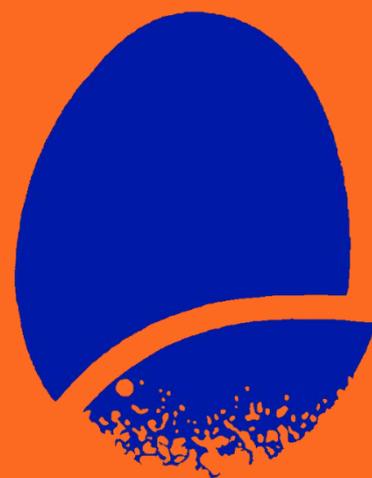
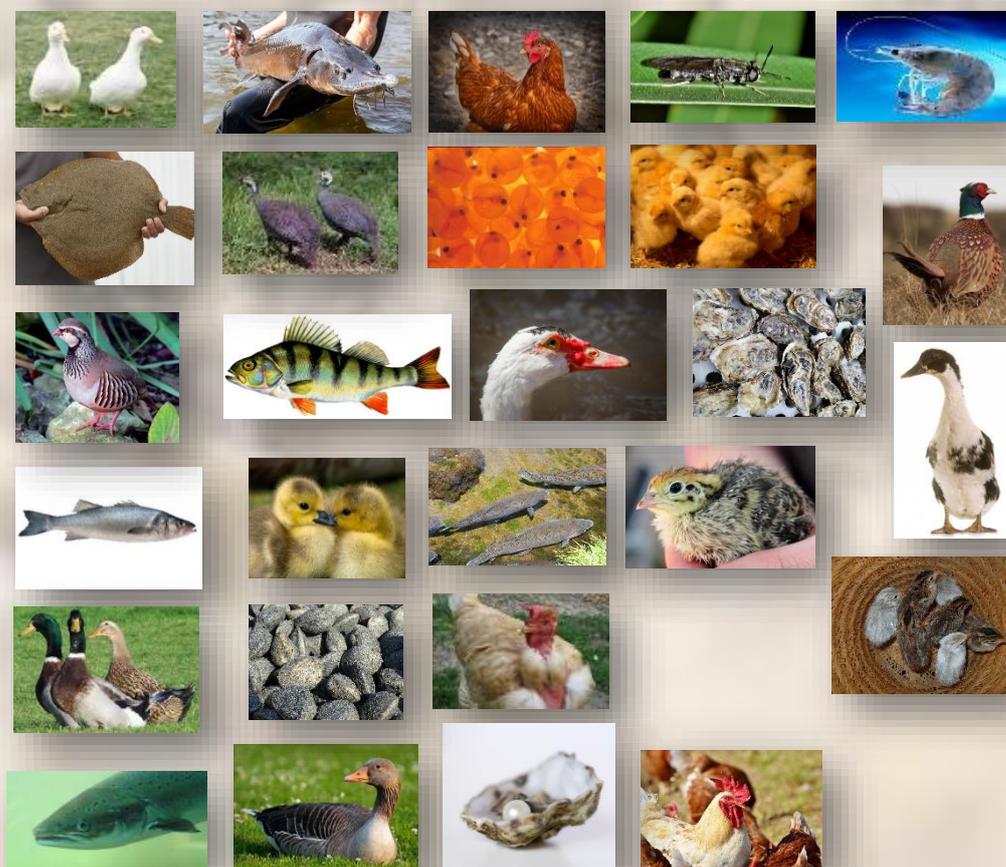


Rapport d'activité 2022

Programmes R&D



SYSAAF



INTRODUCTION	4
1. AE1 GESTION DE LA BIODIVERSITE POUR SOUTENIR LA DIVERSIFICATION DES PRODUCTIONS AVICOLES, AQUACOLES ET ENTOMOCOLES.	5
1.1. Maintien de la diversité d'espèces de races et de lignées piscicoles domestiquées, gérées ou sélectionnées en France	5
1.1.1. Aide à la conservation d'une agro bio diversité <i>in situ</i>	5
1.1.2. Aide à la sauvegarde de l'agro biodiversité <i>ex situ</i>	10
1.2. La gestion de la diversité intra race ou intra lignée	17
1.2.1. Mise en place de panel d'assignation ou d'outils génomiques pour la gestion des lignées et races	17
1.2.2. Méthode de gestion et selection optimisée adaptée aux espèces, races et lignées de faible effectif	23
2. AE 2 : ETUDE DE PHENOTYPES A OBJECTIF « AGROECOLOGIQUE » POUR LEUR IMPLEMENTATION DANS LES PROGRAMMES DE SELECTION DANS UN CONTEXTE DE CHANGEMENT CLIMATIQUE	26
2.1. Approche phénotypique (essais zootechnique, mesures de phénotypes...)	27
2.2. Approche génétique (calcul de paramètres génétiques, recherche de gènes sous-jacents...)	48
3. AE3 : INGENIERIE GENETIQUE POUR LE MAINTIEN DE LA COMPETITIVITE DES ACTEURS DE LA FILIERE	66
3.1. Optimiser les schémas de sélection (efficacité/coût) par l'apport des meilleures technologies disponibles (aspect génomique ; aspect modèle et informatique)	66
3.2 Intégrer les nouveaux caractères, adaptés aux changements agroécologiques et aux attentes sociétales, dans les objectifs de sélection	80

Introduction

En 2022, les grandes orientations des programmes de R&D menés aux SYSAAF ont été en partie revues notamment pour s'adapter :

- aux attentes du Ministère dans le cadre de la publication du nouveau Plan National de Développement Agricole et Rural (PNDAR) 2022-2027,
- aux attentes exprimées dans le Cluster 6 « Alimentation, bioéconomie, ressources naturelles, agriculture et environnement » du pilier II d'Horizon Europe (le nouveau programme européen adopté en 2021),
- aux attentes des entreprises adhérentes du SYSAAF (séminaire d'orientation stratégique à moyen terme du SYSAAF des 1 et 2 décembre 2021).

Le PNDAR 2022-2027 invite à « intensifier et massifier la transition agroécologique en combinant création de valeur économique et environnementale ». Il est décliné en 9 thèmes prioritaires parmi lesquels le levier génétique, thème de compétence du SYSAAF, se retrouve fortement impliqué, comme dans la valorisation et la préservation de l'agro-biodiversité, dans la création de chaînes de valeur, dans la gestion de la santé et du bien-être animal, dans l'adaptation au changement climatique. Le programme européen Horizon Europe vise quant à lui à « protéger l'environnement, restaurer, gérer et utiliser de manière durable les ressources biologiques et naturelles terrestres, et celles des eaux continentales et marines, à garantir la sécurité alimentaire et nutritionnelle pour tous et la transition vers une économie à faible intensité de carbone ». Là encore le levier génétique peut largement trouver sa place dans des actions cohérentes entre l'échelle nationale et l'échelle européenne.

Le programme R&D du SYSAAF poursuit donc son ambition de soutien à la grande diversité des espèces, des races et lignées sélectionnées ou en cours de domestication en France pour les secteurs avicole, aquacole et entomocole. Ce soutien s'inscrit dans le contexte d'une transition agroécologique forte nécessitant le maintien de la compétitivité en intégrant de nouveaux objectifs de sélection ou de nouvelles modalités de conduite des schémas.

Dans ce contexte, le SYSAAF déploie son action R&D en 3 grands domaines (dénommés ici Actions Élémentaires (AE)) :

- La gestion de la biodiversité pour soutenir la diversification des productions avicoles, aquacoles et entomocoles (AE1),
- L'étude de phénotypes à objectif « agroécologique » pour leur implémentation dans les programmes de sélection dans un contexte de changement climatique (AE2),
- Le développement d'une ingénierie génétique adaptée au maintien de la compétitivité des acteurs des filières (AE3).

Ce rapport annuel dédié aux activités R&D résume les travaux réalisés en 2022 par les équipes du SYSAAF, dans le cadre d'actions menées avec les adhérents, seul ou en partenariat avec d'autres acteurs de la recherche ou du développement, en France ou en Europe. Ils entrent pour une très large part dans le cadre de la R&D du programme CASDAR génétique (pour les espèces concernées, avicoles et piscicoles), de programmes régionaux, interprofessionnels, de programmes nationaux FEAMP ou Carnot F2E, de programmes européens H2020. Quelques autres travaux R&D confidentiels à l'heure de l'écriture de ce rapport ne sont pas présentés.

1. AE1 Gestion de la biodiversité pour soutenir la diversification des productions avicoles, aquacoles et entomocoles.

Objectifs de l'action élémentaire :

L'objectif général de cet axe de R&D est de soutenir par la recherche les espèces et races ou lignées à faible diffusion commerciale ou exploitées dans un objectif de diversification en comparaison aux productions standards. La France est un des pays au monde qui compte le plus d'espèces et de races en sélection ou en gestion génétique aboutissant à une très large proposition de produits allant de produits de qualité assez standard mais peu répandus ailleurs dans le monde à des productions de très haute qualité et de niche. Les projets de R&D autour du maintien et du développement de ce patrimoine sont donc essentiels dans le contexte actuel de perte de diversité génétique et de changement climatique.

Cet objectif est décliné selon deux tâches, d'une part une première tâche permettant de sécuriser l'agro biodiversité existante ou en cours de développement sur certaines espèces, d'autre part une deuxième tâche visant à préserver la variabilité intra race, en fonction des contextes de production d'aujourd'hui et de demain, des effectifs détenus et de leur condition d'élevage, pour garantir un maintien à long terme de ces races ou lignées.

Concrètement, ces différentes tâches se traduisent par la recherche de solutions optimisées pour la gestion des populations *in situ*, en particulier pour accompagner l'exploitation et le suivi d'espèces emblématiques à l'interface entre espèces sauvages et domestiques (*e.g.* saumon, caille et perdrix), et d'améliorer toutes les actions autour de la cryopréservation (*i.e.* gestion *ex situ*) des espèces. Ces dernières méthodes sont en effet encore loin d'être disponibles ou optimisées pour toutes les espèces aviaires, aquacoles ou entomocoles. Le développement d'outils à l'échelle moléculaire (panels de marqueurs) est également une voie de travail majeure depuis quelques années pour accompagner la domestication de nouvelles espèces (comme les esturgeons, le bar, la daurade, le turbot, le maigre, la perche, l'huitre perlière, la mouche soldat noire, le ténébrion meunier...) et la gestion de leur diversité ; c'est aussi une voie majeure pour des espèces sélectionnées depuis de nombreuses années, les espèces aviaires en particulier, mais dont les conditions de sélection vont devoir changer (*e.g.* abandon de la cage en sélection), les panels de marqueurs étant alors une des options possibles pour permettre de conserver des méthodes de sélection généalogiques. Enfin, l'optimisation des plans d'accouplements et des choix de reproducteurs pour maîtriser intra race la variabilité tout en maintenant des niveaux et des qualités de production en accord avec celles des produits finis proposés, en recherchant des solutions adaptées aux productions à faible diffusion, intégrant ou non les avancées apportées par les panels de marqueurs, est un axe de travail R&D essentiel pour maintenir *in situ* l'agro biodiversité des races aujourd'hui exploitées ou de populations expérimentales aux caractéristiques génétiques uniques (*e.g.* lignées de poule INRAE pHu ou B12).

Cette thématique d'agro biodiversité se décline donc à différent niveau entre espèces, entre races et lignées, et intra race ou lignée. Les actions menées en 2022 sont reprises selon les deux chapitres suivants :

- le maintien de la diversité d'espèces, de races et de lignées,
- la gestion de la diversité intra race ou intra lignée.

1.1. Maintien de la diversité d'espèces de races et de lignées piscicoles domestiquées, gérées ou sélectionnées en France

1.1.1. Aide à la conservation d'une agro bio diversité *in situ*

En 2022, les travaux R&D SYSAAF se sont concentrés sur 3 grands objectifs dans le domaine de la conservation de l'agro biodiversité *in situ*. Un programme visait à poursuivre la validation d'un outil moléculaire destiné à tester la pureté génétique des populations sauvages de caille des blés. Toujours sur les gibiers à plume, deux études ont été menées sur l'optimisation de la gestion et des caractéristiques d'adaptation en milieu sauvage des gibiers d'élevages.

Validation de l'utilisation d'une méthode moléculaire de détection d'hybrides entre la Caille des Blés et la Caille japonaise

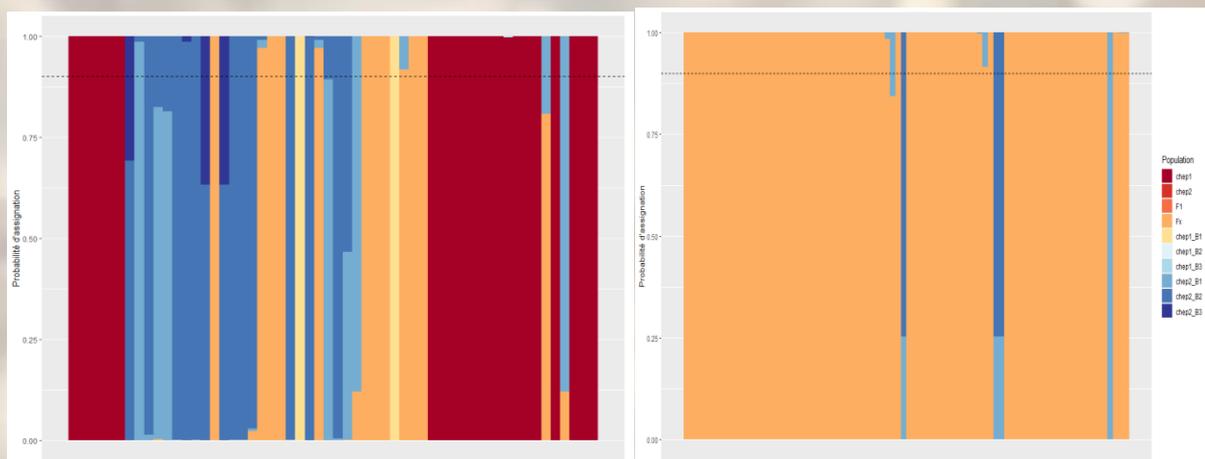
Objectif et état de l'art :

Ce projet se base strictement sur le panel de marqueurs précédemment développé par le SYSAAF et la méthode publiée lors des Journées de la Recherche Avicoles 2019 (Rouger *et al.*, 2019). Cette méthode a depuis été partiellement validée par la détection de Cailles hybrides dans le compartiment sauvage lors d'une collaboration entre le SYSAAF et l'OFB (Office Français de la Biodiversité, Rouger *et al.* 2020). Cependant, de nouvelles répétitions pour validation sont à ce stade encore nécessaires pour éprouver la méthode.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Deux nouveaux lots d'échantillons ont été reçus en vue d'une analyse de détection d'hybrides entre la Caille des Blés (*Coturnix coturnix*) et la Caille japonaise (*Coturnix japonica*). Le premier lot d'échantillons contenait 62 individus dont le statut génétique était incertain. Seulement 56 d'entre eux ont pu être analysés après un filtrage sur la qualité des génotypes obtenus. Soumis à l'analyse, 22 échantillons ont été détectés comme appartenant à l'espèce *Coturnix coturnix*.

Le second lot comprenait 95 individus. Le filtrage sur la qualité des génotypes a abouti à une liste de 82 échantillons analysables. Pour ces derniers, aucun individu n'a été assigné à l'espèce *Coturnix coturnix*. Seul des hybrides de degrés divers ont été détectés.



Probabilités d'assignation aux différentes catégories d'hybrides des individus analysés en 2022 (A gauche : premier lot n=56, A droite, deuxième lot n=82). Chaque barre verticale représente un individu. Pour chaque individu, la probabilité d'assignation à une catégorie donnée est indiquée par la couleur de la barre verticale. La ligne horizontale en pointillé représente le seuil d'assignation placé à 0.9 dans cette étude. « chep1 » correspond à « Caille des Blés » ; « chep2 » correspond à Caille japonaise ; « F1 » et « Fx » correspondent à hybride de 1^{ère} et x^{ème} génération respectivement. « B1 », « B2 » et « B3 » correspondent au rétrocroisement de 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} génération respectivement.

Après échanges avec le fournisseur de ces lots, les échantillons de ce deuxième lot d'individus comportaient pourtant d'une part une répétition des individus assignés à l'espèce *Coturnix coturnix* lors de l'analyse du premier lot et d'autre part des individus issus d'accouplements entre Cailles des Blés. Pour l'heure, aucune explication satisfaisante n'a été produite permettant d'expliquer ce résultat malgré de multiples vérifications pour détecter une éventuelle erreur de traçabilité ou d'analyse. Des discussions sont toujours en cours avec le partenaire pour tenter d'éclaircir les raisons de ces résultats contrastés.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Deux rapports d'analyse complet, à ce stade confidentiel, ont été produits.

Références bibliographiques citées :

Rouger R., Brard-Fudulea S., Thébault N., Pitel F., Vignal A., Bed'hom B., Rognon X., Lumineau S., Guémené D. -2019- *Développement d'un panel de marqueurs SNP pour détecter l'hybridation entre la Caille des Blés et la Caille Japonaise*. Actes des Journée de la Recherche Avicole 2019.

Rouger R., Villers, A., Guémené, D., Eraud, C. -2020- Evaluation du niveau d'introgession génétique de *Coturnix japonica* dans les populations naturelles de *C. coturnix* en France. Rapport conjoint SYSAAF-OFB.

Développement de la reproduction en volière des cheptels de perdrix en sélection (*Alectoris rufa* et *Perdix perdix*): optimisation des conditions d'élevage des reproducteurs et mise au point des outils moléculaires de suivi du pedigree (Programme RufAssign)

Objectifs et état de l'art :

Il s'agit ici de développer un panel SNP pour la perdrix rouge permettant de réaliser à la fois l'assignation de parenté, le sexage précoce et l'analyse de pureté par rapport à la Choukar, ainsi qu'un panel SNP pour la perdrix grise permettant de réaliser l'assignation de parenté et le sexage précoce. Ce développement de panels est associé à la définition des conditions d'utilisation de l'assignation de parenté, en optimisant les effectifs de reproducteurs placés en volières. (L'ensemble de ce programme dénommé RufAssign est en partie financée par la Région Pays de la Loire)

Chez la perdrix rouge (*Alectoris rufa*) comme chez la perdrix grise (*Perdix perdix*), aucun outil d'assignation de parenté n'est disponible. Des marqueurs SNP ont été identifiés chez ces deux espèces de perdrix dans un précédent projet (SNPgibiers), autofinancé par l'entreprise Gen'Ethic. Le séquençage Rad-seq en pools d'animaux issus des populations de gibiers élevées par Gen'Ethic a abouti à la production par une équipe du CNRS de listes de marqueurs comptant 3222 et 2179 SNP pour la perdrix grise et la perdrix rouge respectivement. Chez la perdrix rouge et la perdrix grise, la conception d'un outil d'assignation de parenté à partir des listes de SNP produites est un préalable à réaliser pour tester la faisabilité de la reproduction en volière. Les outils génomiques ont aussi d'autres intérêts : les marqueurs SNP peuvent être utilisés pour le sexage précoce (permettrait la mise en groupe des futurs reproducteurs sans erreur de sexage), ou encore pour caractériser la pureté d'un individu (Rouger et al., 2019). Chez la perdrix rouge, une vérification de la pureté (absence d'allèles Choukar) est nécessaire pour la commercialisation sur certains marchés. Des marqueurs existent sur un panel dédié (panel ARC & Fedenca, Vallance et al., 2006), mais son coût limite son utilisation à la réalisation de sondages parmi les animaux sélectionnés, et une nouvelle liste de marqueurs vient d'être proposée (Broggini et al., 2020)

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Plusieurs verrous sont à lever avant de pouvoir réaliser la reproduction des cheptels de sélection en volière. Actuellement, l'élevage en couple des perdrix permet de maîtriser les accouplements, et de s'assurer que chacun des reproducteurs aura des descendants dans la génération suivante. Le passage à la reproduction en volière n'offre pas cette garantie. Des travaux sur une autre espèce avicole (Calus et al., 2019) ont permis d'observer que la contribution des mâles dans la descendance était inégale, avec des mâles fortement contributeurs, et d'autres mâles peu ou pas représentés. Or, les choix des reproducteurs sont réalisés par recuit simulé (Chapuis et al., 2016) sur la base des valeurs génétiques des candidats et de leur niveau d'apparement, afin de concilier amélioration génétique et conservation de la diversité. Le risque avec le passage à la reproduction en volière est double : observer dans la descendance une évolution génétique différente de celle visée, et ne pas retrouver dans la descendance la totalité de la diversité présente chez les animaux mis en reproduction. Par ailleurs, il y a peu de données disponibles sur les performances de reproduction des perdrix élevées en volières. Un préalable à la généralisation de la reproduction des perdrix sélectionnées en volière est donc la vérification de leurs performances de reproduction, et l'optimisation des effectifs et du sex-ratio des animaux mis en reproduction par volière, afin d'assurer la représentation dans la descendance du maximum des reproducteurs sélectionnés.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Les résultats de génotypage des perdrix rouges mises en volière pour la reproduction en 2021 (cf. Rapport annuel 2021) ont été analysés, ainsi que ceux de leurs descendants. Les données ont été filtrées sur leur qualité : maximum 10% de données manquantes par individu, maximum 5% de données manquantes par SNP. Ces filtres ont éliminé 5% des parents potentiels, ce qui est à prendre en compte dans l'interprétation des résultats de l'assignation de parenté, en revanche tous les marqueurs ont pu être conservés. Le taux d'assignation obtenu tous parcs confondus est de 90,2%. Le tableau suivant indique le nombre de reproducteurs représentés dans la descendance dans les trois volières exploitables. Ces résultats montrent d'une part que seule une partie des animaux mis en volière ont effectivement des descendants, et d'autre part que la perdrix rouge n'est pas une espèce monogame.

Nb reproducteurs en volière	35 M + 50 F	50 M + 50 F	50 M + 50 F
Nb pères représentés dans la descendance	19	26	29
Nb mères représentées dans la descendance	35	32	33
Nb couples différents	48	60	55

Chez la perdrix grise, les animaux mis en volière pour la reproduction n'ont finalement pas été génotypés, car un arrêt de ponte très précoce a empêché s'obtenir des descendants. Une nouvelle reproduction en volière de la perdrix grise sera conduite en 2023 afin de tenter d'améliorer les résultats zootechniques.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Les résultats produits en 2022 dans RufAssign ont permis de montrer que d'un point de vue zootechnique, la reproduction en volière semble possible pour la perdrix rouge, mais des améliorations sont à apporter pour permettre la reproduction de la perdrix grise. Le panel d'assignation de parenté développé pour la perdrix rouge permet d'atteindre un taux d'assignation satisfaisant dans un contexte où des parents sont manquants. Les résultats de l'assignation de parenté démontrent que dans les conditions de l'expérimentation, la perdrix rouge n'est pas monogame.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Brard-Fudulea, S., Rouger, R., Tricoire, S. 2022. RufAssign : Première assignation de parenté par panel SNP sur des perdrix rouges accouplées en volière. 5èmes Journées Techniques Interfilières du SYSAAF. 4-5 octobre 2022. (Présentation orale)

Références bibliographiques citées :

Broggini, C., Membrillo, A., Carranza, J., 2020. An open platform system based on SNP type genetic markers for discrimination between *Alectoris rufa* and *Alectoris chukar*. *Molecular and Cellular Probes* 101673. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2020.101673>

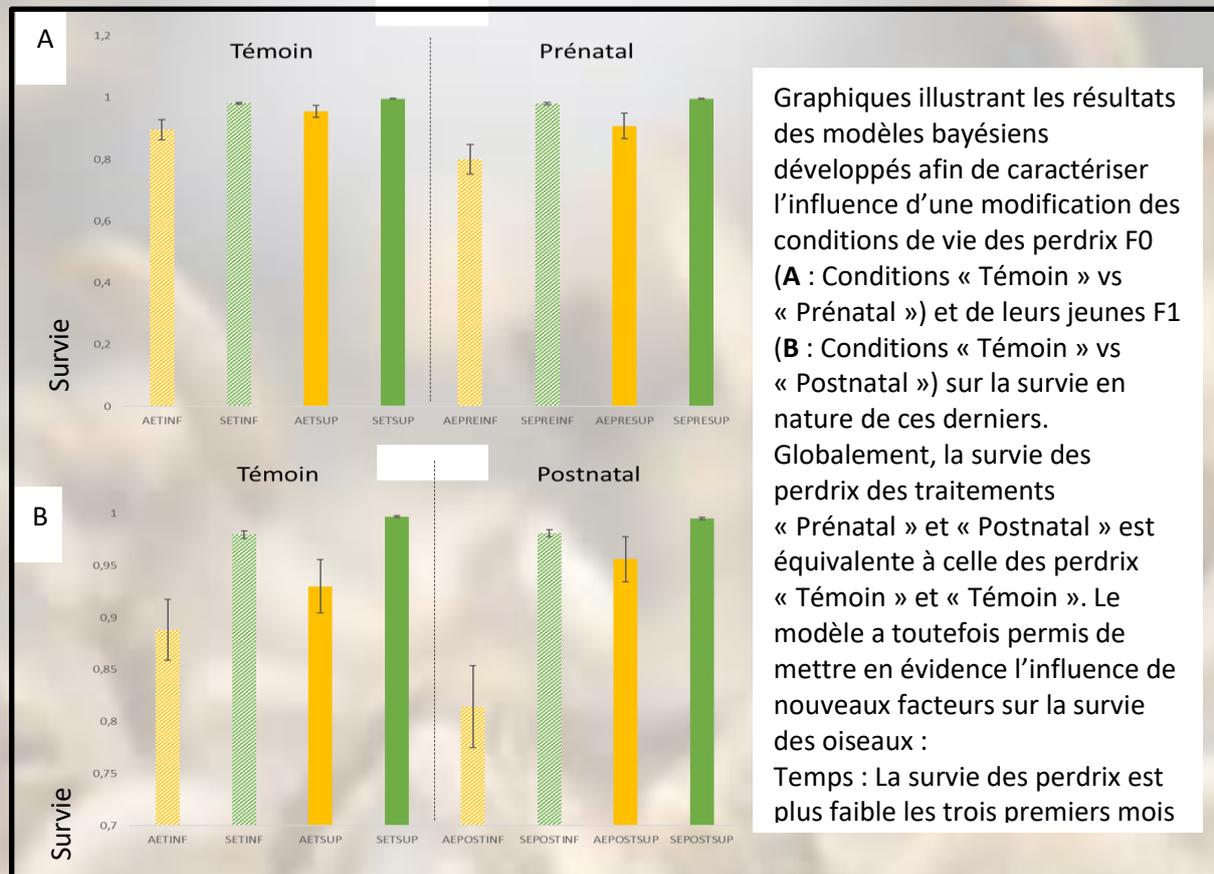
Calus, M.P.L., Vandenplas, J., Hulsege, I., Borg, R., Henshall, J.M., Hawken, R., 2019. Assessment of sire contribution and breed-of-origin of alleles in a three-way crossbred broiler dataset. *Poultry Science* 98, 6270–6280. <https://doi.org/10.3382/ps/pez458>

Chapuis, H., Pincent, C., Colleau, J.J., 2016. Optimizing selection with several constraints in poultry breeding. *J Anim Breed Genet* 133, 3–12. <https://doi.org/10.1111/jbg.12178>

Rouger, R., Teissier, M., Brard-Fudulea, S., Thébault, N., Riquet, J., Leroux, S., Vignal, A., Bed'hom, B., Rognon, X., Lumineau, S., Diot, C., Alletru, B., Cornil, M., Bouleau, P., Blanchet, M., Le Mignon, G., Demeure, O., Guémené, D., 2019. Practical applications of genomic assignment methods in the avian breeding industry. Presented at the European Symposium on Poultry Genetics, Prague

Vallance, M., Queney, G., Soyez, D., Ricci, J.-C., 2006. Mise au point et validation d'un système de marqueurs génétiques pour les perdrix rouges hybrides (ONCFS Rapport scientifique 2006).

Compréhension et optimisation des comportements d'adaptation du gibier à plume - Analyse de la survie des perdrix (Programme GibAdapt)



Objectif et état de l'art :

Démarré en 2018, le programme Gibadapt (Charrier M., 2021) visant à mieux comprendre et à optimiser les comportements d'adaptation du gibier à plume, se poursuit jusqu'en 2023. Les résultats obtenus jusque-là sur la perdrix rouge n'avaient pas encore pu être analysés de façon complète et synthétique. L'objectif des travaux de 2022 sur la perdrix était notamment de :

- quantifier les effets des conditions de vie des perdrix sur leur survie en combinant l'ensemble des données récoltées en nature entre 2020 et 2021 (prélèvements à la chasse, captures au printemps n+1, télémétrie) dans un modèle bayésien développé récemment (Homerger et al. 2014), en collaboration avec le Dr Pascaline Le Gouar (ECOBIO_ UMR 6553),
- Compléter les analyses comportementales réalisées chez les perdrix juvéniles en caractérisant la néophobie et les comportements anti-prédateurs des perdrix adultes,
- finaliser les analyses neurophysiologiques précédemment initiées (*i.e.* analyse de la composition hormonale des œufs et des niveaux d'expression de certains gènes dans le cerveau des oiseaux) afin de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans l'expression des comportements observés.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Le développement du modèle de survie a nécessité la création d'un fichier global combinant sur 6 mois, les données hebdomadaires de survie et de mortalité de 1200 oiseaux récoltées selon trois méthodes différentes : prélèvements à la chasse, captures au printemps n+1, télémétrie). Le modèle bayésien développé a permis d'uniformiser les résultats obtenus sur les analyses déjà réalisées

indépendamment pour chaque méthode de suivi et à confirmer de façon consolidée l'absence d'effets visible des conditions de vie des perdrix sur leur survie.

Globalement, aucun effet des traitements n'a été mis en évidence lors des analyses comportementales effectués chez les perdrix adultes contrairement à ce que nous avons mis en évidence chez les perdrix juvéniles. Ce résultat suppose une absence d'effets à long-terme de nos traitements. Enfin, les analyses neurophysiologiques réalisées en collaboration avec l'Université de Médecine Vétérinaire de Vienne et l'INRAE de Nouzilly ont permis de mettre en évidence des modulations de la composition oestrogénique des œufs ainsi que des modulations dans l'expression de gènes de facteurs de croissance dans le cerveau en fonction des conditions de vie des oiseaux testés. Ces résultats nous permettent donc de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans l'expression des comportements préalablement observés chez les oiseaux juvéniles.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

La compréhension du rôle des influences maternelles sur plusieurs générations de descendants permet aujourd'hui d'imaginer des modifications de pratique d'élevage en vue de l'amélioration du bien-être des oiseaux en captivité et de leur meilleure adaptation en nature. Ce travail est donc particulièrement précieux pour la filière d'élevage de gibier qui progressivement peut faire évoluer les pratiques d'élevage dans un but d'améliorer la survie en nature des animaux.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Charrier, M., Lumineau, S., Georgelin, M., Meurisse, M., Palme, R., Angelier, F., Cornilleau, F., Constantin, P., Coustham, V., Nicolle, C., Bertin, A., Darmaillacq, A.-S., Dickel, L., Guémené, D., Calandreau, L., Houdelier, C., 2022. Prenatal maternal stress is associated with behavioural and epigenetic changes in Japanese quail. *Psychoneuroendocrinology*. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2022.105661>

Charrier, M., Bailly, A., Ricci, J.-C., Reverchon, M., Guémené, D., Calandreau, L., Houdelier, C. (2022). Effets parentaux inter- et multigénérationnels sur les comportements adaptatifs de la perdrix rouge. 51ème colloque de la Société Française pour l'Etude du Comportement Animal, 31 Mai - 2 Juin 2022, Clermont-Ferrand, France.

Charrier, M., Lumineau, S., George, I., Meurisse, M., Georgelin, M., Palme, R., Angelier, F., Coustham, F., Nicolle, C., Bertin, A., Darmaillacq, A.-S., Dickel, L., Guémené, D., Calandreau, L., Houdelier, C. (2022). When ancestors transmit their stress prenatal maternal stress transmission across generations in a precocial bird. 5th International Student Course in Behavioural Biology, 8-9 Septembre 2022, Nanterre, France.

Charrier, M., Lumineau, S., George, I., Meurisse, M., Georgelin, M., Palme, R., Angelier, F., Coustham, F., Nicolle, C., Bertin, A., Darmaillacq, A.-S., Dickel, L., Guémené, D., Calandreau, L., Houdelier, C. (2022). When ancestors transmit their stress prenatal maternal stress transmission across generations in a precocial bird. *Animal Behaviour Live*, 17-18 Novembre 2022.

Charrier M., 2022. Le projet Gibadapt Le chasseur vendéen n°110

Charrier, M. (2022). Le projet GibAdapt - Optimisation des comportements d'adaptation du gibier d'élevage. Bilan des résultats. Conseil d'administration de la Fédération Départementale des Chasseurs de la Vendée, 25 Mai 2022, La Roche-sur-Yon, France.

Références bibliographiques citées :

Charrier M., 2021. Rôle des influences maternelles prénatales sur le développement des descendants, sa transmission épigénétique et ses conséquences adaptatives. Thèse de l'université de Rennes 1, 336p.

Homberger B., Jenny L., Duplain J., Lanz M., Schaub M. 2014. Food unpredictability in early life increases survival of captive grey partridges (*Perdix perdix*) after release into the wild. *Biological Conservation*, 177, 134-141.

1.1.2. Aide à la sauvegarde de l'agro biodiversité *ex situ*

Face au risque grandissant de perte d'agro biodiversité, risque associé à la pression économique, à la généralisation d'épidémies de plus en plus sévères (e.g. épidémie d'Influenza Aviaire Hautement Pathogène, IAHP), à l'accélération du changement climatique, ... La sauvegarde de l'agro biodiversité peut bénéficier efficacement de l'amélioration des méthodes de sauvegarde *ex situ* par cryopréservation.

En 2022, 2 grands types d'action ont été conduites sur cette thématique :

- la mise en place méthodologique et technique, dont celle de la congélation programmable, et l'application à la cryopréservation sur de nouvelles espèces ou races (sur la perche, les esturgeons, en palmipèdes et en *Gallus* souche B12),
- des tests spécifiques de validation de l'efficacité des procédés développés et de réutilisation *in situ* de semences cryopréservées (en poule et en huitre).

Mise au point d'un protocole de cryoconservation de la semence de perche *Perca fluviatilis*

Objectifs du projet et état de l'art :

Un protocole de cryopréservation de sperme de perche *Perca fluviatilis* existait avant les travaux présentés ici (Żarski *et al* 2017). Cependant, ce protocole impliquait la préparation de solution de cryopréservation complexes, possible en laboratoire mais difficile à transférer sur le terrain. L'objectif de ce projet était donc de tester un dilueur de préservation et un protocole de cryopréservation adapté à l'entreprise Lucas Perches, qui devait donc répondre à trois critères : (1) facilité de manipulation (2) accessibilité la plus simple que possible dans le commerce des solutions utilisées et (3) robustesse et reproductibilité du protocole. Ce travail entre dans la poursuite du PIA4 (Plan Investissement Avenir) CRBanim clos en 2022.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Un dilueur de semence pour poisson déjà commercialisé et utilisé pour d'autres espèces a été testé car, s'il s'avérait efficace, il permettrait de remplir les objectifs fixés. Trois dilutions (A, B, C) ont été testées (gardées confidentielles à ce stade dans ce rapport). La semence de 5 males et 5 néomales a été congelée pour ces trois conditions. La motilité a été mesurée après décongélation (bain marie 10s, 37°C) au CASA (IVOS 2) et dilution au 120ème dans de l'Actifish 1X.

Les motilités obtenues étaient inférieures à 0.4% pour la condition C, 0% pour la condition B et de 3.3 à 10% pour la condition A. Aucune différence entre sperme de males et de néomales n'a été constatée. Quelques paillettes de sperme congelées en condition A ont été utilisées pour féconder des œufs, avec succès. Malheureusement, un incident technique n'a pas permis de mener le comptage du taux d'éclosion jusqu'à son terme.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Ces résultats permettent d'envisager la mise en place de congélation de sperme en routine chez la perche, permettant de sécuriser l'amélioration génétique et de maintenir à long terme la diversité génétique existante. La valorisation et la diffusion de ces travaux restent à ce stade interne au SYSAAF et à l'entreprise concernée.

Références bibliographiques citées :

Żarski, D., Horváth, Á., Bernáth, G., Krejszeff, S., Radóczy, J., Palińska-Żarska, K., ... & Urbányi, B. (2017). Controlled reproduction of wild Eurasian Perch: a hatchery manual. Cham, Switzerland: Springer International Publishing.

Evolutions techniques pour la gestion et l'utilisation de la cryobanque CRYOQUA

Objectifs du projet et état de l'art :

Depuis 2012, et suite à diverses actions de R&D en partenariat avec l'INRAE soutenues par la Région Bretagne et le Ministère de la Recherche (Maisse *et al.*, 1998 ; Suquet *et al.*, 2010, Fauvel *et al.*, 2012 ; Suquet *et al.*, 2014, Labbé *et al.*, 2018), le SYSAAF a formalisé la création d'un service de

cryoconservation des ressources génétiques aquacoles ouvert à ses entreprises adhérentes sous la forme de la cryobanque des espèces aquacoles CryoAqua (St Aubin du Cormier, 35). Ce service, développé en partenariat avec l'INRAE, l'Ifremer et le GIS Cryobanque Nationale, a été délégué à la coopérative d'insémination artificielle URCEO devenue en 2022 Synetics (leader européen de la sélection bovine). Le SYSAAF assure la coordination des interactions entre les partenaires. Dans le cadre de programmes de recherche, en particulier les programmes Biogerm (FEAMP) et CRB Anim (PIA4), les partenaires élaborent et valident des améliorations des protocoles de congélation de semences ou d'embryons (larves) qui peuvent ensuite être transférés à Synetics pour être appliqués aux espèces d'intérêt. L'objectif de cette action est donc de sécuriser les investissements en sélection des espèces aquacoles par la cryoconservation des nouvelles générations de sélection et de faciliter l'utilisation de reproducteurs améliorés.

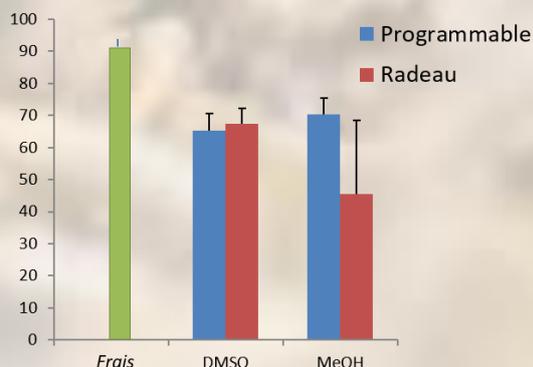
Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Les aléas des travaux reposent sur la disponibilité d'animaux aux stades attendus de maturation sexuelle et à la disponibilité en gamètes de bonne qualité. La mise en place d'une structure de cryoconservation *ex situ* suppose aussi que les échanges entre les entreprises de sélection et cette structure soient encadrés et réalisés selon des procédures afin de permettre le transport de produits vivants en frais ou sous forme congelée. Les travaux visant l'amélioration de ces procédures ou le développement de nouvelles procédures par exemple pour de nouvelles espèces s'inscrivent dans ce contexte et ses objectifs et sont dépendants des mêmes aléas.

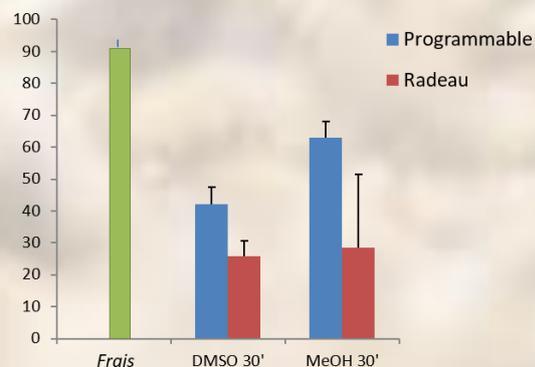
Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

En 2022, les travaux de R&D conduits, dans le cadre des projets de recherche publics CRB Anim concernent la cryoconservation des ressources génétiques de 2 espèces d'esturgeon sibérien *Acipenser baeri* et russe et *A. gueldenstatdii*, essais et validation d'une procédure de congélation de la semence de truite en congélateur programmable, contrôles de motilité de semences des 3 premières lignées commerciales d'huitre creuse congelées en 2021. Les travaux dans le cadre du projet BIOGERM (FEAMP) de validation de l'utilisation d'un congélateur programmable ont montré des résultats similaires en radeau ou en congélateur programmable si la congélation est réalisée rapidement mais un intérêt à la congélation en congélateur programmable pour un délai d'attente de l'ordre de 30' avant congélation et de meilleurs résultats avec le méthanol comme cryoprotecteur avec un délai d'attente avant congélation de 30'.

