

SYSAAF



france  
naissain

ICI NAÎT LE PLAISIR.

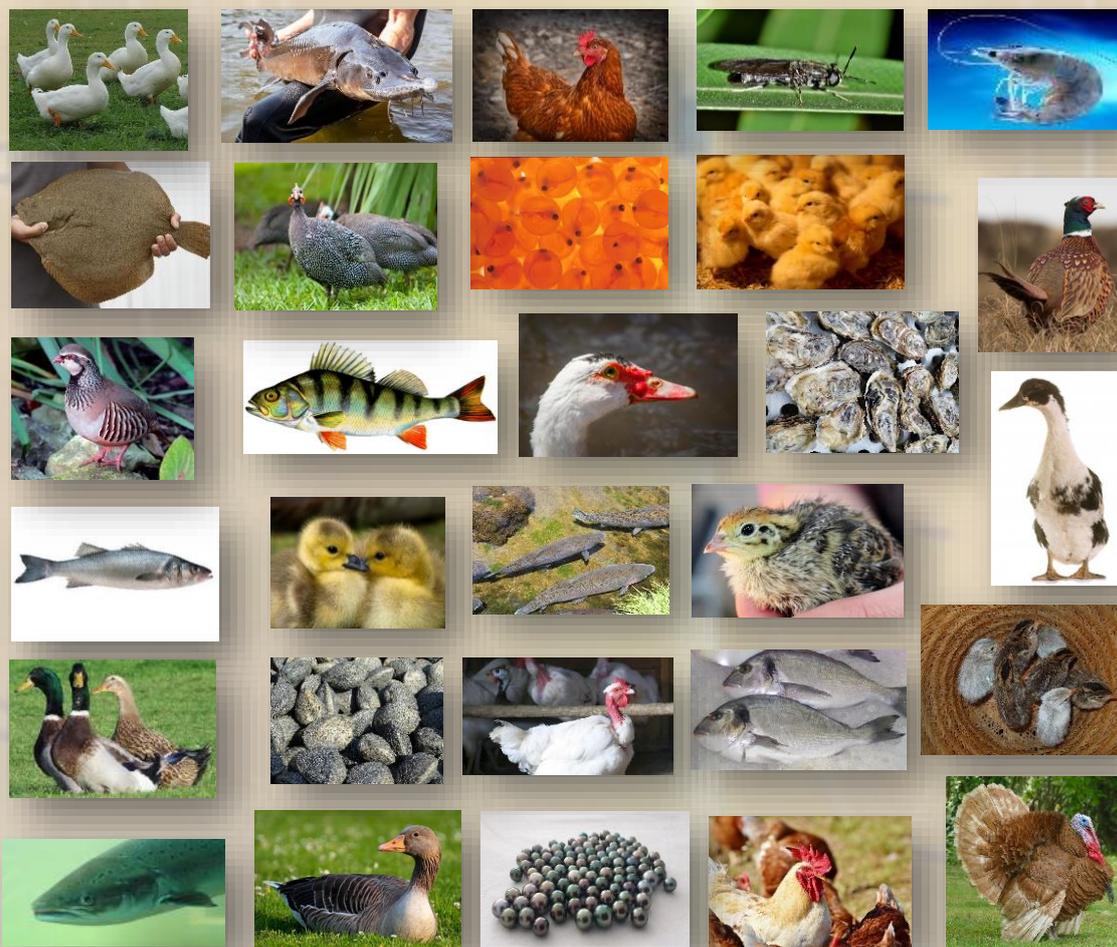
AVEC VOUS IL GRANDIT.

Naissain d'huîtres

# Rapport d'activité 2023

2<sup>ème</sup> partie : Travaux et résultats obtenus par l'activité de R&D

Rapport d'activité 2023 consultable sur [www.sysaaf.fr/publications](http://www.sysaaf.fr/publications)



