

CARACTERISATION GENETIQUE DES RACES LOCALES FRANÇAISES DE POULES : PROJET BIODIVA

Restoux Gwendal¹, Rognon Xavier¹, Vieaud Agathe¹, Guémené Daniel², Chiron Geoffrey³, Petitjean Florence⁴, Seigneurin François², Vasilescu Alexandre⁵ et Tixier-Boichard Michèle¹

¹ GABI, INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, Domaine de Vilvert, 78352 Jouy En Josas, France,

² SYSAAF, Unité de Recherches Avicoles, Centre INRA Val de Loire, 37380 Nouzilly, France

³ ITAVI, 23 rue Jean Baldassini, 69364 Lyon Cedex 07, France

⁴ Centre de Sélection de Béchanne, Hameau de Béchanne, 01370 Saint-Etienne-Du-Bois, France

⁵ LABOGENA - Bat 224, Domaine de Vilvert, 78353 Jouy en Josas, France

gwendal.restoux@agroparistech.fr

RÉSUMÉ

Les faibles effectifs observés chez les races traditionnelles, locales et/ou anciennes posent la question de leur conservation *in-* ou *ex-situ*. La caractérisation de leur diversité génétique est un des déterminants essentiels de leur maintien et les analyses moléculaires s'avèrent être l'outil idéal pour cela. 22 races locales de poules ont donc été génotypées à raison de 60 individus par population en moyenne avec une puce à ADN haute densité (57K). 4 lignées commerciales témoin ont également été intégrées, soit un total de 26 populations et 1516 individus. La diversité intra-race est bonne, avec un niveau de consanguinité correct mais variable entre races (F moyen compris entre 3 et 28%), le niveau de consanguinité d'une race étant logiquement lié avec ses effectifs. Il existe également une grande diversité entre races ($F_{st}=0.25$), qui se différencient bien les unes des autres. De plus, les relations observées entre races sont cohérentes avec leurs histoires. La structuration génétique s'explique ensuite principalement par la conduite des élevages. L'usage des races (pondeuses, de chair, commerciales) affecte aussi leur structure génétique. Finalement, ces analyses, combinées à la description morphologique des races, pourraient permettre de détecter des zones du génome d'intérêt pour la sélection. En conclusion, les races locales françaises de poules présentent une grande diversité génétique, avec des spécificités, permettant de les distinguer très clairement les unes des autres. De plus leur gestion semble bien menée par les éleveurs et centres de sélection avec le maintien d'une diversité intra et inter-population relativement importante.

ABSTRACT

Characterization of genetic diversity of French local poultry breeds: BioDivA project

The small population sizes of French local breeds raise the question of their *in-* or *ex-situ* conservation. For that goal the characterization of their genetic diversity with molecular tools appears as a preliminary key step. 22 local breeds along with 4 control widespread lines with an average of 60 individuals per breed were genotyped using a 57K DNA SNP chip leading to a total sample made of 26 breeds and 1516 individuals. Within breed genetic diversity was good but variable among them (mean F comprised between 3 and 28%), inbreeding coefficients being related to the population sizes. Among breed diversity was large ($F_{st}=0.25$) allowing for a clear genetic identification of breeds. Relationships among breeds figured out their history (origin, breeders) or usage (broilers, layers...). Finally combining these genetic analyses with morphological data could help detecting genomic region of interest in a selection perspective. To conclude, French local breeds appeared to be largely diversified genetically and morphologically making them a good example of a successful management by both breeders and selection centers. Nevertheless much attention should be paid for their long term conservation.