A) Congélation juste après la fin de la soudure des paillettes



B : Congélation 30' après la fin de la soudure des paillettes

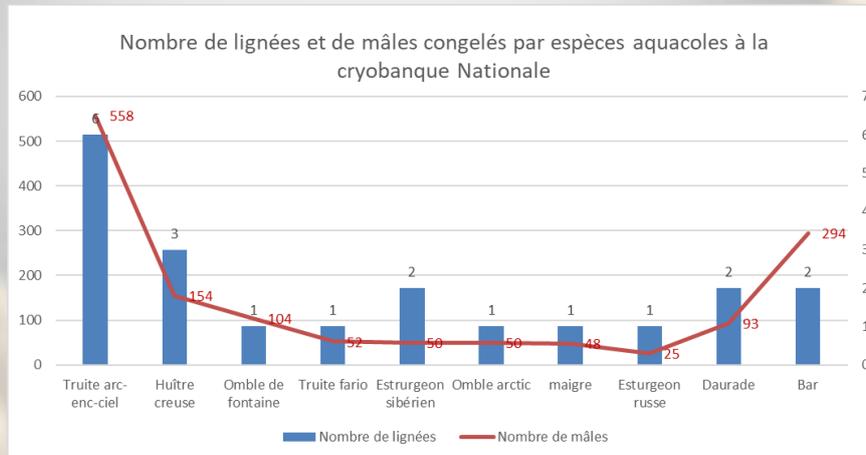


Interaction entre temps d'attente avant congélation, mode de congélation sur radeau ou en congélateur programmable et du cryoprotecteur (Labbé et al., 2022, JTIF SYSAAF, FEAMP Biogerm)

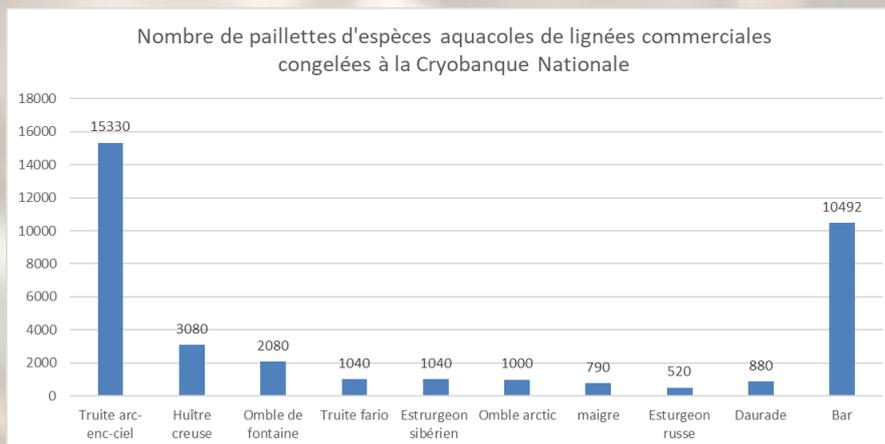
Le transfert de ces résultats est envisagé courant 2023 mais implique l'équipement de la cryobanque CryoAqua d'un congélateur programmable.

En 2022, 24 opérations de congélation et/ou de sorties de matériel (semences) ont été réalisées pour 8 entreprises de sélection pour du bar, l'esturgeon sibérien, la daurade et la truite arc-en-ciel. 20658 paillettes ont été congelées pour 538 mâles.

Le graphe suivant rapporte le nombre total cumulé de mâles congelés par espèces et de lignées depuis l'initiation de la cryobanque CryoAqua



Le graphe suivant détaille le nombre de paillettes congelées par espèce.



Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Les travaux d'optimisation des procédures de congélation et l'appui technique à la société Synetics pour les mettre en œuvre constitue une des rares application à l'échelle européenne de la cryoconservation de ressources génétiques aquacoles à but commercial. Le caractère multi spécifique et collectif de ces mises au point et de ce service concourent à la sécurisation de la filière mais aussi à l'amélioration de la valorisation des génétiques les plus intéressants en permettant leur congélation et leur application plus élargie en multiplication commerciale.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

La valorisation des mises au point est effectuée via l'accord de partenariat avec la société Synetics pour les entreprises adhérentes au SYSAAF. Une présentation des avancées techniques a été réalisée lors des Journées Techniques Inter-Filière du SYSAAF le 4 et 5 octobre 2022 par C. Labbé (INRAE ; Biogerm (FEAMP) : Congélation en congélateur programmable du sperme de truite arc-en-ciel (Catherine Labbé, INRAE).

Références bibliographiques citées :

Maisse G., Labbé C., Ogier de Baulny B., Leveroni Calvi S. and Haffray P., 1998. Cryoconservation du sperme et des embryons de poissons. *INRA Production Animale*, 11 (1) : 57-65.

Suquet M., Labbé C., Brizard R., Donval A., Le Coz J.R., Quere C., Haffray P., 2010. Changes of motility, ATP content, morphology and fertilisation capacity during the movement phase of diploid and tetraploid Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) sperm. *Theriogenology*, 74 (1), 111-117.

Fauvel, C., Boryshpolets, S., Cosson, J., Leedy, J.W., Labbé, C., Haffray, P., Suquet, M., 2012. Improvement of seabass sperm chilled conservation by the use of a cell culture medium. *J. Appl. Ichthyol.*, 28, 961–966. <https://doi.org/10.1111/jai.12071>

Suquet M, Labbé C, Puyo S, Mingant C, Quittet B, Boulais, M., Queau, I., Ratiskol, D., Diss, D., Haffray, P., 2014. Survival, Growth and Reproduction of Cryopreserved Larvae from a Marine Invertebrate, the Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*). *PLoS ONE* 9(4): e93486. doi: <https://10.1371/journal.pone.0093486>

Labbe, C., Haffray, P., Mingant, C., Quittet, B., Diss, B., Tervit, R., Adams, S., Rimond, F., Suquet, M., 2018. Cryopreservation of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) larvae: revisiting the practical limitations and scaling up the procedure for application to hatchery. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.01.023>

Développement et mise au point de protocoles de cryoconservation de la semence de palmipèdes et de poule

Concernant les interactions entre les projets de R&D du SYSAAF et la gestion de la cryobanque des espèces aviaires, plusieurs travaux de mises au point et de congélation ont été poursuivis en 2022, dans la suite du programme CRBanim (PIA4). En particulier, la mise en place d'une cryopréservation de lignée *Gallus* expérimentale a pu être menée avec succès. La lignée B12 INRAE est une lignée congénique présentant une résistance à la maladie de Mareck. Seuls trois mâles de cette lignée étaient maintenus sur pied. La congélation de la semence a été réalisée en sperme mélangé avec le cryoprotecteur glycérol (procédure de la cryobanque nationale) de décembre 2022 à février 2023. Sur cette période, 10 campagnes de congélation ont été effectuées permettant de mettre en stock 74 paillettes de cette lignée.

Cependant si les procédures de congélation de semences en *Gallus* existent, bien que peu optimisées encore, les procédures de congélation de spermatozoïdes de palmipèdes nécessitent d'être reprises totalement. Aujourd'hui, dans un contexte de crises Influenza Aviaire de plus en plus fréquentes sur le territoire Français et en Europe, il est nécessaire de pouvoir sécuriser les lignées génétiques grands-parentales et parentales des sélectionneurs palmipèdes afin de garantir la fourniture de canetons aux éleveurs. Lors de la crise 2021-2022 et au 23 juin 2022, la France comptait 1 378 foyers d'influenza aviaire hautement pathogènes chez les animaux domestiques, 72 chez les animaux sauvages et 35 dans les basses-cours. En 2021, l'influenza aviaire a malheureusement affecté des cheptels de palmipèdes parentaux utilisés par les entreprises de sélection dans les croisements pour produire les canetons d'un jour vendus aux éleveurs. Afin d'assurer la sauvegarde du patrimoine génétique des sélectionneurs de palmipèdes français, il est donc impératif de sécuriser ces ressources génétiques.

Objectifs du projet et état de l'art :

L'objectif de ce projet de recherche est de mettre au point un protocole de cryopréservation optimisé de la semence de palmipèdes pour assurer la sauvegarde du patrimoine génétique français. Les espèces concernées sont : le canard pékin, le canard de barbarie et l'oie.

Au cours de ce projet dénommé *PalmiGel*, déposé en 2022 pour cofinancement par l'Interprofession (CIFOG), un protocole de cryopréservation de la semence de palmipèdes (canard pékin, barbarie et jars) sera mis au point, testé et validé.

Ce projet permettra aussi d'approfondir les connaissances sur les méthodes de cryopréservation de la semence aviaire.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

En 2022, les travaux ont consisté en une reprise des travaux bibliographiques pour en extraire les plus pertinents (Lukaszewicz *et al.* 2004 ; Penfold *et al.*, 2001 ; Taskin *et al.*, 2020) et des protocoles anciens, ainsi qu'en la rédaction et la préparation du protocole terrain.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

L'intérêt pour la filière de l'utilisation de semences congelées dans un contexte de fragilité sanitaire n'est plus à démontrer. Ce projet a pour but de rattraper les retards pris dans l'élaboration de procédures adaptées au besoin de sauvegarde des ateliers de sélection. Le programme *PalmiGel* en sera une première étape.

Références bibliographiques citées :

E. Lukaszewicz, M. Chrzanowska, A. Jerysz, B. Chełmonska. 2004 Attempts on freezing the Greylag (*Anser anser* L.) gander semen Animal reproduction Science, 163-173
L. M. Penfold, V. Harnal, W. Lynch, D. Bird, S. R. Derrickson and D. E. Wildt. 2001. Characterization of Northern pintail (*Anas acuta*) ejaculate and the effect of sperm preservation on fertility. Reproduction, 267-275.
A. Taşkın, F. Ergün, U. Karadavut, D. Ergün. 2020. Effects of Extenders and Cryoprotectants on Cryopreservation of Duck Semen. Turkish Journal of Agriculture, 1965-1970.

Au-delà des techniques de congélation, une série de travaux sont aussi nécessaires pour valider régulièrement la qualité des semences cryopréservées obtenues, et la capacité de reconstitution de cheptel. C'est cette deuxième série de travaux qui est présentée dans les chapitres suivants.

Tests de motilité après congélation de sperme d'huître

Objectifs du projet et état de l'art :

L'un des enjeux majeurs du projet CRB-Anim est la préservation et la caractérisation de la diversité génétique présente chez les races domestiques. Des protocoles ont déjà été développés pour la congélation du sperme d'huître, notamment dans le cadre du projet CRYOYSTER (Brizard *et al.*, 2004). Malgré les tests et validation de protocoles de prélèvements, congélation et décongélation établis lors de précédents projets de recherche, il était nécessaire de reprendre des tests considérant l'évolution des pratiques d'élevage. Les tests de motilités après décongélation réalisés sur les dernières congélations opérées dans le cadre de CRB-Anim devaient donc permettre de contrôler l'adéquation des protocoles disponibles avec les pratiques actuelles dans les écloséries.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Du sperme d'huître a ainsi été prélevé aux printemps 2020 et 2021 chez 3 sélectionneurs d'huîtres adhérents au SYSAAF, dans des conditions de production. 20 paillettes par mâle ont été congelées et stockées à la Cryobanque Nationale. Pour chaque mâle, 2 paillettes supplémentaires ont été fabriquées et stockées en azote liquide pour valider le protocole de cryoconservation jusqu'à la décongélation. En 2022, des tests de motilité ont été réalisés pour contrôler la qualité des semences congelées. Les paillettes de 12 à 15 mâles ont été testées par entreprise selon les procédures élaborées dans le projet CRYOYSTER. En l'absence de mesure de concentration en spermatozoïdes lors des prélèvements et des congélations, des facteurs de dilution de 1/2 à 1/16 ont été testés afin d'ajuster une concentration adaptée pour l'appareil de mesure.

Les dilutions utilisées sont variables selon les mâles et les sélectionneurs, traduisant des concentrations en spermatozoïdes hétérogènes, même parmi les mâles d'un même sélectionneur. Malgré des différences notables de concentrations en spermatozoïdes dans les paillettes entre les écloséries, variant de 0,0% à 3,9% et probablement dues à la période de prélèvement et aux protocoles de maturation artificielle propre à chaque entreprise, des spermatozoïdes motiles ont été observés pour la majorité des mâles testés. Des taux de motilité mesurés, même limités, restent néanmoins favorable à l'utilisation du sperme congelé pour des fécondations s'ils sont supérieurs à 2%, tel que

rapporté par Brizard *et al.* (2004). Des tests de fécondance sont à l'étude pour valider la totalité du process.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

La conservation des spermatozoïdes par congélation peut aujourd'hui être mise en place au sein des éclosiers pour sécuriser le progrès génétique de leurs cheptels en sélection ou optimiser son utilisation en production.

Références bibliographiques citées :

Brizard, R., Bernardi, M., Boudry, P., Haffray, P., Labbe, C., Maisse, G., Maurouard, E., Robert, R., Roger, J.-L., 2004. Projet CRYOYSTER : Optimisation, standardisation et validation de la congélation de laitance d'huître creuse *Crassostrea gigas* à des fins de conservation et de diffusion génétique - Appel d'offre de l'OFIMER du 8 Novembre 2001 - Rapport final (No. Convention OFIMER n°009/03/C-Convention de partenariat Ifremer/INRA/SYSAAF n° 03:5 210 093).

Essai terrain de décongélation et insémination artificielle de semence de *Gallus gallus* stockée en cryobanque (CRB-Anim)

Objectifs du projet et état de l'art :

Dans le cadre du projet CRB-Anim, le SYSAAF avait pour mission de remplir les tâches relatives au WP2 et WP7. Parmi ces tâches, l'une d'entre elles consistait à utiliser des stocks de semence de la Cryobanque Nationale pour tester une réintroduction de reproducteur dans des cheptels de race locale et d'estimer le nombre de descendants que nous pouvons obtenir suite à des inséminations après décongélation de la semence. L'idée étant d'effectuer une preuve de concept de l'utilisation de la semence congelée pour une application terrain dédiée aux races locales.

Il s'agit en fait d'une véritable première, car malgré la congélation de semence en *Gallus* depuis de nombreuses années, aucune de ces semences n'avait été réimplantée *in situ* en élevage de sélection.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Pour remplir cet objectif, le SYSAAF a travaillé avec le Centre de Sélection de Béchanne qui a pour vocation la sélection génétique et la conservation des races avicoles locales françaises. En concertation avec INRAE et la Cryobanque Nationale, le choix s'est porté sur trois races locales : la lignée B99, la Cou Nu du Forez et la B11. La semence de 10 coqs a été testée par lignée. Trois paillettes ont été décongelées par coq permettant de couvrir entre 4 à 6 femelles par coq. Des femelles d'une lignée B55 âgées de 40 semaines et virginisées d'au moins 3 semaines ont été inséminées. 3 inséminations successives à 200 millions de spermatozoïdes/ml ont été réalisées à J1-J2 et J4.

En moyenne par lignée, les taux de fertilité obtenus sont de 28.1% pour la lignée B99, 35.5% pour la lignée CNF et 48.6% pour la lignée B11.

Le succès de cette preuve de concept permet d'envisager l'usage de semences cryopréservées en élevage et d'estimer le nombre de paillettes nécessaire à stocker pour restaurer une race. Cependant la lourdeur du protocole actuel, ainsi que les taux de succès limités sont préjudiciables à une utilisation à grande échelle.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

La réalisation de cette preuve de concept d'insémination en élevage de race locale apporte l'assurance que la cryopréservation est un outil fonctionnel pour la restauration de génotype.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Une toute première présentation des résultats a été réalisée lors de l'Assemblée générale du SYSAAF, le 10 juin 2022, à Monthieux (01390). Reverchon M. CRBanim : décongélation de paillettes de coqs et insémination en élevage. 10 Juin 2022, Monthieux.

Puis une présentation plus complète a été réalisée lors des Journées Techniques Inter Filières du SYSAAF à Rennes. Reverchon M. CRBanim : décongélation de paillettes de coqs et insémination en élevage. 5 octobre 2022, Rennes.

1.2. La gestion de la diversité intra race ou intra lignée

La gestion de la diversité intra race passe par la maîtrise des accouplements, le contrôle de la parenté et de la consanguinité. Si cette maîtrise a longtemps été atteinte grâce à la gestion des pedigrees des populations en sélection, cette solution n'a pas ou n'est pas encore utilisable pour toutes les espèces ou tous les systèmes d'élevage. L'autre solution qui existe depuis quelques années maintenant consiste à développer des panels d'assignation via l'utilisation de SNP (Single Nucleotide Polymorphisms). En fonction des espèces et des races ce développement s'avère plus ou moins complexe et long. En 2022, plusieurs panels ont pu être développés, pour des races locales de poule et de canard, les esturgeons russes et sibériens, pour la mouche soldat noire, (et d'autres espèces non présentées car les travaux sont confidentiels). Ces développements de panel sont intégrés à des programmes R&D de plus vaste envergure, ou comme pour la mouche soldat noire ont dû faire l'objet d'un programme spécifique nécessitant le séquençage du génome de l'animal.

1.2.1. Mise en place de panel d'assignation ou d'outils génomiques pour la gestion des lignées et races

Génotypage et assignation de parenté chez une lignée de races locales dans le cadre du projet GEroNIMO

Objectifs du projet et état de l'art :

La traçabilité et les protocoles de gestion génétique sont encore balbutiants chez les races locales de volailles. Ce manque de suivi est préjudiciable à court et moyen terme pour ces races. Ainsi, l'inventaire des éleveurs de chacune de ces races est au mieux compliqué et factuellement impossible. Les animaux de races pures peuvent être croisés avec des animaux appartenant à d'autres races, diluant ainsi la singularité génétique de chacune d'entre elles. Enfin, l'absence d'information généalogique augmente la probabilité de croisements entre apparentés, faisant courir le risque d'effets délétères liés à un niveau de consanguinité trop élevé.

Dans le cadre du WP3 du projet européen GEroNIMO, le SYSAAF développe une preuve de concept autour du suivi *in situ* de la diversité génétique d'une race locale de volailles, la Noire de Challans. Un set de 96 marqueurs avait d'ores et déjà été testé sur une population initiale de 56 individus avant le début du projet GEroNIMO (Generation 0, G0) et a permis de démontrer la faisabilité d'une première méthode de gestion *in situ* de la diversité génétique (Rouger *et al.*, 2022).



Coq de race Noire de Challans (Crédit photo : Association pour la sauvegarde et la valorisation de la poule Noire de Challans)

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Lors de ces premières analyses, de nombreux marqueurs s'étaient avérés non résolutifs ou présentaient des profils d'amplification inexploitable (26 marqueurs sur 96). Un set complémentaire de 96 marqueurs a donc été testé sur la population G0 au cours de l'été 2022 afin de compléter le set

de 70 marqueurs déjà existants. Après nettoyage, l'ensemble des marqueurs exploitables présentait des caractéristiques parfaitement compatibles avec leur utilisation dans un cadre d'assignation de parenté (fréquence moyenne de l'allèle minoritaire, $MAF=0.36$, F_{IS} non significativement différent de 0). Un nouveau set de 96 marqueurs a donc été sélectionné en gardant ceux dont la MAF étaient la plus élevée parmi ceux pour lesquels le F_{IS} était compris entre -0.25 et 0.25. La probabilité d'identité et d'exclusion de ces marqueurs étaient de $1,3 \times 10^{-37}$ et >0.9999 respectivement.

Les échantillons sanguins provenant de 101 individus produits en génération 1 (G1) ont été collectés en Juin 2022 et 95 d'entre eux ont été génotypés à l'aide des 96 marqueurs du panel. Une analyse en assignation de parenté a été produite afin de relier chacun des individus G1 à leurs parents en G0. Malheureusement, la parenté de seulement 46 individus G1 a pu être établie sans ambiguïté dû à l'utilisation de mères non génotypées pour le renouvellement de la population. Des parquets d'accouplements ont ensuite été proposés pour les individus G1 sur la base de la distance génétique moléculaire entre individus en suivant la méthode présentée dans Rouger *et al.*, 2022.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ces premiers résultats permettent d'envisager des procédures novatrices de gestion génétique sur le terrain. Des propositions vont être élaborées dans ce sens à l'usage des éleveurs de races locales.

Références bibliographiques citées :

Rouger, R., Deloison, H., Teissier, M., Restoux, G., Guémené, D., Brard-Fudulea, S. ; 2022 – Etablissement d'une stratégie de gestion génétique in situ pour la race locale « Noire de Challans » - Journées de la Recherche Avicole, Tours, 9-10 Mars 2022.

Applicabilité d'un panel de marqueurs génétiques pour les races locales canard de Duclair et Canard de Rouen (projet PalmiP)

Objectifs du projet et état de l'art :

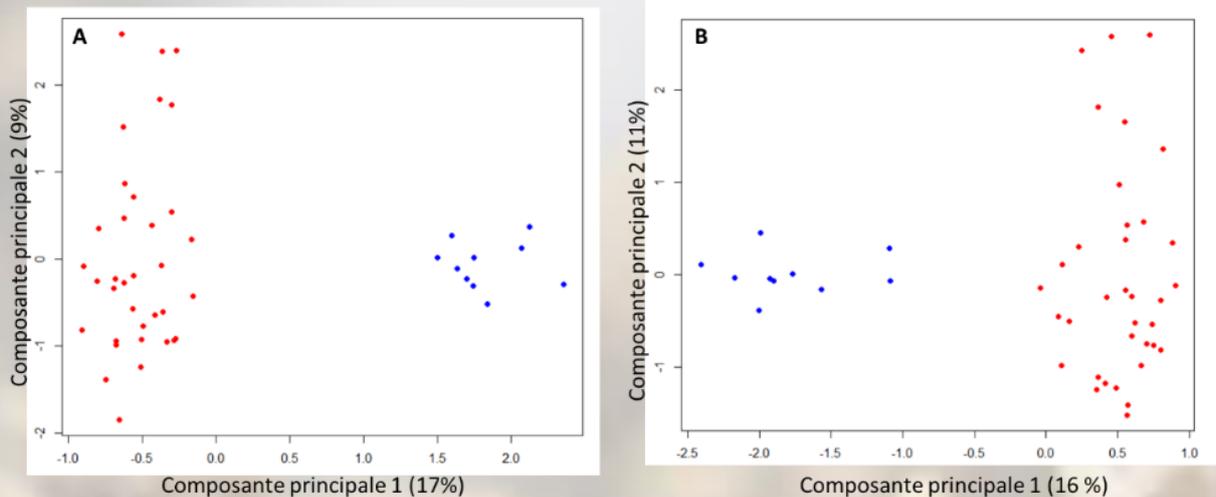
A l'instar de nombreuses races locales de volailles, les races de palmipèdes normands sont maintenues à faibles effectifs dans des populations fragmentées à l'intérieur de leur aire de répartition. Du point de vue génétique, l'effet de la dérive génétique ainsi que la probabilité accrue d'accouplements entre individus apparentés entraînent des effets préjudiciables sur la pérennité de la population dans son ensemble (fixation d'allèles délétères, dépression de consanguinité). Ces risques peuvent être modulés en contrôlant de façon rationnelle les accouplements entre les animaux disponibles du cheptel. Ce type de gestion est néanmoins complexe car la généalogie des animaux composant les noyaux de renouvellement est souvent inconnue. Dans le cadre du projet PalmiP, co-financé par la Région Normandie, le SYSAAF a testé la transférabilité de marqueurs développés dans le cadre du projet AsParCan vers deux races locales normandes : le canard de Duclair et le canard de Rouen.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

A partir d'une liste de 1305 SNP partagés entre les deux espèces canard commun et canard de Barbarie, les amorces de 192 d'entre eux avaient été synthétisés dans le cadre du projet AsParCan pour une utilisation en technologie KASPar. Ces 192 marqueurs ont donc été utilisés pour amplifier l'ADN de 36 individus de canard de Duclair et 10 individus de Canard de Rouen dont le sang a été collecté par Jocelyn Marguerie du CSRAN (Collectif pour la Sauvegarde des Races Avicoles et cunicoles Normandes). Après nettoyage des données, seul un canard de Duclair a été écarté de l'analyse. Seize marqueurs présentaient des profils incompatibles avec l'analyse.

Trois panels de marqueurs ont été définis à partir des 176 marqueurs restants : un panel spécifique au canard de Rouen, un panel spécifique au canard de Duclair et un panel généraliste fonctionnant chez les deux espèces. Pour chacun d'entre eux, le choix des 96 marqueurs a été effectué en sélectionnant ceux dont la fréquence de l'allèle mineure (MAF) était la plus élevée parmi ceux dont le F_{IS} était inclus dans une plage définie (-0.25 à 0.25 pour les panels Duclair et généralistes, -0.3 à 0.3 pour le panel Rouen).

Chacun de ces panels présentait des probabilités d'identité et d'exclusion tout à fait compatible avec leur utilisation en assignation de parenté pour leur race cible. Une assignation de parenté effectuée sur des animaux produits *in silico* a confirmé la performance attendue de ces panels (100% d'assignation correcte). Il est intéressant de noter que le panel généraliste, en plus de correctement assigner les individus à leurs parents respectifs, est également capable de discriminer la race d'origine d'un individu.



Analyse en composante principale représentant la structure génétique des 45 échantillons analysés. Les échantillons de canard de Duclair sont représentés en rouge tandis que les échantillons de canard de Rouen sont représentés en bleu. Entre parenthèse est donné le pourcentage de la variance totale du jeu de donnée expliqué par chacun des axes de l'ACP. A : ACP menée sur la base des 134 marqueurs polymorphes chez les deux races. B : ACP menée sur la base du panel généraliste de 96 marqueurs

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

L'ensemble de ces résultats a été compilé sous forme d'un rapport d'analyse au CSRAN. La préparation de ces panels ouvre la possibilité de gérer la diversité génétique de ces races de palmipèdes d'une façon similaire à ce qui a été proposé par le SYSAAF pour la race de poule Noire de Challans (Rouger *et al.* 2022).

Références bibliographiques citées :

Rouger, R., Deloison, H., Teissier, M., Restoux, G., Guémené, D., Brard-Fudulea, S. ; 2022 – Etablissement d'une stratégie de gestion génétique in situ pour la race locale « Noire de Challans » - Journées de la Recherche Avicole, Tours, 9-10 Mars 2022.

Accompagnement à la production de familles d'esturgeons sibérien et russe pour le développement d'un outil d'assignation à parenté basé sur des marqueurs SNPs

Objectifs du projet état de l'art :

Le projet S'sturgeon (FEAMP) vise à développer les ressources génomiques sur deux espèces d'esturgeons élevées en France, notamment chez deux adhérents du SYSAAF, le russe (*Acipenser gueldenstaedtii*) et le sibérien (*A. baerii*), dans le but de disposer d'une meilleure connaissance du génome de ces espèces. De façon appliquée, le travail sur ces génomes doit permettre de définir un large panel de marqueurs génomiques de type SNP (Single Nucleotide Polymorphism, puce génomique 600K avec 300K spécifiques à chacune des deux espèces) qui conduirait à tester la sélection génomique pour améliorer les critères de production de caviar. En outre, un travail de réduction de ce panel (<500 SNPs) permettrait d'envisager une assignation à parenté à moindre coût dans l'objectif de gérer la

variabilité génétique dans les cheptels et d'être utilisé dans des schémas de sélection généalogique basé sur la connaissance du pedigree des individus.

État de l'art :

Il n'existait pas en 2022 de génome publié d'esturgeon sibérien ni russe qui sont deux espèces d'intérêt pour les adhérents du SYSAAF. Aucune ressource commerciale de génotypage de marqueurs de type SNP n'existait ni à des fins d'assignation à parenté ni de sélection génomique. Un précédent projet FEAMP (Siber'Sex) impliquant pour partie les mêmes partenaires que le projet S'sturgeon a permis d'éprouver sur *baerii* des technologies de séquençage long-read à haut débit pour obtenir l'intégralité du génome de référence d'une femelle de cette espèce. Cette antériorité a permis d'adopter directement un couplage d'outils de séquençage pertinent pour la production du génome de référence de *gueldenstaedtii* (toujours en cours dans le cadre de S'sturgeon).

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Les génomes de *baerii* et *gueldenstaedtii* sont particulièrement complexes du fait de deux épisodes de duplications de génomes successives dans l'histoire de l'évolution de ces espèces qui leur confère un haut niveau de ploïdie (octoploïde) mais qui peut être fonctionnellement tétraploïde ou diploïde selon l'endroit du génome considéré. Or les techniques actuelles d'assignation de parenté basées sur des marqueurs SNP ainsi que la sélection génomique reposent sur le fait qu'ils soient bi-alléliques et qu'ils se comportent de façon disomique. En outre, il importe de pouvoir distinguer du polymorphisme (de type SNP) à des endroits différents du génome qui ne soient pas sur des endroits répétés du fait des duplications. L'accès aux génomes assemblés des deux espèces doit permettre de lever nombre de ces interrogations, mais l'assemblage en lui-même est particulièrement fastidieux du fait du caractère polyploïde de ces animaux.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

L'analyse des résultats de séquençage par l'INRAE du génome entier de *baerii* s'est donc poursuivie sur 2022 pour aboutir à un assemblage à l'échelle de contigs. L'assemblage à l'échelle chromosomique n'a pas encore été atteint, mais est attendu en 2023. De la même façon l'assemblage du génome de *gueldenstaedtii* était en cours sur 2022 et aboutira en 2023. En parallèle, Le travail des partenaires du projet S'sturgeon a consisté sur l'année 2022 à choisir les marqueurs SNP qui répondent en théorie aux critères de disomie (entre autres) afin de les inclure dans le panel de la future puce 600K. Leur validation sera réalisée par le SYSAAF courant 2023 suite à réception de génotypes de *baerii* et *gueldenstaedtii* (échantillons provenant d'individus d'une entreprise adhérente au SYSAAF). Dans l'objectif de validation des marqueurs prévus sur la puce bi-espèce haute densité 600K, et afin de disposer d'un outil d'assignation par SNP, la démarche portée par le SYSAAF a été de rendre possible en 2022 la création de familles de *gueldenstaedtii* et *baerii* par une entreprise adhérente. En effet, la connaissance *a priori* des pères, mères, et descendants qui seront génotypés sur la puce 600K est primordiale pour s'assurer de la nature disomique des marqueurs choisis, et de la bonne transmission mendélienne des allèles. L'analyse des marqueurs SNP au regard de ces ADN familiaux est une étape nécessaire pour valider le futur sous-panel d'assignation à parenté, et plus largement la puce entière à des fins de sélection génomique et étude d'architecture de génome. Le génotypage de ces individus familiaux (3 couples père-mère et 29 descendants de chacune des trois familles pour le *baerii*, et 4 couples père-mère avec 22 descendants pour chacune des quatre familles pour le *guelden*) et les analyses seront réalisés en 2023 grâce à l'embauche d'un CDD par le SYSAAF.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Cette connaissance des génomes d'esturgeons a permis récemment de mettre en évidence des marqueurs liés au sexe (dans le cadre d'un précédent projet FEAMP dont le SYSAAF était partenaire : Siber'Sex, et en association avec d'autres projets et équipes de recherche impliquées sur d'autres espèces d'esturgeons : Kuhl *et al.*, 2021). Ce marqueur est déjà valorisé sous forme d'outil de sexage génétique des esturgeons (les femelles peuvent être identifiées parmi les mâles dès le plus jeune âge),

utilisé en test par au moins une entreprise en 2022. Grâce au projet S'sturgeon, la fabrication d'une puce génomique haute densité qui fonctionnera sur deux espèces avec 600 000 marqueurs SNPs (ThermoFisher[®]) a été lancée fin 2022 pour investiguer la possibilité et l'intérêt de la sélection génomique sur les caractères de production de caviar, et réaliser des analyses d'association de gènes avec les caractères d'intérêt (GWAS) pour appréhender l'architecture génétique des caractères en question. Le génotypage et les analyses de données qui s'en suivront se dérouleront sur l'année 2023. L'intérêt sera également de disposer d'un sous-panel de marqueurs pour réaliser des assignations à parenté à moindre coût qu'avec cette puce génomique de haute densité, et donc d'asseoir des programmes de sélection généalogique en esturgeon en attendant la démonstration de principe et la viabilité économique de la sélection génomique.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Des points d'avancement du projet ont par exemple fait l'objet de présentations orales auprès des adhérents du SYSAAF à l'occasion des Journées Techniques Inter filières organisées annuellement. Des résultats d'application pour la filière devraient être présentés à partir de 2023 dans la mesure où toutes les données n'étaient pas encore acquises en 2022.

Références bibliographiques citées :

Kuhl. H. *et al.*, 2021. A 180 My-old female-specific genome region in sturgeon reveals the oldest known vertebrate sex determining system with undifferentiated sex chromosomes. *Phil. Trans. R. Soc. B* 376 : 20200089.20200089. <http://doi.org/10.1098/rstb.2020.0089>

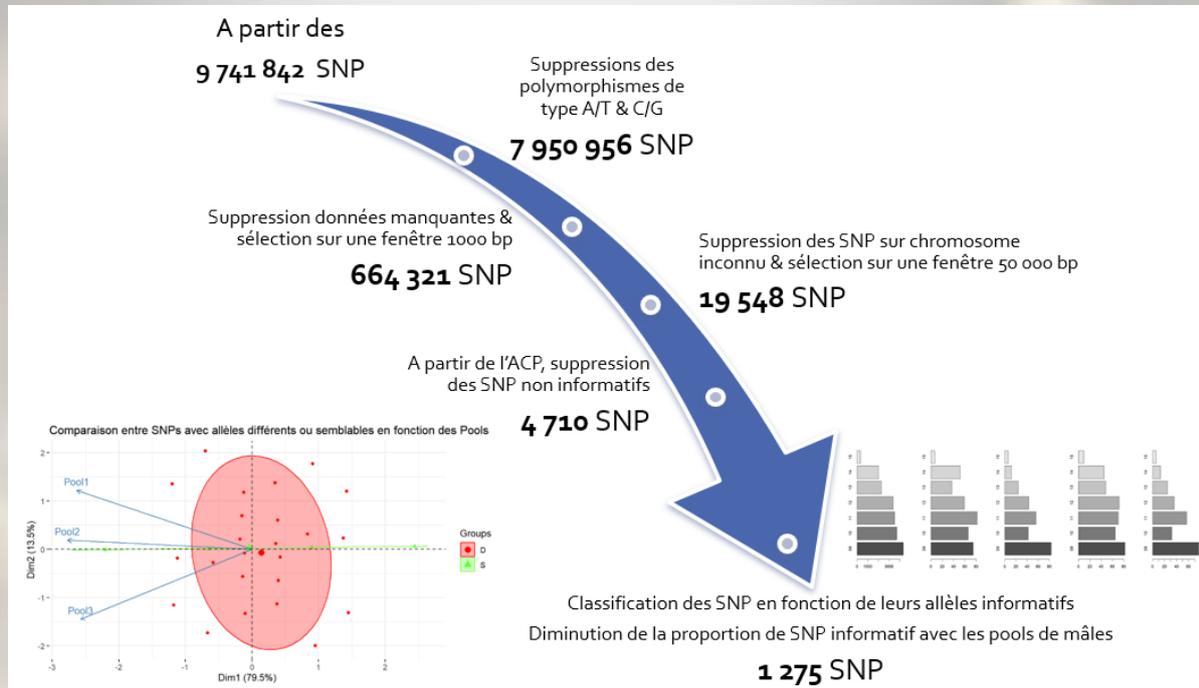
Développement d'outils génomiques et mise au point d'une puce d'assignation de parenté chez la mouche soldat noire, *Hermetia illucens*

Objectifs et état de l'art :

L'objectif principal de cette étude est de développer (à faible coût) des outils génomiques de type SNP chez *Hermetia illucens*. Spécifiquement, il s'agit de développer plusieurs panels de SNP qui pourront servir à définir des puces de haute, moyenne et basse densité, et à partir du panel de basse densité, à mettre au point le premier panel KASPAR (96 SNP) d'assignation de parenté chez la BSF.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Pour rappel, une base de données de 9 741 842 SNP (résultats déjà présentés dans le rapport de 2021) avait été développée à partir de trois pools de larves de BSF. A partir de cette base, nous avons appliqué une série de filtre qui nous a conduit à mettre en place plusieurs sets de marqueurs qui pourront servir à investiguer plusieurs études différentes. Le figure ci-dessous schématise les différents filtres utilisés avec le nombre de SNP obtenus à chaque étape.



Sélection des marqueurs par des tris successifs suivants des critères de qualité

A l'issue de cette première phase de tri, nous avons sélectionné de manière aléatoire et proportionnelle à la taille des chromosomes de BSF, 288 sur les 1275 SNP filtrés précédemment. Des oligos ont été ensuite synthétisés auprès de la plateforme de génotypage Gentyane pour développés des amorces KASPAR pour les 288 SNP qui ont servi à génotyper 95 larves diversifiées de BSF.

Les résultats d'analyses envoyés par Gentyane se présentent sous la forme de fluorochromes disposés sous forme de puce qui sont analysés par clustering avec le logiciel Fluidigm SNP Genotyping. Le logiciel converti ces observations en un score nommé 'Auto-confiance', avec comme valeur maximale 100 si le logiciel considère que le génotypage est parfait. En pratique, choisir un seuil minimum d'Auto-confiance permettra d'éliminer les SNPs à la mauvaise qualité de génotypage. Le logiciel génère un tableau où pour chaque SNP, son call-rate (mesure des données manquantes du jeu de données), l'auto-confiance, et le nombre observé de chaque génotype (nommés XX, XY et YY) seront évalués. A cela, on peut ajouter la MAF (fréquence des allèles mineurs) qui représente la fréquence des allèles les moins représentés dans le jeu de données.

Au vu de ce qui précède, nous avons réalisé une étape supplémentaire de sélection des marqueurs par des tris successifs suivants des critères de qualité et informativité des marqueurs. Les critères retenus, leur ordre, et le nombre de SNPs restants après tri sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Critère	Seuil	Nombre de SNPs restants
Total initial	-	288
Auto-Confiance	>90%	256
Call-rate	>90%	183
MAF	>0.20	77

Ces 77 SNP filtrés seront utilisés ultérieurement pour réaliser une étude d'assignation de parenté sur plusieurs familles de BSF.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Le développement de ces outils génomiques présente un grand intérêt pour les sélectionneurs concernés car leurs utilisations permettront d'optimiser les différents schémas de sélection qui seront déployés chez eux.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Donkpegan A.S.L., Guigue A., Boulanger F-X., Brard-Fudulea S., Haffray P., Sourdioux M. & R. Rouger, 2022. Development of genomic resources in Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L.) via throughput DNA Pool Sequencing. World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Rotterdam, Netherland. 3-8 July 2022

Donkpegan A.S.L., Guigue A., Boulanger F-X., Coulombet C., Brard-Fudulea S., Haffray P., Sourdioux M., Suard R., Callado P., Morvezen R. & R. Rouger, 2022. High-density SNP development in black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) via throughput DNA Pool Sequencing. European Federation of Animal Science Congress. Porto, Portugal. 5-8 September 2022

Suard R. & A. Donkpegan 2022. Développement de marqueurs SNP de qualité pour la mise au point d'un panel d'assignation de parenté chez la mouche soldat noire (*Hermetia illucens*), Rapport de Master de biologie-informatique, Université de Rennes 1, 23 pages.

Callado P. & A. Donkpegan 2022. Mis au point et validation d'un panel d'assignation de parenté chez la mouche soldat noire (*Hermetia illucens*), Rapport de stage de 2ème année de l'école nationale supérieure agronomique de Toulouse (ENSAT), 43 pages.