<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>6</b>
<b>1. AE1 GESTION DE LA BIODIVERSITE POUR SOUTENIR LA DIVERSIFICATION DES PRODUCTIONS AVICOLES, AQUACOLES ET ENTOMOCOLES.....</b>	<b>8</b>
<b>1.1. Maintien de la diversité d'espèces, de races et de lignées avicoles, aquacoles, entomocoles, domestiquées, gérées ou sélectionnées en France</b>	<b>9</b>
1.1.1. Aide à la conservation d'une agro bio diversité <i>in situ</i>	9
1.1.1.1. Inventaire des races locales menacées de volailles	9
1.1.1.2. Inventaire de races menacées : Extension de la réflexion aux abeilles et aux espèces aquacoles	10
1.1.1.3. Participation à la définition de "rusticité" d'une race	12
1.1.1.4. Mise en place d'un schéma de conservation <i>in situ</i> chez la poule Noire de Challans	13
1.1.1.5. Développement d'une méthode moléculaire de certification des lignées Label Rouge de poulets de chair (Projet INTAQT)	14
1.1.1.6. Analyse de la variabilité génétique de deux lignées de crevettes ( <b>CONFIDENTIEL</b> )	15
1.1.2. Aide à la sauvegarde de l'agro biodiversité <i>ex situ</i>	15
1.1.2.1. Développement et mise au point d'un protocole de cryoconservation de la semence de palmipèdes (Projet PalmiGel)	15
1.1.2.2. Caractérisation physico-chimique membranaire pour la mise au point d'un protocole de cryopréservation d'œufs et/ou de larves d'insectes ( <b>CONFIDENTIEL</b> )	17
1.1.2.3. Gestion et amélioration des services de la cryobanque des espèces aquacoles CryoAqua en 2023	17
1.1.2.4. Recherche du meilleur hôte pour restaurer une race avicole à partir de cellules germinales primordiales (PGCs)(projet CRYOSTORE)	19
<b>1.2. La gestion de la diversité intra race ou intra lignée</b>	<b>21</b>
1.2.1. Mise en place de panel d'assignation ou d'outils génomiques pour la gestion des lignées et races	21
1.2.1.1. Création d'un panel d'assignation de parenté pour deux lignées commerciales de canard barbarie (programme CanAuSol)	21
1.2.1.2. Développement de la reproduction en volière des cheptels de perdrix en sélection ( <i>Alectoris rufa</i> et <i>Perdix perdix</i> ): optimisation des conditions d'élevage des reproducteurs et mise au point des outils moléculaires de suivi du pedigree (Projet RufAssign)	23
1.2.1.3. Obtention de marqueurs SNPs pour l'assignation à parenté de deux espèces d'esturgeons ( <i>Acipenser baerii</i> et <i>Acipenser gueldenstaedtii</i> )(Programme S'Sturgeon)	24
1.2.1.4. Validation d'un panel de marqueurs microsatellites du saumon Atlantique <i>Salmo salar</i> pour un nouveau d'un laboratoire de génotypage	26
1.2.1.5. Développement de deux panels d'assignation 96 SNPs pour 2 espèces de crevettes ( <b>CONFIDENTIEL</b> )	28
1.2.1.6. Validation d'un panel d'assignation de parenté pour une lignée d'insectes ( <b>CONFIDENTIEL</b> )	28
1.2.2. Méthode de gestion et sélection optimisée adaptée aux espèces, races et lignées de faible effectif – Evolution et maîtrise de la diversité génétique intra races ou lignées	29
1.2.2.1. Développement et validation d'un panel d'assignation de parenté chez la pinctadine à lèvres noire (programme PinctAssign)	29
1.2.2.2. Estimation de la diversité génétique dans le cheptel OSO de crevette tigrée de Madagascar par assignation de parenté	31
1.2.2.3. Evaluation du choix des reproducteurs des lignées expérimentales de l'INRAE pHu+ et pHu-	34
<b>2. AE 2 : ETUDE DE PHENOTYPES A OBJECTIF « AGROECOLOGIQUE » POUR LEUR IMPLEMENTATION DANS LES PROGRAMMES DE SELECTION DANS UN CONTEXTE DE CHANGEMENT CLIMATIQUE .....</b>	<b>36</b>
<b>2.1. Approche phénotypique (essais zootechnique, mesures de phénotypes...)</b>	<b>36</b>
2.1.1. Amélioration des équations de prédiction des acides gras par spectrométrie Raman chez la truite (Programme Phenomix)	37
2.1.2. Phénotypage et estimation de paramètres génétiques de la composition lipidique de jaune d'œufs à l'aide d'approche NIRS (programme GEroNIMO)	39
2.1.3. Mise au point d'une méthode de phénotypage NIRS pour la composition chimique chez l'insecte ( <b>CONFIDENTIEL</b> )	40
2.1.4. Etude de potentiels biomarqueurs du développement embryonnaire et de la stéatose hépatique pour la sélection génétique avicole (projet ChemPredict)	40

