

CREATION D'UN PANEL D'ASSIGNATION DE PARENTE POUR DEUX LIGNEES COMMERCIALES DE CANARD BARBARIE

Marie-Agnès Bergeot¹, Magali Blanchet², Typhanie Ruer², Sophie Brard-Fudulea¹

¹SYSAAF, INRAE, Centre Val-de-Loire, 37380 NOUZILLY,

² Grimaud Frères, Groupe Grimaud, La Corbière, 49450 ROUSSAY

marie-agnes.bergeot@inrae.fr

RÉSUMÉ

En sélection, la connaissance du pedigree est nécessaire pour réaliser les évaluations génétiques et pour gérer la consanguinité lors des accouplements. L'un des verrous à lever pour une sélection sans cage du canard est de disposer d'un outil d'assignation de parenté pour reconstituer le pedigree après une reproduction au sol. Des ressources génomiques sont d'ores et déjà disponibles pour créer un panel d'assignation de parenté pour le canard de Barbarie : il s'agit de 192 marqueurs SNP issus d'une puce 600K SNP, précédemment utilisés pour la création d'un outil d'assignation destiné à des lignées expérimentales INRAE. L'objectif de cette étude est de s'assurer du bon fonctionnement des 192 marqueurs sur deux lignées commerciales de canard de Barbarie, et de sélectionner les 96 SNP les plus pertinents pour ces lignées afin de réaliser des assignations de parenté à un coût modéré. Quatre-vingt-quatorze échantillons comprenant à la fois des parents et des descendants ont été prélevés dans les deux lignées. Ces animaux ont été génotypés sur les 192 marqueurs. Les données ont été filtrées pour éliminer les individus et les SNP de mauvaise qualité, puis les marqueurs présentant des incompatibilités mendéliennes ont été supprimés. Enfin les marqueurs ont été classés en fonction de leur niveau de polymorphisme. Les 96 meilleurs SNP ont ensuite été testés en réalisant une assignation de parenté pour chacune des lignées sur les échantillons disponibles. À l'issue des filtres sur les données manquantes, 179 SNP et 78 individus ont été conservés. Cent-cinquante marqueurs ne présentaient aucune incompatibilité mendélienne. L'élimination des marqueurs les moins polymorphes dans les deux lignées a permis d'obtenir la liste de 96 SNP. Les assignations de parenté réalisées avec ce panel ont permis d'assigner correctement tous les individus dont les deux parents étaient présents dans les données (7 individus dans une lignée, 14 individus dans l'autre lignée). Comme attendu, les individus pour lesquels au moins un parent était absent n'ont pas été assignés, confortant l'informativité des 96 marqueurs retenus. Les 96 SNP du panel ont permis de reconstituer sans erreur les pedigrees. Une utilisation de plus grande envergure du panel est prévue afin d'étudier la contribution dans la descendance de reproducteurs placés en groupes de différentes tailles et de différents sex-ratio.

ABSTRACT

Development of a parentage assignment panel for two commercial lines of Muscovy duck.

In selection, the knowledge of the pedigree is necessary to perform genetic evaluations and to manage inbreeding during mating. One of the difficulty to overcome for cage-free duck breeding programs is to get an assignment tool to rebuild a pedigree after mating. Genomics resources are available for the design of a parentage assignment panel for Muscovy duck: 192 SNPs markers preselected from a 600K SNPs chip, previously used with success for the development of an assignment tool intended for INRAE experimental duck lines. The aim of this study was to select the 96 most relevant SNP for two muscovy lines in order to realize parentage assignment at a moderate cost. Ninety-four individuals including both parents and offspring were sampled in the two lines and genotyped on the 192 markers. Genotyping data was filtered to remove individual and SNP of poor quality, then markers with mendelian incompatible were deleted. At last, the markers were ranked according to their polymorphism. The 96 best SNPs were then tested by performing a parentage assignment for each line on the available samples. At the end of filters on missing data, 179 SNPs and 78 individuals were retained. One hundred and fifty markers showed no mendelian incompatibility. Elimination of markers with the lowest polymorphism levels in the two lines enabled to obtain a list of 96 SNPs. The parentage assignments performed with this panel gave correct results for all individuals whose two parents were present in the dataset (7 individuals in one line, 14 individuals in the other line). As anticipated, the individuals for which at least one parent was absent were unassigned, confirming the informativeness of the 96 markers selected. It was possible with this 96 SNPs panel to reconstruct the pedigrees without error. A large-scale utilisation of the panel is planned to study the contribution in the offspring of breeders placed in groups of different size and different sex-ratio.

