

DETECTION DE QTL CONTROLANT L'EFFICACITE DIGESTIVE DANS UN CROISEMENT DE LIGNEES DE POULETS SELECTIONNEES DE FAÇON DIVERGENTE POUR CE CARACTERE

Tran S.T.¹, Narcy A.¹, Carré B.¹, Gilbert H.², Demeure O.³, Bed'Hom B.⁴, Chantry-Darmon C.⁵,
Boscher M.-Y.⁵, Bastianelli D.⁶, Sellier N.⁷, Chabault M.¹, Calenge F.^{1,4}, Le Bihan-Duval E.¹,
Beaumont C.¹, Mignon-Grasteau S.^{1,x}

¹ INRA, UR83 Recherches Avicoles, F-37380 Nouzilly, France

² INRA, UMR444 LGC, Chemin de Borde Rouge BP 52627, F-31326 Castanet Tolosan cedex, France

³ INRA, UMR1348 PEGASE, Domaine de la Prise, F-35590 Saint Gilles, France

⁴ INRA, UMR1313 GABI, Domaine de Vilvert, F-78352 Jouy en Josas cedex, France

⁵ INRA, LABOGENA, Domaine de Vilvert, F-78352 Jouy en Josas cedex, France

⁶ CIRAD, UMR Selmet, F-34398 Montpellier cedex 5, France

⁷ INRA, UE1295 PEAT, F-37380 Nouzilly, France

sgrasteau@tours.inra.fr

RESUME

Améliorer l'efficacité digestive des poulets est un enjeu majeur qui permettrait non seulement de limiter les coûts de production mais aussi de valoriser efficacement des matières premières alternatives tout en réduisant le volume des rejets. La mesure de l'efficacité digestive étant relativement lourde, disposer de marqueurs génétiques impliqués dans la variabilité de ce caractère serait un outil précieux pour la sélection. Une première recherche de QTL est présentée, impliquant 820 poulets de chair issus de 6 familles dans un croisement de type F2 entre les lignées D- et D+, sélectionnées de façon divergente sur l'énergie métabolisable apparente corrigée pour un bilan azoté nul (EMAn), mesurée à 3 semaines d'âge avec un régime contenant un blé de mauvaise qualité (variété Rialto). Cinq critères de digestibilité ont été mesurés : l'EMAn, des coefficients de digestibilité de la matière sèche (CUDMS), de l'amidon (CUDAmidon), des protéines (CUDProtéines) et des lipides (CUDLipides). Les animaux ont tous été génotypés avec 6000 marqueurs SNP, choisis parmi 57636 marqueurs comme les plus informatifs pour notre dispositif. Au total, les marqueurs sont répartis sur 28 autosomes, 1 groupe de liaison et le chromosome Z.

En utilisant le logiciel QTLMap (développé à l'INRA) pour des analyses de liaison en cartographie d'intervalle, 9 QTL (locus de caractère quantitatif) ont été détectés. Sur le chromosome 20, deux QTL significatifs au niveau du génome ont été observés à la même position pour CUDAmidon et CUDMS, deux caractères fortement corrélés. De même, des QTL significatifs au niveau du chromosome pour EMAn, CUDAmidon, CUDMS, CUDProtéines sont localisés dans la même région du chromosome 16. Sur les chromosomes 23 et 26, des QTL significatifs au niveau du chromosome ont été identifiés pour CUDAmidon, celui porté par le chromosome 26 étant situé à 1 cM d'un QTL contrôlant le rapport de la longueur de l'intestin au poids vif détecté sur ce même dispositif. Sur le chromosome 27, un QTL significatif au niveau du chromosome est détecté pour CUDMS.