1.2.2. Méthode de gestion et sélection optimisée adaptée aux espèces, races et lignées de faible effectif

En 2022, les travaux sont concentrés sur les races des poules à faibles effectifs que ce soient des lignées expérimentales originales dont une évaluation génétique adaptée a été poursuivie pour une gestion *in situ* ou des lignées commerciales de diffusion très limitées.

Optimisation de la gestion génétique des lignées divergentes pHu maintenue par l'INRAE

Objectif et état de l'art :

Le pH ultime de la viande a été associé de longue date avec de nombreuses composantes caractérisant la qualité de la viande de poulet (Fletcher, 2002). Afin de comprendre plus en détail cette relation, l'INRAE sélectionne depuis 2009 deux lignées divergentes concernant le niveau de pH du filet (*pectoralis major*), les lignées **pHu+** et **pHu-** (Alnahhas *et al.*, 2014). Le SYSAAF utilise ses outils pour l'évaluation génétique de ces deux lignées expérimentales, ainsi que ses algorithmes de choix optimisés des animaux pour rendre possible la conservation *in situ* de ses lignées génétiques originales.

En 2022, la recherche des reproducteurs les mieux adaptés des cheptels 22M et 22P pour respectivement les lignées pHu- et pHu+ a été effectuée. Trois phases de sélection ont été déployées :

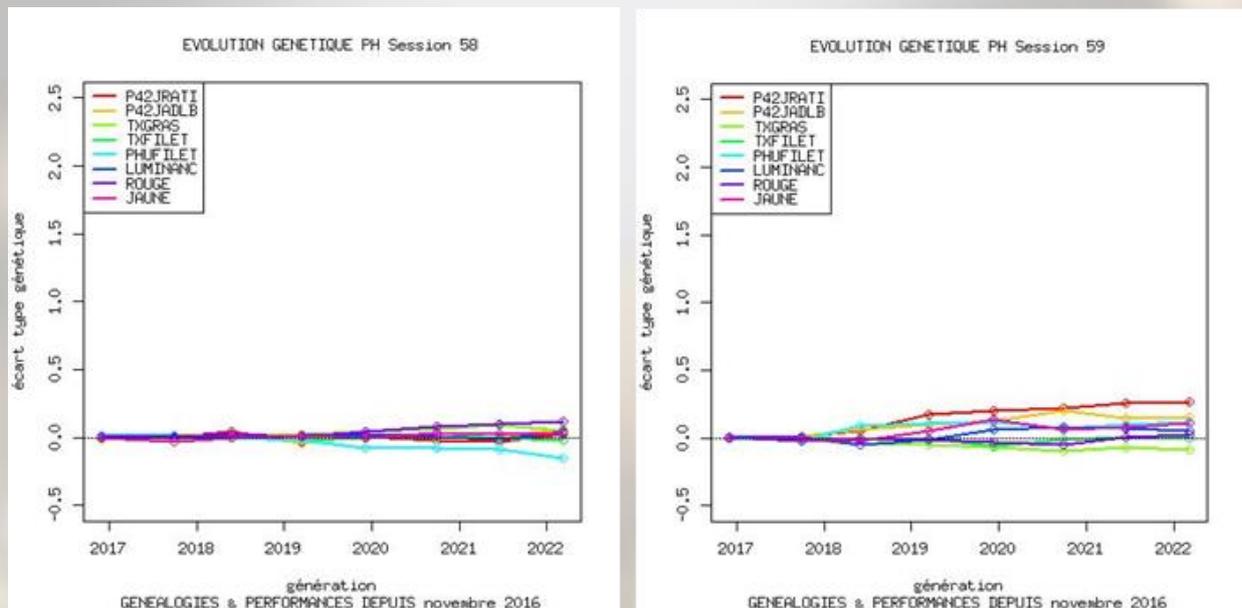
un choix « jeune » où les données de poids et de découpe d'un lot collatéral sont prises en compte pour l'évaluation génétique de tous les candidats,

un choix « mise en cages » où une sélection des candidats est effectuée afin de conserver suffisamment de mâles en testage pour leur capacité au don de semence et de femelles avant l'entrée en ponte,

un choix « mise en parquet pedigree » pour le renouvellement de la lignée. La capacité de donner des coqs et les données de ponte des femelles sont utilisées pour éliminer les individus moins performants.

L'objectif de sélection est le même à chacune de ces étapes : une stabilisation du pH ultime pour chacune des deux lignées ainsi qu'une évolution la plus contenue possible de la consanguinité. Ces

objectifs de sélection sont respectés depuis plusieurs années comme le prouve les graphiques d'évolution génétique de la lignée (Figure xxx).



Evolution génétique des lignées divergentes pH- (à gauche) et pH+ (à droite) pour l'ensemble des caractères évalués exprimée en écart type génétique pour chacun d'entre eux.

En génération 22M et 22P, le pH ultime du filet atteint en moyenne 5,49 et 6,14 pour les lignées pH- et pH+ respectivement. Le SYSAAF accompagne les innovations portées par ce programme de recherche au long cours. Ainsi, l'arrêt des cages individuelles programmé dans quelques années devra entraîner la mise en place de méthode d'évaluation et de gestion novatrice auxquelles le SYSAAF sera associé.

Références bibliographiques citées :

Fletcher, D.L. -2002- Poultry meat quality. *World's Poultry Science Journal* 58:131-145.

Alnahhas, N.; Berri, C.; Boulay, M.; Baeza, E.; Jégo, Y.; Baumard, Y.; Chabault, M.; Le Bihan-Duval, E.-2014- Selecting broiler chickens for ultimate pH of breast muscle: Analysis of divergent selection experiment and phenotypic consequences on meat quality, growth, and body composition traits. *Journal of Animal Science* 92(9):3816-2824.

Simulation de multiples scénarios pour la gestion génétique de lignées mineures

Etat de l'art et objectifs du projet :

De nombreuses lignées de l'espèce poule, parfois considérées comme mineures par les sélectionneurs sont entretenues dans des conditions actuelles de production couteuses et qui devront s'adapter à l'évolution des normes et réglementation sur le Bien-Etre Animal. Actuellement, les modalités de sélection généalogique appliquée à ces lignées sont en effet souvent identiques à celles des lignées majeures. Seuls le nombre d'individus produits et de caractères mesurés varient. Cependant, ces lignées sont souvent utilisées en croisement pour alimenter des marchés de faibles volumes mais importants pour la diversité des produits proposés aux consommateurs. La rentabilité économique de ces lignées mineures est donc faible au vu des investissements déployés pour leur sélection. De plus, le schéma classique de sélection de ces lignées a encore souvent recours à l'utilisation de la cage individuelle pour l'enregistrement du pedigree, pratique qui est de plus en plus critiquée par la société civile.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Le SYSAAF, dans le but d'anticiper l'évolution des conditions de sélection de ces lignées mineures à faible effectifs, a réalisé des travaux de simulation visant à estimer les résultats de différents scénarios alternatifs à la sélection généalogique et jugés plus rentables économiquement et en accord avec les évolutions prochaines en matière de bien-être animal.

Il n'existe pas à ce jour d'outil de simulation dédié pour ce type de travaux sur l'espèce poule. Il convenait donc de rechercher et d'adapter des outils existant en fonction des caractéristiques précises de l'espèce et du problème posé.

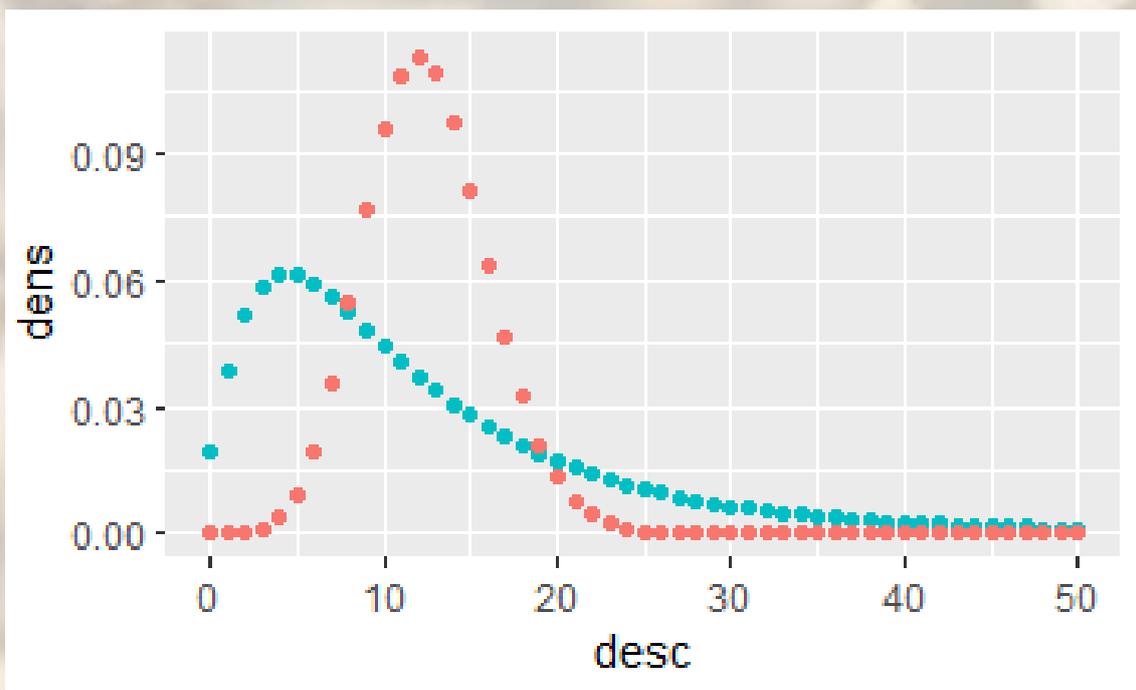
Le SYSAAF a donc mis en place un simulateur pour tester trois scénarii différents à l'aide du package R MoBPS (Pook *et al.*, 2020). Les trois grands scénarii modélisés sont au final les suivants :

Un scénario témoin permettant de simuler l'évolution génétique et sa variabilité de la population dans les conditions actuelles,

Un scénario dans lequel les reproducteurs sont simplement sélectionnés sur la base de leurs performances phénotypiques. La reproduction se fait au sol dans un seul parquet,

Un scénario similaire au précédent mais où la reproduction s'effectue dans plusieurs parquets de tailles intermédiaires.

Ces différents simulateurs permettent de comprendre comment l'évolution de la diversité génétique (consanguinité, gain génétique) est affectée par l'impossibilité de dresser un plan d'accouplement optimal. L'effet de la variance du succès reproducteur des mâles a également été examiné en tirant le nombre de descendants produits par reproducteurs à l'aide d'une loi de poisson généralisée.



Densité de probabilité du succès reproducteur des mâles. Dans un cas idéal, le nombre de descendants produits par chaque père suit une loi de poisson (Points rouges : Nombre de descendants moyen par mâle=Variance du nombre de descendants par mâle). En cas de compétition entre mâles, le nombre de descendants produits par chaque père suit une loi de poisson généralisée dont la variance excède la variance d'une loi de poisson standard. Ici la variance de la distribution représentée en bleu est 10 fois supérieure à la variance représentée en rouge.

Ces simulations ont permis de confirmer que la variance dans le succès reproducteur a un impact fort sur l'évolution de la consanguinité à moyen terme. Aucune différence notable n'est notée entre un système comportant un seul grand parquet ou plusieurs parquets de tailles intermédiaires. Comme attendu, la sélection massale est moins efficace que la sélection généalogique si l'objectif reste un gain génétique appréciable. Néanmoins, la variance dans le succès reproducteur a peu d'effets sur les gains attendus en sélection massale. Bien que la perte du suivi de la généalogie dégrade les performances

du programme de sélection, ces simulations montrent que la probabilité de faire passer la population sous un seuil de 50 individus efficaces est très faible.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ces résultats ne font pas encore l'objet de valorisation globale et nécessitent d'être consolidés avec d'autres hypothèses de départ. Ils sont cependant suffisamment pertinents pour aussi faire l'objet de mise en place terrain à titre expérimental et les résultats obtenus par cette future expérimentation terrain pourront être croisés avec les résultats prédits par les simulations pour calibrer le plus finement possible les paramètres démographiques nécessaires pour garantir la pérennité de ces lignées mineures.

Ces travaux permettent également au SYSAAF de détenir de premiers modèles de simulations spécifiques réutilisables à d'autres fins voire adaptables sur des espèces similaires (autres espèces aviaires).

Références bibliographiques citées :

Pook, T., Schlather, H., Simianer, H. -2020- MoBPS – Modular breeding program simulator. G3 Genes, Genomes, Genetics 10:1915-1918

2. AE 2 : Etude de phénotypes à objectif « agroécologique » pour leur implémentation dans les programmes de sélection dans un contexte de changement climatique

Objectifs de l'action élémentaire :

L'objectif général de cette Action Élémentaire est de préparer l'introduction de nouveaux phénotypes, à caractère « agroécologique », dans les programmes de sélection (de la mise en place des mesures terrains jusqu'au calcul des paramètres génétiques ou l'isolement de gènes) dans un contexte d'adaptation au changement climatique. Il s'agit en effet de faire évoluer les schémas de sélection des espèces avicoles, aquacoles et entomocoles, pour les adapter à ces futurs contextes de production. Ainsi, il convient aujourd'hui de poursuivre, d'intensifier, les travaux sur des phénotypes en relation avec le BEA (Bien Être Animal), le comportement ou les déviations de comportement, ou d'adapter les schémas de sélection aux contraintes réglementaires en matière de BEA qui vont progressivement s'appliquer. Le changement climatique impose de travailler plus intensément sur des critères de robustesse, résilience, résistance aux maladies, afin de proposer des animaux mieux adaptés aux nouvelles conditions d'élevages, au changement des environnements, mais aussi de travailler sur les rejets et l'efficacité alimentaire dans un but atténuation autant que possible du changement climatique. Enfin, les objectifs de sélection des animaux de demain doivent être raisonnés dans un objectif de qualité des produits, de différenciation, de typicité en accord avec les attentes des consommateurs.

Cette action élémentaire fera en partie appel aux nouvelles technologies développées actuellement par le SYSAAF et ses partenaires. A ce titre, nous pouvons citer, l'utilisation des modèles de Machine Learning, l'utilisation de la plateforme Fortior SYSAAF-ANSES pour la réalisation de challenge de résistance à des pathogènes ou à des modifications de l'environnement (température, oxygène, ...), l'utilisation de la plateforme SpecGen SYSAAF-Université de Rennes 1-CNRS pour l'acquisition et l'étude des spectres NIRS et Raman prédicteur potentiel de divers phénotypes.

La présentation des travaux réalisés sur les phénotypes est scindée en deux grandes parties, correspondantes à deux grandes tâches de réalisation :

-Une approche phénotypique, visant à valider des méthodes de mesures, à réaliser des essais terrains en vue de la préparation de l'étude génétique des phénotypes collectés,

-Une approche génétique, visant à calculer des paramètres génétiques de ces nouveaux caractères mesurés, héritabilité, corrélations génétiques ou à rechercher le déterminisme sous-jacent, gènes majeurs, QTL, en vue de l'intégration de ces caractères dans les objectifs futurs de sélection

2.1. Approche phénotypique (essais zootechnique, mesures de phénotypes...)

En 2022, les mises en place de mesures sur des caractères agroécologiques ont porté sur la résistance à diverses maladies des poissons, sur la robustesse et l'adaptation au changement climatique des truites, sur la qualité ou le rendement des produits par différentes approches de mesures, sur l'adaptation à des contraintes de BEA en volaille, sur les phénotypes hormonaux prédictifs précoces de phénotypes complexes, et enfin sur des méthodes de mesures de l'efficacité alimentaire des poissons, principal levier d'atténuation des impacts sur l'environnement de ces espèces.

Evaluation de la réponse à la sélection sur la résistance à deux pathogènes, Nodavirus et *Vibrio Harveyi* [projet MedMax]

Objectifs du projet :

L'objectif du projet était d'évaluer la sensibilité de deux lots de bars (sélectionnés pour non pour la résistance aux pathogènes) à deux pathogènes, le VER (Virus de l'Encéphalopathie et de la Rétinopathie – aussi appelé VNN ou Nodavirus) et la bactérie *Vibrio Harveyi*, au travers de challenges expérimentaux. Le SYSAAF, via la plate-forme FORTIOR Genetics, avait comme tâche la réalisation des challenges expérimentaux prévus dans le projet MedMax.

État de l'art :

De précédents projets ont montré que la variabilité génétique de la résistance à des pathogènes pouvait être exploitée en utilisant la sélection génétique. Récemment, une étude analysant des résultats de challenges antérieurs a mis en évidence un gène candidat pouvant expliquer une grande partie de la variabilité génétique de la résistance au VNN (Delpuech *et al.* 2023). Plusieurs challenges expérimentaux d'évaluation de la résistance aux pathogènes Nodavirus et *Vibrio Harveyi* ont été réalisés au cours, ou non, de projets R&D à des fins de sélection depuis plusieurs années. Il convient maintenant de déterminer les gains en comparant les sensibilités de lots de poissons sélectionnés et non sélectionnés.

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Les 2 challenges prévus au projet ont été réalisés au cours de l'année 2022.

L'objectif des challenges de phénotypage est d'atteindre un taux de mortalité dans les bassins compris entre 30 et 70% afin de pouvoir réaliser des évaluations génétiques efficaces et de pouvoir discriminer les familles sensibles des familles résistantes. Cependant, même en disposant de données scientifiques, il reste difficile de prédire précisément la sensibilité d'une population de poissons à une souche virale ou bactérienne, notamment le taux de mortalité. En effet, de nombreux facteurs peuvent influencer sur l'induction de la maladie (variabilité génétique, température, densité des poissons dans le bassin). De ce fait, les challenges de phénotypage ont à chaque fois été précédés de tests infectieux (pré-tests) réalisés sur un nombre restreint de poissons. Pour les pré-tests viraux, mettant en jeu le VNN, il s'agissait de déterminer la sensibilité des poissons à différentes productions de la souche virale utilisée afin de choisir la production la plus pertinente. Pour les pré-tests bactériens, mettant en jeu la bactérie *Vibrio Harveyi*, il s'agissait de déterminer la DL50 (dose-léthale donnant environ 50% de mortalité) afin d'adapter au mieux la production de la suspension bactérienne pour le challenge de phénotypage.

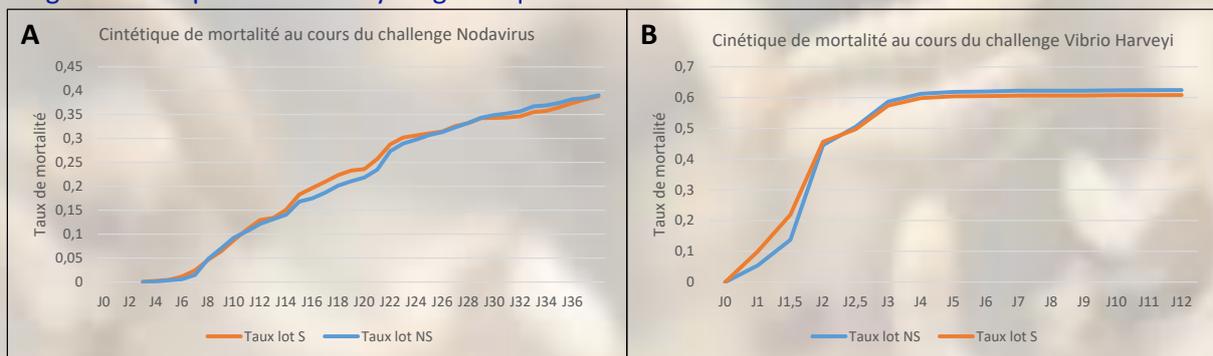
Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

A l'issue des pré-tests viraux, 2000 individus de chaque lot poissons (5 et 7g de poids moyen) ont été contaminés par balnéation par le VNN. Le challenge a ensuite duré 6 semaines au cours desquelles la

mortalité a été suivie quotidiennement. Chaque jour, les poissons morts étaient retirés des bassins, comptabilisés, enregistrés sur le logiciel Infaqua et leurs nageoires collectées pour réaliser du génotypage. A l'issue du challenge, 41,25 et 39.54% de mortalité ont été comptabilisés pour les lots sélectionnés et non sélectionnés, respectivement. Les survivants ont été euthanasiés, enregistrés et collectés de la même manière.

A l'issue des pré-tests bactériens, 2000 autres individus de chaque lot de poissons (13 et 15g de poids moyen) ont été contaminés par injection intra-péritonéale de 100µl d'une suspension bactérienne de *Vibrio Harveyi* produite en amont. Le challenge a ensuite duré 2 semaines au cours desquelles la mortalité a été suivie quotidiennement. Chaque jour, les poissons morts étaient retirés des bassins, enregistrés et leurs nageoires collectées pour le génotypage. A l'issue du challenge 60.83 et 62.42% de mortalité ont été comptabilisés pour les lots sélectionnés et non sélectionnés, respectivement. Les survivants ont été euthanasiés, enregistrés et collectés de la même manière.

Les échantillons ont par la suite été transmis aux partenaires du projet afin de procéder au génotypage, assignations de parenté et analyses génétiques.



Cinétiques de mortalité obtenues à l'issue des challenges. A : Challenge au Nodavirus. B : Challenge à Vibrio Harveyi

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Les résultats issus de cette étude seront exploités par les autres partenaires du projet MedMax. Leur exploitation permettra de montrer la réalité du gain génétique obtenu par sélection sur la résistance à un pathogène. Ces résultats seront également mis en perspectives avec les résultats de précédents challenges des années précédentes pour explorer la variabilité de résultats des challenges successifs.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ces travaux seront prochainement valorisés dans des publications, dans des communications au cours de congrès ou encore de journée techniques.

Références bibliographiques citées :

Delpuech E., Vandeputte M., **Morvezzen R.**, **Bestin A.**, **Besson M.**, Brunier J., Bajek A., Imarazene B., **François Y.**, Bouchez O., Cousin X., Poncet C., Morin T., Bruant J-S., Chatain B., **Haffray P.**, Phocas F., Allal F. Whole-genome sequencing identifies interferon induced protein IFI6 as a strong candidate gene for VNN resistance in European sea bass. *Genet Sel Evol* **55**, 30 (2023). <https://doi.org/10.1186/s12711-023-00805-2>

Bilan des challenges pathologies sur Fortior Genetics

Objectifs du projet :

Créée en partenariat avec l'ANSES, unité VIMEP de Plouzané, la plate-forme FORTIOR Genetics est un des premiers outils européens dédié au phénotypage de poissons d'élevages pour leur résistance aux maladies. Les finalités sont de contribuer i) à l'amélioration de la résistance génétique des poissons d'élevage à des pathologies concomitamment à la réduction des intrants chimique et à l'amélioration

de la qualité sanitaire des produits aquacoles, ii) à l'amélioration de leur robustesse en particulier face aux effets du changement climatique tout en accompagnant les sélectionneurs pour la domestication et le développement de la sélection génomique.

État de l'art :

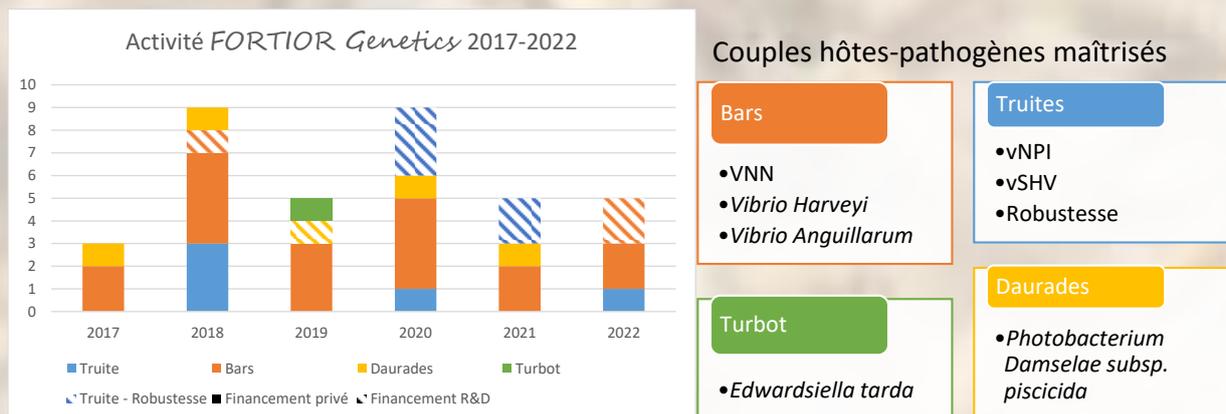
La faisabilité de challenges en conditions contrôlées avait préalablement été établie lors de programmes de R&D soutenus par l'OFIMER, "FlavoRes", qui avait validé le principe théorique d'une estimation de valeurs génétiques en familles mélanges pour un caractère à seuil (Chapuis *et al.*, 2010) et par le FUI FUI-ReSist qui avait confirmé ces simulations sur 5 couples hôtes-pathogènes chez la truite, le bar et la daurade (Haffray *et al.*, 2018).

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

La réalisation de challenges infectieux en conditions contrôlées nécessite des installations expérimentales agréées et adaptées pour réaliser des tests de phénotypage à vocation génétique qui nécessitent des lots d'animaux allant de 1200 à 2000 individus de 200 à 600 familles. Malgré la maîtrise des protocoles d'infection, la susceptibilité des poissons aux pathogènes peut évoluer, nécessitant des mises au point (ou pré-tests) régulières spécifiques à chaque challenge. Les expérimentations sont menées dans une logique d'amélioration et de standardisation continue des protocoles afin d'assurer la pertinence et la reproductibilité des caractères phénotypés.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Lors de la création de la plateforme en 2017, la réalisation de challenges était maîtrisée pour 5 couples hôtes-pathogènes. Deux autres challenges infectieux à 2 nouveaux couples ont depuis été développés ainsi que des challenges de robustesse et d'adaptation au changement climatique, portant à 7 le catalogue de protocoles infectieux maîtrisés et à 2 celui de protocoles de tests environnementaux (François *et al.* 2022). Depuis 2017, 10 challenges ont été réalisés pour des projets de R&D. En 2022, 5 challenges infectieux ont été réalisés sur la plate-forme, nécessitant à chaque fois la réalisation de pré-test pour calibrer les doses d'infection. Deux de ces challenges ont été menés dans le cadre du programme de recherche MedMax (FEAMP) pour étudier la réponse à la sélection sur la résistance à la nodavirose chez le bar.



Evolution de l'activité de la plate-forme depuis 2017

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Les épreuves réalisées permettent la mesure du caractère « résistance à la maladie/à l'hyperthermie/à l'hypoxie ». A chaque challenge de phénotypage, les données sont enregistrées sur le logiciel Infaqua et l'ADN des individus est collecté pour permettre les assignations de parenté et l'estimation des paramètres génétiques des caractères et la réalisation d'études d'associations (GWAS) pour la détection de QTL. Ainsi, des héritabilités de 0.23 (± 0.05) ou 0.08 (± 0.09) ont été estimées pour la résistance au VNN chez le bar (Griot *et al.* 2021). Les GWAS réalisées ont permis d'identifier une zone

chromosomique (QTL d'intérêt) pour la résistance à la nodaviriose chez le bar, un des rares cas en aquaculture pour lequel un gène majeur a été identifié (Delpuech *et al.* 2023).

L'intégration de l'étude de paramètres immunitaires par des techniques de qPCR et/ ou de RNAseq et l'utilisation de nouveaux outils de génomique pourrait permettre d'affiner l'identification de gènes d'intérêt et d'améliorer les connaissances sur les mécanismes régissant la résistance et la robustesse.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Les travaux réalisés dans le cadre de la plateforme FORTIOR sont valorisés au travers de publications scientifiques, au cours de congrès (EAFFP2021, JRF2022, EAS 2022, ISGA2022) ou de journées techniques.

Références bibliographiques citées :

Chapuis H., Vandeputte M., Dupont-Nivet M., **Haffray P.**, Quillet E. Selection for an improved disease resistance using factorial mating designs and molecular based pedigrees in fish: a simulation study. 2010 - *Proceedings of the World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 2010*

Delpuech E., Vandeputte M., **Morvezen R., Bestin A., Besson M.**, Brunier J., Bajek A., Imarazene B., **François Y.**, Bouchez O., Cousin X., Poncet C., Morin T., Bruant J-S., Chatain B., **Haffray P.**, Phocas F., Allal F. Whole-genome sequencing identifies interferon induced protein IFI6 as a strong candidate gene for VNN resistance in European sea bass. *Genet Sel Evol* **55**, 30 (2023). <https://doi.org/10.1186/s12711-023-00805-2>

François Y., Cabon J., Louboutin L., **Sourdioux M., Haffray P.**, Morin T. *FORTIOR Genetics*, premier bilan après 5 années d'exercice pour améliorer la résistance génétique des poissons d'élevage. 2022 – 7e Journées de la Recherche Filière Piscicole – Paris – 5-6 Juillet 2022

Griot, R., Allal F, Phocas, F., **Brard-Fudulea, S., Morvezen R., Haffray, P., François, Y.**, Morin, T., **Bestin, A.**, Bruant, J-S., Cariou, S., Peyrou, B., Brunier, J., and Vandeputte, M., 2021. Optimization of Genomic Selection to Improve Disease Resistance in Two Marine Fishes, the European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) and the Gilthead Sea Bream (*Sparus Aurata*). *Front. Genet.* 12:665920. doi: 10.3389/fgene.2021.665920

Haffray, P., Bruant, J-S., **Bestin, A., Morvezen, R., Enez, F.**, Duchaud, E., Quillet, E., F., Dechamps, N., Doan, K.Q., Bernardet, J-F., Cariou, S., Petit, V., Acin-Perez, A., Bajek, A., Ventre, F., Caprioli, J-P., Desgranges, A., Pallandre, L., Morin, T., Allal, F., Vandeputte, M., Dupont-Nivet, M., AQUIMER., 2018. Projet RE-SIST. Amélioration par sélection de la résistance des poissons d'élevage aux agents pathogènes. Rapport de fin de projet à l'appel à projets FUI 15. 54 p.

Evaluation de la résistance de populations de truites à la flavobactériose [Flavocontrol]

Objectifs du projet :

Les objectifs de ce projet sont i) de développer un dispositif permettant la réalisation d'infections expérimentales en milieu contrôlé avec le pathogène *Flavobacterium psychrophilum*, ii) d'optimiser les protocoles et réaliser les infections expérimentales sur de grands effectifs, iii) d'évaluer la résistance de différentes souches de truites commerciales françaises et d'en évaluer les paramètres génétiques.

État de l'art :

Flavobacterium psychrophilum est un agent pathogène majeur des salmonidés que l'on retrouve dans toutes les régions du globe pratiquant la salmoniculture. La maladie provoquée par ce pathogène touche principalement les alevins pouvant provoquer jusqu'à 50 à 60% de perte, impactant fortement la production de truites arc-en-ciel, notamment. La flavobactériose est considérée par Le Bouquin *et al.* (2018 – Rapport de l'ANSES 2019) comme la pathologie la plus fréquente en France et identifiées dans plus de 50% des élevages. La lutte contre cet agent infectieux repose actuellement sur une monothérapie favorisant l'émergence de résistance bactérienne.

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Face à l'absence de mesures préventives efficaces, l'amélioration génétique représente une alternative pertinente pour fournir à la filière des truites résistantes. Celle-ci a été initiée lors du programme FUI-ReSist en utilisant des données de challenges « au champs » comme rapporté par Fraslin *et al.* (2019). Cependant pour être réalisée en conditions contrôlées, la caractérisation de la résistance à la flavobactériose nécessite une structure expérimentale agréée.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Au cours de l'année 2022, des challenges infectieux expérimentaux ont été menés par l'INRAE et l'IERP, partenaires du projet, sur des populations de truites issues des adhérents du SYSAAF partenaires du projet. Le SYSAAF est intervenu afin de procurer à l'INRAE le matériel et le logiciel Infaqua nécessaire à la collecte et à l'enregistrement des échantillons et des données de mortalité. Le SYSAAF est également intervenu comme intermédiaire entre les partenaires pour la réalisation des génotypages des échantillons de challenge. Enfin, le SYSAAF a fourni à l'INRAE des œufs de truites commerciales d'entreprises non partenaires du projet pour une évaluation de la sensibilité de ces lots de poissons à la flavobactériose. Ces essais seront réalisés au cours de l'année 2023.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Ce projet a pour vocation de permettre un transfert d'innovation pour améliorer le contrôle de la flavobactériose pour les entreprises aquacoles françaises. Plus précisément, il va permettre la réalisation en « routine » d'épreuves infectieuses contrôlées à visée de sélection par l'IERP et à terme d'intégrer ce caractère dans les programmes de sélection des adhérents.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Le projet a été présenté au cours des Journées de la Recherche Filière Piscicole en 2022 (François *et al.* 2022). Les travaux réalisés dans le cadre de ce projet seront valorisés au travers de publications scientifiques, au cours de congrès (JRFP2022, ...) ou de journées techniques.

Références bibliographiques citées :

Fraslin C, Brard-Fudulea S, D'Ambrosio J, Bestin A, Charles M, Haffray P, Quillet E, Phocas F. Rainbow trout resistance to bacterial cold water disease: two new quantitative trait loci identified after a natural disease outbreak on a French farm. *Anim Genet.* 2019 Jun;50(3):293-297

François Y., Rigaudeau D., Lee B-H., Poncet C., Desgranges A., Ruche J., Segret E., Acin Perez A., Lallias D., Phocas F., Dupont-Nivet M., Haffray P., Rochat T., Duchaud E.. Flavocontrol : dispositif d'infectiologie au service de l'innovation dans le contrôle de la flavobactériose. 2022 - 7e Journées de la Recherche Filière Piscicole – Paris – 5-6 Juillet 2022

Le Bouquin S., Hanne-Poujage S., Thomas R., Courtois A., Baron S., Jamin M. et Chauvin C., 2018. "Pathologies dominantes et pratiques sanitaires associées dans les piscicultures de salmonidés d'eau douce en France." *Revue TEMA*, Juin 2018, 8.

Mise en place d'un système de phénotypage de l'aptitude natatoire chez la truite arc-en-ciel [projet RedOUT]

Objectifs du projet :

Le projet RedOUT a pour objectif d'évaluer la faisabilité d'une sélection pour limiter le développement du muscle rouge chez la truite arc en ciel (*Oncorhynchus mykiss*). Coordonné par l'INRAE avec comme partenaire le SYSAAF et l'entreprise de sélection Les Sources de l'Avance (Groupe Aqualande), ce projet répond à une évolution de la filière française vers la production de grande truite (> 2 kg) fumées impliquant leur filetage et le parage de leurs gras dorsal et ventral ainsi que du muscle rouge riche en lipides oxydatifs de couleur brune et de goût plus acide. Ce muscle rouge est éliminé lors du parage avant fumage. Néanmoins il présente aussi un rôle majeur dans le mécanisme de nage des poissons.

Un des objectifs du projet est de mesurer l'impact d'une diminution potentielle de la proportion de muscle rouge par sélection génétique sur l'intégrité natatoire des poissons.

État de l'art :

Des relations avaient été mises en évidence entre les capacités natatoires et plusieurs caractères de croissance ou de qualité de la chair (Huang *et al.*, 2021 pour revue). Mais les composantes génétiques des capacités natatoires restent peu étudiées. Des héritabilités modérées à fortes des performances de nage ont été rapportées chez le saumon (Hurley and Schom, 1984), le bar (Vandeputte *et al.*, 2016), le croaker jaune (Zeng *et al.*, 2022), le tilapia (Mengistu *et al.*, 2021). En revanche, à notre connaissance, aucune étude ne s'est penchée jusqu'à ce jour sur les potentiels liens génétiques entre la proportion de muscle rouge et les capacités natatoire des poissons.

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Le dimensionnement du système de test de nage doit être adapté à la mesure de performances d'un grand nombre de poissons afin de disposer de suffisamment d'informations pour des analyses génétiques précises et robustes. Une difficulté supplémentaire réside dans la mise au point d'un système permettant de mesurer les performances natatoires de poissons de tailles très différentes, allant de 350g à 1,5kg. Les cinétiques d'augmentation de vitesse du courant doivent être adaptées en fonction de la taille des poissons à tester.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats

Le projet RedOUT prévoyait les mesures de performances de nage, sur la base de l'estimation de la vitesse critique de nage (U_{crit}), à 350g et 1,5kg de truites arc-en-ciel d'une lignée commerciale de l'entreprise Les Sources de l'Avances, puis l'estimation des paramètres génétiques associés aux performances de nage à 2 âges.

Sur la base d'une première expérience ayant permis de dimensionner un pilote menée dans le cadre du projet AQUAGYM (Quittet *et al.*, 2013), un dispositif de test de nage a été adapté. Une série de tests a été menée afin d'ajuster le protocole de challenge natatoire et de valider sa faisabilité sur des poissons à de tailles différentes tel que le projet le prévoyait. Après plusieurs pré-tests du dispositif de test de nage faisant varier les paramètres de temps d'acclimatation et de vitesse de courant, aucun protocole fiable n'a pu être retenu permettant la réalisation d'un challenge natatoire fiable sur la population de la lignée commerciale. En effet, et malgré le respect des préconisations établies dans le projet AQUAGYM précédent, les poissons ont refusé à chaque fois de nager.



Tunnel de nage, immergé dans un bassin.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Ce comportement inhabituel, encore jamais rapporté à l'échelle internationale, a soulevé des questions relatives à l'impact potentiel de l'élevage précédent la conduite des challenges ou d'une éventuelle réponse corrélée à la sélection génétique conduite par l'entreprise. Une des conclusions est que des travaux visant à préciser les conditions de challenge natatoire chez la grande truite de lignées commerciales sélectionnées sont nécessaires avant d'envisager d'utiliser cette méthode de phénotypage en sélection génétique.

Références bibliographiques citées :

- Huang, X., Hegazy, A.M., Zhang, X., 2021. Swimming exercise as potential measure to improve flesh quality of cultivable fish: A review. *Aquaculture Research* are.15510. <https://doi.org/10.1111/are.15510>
- Hurley, S.M., Schom, C.B., 1984. Genetic control of swimming stamina in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Can. J. Genet. Cytol.* 26, 57–61. <https://doi.org/10.1139/g84-010>
- Mengistu, S.B., Palstra, A.P., Mulder, H.A., Benzie, J.A.H., Trinh, T.Q., Roozeboom, C., Komen, H., 2021. Heritable variation in swimming performance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and negative genetic correlations with growth and harvest weight. *Sci Rep* 11, 11018. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90418-w>
- Quittet, B., Murgat, V., Hocde, P., Claireaux, G., Dupont-Nivet, M., Bugeon, J., Prunet, P., Rault, P., Haffray, P., 2013. AQUAGYM : Bases génétiques pour améliorer la robustesse des poissons d'élevage - Phase n°1, Mise au point d'un test de nage en pisciculture. Rapport final de la convention FranceAgrimer, n° 2011-0526.
- Vandeputte, M., Porte, J.D., Auperin, B., Dupont-Nivet, M., Vergnet, A., Valotaire, C., Claireaux, G., Prunet, P., Chatain, B., 2016. Quantitative genetic variation for post-stress cortisol and swimming performance in growth-selected and control populations of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 455, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.01.003>
- Zeng, J., Long, F., Wang, J., Zhao, J., Ke, Q., Gong, J., Bai, Y., Deng, Y., Jiang, P., Qu, A., Tong, B., Suo, N., Wang, Y., He, Q., Pu, F., Zhou, T., Xu, P., 2022. GWAS reveals heritable individual variations in the inherent swimming performance of juvenile large yellow croaker. *Aquaculture* 559, 738419. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738419>

Développement d'une méthode non létale de mesure du muscle rouge par échographie chez la truite arc-en-ciel [RedOUT]

Objectifs du projet :

La production de truite arc en ciel (*Oncorhynchus mykiss*) en France s'oriente de plus en plus vers des poissons de grande taille destinés à la fumaison et vendus sous forme de tranches fines. La présence du muscle rouge, facilement repérable par sa couleur brune est fortement préjudiciable pour la vente. En effet, certains cahiers des charges imposent aux transformateurs d'éliminer ce muscle en raison des défauts de saveur qu'il engendre. Ce niveau de parage élevé (élimination du muscle rouge) entraîne une perte en matière première et donc une perte économique pour les producteurs et les transformateurs. Le développement d'une méthode de quantification non létale par échographie doit permettre d'évaluer la faisabilité de la sélection pour la maîtrise du muscle rouge, et faciliter son implémentation dans les programmes de sélection.