INTRODUCTION

Les races anciennes françaises constituent un patrimoine unique qui est malheureusement mis à mal devant la concurrence de lignées commerciales. Leur conservation passe donc par la reconnaissance d'un statut permettant la valorisation des produits. Une première étape serait donc la caractérisation du niveau de diversité actuel qui pourrait être suivi de la mise en place d'un programme de gestion idoine (aides via la PRM-A, mise en cryobanque...). C'est dans ce cadre que s'inscrit le projet BioDivA consistant en l'étude génétique d'une vingtaine de populations françaises.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Echantillonnage

Une liste de 22 races anciennes (Tableau 1) a été établie à la suite d'une enquête préliminaire conduite pour identifier les races bénéficiant d'un programme de gestion ou de relance et qui étaient susceptibles de candidater au dispositif 'Protection des Races Menacées'. L'objectif était d'étudier 60 animaux par race afin d'estimer précisément l'effectif génétique de chacune. L'échantillonnage des animaux a été réalisé sur la base des informations généalogiques lorsqu'elles étaient disponibles, de façon à représenter le plus grand nombre de familles différentes. Ce fut le cas des 18 races dont le troupeau pépinière est maintenu au Centre de Sélection de Béchanne. En l'absence d'informations généalogiques, deux situations se sont présentées : échantillonnage en fonction de la variété de couleur ou de la stabilité de la présence de la race dans l'élevage. Ainsi, la race Marans a été échantillonnée de façon à représenter 8 variétés de couleur, avec un effectif variant de 4 à 33 individus par variété issus de 7 éleveurs (Tableau 1). Pour les races Hergnies, Poule de Contres et Le Mans, l'échantillonnage a concerné les élevages ayant des animaux depuis plusieurs années et annonçant leur souhait de continuer, en tenant compte des échanges entre éleveurs pour éviter de prélever des animaux trop apparentés. Ainsi, les 60 animaux de la race HER proviennent de 6 éleveurs, les 42 animaux de la race CON proviennent de 3 éleveurs et les 30 animaux de la race MAN proviennent de 2 éleveurs (Tableau 1). Un Accord de Transfert de Matériel biologique (ATM) a été signé par l'UMR GABI avec chaque association de race, ou avec des éleveurs individuels. Une prise de sang individuelle a été réalisée au Centre de Sélection de Béchanne pour 18 races et chez les éleveurs pour les 4 autres races. L'ADN a été extrait par le Centre de Ressources Biologiques de la plateforme @BRIDGe de l'INRA de Jouy-en-Josas. Quatre populations commerciales ont été ajoutées à titre de témoin : une pondeuse à œufs bruns Hendrix Genetics, une lignée label de la SASSO et deux lignées pures de poulets de chair (Ross et Cobb). Les

échantillons des lignées Ross et Cobb provenaient de la collection d'ADN constituée en 1998 dans le cadre du projet européen AvianDiv, avec des animaux le moins apparentés possible.

1.2. Génomique

Le génotypage par la puce Illumina Infinium 60K spécifique du poulet a été réalisé par la plateforme de génotypage Labogena. Au total 1517 animaux ont été génotypés pour 57636 marqueurs SNP. Dans le cas de la pondeuse commerciale et de la lignée label, des données de génotypage déjà acquises avec la même puce sur des animaux non apparentés ont été fournies gracieusement au projet BiodivA par la société Hendrix Genetics, avec un accord spécifique de transfert de données, et par la société SASSO, dans le cadre d'un projet de génotypage de la génération parentale d'un dispositif de détection de QTL conduit en collaboration avec l'URA de l'INRA de Tours.

1.2. Analyses

Les données génétiques ont été analysées en utilisant le logiciel Plink 1.9 (Chang et al., 2015). Dans un premier temps des filtres ont été appliqués afin de nettoyer le jeu de données, ainsi tous les individus et tous les SNP présentant plus de 10% de données manquantes ont été éliminés (15 individus et 1486 SNP). Les marqueurs avec des fréquences de l'allèle minoritaire inférieures à 1% ont également été supprimés (2904 SNP). La race Grise du Vercors (61 individus) et un individu de la race Barbezieux ont été éliminés pour des problèmes d'identification. Au final le jeu de données se composait de 1440 individus et 53246 SNP avec taux de génotypage moyen de 99,4%.