2.1.5. Développement d'un nouvel outil pour évaluer et prédire la fertilité des coqs (projet FertiMax)	42
2.1.6. Entraînement d'un modèle d'intelligence artificielle pour le phénotypage de la ponte <b>(CONFIDENTIEL)</b>	44
2.1.7. Prédiction de la qualité des perles par intelligence artificielle (Projet Phenotyp)	44
2.1.8. Évaluation du potentiel de production de lignée double fin en élevage biologique ou à faible intrants. (Projet H2020 PPillow)	46
2.1.9. Effet de la méthode de phénotypage de la ponte sur l'efficacité de la sélection de ce caractère	48
<b>2.2. Approche génétique</b>	<b>49</b>
2.2.1 Evaluation de la réponse à la sélection commerciale ou de traces de sélection	49
2.2.1.1. Premières utilisations des technologies de nez et de langue électroniques pour caractériser la réponse à la sélection chez le bar avec substitutions protéiques et lipidiques (Projet Aqualmpact <a href="https://projects.luke.fi/aquaimpact/">https://projects.luke.fi/aquaimpact/</a> )	50
2.2.1.2. Maximisation de la résistance génétique aux pathogènes chez le bar (projet MedMax)	52
2.2.1.3. Réponse à la sélection sur caractères de rendement après 3 générations de sélection différentielle chez la truite (Projet RedOUT)	53
2.2.1.4. Analyse des traces de sélection dans les filières avicoles chair et œuf (projet CoDivTraS)	55
2.2.2. Estimation d'héritabilité et de corrélations génétiques entre caractères	57
2.2.2.1. Estimation des paramètres génétiques du développement du muscle rouge chez la truite (projet RedOUT)	58
2.2.2.2. Estimation de l'effet fixe stade de mue chez la crevette bleue pour des caractères de production et de couleur	59
2.2.2.3. Estimation des paramètres génétiques de croissance et qualité dans le cheptel OSO de crevette tigrée de Madagascar	61
2.2.2.4. Estimation des paramètres génétiques et recherche de QTL pour des caractères de découpe et résistance aux maladies <b>(CONFIDENTIEL)</b>	63
2.2.2.5. Estimation des paramètres génétiques pour des caractères de qualité de produits <b>(CONFIDENTIEL)</b>	63
2.2.2.6. Première estimation des paramètres et de valeurs génétiques en sélection généalogique chez l'abeille pour la production de miel	63
2.2.2.7. Estimation de paramètres génétiques chez le ver de farine, Ténébrio molitor	65
2.2.2.8. Corrélations génétiques des challenges contrôlés hypoxie et hyperthermie (projet Hypotemp)	66
2.2.3. Estimation de dominance et d'interactions génétique-environnement	68
2.2.3.1. Estimation des effets de dominance pour des caractères de production et de découpe chez la truite (projet RedOUT)	68
2.2.3.2. Estimation des interactions GxE entre différents sites d'élevage sur le littoral français pour la survie au 1er été chez l'huitre creuse C. gigas (projet SCORE)	70
<b>3. AE3 : INGENIERIE GENETIQUE POUR LE MAINTIEN DE LA COMPETITIVITE DES ACTEURS DE LA FILIERE .....</b>	<b>73</b>
<b>3.1. Optimiser les schémas de sélection (efficacité/coût) par l'apport des meilleures technologies disponibles (aspect génomique ; aspect modèle et informatique)</b>	<b>73</b>
3.1.1. Compétitivité via le pilotage et l'optimisation de schémas	73
3.1.1.1. Définition de schémas de sélection piscicoles pour le FiA au Cambodge (programme EISACam)	74
3.1.1.2. Utilisation d'un outil de modélisation de programme de sélection permettant d'estimer les gains phénotypiques et économiques liés à des améliorations ou des adaptations des programmes de sélection (projet MedMax)	75
3.1.1.3. Validation de la preuve de concept d'un schéma de sélection généalogique familiale chez l'insecte par simulation MoBPS <b>(CONFIDENTIEL)</b>	78
3.1.1.4. Prédiction de l'évolution de la consanguinité dans un schéma de sélection d'insectes <b>(CONFIDENTIEL)</b>	78
3.1.2 Compétitivité via la réduction des coûts de génotypage	78
3.1.2.1. Première utilisation de marqueurs SNPs pour tester en conditions réelles la sélection génomique <b>(CONFIDENTIEL)</b>	78
3.1.2.2. Développement et utilisation de panel SNPs 1K pour l'intégration de l'imputation dans un schéma de sélection aquacole <b>(CONFIDENTIEL)</b>	78
3.1.2.3. Évaluation de l'effet de pertes/dégradation du génotypage sur la précision des schémas de sélection génomique <b>(CONFIDENTIEL)</b>	78

