 12 de l'homme était peu conservé par rapport à l'intron 11 du chien (*Figure 47*) et que l'intron 4 de l'homme était peu conservé par rapport à l'intron 3 correspondant du chien (*Figure 48*).



Les lettres rouges montrent les nucléotides conservés entre le chien et l'homme et les lettres bleues montrent les nucléotides différents entre le chien et l'homme. La première ligne correspond à la séquence du chien et la deuxième ligne correspond à la séquence de l'homme.

Figure 48 : Alignement entre l'intron 4 de l'homme et l'intron 3 du chien du gène HERC2



Les lettres rouges montrent les nucléotides conservés entre le chien et l'homme et les lettres bleues montrent les nucléotides différents entre le chien et l'homme. La première ligne correspond à la séquence du chien et la deuxième ligne correspond à la séquence de l'homme.

Ainsi, les régions contenant les 3 autres SNP humains associés à la couleur de yeux étaient peu candidates pour la couleur yeux bleus chez le beagle.

### III.3.3. Amplification de la région sélectionnée

La région sélectionnée chez le chien pour le gène candidat se trouvait dans l'intron 85 et correspondait à la région très conservée entre le chien et l'homme. Elle incluait le SNP rs12913832 chez l'homme (Figure 49).

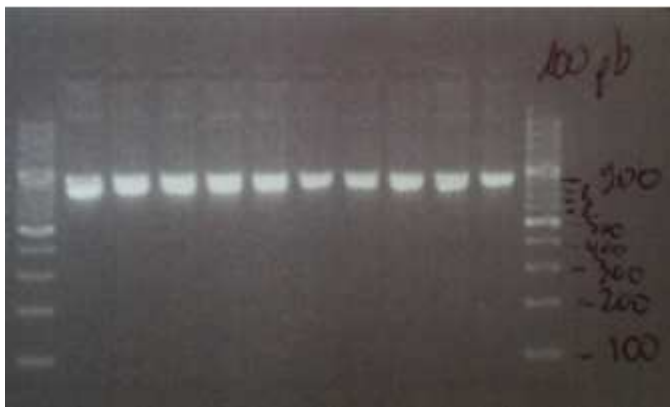
Figure 49 : Séquence du chien correspondant à la région très conservée entre l'homme et le chien dans l'intron 85 du chien.

ttgtccatgagggcagttcccaatccaccagcctcatacctgttctggctccgatagctttcttgcccacttaatagaccagaatcactaatact  
 gttctctaggactggaggaatgaaaagtaggccatttctgaattaatactactgccaaagtatagataagcttaccattgaaaaatgaattaa  
 gaagagaaaggcagcccaggtggctcaacagtttagtccgccttcagcccaggcatgatcttgagaccaggatcagtcacacgtc  
 aggtcctcctgcatggagcttcttctcctctgctctgtctctgcctctctctctctgtgtattctcatgaaataaaaaataataataaaa  
 atctcataataaaaatcttaaaaaaaaaaaaaaaaaacgagaacttgagcactgatgatgatattgtgtgcacttgacatttaacatgcaaatgaat  
 gccccactcttggacagaaacagagtaggaagaacaaatcttctgttcttatattaacacatgattttaccctgatgttggttacatgatt  
 agatgttctccagagttgttcttggggcattttggattaagacacaacatcttgcattgttgagaaacacatgtgaccactgaaggaagt  
 agtctcttactgacgtcagactcttaataagcttgaagtcagtcagcccattctacaacaaatgcgctgttaattaggtttataaaaagg  
 attttattccccacctgggggatcattttattactctacattactaggattaaacactgaagttgtaagtgaggaaagctcaactaacacaga  
 tggttggcattcctagatcacatgctgctagtcacatacaga

La séquence surlignée en jaune correspond à la région conservée entre le chien et l'homme. Les séquences surlignées en violet et vert correspondent aux amorces *Int85longF* et *Int85longR* utilisées pour la PCR et le séquençage.