Sur le jeu de données ainsi obtenu, les fréquences de l'allèle minoritaire (MAF), l'hétérozygotie observée (H_o), la proportion d'allèles fixés et le coefficient de consanguinité ont été estimés. Ce dernier a été estimé soit en utilisant les fréquences alléliques de la population totale (F_1) soit celles au sein des races (F_2) de manière similaires aux F-statistiques (Wright, 1965) avec les F_{it} et F_{is} respectivement plus sensibles à la structuration inter- ou intra-race. Les graphiques ont été réalisés sous R (R Core Team, 2016) avec le package « ggplot2 » (Wickham, 2009). Des arbres non-racinés obtenus par Neighbor-Joining (package APE, Paradis et al., 2005 ; Popescu et al., 2012) ont été calculés à partir d'une matrice d'identité par état (distance de Hamming) pour la population totale et la race Marans. La couleur du plumage ou les éleveurs y ont ensuite été ajoutés.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

La diversité génétique au sein des races est globalement bonne quelque soit la métrique considérée (figure 1), avec des MAF de 21,1% en moyenne (écart-type = 3,0%), des proportions d'allèles fixés de 16,5% ($EC = 9,4\%$) et une hétérozygotie

moyenne de 32,5% (EC = 2,3%). Le coefficient de consanguinité moyen par race est de 27,8% pour F1 (EC = 8,7%) et 3,0% pour F2 (EC = 6,0%). La diversité des races anciennes est comparable voir supérieure à celle des races «commerciales» pour Ho malgré leurs effectifs plus restreints ($t=-2.689$, $ddl=1438$, $p=7.2.10^{-3}$).

Cependant il existe des variations entre populations probablement imputables à des pratiques de gestion différentes (figure 1). Par exemple les races MAR et BGB22 présentent toutes deux des niveaux de consanguinité F1 élevés alors que seule la race MAR présente un fort niveau de F2. Dans le cas de la population BGB22 le noyau initial de sélection étant très réduit et unique, beaucoup de diversité a été perdue par dérive génétique ce qui est confirmé par la forte proportion d'allèles fixés. Cependant la diversité génétique restante est bien gérée par les accouplements permettant de conserver un niveau d'hétérozygotie, Ho, élevé. La diversité au sein de la race MAR est répartie entre plusieurs éleveurs (tableau 1 et figure 2) ce qui permet de la conserver malgré un Ho modéré (i.e. chaque éleveur pouvant fixer par hasard des allèles différents), ce qui est confirmé par des MAF plus élevés et moins d'allèles fixés sur l'ensemble du génome. L'estimateur de consanguinité F2 est particulièrement sensible à la structuration intra-race ce qui explique sa valeur élevée dans le cas d'une structuration de la population en sous-groupes (effet Wahlund). Ceci met en évidence l'efficacité d'une gestion de la diversité à différentes échelles (entre races, intra-races et inter-éleveurs) pour le maintien d'une diversité globale importante.

La diversité inter-race est élevée ce qui se manifeste par une différenciation génétique marquée (F_{st} moyen = 0,25) permettant de retrouver une structure génétique correcte à l'aide des marqueurs (Figure 2-A). Ceci permet de retracer en partie l'histoire des populations ainsi que leurs usages. Ainsi les lignées BGB11 et BGB22, qui dérivent l'une de l'autre, se regroupent dans un clade relativement homogène de même que les races GAT et BOU et les races CHA et CNF issues de régions proches (Centre et Massif Central). Cependant la structuration selon de grandes régions géographiques ne peut être retrouvée sur l'ensemble des races (non montré ici). L'usage des races et donc leurs aptitudes permettent également

d'observer des proximités génétiques. Par exemple, les lignées commerciales de poulet de chair, SASSO, COB et ROSS se rassemblent en un clade, de même pour les pondeuses à œufs bruns notamment les MAR et les HG qui se regroupent également.

Finalement la race MAR a permis de mettre en évidence la structuration selon la couleur au sein d'une même population (Figure 2-B). Les couleurs forment des groupes relativement homogènes au moins pour certains d'entre-eux. La variété MNC (Marans noire cuivrée) se retrouve à deux endroits distincts. Ceci s'explique par l'éleveur en charge de chacun des groupes, engendrant une structure génétique bien plus forte que le phénotype couleur (Figure 2-B 2-C). En effet, les 3 variétés de l'éleveur 3 sont isolées des autres variétés de Marans mais également bien dissociées entre elles. Ceci confirme que le maintien d'un phénotype peut s'effectuer à partir d'une base génétique différente et avec des modalités différentes, notamment selon le degré d'échange qui est pratiqué entre les éleveurs.