ABSTRACT

Improving digestive efficiency of chickens is a major goal that should limit production costs, allow efficient use of alternative feedstuffs and decrease manure volume. As the measure of digestive efficiency is difficult, having available genetic markers implied in the determinism of this trait would be a precious tool for selection. A first QTL detection is presented, implying 820 meat-type chickens issued from 6 F2 families between D+ and D- lines divergently selected for their nitrogen-corrected apparent metabolizable energy (AMEn), recorded at 3 weeks with a diet including a high proportion of low quality wheat (Rialto variety). Five criteria of digestive efficiency have been measured: AMEn, and coefficients of digestive use of dry matter (CDUDM), starch (CDUS), lipids (CDUL), and proteins (CDUP). Animals were genotyped with 6000 SNP markers, chosen in a panel of 57636 SNP as the most informative on our design. The markers were distributed on 28 autosomes, 1 linkage group and the Z chromosome.

Using QTLMap software which performed linkage analysis by interval mapping, we detected 9 QTL. On chromosome 20, 2 genome-wide significant QTL were detected at the same position for CDUS and CDUDM, two highly correlated traits. Moreover, chromosome-wide significant QTL were detected for AMEn, CDUDM, CDUS, and CDUP at the same position on chromosome 16. On chromosomes 23 and 26, chromosome-wide significant QTL were detected for CDUS, the one on chromosome 26 being located at 1 cM of a QTL controlling the relative length of intestine, detected on the same design. Finally, a chromosome-wide QTL has been detected for CDUDM on chromosome 27.

INTRODUCTION

L'aliment représente de 55 à 65% du coût de production des poulets de chair (Riffard *et al.*, 2011). Améliorer l'efficacité digestive des poulets est un enjeu majeur qui permettrait non seulement de limiter les coûts de production mais aussi de valoriser efficacement des matières premières alternatives non utilisées pour l'alimentation humaine ou des ressources locales tout en réduisant le volume des rejets.

Afin de réduire le coût d'alimentation et d'améliorer l'efficacité alimentaire, poules pondeuses et poulets de chair ont été sélectionnés sur des caractères tels que l'indice de consommation ou la consommation alimentaire résiduelle (Pym, 1990; Bordas et Mérat, 1984; Katle et Koldstadt, 1991; Schulman *et al.*, 1994). Plus récemment, il a été montré que sélectionner sur l'efficacité digestive permettait d'améliorer l'efficacité alimentaire (Mignon-Grasteau *et al.*, 2004). Contrairement aux travaux précédemment cités, cette dernière était réalisée avec un régime alimentaire difficile à digérer, à base de blé de variété Rialto. La digestibilité de l'énergie, des protéines, des lipides et des glucides (amidon) ont des héritabilités estimées entre 0.33 et 0.47. Suite à cette étude, une sélection génétique sur l'efficacité digestive a été effectuée à l'Unité de Recherches Avicoles de l'INRA. Le critère de sélection était la mesure, à 3 semaines, de l'énergie métabolisable apparente corrigée pour un bilan azoté nul (EMAn) d'un régime contenant 55% de blé de mauvaise qualité (variété Rialto). L'EMAn diffère de 30 à 40% entre les deux lignées divergentes de poulets bons digesteurs (D+) et mauvais digesteurs (D-) selon les expériences (Carré *et al.* 2008; de Verdal *et al.*, 2010). Cette différence d'efficacité digestive est également observée pour l'amidon, les lipides et les protéines, dont les coefficients d'utilisation digestive sont plus élevés chez les D+ de 10%, 20% et 13%, respectivement (Mignon-Grasteau *et al.*, 2010). Quand les animaux sont nourris avec un régime facile à digérer à base de maïs, ces différences sont plus faibles mais toujours significatives pour l'EMAn et les coefficients d'utilisation digestive des lipides, 5 à 7% plus élevés chez les D+ que chez les D-. Au contraire, les deux lignées présentent des coefficients d'utilisation digestive de l'amidon similaires sur régime maïs (Mignon-Grasteau *et al.*, 2010).

La mesure de l'efficacité digestive reste lourde et implique d'élever les animaux en cage, dans des conditions très différentes des conditions d'élevage réelles. Disposer de marqueurs génétiques impliqués dans la variabilité de ce caractère serait donc un outil précieux pour la sélection assistée par marqueurs. Or, malgré l'importance de l'efficacité alimentaire pour la production de volailles, très peu de QTL ont été détectés sur ce type de caractères. En effet, parmi les 2736 QTL publiés jusqu'à présent chez la poule, seulement 25 QTL sont liés aux caractères de l'efficacité alimentaire (www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb, 02/25/2012).