3.1.2.4. Développement d'un outil de clustering et d'assignation de parenté chez les triploïdes (projet HypoTemp)	78
3.1.2.5. Sélection phénotypique, investigation d'une méthode innovante de mesure des ressemblances entre individus dans un objectif de sélection génétique (programme Phenomix)	80
3.1.3 Compétitivité via l'amélioration continue des outils de collecte et de traitement des données	81
3.1.3.1. Déploiement du logiciel finalisé Eucalyptus pour la collecte, la gestion et l'analyse de données génétiques	82
3.1.3.2. Optimisation des temps de calcul pour l'assignation de parenté avicole	83
3.1.3.3. Amélioration d'un script pour automatiser les paramètres génétiques sur DGA20	85
3.1.3.4. Evolution des algorithmes de choix génétiques utilisés au SYSAAF (Projet MAAT)	86
3.1.3.5. Développement d'une action Koala de comparaison des évolutions génétiques et phénotypiques	87
<b>3.2 Intégrer de nouveaux caractères, adaptés aux changements agroécologiques et aux attentes sociétales, dans les objectifs de sélection ; adapter les processus de sélection</b>	<b>88</b>
3.2.1. : Intégration dans l'évaluation génétique de critères obtenus en nouvelles conditions d'élevage plus respectueuses du Bien Être Animal et de caractères de résistances aux maladies	89
3.2.1.1. Intégration dans l'évaluation des espèces avicoles de caractères au sol et en cage ( <b>CONFIDENTIEL</b> )	89
3.2.1.2. Evaluation de la résistance de populations de truites à la flavobactériose (Projet Flavicontrol)	89
3.2.2. Adapter globalement les processus de sélection et de diffusion du progrès génétique	90
3.2.2.1. Étude des conditions pour des mesures de ploïdie sur un prélèvement sanguin par cytométrie en flux	90
3.2.2.2. Analyse du processus d'innovation au SYSAAF (Projet EatFish)	92

# Introduction

Ce rapport annuel dédié aux activités R&D résume les travaux réalisés en 2023 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 à l'international. 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.

Les grandes orientations des programmes de R&D menés aux SYSAAF ont été retravaillées depuis 2021-2022 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).

L'année 2023 s'inscrit toujours ce contexte pluriannuel de définition des grands objectifs.

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 sollicité, 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 ses trois secteurs d'intérêt, 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).

# 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 principalement 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 principales, d'une part une première tâche visant à développer des actions 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, pour garantir un maintien à long terme de ces races ou lignées, en fonction des contextes de production (conditions d'élevage en sélection) d'aujourd'hui et de demain et des effectifs détenus.

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).

Cette thématique « agro biodiversité » se décline donc à différents niveaux entre espèces, entre races et lignées, et intra race ou lignée. Les actions menées en 2023 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 avicoles, aquacoles, entomocoles, domestiquées, gérées ou sélectionnées en France

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

En 2023, un travail à l'échelle française de recensement, de mise à jour et d'études de la biodiversité existante a été conduit sur les espèces avicoles, piscicoles et apicoles par ou avec l'aide du SYSAAF dans une approche multi espèces globale. Ce travail a été complété d'une réflexion sur la notion de rusticité, souvent associée aux races locales et à la diversité génétique d'espèces ou de races.

Au-delà de ces travaux de recensement et de qualification, plusieurs travaux spécifiques par espèces ont été conduits, notamment sur Gallus et sur les espèces d'esturgeons visant à caractériser la diversité dans ces espèces.

#### 1.1.1.1. Inventaire des races locales menacées de volailles

Objectifs du projet : Ce travail, décliné à l'ensemble des espèces de « rente », a été confié au SYSAAF pour la partie volailles (mais également pour la partie piscicole et apicole). L'objectif est d'actualiser la liste des races animales françaises dites menacées d'abandon pour l'agriculture.

