

ANALYSE DE LA DIVERSITE GENETIQUE ET DES TRACES DE SELECTION DANS LES FILIERES AVICOLES CHAIR ET PONTE

Hérault Frédéric¹, Fodil-Chérif Adel¹, Philippe Romain¹, Brard-Fudulea Sophie², Diot Christian¹

¹UMR PEGASE - INRAE-Institut Agro - 35560 SAINT-GILLES,

²SYSAAF - UMR BOA - 37380 NOUZILLY

frederic.herault@inrae.fr

RÉSUMÉ

Dans les filières avicoles les objectifs de production de viandes ou d'œufs ont abouti à la sélection de lignées spécialisées hautement productives. L'identification de régions génomiques sous sélection dans ces deux types de lignées est un élément clé pour une meilleure compréhension des mécanismes biologiques ayant conduit à cette spécialisation. L'identification de telles régions, qui peuvent être caractérisées par la présence de segments homozygotes (ROH) sur le génome, pourrait aussi s'avérer utile pour le développement de lignées à double finalité plus efficaces et correspondant à la demande sociétale de développement d'une agriculture durable plus respectueuse de l'éthique et du bien-être animal. Cette étude met en évidence une forte disparité dans le nombre et la répartition des ROH entre les animaux des filières ponte et chair. Des ROH spécifiques de la filière ponte ont été identifiées. Elles correspondent à des régions impliquées dans la variabilité de caractères de production d'œufs, et comportent pour certains des gènes candidats fonctionnels. Cette étude doit maintenant être complétée par d'autres approches et élargie à d'autres lignées avant d'envisager leur prise en compte pour l'amélioration de lignées à double finalité.

ABSTRACT

Genetic diversity and selection signatures analyses in broiler and layer lines

In the poultry industry, meat or egg production objectives have resulted in the selection of highly productive specialized lines. The identification of genomic regions under selection in these two types of lines is a key element for a better understanding of the biological mechanisms leading to this specialization. The identification of such regions, which can be characterized by the presence of homozygous segments (ROH) on the genome, could also be useful for the development of more efficient dual-purpose lines and thus corresponding to societal demand for development of sustainable agriculture that is more respectful of ethics and animal welfare. This study highlights a strong disparity in the number and distribution of ROH between animals in the laying and meat lines. Specific ROHs of the laying lines have been identified. They correspond to regions involved in the variability of egg production traits, and for some include functional candidate genes. This study must now be supplemented by other approaches and extended to other lines before their consideration for the improvement of dual purposes lines.

INTRODUCTION

Comme pour tout système de production, l'optimisation économique des systèmes de productions animales repose sur une amélioration de l'efficacité et la rentabilité. Cette optimisation qui s'appuie notamment sur l'accroissement de la productivité et sur la standardisation des productions pour diminuer les coûts a conduit à la création de filières spécialisées. Dans la filière avicole, les objectifs de production de viandes ou d'œufs ont abouti à l'obtention de lignées hautement productives et spécialisées, axées sur la croissance musculaire d'une part (poulet de chair) et sur l'intensité du processus reproductif (poule pondeuse) d'autre part.

Cette productivité extrême n'a pas été sans conséquences sur le bien-être des animaux avec entre autres l'apparition de problèmes physiologiques majeurs, myopathies et trouble articulaire chez les poulets de chairs, fragilité osseuse liée à l'ostéoporose et épuisement chez les poules pondeuses. Parallèlement, cette hyperspécialisation s'est accompagnée d'une diminution des capacités reproductives dans les lignées chair et d'un faible développement musculaire dans les lignées ponte. Cette faible croissance musculaire des lignées de pontes est responsable de la non valorisation des mâles issus de ces lignées conduisant à l'élimination annuelle de plus de 7 milliards de poussins mâles à travers le monde dont plus de 50 millions en France (Krautwald-Junghanns et al., 2018).

Ces pratiques d'élevage font que les productions avicoles apparaissent aujourd'hui comme peu éthiques et peu respectueuses du bien-être animal et sont de plus en plus remises en question par une partie croissante de la société civile qui souhaite que le respect des animaux, de leur bien-être et de l'environnement soit pris en compte dans le cadre des productions animales. Cette mise en cause a conduit le législateur à interdire la mise à mort des poussins mâles des lignées de destinées à la production d'œufs au 1er janvier 2023 (Décret n° 2022-137 du 5 février 2022).