CONCLUSION

En conclusion cette étude aura permis de caractériser la diversité et l'originalité des races de poules anciennes. Ceci constitue une étape préliminaire essentielle à la mise en place de programmes de préservation. Cet état des lieux associé à la reconstruction de l'histoire de ces races peut permettre d'orienter le choix pour le dépôt de semences à la cryobanque nationale. La stratégie de conservation repose actuellement sur le maintien *in situ* d'une diversité génétique importante, ce qui passe par une gestion des accouplements raisonnée localement mais également à l'échelle du réseau d'éleveurs d'une même race. Ceci est d'autant plus vrai que ces races sont en effectifs limités ce qui les rend plus vulnérables à la dérive génétique. Les niveaux de diversité actuels sont très corrects montrant un effort et une efficacité de la gestion actuelle de la diversité génétique par les éleveurs. Finalement la forte discrimination observée entre les races pourrait permettre de détecter des zones d'intérêt dans les génomes mais aussi le développement d'outils moléculaires de contrôle de traçabilité.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Chang CC, Chow CC, Tellier LCAM, Vattikuti S, Purcell SM, Lee JJ (2015) Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *Gigascience*, 4:7.
- Paradis, E., Claude, J. and Strimmer, K. (2004) APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics*, 20, 289–290.
- Popescu, A.-A., Huber, K. T. and Paradis, E. (2012) ape 3.0: new tools for distance based phylogenetics and evolutionary analysis in R. *Bioinformatics*, 28, 1536-1537.
- R Core Team (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- H. Wickham. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag New York, 2009.
- Wright, S. (1965) The interpretation of population structure by F-statistics with special regards to systems of mating.

Tableau 1. Echantillonnage

RACES	Effectif génotypé	Détenteur des animaux
Alsacienne (ALS)	34	Association des Eleveurs de Race Poule d'Alsace, AERPA, représentée par Gilbert Schmitt
Barbezieux (BAR)	60	Association pour la sauvegarde de la Poule de Barbezieux, ASPOULBA, représentée par Gilbert Marchand
Bourbonnaise (BOU)	58	Comité interprofessionnel du poulet Bourbonnais, CIPB, représenté par François Périchon
Bresse Gauloise Blanche (BGB11)	60	Centre de sélection de Béchanne, représenté par Albert Thiévon
Bresse Gauloise Blanche à crête pâle (BGB22)	60	Centre de sélection de Béchanne, représenté par Albert Thiévon
Charollaise (CHA)	56	Centre de sélection de Béchanne, représenté par Albert Thiévon
Contres (CON)	42	Eleveurs Jacques Berger, Eric Nadan, Philippe Vasseau
Coucou de Rennes (CDR)	57	Association des producteurs de Coucou de Rennes, représentée par Paul Renault
Cou-Nu du Forez (CNF)	59	Centre de sélection de Béchanne, représenté par Albert Thiévon
Gasconne (GAS)	60	Association la Poule Gasconne, représentée par Jean-Paul SERRES
Gâtinaise (GAT)	58	Le Parc Naturel Régional du Gâtinais français, représenté par Jean-Jacques Boussaingault
Gauloise Grise (GG)	60	Centre de sélection de Béchanne, représenté par Albert Thiévon
Gauloise Noire (GN)	58	Centre de sélection de Béchanne, représenté par Albert Thiévon
Géline de Touraine (GDT)	60	Syndicat Interprofessionnel de la Géline de Touraine, puis Centre de Sélection de Béchanne
Gournay (GOU)	58	Club pour la sauvegarde des Races Avicoles Normandes, CRAN, représenté par Bruno Lomenède
Grise du Vercors (GDV)	61	Association Ouantia Grise du Vercors, représentée par Evelyne Tezier
Hergnies (HER)	60	Eleveurs Reinhold Adolphi, Damien David, Roland Delvigne, Franck De Sousa, Bernard Dupas, Jean-Luc Malpaux
Houdan (HOU)	58	Centre de sélection de Béchanne, représenté par Albert Thiévon
Le Mans (MAN)	30	Eleveurs Gwénaél L'huissier, Raymond Tertrin
Marans (MAR)	118	Eleveurs Jacques Beneteau, Laurent Galliot, Couvoir du Pin S.A, représenté par Alain Gauguier, Eric Mandon, Daniel Mulon, Georges Riga, Dominique Tourneur
Merlerault (MER)	38	Centre de sélection de Béchanne, représenté par Albert Thiévon
Noire du Berry (NDB)	62	Le Club Français de la Poule Noire du Berry, représenté par Francis Lasne
Pondeuses Œufs bruns (HG)	58	Société Hendrix Genetics
Lignée Label (SASSO)	96	Société SASSO
Lignée Cobb (COBB)	46	Collection AvianDiv, échantillons fournis par la société Cobb
Lignée Ross (ROSS)	50	Collection AvianDiv, échantillons fournis par la société Ross