À l'aide d'amorces, nous avons amplifié par PCR une portion de l'intron 85 de *HERC2* canin (912 pb). L'électrophorèse a montré une bande à environ 900 pb (Figure 50) ce qui correspondait au produit attendu et montré que la PCR avait bien amplifié la portion du génome voulu sans l'amplification parasite.

Figure 50 : Photographie du gel de vérification pour la PCR



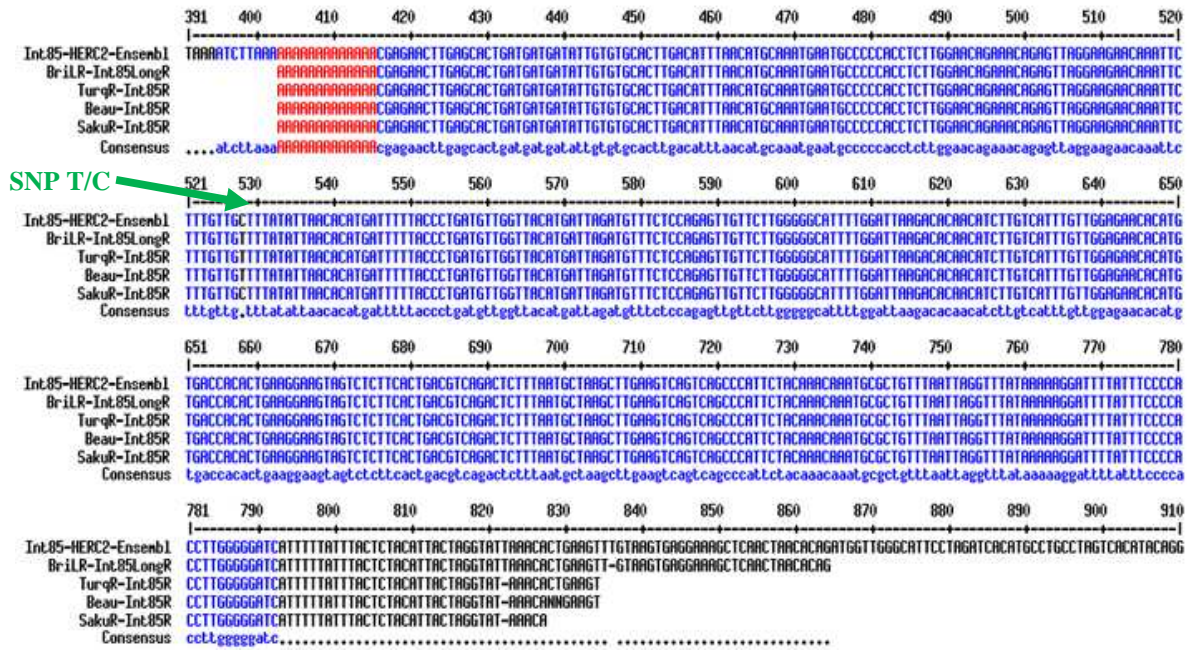
Une bande d'ADN est présente aux alentours de 900 pb. Le marqueur de taille à droite et à gauche produit des bandes tous les 100 pb à partir de 100 pb (bande du bas). Les puits de gauche à droite entre les marqueurs correspondent dans l'ordre aux chiens suivants : HOB2357, HOB2628, H9L2210, HOG3700, Loutre, Sakura, Brioche, chiot mâle de Turquoise-Dumbo, chiot femelle 1 de Turquoise-Dumbo, chiot femelle 1 de Brioche-Dumbo.

Les produits de PCR ont été envoyés au séquençage.

### III.3.4. Résultats du séquençage.

Pour comparer les séquences d'ADN entre les chiens aux yeux bleus et ceux aux yeux marron, des alignements de séquences ont été effectués à l'aide du logiciel Multalin. L'alignement de cinq séquences d'ADN (Turquoise, Saphir, Brioche, Sakura et la base de données Ensembl) de la région séquençée a montré qu'il y avait un SNP T/C en position 528. (Figure 51).