Pour répondre à ces obligations légales, diverses alternatives sont aujourd'hui proposées : a) le sexage dans l'œuf avant éclosion, permettant l'élimination des embryons mâles mais n'excluant pas totalement les questions éthiques, b) l'élevage des mâles pour la production de chair, alors qu'ils sont peu productifs et donc non rentables (Gremmen et al., 2018; Koenig et al., 2012; Mueller et al., 2018) et c) le développement de lignées à double finalité chair et ponte dans lesquelles les femelles assurent la production d'œufs et les mâles la production de viande et qui apparaissent comme plus éthiques et plus respectueuses du bien-être animal. Cependant, les performances de croissance ou l'efficacité alimentaire des lignées commerciales actuellement affichées « double finalité » sont encore inférieures à

celles des lignées commerciales de type « chair » (Baldinger and Bussemas, 2021a; Tiemann et al., 2020). De même, ces lignées pondent moins d'œufs, des œufs de plus petit calibre et consomment plus sur une période de ponte que les lignées commerciales de type « ponte » (Baldinger and Bussemas, 2021b; Gangnat et al., 2020). Le développement de lignées à double fin plus efficaces en production de viande et d'œufs est donc nécessaire pour faire de cette alternative une option durable (Gautron et al., 2021). L'identification de régions génomiques sous sélection dans les lignées commerciales de type chair et ponte est un élément clé pour une meilleure compréhension des mécanismes biologiques ayant conduit à cette spécialisation. L'identification de telles régions, qui peuvent être caractérisées par la présence de segments homozygotes (ROH) sur le génome, pourrait s'avérer utile pour le développement de lignées à double finalité, globalement plus efficaces et correspondant à la demande sociétale de développement d'une agriculture durable plus respectueuse de l'éthique et du bien-être animal

Les objectifs de cette étude sont : 1- Identifier des régions homozygotes spécifiques des type génétiques chair ou ponte, 2- Définir leur caractéristiques fonctionnelles, 3- Améliorer notre compréhension des mécanismes biologiques impliqués dans la réponse à la sélection.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Données génétiques

Cette étude repose sur la réutilisation de données de séquençage génomique provenant de 40 individus correspondant à deux lignées parentales commerciales de type chair et deux lignées parentales commerciales de type ponte générées dans le cadre d'une étude précédente (Qanbari et al., 2019) et disponibles dans l'entrepôt de données European Nucleotide Archive (numéro d'accès PRJEB30270). Les séquences des animaux de type chair correspondent à 20 individus, 10 issus d'une lignée commerciale américaine (Br-US) et 10 d'une lignée commerciale française (Br-Fr). Les données génétiques correspondant aux animaux de type ponte proviennent de 10 individus issus d'une population commerciale de White Leghorn (L-WL) productrice d'œuf blancs et de 10 individus issus d'une lignée commerciale Rhode Island Red produisant des œufs bruns (L-RIR).

1.2. Génotypage

Après vérification de la qualité des séquences brutes (FastQC_v0.11.7), l'alignement des séquences brutes sur la dernière version du génome de Gallus gallus (bGalGal1.mat.broiler.GRCg7b), l'identification des variants et la filtration des données de génotypages obtenues ont été effectués à l'aide des logiciels (bwa-0.7.17, samtools-1.16.1, gatk-4.1.7.0, SnpEff-4.3T).

La filtration des variants a été réalisée conformément aux recommandations du Broad Institute.

1.3. Identification et caractérisation de régions homozygotes.

La détection de régions homozygotes (ROH) a été réalisée pour chacun des 40 individus avec le logiciel PLINK (v1.90). Les paramètres de détections des ROH utilisés dans notre étude ont été décrits par Almeida et al. (2019).

Pour déterminer la présence d'un ROH, le logiciel utilise un algorithme qui se base sur l'utilisation d'une fenêtre glissante et repose sur trois étapes d'analyses. En premier lieu, le génome de chaque individu est analysé par fenêtre glissante. Cette fenêtre constituée d'au moins 50 SNPs homozygote doit par ailleurs contenir au plus 3 SNPs hétérozygotes et 5 SNPs non génotypés. Dans un second temps, les SNPs sont qualifiés comme appartenant à un segment ROH, s'ils ont été identifiés dans au moins 5 % des fenêtres d'analyses le contenant. Enfin, les segments ROH sont définis par un au moins 50 SNP homozygote, une densité d'au moins 1 SNP homozygote pour 50 kb et une taille minimum de 300 kb.