INTRODUCTION

Le pedigree en sélection animale a une importance cruciale. Sa connaissance permet de réaliser des évaluations génétiques précises et d'optimiser le progrès génétique et la gestion de la variabilité à court et moyen terme. Suite notamment à l'initiative citoyenne européenne « End of the cage age » (ECI(2018) 000004), un bannissement total de l'utilisation de la cage en élevage de sélection est une perspective à laquelle les sélectionneurs se préparent. Pour pouvoir envisager la reproduction sans cage des canards de Barbarie, un défi important se présente, il s'agit de reconstituer le pedigree des canetons après une reproduction au sol. Cette connaissance de l'information du pedigree est un enjeu majeur pour l'amélioration génétique des reproducteurs, car elle est indispensable pour estimer les paramètres génétiques ainsi que les index et permet de prendre en compte la consanguinité dans l'élaboration des plans d'accouplement. La gestion de la consanguinité est d'autant plus importante lors de la reproduction au sol où les plans d'accouplement sont moins maîtrisés qu'en cage individuelle. Il est donc nécessaire de disposer d'outils d'assignation de parenté fiable et d'un coût supportable pour obtenir les pedigrees recherchés.

Les sélectionneurs de canards manquent actuellement d'outils d'assignation de parenté performants adaptés à leurs lignées. Cependant, des projets antérieurs ont permis de développer les ressources génomiques nécessaires pour mettre au point un panel d'assignation de parenté. Une puce 600K SNP (Thébault et al. 2019) est disponible, mais, en l'état, elle est surdimensionnée pour des assignations de parenté qui ne nécessitent au maximum que de quelques centaines de SNP. Il a par ailleurs été montré *in-silico* à partir de cette puce que l'assignation de parenté devrait pouvoir fonctionner avec 96 SNP (simulations non-publiées). Ces résultats ont été confirmés dans le programme AsParCan (Brard-Fudulea et al. 2022) qui a permis de développer un panel pour l'assignation de parenté de lignées de canard d'INRAE : 96 marqueurs de type SNP, avaient été choisis parmi 192 marqueurs de la puce 600K SNP. Ces mêmes 192 marqueurs pourraient donc être une base utilisable pour sélectionner les 96 SNP les plus efficaces en termes d'assignation de parenté à un coût modéré pour les lignées barbarie en sélection.

L'objectif de cette étude est donc de choisir 96 marqueurs parmi les 192 SNP pré-sélectionnés, de façon à avoir une liste unique de SNP d'assignation pour les deux lignées Barbarie du sélectionneur. L'avantage d'un panel unique serait de pouvoir génotyper ces deux lignées sur le même panel d'assignation, ce qui limite le risque d'avoir des plaques de génotypages incomplètes et optimise ainsi les coûts.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Génotypage

Quatre-vingt-quatorze échantillons ont été collectés sur deux souches de Barbarie, la souche père à mulard (T) et la souche chair (R). La plaque d'échantillons comprenait à la fois des parents et des descendants. Les accouplements ont eu lieu en cage individuelles, permettant de connaître le pedigree des descendants. Dans cette étude, plusieurs femelles ont pu être accouplées à un même mâle. La plaque était composée de 7 pères pour chacune des deux souches, 14 et 13 mères pour les souches R et T respectivement, ainsi que de 26 et 27 descendants pour les souches R et T respectivement.