Ces QTL concernent l'indice de consommation (IC), la consommation résiduelle (CR) et l'efficacité alimentaire, mais aucun ne porte sur l'efficacité digestive. De plus, aucune de ces études ne mentionne la composition du régime (de Koning *et al.*, 2003, 2004; Parsanejad *et al.*, 2004; Hansen *et al.*, 2005; Rowe *et al.*, 2006; Ewald *et al.*, 2007).

Le but de cet article est donc de présenter les premiers QTL d'efficacité digestive, détectés sur un croisement entre les lignées D+ et D-.

MATERIELS ET METHODES

Animaux et caractères mesuré

Les individus des lignées de poulets de chair D+ et D-, sélectionnées de façon divergente sur l'énergie métabolisable apparente corrigée pour un bilan azoté nul (EMAn) (Mignon-Grasteau *et al.* 2004) ont été croisés à la huitième génération de sélection pour produire des populations F1 et F2. La population F2 comporte 820 animaux des 2 sexes, issus de 6 familles de pères et 60 familles de mères. Les animaux F2 ont été mesurés pour cinq caractéristiques de digestibilité (tableau 1): EMAn, coefficients de digestibilité de la matière sèche (CUDMS), de l'amidon (CUDAmidon), des protéines (CUDProtéines) et des lipides (CUDLipides) en utilisant la méthode de collecte totale des excréta de Bourdillon *et al.* (1990).

Tableau 1: Statistiques élémentaires et valeurs d'héritabilité des caractères d'efficacité digestive estimées chez les F2.

Caractère	Moyenne	Ecart-type	h ²
EMAn (kcal.kg MS ⁻¹)	3287	234	0.36
CUDMS (%)	70.10	4.82	0.29
CUDAmidon (%)	95.96	4.84	0.33
CUDLipides (%)	76.86	12.28	0.29
CUDProtéines (%)	81.71	3.89	0.40
Poids vif à 23 jours (g)	451.46	58.50	0.23

Marqueurs et génotypage

Afin d'optimiser l'informativité des marqueurs, un échantillon de mâles F0 et F1 a été génotypé sur une puce de 57636 SNP, et les 6000 marqueurs les plus informatifs et les mieux répartis sur le génome ont été retenus pour le génotypage de l'ensemble des animaux du dispositif (F0, F1, F2) grâce au logiciel MarkerSet (Demeure et Lecerf, 2008). Les marqueurs sont répartis sur 28 autosomes, 1 groupe de liaison (LGE22C19W28) et le chromosome Z. La carte utilisée est déduite de la position physique des marqueurs SNP et de la carte génétique de référence publiée par (Groenen *et al.* 2009).

Analyses statistiques

La détection de QTL a été réalisée avec le logiciel QTLMap (Gilbert *et al.*, 2008), en utilisant un modèle demi-frères (Elsen *et al.*, 1999; Le Roy *et al.*, 1998).

Les différents caractères ont été analysés séparément. Le rapport de la vraisemblance estimée sous l'hypothèse de présence d'un QTL (H1) à celle calculée sous l'hypothèse d'absence de QTL (H0) a été calculé pour conclure quant à la présence d'un QTL sur chaque chromosome. Les seuils de significativité au niveau du chromosome et du génome ont été estimés en réalisant respectivement 1000 et 20000 simulations par chromosome. Le niveau de significativité à l'échelle du génome ($P_{\text{génomique}}$) a été établi en utilisant la correction de Bonferroni et en prenant en compte les différences importantes de longueur entre les chromosomes chez le poulet :

$$P_{\text{génomique}} = 1 - (1 - P_{\text{chromosome}})^{1/r}$$

où r est le rapport de la longueur du chromosome sur la longueur totale du génome génotypé et $P_{\text{chromosome}}$ la probabilité au niveau du chromosome. L'intervalle de confiance des QTL (95%) est calculé par la méthode du LOD drop-off (Lander et Botstein, 1989).