1.4. Analyse de la diversité génétique

Les informations de présence ou d'absence de SNP-ROH à un locus donné ont été utilisées pour calculer une matrice de distance entre individus deux à deux. Ces distances ont été utilisées pour effectuer une classification ascendante hiérarchique et obtenir une représentation graphique de la proximité génomique des individus.

1.5. Identification et caractérisation fonctionnelle des régions ROH spécifiques d'un type génétique.

Dans le cadre de notre étude nous avons défini comme région ROH spécifique d'un type génétique (chair / ponte) toute région homozygote retrouvée dans les génomes d'au moins 80 % des individus d'un type génétique donné et considérée comme hétérozygote dans l'autre type génétique. La taille et la position de ces régions correspondent à la partie commune de chacun des ROH considérés sur chaque génome.

L'identification des gènes présents dans ces régions d'intérêt a été effectuée à l'aide du package R biomaRt (v. 2.54.0) en interrogeant la base de données Ensembl sur la dernière version annotée du génome de la poule (bGalGal1.mat.broiler.GRCg7b).

Les annotations fonctionnelles de la classe Biological Process de la Gene Ontology ainsi que la base de données AnimalQTLdb (release 50) ont été utilisées pour caractériser fonctionnellement ces régions d'intérêt.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Analyse de la diversité génétique

Au total 15 424 085 SNPs ont été identifiés dans les génomes des 40 individus utilisés dans le cadre de cette étude. Plus de 89 % de ces SNPs ont été localisés dans au moins une région ROH (SNP-ROH) chez au moins un individu tous types génétiques confondus. L'analyse du génome des individus du type « chair » a permis d'identifier 10 188 253 SNPs-ROH, dont 5 567 047 dans la population américaine et 6 289 184 dans la population française. Chez les individus de type « ponte », un total de 12 667 046 SNPs-ROH a été mis en évidence dont 9 198 306 dans la population L-RIR et 10 959 026 dans la population L-WL. Ces SNPs-ROH définissent 2 491 régions ROH dans la population Br-US qui couvrent environ 15,1 % du génome, tandis que 3 161 régions ROH couvrant 18,6 % du génome dans la population Br-Fr ont pu être identifiées. Dans les populations de ponte, 5 122 et 6 313 régions ROH ont respectivement été identifiées dans les populations L-RIR et L-WL couvrant respectivement 28,6 % et 39,5 % du génome (figure 1). Conformément à ce qui avait déjà été montré dans diverses études (Boschiero et al., 2018; Kranis et al., 2013; Tixier-Boichard et al., 2020), ces résultats mettent en évidence une plus grande variabilité génétique dans le génome des animaux de type « chair » que dans le génome des animaux de type « ponte ». Ces résultats mettent également en évidence une plus grande diversité génétique dans la population L-RIR que dans la population L-WL.

La figure 2 illustre la proximité génétique des 40 individus les uns par rapport aux autres sur la base des informations de présence ou d'absence de SNP-ROH à un locus donné. Le dendrogramme présente 3 groupes d'individus distincts. Un premier groupe réunit l'ensemble des individus de la population L-WL. Le second groupe réunit 9 individus de la population L-RIR. Le 10ème individu L-RIR est contenu dans le troisième groupe qui réunit l'ensemble des individus de type génétique « chair ». Conformément à ce qu'avait montré Rubin et al. (2010), notre étude basée sur les régions ROH confirme une plus grande proximité génétique entre les individus L-RIR et les individus de type génétique « chair » qu'avec les individus de la population L-WL.

2.2 Identification et caractérisation de régions ROH spécifique d'un type génétique

Au total, nous avons pu identifier 9 régions ROH spécifiques des individus de type génétique « ponte ». Ces régions retrouvées dans le génome de 80 % des individus sont répartis sur les chromosomes 1, 2, 3, 4 et Z (tableau 1). A contrario, aucune région ROH spécifique du type génétique « chair » n'a pu être mise en évidence. Ces résultats sont cohérents avec la plus grande variabilité génétique observée dans le génome des populations de type « chair ».