#### État de l'art :

Au-delà de l'intérêt purement génétique, une prime aux races menacées est une mesure agro-environnementale définie dans le cadre de la PAC qui vise à soutenir les éleveurs adossant tout ou partie de leur activité à l'une de ces races. Dans le cadre de la nouvelle programmation PAC 2023-2027, la France a marqué sa volonté de reconduire cette mesure en l'inscrivant dans son Plan Stratégique National (MASA, 2023).

La dernière liste des races françaises menacées d'abandon a été publiée en 2014 (INRA, 2014). Les effectifs de ces races ainsi que leurs conditions d'élevages sont susceptibles d'avoir évolué sur ces 10 dernières années. Il a donc paru opportun de mettre à jour cette liste de races, ainsi que leur statut de menace.

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

La traçabilité individuelle des volailles de races locales est quasi inexistante. Un inventaire des races peut donc être conduit mais un recensement systématique des individus de chacune des races est difficile voire impossible. De nombreux paramètres d'effectifs, de performances zootechniques, d'évolution, sont donc absents ou donnés à dire d'expert ou à titre indicatif, soulignant la nécessité de poursuivre des études offrant la possibilité d'aboutir à ces recensements de manières plus approfondies.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Des contacts ont été pris en 2022 avec plusieurs structures susceptibles de fournir les éléments nécessaires à ce travail de recensement (Fédération Française des Volailles, Société Centrale d'Aviculture de France, Association Nationale des Juges Avicoles, Conservatoires régionaux de ressources génétiques animales...). Le SYSAAF s'est ensuite chargé de compiler ces éléments, d'en vérifier la pertinence quand cela était possible. Le nombre de races recensées a augmenté comparativement au recensement de 2014 :

Espèces	Nombre de races 2014		Nombre de races 2023	
	Recensées	Dont menacées	Recensées	Dont menacées
Poule	47	45	47	46
Dinde	3	3	7	7
Pintade	0	0	1	1
Oie	9	9	12	12
Canard commun	4	4	9	9
<b>Total</b>	<b>63</b>	<b>61</b>	<b>76</b>	<b>75</b>

**Détail des effectifs de races de volailles menacées recensées sur les deux années de référence : 2014 et 2023.**

L'augmentation de ce nombre de races menacées est portée par les espèces autres que la poule. Sur la base de cet inventaire, les races locales de volailles représentent 45% des races locales menacées. Cette proportion monte à 56% si l'on inclut les pigeons et les lapins (22 races pour chacune de ces deux espèces).

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

Le déploiement de la PRM sur les territoires est délégué aux régions. Cette liste de races menacées permettra aux décideurs locaux d'évaluer l'éligibilité des populations à cette mesure. C'est également un travail préliminaire essentiel pour la mise à jour de la base de données de la FAO sur les ressources zoo-génétique mondiales prévue en 2024.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ce travail a été coordonné par Etienne Verrier de l'INRAE. Les inventaires de chacune des espèces concernées par ce travail ont été synthétisés sous forme d'un rapport remis au ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire (INRAE, 2023).

Références bibliographiques citées :

Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire, 2023. Plan Stratégique National de la PAC 2023-2027. <https://agriculture.gouv.fr/documentation-officielle-pac> (référence du 22/02/2024)  
 INRA, 2014. Races animales françaises menacées d'abandon pour l'agriculture. Etude commanditée par le Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt (MAAF)  
 INRAE, 2023. Volet 1 – Races menacées Actualisation des listes de races menacées Extension de la réflexion aux abeilles et aux espèces aquacoles. Etude commanditée par FranceAgriMer

**1.1.1.2. Inventaire de races menacées : Extension de la réflexion aux abeilles et aux espèces aquacoles**

Objectifs du projet : L'objectif de la participation du SYSAAF à l'étude pilotée par l'INRAE à la demande du Ministère de l'Agriculture a été d'étendre le champ de la réflexion à d'autres espèces (abeille, espèces aquacoles) en complément de l'actualisation des listes des races menacées d'abandon chez les mammifères de ferme et les volailles.