Figure 51 : Alignement de la région séquençée de l'ADN de Turquoise, Sakura, Saphir, Brioche et de la base de donnée Ensembl.




La première ligne correspond à la séquence présente dans la base de données Ensembl, la deuxième ligne correspond à la séquence de Brioche dans le sens reverse, la troisième ligne correspond à la séquence de Turquoise dans le sens reverse, la quatrième ligne correspond à la séquence de Beaugosse dans le sens reverse et la cinquième ligne correspond à la séquence de Sakura dans le sens reverse. La flèche verte montre le SNP T/C.

Les deux chiens aux yeux bleus avaient comme génotype T/C et un des chiens aux yeux marron avait aussi comme génotype T/C (Tableau 16).



Tableau 16 : Résultat du SNP trouvé en fonction de la couleur des yeux

Nom du chien	Couleur des yeux	Allèle
Turquoise	Vairon	T/C
Saphir	Bleus	T/C
Brioche	Marron	T/C
Sakura	Marron	C/C
Base de données Ensembl		C/C

 Chien ayant au moins un œil bleu.

Nous avons testé l'association éventuelle de ce SNP avec la couleur des yeux en génotypant tous les chiens disponibles.

### III.3.5. Résultats du génotypage

Le résultat du génotypage a montré qu'il n'y a pas d'association entre les allèles du SNP et la couleur des yeux chez les beagles analysés. En effet, les chiens aux yeux de couleur bleue pouvaient avoir comme génotype T/T, T/C ou C/C, de même que les chiens aux yeux de couleur marron. (Tableau 17)

Tableau 17 : Résultat du génotypage du SNP dans l'intron 85

Nom	Sexe	Mère/Père	Couleur des yeux	Génotype
Falcon	Mâle		Vairon	Echec
Turquoise	Femelle		Vairon	T/C
Beaugosse	Mâle		bleus	T/C
Balou	Mâle		Vairon	T/C
Dumbo	Mâle		Vairon	T/C
F 1 Turquoise	Femelle	Turquoise/Dumbo	Marron	C/C
F 2 Turquoise	Femelle	Turquoise/Dumbo	Marron	T/C
F 3 Turquoise	Femelle	Turquoise/Dumbo	Marron	T/C
M Turquoise	Femelle	Turquoise/Dumbo	Marron	T/T

Sakura	Femelle		Marron	C/C
M 1 Sakura	Mâle	Sakura/Beaugosse	Marron	T/C
M 2 Sakura	Mâle	Sakura/Beaugosse	Marron	C/C
M 3 Sakura	Mâle	Sakura/Beaugosse	Marron	T/C
M4 Sakura	Mâle	Sakura/Beaugosse	Marron	T/C
M 5 Sakura	Mâle	Sakura/Beaugosse	Marron	C/C
F 1 Sakura	Femelle	Sakura/Beaugosse	Marron	C/C
Loutre	Femelle		Marron	C/C
M 1 Loutre	Mâle	Loutre/Balou	Marron	C/C
M 2 Loutre	Mâle	Loutre/Balou	Marron	T/C
M 3 Loutre	Mâle	Loutre/Balou	Marron	T/C
M 4 Loutre	Mâle	Loutre/Balou	Marron	Echec
M 5 Loutre	Mâle	Loutre/Balou	Marron	T/C
M 6 Loutre	Mâle	Loutre/Balou	Marron	C/C
F 1 Loutre	Femelle	Loutre/Balou	Marron	T/C
F2 Loutre	Femelle	Loutre/Balou	Marron	Echec
Brioche	Femelle		Marron	T/C
F1 brioche	Femelle	Brioche/Dumbo	Marron	Echec
F2 brioche	Femelle	Brioche/Dumbo	Marron	C/C
F3 brioche	Femelle	Brioche/Dumbo	Marron	T/C
F4 brioche	Femelle	Brioche/Dumbo	Marron	T/T
F5 brioche	Femelle	Brioche/Dumbo	Marron	T/T
F6 brioche	Femelle	Brioche/Dumbo	Marron	T/T
M1 brioche	Femelle	Brioche/Dumbo	Marron	T/T
M2 brioche	Femelle	Brioche/Dumbo	Marron	Echec
M3 brioche	Femelle	Brioche/Dumbo	Marron	T/C