Parmi les régions identifiées, cinq d'entre elles (1d, 2, 3b, 4b et Z) co-localisent avec des QTL liées à la qualité ou à la production d'œuf.

Parallèlement, parmi les gènes identifiés dans ces régions d'intérêts, le gène TTK protein kinase (TTK) localisé sur le chromosome 3 dans la région 3b est impliqué dans le processus de ségrégation des chromosomes lors de la méiose féminine (GO:0016321) ce qui en fait un bon candidat fonctionnel et pourrait renforcer le statut de cette région comme trace de sélection.

CONCLUSION

La pression de sélection induite par la sélection des animaux pour favoriser la production de viandes ou d'œufs induit sur le génome des animaux un appauvrissement de la variabilité génétique au travers de la fixation de formes géniques favorables au caractère d'intérêt et favorisant ainsi l'émergence de régions génomiques homozygotes dans le génome. Ces régions homozygotes du génome peuvent ainsi être considérées comme des traces des effets de la sélection sur le génome des animaux. Cependant, cet appauvrissement de la variabilité génétique peut également être favorisé par une dérive génétique au sein de la population sous sélection.

Dans le cadre de cette étude nous nous sommes appuyés sur des données de séquences génomiques de

40 individus représentant des populations sélectionnées pour la production de viande ou pour la production d'œuf et provenant de différentes lignées dans le but de caractériser les îlots de fixation spécifiques au caractère sélectionné et de les distinguer des régions homozygotes induites par la dérive génétique.

Cette étude préliminaire basée sur l'identification de régions ROH nous a permis d'identifier 9 régions dans le génome des populations de ponte, dont 1 région portant un gène candidat fonctionnel. Ces résultats très encourageants doivent désormais être confortés par un élargissement du jeu de données en utilisant des données génétiques plus nombreuses et provenant de noyaux de sélection variés et par des analyses de diversité génétique et de recherche de traces de sélection basées sur des approches prenant en compte le calcul du coefficient de fixation F_{ST} tel que FLK ou hapFLK ou encore des approches basées sur la transmission IBD des segments chromosomiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Almeida, O.A.C., Moreira, G.C.M., Rezende, F.M., Boschiero, C., de Oliveira Peixoto, J., Ibelli, A.M.G., Ledur, M.C., de Novais, F.J., Coutinho, L.L., 2019. BMC Genomics 20, 449.
- Baldinger, L., Bussemas, R., 2021a. Org. Agric. 11, 489–498.
- Baldinger, L., Bussemas, R., 2021b. Org. Agric. 11, 73–87.
- Boschiero, C., Moreira, G.C.M., Gheyas, A.A., Godoy, T.F., Gasparin, G., Mariani, P.D.S.C., Paduan, M., Cesar, A.S.M., Ledur, M.C., Coutinho, L.L., 2018. BMC Genomics 19, 83.
- Gangnat, I.D.M., S. Mueller, R.E. Messikommer, M. Kreuzer, 2020. Eur. Poult. Sci. EPS 84.
- Gautron, J., Réhault-Godbert, S., Van de Braak, T.G.H., Dunn, I.C., 2021. Anim. Int. J. Anim. Biosci. 15 Suppl 1, 100282.
- Gremmen, B., Bruijn, M.R.N., Blok, V., Stassen, E.N., 2018. J. Agric. Environ. Ethics 31, 93–107.
- Koenig, M., Hahn, G., Damme, K., Schmutz, M., 2012. Arch. Geflügelkunde 76, 197–202.
- Kranis, A., Gheyas, A.A., Boschiero, C., Turner, F., Yu, L., Smith, S., Talbot, R., Pirani, A., Brew, F., Kaiser, P., Hocking, P.M., Fife, M., Salmon, N., Fulton, J., Strom, T.M., Haberer, G., Weigend, S., Preisinger, R., Gholami, M., Qanbari, S., Simianer, H., Watson, K.A., Woolliams, J.A., Burt, D.W., 2013. BMC Genomics 14, 59.
- Krautwald-Junghanns, M.-E., Cramer, K., Fischer, B., Förster, A., Galli, R., Kremer, F., Mapesa, E.U., Meissner, S., Preisinger, R., Preusse, G., Schnabel, C., Steiner, G., Bartels, T., 2018. Poult. Sci. 97, 749–757.
- Mueller, S., Kreuzer, M., Siegrist, M., Mannale, K., Messikommer, R.E., Gangnat, I.D.M., 2018. Poult. Sci. 97, 3325–3336.
- Qanbari, S., Rubin, C.-J., Maqbool, K., Weigend, S., Weigend, A., Geibel, J., Kerje, S., Wurmser, C., Peterson, A.T., Jr, I.L.B., Preisinger, R., Fries, R., Simianer, H., Andersson, L., 2019. PLOS Genet. 15, e1007989.
- Rubin, C.-J., Zody, M.C., Eriksson, J., Meadows, J.R.S., Sherwood, E., Webster, M.T., Jiang, L., Ingman, M., Sharpe, T., Ka, S., Hallböök, F., Besnier, F., Carlborg, Ö., Bed'hom, B., Tixier-Boichard, M., Jensen, P., Siegel, P., Lindblad-Toh, K., Andersson, L., 2010. Nature 464, 587–591.
- Tiemann, I., Hillemacher, S., Wittmann, M., 2020. Animals 10, 1980.
- Tixier-Boichard, M., Lecerf, F., Hérault, F., Bardou, P., Klopp, C., 2020. INRAE Prod. Anim. 189–202.