Le génotypage a été réalisé à la plateforme INRAE Clermont Gentyane. Tous les individus ont été analysés sur les 192 SNP pré-identifiés pour l'assignation de parenté chez le canard (Brard-Fudulea et al. 2022). Les données de génotypage brutes ont été analysées à l'aide du logiciel Fluidigm® SNP Genotyping Analysis.

1.2. Mise au point du panel d'assignation.

Les marqueurs ont été filtrés sur leur qualité à l'aide du logiciel Plink (Chang et al., 2015). Plusieurs filtres ont été utilisés sur :

- le taux de données manquantes par individu et par SNP. Ce filtre a permis d'éliminer les génotypages de mauvaise qualité.
- les marqueurs présentant des incompatibilités mendéliennes. Le nombre d'erreurs mendélienne pour chaque parent-descendant a été calculé. Si le nombre d'incompatibilités était important, le pedigree de l'individu était considéré comme douteux. Les marqueurs présentant des incompatibilités mendéliennes ont été écartés.
- la fréquence de l'allèle mineur (MAF). Les marqueurs les moins polymorphes ont été supprimés

À la fin des filtres de qualité, une vérification de la répartition des SNP sur le génome a été faite.

1.3. Assignation des canetons.

Les 96 meilleurs marqueurs ont été testés pour l'assignation des individus de chacune des lignées.

L'assignation a été réalisée avec le logiciel APIS (Griot et al., 2019) en utilisant la méthode d'exclusion. Cette méthode compte le nombre d'incompatibilités mendéliennes (« mismatches ») entre les descendants et leurs parents. Le couple le plus probable doit avoir un nombre très faible de non-concordances

mendéliennes par rapport au nombre total de marqueurs utilisés, soit 96.

Dans cette étude, les premières assignations de parenté n'ont été réalisées qu'avec les individus passant les filtres de qualité, soit 38 individus pour la lignée R et 40 individus pour la lignée T, comprenant les parents ainsi que les descendants. Les secondes assignations ont été réalisées avec l'ensemble des individus disponibles.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Mise au point du panel d'assignation.

2.1.1. Nettoyage des données manquantes.

Un premier tri a été effectué afin d'éliminer les marqueurs et les échantillons de très mauvaise qualité. Huit individus avec plus de 21% de données manquantes ont été éliminés (Figure 1).

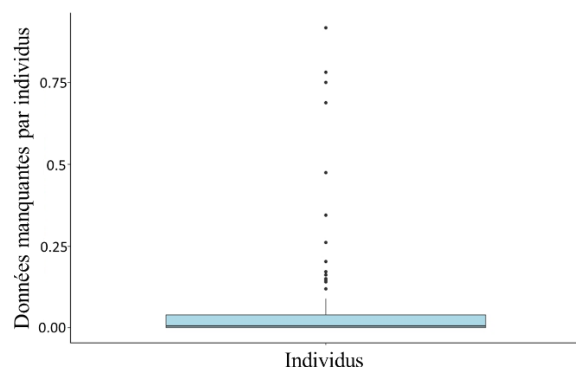


Figure 1. Répartition des taux de données manquantes par individus.

Quatre SNP avec plus de 21% de données manquantes ont été éliminés (Figure 2). A cette étape, il restait 188 SNP.

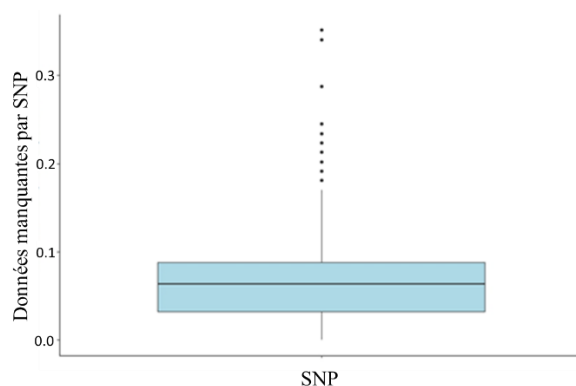


Figure 2. Répartition des taux de données manquantes par SNP.

