

CARTOGRAPHIE FINE DE QTL DE QUALITE DE LA CARCASSE ET DE LA VIANDE DANS UNE LIGNEE DE POULETS A CROISSANCE LENTE

**Allais Sophie¹²³, Hennequet-Antier Christelle⁴, Berri Cécile⁴, Chabault-Dhuit Marie⁴,
Salles Laurent⁵, d'Abaddie François⁵, Demeure Olivier¹², Le Bihan-Duval Elisabeth⁴**

¹*Agrocampus Ouest - UMR 1348 PEGASE - 35042 RENNES,*

²*INRA - UMR 1348 PEGASE - 35590 SAINT-GILLES,*

³*Université Européenne de Bretagne,*

⁴*INRA - UR83 Recherches Avicoles - 37380 NOUZILLY,*

⁵*SASSO - 40630 SABRES.*

sophie.allais@agrocampus-ouest.fr

RÉSUMÉ

Alors que les consommateurs font souvent le choix du Label Rouge pour l'achat d'un poulet entier (56% des parts de ce marché en 2011), ce type de production est encore peu valorisé sous forme de découpe (11% en 2011) ou de produits élaborés. Après avoir montré un fort déterminisme génétique des caractères de découpe et de qualité des viandes en souche label, cette étude visait à contribuer au développement d'outils moléculaires utilisables en sélection grâce à une détection de QTL dans une souche grand-parentale à croissance lente. 764 animaux et leurs parents (10 pères et 87 mères) ont été génotypés avec la puce Illumina 57K. Les descendants ont été phénotypés grâce à des mesures de poids (à 3,5, 6,5, 9 et 12 semaines), rendement en filet, pourcentage de gras abdominal, pourcentage de cuisse, pH à 15 min et à 24h post-mortem, couleur (L*, a*, b*), perte en eau par exsudation, ainsi que pourcentage de lipides intramusculaires du filet, et comportement des animaux à l'abattage. Du fait d'une mauvaise qualité d'ADN ou d'une incompatibilité avec les génotypes parentaux, 25 échantillons d'ADN ont été retirés de l'étude. Les tests de qualité et d'informativité des marqueurs ont permis de valider un total de 40203 SNP autosomaux pour les analyses. Deux types de méthodologies ont été utilisées : des analyses d'associations (de type FASTA et Bayes CPI) et des analyses combinant liaison intra-famille et déséquilibre de liaison populationnel. Au total, 570 QTL ont été identifiés par l'ensemble des méthodes. Parmi ces QTL, certains présentent des effets forts comme le QTL de poids sur le chromosome 24 dont le niveau de signification est maximal à 6 semaines mais diminue à 12 semaines, ou les QTL de rendement en filet sur les chromosomes 17 et 18. Plusieurs régions pléiotropes ont été suggérées. C'est le cas sur les chromosomes 4, 7, 13, 19 ou 20 où co-localisent des QTL de comportement à l'abattage et de pH à 15 min post-mortem, en cohérence avec la forte liaison génétique observée entre ces deux caractères.

ABSTRACT

Fine mapping of QTL for carcass and meat quality traits in a chicken slow-growing line.

While consumers often prefer Label Rouge when they purchase whole chickens (56% of this market in 2011), this type of production is still poorly valorized as cuts (11% in 2011) or elaborated products. After showing a strong genetic determinism of body composition and meat quality traits in a slow-growing Label Rouge line, this study intended to contribute to the development of molecular tools for selection through QTL detection. For this purpose, 764 chickens and their parents (10 sires and 87 dams) were genotyped with the chicken 57K Illumina SNP array. The offspring were phenotyped for a large number of traits: body weight at 3,5, 6,5, 9 et 12 weeks, breast yield, abdominal fat and leg percentages, breast pH at 15 min and ultimate pH at 24 h post-slaughter, color estimated by the lightness (L*), redness (a*) and yellowness (b*), drip loss, intramuscular fat percentage, and behavior at slaughter. Due to a poor DNA quality or incompatibility with the parental genotypes, 25 DNA samples were removed from the study. Quality tests and informativeness of the markers allowed to validate a total of 40,203 autosomal SNPs for analysis. Two types of methodologies were used: analyzes of association (such as FASTA and Bayes CPI) and analyses combining intra-family linkage and population linkage disequilibrium. A total of 570 QTLs were identified when combining the different methods. Among these QTL, some exhibit strong effects such as the body weight QTL on chromosome 24 whose significance level is maximum at 6 weeks but decreases at 12 weeks, and two QTL affecting breast yield on chromosomes 17 and 18. Several pleiotropic regions were suggested. This is the case on chromosomes 4, 7, 13, 19 or 20 where QTL for behavior at slaughter and pH at 15 min post-mortem, two highly genetically related traits, are co-localizing.