Tableau 1. Identification de régions homozygote spécifiques du type génétique ponte.

Région ¹	Chr ²	Position		SNP ³	Gènes ⁴	Gènes annotés
		Début	Fin			
1a	1	31 922 417	32 399 666	4 726	13	<i>LRIG3, SLC16A7</i>
1b	1	41 158 474	41 202 840	513	1	-
1c	1	68 973 852	68 983 033	162	1	-
2	2	24 908 638	24 908 656	4	1	<i>ICA1</i>
3a	3	64 097 437	64 162 905	650	2	-
3b	3	78 818 705	79 096 277	5839	8	<i>BCKDHB, TTK, ELOVL4, SH3BGRL2</i>
4a	4	28 107 949	28 219 360	900	2	-
4b	4	54 435 183	54 502 726	1008	3	<i>SEC24D, METTL14</i>
Z	Z	9 338 225	9 557 728	2344	6	<i>UNC13B, ATP8B4, RUSC2</i>

¹ Région : Identifiant de la région.

² Chr : Nom du chromosome.

³ SNP : Nombre de SNP-ROH composant la région.

⁴ Gènes : Nombre de gènes localisés dans la région.

Figure 1. Couverture génomique des ROH

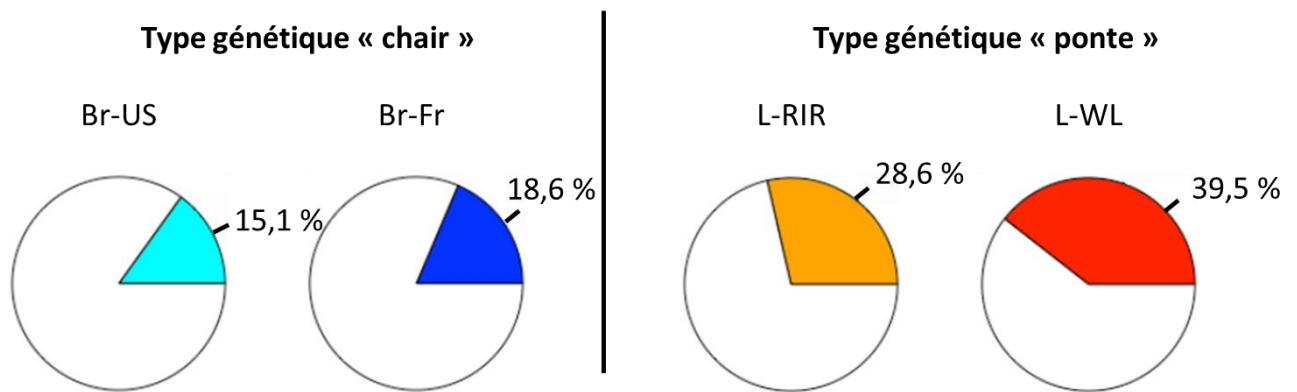


Figure 2. Clustering hiérarchique ascendant basé sur l'identification de SNP-ROH