État de l'art :

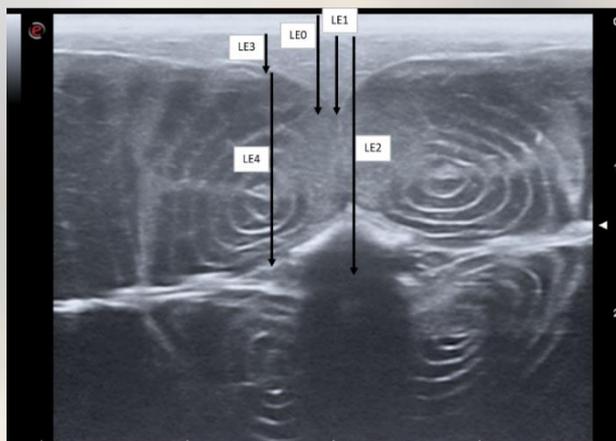
Rares sont les études portant sur les facteurs influençant la proportion de muscle rouge, mais il a été observé chez des lignées isogéniques (Quillet *et al.*, 2005) de fortes différences dans la proportion de muscle rouge (données non publiées). Ces résultats suggèrent la présence d'une composante génétique dans la proportion de muscle rouge. Le calcul des paramètres génétiques ont porté jusqu'à aujourd'hui sur une mesure globale du muscle rouge et du tissu adipeux sous-cutané associé (Kause *et al.*, 2008). Des méthodes d'imagerie sur darne permettent la mesure de ces déchets de parage.

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

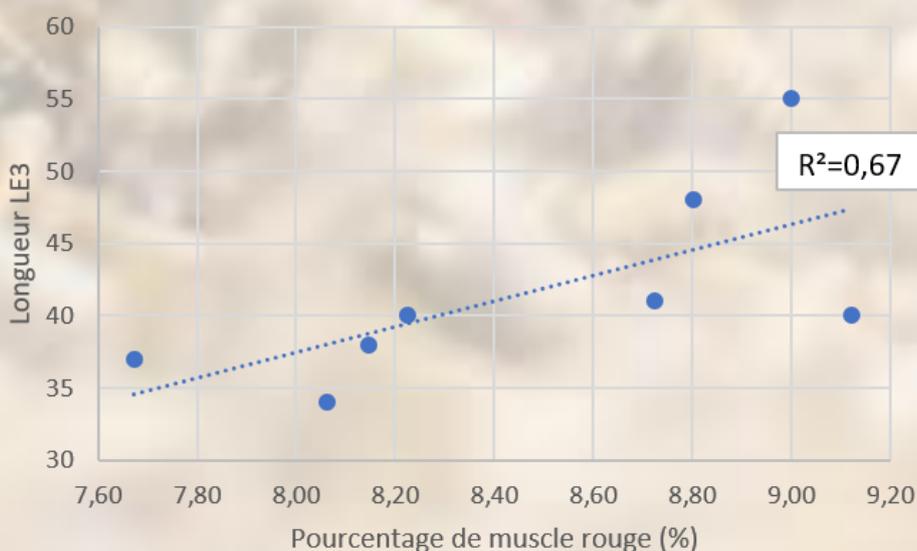
La quantification du muscle rouge ne pouvait jusqu'à aujourd'hui être réalisée sans la découpe du poisson. Le développement d'une méthode de mesure non létale par échographie pourrait permettre la sélection de poisson à faible teneur de muscle rouge directement sur poissons vivants.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Des images échographiques ont été acquises sur des truites arc-en-ciel à plusieurs positions caractéristiques (devant la nageoire dorsale, derrière la nageoire dorsale, derrière l'anus). L'image prise devant la nageoire dorsale a été préférée aux autres en raison de la reproductibilité de l'acquisition et la qualité de visualisation du muscle rouge.



Mesures prises sur les images échographiques pour les tests de quantification de muscle rouge
Des mesures caractéristiques d'épaisseur du muscle rouge et d'épaisseur de muscle blanc ont été identifiées sur les images échographiques afin de quantifier la taille et la proportion de muscle rouge (Figure 1). Des corrélations entre les mesures échographiques et la surface de muscle rouge ou le pourcentage de muscle rouge sur la darne quantifiée sur darne par analyse d'image ont été calculées. Les corrélations avec la proportion de muscle rouge sur la darne atteignent 0,67 pour la longueur LE3 (Figure 2), 0,70 pour le rapport (LE3/LE4) ou 0,77 pour la formule (LE1/LE2*LE3/LE4). Ces premières estimations exploratoires ont été obtenues avec un échantillon de 9 poissons.



Corrélation entre le pourcentage de muscle et la longueur LE3

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Une nouvelle méthode de quantification du muscle rouge a été mise au point dans ce projet. L'utilisation de l'imagerie par échographie est une technique non invasive permettant des mesures sur poissons vivants, contrairement aux méthodes de mesure sur photos (Drazen *et al.*, 2013) ou images IRM (Perry *et al.*, 2007) disponibles jusqu'à présent qui nécessitait l'euthanasie de l'animal.

Cette méthode innovante a été utilisée pour le phénotypage en mai 2022 de 1447 truites issues d'une population commerciale. En plus d'images échographiques, des prélèvements de darnes ont été réalisés pour mesurer la proportion de muscle rouge par analyse d'image selon les méthodes développées auparavant. Des mesures biométriques et de rendement ont également été collectées. Ces données sont en cours d'analyse pour valider les résultats obtenus lors de la première approche exploratoire.

Références bibliographiques citées :

Drazen, J.C., Dugan, B., Friedman, J.R., 2013. Red muscle proportions and enzyme activities in deep-sea demersal fishes: red muscle in deep-sea fishes. *J Fish Biol* 83, 1592–1612. <https://doi.org/10.1111/jfb.12268>

Kause, A., Stien, L.H., Rungruangsak-Torrissen, K., Ritola, O., Ruohonen, K., Kiessling, A., 2008. Image analysis as a tool to facilitate selective breeding of quality traits in rainbow trout. *Livestock Science* 114, 315–324. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.05.016>

Perry, C.N., Cartamil, D.P., Bernal, D., Sepulveda, C.A., Theilmann, R.J., Graham, J.B., Frank, L.R., 2007. Quantification of red myotomal muscle volume and geometry in the shortfin mako shark (*Isurus oxyrinchus*) and the salmon shark (*Lamna ditropis*) using T_1 -weighted magnetic resonance imaging. *J. Morphol.* 268, 284–292. <https://doi.org/10.1002/jmor.10516>

Quillet, E., Le Guillou, S., Aubin, J., Fauconneau, B., 2005. Two-way selection for muscle lipid content in pan-size rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 245, 49–61. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.12.014>

Bilan des travaux conduits sur SpecGen

Objectifs du projet :

L'objectif principal de cette action est de développer de nouveaux phénotypes d'intérêt par spectrométrie vibrationnelle chez les espèces avicoles, aquacoles et entomocoles.

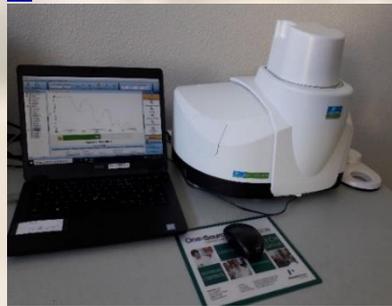
État de l'art :

Depuis 2019, le SYSAAF contractualise avec l'Université de Rennes-1 afin d'investiguer l'intérêt de la spectrométrie vibrationnelle pour développer de nouveaux phénotypes d'intérêt de caractères de composition biochimique. Un ingénieur SYSAAF est affecté à cette plateforme « Specgen ». Cette plateforme est équipée de 2 systèmes Raman dont celui le plus utilisé pour les travaux de mise au point, un EVO HR 800. Le SYSAAF a aussi co-investi avec l'Université dans un système portable de spectrométrie infra-rouge NIR.

a)



b)



Équipement de la plateforme SpecGen : a) spectromètre raman EVO HR 800 ; b) NIR portable
Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Si les méthodologies Raman ou NIR sont éprouvées et reconnues, leur application au domaine du vivant nécessite à chaque nouveau projet des travaux de mise au point de protocole de préparation des échantillons (par exemple avec stockage en azote liquide) et d'acquisition des spectres. Les spectres générés doivent ensuite être conservés sur le serveur de l'Université et du SYSAAF en assurant une traçabilité individuelle parfaite de la collecte de l'échantillon incluant son stockage temporaire à la génération du spectre désiré. L'ensemble de ces étapes est d'autant plus critique que les projets peuvent porter sur un nombre d'échantillons supérieur au millier d'échantillons.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Les travaux conduits par la plateforme Specgen en 2022 ont porté sur des actions conduites essentiellement dans des projets de recherche co-financés :

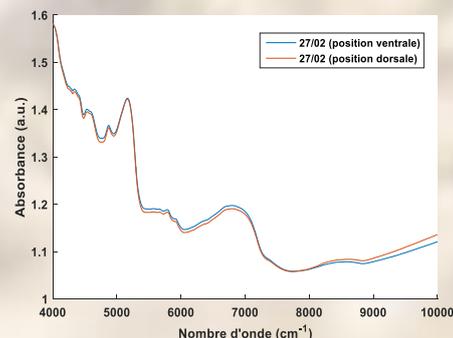
- Projet Aqualmpact (H2020) : estimation des acides gras poly-insaturés chez la daurade royale. En 2022, de nombreux travaux ont porté sur le contrôle de la gestion des échantillons et des fichiers de traçabilité pour tenter d'expliquer des résultats peu convaincants.
- Projet Quality Huitre (FEAMP) : estimation de la composition en protéine et glycérol de la chair d'huître creuse. En 2022, de nombreux travaux ont porté sur le contrôle de la gestion des échantillons et des fichiers de traçabilité pour tenter d'expliquer des résultats peu convaincants.
- Projet Phenomix (FEAMP) : confirmation des équations de calibration de la prédiction des teneurs en acides gras AGPI du gras de truite par spectrométrie Raman et validation de la sélection phénotypique en remplacement de la sélection génomique. Le Raman de l'Université étant tombé en panne en mai 2022, il n'a pas été possible d'acquérir les spectres des échantillons de gras de truite collectés sur le chantier de découpe en mai 2022.
- Projet Geronimo (H2020) : estimation des teneurs proximales en lipides du jaune d'œuf de poule par spectrométrie NIR. Le protocole de préparation des échantillons et d'acquisition des spectres NIR à partir de jaunes d'œufs congelés a été validé. Les échantillons à phénotyper ont été collectés avec les chercheurs d'AgroCampus, les acquisitions de spectres étant prévues sur 2023.

D'autres travaux de mise au point ont été conduits sans soutien public. C'est le cas d'essais de sexage de larves de mouches soldat noires ou d'essais de mesure de leur teneur protéique. Ces travaux sont conduits en partenariat avec les entreprises de sélection.

a)



b)



Acquisition de spectre NIR de pupa de larve de mouche du soldat noir ; b) spectres NIR de pupa de mouche en position dorsale ou ventrale.

Le départ de l'ingénieur en charge de la plateforme au courant de l'été n'a pas permis de finaliser les travaux envisagés qui ont été reportés à l'embauche d'un nouvel ingénieur à l'automne 2022. La fin de

l'année 2022 a été en partie dédiée à la formation de ce nouvel ingénieur afin de conduire les travaux envisagés dans les projets de R&D.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Les travaux conduits par la plateforme SpecGen ont permis de développer des protocoles de mesures conservés sous formes de fiches de procédures. Les spectres générés en 2022 ont été mis à disposition de statisticiens et des généticiens du SYSAAF ou partenaires des projets de recherche.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Les travaux réalisés par la plateforme SpecGen ont été présentés lors de l'assemblée générale du projet européen H2020 AqualImpact (Stirling, septembre 2022). Une analyse des difficultés rencontrées a été présentée et discutée.

Ppilow; Évaluation du potentiel de production de lignée double fin en élevage biologique ou à faible intrants.

Objectifs du projet et état de l'art :

Le projet PPILOW vise à coconstruire, grâce à une approche multi-acteurs, des solutions pour améliorer le bien-être des volailles élevées dans des systèmes de production biologique et à faible niveau d'intrants en plein air. L'objectif du SYSAAF dans ce projet vise à travailler sur des alternatives innovantes à l'élimination des poussins mâles d'un jour des lignées de poules pondeuses en développant des croisements appelés « double fin ». Pour cela, le SYSAAF a construit et mis en place une étude en station expérimentale visant à comparer les performances de production en élevage de 3 lignées double-fins dans trois pays différents ; l'Allemagne, le Danemark et la France.

Ces 3 lignées correspondent à des croisements entre lignée chair et ponte afin de rechercher un compromis acceptable et rentable pour les éleveurs de poulet de chair et les éleveurs de poules pondeuses. L'orientation des croisements peut favoriser la production de chair ou la production d'œuf (Ibrahim D *et al.*, 2019 ; Torres A. *et al.*, 2019). L'objectif du projet étant de pouvoir répondre à la demande des consommateurs et des éleveurs en proposant des génotypes orientés chair et d'autres orientés ponte (Jasouri M. *et al.*, 2017). Les paramètres de nutrition, stratégie d'alimentation, comportement et mesures de bien être seront analysés entre les 3 conditions d'élevage et comparés aux études publiées dans la littérature (Rezaei, Mehdi, *et al.* 2018). Le but final étant de définir le génotype le plus prometteur en terme de performance dans ces différentes conditions d'élevage.

État de l'art : De nombreux génotypes double-fin ont été testés pour des tests en élevage notamment en Afrique où le sexage des poussins est rarement effectué à la naissance. À ce jour, il n'y'a aucun génotype qui apporte un compromis satisfaisant à la fois pour les éleveurs de poulets et pour les éleveurs de poules pondeuses.

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

La difficulté de ce projet réside dans le fait que la production d'œufs est opposée à la production de chair. Il faut donc trouver un compromis entre la production en œuf, le poids et la conformation des poulets. Il est donc difficile pour les éleveurs d'être rentable en élevant ces génotypes. La perte de la production d'œufs n'étant pas compensée par la valorisation de la viande produite par les mâles.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

3 génotypes présentant des objectifs de croissance et de production d'œufs différents ont été testés en station expérimentales, un génotype typé « chair » (A), un génotype « rustique » (B), et un génotype typé « ponte » (C). Suite aux essais réalisés en station expérimentale en Allemagne, France et Danemark, les performances de production des différents génotypes testés ont pu être décrites (Tableau 1 et 2).

Genotype A	Denmark	Germany	France	average
Body weight week 12, g	2019	2178	1950	2049
av feed consumption, g	74	92		
FCR	3.1	3.6	3,56	3,42
Genotype B	Denmark	Germany	France	average
Body weight week 12, g	1645	1763	1600	1669
av feed consumption, g	63	76		
FCR	3.3	3.7	4,07	3,69
Genotype C	Denmark	Germany	France	average
Body weight week 12, g	1732	1603	1350	1561
av feed consumption, g	64	71		
FCR	3.1	3.7	3,69	3,49

Comparaison des performances des mâles double-fins dans les différents pays

Genotype A	Denmark	Germany
Body weight at week 18, g	2288	2301
Eggs until 62 weeks	219	227
Genotype B	Denmark	Germany
Body weight at week 18, g	1924	1884
Eggs until 62 weeks	224	231
Genotype C	Denmark	Germany
Body weight at week 18, g	2051	1872
Eggs until 62 weeks	245	248

Comparaison des performances des femelles double-fins entre le Danemark et l'Allemagne

Ces résultats ont été présentés à des groupes d'éleveurs et certains d'entre eux se sont portés volontaires pour tester des génotypes dans leur ferme et rapporter les performances de production par rapport aux souches pontes ou chair qu'ils ont l'habitude d'élever afin d'estimer la perte avec l'élevage de ces souches.

Au Danemark le génotype A et C sont en cours d'élevage et se termineront pour l'été 2023.

En Allemagne les œufs génotype B sont en cours d'incubation, avec une fin d'élevage prévu pour 2024. L'essai en France s'est déroulé de l'automne 2021 jusqu'à l'hiver 2022. Les résultats sont en cours d'acquisition.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

L'intérêt pour la filière est de répondre à l'interdiction ministérielle de l'élimination des poussins mâles d'un jour. Le développement de lignée double-fin permettrait de développer un marché de niche pour répondre à l'exigence des consommateurs.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Hammershøj, M., Kristiansen, G.H., Steinfeldt, S., 2021. Dual-Purpose Poultry in Organic Egg Production and Effects on Egg Quality parameters. Foods 2021, 10, 897. doi: 10.3390/foods11030311

Références bibliographiques citées :

Ibrahim D, Goshu G, Esatu W, Cahaner A., 2019. Dual-purpose production of genetically different chicken crossbreeds in Ethiopia. 1. Parent stocks' feed intake, body weight, and reproductive performance. Poult Sci., 98(8):3119-3129. doi: 10.3382/ps/pez136

Torres A, Muth PC, Capote J, Rodríguez C, Fresno M, Valle Zárate A., 2019. Suitability of dual-purpose cockerels of 3 different genetic origins for fattening under free-range conditions. *Poult Sci*, 98(12):6564-6571. doi: 10.3382/ps/pez429.

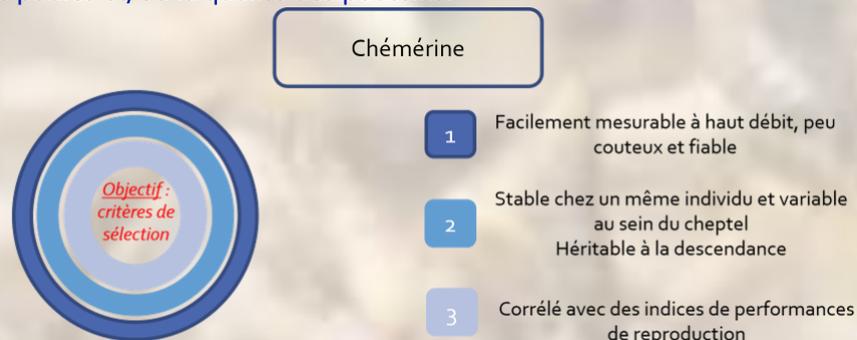
Jasouri M, Zamani P, Alijani S., 2017. Dominance genetic and maternal effects for genetic evaluation of egg production traits in dual-purpose chickens. *Br Poult Sci.*, 58(5):498-505. doi: 10.1080/00071668.2017.1336748.

Rezaei, Mehdi, *et al.* "Feed efficiency, growth performance, and carcass characteristics of a fast-and a slower-growing broiler hybrid fed low-or high-protein organic diets." *Organic Agriculture* 8 (2018): 121-128.

Chempredict : Concentration de chémérine dans l'albumen et nombre de cellules du disque germinale : Des marqueurs potentiels de la qualité du développement embryonnaire pour la sélection génétique chez les oiseaux

Objectifs du projet :

Le SYSAAF conduit en collaboration avec l'équipe SENSOR de l'UMR-PRC de l'INRAE l'encadrement d'une thèse CIFRE (Ophélie Bernardi) (programme Chempredict) dont l'objectif est d'étudier le rôle physiologique spécifique d'adipokines, en particulier la chémérine, sur le développement embryonnaire. Tout d'abord elle précisera le rôle de la chémérine lors du développement embryonnaire avant de quantifier les variabilités intra et interindividuelles du niveau d'expression de la chémérine dans le blanc d'œuf et au niveau des membranes périvitellines. Elle étudiera par ailleurs si la concentration de chémérine dans l'albumen pourrait être corrélée avec les performances de reproduction des poules et/ou la qualité des poussins.



Caractéristiques nécessaire de la chémérine pour être un critère de sélection utilisé dans les schémas de sélections avicoles

État de l'art :

Comme dans plusieurs espèces aviaires, la mortalité embryonnaire précoce chez le *Gallus gallus domesticus* et les palmipèdes reste un problème important, exacerbé lorsqu'il y a stockage des œufs. La mortalité embryonnaire précoce reste élevée chez les volailles (Coleman, 1983 ; Krueger, 1990), les bases biologiques de cette mortalité ne sont pas clairement connues. Dupuy *et al.* (2002) ont montré que chez la plupart des canards, le premier clivage a lieu 3 h juste après l'ovulation, soit avant même que la coquille ne soit formée, ce qui peut être observé dans le magnum alors qu'il a lieu au niveau de l'isthme chez la caille (Stepinska and Olszanska, 1983) et au niveau de l'utérus pour la poule et la dinde (Dupuy *et al.* 2002). Chez la poule, le nombre de cellules présentes dans le disque germinale lors de l'oviposition est d'environ 50 000 d'après Sauveur (1988), mais peut varier entre 20 000 et 60 000 (Données non publiées). L'œuf reste ensuite bloqué à ce stade tant que la température reste inférieure à 21-22°C et inversement lors de pré-chauffage des œufs en attente de la mise en incubation. Chez le canard, l'embryon est déjà au stade 2, lorsque l'œuf arrive dans l'utérus. Au moment de l'oviposition, le nombre de cellules présentes dans le disque germinale est variable d'un œuf à l'autre, suggérant un effet femelle dans le processus de reproduction et en particulier le développement embryonnaire ultérieur ainsi que la qualité du caneton (données non publiées). Sachant qu'il est connu que la durée

et les conditions de stockage des œufs avant incubation influencent la vitesse de développement embryonnaire et qu'un préchauffage des œufs avant incubation en induisant un développement cellulaire permet de limiter la baisse d'éclosabilité résultant d'un stockage prolongé, les implications de cette variabilité du nombre de cellules n'ont néanmoins jamais fait l'objet d'investigation, du moins à notre connaissance, non plus que les mécanismes sous-jacents qui restent à démontrer.

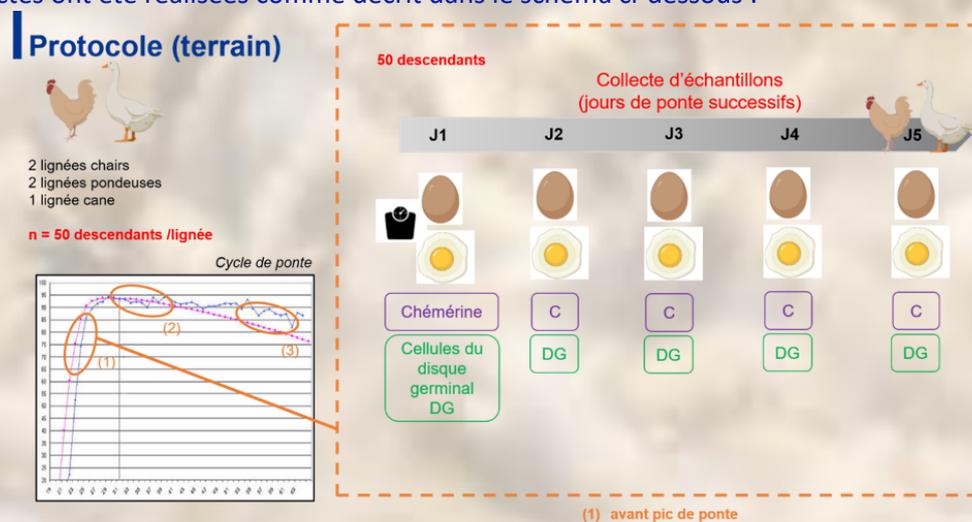
À ce titre, la chémérine pourrait-être impliquée puisqu'elle joue un rôle régulateur du métabolisme foëto-maternel, la croissance du foëtus et l'homéostasie métabolique pendant la grossesse chez les mammifères. Parallèlement, nous avons récemment observé que cette protéine était fortement présente dans le blanc d'œuf chez l'espèce *Gallus*, ainsi que chez les canards (Expression of Chemerin in the magnum of chicken oviduct, perivitelline membranes, egg white and in extra-embryonic annexes: a potential role in embryo development? Estienne A., *et al.*, IFRG-PDP 2019 Tours August 28-30, 2019, Programme FertiliChem). Celle-ci résulte de sa forte expression dans le magnum de l'oviducte, mais également directement au niveau des membranes périvitellines de l'œuf. Par ailleurs, une expérience préliminaire montre qu'une injection in ovo d'un anticorps anti-chémérine au cours de la période d'incubation ralentie ou bloque le développement embryonnaire, selon une relation dose-dépendante chez *Gallus* (Programme FertiliChem, Données non-publiées).

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Nous n'avons aucune certitude sur le fait que le paramètre phénotypé dans ce projet à savoir « la concentration de chémérine dans l'albumen » sera corrélé avec des performances de reproduction, ni si l'effectif étudié sera suffisant pour révéler des corrélations significatives. La durée du phénotypage de ce paramètre et son coût reste un verrou pour un usage par les industriels de la filière.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Durant la première année, la collecte d'échantillons (œufs de poules et de canes collectés à 3 moments du cycle de ponte) en élevage industriel. Chez les entreprises adhérentes du SYSAAF, la durée de la collecte a été de 10 semaines pour un total de 4 000 œufs. Ce qui a constitué ainsi la génération 0 (G0). Les collectes ont été réalisées comme décrit dans le schéma ci-dessous :



Protocole d'échantillonnage de la chémérine et des cellules composant le disque germinale sur le terrain.

Les analyses sur ces échantillons (poids, nombre de cellules du disque germinale, concentration de chémérine, et analyses statistiques) ont été effectuées. Cela a été permis grâce à la mise au point d'un kit ELISA permettant de doser la concentration de la protéine d'intérêt : la chémérine. Également, des corrélations avec les performances de reproduction ont été établis grâce au partage des données de reproduction des animaux des entreprises adhérentes au projet.

Pour les lignées de canes, poules de chair et poules pondeuses nous trouvons les corrélations suivantes :

Corrélations G0

Pearson r	Poids albumen	Ponte	Fécondité	Fertilité	Mortalité des descendants
	- 0.35 (2) après pic	X	X	X	X
	X	X	0.33 (1) avant pic	X	X
	X	X	X	X	X
	X	X	X	X	X
		- 0.43 (1) avant pic			0.42 (2) après pic

Pearson r	Eclosabilité	Ponte	Fécondité	Fertilité	Mortalité embryonnaire
	- 0.29 (1) avant pic	X	X	- 0.31 (1) avant pic	X
	0.33 (1) avant pic	X	0.35 (1) avant pic	0.36 (1) avant pic	- 0.33 (1) avant pic
	X	X	0.38 (2) après pic	0.28 (2) après pic	X
	X	0.35 (1) avant pic	X	X	X

Chémérine

Cellules du disque germinale DG

Tableau des corrélations entre la concentration de chémérine dans l'albumen et le nombre de cellules du disque germinale avec les performances de reproduction des poules de la génération G0

Nous obtenons une corrélation positive entre la concentration de chémérine avant le pic de ponte et la fécondité (lignée ponte). Cette corrélation, si elle est validée en deuxième génération, pourrait être intéressante pour sélectionner les animaux reproducteurs.

Des corrélations positive sont obtenues avec l'éclosabilité, la ponte, la fécondité et la fertilité pour les lignées ponte et chair. Ces corrélations sont intéressantes cependant le protocole de dénombrement cellulaire est lourd à mettre en place sur le terrain et nécessite d'être simplifié.

Durant cette seconde année de thèse, le protocole de collecte d'échantillons décrit brièvement ci-dessus a été répété sur les descendants des animaux de la première génération (G0) représentant au final 8 semaines de collecte/génération G1. Les analyses sur ces échantillons (poids d'œufs, concentration protéique de chémérine dans l'albumen, dénombrement cellulaire du disque germinale et analyses statistiques) ont été effectuées. La crise de la grippe aviaire a affecté négativement ce projet de thèse puisque l'un des cheptels de canes sur lequel des collectes d'échantillons biologiques ont été réalisées en première année de thèse (G0) a dû être éliminé. Maintenant la doctorante tâche d'établir des corrélations avec les performances de reproduction pour les animaux de la deuxième génération (G1) pour *in fine* définir si la chémérine ou le nombre de cellules seraient des caractères héréditaires et pourraient être des marqueurs des performances de reproduction et/ou du développement embryonnaire.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Déterminer des régulateurs du développement embryonnaire précoce permettra d'améliorer l'éclosabilité et la qualité de l'embryon. L'intérêt direct pour la filière est d'améliorer le nombre mais surtout l'homogénéité (timing des éclosions, qualité du poussin, produits commerciaux). Cette production dépend du nombre d'œufs fécondés pondus, de la fécondation (c'est-à-dire de la fertilité de la femelle) et du taux d'éclosion des œufs fécondés. L'éclosion, étant directement dépendante de la viabilité de l'embryon entre le moment de la fécondation et de l'éclosion, met en évidence que l'identification d'un marqueur de la viabilité des embryons sera un réel bénéfice pour la filière avicole. De plus, les taux de fertilité en insémination artificielle (technique systématiquement utilisée pour la production de canard mulard) varient entre 65 et 80 % avec deux IA par semaine (Marie-Etancelin et

al., 2008). L'ensemble de ces paramètres pourraient sans doute être amélioré si la connaissance des régulateurs de la viabilité embryonnaire étaient identifiés.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Bernardi O, Reverchon M, Estienne A, Baumard Y, Ramé C, Brossaud A, Combarous Y, Froment P, Dupont J. Chicken white egg chemerin as a tool for genetic selection for egg weight and hen fertility. *Front Physiol.* 2022 Sep 13;13:1012212. doi: 10.3389/fphys.2022.1012212.

Communication orale aux Journées de la Recherche Avicole 2022 : Bernardi, O., Reverchon, M., Ramé, C., Baumard, Y., Dupont, J., 2022. Variabilité de l'expression de la chémérine dans l'albumen et dans le plasma sanguin de différentes lignées de poules pondeuses.

Présentation orale (anglais) aux Journées Thésards INRAE (juin 2022) : Bernardi, O., Reverchon, M., Ramé, C., Baumard, Y., Dupont, J., 2022. Variabilité de la quantité de chémérine dans l'albumen et le plasma de différentes lignées de poules

Communication orale (anglais) au World Poultry Congress (août 2022): Bernardi, O., Reverchon, M., Ramé, C., Dupont, J., 2022. Chemerin concentration in albumen and cell number of germinal disc: potential markers of the quality of embryo development for genetic selection in birds.

Présentation orale aux Journées Techniques du SYSAAF (octobre 2022) : Bernardi O., 2022. Chemerin in egg albumen and cell number of germinal disc: potential biomarkers of embryo development for genetic selection in birds.

Poster au congrès Biotechnocentre (octobre 2022) et à Fertility (Belfast – janvier 2023) : Bernardi, O., Estienne, A., Reverchon, M., Ramé, C., Dupont, 2022. La chémérine : un prédicteur précoce des capacités de stéatose hépatique chez le canard à gaver ?

Références bibliographiques citées :

Dupuy V, Nersessian B, Bakst MR., 2022. Embryonic development from first cleavage through seventy-two hours incubation in two strains of pekin duck (*Anas platyrhynchos*). *Poult Sci.*, 81(6):860-8. doi: 10.1093/ps/81.6.860.

Stepińska, U., and Bozenna O., 1983. Cell multiplication and blastoderm development in relation to egg envelope formation during uterine development of quail (*Coturnix coturnix japonica*) embryo. *Journal of Experimental Zoology* 228.3 : 505-510.

Marie-Etancelin, Christel, *et al*, 2008. Genetics and selection of mule ducks in France: a review. *World's Poultry Science Journal* 64.2: 187-208.

Chemeco: La chémérine, un prédicteur précoce des capacités de stéatose hépatique chez le canard mulard

Objectifs du projet :

Mettre au point un kit ELISA « maison » permettant de déterminer la concentration plasmatique de la chémérine dans plasma des canards à gaver Mulard, et déterminer l'expression de la chémérine et de ses récepteurs dans le tissu adipeux abdominal afin d'identifier l'origine potentielle des variations plasmatiques de la chémérine au cours du gavage

État de l'art :

Les travaux conduits dans le laboratoire du partenaire INRAE (UMR-PRC, Equipe SENSOR) depuis plusieurs années ont permis l'identification d'une molécule, appelée, chémérine qui présente au niveau plasmatique un caractère prédicteur précoce du poids du foie à l'abattage chez le canard et au niveau du tractus reproducteur (follicule ovarien/œuf et oviducte) un régulateur du développement embryonnaire précoce. Nous utilisons actuellement un kit commercial que nous avons adapté en modifiant des points de gamme, mais le coût reste très élevé. Nous avons développé parallèlement un anticorps monoclonal et produit de la chémérine recombinante spécifique *Gallus gallus* qui croise parfaitement chez le canard. Un autre anticorps chémérine polyclonal cette fois-ci a aussi été

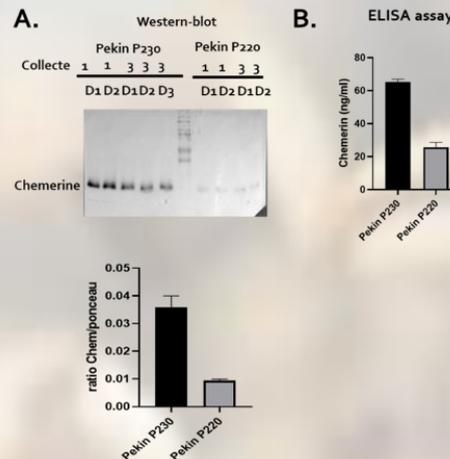
développé afin de mettre au point notre propre dosage ELISA. Nous avons déjà validé notre « kit maison » chémérine dans le plasma et dans le blanc d'œuf de poule (Bernardi *et al.*, 2022).

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Il faut vérifier que notre anticorps détecte bien les différentes isoformes de la chémérine.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

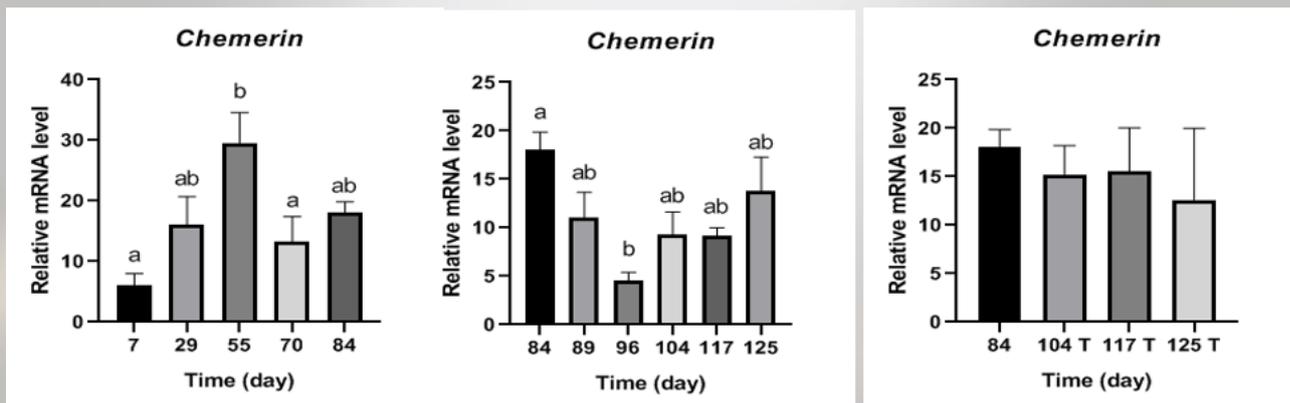
Comme montré ci-dessous, nous avons testé notre anticorps sur l'albumen de cane pékin et l'expression plus forte de la chémérine dans le blanc de cane Pékin 230 par rapport à la cane Pékin 220 a été observé à la fois avec notre kit ELISA et aussi par la technique Western-blot.



Expression protéique de la chémérine dans l'albumen de canes pékin dosée par Western Blot (A) et dosage ELISA (B)

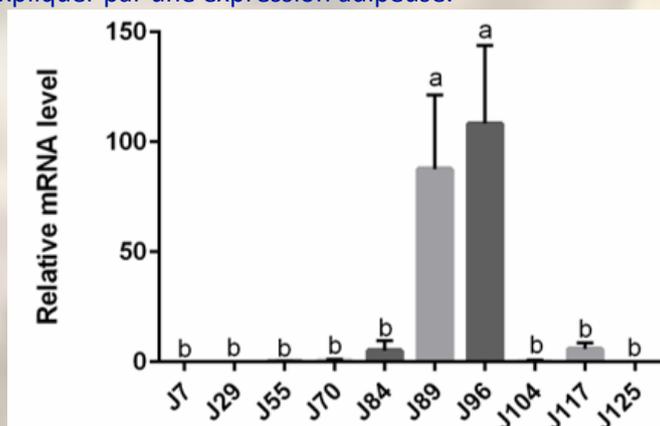
Nous pouvons valider notre kit de dosage ELISA pour la cane pékin et de barbarie. Mais de façon étonnante pas dans celui de canard Mulard (absence de bande correspondant à la taille de la chémérine). D'autre part, lorsque les mêmes plasmas ont été analysés par ELISA en utilisant notre kit « maison » il a été possible de doser la chémérine seulement dans les plasmas de canard Barbarie et Pékin mais pas dans ceux des Mulard. Par ailleurs ces plasmas Mulard étaient parfaitement dosables avec le kit commercial. Une explication possible est la conformation différente de la protéine chémérine de Mulard par rapport à celle de Pékin ou Barbarie. Lors de la production d'anticorps monoclonal de chémérine aviaire, nous avons sélectionné une quinzaine de clones, et pour l'instant 3 clones qui ne semblent pas reconnaître la chémérine de canard Mulard. Nous allons poursuivre nos tests avec les autres clones afin, nous l'espérons de pouvoir en identifier un qui reconnaîtra la chémérine de canard Mulard.

Comme montré ci-dessous, l'expression de la chémérine dans le foie augmente jusqu'à J55 d'âge par rapport à J7 puis diminue ensuite à J70 (figure A ci-dessus). De plus, nous observons une diminution de l'expression hépatique de la chémérine au cours du gavage qui est en partie restaurée après arrêt du gavage. Ces résultats signifient que l'augmentation de la concentration plasmatique de la chémérine au cours du gavage ne s'explique pas par une augmentation de l'expression de son messager. Elle pourrait être due à une variation de l'expression de la chémérine au niveau du tissu adipeux. Ainsi, nous avons proposé d'étudier la chémérine et ses récepteurs dans le tissu adipeux abdominal.



Expression de la chémérine dans le foie de canard mulard avant, pendant et après le gavage

Comme montré ci-dessus, nous observons une augmentation significative de l'expression de la chémérine au niveau du tissu adipeux abdominal milieu et fin de gavage par rapport aux stades avant gavage. D'autre part, une semaine après arrêt du gavage, nous constatons une très forte réduction de son expression suggérant que cette forte induction de l'expression du message de la chémérine dans le tissu adipeux abdominal puisse expliquer la très forte hausse de la chémérine plasmatique au cours de gavage. Ainsi l'origine de l'augmentation de la chémérine plasmatique au cours de la stéatose hépatique pourrait s'expliquer par une expression adipeuse.



Expression de la chémérine dans le tissu adipeux abdominal avant, pendant et après le gavage de canards mulards

Les travaux réalisés au cours 2021-2022 dans le cadre de notre projet ChemPredict ont permis :

- de mettre au point un kit ELISA « maison » permettant de doser la chémérine dans les blancs des œufs de cane de Pékin, ce kit fonctionne dans le plasma de canard Barbarie et Pékin mais pas de Mulard ;
- de montrer que l'augmentation de la chémérine plasmatique observée au cours du gavage est probablement due à une forte augmentation de l'expression de la chémérine au niveau du tissu adipeux abdominal.

Maintenant nous allons tester les autres clones de l'anticorps sur le plasma de canard mulard afin d'essayer de détecter la chémérine.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

- Prédire la taille du foie après gavage.
- Disposer d'un outil de dosage spécifique aviaire.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Présentation des résultats à la commission scientifique du CIFOG : La chémérine : Un prédicteur des capacités de stéatose hépatique chez le canard mulard. Dupont J, Reverchon M, 2023.