INTRODUCTION

En poulet de chair, les modes de production s'appuient sur des choix génétiques variés allant de souches fortement sélectionnées sur la croissance et le développement musculaire adaptées aux élevages standards, aux souches à croissance lente adaptées aux élevages alternatifs et de qualité supérieure comme le Label Rouge (LR). Du fait de leurs caractéristiques comportementales et de robustesse, les génotypes à croissance lente sont particulièrement bien adaptés aux conditions d'un élevage en plein air (Castellini et al., 2008). Leur vitesse de croissance réduite leur permet aussi d'être abattus à un âge plus tardif (avec un minimum réglementaire de 81 jours dans le cas du LR) conférant au produit une qualité sensorielle supérieure par rapport au standard (Rémignon et Culioli, 1995). Si les génotypes alternatifs sont pleinement valorisés sur le marché des carcasses entières (constitué à 56% de poulet LR en 2011), leur plus faible rendement en viande et leur sensibilité à certains défauts technologiques comme les viandes acides (Berri et al., 2010) affaiblissent leur positionnement sur les marchés en expansion de la découpe ou des produits élaborés (11% de poulet LR en 2011). De précédents travaux au sein d'une souche sélectionnée pour la production LR ont révélé une forte variabilité génétique des caractères de croissance corporelle et de qualité de la viande dont l'héritabilité varie entre 0,18 et 0,53 (Chabault et al., 2012). L'objectif de la présente étude était d'identifier les régions chromosomiques (ou QTL) contrôlant cette variabilité en tirant profit des outils de génotypage à haut-débit. Les enjeux sont d'une part de mieux comprendre le déterminisme génétique des qualités de la carcasse et de la viande et à terme de rechercher des polymorphismes utiles à leur sélection en souche label.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif animal

Les poulets étaient issus d'une lignée mâle à croissance lente, cou nu et au plumage jaune, sélectionnée par la SASSO. L'étude a porté sur un total de 764 animaux, mâles et femelles, de pedigree connu issus de 10 pères et 87 mères. Les animaux ont été élevés en trois lots successifs dans des conditions d'élevage respectant le cahier des charges Label Rouge. Les animaux ont été pesés individuellement à 3,5, 6,5 et 9 semaines d'âge. A 12 semaines d'âge, les poulets ont été pesés et abattus à l'abattoir du Pôle Expérimental Avicole de Tours (PEAT), après 7 heures de jeûne. Ils ont été étourdis par électronarcose avant la saignée. La durée des battements d'ailes sur la chaîne d'abattage a été mesurée individuellement comme décrit par Debut et al. (2005).

1.2. Mesures de composition corporelle et qualité des viandes.

Le pH à 15 minutes post-mortem (pH15) a été mesuré dans le *Pectoralis major* droit du poulet comme décrit par Berri et al. (2005). Environ 60 g du même muscle ont été prélevés en sortie de chaîne d'abattage puis congelés à -20°C pour mesure ultérieure de la quantité de gras intramusculaire. Comme décrit par Chartrin et al. (2010), après une décongélation de 12 h à 4°C , les échantillons ont été broyés avant détermination de la teneur en gras grâce à une mesure en spectroscopie proche infrarouge à l'aide de l'appareil Nirflex N-500 (Buchi, Rungis, France). La découpe a été réalisée 24 heures après la mort des animaux. Différents tissus ont été prélevés et pesés : le gras abdominal, les muscles *Pectoralis major* et *minor* gauches et les cuisses-pilons afin de calculer les rendements par rapport au poids vif de l'animal à l'abattage. Le pH ultime (pHu) à 24 heures post-mortem a été mesuré dans le *Pectoralis major* par insertion directe de l'électrode dans le muscle. La couleur de ce muscle a été mesurée grâce à un colorimètre (Hunterlab, Reston, VA, USA) afin d'obtenir des valeurs de luminance (L^*), d'indice de rouge (a^*) et d'indice de jaune (b^*). Puis les filets ont été ensachés et stockés à 4°C . Cinq jours après, les filets ont été sortis des sachets, essuyés et pesés afin d'évaluer l'exsudat.