M4 brioche	Femelle	Brioche/Dumbo	Marron	T/C
M5 brioche	Femelle	Brioche/Dumbo	Marron	T/C
M1 sakura	Mâle	Sakura/Dumbo	Marron	T/C
M2 sakura	Mâle	Sakura/Dumbo	Marron	T/C
M3 sakura	Mâle	Sakura/Dumbo	Marron	T/C
F1 sakura	Femelle	Sakura/Dumbo	Marron	C/C
F2 sakura	Femelle	Sakura/Dumbo	Marron	Echec
Atchoum	Mâle		Bleu	T/T
Barbie	Femelle		Vairon	C/C
F1 TB	Femelle	Turquoise/Beaugosse	Marron	Echec
F2 TB	Femelle	Turquoise/Beaugosse	Marron	T/C
M1 TB	Mâle	Turquoise/Beaugosse	Marron	T/T
M2 TB	Mâle	Turquoise/Beaugosse	Vairon	T/C
M3 TB	Mâle	Turquoise/Beaugosse	Bleu	Echec
M4 TB	Mâle	Turquoise/Beaugosse	Vairon	T/C
F1 Zaza	Femelle	Zaza/Dumbo	Marron	C/C
F2 Zaza	Femelle	Zaza/Dumbo	Marron	Echec
F2 Zaza	Femelle	Zaza/Dumbo	Marron	T/C
M2 Zaza	Mâle	Zaza/Dumbo	Marron	T/C
M3 Zaza	Mâle	Zaza/Dumbo	Marron	T/C
H2E0725	Femelle		Vairon	Echec
H2F1072	Mâle		Vairon	Echec
H2F1068	Mâle		Vairon	C/C
Kimi	Femelle		Marron	T/C
Prunille	Femelle		Marron	C/C



*Chien ayant au moins un œil bleu.*

Nous avons calculé les fréquences des trois génotypes (*Tableau 18*).

*Tableau 18 : Effectifs et pourcentages des différents génotypes obtenus en fonction de la couleur des yeux chez les beagles*

	T/T	T/C	C/C
Chien aux yeux marron	6 (15%)	22 (57%)	11 (28%)
Chien avec au moins un œil bleu	1 (11%)	6 (67%)	2 (22%)

Nous avons testé statistiquement si ces trois distributions étaient différentes (*Tableau 19*).

*Tableau 19 : Effectifs attendus si la répartition des allèles était indépendante de la couleur des yeux*

	T/T	T/C	C/C
Chien aux yeux marron	5,59	22,75	10,56
Chien avec au moins un œil bleu	1,31	5,25	2,44

Les effectifs obtenus et les effectifs attendus étaient très proches. Un test du  $\chi^2$  a été réalisé même si deux des effectifs attendus étaient inférieur à 5. (2) Les effectifs des génotypes observés entre les chiens aux yeux marron et ceux ayant au moins un œil bleu n'étaient pas significativement différents ( $p > 0,05$ ). Il n'y avait donc pas d'association entre la couleur des yeux et le génotype pour le SNP de l'intron 85 de *HERC2* chez nos beagles.