État de l'art :

La démarche suivie pour les mammifères de ferme et les volailles est inadaptée au cas de l'abeille et des espèces aquacoles car la notion de race n'est pas définie et n'a aucune valeur opératoire de par la

diversité des situations : coexistence de populations sauvages et domestiques, domestication depuis plusieurs millénaires (carpe) ou siècles (truite), niveau d'évolution cognitive et milieu d'élevage étrangers à l'homme n'ayant pas favorisé des approches historiques et culturelles.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

- Cas de l'abeille :

Des échanges génétiques sont fréquents entre les abeilles domestiques et sauvages. Ceci réinterroge la distinction entre sauvage et domestique. L'absence de standard morphologique ou de club de races, l'intensité des échanges entre régions ou d'importation (dont de Chine pour la gelée royale) et la généralisation de l'élevage depuis le milieu du siècle dernier d'une population dite de « Buckfast » issue du croisement de plusieurs sous-espèces plus douces, productives et plus adaptées à la production de miel a conduit à rapidement supplanter les génotypes dits d'abeille noire *Apis mellifera mellifera* par croisement avec les populations sauvages locales.

Les principales recommandations émises afin de préciser le rôle potentiel des pouvoirs publics français ou régionaux ou locaux dans la préservation et la conservation de la variabilité génétique des populations d'abeilles françaises sont :

1. Utiliser le terme de « populations spécifiques » d'abeilles plutôt que de « races ».
2. Réaliser une enquête conjointe sur les pratiques des conservatoires.
3. Conduire une recherche participative sur la diversité de perception des enjeux de maintien de la diversité des populations et son interaction avec les enjeux et les pratiques de sélection.
4. Evaluer la faisabilité de création de zones dédiées à la gestion de populations d'abeilles spécifiques (conservatoires, zones de fécondation dirigées).
5. Proposer différents scénarios afin de définir des préconisations de gestion et de conservation de la variabilité génétique basées sur des recommandations scientifiques.
6. Caractériser les populations élevées avec les outils génomiques actuels.
7. Soutenir de travaux pour mettre en œuvre la cryoconservation.

- Cas des espèces aquacoles :

L'application du concept race menacée aux productions aquacoles n'est pas adaptée à la plupart des espèces aquacoles élevées en France. Ceci tient à plusieurs éléments. Aucune des populations ou lignées d'espèces aquacoles ne peut répondre à l'ensemble des termes définissant une race (article D-653-9 du Code rural), car globalement l'aquaculture est une production récente utilisant des ressources génétiques peu partagées entre les entreprises ou les éleveurs ou, à l'inverse, sauvages et largement présentes dans le milieu naturel. De fait, il est plus approprié de parler de populations ou le plus fréquemment de lignées à effectifs souvent limités ou à petits effectifs (entre 100 et 200 / générations) pour ces espèces sauvages, domestiques ou en voie de domestication.

C'est aussi le cas de toutes les productions d'espèces en développement limité en volume ou en premières générations de domestication non accompagnées par un suivi de la diversité génétique. C'est le cas de nombreuses espèces comme le sandre, la crevette japonaise, la crevette d'eau douce, l'ormeau européen, l'huître plate, la grenouille verte, ou des espèces produites sous les tropiques dans les DOM et les TOM comme la crevette bleue, le tilapia du Nil, le tilapia hybride gueule rouge, l'ombrine ocellée, le platax ou l'huître perlière à lèvres noires. Pour toutes ces productions, il n'existe pas de dispositif national de soutien technique minimum adapté à des acteurs économiques ou entreprises de tailles limitées s'investissant dans ce processus.

Les propositions pour remédier au manque de dispositif d'appui à la domestication rationnelle et au repeuplement d'espèces aquacoles sont les suivantes :

1. Sensibiliser et définir des schémas de gestion des ressources génétiques de la carpe, seule espèce aquacole chez laquelle existent éventuellement des races en France.
2. Mettre en avant la domestication comme source de création de biodiversité et de nouvelles ressources génétiques dans les politiques publiques.
3. Evaluer les opportunités d'accompagnement génétiques des actions de restauration écologique à objectif de pêche et d'exploitation.