Les seuils classiques de qualité ont ensuite été appliqués pour conserver les individus ayant moins de

10% de données manquantes et les SNP ayant moins de 5% de données manquantes. A l'issue de ces filtres, il restait 179 SNP et 78 individus dans le fichier de génotypage.

Quasiment la moitié des parents des deux lignées ont été éliminés pour cause de données manquantes. Ces niveaux de qualité variables pourraient être dus à des tissus prélevés différents entre les parents (sang) et les descendants (biopsies).

2.1.2. Choix des meilleurs marqueurs.

2.1.2.1. Incompatibilités mendéliennes.

Une mère douteuse étant responsable d'un grand nombre d'incompatibilités (16/179 SNP correspondant à 9% d'incompatibilités mendéliennes par descendant) a été mise à l'écart dans le pedigree, une hypothèse serait éventuellement une erreur de traçabilité sur la voie maternelle. Le taux d'incompatibilités par descendant calculé après correction du pedigree variait de 0 à 3% (Tableau 1).

Tableau 1. Nombre d'incompatibilités mendéliennes par descendant.

	N couple	Taux d'incompatibilité par descendant
Avant suppression d'une mère douteuse	21	0 à 9 %
Après suppression d'une mère douteuse	20	0 à 3 %

Les SNP présentant des incompatibilités mendéliennes ont été supprimés. Le nombre de SNP impliqués dans zéro incompatibilité était de 150.

2.1.2.2. Fréquence de l'allèle mineur.

La MAF a été calculée intra-lignée en utilisant seulement les descendants des trios puisqu'un grand nombre de parents ont été éliminés à cause de données manquantes importantes.

Les SNP fixés dans les deux lignées, R et T, (i.e. MAF = 0) ont été d'office supprimés. Après ce filtre, il restait 142 SNP.

Les 96 SNP ont été obtenus en éliminant les marqueurs les moins polymorphes de chaque lignée. À l'issue de ce filtre, les SNP qui ont été gardés présentaient une MAF intra-lignée d'au moins 13,5% (Figure 3).

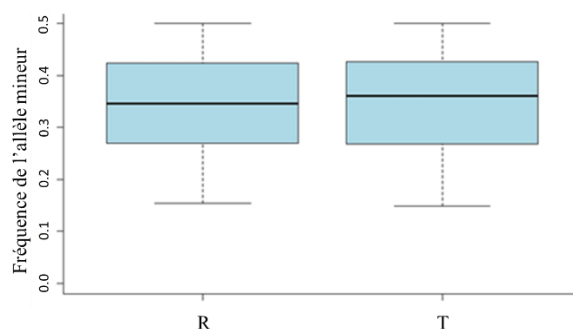


Figure 3. Répartition de la MAF des 96 SNP gardés dans les deux lignées.

2.1.2.3. Répartition sur les chromosomes.

Les SNP choisis étaient répartis sur 21 chromosomes (Figure 4). Les cinq premiers chromosomes, qui sont des macro chromosomes, ont un nombre de SNP plus important.

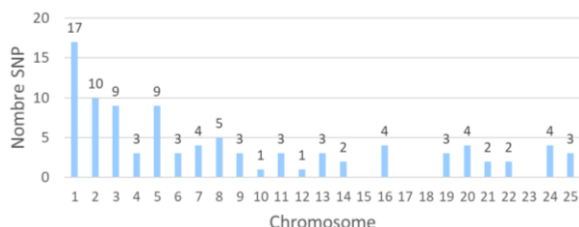


Figure 4. Répartition des 96 SNP gardés par chromosome.

2.2. Assignment de parenté.

L'assignation a été réalisée sur les 96 SNP précédemment choisis.