1.3. Génotypage et détection de QTL.

Les animaux phénotypés ainsi que leurs parents ont été génotypés à LABOGENA (Jouy-en-Josas, France) avec la puce poulet Illumina 57K. Les tests qualité sur les échantillons ont abouti à l'élimination de 25 individus présentant soit une mauvaise qualité d'ADN (call rate $< 95\%$ soit moins de 95% des SNP génotypés), de l'ADN chimérique ou une incompatibilité avec leurs parents. Seuls les marqueurs localisés sur les autosomes, avec un call rate $> 95\%$ (c'est à dire pour lesquels plus de 95% des individus ont un génotypage), en équilibre de Hardy-Weinberg ($p > 0,0001$), et présentant une informativité suffisante (Minor Allele Frequency $> 5\%$) ont été retenus pour les analyses. Cela représentait un total de 40203 SNP soit 70% des marqueurs initialement génotypés par la puce.

La densité en marqueurs et la structure de population, en familles de pères de grande taille avec de nombreux haplotypes apportés par les mères, ont permis d'appliquer deux méthodologies de détection des QTL : des analyses de type LDLA exploitant le déséquilibre de liaison intra famille et dans la population générale, et des analyses d'association exploitant le seul déséquilibre de liaison populationnel. Dans le cas des analyses LDLA, les détections ont été menées à l'aide d'une méthode de régression linéaire développée par Legarra et Fernando (2009) ou de la méthode des composantes

de variance basée sur l'estimation des probabilités IBD (Identity by Descent) développée par Meuwissen et al. (2002). Dans le cas des analyses d'association, les méthodologies étaient basées sur l'utilisation d'un modèle mixte contenant un effet polygénique et l'effet fixé d'un seul marqueur (méthode FASTA, Chen et Abecasis, 2007) ou de plusieurs marqueurs (méthode BayesCPI, Habier et al., 2001). A l'issue des analyses, une sélection des QTL a été réalisée en ne conservant que les plus significatifs au sein d'une fenêtre de 4Mb (correspondant à 2 fois le déséquilibre de liaison moyen dans la population).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les statistiques descriptives des variables analysées sont résumées dans le Tableau 1. Au total pour les quatre méthodes ont été sélectionnés un total de 570 QTLs dont 201 pour la croissance, 137 pour la composition corporelle, 205 pour la qualité de la viande et 27 pour le comportement à l'abattage.

Alors que la corrélation génétique entre deux mesures successives de poids vif est généralement supérieure à 0,80, celle entre le poids à 3,5 semaines et à l'abattage n'est plus que de 0,50 (Chabault et al., 2012). L'analyse génomique du dispositif montre en effet que certaines régions QTL affectent plus spécifiquement certaines phases de la croissance. C'est le cas en particulier sur le chromosome 24 qui porte un QTL dont le niveau de signification est extrêmement haut à 6 semaines puis diminue à 12 semaines. Il semble donc possible grâce à la sélection sur ce type de région de moduler la courbe de croissance avec, dans ce cas, une différence de poids vif entre homozygotes de l'ordre de 0,8 écart-type à 6 semaines mais de seulement 0,4 écart-type à 12 semaines. Une analyse détaillée des nombreuses régions identifiées pour le poids dans ce dispositif (soit 36 QTL pour le poids à 3 semaines, 40 QTL à 6 semaines, 60 à 9 semaines et 65 à 12 semaines) permettra de disséquer leur effet sur la croissance en termes d'amplitude et d'évolution avec le temps.

Cette étude souligne l'existence de nombreuses autres régions d'intérêt pour la composition corporelle des animaux. Parmi les 50 QTL identifiés pour le rendement en filet, deux QTL apparaissent très hautement significatifs (Figure 1). A noter que les pères choisis pour constituer le dispositif l'ont été sur la base de leur valeur génétique pour ce caractère et de façon à représenter la variabilité dans la lignée. Ceci a certainement renforcé la puissance du dispositif pour identifier des régions d'intérêt pour ce caractère. Confirmés par les quatre méthodes testées, ces deux QTL localisés sur les chromosomes 17 et 18 contribuent significativement à la variabilité du rendement en filet, avec une différence entre homozygotes de l'ordre de 0,7 et 1,0 écart-type phénotypique, respectivement. La région QTL du chromosome 17 abrite également des QTL pour