RESULTATS

Au total, 9 QTL ont été détectés (tableau 2). Sur le chromosome 20, deux QTL significatifs au niveau du génome ont été observés à la même position pour les coefficients d'utilisation digestive de l'amidon et de la matière sèche, deux caractères fortement corrélés. De même, des QTL significatifs au niveau du chromosome ont été détectés dans la même région du chromosome 16 pour l'EMAn et les coefficients d'efficacité digestive de l'amidon, de la matière sèche et des protéines. Sur les chromosomes 23 et 26, des QTL significatifs au niveau du chromosome ont été identifiés pour le coefficient d'efficacité digestive de l'amidon, celui situé sur le chromosome 26 étant situé à 1 cM d'un QTL contrôlant le rapport du poids intestinal au poids vif détecté sur ce même dispositif (résultat non présenté ici). Sur le chromosome 27, un QTL significatif au niveau du chromosome a été détecté pour le coefficient d'efficacité digestive de la matière sèche.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Cette étude est la première mettant en évidence la présence de QTL d'efficacité digestive chez le poulet de chair. Tous sont observés sur des micro-chromosomes et n'auraient sans doute pas été observés sans les SNP. La plupart de ces QTL ont un effet modéré (sauf 2 QTL significatifs au niveau du génome sur le chromosome 20) et significatif au niveau de chromosome ($p < 0.05$). Cette observation est cohérente avec la complexité du caractère d'efficacité digestive, dont le déterminisme est vraisemblablement polygénique. En outre, ces QTL ne sont pas fixés dans les souches d'origine : pour la plupart des QTL, seules 3 ou 4 des 6 familles de pères sont hétérozygotes.

De façon cohérente avec les fortes corrélations génétiques estimées entre les différents caractères

d'efficacité digestive (Mignon-Grasteau *et al.*, 2010), on note une fréquente co-localisation des QTL entre caractères différents : 4 QTL sur le chromosome 16 et 2 QTL sur le chromosome 20. A ces endroits, on note également que la courbe des autres caractères tels que l'EMAn montre également un pic, même si elle ne dépasse pas le seuil de significativité.

Malgré des corrélations significatives et élevées (0.6-0.9) entre les caractères d'EMAn, CUDMS et CUDAmidon, la plupart des QTL significatifs sont détectés pour le CUD de l'amidon. Cela est cohérent avec les résultats d'études précédentes recherchant des QTL sur l'indice de consommation, qui ont trouvé peu de QTL sur ce caractère, mais plutôt des QTL sur les composantes de cet indice, tels que la consommation alimentaire, la croissance et la composition corporelle. De même ici, l'efficacité digestive représentée par l'EMAn dépend de la digestibilité de chacun des composants. Parmi ces composants, la digestibilité de l'amidon dépend directement de la capacité de l'hôte à rendre l'amidon accessible dans l'intestin, grâce à un broyage efficace au niveau du gésier, critère particulièrement discriminant entre les 2 lignées (Garcia *et al.*, 2007; Rougière *et al.*, 2009; de Verdal *et al.*, 2011). On peut en outre noter l'absence de QTL pour le CUD des lipides. Or, ce dernier dépend d'une interaction entre l'hôte et le microbiote intestinal, en particulier des lactobacilles, qui diffèrent entre animaux F2 à faible et forte EMAn (Gabriel *et al.*, 2012). Cette double contribution de l'hôte et du microbiote à la digestibilité des lipides peut rendre la détection de QTL plus délicate.