## **IV. Discussion**

### **IV.1. Étude ophtalmologique**

Les chiens avec un iris de couleur bleue présentaient un fond d'œil dépigmenté et ne possédaient pas de zone du tapis. La zone sans tapis pigmentée claire pourrait correspondre à une pigmentation modérée de la choroïde et non de l'épithélium, mais pour le déterminer il serait nécessaire de réaliser une analyse histologique. Celle-ci n'a pu être réalisée car un chien aurait dû être sacrifié. Dans l'étude de Shibuya et collaborateurs (50) , une analyse histologique a été réalisée sur un beagle avec un iris de couleur bleue et un fond d'œil de type subalbinos (ressemblant au fond d'œil des chiens aux iris bleus de notre étude). Cette analyse a montré que l'épithélium pigmentaire de la rétine, de l'iris et du corps ciliaire avaient une pigmentation normale et que la choroïde, la partie antérieure de l'iris et le stroma du corps ciliaires avaient une concentration en mélanine diminuée. La choroïde, la partie antérieure de l'iris et le stroma du corps ciliaires dérivent du mésoderme et leurs mélanocytes proviennent de la crête neurale alors que l'épithélium pigmentaire de la rétine, de l'iris et du corps ciliaires dérivent de la neuroectoderme. Il est donc possible que le défaut de production de mélanine dans les mélanocytes oculaires se développe uniquement dans les tissus issus du mésoderme. (50) Ces résultats histologiques d'œil subalbinos ont été retrouvés dans un certain nombre de chiens aux yeux bleus toutes races confondues. (39) On peut donc faire l'hypothèse que les beagles subalbinos de notre étude avaient une pigmentation de l'œil similaire à ces chiens.

Burns et collaborateurs (9) ont étudié des beagles de laboratoire présentant un iris peu pigmenté. Chez ces chiens, le défaut de pigmentation se trouvait dans l'épithélium pigmentaire de la rétine, de l'iris et de la choroïde contrairement à ce qui avait été observé chez le beagle subalbinos. De plus, le stroma de l'iris et la choroïde présentaient des mélanosomes normaux mais en nombre diminué. Par ailleurs ces beagles avaient une dégénérescence du tapis à partir de 21 jours après la naissance. De plus, les autres structures de l'œil ne présentaient aucune anomalie ainsi que les examens oculaires. La vision et les ERG étaient normaux bien que la vision nocturne n'ait pas été étudiée. Les fonds d'œil de ces chiens étaient rouges légèrement bruns sans tapis, ressemblant fortement au fond d'œil de certains beagles de notre étude dont l'iris était de couleur bleue. Certains de ces beagles avec une dégénérescence du tapis présentaient un pelage avec des poils argentés ce qui n'a été pas retrouvé chez nos beagles subalbinos sauf pour H0G3700 qui a grisonné autour des yeux avec l'âge. De plus, la dégénérescence héréditaire du tapis chez le beagle a été décrite comme autosomique récessive. Or chez nos beagles la transmission semblait plus complexe (8) . On peut donc supposer que les beagles de notre étude ne présentaient pas le tableau clinique décrit par Burns et collaborateur (9) et que la dégénérescence héréditaire du tapis n'était donc pas associée à la couleur de leurs yeux.

La plupart des beagles ayant un iris bleu n'ont pas de tapis. Le tapis sert à réfléchir la lumière afin de stimuler plusieurs fois les photorécepteurs. Il permet donc d'avoir une meilleure vision lors d'intensité lumineuse faible. Il est donc possible d'envisager qu'un œil bleu sans tapis diminue la vision nocturne. Pour l'examen électrorétinographique (ERG), certains chiens (Barbie, Néo, Wiki, les chiots de Turquoise) ayant au moins un iris bleu n'ont pas eu d'ERG car ces derniers étaient partis à l'adoption très jeune. De plus, une étude comparative des résultats des ERG en fonction du sexe n'a pas pu être réalisée car notre étude comportait plus de mâles que de femelles. Les résultats des ERG ont montré qu'il n'y avait pas de différence significative entre l'œil avec un iris de couleur marron et l'œil avec un iris de couleur bleue ayant un fond d'œil subalbinos et sans tapis. Pour l'œil hétérochromique bleu qui avait un fond d'œil avec des plages dépigmentées et avec tapis, les valeurs (amplitude et temps de culminations des ondes a et b dans les différentes ambiances étudiées) étaient proches des moyennes du lot témoin. Cependant, dans l'étude, un seul chien présentait ce type d'yeux. Il n'y avait donc pas assez de valeurs d'ERG pour conclure. De même, les ERG avaient des résultats identiques pour un œil avec un iris marron et un fond d'œil d'aspect classique et un œil avec un iris bleu ayant un fond d'œil subalbinos et sans tapis.