Figure 1. Mesures de diversité au sein des races (Coefficients de consanguinité moyen, F1 et F2 ; Proportion d'allèles fixés au sein de chaque race ; Hétérozygotie moyenne observée, Ho ; Fréquence moyenne de l'allèle minoritaire, MAF)

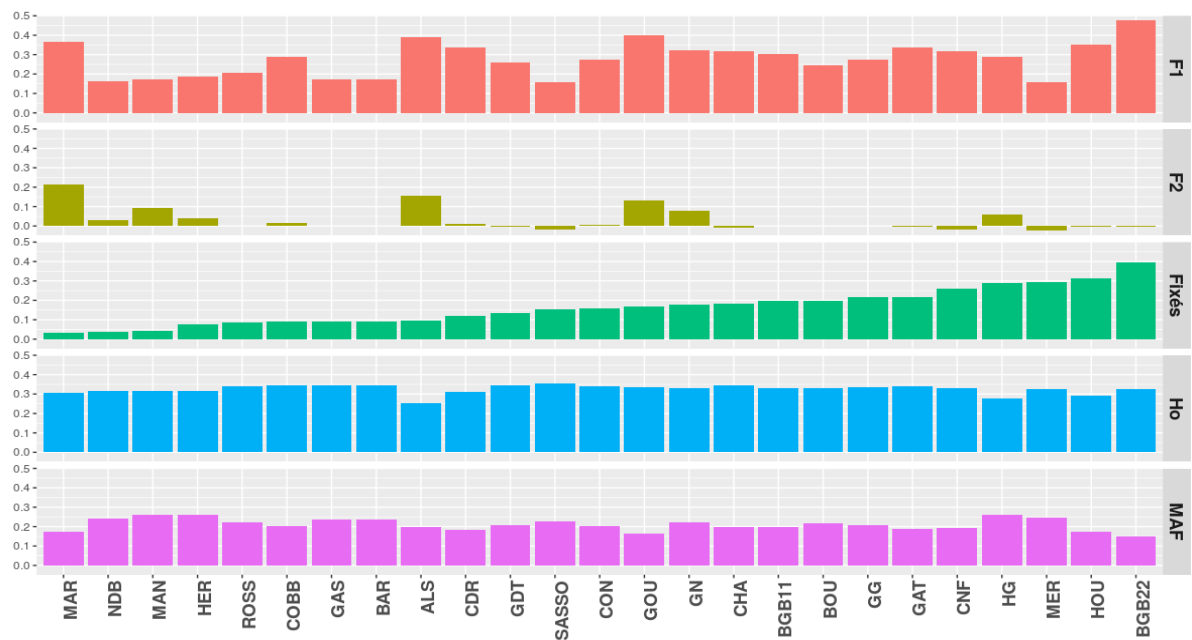


Figure 2. Structure génétique de l'ensemble des races (A) et des variétés de couleurs et des éleveurs chez la Marans (B et C respectivement).