Dans notre étude, nous ne retrouvons aucun des QTL d'efficacité alimentaire précédemment identifiés (de Koning *et al.*, 2003, 2004; Rowe *et al.*, 2006; Parsanejad *et al.*, 2004; Hansen *et al.*, 2005; Ewald *et al.*, 2007). Cela vient probablement en partie du fait que l'indice de consommation (IC) dépend de la vitesse de croissance, de l'engraissement et de l'efficacité digestive des animaux ; le lien entre efficacité alimentaire et digestive n'est donc que très partiel. De plus, ces travaux sont faits sur des animaux nourris avec des régimes alimentaires favorables, ne sollicitant pas les capacités digestives des animaux. L'importance relative de l'efficacité digestive par rapport aux autres composants de l'indice (extra-chaleur, croissance et composition corporelle) est donc vraisemblablement plus faible avec ces régimes qu'avec le nôtre. Enfin, les populations étudiées dans ces autres dispositifs sont des souches à croissance rapide alors que nous avons étudié une souche à croissance intermédiaire. On peut cependant relever que cette différence de base génétique ne peut suffire pour expliquer la totale déconnexion entre QTL d'efficacité alimentaire et digestive puisque, même sur notre dispositif, il n'y a pas de co-localisation entre QTL d'efficacité alimentaire et QTL d'efficacité digestive (résultats non présentés ici).

La forte proximité, sur le chromosome 26, d'un QTL contrôlant le CUD de l'amidon et d'un QTL contrôlant la longueur relative de l'intestin détecté sur ce même dispositif rejoint le résultat de plusieurs

études ayant montré que de fortes différences de morphologie du tractus gastro-intestinal accompagnaient ces différences d’efficacité digestive, avec un fort développement de la partie supérieure du tractus, et à l’inverse, un développement inférieur de l’intestin grêle chez les D+ par rapport aux D- (Garcia *et al.*, 2007; Rougière *et al.*, 2009; Rougière et Carré, 2010). Dans le même sens, de Verdal *et al.* (2011) ont mis en évidence des corrélations génétiques fortes entre anatomie et efficacité digestive, notamment avec le poids de l’intestin.
On peut enfin se demander si les QTL détectés ici auraient été retrouvés à l’identique sur des animaux