Dans l'étude de Roselen et collaborateurs (45) , des chiens de race beagle (ainsi que d'autres races) présentaient une onde négative post-onde b. Chez les chiens ne présentant pas de tapis, cette onde négative post-onde b était absente. Les valeurs d'amplitude et du temps de culmination des ondes a et b étaient identiques, que le chien ait un tapis ou non. Dans notre étude, il n'y avait pas d'onde négative post-onde b observée, contrairement à l'étude de Roselen et collaborateurs (45) . Cette différence peut être dû à une technique d'enregistrement ou à l'utilisation d'appareils différents. De plus dans l'étude de Roselen et collaborateurs, à la différence des beagles subalbinos, l'absence de tapis était consécutive à sa dégénérescence précoce.

En conclusion, les beagles que nous avons étudiées et ayant un iris de couleur bleue avaient un fond d'œil de type subalbinos (dépigmenté sans tapis). La couleur des iris n'avait pas de conséquences sur les valeurs obtenues lors des ERG ainsi que sur la fonction visuelle dans les limites de son évaluation chez le chien. Seul les fonds d'œil différaient.

## **IV.2. Étude génétique**

Les chiens beagles de l'étude, présentant au moins un œil de couleur bleue, avaient un pelage coloré autour de l'œil à l'exception des deux beagles provenant de l'élevage américain. Ces derniers avaient une tête entièrement blanche. La présence d'un pelage coloré autour des yeux de couleur bleue nous a orienté vers un défaut de pigmentation d'origine oculaire n'ayant aucun rapport avec la couleur du pelage. En effet, chez certains animaux, la couleur des yeux est corrélée à la couleur du pelage. C'est par exemple le cas des chiens de pelage merle qui ont plus fréquemment des iris hétérochromiques ou de couleur bleue. Ce phénotype est plus marqué chez les chiens homozygotes merle. (26) Par ailleurs, la couleur bleue de l'iris est aussi corrélée au pelage blanc du chat ou du cheval. Pour les deux beagles ayant une tête entièrement blanche, la

présence d'un œil bleu peut être une coïncidence : les beagles américains ont peut être plus souvent la tête blanche que les beagles européens. L'étude d'un plus grand nombre de chien est nécessaire pour analyser le lien entre panachure et couleur des yeux chez les beagles américains.

Les croisements et l'arbre généalogique des chiens provenant de l'élevage de Harlan ont montré des liens de parenté entre les chiens ayant au moins un œil bleu. La transmission de la couleur des yeux chez le beagle semble donc génétique. Les 4 mâles 8001, 3515630, 3529410 et 2CE7 étaient fortement suspectés d'avoir une des mutations en cause de cette couleur de l'iris. On a remarqué que les parents des chiens ayant au moins un œil bleu avaient comme ascendant au moins un de ces 4 mâles, exceptés Saphir, H2E0725, H2F1068 et H2F1072 qui avaient au moins un parent qui ne descendait pas de ces 4 mâles. Ces quatre chiens avaient cependant le même père (H5I2456) qui n'avait pas de lien de parenté avec les 4 mâles suspects. Pour le chien Saphir, ses parents ne descendaient d'aucun des ces 4 mâles. Mais l'arbre généalogique de Saphir était incomplet, il ne remontait que jusqu'à ses grands parents dans la branche maternelle. On peut donc se demander si, dans cet élevage, il n'y avait pas plusieurs chiens porteurs des yeux bleus. Ainsi, les chiens 8001, 3515630, 3529410, 2CE7, H5I2456 pouvaient être fortement suspects de porter une des mutations responsables de la couleur bleue de l'iris.