Références bibliographiques citées :

Bernardi O, Reverchon M, Estienne A, Baumard Y, Ramé C, Brossaud A, Combarous Y, Froment P, Dupont J., 2022. Chicken white egg chemerin as a tool for genetic selection for egg weight and hen fertility. *Front Physiol.* 13:1012212. doi: 10.3389/fphys.2022.1012212.

Mesure non létale du rendement en chair chez l'huître creuse par IRM (Quality-Huitre)

Objectifs du projet et état de l'art :

L'objectif de cette action est d'estimer s'il est possible de prédire le taux de chair des huître creuse de façon non létale par IRM et d'estimer l'héritabilité du rendement prédit.

Le taux de remplissage (ou taux de chair = poids de chair / poids total) constitue un des caractères retenus par la DGCCRF pour caractériser la qualité des huître creuse et les appellations (fine de clair...). Dans le cadre du projet Quality Huitre, nous avons estimé l'héritabilité du taux de remplissage et les corrélations génétiques avec divers caractères morphologique ou la croissance dans la population de l'entreprises de sélection Vendée Naissain (Jourdan *et al.*, 2023) laissant penser qu'il serait possible d'améliorer le rendement en chair, et donc la qualité du produit.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Les images IRM d'huître creuse acquises en 2020 par l'INRAE dans le cadre du projet Quality Huitre (voir CR CIR 2021 et 2022) ont été utilisées afin d'estimer des surfaces relatives de développement de la masse de chair molle. 1224 descendants de 133 parents ont été scannés par IRM et phénotypés pour le poids plein et le poids de chair.

a)



b)



c)

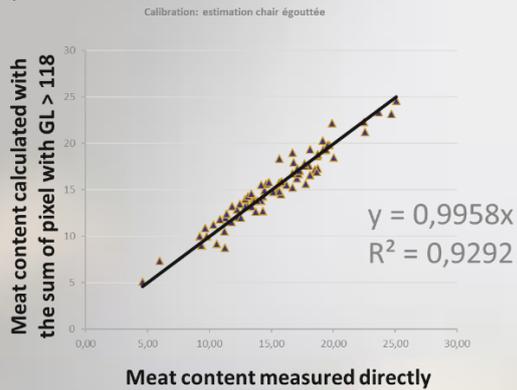


a) Dispositif de prise de vue en IRM simultanée de plusieurs huîtres, inspiré des travaux menés chez la truite ; b) appareil IRM INRAE ; c) image IRM

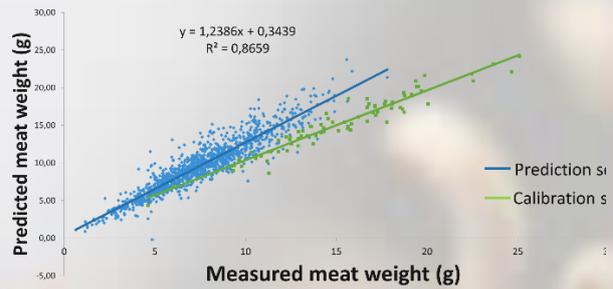
La corrélation phénotypique entre le poids de chair pesé et le poids prédit est élevée de 0,93 avec un intervalle de confiance à 95% compris entre 0.92 et 0.94 traduisant une très bonne prédiction du poids de chair par IRM.

Toutes les huîtres ont été génotypées sur puce 40K Axiom SNP array. Après génotypage, 12k SNPs ont été retenus et 97 % des descendants ont été correctement assignés à leurs 133 parents.

a)



b)



a) équation de calibration entre valeur mesurée et calculée par IRM ; b) équation de prédiction par IRM (bleue) par rapport à l'équation de calibration (verte).

Le modèle surestime le poids prédit, la calibration ne permettant pas de capter toute la variance certainement du fait de l'utilisation d'individus plus âgés et plus lourds dans le jeu de prédiction.

Les paramètres génétiques ont été estimés selon un modèle multicaractère avec le logiciel airemlf90. L'héritabilité du rendement en chair et celle du même rendement prédit sont équivalentes à 0.22 (± 0.04) avec une corrélation génétique élevée de 0.94 (± 0.04).

L'ordre de grandeur de l'héritabilité du rendement en chair est similaire à celui rapporté antérieurement chez la truite permettant d'envisager des gains par sélection sur collatéraux de l'ordre de 1% par génération.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Ces résultats montrent que l'IRM peut être utilisée pour prédire le rendement en chair de l'huître creuse (et vraisemblablement des autres coquillages) et ainsi sélectionner génétiquement. Cette technologie non invasive permet aussi un suivi dans le temps des individus ouvrant ainsi des pistes de travail sur le rôle des réserves en période estivale ou hivernale.

Un transfert à des IRM de plus petite taille constituera la prochaine étape pour rendre accessible cette technologie aux entreprises de sélection.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ces résultats ont été présentés à la conférence « International Symposium in Genetics in Aquaculture 2022 » au Chili en décembre 2022 et aux Journées Techniques Inter-filières du SYSAAF (octobre 2022, Rennes) :

Morvezen, R., Collewet, G., Jourdan, A., Enez, F., Chenier, F., Haffray, P., Quéllec S., 2022. Intérêt de l'IRM pour la prédiction du rendement en chair pour les programmes de sélection sur l'huître creuse. Journées techniques Inter-Filières du SYSAAF, 4-5 octobre 2022.

Morvezen, R., Collewet, G., Jourdan, A., Enez, F., Chenier, F., Haffray, P., Quéllec S., 2022. A non-lethal method for measuring meat yield in Pacific oyster: use of MRI and potential application in a genomic breeding program. International Symposium in Genetics in Aquaculture, Puerto-Varas, 27th November - 2nd December, 2022, Chili. Poster.

Références bibliographiques citées :

Jourdan, A., Morvezen, R., Enez, F., Haffray, P., Lange, A., Vétois, E., Allal, F., Phocas, F., Bugeon, J., Degremont, L., Boudry, P., 2023. Potential of genomic selection for production and quality traits in mixed-family breeding designs for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Accepted in Aquaculture.

Vandeputte, M., Bugeon, J., Bestin, A., Desgranges, A., Allamellou, J-M., Tyran, A-S, Allal, F., Dupont-Nivet, M., Haffray, P., 2019. First evidence of realized selection response on fillet yield in fish: a

demonstration in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, using indirect or sib selection. *Frontiers in Genetics*, 10: 1-13. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01225>

SELFIE: Mesure de l'efficacité alimentaire chez le bar et recherche de facteurs physiologiques (capacité respiratoire, composition en acide gras etc...) expliquant des différents d'efficacité inter individuelle

Objectifs du projet et état de l'art :

L'objectif du projet SELFIE est de comparer 2 méthodes de mesures de l'efficacité alimentaire (en aquarium individuel ou bien par la mesure de la perte de poids à jeun) et de mieux comprendre les différences physiologiques entre des poissons peu efficaces et des poissons plus efficaces.

Améliorer la capacité des poissons à convertir l'aliment ingéré en biomasse (l'efficacité alimentaire) est un objectif primordial en aquaculture. Cependant, améliorer ce caractère via sélection génétique est difficile à mettre en place car l'ingéré alimentaire individuel est difficile à mesurer sur des poissons vivants en groupe dans l'eau. De nombreux projets se sont donc intéressés à d'autres caractères indirects plus faciles à mesurer et potentiellement liés à l'indice de conversion (ou IC). De ces études, deux caractères ont été identifiés comme étant liés à l'IC des poissons en groupe : la perte de poids après une période de mis à jeun et l'IC de conversion mesurer individuellement en aquarium sous-alimentation restreinte (Besson *et al.*, 2022, 2019; Daulé *et al.*, 2014; Grima *et al.*, 2010). Ces projets ont permis de poser les bases d'une future mise en pratique de méthode de phénotypage pour l'amélioration de l'IC des poissons en groupe. Cependant d'importants questionnements scientifiques n'ont jamais été abordés. En particulier, la comparaison des gains potentiels entre la sélection sur la perte de poids au jeûne, sur l'IC en aquarium ou bien sur un indice linéaire des 2 caractères associés à d'autres caractères tel que la composition en acide gras tel que les omégas 3 et les omégas 6, nutriments essentiels pour l'alimentation humaine.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Nous avons utilisé en partenariat avec Ifremer à la Station de Palavas-les-Flots deux méthodes de phénotypage pour estimer l'efficacité alimentaire individuelle chez le bar européen. Avec la première méthode, nous avons mesuré la croissance de 452 poissons en aquarium individuel en alimentation restreinte (BWG) pendant deux semaines, les poissons à croissance rapide étant les plus efficaces. Avec la seconde méthode, nous avons mesuré la perte de poids (BWL) à jeun de 1343 poissons, les poissons perdant le moins de poids étant les plus efficaces. Tous les poissons ont été génotypés pour 57k SNP afin de calculer les paramètres génétiques et les valeurs d'élevage estimées (EBV) pour les deux caractères. Quatre groupes ont été créés à partir des valeurs d'élevage estimées. Pour le phénotype BWG, le groupe BWG+ a rassemblé les 120 poissons ayant les meilleures valeurs génétiques (EBV), tandis que le groupe BWG- a rassemblé les 120 poissons ayant les EBV les plus faibles. De même, pour le phénotype BWL, le groupe BWL+ a rassemblé les 120 meilleurs poissons et le groupe BWG- les 120 plus mauvais. Un échantillon de filet des 480 poissons a été utilisé pour estimer la composition en acides gras par chromatographie en phase gazeuse.

Les deux caractères d'efficacité alimentaire individuelle ont montré une héritabilité modérée (0.22 ± 0.08 pour BWG et 0.34 ± 0.04 pour BWL) et leur corrélation génétique était de 0.32 ± 0.23 montrant que ces caractères indirects ne prédisent pas le même caractère. Les teneurs acides gras ont également montré des héritabilités intéressantes. En effet, l' h^2 de la teneur en acide linoléique (un précurseur des oméga 6) et en acide alpha-linolénique (un précurseur des oméga 3) était respectivement de 0.54 ± 0.11 et 0.37 ± 0.12 . La teneur en EPA était également héritable (0.17 ± 0.08) alors que l'héritabilité de teneur en DHA n'était pas significativement différente de zéro (0.07 ± 0.07). De plus, les poissons des groupes présentant le meilleur taux de croissance en alimentation restreinte (BWG+) ou la plus faible perte au jeûne (BWL+) avaient des teneurs en EPA et DHA plus élevées et des teneurs en acide linoléique et en acide alpha-linolénique plus faibles que les poissons des groupes BWG- et BWL-. Ceci laisse à penser que les poissons plus efficaces BWG+ et BWL+ synthétisent plus les acides

linoléique et acides alpha-linolénique en oméga 3 et oméga 6 que les poissons moins efficaces BGW- et BWL-.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

L'estimation d'héritabilités modérées pour les 2 phénotypes d'efficacité alimentaire montrent que la sélection serait possible pour améliorer la capacité des poissons à convertir l'aliment en biomasse. Dans un programme de sélection piscicole utilisant la génomique, les gains phénotypiques réalisés seraient donc autour de +1.5% par génération. De plus, nous avons montré que les poissons plus efficaces étaient également plus riches en oméga 3 et oméga 6 suggérant que la sélection pour une meilleure efficacité alimentaire permettrait d'améliorer les qualités nutritives des poissons en plus de réduire les coûts d'achat d'aliment et de réduire les impacts environnementaux.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ces résultats ont été présentés à la conférence « International Symposium in Genetics in Aquaculture 2022 » au Chili en décembre 2022.

Références bibliographiques citées :

Besson, M., Allal, F., Chatain, B., Vergnet, A., Clota, F., Vandeputte, M., 2019. Combining individual phenotypes of feed intake with genomic data to improve feed efficiency in sea bass. *Frontiers in genetics* 10, 219.

Besson, M., Rombout, N., Salou, G., Vergnet, A., Cariou, S., Bruant, J.-S., Izquierdo, M., Bestin, A., Clota, F., Haffray, P., Allal, F., Vandeputte, M., 2022. Potential for genomic selection on feed efficiency in gilthead sea bream (*Sparus aurata*), based on individual feed conversion ratio, carcass and lipid traits. *Aquaculture Reports* 24, 101132. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101132>

Daulé, S., Vandeputte, M., Vergnet, A., Guinand, B., Grima, L., Chatain, B., 2014. Effect of selection for fasting tolerance on feed intake, growth and feed efficiency in the European sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 420, S42–S49.

Grima, L., Chatain, B., Ruelle, F., Vergnet, A., Launay, A., Mambrini, M., Vandeputte, M., 2010. In search for indirect criteria to improve feed utilization efficiency in sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Part II: Heritability of weight loss during feed deprivation and weight gain during re-feeding periods. *Aquaculture* 302, 169–174.

2.2. Approche génétique (calcul de paramètres génétiques, recherche de gènes sous-jacents...)

Afin d'évaluer l'intérêt, d'estimer l'efficacité, de l'introduction d'un caractère dans un objectif de sélection, l'étude préalable de ses paramètres génétiques est nécessaire. Il est parfois également important de revenir sur la compréhension du déterminisme génétique de caractère plus ancien déjà connu mais qui peuvent faire l'objet de travaux incluant de nouvelles technologies d'analyse génétique.

En 2022, ce travail de caractérisation génétique de caractère phénotypique a notamment porté sur des caractères de résistance aux maladies chez les poissons, de qualité et composition de produit, d'indicateurs de robustesse chez le poulet. De nouvelles espèces, insectes en particulier, n'ayant jusqu'à présent pas fait l'objet de nombreuses caractérisations génétiques ont également été traitées dans ce cadre.

Estimation de l'héritabilité de la résistance à une bactériose (edwardsiellose) chez le turbot [Turboost]

Objectifs du projet :

Le projet Turboost visait à étudier la possibilité d'améliorer le schéma de sélection du turbot par introduction d'une sélection généalogique sur des caractères de mesure létale de résistance à un

pathogène et/ou de caractères de découpe. En effet, l'obtention d'animaux intrinsèquement plus résistants par le biais de la sélection génétique permettrait de réduire l'usage d'antibiotiques.

État de l'art :

Au moment du dépôt du projet à FranceAgriMer, la littérature scientifique ne rapportait pas d'estimation de paramètres génétiques pour la résistance à l'edwardsiellose chez le turbot. Chez d'autres espèces piscicoles une première étude mentionnait une héritabilité de 0,38 pour la résistance de *Labeo rohita* à l'edwardsiellose (Mohanti *et al.*, 2012).

Un panel d'assignation de 96 SNP avait été développé dans le cadre du projet Turboboost par le SYSAAF et validé sur des familles connues. Cet outil d'assignation était indispensable pour reconstituer la généalogie des individus et permettre l'estimation de la part de variabilité génétique transmissible (héritabilité) et donc sélectionnable (voir CR CIR 2022). En outre, un protocole de challenge infectieux des turbots à l'edwardsiellose avait aussi été mis au point par l'ANSES dans la première année du projet Turboboost sur la plateforme de challenge pathologique Fortior Genetics (voir CR CIR 2022).

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Pour estimer de façon précise l'héritabilité du caractère binaire que représente la survie ou la mort suite à l'épreuve infectieuse des turbots à l'edwardsiellose, les conditions suivantes doivent être réunies : i) l'obtention de 30% à 70% de mortalité cumulée au challenge sachant que 50% est une situation idéale, ii) la bonne assignation parentale des turbots phénotypés sur leur résistance. La réalisation de pré-tests au challenge infectieux doit permettre d'atteindre cet objectif de 50% de mortalité.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Une cohorte de turbots a été produite et élevée par l'entreprise de sélection France Turbot Ichthus puis phénotypée pour la résistance à *E. piscicida* à Fortior Genetics grâce au challenge développé précédemment par l'ANSES dans le projet. Les individus ont ensuite été génotypés sur le panel d'assignation de 96 SNP. Les résultats du challenge ont été analysés par le SYSAAF. Différents logiciels d'estimation des paramètres génétiques ont été utilisés (VCE, thrigibsf90, remlf90, TM) avec différents modèles (par exemple avec ou sans le poids individuel initial au challenge en covariable ou encore en considérant la durée de survie plutôt que la survie binaire ou la survie à 50% de mortalité cumulée).

En dépit des pré-tests réalisés avant l'épreuve infectieuse, la cohorte expérimentale a subi 90% de mortalité cumulée (là où 50% étaient visés). Le taux d'assignation est plus faible que les 99% attendus. Seuls 72,7% des individus ont été retenus (de généalogie reconstituée), conduisant à un jeu de données effectif où la mortalité cumulée est en fait de 96,6% (seuls 29 survivants ont pu être assignés à parenté). Sans certitude sur la convergence des modèles, la fourchette d'estimation la plus probable de l'héritabilité de la résistance à l'edwardsiellose sur notre jeu de données se situait entre $0,21 \pm 0,11$ et $0,10 \pm 0,07$.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Après la fin du projet Turboboost (automne 2022), une étude chinoise a rapporté une première estimation d'héritabilité de l'ordre de 0,24 pour la résistance du turbot à l'edwardsiellose (Sun *et al.*, 2022), après donc la fin du projet Turboboost. Les résultats de cette publication confirment nos résultats avec une héritabilité néanmoins supérieure mais toujours limitée. La mortalité élevée au challenge et le taux limité d'assignation de parenté n'ont pas permis de disposer du jeu de données attendu. L'hypothèse la plus probable serait due à la l'absence des échantillons d'ADN d'un ou plusieurs parents puisque tous les ADN étaient de qualité suffisante pour permettre l'assignation.

Une réitération d'épreuve infectieuse est nécessaire sur une cohorte de pédigrée connu. Si la possibilité de sélectionner génétiquement sur la résistance à ce pathogène était confirmée, comme le suggère le travail chinois rapporté, la filière disposerait d'un levier supplémentaire à la prophylaxie et aux traitements antibiotiques pour lutter contre cette bactériose.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Les résultats de l'estimation de l'héritabilité de la résistance du turbot à l'edwardsiellose sont trop préliminaires pour avoir été diffusés à une échelle plus large que le consortium Turboost.

Références bibliographiques citées :

Mohanti, B.R., Sahoo, P.K., Mahapatra, K.D., 2012. Differential resistance to edwardsiellosis in rohu (*Labeo rohita*) families selected previously for higher growth and/or aeromoniasis-resistance. *J. Appl. Genetics* 53, 107–114. <https://doi.org/10.1007/s13353-011-0072-y>

Sun, S., Lyu, D., Hu, Y., Wang, W., 2022. Estimating genetic parameters of resistance against *Edwardsiella tarda* in turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture Reports* 26 : 101329. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101329>

Estimation de l'héritabilité des acides gras (dont les omega indispensables pour la santé humaine) présents dans la chair de la daurade [AqualIMPACT]

Objectifs du projet :

L'objectif de cette étude était d'estimer l'héritabilité génomique de la composition en acides gras polyinsaturés (AGPI) de la chair de daurade afin d'améliorer la qualité nutritionnelle des daurades d'élevage par sélection génétique sur ces caractères.

État de l'art :

Le coût de la mesure des acides gras par chromatographie en phase gazeuse limite les possibilités de phénotypage d'un grand nombre d'individus et rend inaccessible la sélection de ce type caractère à des entreprises de sélection de taille limitée. Une alternative testée avec succès chez la truite par le SYSAAF en partenariat avec l'Université de Rennes 1 (Prado *et al.*, 2021) permet d'envisager le remplacement de la chromatographie par une mesure spectrométrique. Avec cette alternative technologique il a été possible d'estimer que certains acides gras prédits par spectrométrie Raman sur le gras viscéral sont héréditaires chez la truite (Blay *et al.*, 2021).

Dans le cadre des premières années du projet AqualIMPACT, des équations de prédiction des acides gras du filet de daurade ont été établies par le SYSAAF et l'Université de Rennes 1 entre des spectres Raman obtenus sur le gras de dépôt ventral (myosepte ventral) et la quantification des acides gras du filet mesurée par chromatographie en phase gazeuse (rapports d'activité 2021).

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

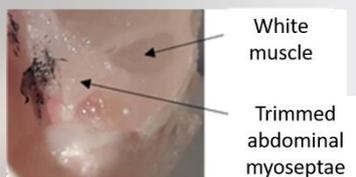
La méthodologie adoptée pour l'acquisition des spectres Raman pour identifier et quantifier les acides gras est nouvelle chez la daurade. On ignore par exemple si la variation spectrale observée sur le myosepte ventral permettra d'estimer une variabilité génétique de la composition du filet entier.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

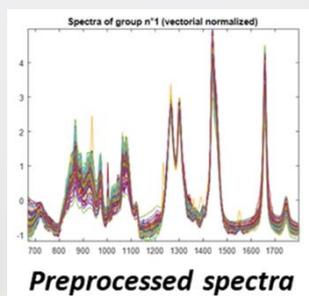
En 2021, 824 daurades dérivées du programme de sélection de l'entreprise FMDS avaient été prélevées individuellement lors d'un chantier de découpe au niveau de gras ventral. Ces échantillons avaient été congelés et conservés en cryotube dans de l'azote liquide pour l'acquisition de spectres Raman. Les spectres de chaque échantillon ont été acquis en Raman au cours de l'année 2022 sur la plateforme SpecGen en partenariat avec la plateforme SIR-Scan Mat du CNRS et de l'Université Rennes.

1.

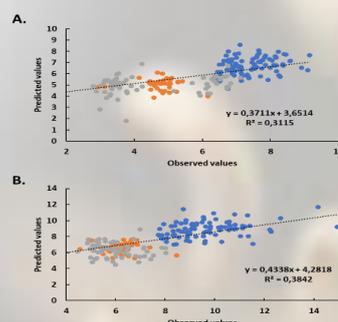
a)



b)



c)



Protocole de phénotypage en spectrométrie Raman des gras ventraux de daurade. a) Localisation de la mesure spectrale dans le gras de parage ventral ; b) spectres Raman des 824 daurades ; c) équations de calibrations utilisées pour prédire les acides gras (ici EPA et DHA).

À partir des spectres acquis, la teneur en différents acides gras a été prédite pour chaque individu grâce aux équations de prédiction précédemment établie. Le pédigré des daurades avaient été préalablement établi par assignation de parenté. Les héritabilités des AGPI ont été estimées avec le logiciel VCE selon en monocaractère selon le modèle animal. Les résultats phénotypiques de prédiction des acides gras calculés à partir des équations de prédiction sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Acide gras	Nom	Moyenne	Ecart-type	CV%	Min	Max
SFA	Acides gras saturés	32,41	0,16	0,50	31,37	32,98
MUFA	Acides gras monoinsaturés	36,95	0,34	0,91	36,02	39,04
PUFA	Acides gras polyinsaturés	33,36	0,34	1,01	31,57	34,44
n3	Omega 3	28,43	0,33	1,17	27,01	29,76
n6	Omega 6	8,28	0,16	1,88	7,69	9,01
C16_0	Acide palmitique (PA)	19,48	0,11	0,57	18,79	19,79
C18_0	Acide stéarique (SA)	5,14	0,05	0,89	5,02	5,40
C18_1_n9	Acide oléique (OA)	15,29	0,33	2,16	14,21	17,30
C18_2_n6	Acide linoléique (LA)	7,05	0,16	2,24	6,46	7,82
C18_3_n6	Acide gamma linoléique (GLA)	0,16	0,00	2,31	0,15	0,17
C20_2_n6	Acide homolinoléique (HLA)	0,15	0,01	4,31	0,13	0,18
C20_3_n6	Acide dihomogamma linoléique n6 (DGLA_n6)	0,23	0,00	0,35	0,22	0,23
C20_4_n6	Acide arachidonique (ARA)	0,93	0,01	1,55	0,88	0,99
C20_5_n3	Acide éicosapentaénoïque (EPA)	9,87	0,14	1,39	9,30	10,39
C22_1_n9	Acide érucique (EA)	1,65	0,02	1,40	1,59	1,76
C22_5_n3	Acide docosapentaénoïque n3 (DPA_n3)	3,70	0,03	0,84	3,58	3,84
C22_6_n3	Acide docosahexaénoïque (DHA)	13,03	0,18	1,39	12,39	13,81
EPA+DHA	Somme d'EPA et DHA	27,80	0,34	1,21	26,56	29,22
n6/n3	Ratio d'omega 6 sur omega 3	0,85	0,03	4,06	0,75	1,03

Statistiques descriptives de la teneur en acides gras (en g pour 100 g) prédite par spectroscopie Raman sur 824 daurades

La variabilité phénotypique des trois quarts des acides gras est très faible (<2% de coefficient de variation). Pour certains caractères les modèles n'ont pas convergé, et lorsque c'était le cas toutes les héritabilités estimées ne différaient pas significativement de zéro.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Les résultats obtenus interrogent. Ils ne sont pas en accord avec les travaux de Horn *et al.*, (2022) chez la daurade rapportant des coefficients de variation des acides gras estimés par chromatographie en phase gazeuse supérieurs (16% et 22%) et des estimations d'héritabilités très supérieures.

En l'état, et malgré nos investigations, nos résultats ne permettent pas de conclure sur l'intérêt du protocole de prédiction des acides gras évalué. De plus, ce travail, s'ajoutant à notre travail précédent (Blay *et al.*, 2021) confirme que les équations de calibration devraient être établies sur les individus sur lesquels elles vont ensuite être utilisées pour prédire les valeurs d'intérêt, ce qui n'a pas été le cas dans la présente étude.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ces résultats étant trop préliminaires, ils n'ont pas été diffusés en dehors du consortium AqualIMPACT.

Références bibliographiques citées :

Blay, C., Haffray, P., D'Ambrosio, J., Prado, E., Dechamp, N., Nazabal, V., Bugeon, J., Enez, F., Causeur, D., Eklouh-Molinier, C., Petit, V., Phocas, F., Corraze, G., Dupont-Nivet, M., 2021. Genetic architecture and genomic selection of fatty acid composition predicted by Raman spectroscopy in rainbow trout. *BMC Genomics* 22, 788. <https://doi.org/10.1186/s12864-021-08062-7>

Horn, S.S., Aslam, M.L., Difford, G.F., Tsakoniti, K., Karapanagiotis, S., Gulzari, B., Bastiaansen, J.W.M., Peñaloza, C., Houston, R., Ruyter, B., Sonesson, A.K., 2022. Genetic parameters of fillet fatty acids and fat deposition in gilthead seabream (*Sparus aurata*) using the novel 30 k Medfish SNP array. *Aquaculture* 556, 738292. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738292>

Prado, E., Eklouh-Molinier, C., Enez, F., Causeur, D., Blay, C., Dupont-Nivet, M., Labbé, L., Petit, V., Moreac, A., Taupier, G., Haffray, P., Bugeon, J., Corraze, G., Nazabal, V., 2021. Prediction of fatty acids composition in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* by using Raman micro-spectroscopy. *Analytica Chimica Acta.*, <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.339212>

Un monitoring précoce de la qualité des poussins pour une production avicole plus durable [Chick'Tip]

Objectifs du projet :

L'objectif est d'identifier des indicateurs de la qualité/robustesse des poussins à l'éclosion afin de réduire la mortalité précoce des volailles de chair. Après l'étude de Hans en 2020 sur la mise en évidence des caractères ou combinaison de caractères potentiellement corrélés avec la qualité du poussin, le rôle de la génétique dans l'établissement de la qualité du poussin ainsi que l'amélioration de cette qualité par la sélection reste à explorer. Afin de répondre à cet objectif, une étude a été réalisée en évaluant l'effet d'une sélection des différences entre lignées divergeantes pour le pH ultime de la viande, reflet des réserves énergétiques musculaire, sur la qualité du poussin et en estimant chez le poulet les paramètres génétiques (héritabilités et corrélations génétiques) de ces caractères mesurés à l'éclosion (J0), le lendemain de l'éclosion après un démarrage challengeant les animaux (J1) et à 7 jours (J7).

État de l'art :

En 2021, les travaux ont montré que l'augmentation des réserves énergétiques (c'est à dire la lignée pHu-) s'accompagne d'un meilleur état physique et comportemental des poussins durant la première semaine de vie avec une meilleur état d'éveil et une moindre concernant le caractère de score visuel de qualité. Ce score permet donc de qualifier l'état général de qualité du poussin. Le poids des animaux à la naissance est significativement différent entre ces deux lignées, ce qui n'est pas le cas au bout d'une semaine de vie. Le gain de poids de la lignée pHu- est significativement supérieur que l'autre lignée. Donc malgré un poids plus faible à la naissance, les poussins de la lignée pHu- ont une meilleure croissance relative sur la première semaine. Trois indicateurs physiologiques ont présenté des différences significatives, notamment l'acide urique, l'haptoglobine et les tryglycérides.

Au sein de ces lignées, le score de qualité à l'éclosion présente une héritabilité plutôt faible ($h^2=0,14$) mais une corrélation génétique positive et élevée avec le gain de poids (0,7) observé entre J1 et J7. De façon intéressante, des indicateurs plasmatiques liés aux capacités antioxydantes sont à la fois

héritables et reliés génétiquement à la perte de poids au cours du premier jour de vie en conditions challengeantes (J0-J1).

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Incertitudes sur les analyses des notes de sous score de qualité (présenté ci-dessous) et du dosage de la testostérone. Le nombre de données est relativement faible et les effets aléatoires non génétique et génétique peuvent être confondus dans le modèle animal.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Un début de travaux a été initié en début d'année 2022 sur les notes de sous score de qualité et sur des données de dosage de la testostérone dans le jaune d'œufs. L'analyse des caractères de sous score de qualité permettrait de trouver quelques caractères précis à mesurer au lieu d'avoir le score total de qualité (divisé en 12 indicateurs). Les analyses faites en mono-caractère ont permis de garder trois notes de sous qualité, comme les yeux, les tarse et la membrane qui ont une héritabilité plus ou moins élevée (entre 0,10 à 0,30). L'analyse phénotypique a aussi été faite sur le dosage de la testostérone, la lignée pHu- présente moins de variabilité que la lignée pHu+. Cependant, lors des analyses en mono-caractère de la testostérone, l'héritabilité de celui-ci est nulle.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

L'estimation des paramètres génétiques a montré qu'il existe une base génétique de la qualité du poussin. Ces résultats premiers résultats restent à confirmer sur de plus large effectif et d'autres population d'intérêt.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Les travaux réalisés ont été valorisés lors de congrès (JRA 2022, WPC 2022) et lors des journées techniques inter-filière du SYSAAF.

Références bibliographiques citées :

M-A. Bergeot *et al.* Recherche de nouveaux indicateurs ou biomarqueurs pour l'amélioration génétique de la qualité du poussin. 14. Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie gras, Mars 2022, Tours, France. (hal-03607918)

Le Bihan-Duval Elisabeth, Bergeot Marie-Agnès, Collin Anne, Akakpo Roland, Pampouille Eva, Raynaud Emilie, Cailleau-Audouin Estelle, Souchet Christophe, Bernard Jérémy, Guilloteau Laurence A., Travel Angélique, Métayer-Coustard Sonia. Genetic variability of chick quality within two chicken lines differing for glycogen reserves. WPC, 2022, Paris, France.

Estimation génomique des paramètres génétiques de croissance, de morphologie et de rendement chez l'huître creuse

Objectifs du projet :

L'objectif de cette étude conduite dans le cadre de la thèse CIFRE d'Antoine Jourdan portée par le SYSAAF étude était d'évaluer le potentiel de la sélection génomique pour les caractères de croissance et de qualité dans deux lignées commerciales d'huître creuse de 2 entreprises de sélection avec des fonds génétiques et des pratiques d'élevage différentes.

État de l'art :

Le développement de puces de génotypage haut-débit chez l'huître creuse (Gutierrez *et al.* 2017) ouvre la possibilité d'améliorer l'efficacité des schémas de sélection par une sélection génomique. A ce jour, aucune étude ne rapporte d'estimation de faisabilité d'une telle sélection dans des populations à large base de variabilité génétique, en familles mélangées de pédigrée à établir et pour des caractères de croissance et de qualité.

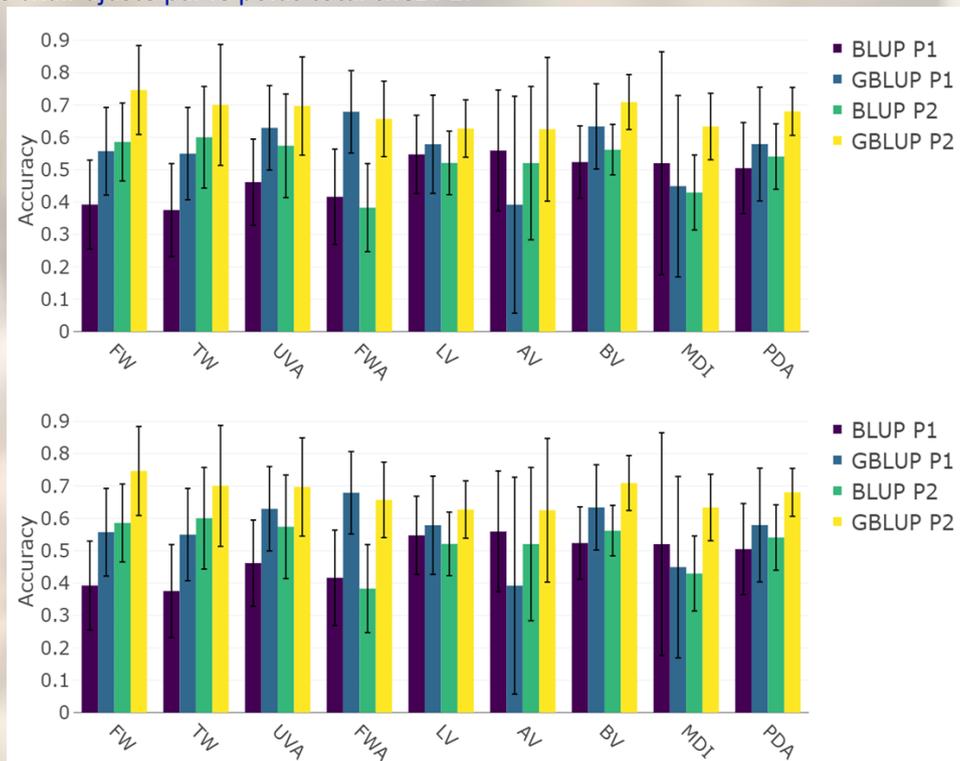
Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

La sélection génomique a prouvé de nombreuses fois qu'elle permettait un gain de précision et d'efficacité de la sélection (Boudry *et al.* 2021), permettant un gain génétique plus rapide. Cependant, l'ampleur de ce gain est à évaluer au cas par cas, et aucune étude n'avait rapporté le gain attendu en sélection génomique sur les caractères de croissance et de qualité de l'huître creuse *C. gigas*

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

L'étude a utilisé des huîtres de deux entreprises d'élevage françaises, chacune provenant d'une population ayant subi six à huit générations de sélection en masse, principalement pour la résistance à l'OsHV-1, la croissance et la morphologie. La première population a résulté de sept croisements factoriels complets de dix mâles et dix femelles chacun, générant 700 familles, tandis que la deuxième population a résulté de six croisements

L'héritabilité a été estimée pour chaque trait et chaque population et variait de $0,08 \pm 0,04$ à $0,56 \pm 0,08$ pour un modèle basé sur la généalogie et de $0,04 \pm 0,02$ à $0,69 \pm 0,04$ pour un modèle basé sur la génomique. Les caractères liés à la croissance étaient généralement fortement corrélés génétiquement et positivement les uns avec les autres, mais faiblement corrélés avec les caractères de couleur. La précision de la prédiction était généralement plus élevée avec le modèle génomique (GBLUP) qu'avec le modèle classique BLUP, avec un gain maximum de précision (de 0,38 à 0,66) pour le poids de chair ajusté par le poids total chez P2.



Précision de sélection et écart-type BLUP ou GBLUP pour les caractères de croissance et de couleur dans les deux populations étudiées. FW : Poids de la chair égouttée, TW : Poids total, UVA : Surface de la valve supérieure, FWA : Poids de la chair ajusté par TW, LV : Valeur L moyenne de la valve supérieure, AV : Valeur a* moyenne de la valve supérieure, BV : Valeur b* moyenne de la valve supérieure, MDI : Intensité moyenne de zone sombre, PDA : Pourcentage de zone sombre. La précision des valeurs génétiques était légèrement supérieure pour les caractères de couleur chez P2, avec des estimations d'héritabilité plus élevées.*

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

L'étude a montré que la sélection génomique et les designs de croisement mixtes peuvent améliorer les caractères de croissance et de couleur chez les huîtres du Pacifique. Les deux programmes

d'élevage évalués ont montré une variation génétique substantielle et une bonne diversité génétique. Cependant, de meilleurs outils génomiques sont nécessaires, et les interactions entre le génotype et l'environnement doivent être évaluées pour optimiser les programmes d'élevage pour les éclosiers.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Jourdan, A, Morvezen, R, Enez, F, Haffray, P, Lange, A, Vétois, E, Allal F, Phocas, F, Bugeon, L, Degremont, L, Boudry, P. Potential of genomic selection for growth, meat content and color traits in mixed-family breeding designs for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*. Submitted.

Références bibliographiques citées :

Boudry, P., Allal, F., Aslam, M. L., Bargelloni, L., Bean, T. P., Brard-Fudulea, S., ... & Houston, R. D. (2021). Current status and potential of genomic selection to improve selective breeding in the main aquaculture species of International Council for the Exploration of the Sea (ICES) member countries. *Aquaculture Reports*, 20, 100700.

Gutierrez, A. P., Turner, F., Gharbi, K., Talbot, R., Lowe, N. R., Peñaloza, C., ... & Houston, R. D. (2017). Development of a medium density combined-species SNP array for Pacific and European oysters (*Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis*). *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 7(7), 2209-2218.

Prédiction du rendement au filetage chez la truite arc-en-ciel par Machine Learning

Objectifs du projet :

L'objectif du projet est d'évaluer les gains génétiques potentiels de rendement au filetage chez la truite selon différentes stratégies de sélection et d'indexation en utilisant des modèles de prédiction de ce rendement établis par Machine Learning.

État de l'art :

Des travaux antérieurement conduits par le SYSAAF et l'INRAE ont montré la possibilité de prédire le rendement au filetage chez la truite (Haffray *et al.*, 2013) par combinaison linéaire de différentes grandeurs morphométriques interne d'épaisseurs estimées par ultrasons et externes par mesures de différentes grandeurs de longueur ou de surfaces. La lourdeur de la saisie manuelle des points remarquables n'a pas permis leur utilisation par les entreprises de sélection. De nouvelles publications rapportent l'intérêt potentiel de l'utilisation du machine learning en aquaculture pour différentes applications (Zhao *et al.* 2021). En 2021, le SYSAAF a initié de premiers travaux sur l'utilisation du machine learning et du deep learning pour prédire le rendement au filetage de façon automatisable. Pour cela, nous avons utilisé les photos 2D et les données de performance et de pédigrées de 1358 individus de la génération 7 de l'entreprise de sélection Bretagne Truite acquises antérieurement dans le projet Européen FishBoost pour estimer la réponse à une génération de sélection sur le rendement au filetage (Vandeputte *et al.*, 2019). Différents modèles de prédiction ont été développées (cf rapport d'activité 2021) avec des héritabilités qui varient entre 0,26 à 0,40 et des corrélations génétiques avec le rendement filetages à prédire variaient entre 0,47 à 0,78 (cf rapport d'activité 2021).