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

Le travail conduit a permis de partager des préoccupations et d'identifier des priorités d'actions publiques pour ces productions le plus souvent non éligibles au soutien du CASDAR.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Les résultats de ces travaux ont été diffusés aux adhérents du SYSAAF. Le document de synthèse est disponible en ligne sur le site du Ministère de l'agriculture (<https://agriculture.gouv.fr/races-menacees-dabandon-pour-lagriculture> )

### **1.1.1.3. Participation à la définition de "rusticité" d'une race**

Objectifs du projet : Aux races menacées et locales est souvent associé le caractère « rustique » sans qu'une définition de la rusticité soit bien claire et partagée par tous. L'objectif en parallèle des travaux conduits sur l'inventaire des ressources zoo-génétiques était de proposer une définition transdisciplinaire de la notion de rusticité. L'étude est menée sur les races ovines.

#### État de l'art :

La conduite de cheptel de sélection dans l'Union Européenne est régie par le règlement zootechnique de l'Union Européenne (RZUE, règlement UE 2016/1012) pour les ruminants et les porcins. Ce règlement énonce clairement les règles d'accès d'un animal à la section principale d'un livre généalogique. Des dérogations sont néanmoins prévues à ces règles pour les races menacées et les races ovines dites « rustiques ». Alors qu'il est assez aisé de définir des critères de menace pour une race (démographie, consanguinité, dilution génétique par croisement, nombre d'éleveurs...), la notion de rusticité est quant à elle beaucoup plus volatile. Pour publier la liste d'espèces ovines rustiques recensées sur le territoire, il convient donc au préalable de définir le terme de rusticité.

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

La littérature scientifique est très mince sur le sujet de la rusticité. Lorsque cette notion est abordée, il est souvent difficile de la distinguer clairement des notions de résilience et de robustesse (Sauvant et Martin, 2010 ; Hubert, 2011). Proposer une définition à portée transdisciplinaire de cette notion est donc un objectif ambitieux.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Un séminaire pluridisciplinaire a été organisé les 20-21 Mars 2023. Ce séminaire a regroupé des scientifiques de différents disciplines (Physiologistes, Généticiens, Zootechniciens, Vétérinaires, Sciences Humaines et Sociales) ainsi que des professionnels impliqués à différents échelons de la gestion des races dites rustiques.

Les notions de robustesse et de résilience sont assez bien définies et sont assez similaires d'une discipline à une autre. La notion de rusticité quant à elle semble avoir un caractère beaucoup plus variable et subjectif. Sur la base des échanges de ce séminaire, un premier rapport a été rédigé et soumis au Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire. Sans proposer une définition définitive de la notion de rusticité, ce rapport liste les points principaux issus de ce séminaire, et classe les races ovines selon quelques indicateurs reliés à la rusticité.

*Indicateurs retenus pour l'établissement du statut de race ovine rustique (issu de INRAE, 2013)*

N°	Indicateur	Catégorie
1	Localisation du cheptel en référence aux zones à handicaps naturels	Milieu et système d'élevage
2	Zone/système où la race est majoritairement implantée	Milieu et système d'élevage
3	Écopâturage ou autre service écosystémique en milieu contraignant	Pratiques d'élevage
4	Proportion d'animaux sans paternité connue	Pratiques d'élevage
5	Age moyen des brebis mettant bas	Aptitudes des animaux
6	Deux principales aptitudes zootechniques reconnues	Aptitudes des animaux
7	Orientations affichées du programme de gestion génétique	Choix génétiques

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

Ces travaux ont permis très pragmatiquement de définir la liste des races ovines rustiques éligibles à une dérogation vis-à-vis du RZUE. A plus long terme, ces réflexions posent les premières bases d'une définition unifiée de la notion de rusticité.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Un rapport a été remis au MASA (INRAE, 2023). Une présentation synthétisant l'ensemble des discussions du séminaire a été produite pour les Journées Techniques du SYSAAF (Rouger, 2023). Un article est en cours de rédaction pour publication probable dans le journal « INRAE Productions animales ».

#### Références bibliographiques citées :

INRAE, 2023. Volet 2 - Races rustiques Définition de critères simples pour qualifier une race de rustique. Etablissement d'une liste de races ovines rustiques. Etude commanditée par FranceAgriMer  
Rouger, R., 2023. Une tentative de définition de la rusticité : retour sur le séminaire rusticité. 6èmes journées techniques inter-filières du SYSAAF  
Hubert, B., 2011. La rusticité : l'animal, la race, le système d'élevage ? Cardère éditeur. 120p.  
Sauvant, D., Martin, O., 2010. Robustesse, rusticité, flexibilité, plasticité... les nouveaux critères de qualité des animaux et des systèmes d'élevage : définitions systémique et biologique des différents concepts. INRA Productions Animales, 2010, 23 (1), pp.5-10.