l'indice rouge (a^*) de la viande ainsi que le pourcentage de gras abdominal. L'effet pléiotrope (contrôlant plusieurs caractères à la fois) de cette région reste bien-sûr à confirmer, mais elle pourrait contribuer à la relation génétique bien établie entre rendement en filet et pourcentage de gras abdominal (présentant une corrélation génétique de -0,42 dans ce dispositif). La relation putative entre rendement et coloration rouge du filet reste par contre à élucider. Même si les niveaux de signification n'atteignent pas ceux observés pour le rendement en filet, 63 QTL de pourcentage de gras abdominal ont été identifiés. Certaines régions sont confirmées par au moins trois des méthodes testées comme celles localisées sur les chromosomes 1, 3 ou 6 pour lesquelles la différence entre individus homozygotes est proche de 0,50 écart-type phénotypique.

Très peu de QTL des composantes technologiques et sensorielles de la viande ont été identifiés chez le poulet, même si leur forte variabilité génétique a déjà été soulignée y compris dans ce dispositif (Chabault et al., 2012). Les QTL identifiés concernent l'ensemble des composantes de qualité considérées avec un total de 40 QTL pour le gras intramusculaire, 33 pour le pH ultime, 35 pour le pH à 15 min (pH15), 36 pour la luminosité (L^*), 21 pour la coloration jaune (b^*), 22 pour la coloration rouge (a^*), et 18 pour l'exsudat. D'assez nombreuses régions pléiotropes ont été identifiées. Ainsi, sur le chromosome 1 co-localisent des QTL pour les mesures de pH15, L^* et b^* . De plus, des QTL proches sont identifiés sur le chromosome 9 pour pHu, b^* , L^* et exsudat, sur le chromosome 15 pour pHu, L^* et exsudat, ou encore sur le chromosome 20 pour pHu, b^* et exsudat. Ces différentes régions pourraient donc contribuer aux liens génétiques forts mis en évidence dans ce dispositif (comme dans d'autres) entre cinétique de chute de pH, coloration et exsudation.

Après avoir démontré qu'il s'agissait d'un caractère héritable (Chabault et al., 2012), l'analyse génétique de ce dispositif label a permis d'identifier les premiers QTL contrôlant le comportement à l'abattage. Plusieurs co-localisent avec des QTL de pH15, comme sur les chromosomes 4, 7, 13, 19 ou 20. Ces résultats sont cohérents avec la forte relation génétique (-0,71) observée entre les deux caractères (Chabault et al., 2012) montrant, chez les animaux les plus actifs sur la chaîne d'abattage, une accélération de la glycolyse post-mortem.

CONCLUSION

L'analyse génomique à l'aide de marqueurs SNP de haute densité a permis d'identifier de nombreuses régions QTL sous-jacentes à la forte variabilité génétique des caractères de croissance, composition corporelle et qualité de la viande mise en évidence dans cette population label. L'utilisation de différentes méthodes d'analyse a confirmé l'existence

de QTL hautement significatifs et de régions pléiotropes affectant les différents caractères d'intérêt. Ces résultats ouvrent la voie à la recherche, dans ces

régions d'intérêt, de gènes candidats et de polymorphismes exploitables en sélection.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