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Ce projet portait peu d'aléas car les estimations de valeurs génétiques (EBV) avaient déjà été calculées en 2021.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Nous avons poursuivi les travaux de recherches en 2022 en évaluant l'efficacité de différentes stratégies de sélection utilisant les meilleurs de ces prédicteurs avec une pression de sélection de 10 %. Huit modes de sélection ont été simulés et comparés à un gain théorique à partir des EBV des théoriques des candidats phénotypés (ce qui est impossible) :

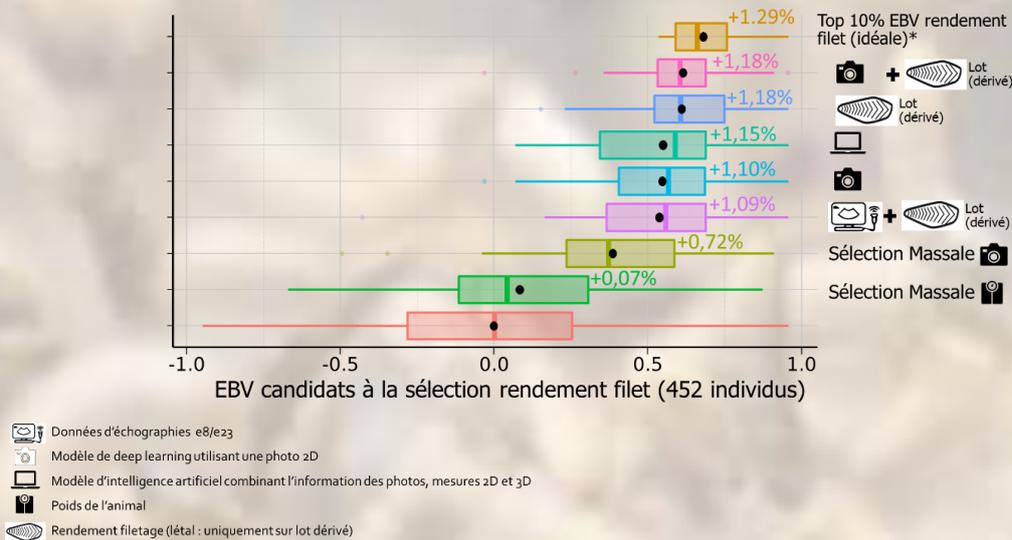
- Par sélection massale non létale des candidats sur le poids ou sur la prédiction du rendement par photo 2D par intelligence artificielle (AI) avec (matrices de coordonnées des points

remarquables avec 45 colonnes, matrice des distances avec 105 colonnes et matrice des volumes avec 1345 colonnes),

- Par phénotypage des candidats par ultrasons (e8/e23) et leur indexation sur le rendement de collatéraux ou leur indexation sans leur présélection par ultrasons,
- Par IA sur les candidats en combinant l'information de photos et de mesures en 2D et 3D par ultrason (e8/e23),
- par deep learning en n'utilisant que la photo 2D
- Par IA tel que décrit ci-dessous et avec indexation sur les rendements de collatéraux.

Le jeu de données a été divisé en deux groupes : i) 906 individus pour mimer un lot de collatéraux destiné à être phénotypés à des caractères de découpe avec la connaissance de phénotypes non létaux et létaux et ii) 452 individus pour mimer les candidats à la sélection avec la connaissance uniquement de phénotypes de mesure non létale (photo 2D, mesures ultrasons e8/e23).

La figure suivante représente au bas la valeur génétique (EBV) moyenne du rendement en filets des 452 individus non sélectionnés si on connaît leur rendement filet (boîte à moustache rouge en bas du graphique). La boîte en jaune dorée en haut du graphique représente les EBV moyennes de rendement au filetage de 10% des meilleurs individus (45 individus). Mais cette mesure n'est pas possible sur les candidats car la mesure pour cette sélection est létale.



*Représentation des valeurs génétiques (EBVs) du rendement filetage du top 10% des candidats à la sélection en fonction du schéma de sélection et le gain génétique théorique pour le rendement filetage (en pourcentage). Les icônes représentent les phénotypes utilisés dans le modèle génétique. Le scénario avec * représente le scénario idéal si on pouvait mesurer directement le rendement filetage sur les candidats (impossible car létal).*

Le gain le plus élevé est observé de façon équivalente (+ 1,15 à 1,18 %) en cas :

- de sélection des candidats sur photos 2D par IA et leur indexation sur la performance de collatéraux filetés ou leurs phénotypes sur leurs mesures 2D et 3D par ultrason.
- de sélection sur la performance de collatéraux filetés,

Un gain intermédiaire (+ 1,09 à 1,10 %) est observé avec les stratégies de sélection avec photo 2D sur les candidats ou leur sélection sur leurs performance échographique et indexation sur le rendement au filetage de collatéraux.

Un gain plus limité (+0,72 %) est observé avec une sélection massale sans pédigrée sur les photos, à pression équivalente de 10 %, la stratégie de sélection massale sur le poids n'améliorant pas le rendement au filetage (+0,07%).

Les deux modèles, utilisant l'AI, montrent des résultats proches, sachant que le modèle avec uniquement la photo est beaucoup plus facile à mettre en place sur le terrain avec un gain de temps et de coûts par rapport au modèle le plus complet avec les mesures 3D complexes et longues à réaliser actuellement manuellement.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Ce travail confirme les premiers travaux effectués en 2021. L'AI, avec photo sur les candidats, peut remplacer le lot de collatéraux par la prédiction directe du rendement sur les candidats à la sélection. Ceci permet de supprimer le recours à un lot de collatéraux avec ses coûts associés d'élevage, de phénotypage et de génotypage, en perdant un peu de précision de la sélection. Il serait aussi possible d'envisager des tris en sélection massive à l'aide de la photo pour augmenter la pression de sélection sur le rendement filetage.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ces travaux ont fait l'objet de plusieurs présentations (orale et poster) dans un séminaire international (ISGA 2022), aux Journées techniques de la recherche piscicole et auprès des adhérents du SYSAAF. Il est prévu que les résultats soient publiés dans un article scientifique. Les recherches sur l'utilisation et la mise en place de IA pour la prédiction du rendement filetage vont être approfondies.

Références bibliographiques citées :

Haffray, P., Bugeon, J., Rivard, Q., Quittet, B., Puyo, S., Allamelou, J.M., Vandeputte, M., Dupont-Nivet, M., 2013. Genetic parameters of in-vivo prediction of carcass, head and fillet yields by internal ultrasound and 2D external imagery in large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 410-411, 236-244. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.06.016

Vandeputte, M., Bugeon, J., Bestin, A., Desgranges, A., Allamelou, J.-M., Tyran, A-S, Allal, F., Dupont-Nivet, M., Haffray, P., 2019. First evidence of realized selection response on fillet yield in fish: a demonstration in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, using indirect or sib selection. *Frontiers in Genetics*, 10: 1-13. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01225>

Zhao, Shili, *et al.* "Application of machine learning in intelligent fish aquaculture: A review." *Aquaculture* 540 (2021): 736724.

Estimation de l'interaction GxE chez la daurade élevée en bassin à terre ou en cage en mer [AqualImpact]

Objectifs du projet :

L'objectif de l'étude est d'évaluer l'interaction GxE entre les candidats à la sélection élevés en bassin et un lieu de production en cage en mer pour les principaux caractères d'intérêt chez la daurade pour les sélectionneurs. Le second objectif est d'évaluer l'intérêt de la sélection génomique par rapport à une sélection sur pedigree dans un schéma de sélection avec du GxE et d'évaluer des pistes d'amélioration pour un schéma de sélection plus performant et efficace avec du GxE.

État de l'art :

Lorsque les candidats sont élevés dans un environnement différent de celui des animaux en production, il est important d'estimer les interactions entre la génétique et l'environnement (GxE) pour définir la stratégie de sélection la plus adaptée (Muder *et al.*, 2006). En effet, des animaux peuvent être performants dans un environnement et sous-performer dans un autre environnement. Les candidats à la sélection sont ainsi élevés par les entreprises de sélection FMDS et EMG dans une structure à terre dans des bassins alors que les animaux en production sont élevés en cage en mer. Un travail antérieur dans le cadre du projet Fild'Or (FEP) avait estimé un reclassement important des familles selon qu'elles étaient élevées à terre ou en bassin en cage en Corse avec une corrélation génétique de l'ordre de 0,5 pour la vitesse de croissance. Cette interaction a été depuis confirmée par plusieurs études chez cette espèce, et même entre cages situées en Espagne ou en Grèce (Gulzari *et*

al., 2022). Pour prendre en compte le GxE, des frères et sœurs des candidats à la sélection peuvent être élevés dans l'environnement d'intérêt pour constituer un lot de collatéraux dérivés de la sélection pour évaluer la performance familiale des candidats à la sélection dans cet environnement grâce à ce lot dérivé.

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

La sélection génomique (SG) bouscule les schémas de sélection permettant de sélectionner les candidats intra-famille améliorant la précision de la sélection et le progrès génétique. Est-ce que la SG permet de mieux prendre en compte le GxE ?

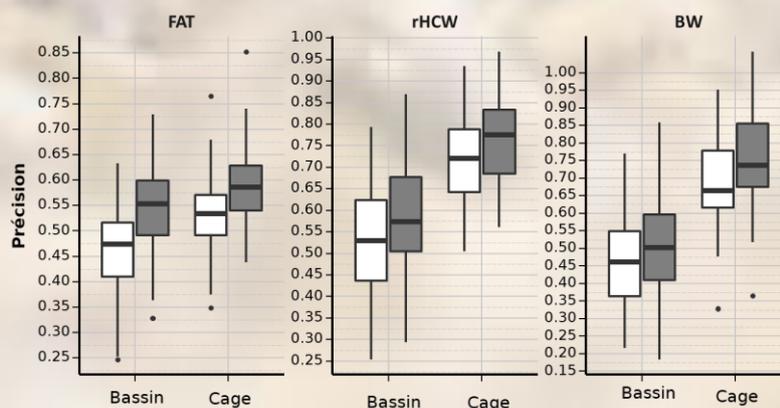
Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

919 et 1047 daurades ont été élevées en bassin et cage respectivement, provenant d'un plan de croisement de 59 pères et 28 mères en octobre 2019 à FMD (Fermes Marines du Soleil, France). Les individus ont été phénotypés pour des caractères de découpe et génotypés à l'aide d'une puce ThermoFisher AxiomTM 60k SNP SaurChip (Griot *et al.*, 2021). Les héritabilités des caractères entre les deux environnements sont assez similaires. Les corrélations génétiques varient entre $0,40 \pm 0,23$ and $0,86 \pm 0,1$ (le tableau ci-dessous).

Trait	BW	L	FAT	rCW	rHCW	rFW	rHW	rVW
r_G	0,57 (0,18)	0,45 (0,23)	0,86 (0,10)	0,84 (0,11)	0,68 (0,16)	0,58 (0,24)	0,40 (0,23)	0,84 (0,11)
h^2_C	0,29 (0,07)	0,29 (0,07)	0,49 (0,09)	0,46 (0,84)	0,33 (0,07)	0,15 (0,05)	0,30 (0,08)	0,46 (0,09)
h^2_T	0,29 (0,07)	0,26 (0,08)	0,52 (0,10)	0,35 (0,08)	0,31 (0,07)	0,17 (0,06)	0,28 (0,09)	0,35 (0,08)

Corrélation génétique (r_G) pour un même caractère entre l'environnement bassin et cage, l'héritabilité estimée en bassin (h^2_T) et en cage (h^2_C). Standard errors entre parenthèses. BW : Poids de l'animal ; L : Longueur, rCW: Poids éviscéré ajusté par BW; rHCW: Poids éviscéré et étêté ajusté par BW; rFW: Poids du filet ajusté par BW; rHW: Poids de la tête ajusté par BW et rVW: Poids des viscères ajusté par BW.

Le GxE pour le poids de l'animal est très fort 0,57 par exemple. Celui-ci peut avoir un impact important dans le choix des reproducteurs. Pour cela, une étude sur la précision de la sélection a été effectuée par validation croisée en testant différentes approches de schéma de sélection : sélection sur pedigree, sélection génomique, taille du lot dérivé en cage et/ou en bassin, évaluation mono ou multi-caractères) pour évaluer les pistes d'optimisation des schémas de sélection actuelle. La validation croisée permet de calculer les valeurs génétiques estimées (EBV) d'individus avec la performance masquée (comme des candidats à la sélection) et de comparer les EBVs à leur performance pour évaluer la précision du modèle.



Précision de l'évaluation génétique pour 3 caractères avec l'information pedigree (blanc) ou génomique (gris) avec un lot dérivé de 600 individus en cage ou en bassin (multi-caractères).

La perte de la précision de la sélection en utilisant uniquement un lot dérivé en bassin baisse de -7% à -33% en fonction de la taille de la population d'apprentissage et du caractère étudié. Si le caractère d'intérêt est la performance en cage, une sélection sur pedigree avec un lot dérivé en cage est généralement beaucoup plus performante qu'une SG avec un lot dérivé en bassin. Avec un budget constant, il est plus intéressant d'avoir plus d'individus dans le lot dérivé en cage que dans le lot dérivé en bassin en jouant sur le nombre d'individus, sur le prix du génotypage (pedigree vs génomique) et du phénotypage (cage vs bassin). Avec les travaux sur l'imputation pour réduire les coûts du génotypage, il serait possible avec un budget constant d'avoir plus d'individus phénotypés en cage malgré un coût plus important pour le phénotypage pour améliorer la précision de la sélection. La SG avec un lot dérivé en cage permet d'obtenir un progrès génétique de +7% à +15% par rapport au même lot en cage en sélection sur pedigree en fonction du caractère et du nombre d'individus.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Les résultats permettent d'avoir des éléments de réflexion pour améliorer et optimiser les schémas de sélection des entreprises de sélection française. Le GxE aura de plus en plus d'importance avec les changements climatiques et l'exportation de la génétique française dans le monde.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ces travaux ont fait l'objet de plusieurs présentations (orale et poster) dans un séminaire international (ISGA 2022), séminaires à petit comité (Aqualmpact, r2d2 (INRAE), Journée technique de la recherche piscicole) et auprès des adhérents du SYSAAF.

Références bibliographiques citées :

Dupont-Nivet, M., *et al.*, 2010. « Genotype by environment interactions for growth in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) are large when growth rate rather than weight is considered ». *Aquaculture* 306, no 1 4: 365 68. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.05.025>.

Griot, R., Allal, F., *et al.*, 2021. Optimization of Genomic Selection to Improve Disease Resistance in Two Marine Fishes, the European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) and the Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*). *Front. Genet.* 12, 665920. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.665920>

Gulzari, B., *et al.* "Genetic parameters and genotype by environment interaction for production traits and organ weights of gilthead seabream (*Sparus aurata*) reared in sea cages." *Aquaculture* 548 (2022): 737555. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737555>.

Vandeputte, M., *et al.*, 2014. « Multi-site evaluation of the rearing performances of 5 wild populations of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) ». *Aquaculture* 424 425: 239 48. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.01.005>.

Utilisation de différent modèle d'évaluation génétique pour estimer les paramètres génétiques de la production de miel

Objectifs du projet :

L'objectif de cette action est d'essayer d'estimer pour la première fois au SYSAAF des valeurs génétiques et les paramètres génétiques de la production de miel chez l'abeille dans un premier noyau de sélection.

État de l'art :

L'application des principes de la sélection généalogique s'est heurtée à plusieurs difficultés en apiculture. Si des indexations généalogiques sont conduites maintenant en routine, ce n'est pas encore le cas en France, sauf avec l'appui technique de l'INRAE au Groupement des Producteurs de Gelée Royale (GPGR ; <https://www.geleeroyale-gpgr.fr/en/>). A la demande de l'Institut Technique et Scientifique de l'Abeille et de la Pollinisation (ITSAP ; <https://itsap.asso.fr/>), le SYSAAF intervient depuis 2022, avec l'expertise de l'INRAE, comme sous-traitant dans son action soutenue par le CASDAR visant

à améliorer les méthodes de sélection apicoles en utilisant les principes du BLUP. L'objectif du projet est d'initier des indexations généalogiques dans 4-5 groupes de sélection pilotes.

L'application des principes du BLUP en apiculture requiert l'utilisation d'un logiciel spécifique pour préparer les données et la matrice d'apparentement en prenant en compte 2 spécificités des abeilles que sont le niveau haploïde des mâles (tous leurs spermatozoïdes sont égaux intra-mâle) et l'implication de cette caractéristique pour établir la matrice de parenté, les mâles frères n'ayant pas père (Bienfield *et al.*, 2007 ; Brascamp et Bijma, 2014 ; Brascamp et Bijma, 2019). De plus la performance mesurée d'une ruche résulte des aptitudes de 2 génotypes présents simultanément, celui de la reine et celui de ses ouvrières de génotype pour partie de leur mère mais aussi d'un ou plusieurs pères haploïdes éventuellement frères. Ces spécificités ont conduit à développer des modèles mathématiques en fonction des effets génétiques à considérer de la mère, des ouvrières ou des deux effets combinés. Enfin l'organisation de la production des familles subit aussi l'effet de la taille limitée des ruchers composés de l'ordre de 20 à 30 ruches, multipliant les effets environnementaux à considérer outre ceux de pratiques éventuellement différentes entre apiculteurs (transhumance, nourrissage...) pour des effectifs de ruches encore limités par noyau de sélection.

Se former aux spécificités de l'indexation génétique en apiculture constituait donc une première étape pour le SYSAAF et ceci été réalisé sur un jeu de donnée mis à disposition par un groupe d'apiculteur de l'Abeille Ligérienne (La Rochelle).

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

L'INRAE maîtrise l'indexation génétique en apiculture et cet aspect ne constituait pas un aléa. Le principal aléa résidait dans la qualité du jeu de données mis à disposition par le groupe de sélection de l'Abeille Ligérienne, de part le nombre encore limité de ruches mesurées, mais aussi de potentielles erreurs de collectes ou d'archivage de données collectées par plusieurs apiculteurs et sur plusieurs années dans des fichiers Excel.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

En 2022, une convention a été passée avec l'INRAE pour organiser la formation de 3 ingénieurs du SYSAAF à l'indexation généalogique de type BLUP en apiculture. La formation a été organisée en 2 sessions de 2-3 journées à l'INRAE de Jouy-en-Josas en présence de l'ingénieur de l'ITSAP en charge de la coordination du projet porté par l'ITSAP. Le SYSAAF a récupéré le jeu de donnée d'un premier partenaire pilote.

Dans un premier temps, divers contrôles de concordance et de qualité des données ont été réalisées. Une fois le jeu de données nettoyé, les ingénieurs du SYSAAF ont tenté d'estimer la signification des différents modèles d'indexation génétique. Cette phase de travail réalisée en 2023 a permis d'évaluer des effets ruchers, années et apiculteurs.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Les ingénieurs du SYSAAF ont été formés aux principes du BLUP en apiculture sur un premier jeu de données. Ce travail a permis d'identifier des améliorations nécessaires mais aussi des pistes vers une automatisation des estimations de valeurs génétiques et des effets environnementaux en fonction des modèles génétiques. Ce travail a aussi permis des spécificités pour développer ou adapter un outil de collecte et d'archivage des performances.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux

Il est envisagé une présentation de cette première indexation lors des prochaines Journées Techniques Inter-Filière du SYSAAF 2023 ainsi que lors des Journées Nationales de l'ANERCEA (<https://anercea.com/>).

Références bibliographiques citées :

Bienfeld, K., Ehrhardt, K., Reinhardt, F., 2007. Genetic evaluation in the honey bee considering queen and worker effects – A BLUP-animal model approach. *Apidologie* 2007, 38:77–85.

Brascamp, E.W., Bijma, P., 2014. Methods to estimate breeding values in honey bees. *Genetics-Selection Evolution*, 46 (1), pp.53. DOI:10.1186/s12711-014-0053-9

Brascamp, E.W., Bijma, P., 2019. A note on genetic parameters and accuracy of estimated breeding values in honey bees *Genet Sel Evol* 51, 71, <https://doi.org/10.1186/s12711-019-0510-6>

MedMax: Recherche de QTL pour la résistance à *Vibrio harveyi* chez le bar

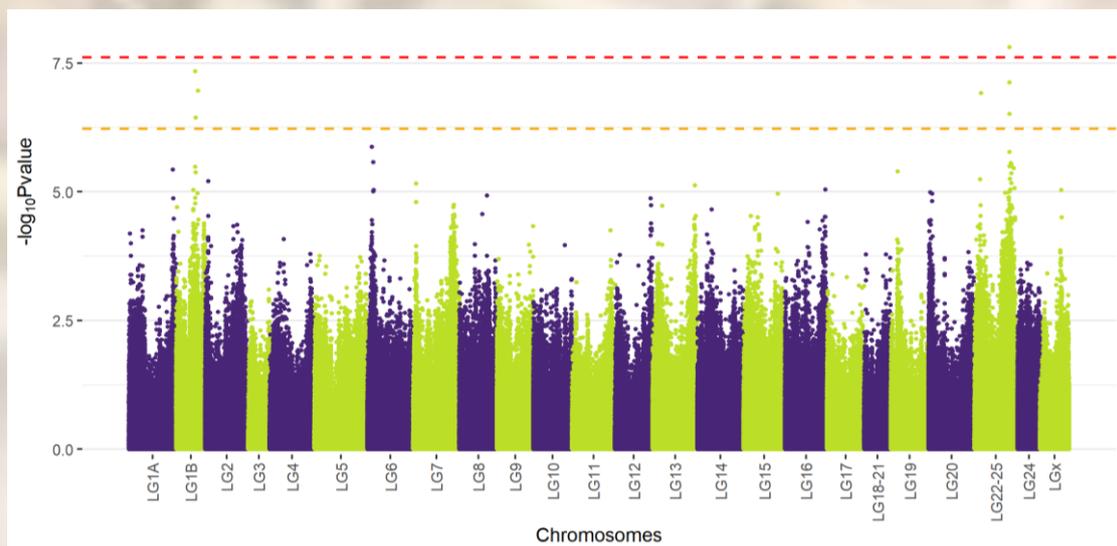
Objectifs du projet et état de l'art :

L'objectif du projet était de détecter l'éventuelle présence d'un QTL majeur de résistance à *Vibrio harveyi* dans la population de l'Écloserie Marine de Gravelines.

V. harveyi est considérée comme une maladie majeure en production aquacole car elle ne peut être contrôlée efficacement par les vaccins commerciaux, en raison de la faible spécificité antigénique. Dans les fermes commerciales, la mortalité causée par *V. harveyi* peuvent atteindre 50 % en cas d'épidémie qui se déclenche lors d'importantes variations de température au printemps et à l'automne. Le contrôle de cette maladie repose donc sur l'utilisation d'antibiotiques, ce qui augmente le risque d'antibiorésistance. Dans ce contexte, la sélection génétique pourrait être une stratégie efficace pour améliorer la résistance des poissons à des pathogènes spécifiques (Houston, 2017). Dans ce contexte, nous avons réalisé un challenge infectieux sur une population de bar de l'Écloserie Marine de Gravelines et, dans le projet H2020 « PerformFish », nous avons trouvé que l'héritabilité de la survie à *V. harveyi* variait entre 0,14 et 0,21 en fonction du régime alimentaire des poissons. Par conséquent, nos résultats confirment que la survie à *V. harveyi* est modérément héréditaire comme démontré par (Griot *et al.*, 2021). Cependant, nous souhaitons également compléter cette étude d'héritabilité par une recherche de QTL qui a été réalisée dans le projet FEAMP « MedMax ».

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Pour cela, en 2022, nous avons utilisé les séquences de 353 bars (parents d'individus ayant été challengé à *V. harveyi* dans 4 challenges) générées dans Genesee pour réaliser une étude d'association pangénomique (GWAS pour Genome Wide Association Study). Pour cette étude nous avons utilisé les données de séquence pour identifier plusieurs centaines de milliers de variant SNP, rendant l'étude de GWAS plus précise qu'avec les données habituellement utilisées avec 57k variants SNP. De plus, la GWAS était basée sur un modèle bayésien « Bayesian Sparse Linear Mixed Model » (BSLMM). Ce modèle permet de considérer que seuls quelques variants SNP peuvent avoir un effet important sur le phénotype. Grâce à ce modèle, nous avons réussi à identifier 2 QTL sur les chromosomes LG1B et LG22-25.



« Manhattan plot » des résultats de GWAS à l'échelle logBF.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Ces résultats montrent que malgré une faible héritabilité, une sélection assistée par QTL pourrait être envisageable pour améliorer la tolérance à *V. harveyi*. Plus particulièrement, le taux de survie des animaux avec les deux allèles de résistance pour le QTL du LG22-25 était de 67% alors que le taux de survie des animaux avec les deux allèles de sensibilités était de 46%. Il serait donc possible pour les entreprises de sélection d'utiliser des animaux possédant les deux allèles de résistance en tant que multiplicateurs spécialisés.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ces résultats ont été présentés à la conférence « World Congress in Animal Breeding and genetics 2022 ».

Références bibliographiques citées :

Griot, R., Allal, F., Phocas, F., Brard-Fudulea, S., Morvezen, R., Haffray, P., François, Y., Morin, T., Bestin, A., Bruant, J.-S., 2021. Optimization of Genomic Selection to Improve Disease Resistance in Two Marine Fishes, the European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) and the Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*). *Frontiers in Genetics* 1294.

Houston, R.D., 2017. Future directions in breeding for disease resistance in aquaculture species. *R. Bras. Zootec.* 46, 545–551. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017000600010>

Génération et analyse de données d'expression de gènes par RT-qPCR et RNAseq sur échantillons du projet MedMax [Annexe projet MedMax/GeneSea]

Objectifs du projet :

L'objectif de cet projet est d'étudier les variations d'expressions de gènes dans des organes cibles de bars contaminés ou non par le virus de l'Encéphalopathie et de la rétinopathie (VER ou VNN) à différents temps. Cette étude a bénéficié du dispositif expérimental mis en place dans le cadre du projet MedMax

État de l'art :

Le développement d'une maladie provoque chez l'animal le développement de son système immunitaire et donc une modification des niveaux d'expression de nombreux gènes. L'étude des variations d'expression des gènes permet ainsi de mieux comprendre les mécanismes mis en place par les animaux pour se défendre (Lama *et al.* 2020). Un QTL et un possible gène causal ont récemment été identifiés chez le bar (Griot *et al.* 2021, Delpuech *et al.* 2023) en lien avec la résistance au VNN.

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Les valeurs d'expression de gènes - sans a priori par RNAseq ou de gènes identifiés par qPCR – sont des valeurs prises à un instant donné. Les données d'expression sont dépendantes de nombreux paramètres tels que les organes ciblés, le moment du prélèvement... Le design expérimental a ainsi été établi au regard de la bibliographie afin que les résultats qui seront observés soient les plus pertinents possibles.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

L'étude a bénéficié du dispositif expérimental du projet MedMax et notamment du challenge en conditions contrôlées bar/VNN prévu. Des prélèvements d'organes cibles du VNN (le cerveau et la rate) ont été réalisés sur des bars à trois temps : avant contamination au Nodavirus, 24h après contamination et 96h après et ce, pour chaque lot (sélectionné ou non sélectionné) du dispositif expérimental. Les échantillons collectés avant et à 96h post contamination ont été ensuite traités pour en extraire les ARN totaux. Tous ont été séquencés par RNAseq, dont les données seront exploitées en 2023. Une partie des ARN a été utilisée pour des analyses de PCR quantitative pour des gènes d'intérêt pouvant être impliqués dans la réponse immunitaire à l'infection. Les amorces permettant l'amplification des gènes ont été désignées par l'équipe d'Ifremer, partenaire du projet MedMax. La comparaison des expressions des gènes étudiés entre 4 conditions (avant contamination et 96h après

contamination pour les deux lots) n'a pas permis de mettre en évidence de différence significative. D'autres analyses sont prévues pour 2023 pour compléter ces informations.

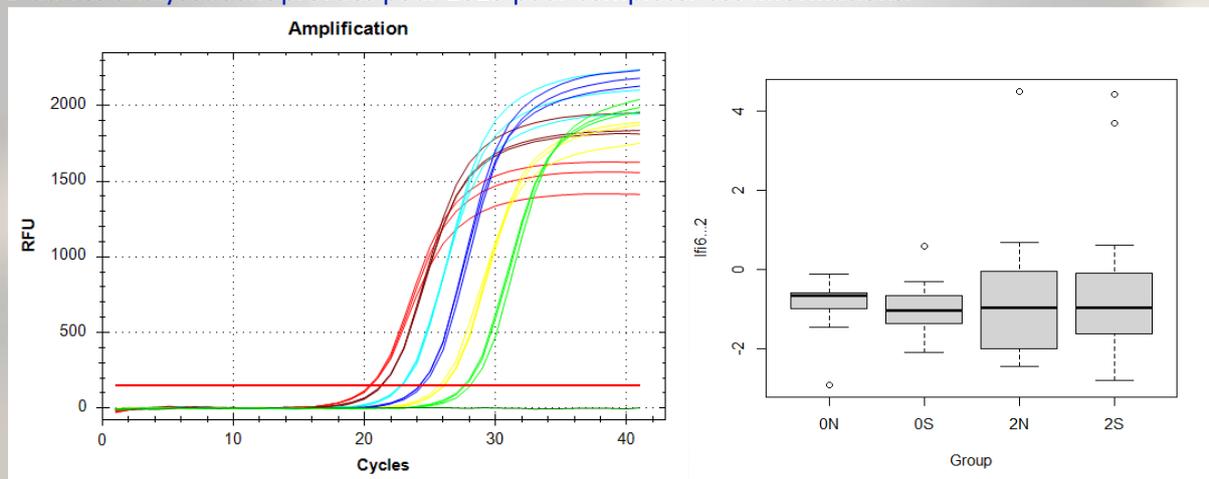


Illustration de résultats obtenus par qPCR.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Ces travaux d'analyse fonctionnelle auront pour intérêt de mieux comprendre le fonctionnement de la réponse immunitaire des poissons lors d'une infection à ce pathogène. Il pourraient également permettre de valider d'un point de vue fonctionnel les QTL et/ou gènes candidats identifiés et ayant une forte implication dans la résistance ou non des poissons au virus.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ces travaux à caractères exploratoires pourront être valorisés au sein de congrès, de journées techniques.

Références bibliographiques citées :

Lama, R., Pereiro, P., Valenzuela-Muñoz, V. et al. RNA-Seq analysis of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) infected with nodavirus reveals powerful modulation of the stress response. *Vet Res* 51, 64 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13567-020-00784-y>

Griot R., Allal F., Phocas F., **Brard-Fudulea S., Morvezen R., Bestin A., Haffray P., François Y.,** Morin T., Poncet C., Vergnet A., Cariou S., Brunier J., Bruant J-S, Peyrou B, Gagnaire P-A, and Vandeputte M. (2021) Genome-wide association studies for resistance to viral nervous necrosis in three populations of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) using a novel 57k SNP array DlabChip. *Aquaculture*, Volume 530, 2021, 735930, ISSN 0044-8486, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735930>.

Delpuech E., Vandeputte M., **Morvezen R., Bestin A., Besson M.,** Brunier J., Bajek A., Imarazene B., **François Y.,** Bouchez O., Cousin X., Poncet C., Morin T., Bruant J-S., Chatain B., **Haffray P.,** Phocas F., Allal F. Whole-genome sequencing identifies interferon induced protein IFI6 as a strong candidate gene for VNN resistance in European sea bass. *Genet Sel Evol* 55, 30 (2023). <https://doi.org/10.1186/s12711-023-00805-2>

Estimation des corrélations génétiques 2n/3n chez la truite arc-en-ciel pour des caractères d'intérêt pour les sélectionneurs [projet HypoTemp]

Objectifs du projet :

Une part significative de la production piscicole française est réalisée à partir de truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) triploïdes, alors que la sélection est réalisée sur en lignées diploïdes. Cette triploïdie présente en effet l'intérêt d'obtenir des individus stériles permettant limitant l'effet néfaste de la maturation sur la teneur en lipide et la coloration des filets lors du fumage. L'objectif de cette étude est donc d'estimer précisément l'impact d'une sélection réalisée sur individus diploïdes pour les individus triploïdes commerciaux.

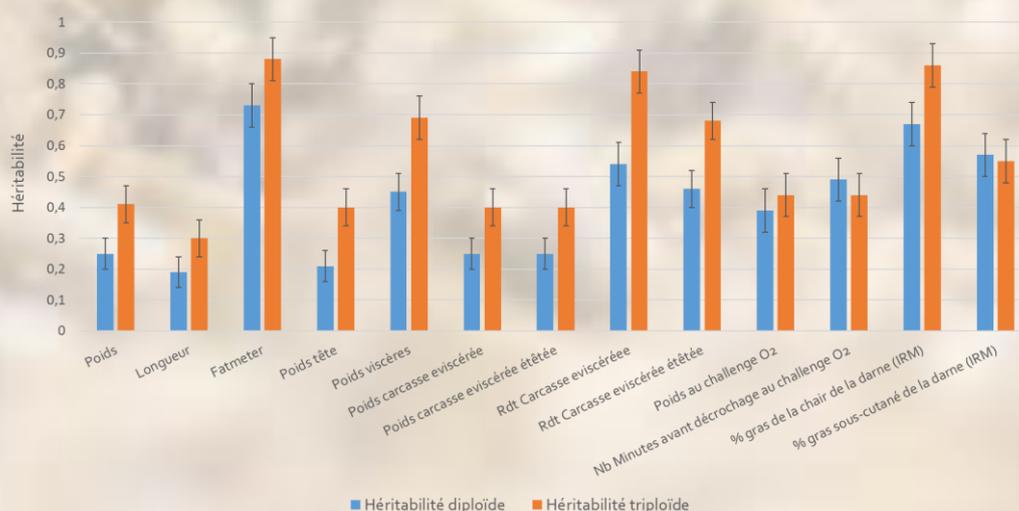
État de l'art :

Peu de connaissances sont disponibles pour définir précisément l'importance du progrès réalisé par sélection en lignées diploïdes pour améliorer des produits triploïdes. De premières études réalisées en partenariat avec le SYSAAF avaient montrées qu'il n'y avait vraisemblablement pas de corrélation négative entre les performances des individus diploïdes et celles des individus triploïdes (Bonnet *et al.*, 1999 ; Blanc *et al.*, 2001 ; Blanc *et al.*, 2005). Le classement des ½ familles de pères était conservé. Mais leur nombre limité (n = 16) et l'étude de la variabilité génétique associée uniquement à la voie paternelle ne permettait d'aborder qu'une part des aspects, n'incluant ni la voie maternelle (originaire des 2/3 de la performance) ni un grand nombre de familles nécessaire pour disposer de conclusions robustes et quantifiées utiles à des décisions d'investissement en sélection. L'arrivée des empreintes génétiques permet d'aborder ces aspects en mélangeant un grand nombre de familles ensembles et en abordant simultanément les effets paternels et maternels.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats :

Dans le cadre du projet FEAMP HypoTemp, quatre lots de collatéraux de truites arc-en-ciel ont été dérivée de la population du sélectionneur Milin Nevez (commercialisation par Bretagne Truite, Plouigneau, France). Deux de ces lots (l'un diploïde et l'autre triploïde) ont été soumises à un challenge hypoxique aigu sur la plateforme SYSAF-ANSES FORTIOR Genetics (Brest, France) avec l'appui scientifique de l'INRAE, et les deux autres (un diploïde l'autre triploïde) ont été élevés jusqu'au poids commercial par l'entreprise de sélection Bretagne Truite. Ils ont été abattus et mesurés pour des caractères de poids, longueur, taux de gras musculaire (Fatmeter), poids des parties, rendement carcasse éviscérée, rendement carcasse éviscérée étêtée, taux de gras sous cutané de la darne mesurée par IRM, taux de gras dans la chair de la darne mesuré par IRM. Chaque lot était constitué de 1250 à 1500 individus ayant tous été prélevés en ADN et génotypés sur puce ADN Axiom Trout Array 57K sur la plateforme GENTYANE (Clermont-Ferrand, France) de l'INRAE. Les génotypes ainsi obtenus ont été utilisés pour assigner à parenté chacun de ces individus à l'aide du logiciel APIS.

L'analyse de ces données a été réalisée sur l'année 2022, de façon à estimer, pour chaque caractère mesuré, les héritabilités diploïdes et triploïdes sur la base des pédigrés, ainsi que les corrélations génétiques entre ces deux niveaux de ploïdie. Ces analyses ont été réalisées à l'aide de la suite logiciel BLUPF90. Le graphique suivant présente les héritabilités estimées, tandis que le tableau d'après présente les corrélations génétiques obtenues entre les deux niveaux de ploïdie.



Héritabilités estimées pour l'ensemble des caractéristiques mesurées sur individus diploïdes et triploïdes.

Les héritabilités estimées sont en moyenne et de l'ordre de 1,35 fois plus élevées pour les individus triploïdes que pour les individus diploïdes. Ces héritabilités plus élevées pourraient s'expliquer sous l'hypothèse d'un effet de dosage génique chez les individus triploïdes, avec une variance d'origine maternelle qui serait supérieure à celle d'origine paternelle (*Blanc et al. 2001 ; Johnson et al. 2007*). Ce dosage génique impliquerait une augmentation de la variance génétique additive, ce qui conduirait à des héritabilités supérieures chez les triploïdes. La quantification de cet effet traduirait une importance accrue de l'importance à apporter à la valeur génétique des mères (qui fournissent 66% du matériel génétique des descendants, contre 33% pour le père) dans les différences de performance et donc à considérer plus spécifiquement dans les programmes de sélection génétique de truite arc-en-ciel.

	Caractéristiques	Corrélation génétique 2N/3N (Rg)
Mesures à l'abattage	Poids	0,71 [0,12]
	Longueur	0,83 [0,14]
	Fatmeter	0,95 [0,03]
	Poids de la tête	0,74 [0,13]
	Poids des viscères	0,80 [0,07]
	Poids carcasse eviscérée	0,72 [0,12]
	Poids carcasse eviscérée-étêtée	0,73 [0,12]
	Rendement carcasse eviscérée	0,88 [0,05]
	Rendement carcasse eviscérée-étêtée	0,79 [0,06]
	Taux de gras sous-cutané de la darne (IRM)	0,94 [0,05]
	Taux de gras dans la chair de la darne (IRM)	0,98 [0,03]
	O2	Poids au challenge hypoxique
Temps de challenge hypoxique avant décrochage		0,86 [0,08]

Corrélations génétiques estimées entre les deux niveaux de ploïdie mesurés

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Les corrélations génétiques entre génotypes diploïdes et triploïdes sont positives, élevées et comprises entre 0.71 ± 0.12 et 0.98 ± 0.03 . Une sélection génétique de lignées diploïdes sur des performances mesurées sur apparentés triploïdes permettrait une amélioration de l'efficacité des investissements en sélection pour les caractères de corrélation génétique inférieure à 0,9 (poids plein, rendement éviscéré étêté prédicteur du rendement au filetage ou résistance à une challenge hypoxique aigüe). Pour les autres caractères, l'investissement sur le phénotypage et le génotypage de collatéraux diploïdes ou triploïdes dépendra du souhait du sélectionneur, la production d'un seul lot dérivé de collatéraux triploïdes permettant un progrès identique à un phénotypage de collatéraux diploïdes pour ces derniers caractères.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ces travaux ont fait l'objet de plusieurs présentations (orale et poster) dans le cadre de différents congrès et séminaires nationaux ou internationaux en 2022 (*International Symposium on Genetic Aquaculture 2022, Puerto Varas, Chili ; Journées de la Recherche Filière Piscicole, Paris, France ; Journées Techniques Inter-Filières du SYSAAF, Rennes, France*).

Références bibliographiques citées :

Bonnet, S., *et al.*, 1999. Genetic variation in growth parameters until commercial size in diploid and triploid freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and seawater brown trout (*Salmo trutta*). *Aquaculture* 173, 359-375. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00460-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00460-8)

Blanc, J.M., *et al.*, 2001. Covariation between diploid and triploid progenies from common breeders in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Research* 32, 507-516. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2001.00568.x>

Blanc, J.M., *et al.*, 2005. Effect of triploidy on paternal and maternal variance components in brown trout, *Salmo trutta*. *Aquaculture Research* 36, 1026-1033. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01313.x>

Johnson, R., *et al.*, 2007. Dosage effects on heritability and maternal effects in diploid and triploid Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Heredity* 98, 303-310. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800941>

Patrice, P., *et al.*, 2022. « Une sélection sur la performance d'individus triploïdes est-elle nécessaire en trutticulture ? ». Présentation orale, Journées de la Recherche Filière Piscicole.

Patrice, P., *et al.*, 2022. « Is selection on triploid individuals performances useful in rainbow trout breeding programs in aquaculture? ». Poster, International Symposium on Genetic Aquaculture.