L'analyse des pourcentages de chiots aux yeux bleus et marron et issus d'un croisement entre un chien aux yeux bleus et un chien aux yeux marron demande à être complétée. En effet, nous n'avons obtenu que deux portées de ce type. Par manque de temps et en raison du faible nombre de femelles ayant au moins un œil bleu et pouvant se reproduire, il n'a pas été possible d'avoir plus de portées. En revanche, le nombre de croisements entre un chien aux yeux marron et un chien ayant au moins un œil bleu était conséquent. De plus, le fait qu'aucun chiot ait eu au moins un œil bleu dans ces croisements permet d'imaginer que les deux parents doivent être porteurs d'un facteur génétique yeux bleus pour avoir des chiots aux yeux bleus. Cette hypothèse reste cependant en contradiction avec les résultats des accouplements effectués dans les élevages Harlan et américains où les chiots aux yeux bleus sont toujours nés de parents aux yeux marron, les animaux aux yeux bleus étant systématiquement retirés des programmes de reproduction.

L'analyse des croisements et de l'arbre généalogique a permis d'écartier certains types de transmission et les deux possibilités restantes étaient la transmission polygénique ou la transmission dominante à pénétrance fortement réduite. La transmission polygénique nous semble plus probable étant donné le faible nombre de chiens aux yeux bleus obtenu lors des croisements et du fait que chez l'homme la transmission de la couleur des yeux est un caractère polygénique.

Un test  $\chi^2$  pour la répartition des génotypes du SNP T/C entre les chiens aux yeux marron et ceux ayant au moins un œil bleu a été réalisé même si deux des effectifs attendus étaient inférieurs à 3. En effet, le test adéquat en cas d'effectifs théoriques  $<5$  reste le  $\chi^2$  mais avec une correction de Yates et s'il y a des effectifs théoriques  $<3$  il est nécessaire d'utiliser un test exact de Fisher qui est très difficile à effectuer en pratique. Le  $\chi^2$  reste malgré tout utilisable d'après Bouyer. (2)

Le test du  $\chi^2$  a montré que les génotypes pour le SNP n'étaient pas significativement différents en fonction de la couleur de l'iris. Ainsi le SNP trouvé dans l'intron 85 du gène *HERC2* n'était pas associé à la couleur de l'iris chez nos beagles. L'analyse des résultats du séquençage et du génotypage n'a pas permis de mettre en évidence un polymorphisme associée à la couleur des yeux dans l'intron 85 au niveau de la région conservée entre l'homme et le chien. Les résultats obtenus n'ont donc pas pu démontrer que la séquence de l'intron 85 chez le chien avait un impact sur la couleur des yeux. Les SNP situés dans les gènes *OAC2* et *HERC2* identifiés chez l'homme et associés à la couleur des yeux n'ont pas été retrouvés chez le beagle. Des mutations pourraient cependant se retrouver dans ces deux gènes mais comme ils sont très grands (le gène *HERC2* possède 94 exons et le gène *OAC2* a 22 exons), il serait coûteux de chercher une mutation dans ces gènes par séquençage. Nous aurions pu faire une recherche des régions génomiques associées à la couleur des yeux par la méthode du clonage positionnel mais par manque de temps et d'argent ceci n'a pas pu être fait. Nous aurions pu également rechercher des mutations dans d'autres gènes comme *SLC2A4*, *TYR*, *TYRP1*, *SCLA5A2*, *IRF4*, *LYST* mais ils sont peu déterminants dans la couleur des yeux chez l'homme.

Il serait donc possible que la détermination de la couleur des yeux chez le chien et chez l'homme soit très différente car chez le chien, il existe beaucoup de chiens aux yeux vairons alors que chez l'homme le caractère viron est plutôt rare. De plus, le fond d'œil d'un chien aux yeux bleus est subalbinos alors que chez l'homme ce n'est pas le cas.