2.2.1. Souche chair (R).

L'assignation a été réalisée sur les 38 individus passant le filtre de qualité : 4 pères sur 7, 8 mères sur 14 et 26 descendants sur 26. La méthode d'exclusion avec un seuil égal à 2, a permis d'obtenir un taux d'assignation de 27 % : 7 individus ont été assignés. Les sept assignations étaient correctes par rapport au pedigree fourni par Grimaud Frères. Le faible taux d'assignation était attendu compte-tenu du nombre de parentés écartés. Les animaux présentant au moins un parent manquant n'ont pas été assignés.

Une deuxième assignation a été faite avec la totalité des individus de la souche (i.e. 47), quel que soit leur niveau de qualité. Le taux d'assignation obtenu était de 100%. Tous les descendants ont été correctement assignés aux parents prévus dans le pedigree.

2.2.1. Souche père à mulard (T)

L'assignation a été réalisée sur les 40 individus passant le filtre de qualité : 3 pères sur 7, 10 mères sur 13 et 27 descendants sur 27. La méthode d'exclusion avec un seuil égal à 2, a permis d'obtenir un taux d'assignation de 52 % : 14 individus ont été assignés. Les quatorze assignations étaient correctes par rapport au pedigree fourni par Grimaud Frères. Les animaux présentant au moins un parent manquant n'ont pas été assignés.

Une deuxième assignation a été faite avec la totalité des individus (i.e. 47), quel que soit leur niveau de qualité. Le taux d'assignation obtenu était de 96%. Un seul individu n'a pas été assigné, sa mère était la mère douteuse, et tous les autres descendants ont été correctement assignés aux parents prévus dans le pedigree.

CONCLUSION

Un panel unique de 96 SNP a été produit pour les deux lignées barbarie sélectionnées pour la chair et pour la production du mulard. Ce panel est constitué de SNP respectant les lois de transmission mendéliennes, polymorphes, et répartis sur l'ensemble du génome. Il a permis d'assigner sans erreur dans les tests réalisés, y compris pour les individus ayant des parents présentant un taux de données manquantes important. Il s'agissait cependant d'un jeu de données de très petite taille.

Ce panel sera utilisé prochainement pour la suite de l'étude du projet CanAuSol permettant d'anticiper la potentielle fin de l'utilisation des cages au niveau de la reproduction des lignées pures de canards Barbarie et Pékin en sélection chez les deux sélectionneurs français. Le panel servira notamment à reconstituer le pedigree des animaux qui se seront reproduits au sol dans des parquets de différentes tailles. Le panel d'assignation permettra ainsi d'étudier la contribution des reproducteurs dans le cas d'une reproduction sans cage.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient la plateforme INRAE Clermont Gentyane pour la réalisation des génotypages. Une partie de cette étude a été réalisée dans le cadre du projet CanAuSol, bénéficiant du soutien financier du CIFOG pour la souche père à mulards.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Brard-Fudulea, S., Chapuis, H., Leroux, S., Rouger, R., Vignal, A., Diot, C., Teissier, M., 2022. Mise au point d'un panel d'assignation de parenté SNP unique pour les deux espèces de canards et leur hybride. 14èmes Journées de la Recherche sur les Palmipèdes à Foie Gras, Tours.
- Chang, C.C., Chow, C.C., Tellier, L.C., Vattikuti, S., Purcell, S.M., Lee, J.J., 2015. Gigascience 4. Volume 4, Issue 1, s13742–015–0047–8.
- ECI(2018)000004 : https://citizens-initiative.europa.eu/initiatives/details/2018/000004/end-cage-age_en
- Griot, R., Allal, F., Brard-Fudulea, S., Morvezen, R., Haffray, P., Phocas, F., Vandeputte, M., 2019. APIS: An auto-adaptive parentage inference software that tolerates missing parents. Mol Ecol Resour.
- Thébault, N., Riquet, J., Diot, C., Brard-Fudulea, S., Guémené, D., Alletru, B., Cornil, M., Bouleau, P., Blanchet, M., Le Mignon, G., Demeure, O., Vignal, A., 2019. Développement d'une puce de génotypage haute densité 600K pour le canard Commun et le canard de barbarie, 13èmes Journées de La Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras. Tours.