3. AE3 : Ingénierie génétique pour le maintien de la compétitivité des acteurs de la filière

3.1. Optimiser les schémas de sélection (efficacité/coût) par l'apport des meilleures technologies disponibles (aspect génomique ; aspect modèle et informatique)

Objectifs du projet :

Compétitivité via le pilotage de schémas

Les choix de sélection proposés par le SYSAAF aux sélectionneurs reposent sur des différentiels de sélection entre les candidats et les sélectionnés exprimés en unité d'écart type génétique de chaque caractère. Cette unité a pour avantage de permettre de représenter conjointement chaque caractère sur un seul et même graphe, elle rend cependant difficile la quantification concrète des progrès effectués. Un objectif pour améliorer le pilotage et l'évaluation des schémas de sélection est donc de rendre possible un retour à l'unité brute de chaque caractère. L'amélioration de la compétitivité via le pilotage des schémas peut aussi s'appuyer sur des travaux de simulation. L'objectif dans le projet MedMax (FEAMP) est de développer un outil permettant, par la simulation, de comparer différentes stratégies d'évaluation génomique et de sélection pour en estimer les gains phénotypiques et économiques. Cet outil inclura notamment des stratégies de sélection sur la résistance aux maladies.

Compétitivité via la réduction des coûts de génotypage

Dans les programmes de sélection, le pedigree est historiquement utilisé pour calculer le niveau d'apparentement entre individus afin d'estimer des valeurs génétiques des candidats à la sélection. Depuis une quelques années, l'accès aux techniques de génotypage haut-débit s'est démocratisé et a permis aux entreprises de sélection aquacole le passage à la sélection génomique, qui permet une estimation plus fine de la ressemblance entre individus grâce à des marqueurs de l'ADN. Le recours aux puces de génotypage SNP moyenne densité génère cependant un surcoût. Des travaux de R&D sont donc en cours, notamment dans le programme MedMax, pour tenter de réduire les coûts induits par l'utilisation de la génomique tout en préservant l'augmentation du progrès génétique. Dans une partie des actions de R&D menée, l'objectif est de comparer la précision obtenue avec une puce moyenne densité (plusieurs dizaines de milliers de marqueurs) à la précision atteinte avec des panels générés *in-silico*, de densité inférieure, jusqu'à 1000, voire 100 SNP en fonction des espèces. En parallèle, dans le programme Phénomix, une toute autre approche est à l'étude. L'objectif dans ce projet est de valoriser des données spectrales individuelles de spectrométrie (NIR, MIR, Raman), et d'exploiter les différences de variations spectrales pour calculer les ressemblances entre individus. Le projet a pour ambition de tester cette méthode chez des espèces aquacoles telles que la truite, la daurade et l'huitre.

Compétitivité via le contrôle du sexe

Le contrôle du sexe est un enjeu de compétitivité dans les schémas de sélection aquacole. Générer des descendance 100% femelles est intéressant pour les pisciculteurs car les femelles grandissent plus vite que les mâles et sont sexuellement matures plus tardivement. Chez l’Omble chevalier, l’objectif est de développer un protocole hormonal de masculinisation afin d’obtenir des poissons néomales, c’est-à-dire génétiquement femelles (XX) et phénotypiquement mâles, ce qui permettra d’obtenir une descendance composée à 100% de femelles.

Compétitivité via l’amélioration continue des outils de collecte et de traitement des données

La R&D sur les outils informatiques a pour objectif de maintenir et d’améliorer la qualité de tous les aspects du traitement des données, en lien avec les évolutions des besoins des acteurs de la filière. La réalisation des travaux de R&D en génétique repose sur la collecte, le traitement et le stockage d’importants volumes de données relatives aux animaux : pedigree, performances, informations moléculaires. Le maintien et l’amélioration de la compétitivité des acteurs de la filière nécessite donc un outil de collecte des phénotypes et des pedigrees en phase avec les besoins des programmes de sélection et de recherche (InfAqua V9 - Eucalyptus). Les logiciels du SYSAAF doivent ensuite être en mesure de s’adapter à l’intégration de nouvelles données, génomiques notamment, dans les schémas de sélection. Si pour la plupart des espèces les logiciels d’estimation des valeurs génétiques peuvent être utilisés en modèle animal, des adaptations sont nécessaires pour certaines espèces ne se conformant pas au modèle animal classique (BLUP apicole). Une fois les valeurs génétiques produites, quelle que soit l’espèce, une procédure de choix optimisée est appliquée en fonction des objectifs du programme de sélection ou du programme de recherche afin de retenir les meilleurs individus. Les algorithmes utilisés pour ces choix sont susceptibles d’être améliorés du point de vue de la méthode et du type de données utilisées, pedigree ou génomique, pour mesurer la ressemblance entre animaux (OPTICHOIX). Enfin, la totalité de ces actions portant sur les données collectées nécessite un environnement de travail informatique adéquat, aussi bien en termes de puissance de calcul que de continuité du service en cas de panne : deux points qui peuvent faire l’objet d’optimisations et d’amélioration en fonction des avancées techniques (Serveur Cloud).

État de l’art :

Compétitivité via le pilotage de schémas

Les données recueillies par les sélectionneurs ou dans le cadre de programmes de R&D sont très fréquemment exprimées dans différentes unités (e.g. poids en grammes, nombre d’œufs, rendements en pourcentage). Les distributions de ces caractères sont rarement comparables et leur analyse conjointe dans une analyse multivariée poserait différents biais (variance inégale, écart à la normalité). En amont des évaluations génétiques menées au SYSAAF, les données subissent différentes phases de transformations afin de garantir l’homoscédasticité et la normalité des distributions en vue de l’utilisation du BLUP (Henderson, 1975). Les distributions des différents caractères sont ensuite centrées et réduites par leur écart type phénotypique afin de pouvoir les analyser sur une même échelle. Une dernière phase de transformation est postérieure à l’évaluation génétique et porte sur les valeurs génétiques prédites. La variance génétique étant différente entre caractères, utiliser les valeurs génétiques telles quelles dans un index de sélection biaiserait fortement les algorithmes de choix en faveur des caractères les plus héréditaires. Un nouveau centrage et réduction par l’écart type génétique de chaque caractère est donc pratiqué sur ces valeurs génétiques. Ces transformations successives aboutissent à des valeurs génétiques exprimées en unité d’écart-type génétique, appropriées pour les travaux de sélection, mais difficilement interprétables en l’état par rapport à l’évolution attendue du niveau phénotypique pour le caractère. Il y a donc un besoin de retour à l’échelle d’origine du caractère pour interpréter les valeurs génétiques au regard du pilotage des schémas de sélection.

La sélection génomique a été introduite chez les sélectionneurs français depuis plusieurs années au travers de plusieurs projets de R&D (FishBoost, PerformFish, AqualImpact, GeneSea). Sur des caractères tels que la résistance aux maladies qui ne sont pas mesurables sur les candidats, la sélection génomique peut apporter d'importants gains de précision. Pour la sélection sur la résistance à la nodaviriose ou à la vibriose, des travaux ont récemment estimé un gain d'efficacité de la sélection génomique par rapport à la sélection généalogique allant jusqu'à 25% (Griot *et al.*, 2021). Des travaux de simulation (MedMAx) peuvent être conduits pour prédire les gains que pourraient apporter le passage à la sélection génomique, et pour optimiser les schémas génomiques.

Compétitivité via la réduction des coûts de génotypage

La sélection génomique est utilisée en routine chez plusieurs sélectionneurs aquacoles et avicoles. Celle-ci permet d'améliorer le progrès génétique en augmentant la précision de la sélection, en particulier pour des caractères non mesurables sur les candidats car létaux, exprimés par un seul sexe, mesurables tardivement dans la vie de l'animal, ou bien très coûteux à phénotyper. Il peut s'agir de caractères de découpe, de rendement, de réponse à des challenges pathologiques ou environnementaux, de caractères de reproduction, de ponte, de consommation individuelle... Ce gain en précision représente cependant un surcoût pour le schéma, que celui-ci utilise déjà un panel génomique faible densité pour l'assignation de parenté ou non. Pour répondre à cette difficulté, différentes publications (Tsairidou *et al.*, 2020 ; Yoshida *et al.*, 2018), des projets de recherche avec la participation du SYSAAF et des travaux menés en interne ont montré l'intérêt de l'utilisation d'un panel LD avec imputation pour réduire les coûts de la SG en gardant une très bonne précision de la sélection.

Concernant la sélection phénotypique, une preuve de concept basée sur l'information haut-débit fournie par des spectres NIR pour l'estimation des ressemblances entre individus a été proposée pour améliorer la précision des évaluations génétiques (Rincint *et al.*, 2018). Les premiers résultats de sélection phénotypique montrent qu'il est possible d'estimer des valeurs génétiques au moins aussi précises qu'en sélection génomique chez le blé et le peuplier.

Compétitivité via le contrôle du sexe

Un croisement classique mâles/femelles d'Omble chevalier engendre une descendance composée de 50% de mâles et 50% de femelles. Or, les femelles sont plus intéressantes au niveau de la production car elles peuvent atteindre 1.2kg (poids de vente) avant la maturation sexuelle. Plusieurs études ont montré la faisabilité de la masculinisation hormonale chez l'Omble chevalier (Chiasson and Benfey, 2007; O'keefe R. and Benfey, 1995). L'utilisation d'hormone pour masculiniser des Omble chevalier permet de créer des individus néomales, génétiquement femelles (XX) et phénotypiquement mâles. Ces individus néomales XX peuvent ensuite être croisés avec des individus femelles XX afin de donner une descendance 100% femelle.

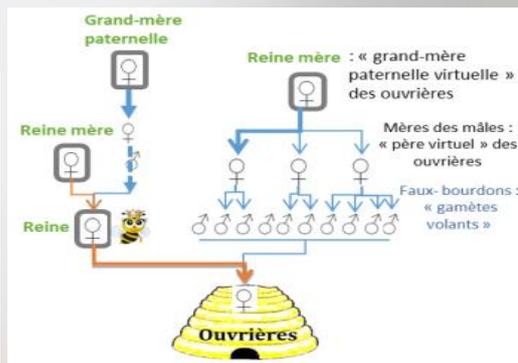
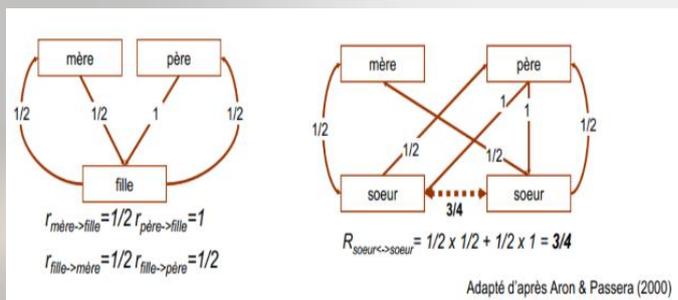
Compétitivité via l'amélioration continue des outils de collecte et de traitement des données

InfAvi et InfAqua sont des logiciels de collecte et de gestion des données nécessaires à la bonne réalisation des expérimentations et travaux de sélection pour l'amélioration des populations avicoles et aquacoles. Ces logiciels, développés respectivement à partir de 1996 et de 2003, sont en mesure de collecter et de gérer l'intégralité des informations de pedigree, de performances (production, reproduction, résistance aux pathogènes qualité des produits), et depuis peu génomiques (Brard-Fudulea and Enez, 2021). Ces outils sont le fruit d'un processus interactif de développement continu, de tests et d'améliorations entre les entreprises utilisatrices et le SYSAAF, ce qui permet de mutualiser les avancées. Le développement des versions finalisées est réalisé en partenariat avec une société de développement informatique, Hizkia, ayant une bonne connaissance du contexte de l'amélioration génétique et de l'expérimentation en sélection. Initialement, la sélection aquacole pratiquée au début des années 2000 était une sélection massale optimisée de type 'PROSPER' (Chevassus *et al.*, 2004)

utilisant des animaux non identifiés individuellement. Il avait été jugé plus approprié dans ce contexte de créer un nouveau logiciel, InfAqua, plutôt que d'étendre les capacités d'InfAvi qui traitait des animaux de pedigree connu. Cependant, depuis 1997, l'utilisation des assignations de parenté s'est généralisée dans les schémas de sélection aquacoles (Vandeputte and Haffray, 2014), et la connaissance du pedigree des animaux a permis de faire évoluer InfAqua en y intégrant un nombre croissant de fonctionnalités présentes dans InfAvi. Ce nouveau contexte est en faveur de la fusion des deux outils préexistants en un outil unique : Eucalyptus. Par ailleurs, la filière de sélection entomocole est en plein essor, et à ce jour aucun outil de collecte et gestion des données de sélection n'est disponible. Il semble donc opportun de prévoir la prise en charge des données entomocoles par l'outil Eucalyptus. Ce besoin d'un outil unique s'accompagne également de la nécessité d'avoir un logiciel capable de fonctionner sous différents environnements (Windows, Android, Linux), ce qui n'est pas le cas des logiciels préexistants.

La chaîne de traitement génomique utilisée actuellement au SYSAAF repose sur l'utilisation adaptée et la combinaison de différents logiciels pour la mise en forme et l'application de filtres de qualité aux données (Plink (Chang *et al.*, 2015)), le contrôle de la cohérence génotype-pedigree (Zanardi, (Marras *et al.*, 2017)), l'imputation des données manquantes (FImpute, (Sargolzaei *et al.*, 2014)) et l'estimation des valeurs génomiques (suite blupf90, (Misztal *et al.*, 2018)). En fonction des besoins du schéma de sélection ou du programme de recherche, des assignations de parenté peuvent être réalisées avec le logiciel APIS (Griot *et al.*, 2019), soit en utilisant un panel de SNP dédié à cet usage, soit en construisant *de novo* une liste de SNP de haute qualité à partir de données de puce basse ou moyenne densité. Ces logiciels sont complétés par des développements de scripts internes, appelant éventuellement des données complémentaires stockées en base. La chaîne de traitement est en évolution continue depuis la réalisation des premières indexations génomiques du SYSAAF en 2016 (Brard-Fudulea and Morvezen, 2018). A la fin de l'année 2020, la chaîne de traitement était carrossée pour réaliser la réception des données de génotypage d'animaux de pedigree connus, filtrer les données sur leur qualité, imputer les données manquantes, et estimer les valeurs génomiques en poule pondeuse. Pour le canard qui a débuté la sélection génomique en 2021 (Le Douarin, 2021), une chaîne de traitement basée sur une succession de script avait été mise en place, mais aucun carrossage n'avait été effectué, ce qui présentait un risque en terme de traçabilité et de répétabilité des analyses entre différents indexeurs. La mise en place d'une chaîne carrossée valorisant les acquis de la chaîne pondeuse était donc nécessaire. Sur une autre espèce en évaluation génomique, l'évolution du schéma vers l'utilisation de deux densités de génotypage (basse et moyenne densité) nécessitait la mise en place et le test d'un nouveau paramétrage du logiciel d'imputation. Un nouveau besoin est également apparu : celui de vérifier la cohérence des génotypes issus de deux prélèvements distants dans le temps d'un même individu. Ce type d'analyse, jusqu'alors non prévu dans la chaîne, a nécessité de nouvelles évolutions.

En termes de modèle d'évaluation génétique, l'abeille est une espèce particulièrement originale. Le caractère d'intérêt qu'est la production de miel est attribué à une colonie, constituée de la reine et de ses ouvrières (Aron and Passera, 2009). Le phénotype est le résultat de la performance de la reine et du groupe d'ouvrières. La sélection peut être effectuée afin d'améliorer la performance de la reine, du groupe d'ouvrières, ou bien des deux. L'abeille est également remarquable du point de vue génomique. C'est une espèce haplodiploïde : les mâles ont une seule copie des chromosomes, et les femelles deux copies des chromosomes. La mère transmet la moitié de son génome à ses descendants et le père la totalité de son génome. Ce mode de transmission modifie tous les liens de parenté par rapport à une espèce "classique" diploïde, comme on peut l'observer sur la figure. Deux méthodes de calcul sont plus particulièrement répandues pour obtenir la matrice de parenté de l'abeille (Bienefeld *et al.*, 2007; Brascamp and Bijma, 2019). Ces pedigrees incorporent des individus fictifs afin de créer les groupes d'ouvrières et des mâles inconnus.



Relations de parenté chez l'abeille, et schéma illustrant les liens de parenté entre reine-mère, grand-mère paternelle, reine productrice de faux-bourdons et faux-bourdons

Différents modèles génétiques animaux sont proposés dans ces travaux sur l'abeille :

- un modèle colonie expliquant la performance génétique par l'effet génétique de la reine et des ouvrières, nécessitant une structure de donnée important et bien construite
- un modèle « Worker », où la performance est plutôt expliquée par les ouvrières
- un modèle « Queen », où la performance est plutôt expliquée la reine

L'évaluation génétique de l'abeille, maîtrisée par INRAE, nécessitait en 2022 un transfert vers le SYSAAF pour la réalisation d'une 1^{ère} indexation et de démarches de R&D.

Les outils de choix d'animaux et d'établissement des plans d'accouplement utilisés au SYSAAF reposent sur un algorithme de recuit simulé (Chapuis *et al.*, 2016). Cet algorithme, ainsi que les étapes de prise en charge des données d'entrée et d'écriture des sorties, sont codés en langage fortran90 (Delannoy, 2000). Aujourd'hui, le pack OPTIVAR se compose de différents logiciels : OPTIGRAPH, OPTICHOIX, OPTICONSANG, OPTIPARQUET, OPTIFACTO. Ce pack prend en entrée des données de pedigree et de phénotype, et permet de choisir simultanément des mâles et des femelles. En revanche, il ne permet pas valoriser des informations génomiques pour estimer la ressemblance entre animaux ou pour gérer finement la consanguinité à l'échelle du génome (Howard *et al.*, 2017). D'autres algorithmes de choix optimisés ont fait l'objet de publication (Hinrichs *et al.*, 2006; Kinghorn, 2011), mais aucun ne fait partie du pack actuel.

Pour l'accès aux données et la réalisation de calculs destinés aux programmes de R&D et aux programmes de sélection, le SYSAAF dispose de ses propres serveurs informatiques. Un serveur principal est installé dans les locaux de INRAE de Nouzilly. Ce serveur dispose de 2 processeurs Intel Xéon Gold 6146 de 12 cœurs chacun, ainsi que de 192 Go de mémoire vive. Un serveur de secours destiné à prendre le relais en cas de défaillance prolongée du serveur de Nouzilly est installé dans les locaux INRAE de Rennes. Cependant, l'espace informatique où ce serveur de secours est localisé doit être fermé, et aucune autre localisation n'est possible pour le serveur de secours. Une solution alternative envisagée est la mise en place d'un serveur de secours Cloud. Une plateforme Cloud présente de nombreux avantages : il n'y a pas d'aléas matériels à gérer, les ressources sont quasi illimitées, et l'accès est sécurisé quel que soit le lieu de connexion.

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Compétitivité via le pilotage de schémas

Le développement d'un outil de simulation des schémas de sélection s'appuie sur l'utilisation d'un ou plusieurs logiciels dédiés, développés pour créer modéliser les génomes, les phénotypes qui en découlent, et les différentes étapes de sélection. Le principal verrou à lever pour ce type de travaux

consiste à définir correctement tous les paramètres du schéma, et à initier en particulier des paramètres au niveau moléculaire qui doivent être inférés sur la base des connaissances disponibles (longueur du génome, taux de mutation et de recombinaison, déterminisme génétique des caractères), afin de simuler une population aussi proche que possible de la réalité.

Compétitivité via la réduction des coûts de géotypage

Pour la mise au point de panels basse densité, deux points en particulier nécessitent des travaux de R&D afin de valider la faisabilité et l'intérêt de l'utilisation de panels basse-densité et de l'imputation : il s'agit du choix de la technologie et de la définition de la densité optimale de l'outil. La technologie retenue parmi celles proposées par les fabricants doit répondre à différentes contraintes (notamment en termes de volumes et de temps d'analyses), garantir une bonne traçabilité des résultats, et présenter un intérêt économique par rapport aux puces moyenne densité actuelles. La densité la plus faible envisagée est de 1000 marqueurs, il faut cependant vérifier si cette densité permet de conserver une précision des valeurs génomiques estimées suffisante pour produire le gain génétique attendu dans le schéma de sélection. Pour les lignées encore peu travaillées sur cette thématique de l'imputation, il est nécessaire de faire varier la taille du panel basse densité afin de choisir le meilleur compromis coût-efficacité, qui sera dépendant de chaque espèce et schéma.

Concernant la sélection phénotypique, cette méthode a jusqu'à ce jour été expérimentée uniquement sur des espèces végétales. Le projet Phenomix est donc la première tentative d'application de sélection phénotypique à des espèces animales, en l'occurrence des espèces aquacoles. L'étude permettra d'apporter une première réponse sur le potentiel de cette nouvelle méthode de sélection chez des espèces dont les caractéristiques biologiques et les schémas de sélection diffèrent grandement des espèces végétales, en particulier en raison de la connaissance du pedigree en espèce animale.

Compétitivité via le contrôle du sexe

Les publications disponibles chez l'Omble chevalier montrent que la masculinisation est possible, des travaux de recherche sont cependant nécessaires pour tester l'efficacité des protocoles sur la population élevée en France. Par ailleurs, aucune méthode ne permet à ce jour d'obtenir 100% de néomales. Des travaux de recherche sont donc nécessaires pour améliorer les protocoles existants.

Compétitivité via l'amélioration continue des outils de collecte et de traitement des données

Les verrous au développement d'un outil de collecte et de gestion des données unique et commun, Eucalyptus, se situent principalement au niveau du développement des applications nécessaires à l'enregistrement du pedigree et de la ponte, qui se réalisent très différemment en fonction des espèces (les éclosions pedigree étant spécifiques des espèces avicoles) et du recours ou non à l'assignation de parenté (possible actuellement en espèces aquacoles et avicoles). La prise en compte de la collecte et de la gestion des données entomocoles comporte encore beaucoup d'incertitudes et de verrous, dans un contexte où les schémas de sélection sont tout juste naissants, et où la mesure de phénotypes individuels n'est pas toujours possible. A ce stade des données de groupe sont assimilées à des données individuelles pour la mouche soldat noire. Une collaboration rapprochée entre le SYSAAF, Hizkia et les entreprises de sélection est indispensable pour la levée de ces difficultés.

Le développement de la chaîne de traitement génomique de chaque espèce présente plusieurs verrous : le 1^{er} est lié à la prise en compte et à l'anticipation d'un maximum de cas de figure pour la phase de réception des données de géotypage. Si l'organisation du fichier d'envoi des résultats est stable, un nombre important d'autres paramètres peut varier, en particulier dans une phase de mise en place des évaluations génomiques pour une nouvelle espèce : envoi des données en un seul ou en plusieurs lots pour une même évaluation, réception de plusieurs géotypages pour un même individu ou une même plaque si un événement a conduit à géotyper à nouveau des échantillons, extraction

de listes de SNP différentes de celles attendues, variation dans la nomenclature de nommage des échantillons génotypés. Ces aléas constituent un verrou à la mise en place d'une chaîne stable car un maximum de situations doit être anticipé afin que la chaîne de traitement soit opérationnelle et efficace au moment des évaluations génomiques, qui se réalisent sur un pas de temps retreint. Le 2nd verrou correspond à la qualité variable des données de génotypage réceptionnées. En effet en présence de données de mauvaise qualité, les vérifications de cohérence entre les différents résultats de génotypage d'un même individu peuvent conduire à mettre en doute la cohérence des génotypages successifs, alors que les différences observées peuvent aussi être dues à des erreurs de génotypage. Un dernier verrou identifié actuellement est le dimensionnement des analyses d'assignation de parenté. Sur certaines populations, des assignations de parenté portent sur plus de 3000 candidats, issus de plusieurs centaines de parents potentiels. Les temps de calculs pour de telles analyses, qui sont réalisées pour le moment avec quelques milliers de SNP, sont trop importants et nécessitent un découpage du jeu de données peu optimal. Des travaux sont nécessaires pour trouver un compromis entre la puissance du jeu de données (nombre de SNP utilisés) et le temps de calcul, et en complément l'intérêt de la réalisation de ces assignations sur un serveur plus puissant doit être envisagé.

Deux verrous sont particulièrement identifiés pour le déploiement du BLUP apicole : il s'agit d'une part de la gestion de la polyandrie dans la structuration du pedigree : la reine est fécondée par plusieurs mâles en une seule fois (par fécondation naturelle ou insémination artificielle). D'autre part, contrairement aux entreprises de sélection avicoles et aquacoles qui détiennent la totalité du noyau de sélection et qui réalisent eux-mêmes les mesures de façon standardisée dans un nombre d'environnements limité, pour l'abeille la collecte des données porte sur des ruches localisées dans de nombreux sites. Cette organisation peut mettre en difficulté les modèles si les familles des individus testés ne sont pas suffisamment représentées dans les différents sites.

Un 1^{er} verrou à lever pour la réalisation de travaux de R&D sur les algorithmes de choix du pack OPTIVAR est d'en modifier le langage. Le codage en Fortran90 est un frein, car il est de moins en moins utilisé, et n'est plus enseigné aux étudiants en informatique. La réécriture d'OPTICHOIX en C++ et en programmation orientée objet est donc un préalable indispensable avant toute évolution du programme. Cette réécriture ne doit pas affecter les résultats produits car l'algorithme utilisé pour cette première phase reste le recuit simulé.

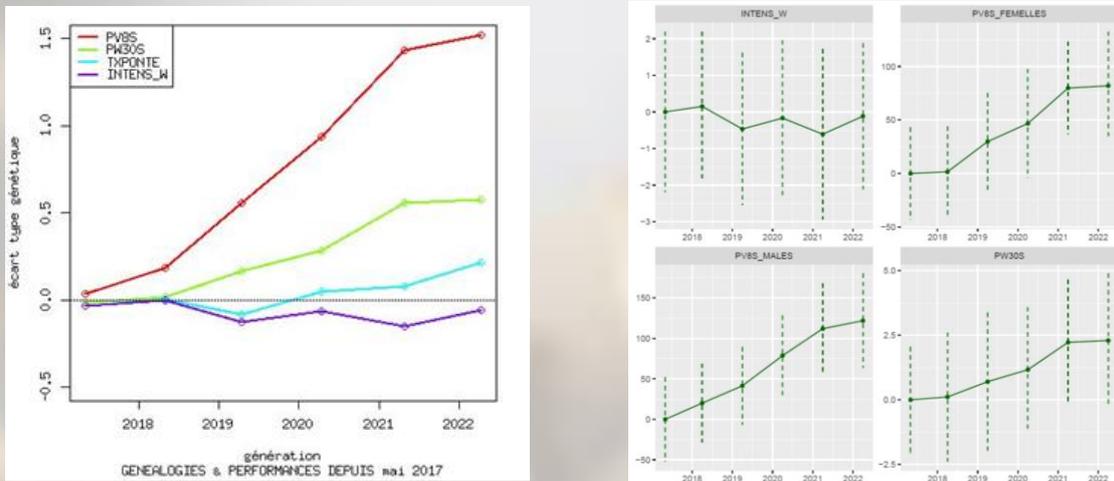
Un certain nombre de verrous sont à lever pour arriver à un serveur de secours cloud proposant le même niveau de qualité que le serveur de secours actuel. Il faut une bonne gestion des copies de données entre les serveurs, les logiciels doivent avoir assez de puissance pour redémarrer, tous les processus nécessaires aux manipulations de données et calculs doivent être opérationnels, et le délai de disponibilité du serveur de secours Cloud doit être très court afin de garantir la continuité du service. La mise en place des conditions permettant d'atteindre tous ces requis nécessite des phases d'essai et de paramétrage, réalisées en partenariat avec Hizkia.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats

Compétitivité via le pilotage de schémas

Les travaux de développement de simulateur prévus dans MedMax seront réalisés au cours de l'année 2023. Il est prévu dans un 1^{er} temps de s'approprier le logiciel retenu (Pook *et al.*, 2020) afin de développer un modèle proche du schéma actuel du sélectionneur. Différents paramètres (nombre de marqueurs sur une puce de génotypage, nombre de candidats, nombre d'individus phénotypés...) pourront être définis dans un second temps afin de définir les différentes stratégies à comparer entre-elles.

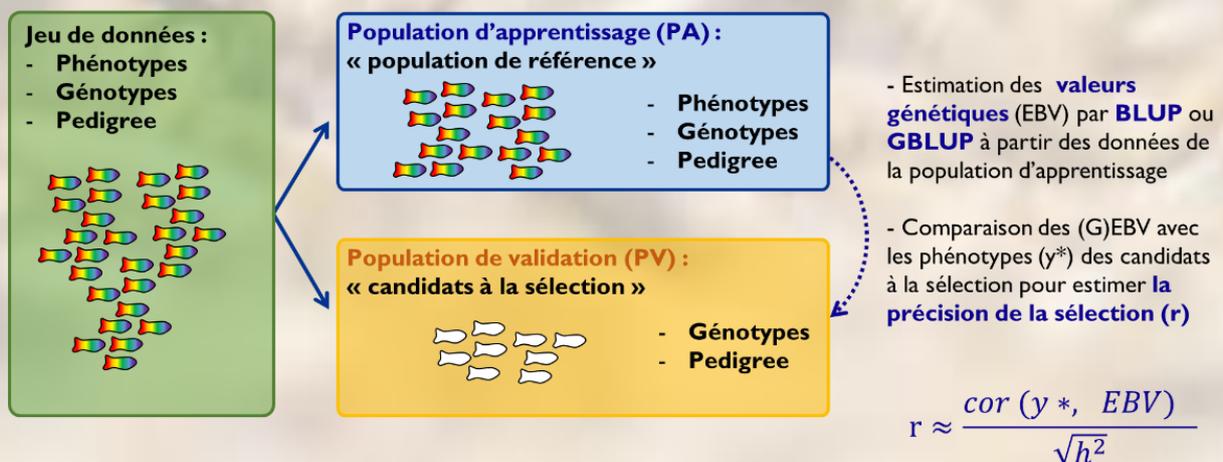
Pour l'expression des valeurs génétiques en unité brute du caractère, un script R a été produit et inclut dans une action utilisable au niveau du run (calcul de valeurs génétiques) dans le logiciel Koala. Ce script produit sous forme de fichier pdf les graphiques d'évolution génétique en unité brute pour chaque caractère, un exemple est présenté dans la figure ci-dessous.



Evolution génétique d'une lignée de poule, exprimée en unité d'écart type génétique (à gauche) et en unité brute pour chaque caractère (à droite). Le graphique de gauche montre un net gain génétique sur le poids vif depuis 2017. Les graphiques de droite permettent de quantifier ce gain (autour 75 g pour les femelles et 125 g pour les mâles)

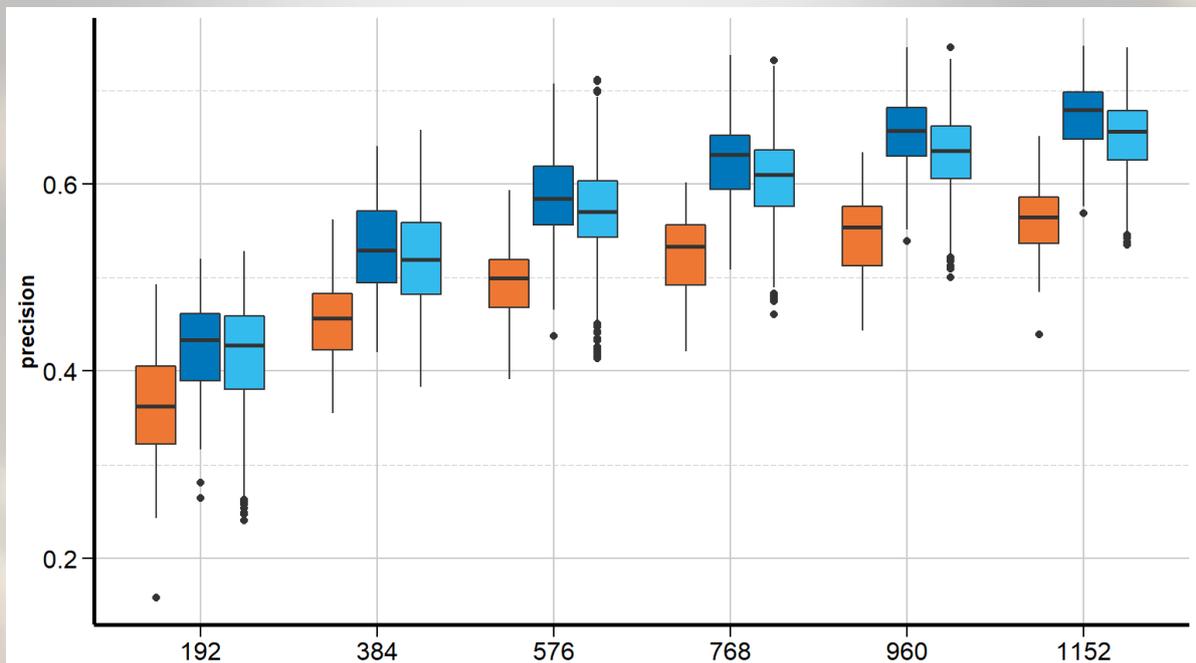
Compétitivité via la réduction des coûts de génotypage

Pour estimer l'efficacité de la sélection sur pedigree (BLUP) ou génomique avec puce MD ou panel LD avec imputation (GBLUP), une étude de validation croisée a été effectuée sur données réelles d'une espèce aquacole. Le jeu de données a été divisé en deux populations : une population d'apprentissage (PA) et une population de validation (PV). Les génotypes et les phénotypes de la population d'apprentissage (ou seulement les phénotypes en BLUP) sont utilisés pour établir les équations de prédiction. Ensuite, ces équations permettent d'estimer les valeurs génétiques ou génomiques (EBV ou GEBV) des animaux de la population de validation. Ce dispositif permet de simuler le schéma de sélection pour des caractères non mesurés sur les candidats (figure ci-dessous). Quarante répliques sont réalisées pour chacune des modalités testées.



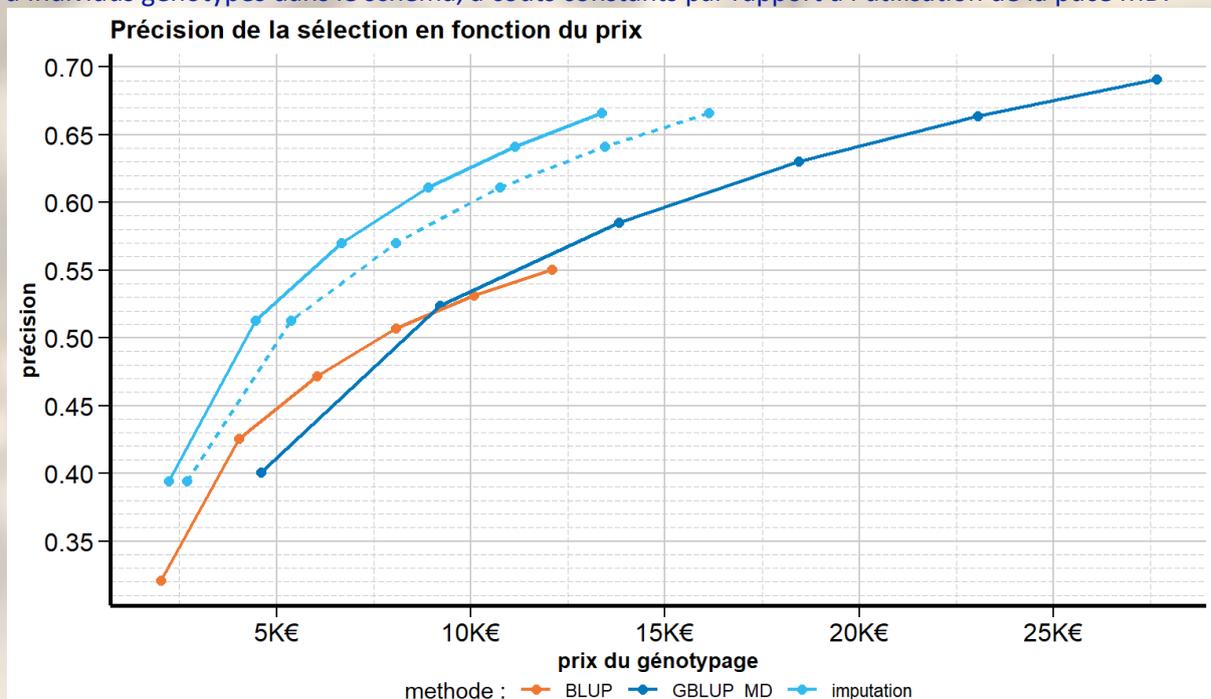
Principe de la validation croisée pour estimer la précision de la sélection

La figure ci-dessous montre la possibilité de l'utilisation d'un panel 1K pour une espèce aquacole avec imputation. La précision atteinte avec le panel 1K est très proche de la précision obtenue avec la puce MD, quel que soit le nombre d'individus phénotypés et génotypés.



Précision de la sélection sur pedigree (orange), en sélection génomique avec une puce MD (bleu foncé) et avec un panel 1K avec imputation (bleu clair) en fonction du nombre d'individus phénotypés

La figure suivante présente l'intérêt d'un panel LD 1K pour réduire les coûts de la SG ou améliorer le progrès génétique sur une autre lignée. L'utilisation du panel 1K permet d'augmenter le nombre d'individus génotypés dans le schéma, à coûts constants par rapport à l'utilisation de la puce MD.



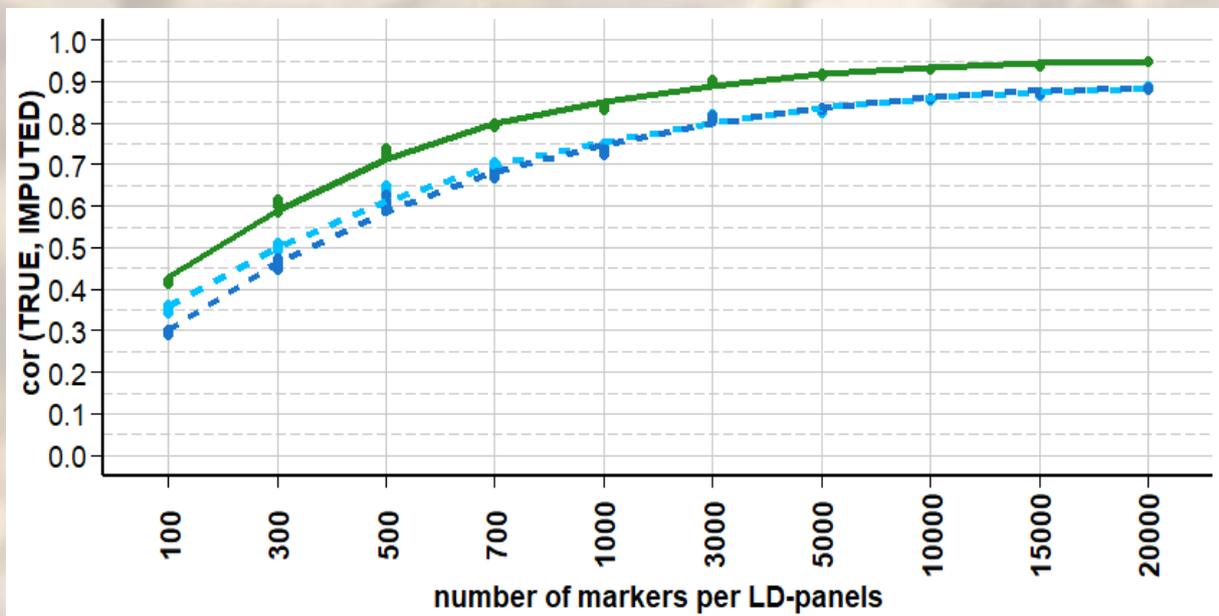
Précision de la sélection en fonction du prix du génotypage pour un caractère donné. Chaque point représente successivement 192 individus pour le lot dérivé + 192 en plus pour le point suivant (de 192 à 1152 individus). L'axe des x représente le coût du génotypage en fonction du nombre d'individus et

de l'outil de génotypage en couleur (BLUP : sélection pedigree, GBLUP_MD : BLUP génomique en moyenne densité)

Sur la base de ces résultats obtenus sur des panels générés *in-silico*, des données réelles de génotypage sur panel 1K ont été produites. Cependant, la mauvaise qualité des génotypages reçus nécessite des travaux de R&D complémentaires afin d'obtenir avec la technologie choisie pour le panel des génotypages de qualité suffisante en vue de l'imputation.