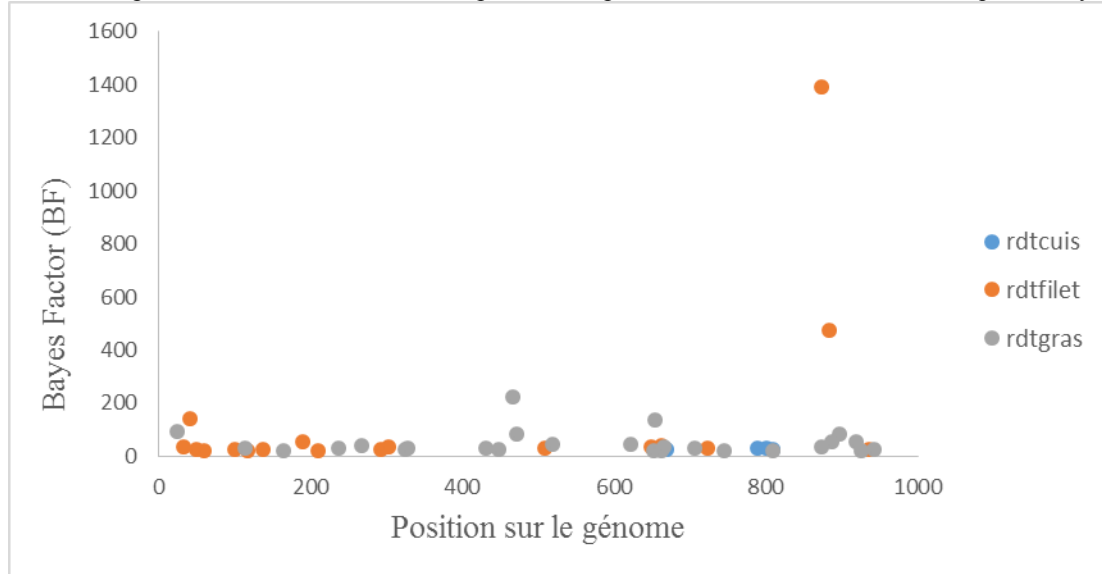
1. Berri, C., Debut, M., Sante-Lhoutellier, V., Arnould, C., Boutten, B., Sellier, N., Baeza, E., Jehl, N., Jegou, Y., Duclos, M.J. And Le Bihan-Duval, E., 2005. British Poultry Science, (46), 572-579.
2. Chartrin P., Rousseau X., Gigaud V., Bastianelli D., Baéza E., 2010. In Proceedings of the 13th WPSA European Poultry Conference: 23–27 August 2010. Tours, France, 4p.
3. Berri C., Le Bihan-Duval E., Gigaud V., Baéza E., Duclos M.J., 2010. Proceedings of the 13th WPSA European Poultry Conference, Tours.
4. Chabault M., Baéza E., Gigaud V., Chartrin P., Chapuis H., Boulay M., Arnould C., D'Abbadie F., Berri C., Le Bihan-Duval E., 2012. BMC Genetics, (13), 90.
5. Chen, W.-M. and G. R. Abecasis, 2007. The American Journal of Human Genetics, (81), 913–926.
6. Habier D., Fernando R.L., Kizilkaya K., Garrick D.J., 2011. BMC Bioinformatics, (12), 186.
7. Legarra A., Fernando R.L., 2009. Genet. Sel. Evol.,(41), 43-59.
8. Meuwissen T.H.E., Karlsen A., Lien S., Olsaker I., Goddard M.E., 2002. Genetics, (161), 373-379.
9. Rémignon H., Culioli J., 1995. Symposium on the Quality of Poultry meat. Zaragoza, pp. 145-150.
10. Castellini C., Berri C., Le Bihan-Duval E., Martino G., 2008. World's Poultry Science Journal, (64), 500-512.

Tableau 1. Statistiques descriptives des caractères analysés.

Caractères	Moyenne $\pm$ écart-type	Minimum	Maximum
Poids 3,5 semaines (g)	415,5 $\pm$ 60,3	234	603
Poids 6,5 semaines (g)	1126,0 $\pm$ 143,7	749	1523
Poids 9 semaines (g)	1820,3 $\pm$ 243,1	1287	2478
Poids 12 semaines (g)	2690,5 $\pm$ 439,8	1750	3852
Rendement filet (%)	16,5 $\pm$ 1,3	12,1	21,7
Pourcentage gras (%)	4,1 $\pm$ 1,6	0,6	8,6
Pourcentage cuisse (%)	25,7 $\pm$ 1,3	22,3	30,8
pH 15 min	6,62 $\pm$ 0,2	5,98	7,03
pH ultime	5,80 $\pm$ 0,11	5,42	6,17
Luminosité L*	47,6 $\pm$ 3,0	37,0	55,7
Indice rouge a*	-1,4 $\pm$ 1,0	-4,5	2,3
Indice jaune b*	8,5 $\pm$ 1,5	4,7	14,7
Exsudat (%)	1,6 $\pm$ 0,6	0,2	3,9
Gras intramusculaire (%)	1,1 $\pm$ 0,2	0,6	2,1
Durée battement aile (s)	5,0 $\pm$ 6,8	0	36

* d'après Chabault et al., 2012.

Figure 1. Exemple de détection de QTL de composition corporelle avec la méthode multi-marqueurs BayesCPi.



Après sélection des pics les plus significatifs, un total de 48 QTL de composition corporelle a été identifié à partir de la méthode bayésienne du BayesCPi. Ceux dont le Bayes Factor (BF) est supérieur à 150 sont considérés comme très forts. Deux QTL extrêmement significatifs sont identifiés pour le rendement en filet (rdfilet) sur les chromosomes 17 (BF=1391) et 18 (476). Ces deux QTL sont retrouvés par les trois autres méthodes testées.