nourris avec un régime plus facile à digérer. Les différentes études menées sur les lignées D+ et D- ont en effet montré que les différences dépendent du régime et n’étaient pas retrouvées à l’éclosion (de Verdal *et al.*, 2010 ; Mignon-Grasteau *et al.*, 2010). Les animaux s’adaptent donc à leur régime difficile pendant la croissance. Il est également possible que des phénomènes épigénétiques soient impliqués sans que les positions des QTL elles-mêmes soient affectées. Des travaux devront être envisagés pour tester ces hypothèses.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bordas, A., Mérat, P., 1984. Ann. Agric. Fenn., 23, 233-237.
Bourdillon, A., Carré, B., Conan, L., Duperray, J., Huyghebaert, G. Leclercq, B., Lessire, M., McNab, J., Wiseman, J., 1990. Br. Poult. Sci., 31, 557-565.
Carré, B., Mignon-Grasteau, S., Juin, H., 2008. World’s Poult. Sci. J., 64, 377-390.
de Koning, D.J., Windsor, D., Hocking, P.M., Burt, D.W., Law, A., Haley, C.S., Morris, A., Vincent, J., Griffin, H., 2003. J Anim Sci., 81, 1158-1165.
de Koning, D.J., Haley, C.S., Windsor, D., Hocking, P.M., Griffin, H., Morris, A., Vincent, J., Burt, D.W., 2004. Genet. Res., 83, 211-220.
Demeure, O., Lecerf, F., 2008. BMC Res. Notes, 1, 9.
Ewald, S.J., Ye, X., Avendano, S., McLeod, S., Lamont, S.J., Dekkers, J.C., 2007. Anim. Genet., 38, 174-176.
Elsen, J.M., Mangin, B., Goffinet, B., Boichard, D., Le Roy, P., 1999. Genet. Sel. Evol., 31, 213-224.
Gabriel, I., Konsak, B., Mignon-Grasteau, S., 2012. Recent Advances in Animal Nutrition, Edited by J. Wiseman & P. Garnsworthy. Nottingham (UK), Nottingham University Press, 42 pp (in press).
García, V., Gomez, J., Mignon-Grasteau, S., Sellier, N., Carré, B., 2007. Animal 1, 1435-1442.
Gilbert, H., Le Roy, P., Moreno, C., Robelin, D., Elsen, J. M., 2008. Ann. Human Gen., 72, 694.
Groenen, M.A., Wahlberg, P., Foglio, M., Cheng, H.H., Megens, H.J., Crooijmans, R.P., Besnier, F., Lathrop, M., Muir, W.M., Wong, G.K., Gut, I., Andersson, L., 2009. Genome Res., 19, 510-519.
Hansen, C., Yi, N., Zhang, Y.M., Xu, S., Gavora, J., Cheng, H.H., 2005. Anim. Biotechnol., 16, 67-79.
Katlé, J., Kolstad, N., 1991. Br. Poult. Sci., 32, 939-953.
Le Roy, P., Elsen, J.M., Boichard, D., Mangin, B., Bidanel, J.P., Goffinet, B., 1998. 7th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production. Armidale (Australie), 257-260.
Lander, E., Botstein, D., 1989. Genetics, 121, 185-199.
Mignon-Grasteau, S., Muley, N., Bastianelli, D., Gomez, J., Péron, A., Sellier, N., Millet, N., Besnard, J., Hallouis, J.M., Carré, B., 2004. Poult. Sci., 83, 860-867.
Mignon-Grasteau, S., Juin, H., Sellier, N., Bastianelli, D., Gomez, J., Carré, B., 2010. 9th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production, Leipzig, 01-06/08/2010.
Parsanejad, R., Praslickova, D., Zadworny, D., Kuhnlein, U., 2004. Poultry Sci., 83, 1518-1523.
Pym, R.A.E., 1990. In Poultry Breeding and Genetics. Edited by R.D. Crawford, Amsterdam (Netherlands), 847-876.
Riffard, C., Gallot, S., Magdelaine, P., 2011. Résultats 2010. Rapport technique, ITAVI. 57 pp.
Rougière, N., Carré, B., 2010. Animal, 4, 1861-1872.
Rougière, N., Gomez, J., Mignon-Grasteau, S., Carré, B., 2009. Poult. Sci., 88, 1206-1215.
Rowe, S.J., Windsor, D., Haley, C.S., Burt, D.W., Hocking, P.M., Griffin, H., Vincent, J., De Koning, D.J., 2006. Anim. Genet., 37, 269-272.
Schulman, N., Tuiskula-Haavisto, M., Siitonen, L., Mäntysaari, E.A., 1994. Poult. Sci. 73, 1479-1484.
de Verdal, H., Narcy, A., Bastianelli, D., Chapuis, H., Même, N., Urvoix, S., Le Bihan-Duval, E., Mignon-Grasteau, S., 2011. BMC Genet., 12, 59.
de Verdal, H., Mignon-Grasteau, S., Jeulin, C., Le Bihan-Duval, E., Leconte, M., Mallet, S., Martin, C., Narcy, A., 2010. Poult. Sci., 89, 1955-1961.

Tableau 2: Liste des QTL détectés sur les caractères d’efficacité digestive.

Chromosome	Caractère	Position (cM)	I.C. ¹ (cM)	L.R.T. ²	Seuil de significativité ³	Effet du QTL ⁵	Marqueurs ⁶
16	EMAn	0	0-0	15,43	13,80	0,17	3
	CUDMS	0	0-0	16,57	14,00	0,18	
	CUDAmidon	0	0-0	15,01	13,92	0,16	

	CUDProtéines	0	0-0	18,53	14,42	0,20	
20	CUDMS	9	8-10	31,45	28,46 ⁴	0,40	76
	CUDAmidon	9	8-10	41,60	19,29 ⁴	0,57	
23	CUDAmidon	30	8-35	19,45	19,30	0,22	42
26	CUDAmidon	36	31-45	20,05	18,19	0,20	60
27	CUDMS	12	9-17	18,10	17,63	0,20	19

¹ Intervalle de confiance ; ² Likelihood Ratio Test ; ³ Obtenu par 1000 simulations au niveau de chromosome et 20000 au niveau du génome (p<0,05) ; ⁴ Significatif au niveau du génome (p<0.05); ⁵ en écart-type phénotypique du caractère ; ⁶Nombre de marqueurs utilisés pour la détection de QTL