Dans le programme MedMax, le jeu de données utilisé pour optimiser l'imputation comptait 1646 individus génotypés et phénotypés de l'entreprise EMGI (Gravelines, France) provenant d'un plan factoriel de 60 pères et 21 mères avec génotypes. Neuf cent quarante-deux individus ont été challengés au *Vibrio harveyi* à la plateforme FORTIOR Genetic (ANSES, Plouzané, France) et 704 ont été phénotypés pour des caractères de découpe. La création des puces LD a été effectuée par un choix aléatoire des marqueurs intra-chromosome, avec cependant un nombre de marqueurs proportionnel à la taille de chaque chromosome. Cette méthode a été choisie sur la base de précédents travaux de recherche réalisés chez la truite (Fraslin *et al.*, 2023). La réalisation de l'imputation a été effectuée en se basant sur les parents, génotypés en MD.

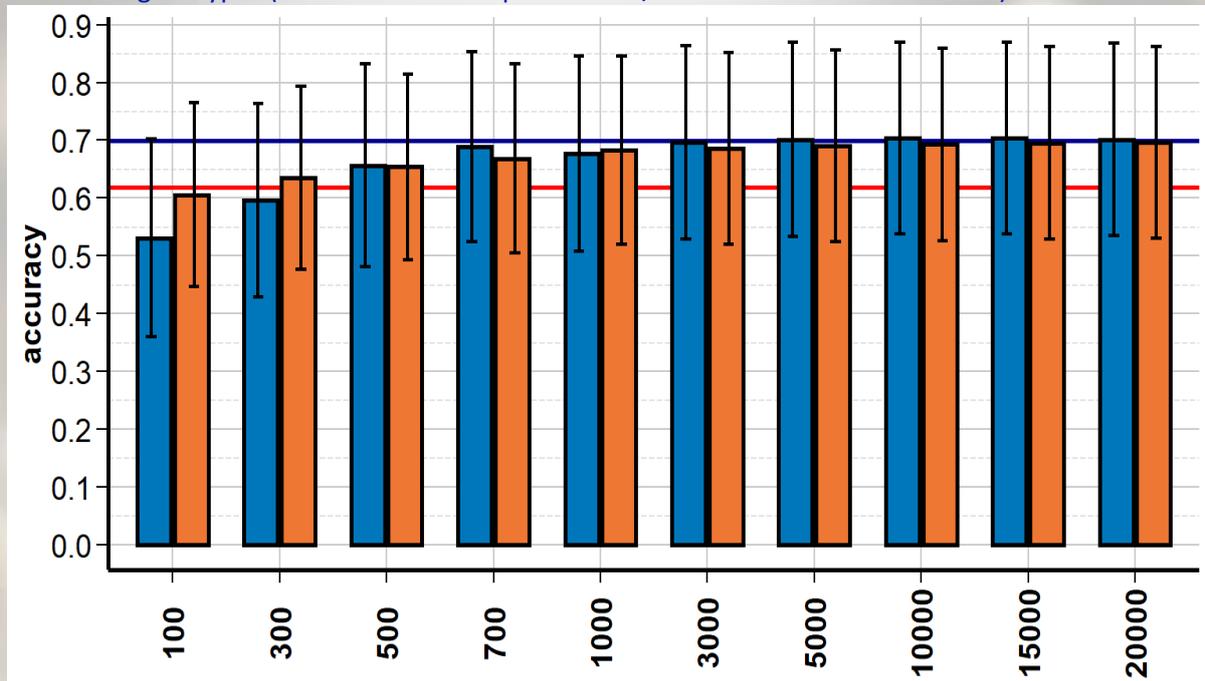
Les résultats montrent une qualité de l'imputation chez le bar plutôt faible (figure ci-dessous) par rapport aux résultats obtenus chez la truite, mais supérieure à celle obtenue chez la daurade. Cette différence entre les espèces peut être expliquée par la biologie de l'espèce et la structure de la population (diversité génétique, déséquilibre de liaison entre les marqueurs, structure de population, nombre de parents ...). Pour le bar et pour la daurade, la qualité de l'imputation est assez similaire. La qualité de l'imputation augmente rapidement avec l'augmentation du nombre de marqueurs, mais atteint un plateau rapidement vers 5000 marqueurs pour le bar et 3000 marqueurs pour la daurade.



Corrélation entre les vrais marqueurs (puce 57K) et les marqueurs imputés en fonction du nombre de marqueurs du panel LD. En vert : bar (919 individus) ; en bleu clair : daurade avec parents connus (772 individus) ; en bleu foncé : daurade avec ou sans parent connu (919 individus)

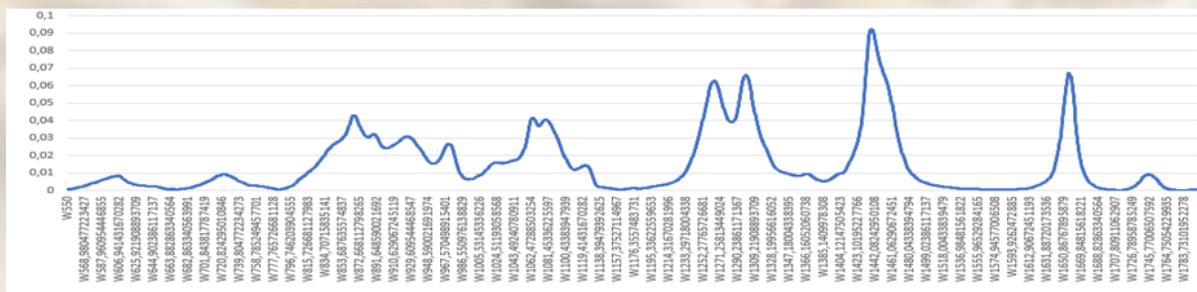
La majorité des scénarios en sélection génomique testés dans MedMax (avec ou sans imputation) est plus performante qu'une sélection sur pedigree pour l'ensemble des caractères étudiés. L'imputation permet l'augmentation de la précision pour les panels de basse densité (< 3 000 marqueurs) par rapport à la même densité de marqueur sans imputation. Avec imputation, les panels de 1 000

marqueurs ou plus ont une précision proche de celle obtenue avec la puce MD. À partir de 3 000 marqueurs, cette précision cible peut être approchée sans passer par une étape d'imputation. Il est donc possible de développer un panel LD (avec ou sans imputation) pour optimiser les schémas de sélection chez ces deux espèces, soit en réduisant le coût de la sélection, soit en augmentant le nombre d'individus génotypés (amélioration de la précision et/ou de l'intensité de sélection).



Précision de la sélection en fonction du nombre de marqueurs pour les différents panels sans imputation (orange) ou avec imputation (bleu) pour le poids éviscéré et étêté ajusté par le poids. La ligne horizontale rouge représente la précision moyenne en sélection sur pedigree et la ligne bleue la précision moyenne en sélection avec la puce MD

Les travaux réalisés dans Phénomix portent sur 3 espèces. Chez la truite, les résultats de 1ère génération ont été présentés dans le rapport 2021. Une seconde génération de truite a été produite en décembre 2020 pour être phénotypée en mai 2022 à taille commerciale. Des mesures de caractères de croissance et de rendements ont été effectuées sur 1447 poissons, des darnes ont été congelées pour des analyses IRM servant à quantifier le gras sous-cutané, et du gras viscéral a été prélevé en vue d'analyses spectrométriques. Des spectres Raman doivent être acquis afin de confirmer les résultats d'analyse phénomique obtenus sur la première génération et investiguer l'hérédité des spectres. De plus des analyses NIR ont été réalisées pour comparer les résultats issus de 2 méthodes d'acquisition spectrale différentes. Pour la daurade, un échantillon de gras viscéral a été collecté sur 824 daurades à poids commercial, également découpées et mesurées, dans le cadre du projet européen AqualImpact. Un spectre Raman a été acquis sur ces échantillons. La figure ci-dessous présente le spectre médian.



Spectre médian Raman obtenu sur 824 échantillons de daurade après alignement sur l'axe des X, entre les nombres d'onde 550 et 1800 cm⁻¹

Comme pour la truite, plusieurs prétraitements adaptés aux spectres Raman ont été réalisés sur les spectres de daurade. Après l'obtention de résultats peu crédibles sur les premières estimations d'héritabilité le long des spectres, un travail de d'investigation approfondi a permis de conclure à un problème de traçabilité parmi les spectres. Le lien spectre-individu ne pouvant être rétabli, ce jeu de données ne pourra pas être exploité davantage. La dernière espèce étudiée dans le projet Phénomix est l'huitre. La chair de 1153 huitres a été collectée après l'enregistrement de mesures biométriques. Ces échantillons ont été broyés pour être analysés par spectroscopie NIR en plusieurs répliques. Il est prévu en 2023 de réaliser les prétraitements de ces spectres et d'estimer leur héritabilité.

Compétitivité via le contrôle du sexe

En 2022, quatre protocoles ont été appliqués à 4 lots de 2500 poissons chacun :

- 1) Après éclosion, 4 bains de 4h de méthyl-testostérone à **0.4 mg/L** à 405, 450, 495 et 541 °C-jour suivi d'une période d'alimentation enrichie en méthyl-testostérone à **0.5mg/kg** pendant 300 °C-jour à partir de la 1^{ère} alimentation.
- 2) Après éclosion, 4 bains de 4h de méthyl-testostérone à **0.4 mg/L** à 405, 450, 495 et 541 °C-jour suivi d'une période d'alimentation enrichie en méthyl-testostérone à **0.25mg/kg** pendant 300 °C-jour à partir de la 1^{ère} alimentation.
- 3) Après éclosion, 4 bains de 4h de méthyl-testostérone à **0.8 mg/L** à 405, 450, 495 et 541 °C-jour suivi d'une période d'alimentation enrichie en méthyl-testostérone à **0.5mg/kg** pendant 300 °C-jour à partir de la 1^{ère} alimentation.
- 4) Après éclosion, 4 bains de 4h de méthyl-testostérone à **0.8 mg/L** à 405, 450, 495 et 541 °C-jour suivi d'une période d'alimentation enrichie en méthyl-testostérone à **0.25mg/kg** pendant 300 °C-jour à partir de la 1^{ère} alimentation.

Le protocole 1) a produit 25.1% de néomales, le protocole 2) a produit 16.5% de néomales, le protocole 3) a produit 12.25% de néomales et le protocole 4) a produit 43% de néomales. Le protocole 4 semble plus performant pour générer des néomales. Cependant, le protocole peut encore être optimisé afin de se rapprocher de la valeur cible : 100% de néomales.

Compétitivité via l'amélioration continue des outils de collecte et de traitement des données

Les travaux sur Eucalyptus ont porté sur les chantiers de reproduction aquacole, notamment en lien avec l'élevage de cheptels en familles séparées. Les développements effectués ont été validés sur le terrain chez des sélectionneurs aquacoles. En parallèle de cet axe de travail, des adaptations de l'outil ont été réalisées pour permettre l'intégration et la gestion dans le logiciel des stocks de matériel cryoconservé (gamètes, larves, tissus...). Ces développements originaux ont fait l'objet d'une première phase de test réussie au SYSAAF : ils seront mis en test à partir du premier semestre 2023 chez les sélectionneurs aquacoles. Pour les espèces avicoles et entomocoles, des tests ont été réalisés. Pour les espèces avicoles, des manques ont été identifiés pour la réalisation de saisies de données spécifiques à la sélection de ces espèces. Pour les espèces entomocoles, les tests montrent un besoin d'adaptation de la gestion des groupes et des familles, qui n'est pas complètement prise en charge via la notion de lot présente actuellement dans Eucalyptus. Les travaux sur ces points doivent se poursuivre en 2023.

La chaîne de traitement des données de génotypage de canards a fait l'objet d'un carrossage. Certains modules existant pour la poule ont pu être transféré en l'état, et d'autres ont nécessité des adaptations, en particulier au niveau des filtres de qualité et de l'imputation, pour tenir compte de l'absence de chromosome sexuel dans les données de génotypage de canards. En complément, l'étape de contrôle de cohérence génotype-pedigree qui était jusqu'à présent réalisée via des scripts pour toute l'espèce a fait l'objet d'un carrossage incluant le lancement du logiciel Zanardi, et la production d'un tableau rassemblant pour chaque animal présentant une incompatibilité des informations issues

des différentes sorties du logiciel, nécessaires à l'interprétation des résultats. Ce développement réalisé pour le canard a pu être déployé chez la poule. Pour l'imputation d'un outil de génotypage basse-densité vers un outil de génotypage moyenne densité, le module d'imputation existant pour les données manquantes a été dupliqué, puis complété pour prendre en compte l'utilisation de deux listes de SNP et donc de deux cartes génétiques au lieu d'une seule. Concernant la vérification de la cohérence des génotypes issus de deux prélèvements réalisés à deux moments différents sur un même animal, des scripts spécifiques ont été mis au point. Parmi les marqueurs communs aux différents résultats de génotypage, seuls ceux présentant peu de données manquantes (moins de 2%) et polymorphes sont retenus. En cas d'incompatibilité, donc d'erreur de traçabilité pour au moins un des échantillons, les génotypes incompatibles sont comparés à tous les autres génotypes disponibles dans la même génération, là aussi en utilisant un script développé à cet effet. La mise en œuvre de ces outils, réalisée dès 2022, a permis de mettre en lumière des erreurs survenues lors des prélèvements et des mises en plaques, qui ont pu être corrigées. Il a été observé au cours de ces premières utilisations que des échantillons présentant plus de 10% de données manquantes pouvaient apparaître comme incompatible à tort, en raison d'un nombre important d'erreurs de génotypes. Un filtre supplémentaire éliminant les individus avec plus de 10% de données manquantes a donc été ajouté en amont de la phase de confrontation des résultats de génotypage. La prochaine étape pour ces travaux est d'avancer vers un carrossage des scripts. Concernant l'assignation de parenté, des scripts préexistants ont été adaptés. La nouvelle version intègre en amont de l'assignation une phase de sélection des SNP parmi les milliers de marqueurs disponibles, ces SNP étant filtrés sur leur qualité et sur leur niveau de polymorphisme. Des taux d'assignation de 98 à 100% ont été atteints, et les recherches complémentaires effectuées sur les individus non-assignés ont permis de préciser la raison de la non-assignation de candidats (reproduction d'animaux non prévus dans le plan de reproduction). La prochaine étape sera d'optimiser les conditions de réalisation des assignations, via la proposition d'un environnement de calcul plus efficace, et un carrossage de l'analyse.

Pour permettre la mise en œuvre de R&D sur les données abeille, deux généticiens SYSAAF ont été formés au BLUP apicole par INRAE. A l'issue de la formation, réalisée en fin d'année, un premier jeu de données a été analysé en vue d'une indexation. Ses analyses se poursuivent début 2023.

La réécriture d'OPTICHOIX par Hizkia a été entamée, et des analyses réalisées avec l'ancienne et la nouvelle version du code ont été comparés par les ingénieurs du SYSAAF. Ces travaux ont permis de déceler que l'application des contraintes (qui consiste pour un ou plusieurs caractères à stabiliser le niveau génétique à une valeur donnée) n'est pour l'instant pas correctement prise en charge. Les travaux se poursuivront donc en 2023 afin de produire une nouvelle version à même de produire les résultats attendus.

Le choix d'une plateforme Cloud d'Oracle comme solution de secours a été réalisé. Cette plateforme a pour avantage de mettre à disposition un serveur de base de données Oracle, qui est le système utilisé pour la gestion des bases de données des sélectionneurs du SYSAAF. Hizkia a installé sur cette plateforme les différentes machines virtuelles présentes sur le serveur principal du SYSAAF. Un tunnel ipsec a été mis en place entre le serveur principal du SYSAAF et la plateforme Cloud afin de sécuriser l'envoi journalier des sauvegardes. Deux crash-test ont été réalisés : la procédure de démarrage sur serveur Cloud a été testée, et des analyses similaires à celles réalisées en routine au SYSAAF ont été lancées. Ces tests se sont révélés non-concluants. Au 1^{er} test, une partie des répertoires contenant des programmes n'était pas correctement accessible, ce qui ne permettait pas de lancer un certain nombre d'actions. Ce problème a pu être résolu. Au 2nd test, il est apparu que la suppression de données était trop lente pour être utilisable en routine. Des travaux complémentaires se poursuivent pour parvenir à un serveur de secours Cloud fiable.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

Compétitivité via le pilotage de schémas

L'outil de simulation dont la mise au point est prévue dans MedMax permettra de comparer les stratégies de sélection et d'estimer les rapport coûts/bénéfices. Il pourra constituer à terme un outil de support au développement de la sélection génomique chez les sélectionneurs.

Pour la présentation des valeurs génétiques en unité brute, les premiers graphiques issus du script développé ont été diffusés aux adhérents avicoles et les retours sont très positifs. Ces graphiques offrent aux généticiens un outil leur permettant de quantifier les progrès réalisés et ainsi guider leurs futurs objectifs de sélection. Certaines entreprises les utilisent également en tant qu'outils de communication interne auprès de leurs commerciaux ou clients. Quelques améliorations pourraient cependant être apportées tant du point de vue esthétique qu'interactif sur ces graphiques. La correspondance entre l'évolution génétique des lignées et leur évolution phénotypique *stricto sensu* apporterait également un éclairage intéressant sur l'efficacité de la sélection.

Compétitivité via la réduction des coûts de génotypage

MedMax ainsi que les analyses réalisées en interne ont permis de proposer aux adhérents de tester l'efficacité d'un panel LD avec ou sans imputation sur leurs populations et sur les caractères d'intérêt pour leurs schémas de sélection. Les travaux de R&D en imputation ont permis de cibler les bonnes densités de panel, de choisir une technologie, voire de passer à une mise en œuvre effective dans les schémas de sélection. Les résultats produits pourront aussi être utilisés aussi pour optimiser le nombre d'animaux à phénotyper et génotyper. Par ailleurs, des marqueurs d'intérêts identifiés par GWAS dans la littérature scientifique ou en interne ont pu être intégrés dans les panels le cas échéant.

A terme, si l'efficacité de la sélection phénotypique est démontré, elle pourra être une alternative au génotypage et à l'imputation pour rendre les entreprises plus compétitives. Néanmoins la recherche doit se poursuivre avant une mise en place effective de la sélection phénotypique dans les programmes de sélection. Les premiers résultats encourageants sur la truite doivent encore être validés sur d'autres générations avant la fin du projet Phenomix. L'utilisation de méthodes de spectroscopie alternatives pour alimenter une sélection phénotypique, telle que la NIR, reste à investiguer.

Compétitivité via le contrôle du sexe

Pour la masculinisation de l'Ombre Chevalier, les protocoles testés ont permis de confirmer la faisabilité de la masculinisation d'individus génétiquement femelle. Des travaux de R&D complémentaires seront réalisés en 2023 afin d'optimiser le plus performant des quatre protocoles testés.

Compétitivité via l'amélioration continue des outils de collecte et de traitement des données

Pour Eucalyptus, les phases de test et de validation ont permis d'aboutir à une version stable diffusable aux sélectionneurs aquacoles.

Les développements génomiques réalisés en 2022 ont permis de consolider la chaîne de préparation des données canards, et d'améliorer ainsi la répétabilité des traitements de données. Les ajouts effectués aux chaînes de traitement sont nombreux : rapport d'incohérences génotype-pedigree, imputation d'une densité vers une autre, identification de résultats de génotypage incompatibles et proposition de solutions, réalisation d'assignation de parenté à grande échelle. Tous ces nouveaux modules ont été utilisés dès 2022 afin de répondre au mieux aux évolutions apportées par les entreprises de sélection à leurs schémas.

La formation dispensée par INRAE au SYSAAF a permis un transfert de compétences sur le BLUP apicole.

La nouvelle version d'OPTICHOIX n'étant pas encore opérationnelle, aucun déploiement n'a eu lieu pour le moment. A terme, l'intérêt attendu est d'avoir une version permettant l'implémentation de nouveaux algorithmes de choix potentiellement plus performants, et la réalisation de choix spécifiques en meilleurs accord avec les besoins des schémas de sélection.

Les travaux réalisés en 2022 pour la mise en place d'un serveur de secours Cloud ont permis d'initier la démarche, cependant ce serveur n'est pas encore opérationnel. A terme, la mise en place de ce serveur de secours Cloud permettra de pérenniser la continuité du service de traitement de données, qui est nécessaire afin de garantir un rendu des résultats d'indexation dans les délais impartis des schémas de sélection.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

D'ambrosio J., Chalioui T., Ruche J., Desgranges A., Vandeputte M., Besson M., Bugeon J., Pierrick Haffray P. Efficiency of genomic selection by imputation in sea bass and sea bream to improve processing traits and resistance to viral nervous necrosis. International Symposium on Genetics in Aquaculture 2022. Puerto Varas, Chili. 27 novembre – 2 décembre 2022. (Poster)

D'ambrosio J., Besson M., Bestin A., Bruant J.B, Bajek A., François Y., Morin T., Haffray P., Allal F., Vandeputte M. 2022. Réduction du cout de la sélection génomique par utilisation de panels a plus faible densité de marqueurs chez le bar et la daurade. Journées de la Recherche Filière Piscicole. Paris, 5-6 juillet 2022. (Oral).

D'ambrosio J., Besson M., Bestin A., Bruant J.B, Bajek A., François Y., Morin T., Haffray P., Allal F., Vandeputte M. 2022. Mise en œuvre de la sélection génomique par imputation chez les espèces piscicoles pour réduire le coût des programmes de sélection. 5èmes Journées Techniques Interfilières du SYSAAF. 4-5 octobre 2022. (Présentation orale)

D'ambrosio J., Besson M., Bestin A., Bruant J.B, Bajek A., François Y., Morin T., Haffray P., Allal F., Vandeputte M. 2022. Précision de la sélection avec l'utilisation de puces LD (avec et sans imputation) pour deux espèces marines. R2d2 (Webinaire),01 avril 2022. (Présentation orale)

Desnoues, B. 2022. Des serveurs SYSAAF en mode Cloud ? 5èmes Journées Techniques Interfilières du SYSAAF. 4-5 octobre 2022. (Présentation orale)

Jaouahdou, F., Enez, F., Eklouh-Molinier, C., Doerflinger, J., Collewet, G., Boudry, P., Bugeon, J., Segura, V., Nazabal, V., Phocas, F., Vandeputte, M., Allal, F., Haffray, P., Brard-Fudulea, S., 2022. Phenomic selection, an alternative to genomic selection in animal breeding? International Symposium on Genetics in Aquaculture 2022. Puerto Varas, Chili. 27 novembre – 2 décembre 2022. (Oral)

Jaouahdou F., Enez F., Eklouh-Mlinier C., Boudry, P., Segura, V., Nazabal, V., Phocas, F., Vandeputte, M., Allal, F., Haffray, P., Brard-Fudulea, S. 2022. Phénomix : Estimation de l'héritabilité de spectres Raman et premiers résultats d'évaluation phénomique chez la truite. 5èmes Journées Techniques Interfilières du SYSAAF. 4-5 octobre 2022. (Présentation orale)

Patrice P., Andrès S., 2022. INFAQUA V9 : logiciel de collecte, de gestion et d'archivage des données des sélectionneurs aquacoles. Journées de la Recherche Filière Piscicole. Paris, 5-6 juillet 2022. (Poster).

Patrice P., Desnoues, B., 2022. Amélioration du logiciel INFAQUA, développement de nouvelles applications et perspectives de convergence vers l'aviculture et l'entomoculture. 5èmes Journées Techniques Interfilières du SYSAAF. 4-5 octobre 2022. (Présentation orale)

Pour la préparation des données génomiques avicoles, 9 procédures ont été écrites ou mises à jour, toutes ont été utilisées pour la réalisation d'évaluations génomiques au cours de l'année.

3.2 Intégrer les nouveaux caractères, adaptés aux changements agroécologiques et aux attentes sociétales, dans les objectifs de sélection

Objectifs du projet :

Afin de répondre aux attentes sociétales en matière de bien-être animal, deux objectifs sont poursuivis dans les projets présentés ici. Le 1^{er} projet dont le SYSAAF est partenaire a pour objectif de proposer une alternative au gavage, via un itinéraire zootechnique mis au point pour favoriser l'engraissement

spontané du foie du canard. Le 2nd consiste à explorer l'origine (génétique ou non) d'un défaut de conformation apparu sur un espèce avicole portant atteinte au bien-être animal, afin d'en identifier la ou les causes, et d'y apporter une réponse.

Etat de l'art :

Les travaux de recherche publiés sur l'engraissement spontané du foie du canard mulard n'ont pour l'instant pas identifié de protocole garantissant l'obtention d'un foie gras sans recours au gavage (Guy *et al.*, 1998). Différents leviers sont cependant pressentis pour tendre vers un engraissement spontané. Le 1^{er} levier d'acclimatation au froid en fin de développement embryonnaire et en tout début de croissance pourrait stimuler le métabolisme lipidique, et stimuler la prise alimentaire (Bedu *et al.*, 2002). Le 2nd levier est celui de la qualité et du mode de distribution de l'aliment, qui peut être optimisé afin d'améliorer les capacités d'ingestion et l'appétence pour une grande variété d'aliments (Svihus *et al.*, 2010). Le dernier levier est celui de la gestion de l'éclairage (durée et intensité), dont les effets sont déjà connus chez l'oie sur la prise alimentaire (Bonnefont *et al.*, 2015), et qui être mis en œuvre afin d'obtenir une hyperphagie.

Sur des espèces avicoles sélectionnées pour la production de viande, l'augmentation du poids vif peut s'accompagner d'une modification de la morphologie, affectant en particulier les membres (Duggan *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2019). Ces modifications peuvent constituer des atteintes au bien-être animal, quand la locomotion ou l'intégrité des membres des animaux est compromise (Reiter and Bessei, 2009).

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Un verrou à lever dans les travaux relatifs à l'engraissement spontané concerne les conditions d'incubation : le projet prévoit d'incuber les œufs à des températures inférieures à celles utilisées habituellement. Il sera nécessaire de vérifier que cet abaissement de la température d'incubation n'affecte pas ou peu les performances d'éclosion ainsi que la viabilité dans les premières semaines de vie. Dans ce même projet, il est prévu de mettre en œuvre simultanément les 3 leviers d'action décrits : température, alimentation, éclairage. En cas de déclenchement d'un engraissement spontané du foie, des travaux complémentaires seront nécessaires pour décortiquer l'effet de chacun des leviers sur les résultats observés, ainsi que leurs éventuelles interactions.

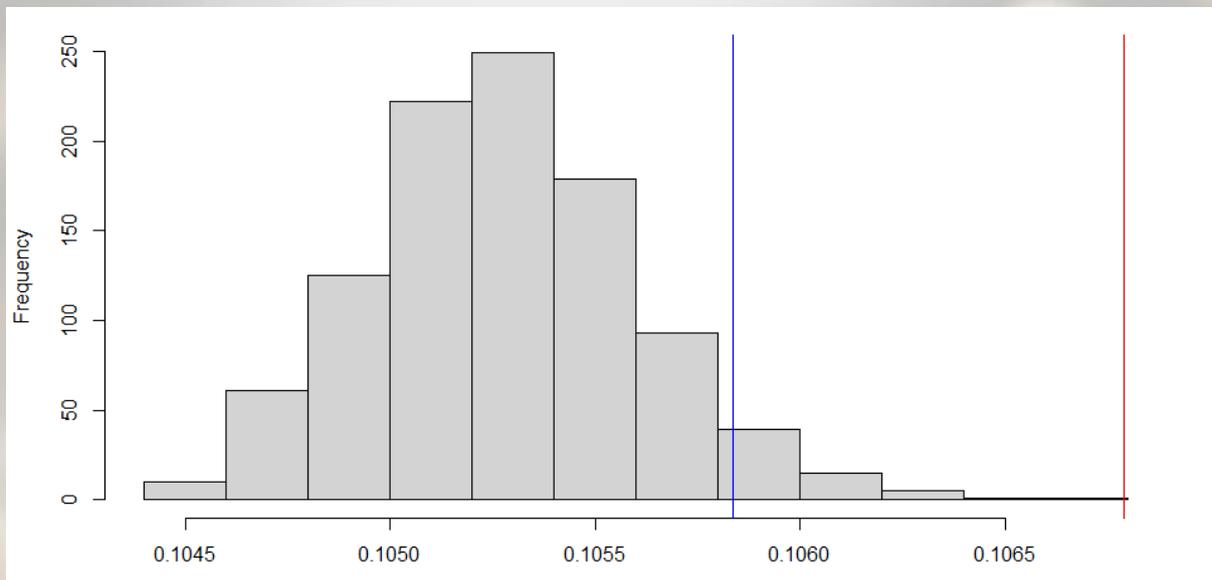
Concernant la prise en compte dans le schéma de sélection d'un défaut apparu sur les membres d'une lignée avicole, une difficulté identifiée est celui du faible (mais croissant) nombre d'individus présentant le défaut dans les générations successives, ce qui limite la puissance du jeu de données pour estimer la part de la génétique dans le phénotype observé via une approche classique d'estimation de l'héritabilité. Une approche alternative sera donc nécessaire.

Travaux de recherche réalisés en 2022, démarche expérimentale et résultats

Dans le projet relatif à l'engraissement spontané du canard, un protocole de test de l'effet de la température d'incubation a été mis au point, afin de vérifier si l'abaissement des températures en fin d'incubation et en début d'élevage affectait les résultats zootechniques. Ce protocole sera mis en œuvre en début d'année 2023. Le SYSAAF y coordonne en particulier la fourniture d'animaux, et participera à l'interprétation des résultats.

Pour étudier la possibilité de solutionner le défaut de conformation apparu dans une lignée avicole, une étude généalogique a été réalisée sur les générations concernées. Deux-cent neuf animaux de ces deux générations présentant le défaut ont été identifiés. Un calcul de la parenté moyenne et du nombre de parents communs entre les animaux présentant ce défaut a été fait. Ces valeurs observées ont été comparées aux distributions de ces mêmes statistiques construites sur la base de 1000 tirages aléatoires de 209 animaux dans la population d'intérêt. Le package R « pedigree » a été utilisé pour calculer la parenté des animaux. Les résultats présentés dans la figure montrent que la parenté

moyenne entre les animaux porteur du défaut est de 0.1067915, tandis que la parenté moyenne entre 209 individus tirés au hasard varie entre 0.1044024 à 0.1066499. La parenté moyenne des animaux présentant le défaut (barre rouge) est supérieure au 95ème percentile de la distribution de parenté moyenne entre 209 animaux tirés au hasard (0.1058361, barre bleue).



Distribution de la parenté moyenne entre 209 animaux tirés aléatoirement sur la base de 1000 tirages. Barre bleue : 95ème percentile. Barre rouge : parenté moyenne des animaux présentant le défaut.

Le nombre de pères ayant produit les 209 animaux porteurs d'un défaut est de 43 (105 pour les mères), alors que la distribution du nombre de pères ayant produit 209 animaux pris au hasard est comprise entre 58 et 73 (entre 123 et 152 pour les femelles). Ces résultats tendent donc à valider l'hypothèse d'une cause génétique du défaut observé dans la population.

Acquisition des connaissances, intérêt pour l'entreprise ou la filière :

En cas de succès, le projet de recherche portant sur l'engraissement spontané du canard devrait permettre de proposer des pistes d'alternative au gavage. Des projets ultérieurs pourraient porter sur la quantification de la part de la génétique dans la capacité à l'engraissement spontané, afin d'introduire ce caractère dans les schémas de sélection s'il se révélait héritable.

Les travaux réalisés sur le défaut de conformation observé dans une lignée avicole ont permis de mettre en évidence une cause génétique. Des travaux complémentaires doivent se poursuivre en 2023 afin de rechercher dans le pedigree si des animaux des générations précédentes peuvent être identifiés comme responsables de l'apparition du défaut. Cette étude devrait permettre d'éliminer leurs descendants, afin de diminuer l'occurrence du défaut dans le schéma et d'améliorer l'intégrité et le bien-être des animaux.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Rapport interne et diffusion à l'entreprise : Lignée XXX - Etude généalogique d'un défaut de conformation, Marie-Agnès Bergeot, p.1-3.

Références bibliographiques citées :

Aron, S., Passera, L., 2009. Les sociétés animales. Évolution de la coopération et organisation sociale, De Boeck Supérieur. ed, Ouvertures psychologiques.

Bedu, E., Chainier, F., Sibille, B., Meister, R., Dallevet, G., Garin, D., Duchamp, C., 2002. Increased lipogenesis in isolated hepatocytes from cold-acclimated ducklings. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 283, R1245-1253. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00681.2001>

Bienefeld, K., Ehrhardt, K., Reinhardt, F., 2007. Genetic evaluation in the honey bee considering queen and worker effects – A BLUP-Animal Model approach. *Apidologie* 38, 77–85. <https://doi.org/10.1051/apido:2006050>

Bonnefont, C., d’Anjony, H. de L., Guy, G., Laverze, J.-B., Brachet, M., Lamothe, L., Fernandez, X., 2015. Effet de la stimulation lumineuse sur le déclenchement de la stéatose hépatique chez l’oie en absence de gavage.

Brard-Fudulea, S., Enez, F., 2021. Les outils de traitement des données du SYSAAF: nouveautés 2021 et prochaines évolutions. Presented at the 4èmes Journées Techniques Interfilières du SYSAAF, Rennes.

Brard-Fudulea, S., Morvezen, R., 2018. La Génomique au SYSAAF, in: Assemblée Générale Du SYSAAF. Paris.

Brascamp, E.W., Bijma, P., 2019. A note on genetic parameters and accuracy of estimated breeding values in honey bees. *Genetics Selection Evolution* 51, 71. <https://doi.org/10.1186/s12711-019-0510-6>

Chang, C.C., Chow, C.C., Tellier, L.C., Vattikuti, S., Purcell, S.M., Lee, J.J., 2015. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *Gigascience* 4. <https://doi.org/10.1186/s13742-015-0047-8>

Chapuis, H., Pincent, C., Colleau, J.J., 2016. Optimizing selection with several constraints in poultry breeding. *J Anim Breed Genet* 133, 3–12. <https://doi.org/10.1111/jbg.12178>

Chevassus, B., Quillet, E., Krieg, F., Hollebecq, M.-G., Mambrini, M., Fauré, A., Labbé, L., Hiseux, J.-P., Vandeputte, M., 2004. Enhanced individual selection for selecting fast growing fish: the “PROSPER” method, with application on brown trout (*Salmo trutta fario*). *Genet Sel Evol* 36, 643–661. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-36-6-643>

Chiasson, M., Benfey, T.J., 2007. Gonadal differentiation and hormonal sex reversal in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *J Exp Zool A Ecol Genet Physiol* 307, 527–534. <https://doi.org/10.1002/jez.407>

Delannoy, C., 2000. Programmer en Fortran 90, Eyrolles. ed.

Duggan, B.M., Hocking, P.M., Schwarz, T., Clements, D.N., 2015. Differences in hindlimb morphology of ducks and chickens: effects of domestication and selection. *Genetics Selection Evolution* 47, 88. <https://doi.org/10.1186/s12711-015-0166-9>

Fraslin, C., Robledo, D., Kause, A., Houston, R.D., 2023. Potential of imputation for cost-efficient genomic selection for resistance to *Flavobacterium columnare* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). <https://doi.org/10.1101/2023.01.04.522693>

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*. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13103>

Griot, R., Allal, F., Phocas, F., Brard-Fudulea, S., Morvezen, R., Haffray, P., François, Y., Morin, T., Bestin, A., Bruant, J.-S., Cariou, S., Peyrou, B., Brunier, J., Vandeputte, M., 2021. Optimization of Genomic Selection to Improve Disease Resistance in Two Marine Fishes, the European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) and the Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*). *Front Genet* 12, 665920. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.665920>

Guy, G., Faure, J.-M., Guémené, D., 1998. Capacité d’ingestion chez le canard mulard mâle, in: 3èmes Journées de La Recherche Sur Les Palmipèdes à Foie Gras. Bordeaux, France, pp. 59–62.

Henderson, C.R., 1975. Best linear unbiased estimation and prediction under a selection model. *Biometrics* 31, 423–447.

Hinrichs, D., Wetten, M., Meuwissen, T.H.E., 2006. An algorithm to compute optimal genetic contributions in selection programs with large numbers of candidates. *J Anim Sci* 84, 3212–3218. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-145>

Howard, J.T., Pryce, J.E., Baes, C., Maltecca, C., 2017. Invited review: Inbreeding in the genomics era: Inbreeding, inbreeding depression, and management of genomic variability. *Journal of Dairy Science* 100, 6009–6024. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12787>

Kinghorn, B.P., 2011. An algorithm for efficient constrained mate selection. *Genetics Selection Evolution* 43, 4. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-43-4>

Le Douarin, P., 2021. Grimaud Frères génotype ses premiers canetons en sélection. *REUSSIR Volailles* 24.

Marras, G., Rossoni, A., Schwarzenbacher, H., Biffani, S., Biscarini, F., Nicolazzi, E.L., 2017. zanardi: an open-source pipeline for multiple-species genomic analysis of SNP array data. *Animal Genetics* 48, 121–121. <https://doi.org/10.1111/age.12485>

Misztal, I., Tsuruta, S., Lourenco, D.A.L., Masuda, Y., Aguilar, I., Legarra, A., Vitezica, Z., 2018. Manual for BLUPF90 family programs.

O’keefe R., Benfey, T., 1995. The production of triploid and sex-reversed arctic charr(*Salvelinus alpinus*). *Aquaculture* 137.

Pook, T., Schlather, M., Simianer, H., 2020. MoBPS - Modular Breeding Program Simulator. *G3 (Bethesda)* 10, 1915–1918. <https://doi.org/10.1534/g3.120.401193>

Reiter, K., Bessei, W., 2009. [Effect of locomotor activity on leg disorder in fattening chicken]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 122, 264–270.

Rincint, R., Charpentier, J.-P., Faivre-Rampant, P., Paux, E., Le Gouis, J., Bastien, C., Segura, V., 2018. Phenomic Selection Is a Low-Cost and High-Throughput Method Based on Indirect Predictions: Proof of Concept on Wheat and Poplar. *G3 (Bethesda)* 8, 3961–3972. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200760>

Sargolzaei, M., Chesnais, J.P., Schenkel, F.S., 2014. A new approach for efficient genotype imputation using information from relatives. *BMC Genomics* 15, 478. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-478>

Svihus, B., Sacranie, A., Denstadli, V., Choct, M., 2010. Nutrient utilization and functionality of the anterior digestive tract caused by intermittent feeding and inclusion of whole wheat in diets for broiler chickens. *Poult Sci* 89, 2617–2625. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-00743>

Vandeputte, M., Haffray, P., 2014. Parentage assignment with genomic markers: a major advance for understanding and exploiting genetic variation of quantitative traits in farmed aquatic animals. *Front Genet* 5. <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00432>

Zhang, H.Y., Zeng, Q.F., Bai, S.P., Wang, J.P., Ding, X.M., Xuan, Y., Su, Z.W., Fraley, G.S., Zhang, K.Y., 2019. Study on the morphology and mineralization of the tibia in meat ducks from 1 to 56 d. *Poultry Science* 98, 3355–3364. <https://doi.org/10.3382/ps/pez121>

Avec la contribution financière des partenaires suivants :





SYSAAF

Siège social & Adresse postale
SYSAAF - Centre INRAE - Val de Loire,
Unité Mixte de Recherche en Biologie des Oiseaux et Aviculture (UMR-BOA),
37380 Nouzilly, France.

Tél. : 00.33.2.47.42.76.43 [Dir. : 79.43]

Courriel : sysaaf@INRAE.fr

Site internet : www.sysaaf.fr

Directeur de la publication et rédacteur en chef : M. Sourdioux
Co-rédacteurs : F. Renard-Dewynter, S. Brard-Fudulea & P. Haffray

Avec les contributions de :

J. d'Ambrosio, A. Bestin, M. Besson, M-A Bergeot, M. Charrier, B. Desnoues, A. Donkpegan, F. Enez,
Y. François, A. Jourdan, R. Morvezen, P. Patrice, M. Reverchon, R. Richer, R. Rouger & S. Thiercelin.