#### **1.1.1.4. Mise en place d'un schéma de conservation in situ chez la poule Noire de Challans**

Objectifs du projet : Permettre la traçabilité généalogique d'animaux de races locales

#### État de l'art :

La traçabilité et les protocoles de gestion génétique sont encore balbutiants chez les races locales de volailles (Chiron *et al.*, 2018). 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 (FAO, 2013).

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Peu de cheptels de volailles ont connu une gestion généalogique dans un contexte *in natura*. Dans le cadre de ce projet (conduit en partie dans le cadre du projet Geronimo Horizon 2020), il est donc nécessaire de tester et d'innover pour comprendre les modalités de gestion les mieux adaptées à la race et à son système d'élevage (*i.e.* parquets collectifs vs parquets de mâles, vaccination systématique des animaux). Ces balbutiements ont pu causer quelques soucis au début du projet (mortalité importante, impossibilité de mise en reproduction, import d'individus nouveaux au schéma).

Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

En date du 1<sup>er</sup> Janvier 2023, des parquets avaient été prescrits pour la génération G1 (deuxième génération). Malheureusement, des contraintes logistiques et zootechniques n'ont pas permis la mise en plaque des parquets de reproduction au cours de l'année. Les animaux ont donc été conservés et 2023 a été mis à profit par l'association pour la construction d'un conservatoire regroupant une série de parquets de reproduction en extérieur. Les parquets seront donc mis en place en 2024 pour la production des animaux G2.

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

A notre connaissance, aucun système de gestion généalogique *in situ* n'existe pour la volaille alors qu'il est monnaie courante pour les autres espèces. Ce projet sert donc de preuve de concept pour le déploiement à plus large échelle des mêmes outils.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Un point d'étape de ce travail a été présenté lors de la réunion annuelle du projet Geronimo (26-28 Juin 2023). Une présentation de ces travaux a également eu lieu lors du dernier congrès européen des sciences animales (EAAP 2023, Lyon, 28/08/2023).

#### Références bibliographiques citées:

FAO, 2013. In vivo conservation of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines. No. 14. Rome.

Chiron, G., Chapuis, H., Tixier-Boichard, M., Restoux, G., Rognon, X., Lubac-Paye, S., Vieaud, A., Seigneurin, F., Petitjean, F., Guémené, D., 2018. Quelle stratégie pour une politique de conservation des races locales avicoles ? (Biodiva). Innovations Agronomiques, 63 : 357-371.

### **1.1.1.5. Développement d'une méthode moléculaire de certification des lignées Label Rouge de poulets de chair (Projet INTAQT)**

Objectifs du projet : Développer un test statistique sur la base de marqueurs moléculaires permettant de contrôler l'appartenance d'un produit à un croisement terminal éligible au Label rouge.

#### État de l'art :

Les lignées de poulets de chair utilisables dans le cadre d'une production Label Rouge sont listées dans un répertoire édité par l'Institut National de l'Origine et de la Qualité (INAO, 2024). L'appartenance d'un produit à une lignée certifiable est garantie par une chaîne de traçabilité partant des cheptels de sélection jusqu'au produit terminal. Pour l'heure, aucun test ne permet de vérifier l'intégrité de cette chaîne de traçabilité, c'est-à-dire de vérifier qu'un produit vendu sous Label Rouge appartient bien à un croisement éligible.

Les outils moléculaires modernes permettent de développer ce type de test. Une puce de génotypage publique (Tixier-Boichard *et al.*, 2022) sera utilisée pour caractériser les lignées parentales. Ces données seront ensuite utilisées dans le cadre d'un test d'exclusion moléculaire (Manel *et al.*, 2005) afin de pouvoir certifier l'appartenance, ou non, d'un produit à un croisement terminal Label Rouge. Le projet européen INTAQT a constitué par ailleurs une banque d'échantillons d'origines diverses qui pourront être utilisés pour tester cette méthode.

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Les lignées parentales qui peuvent être utilisées dans le cadre d'une production Label Rouge appartiennent à deux sélectionneurs, la SASSO et Hubbard. Une phase de coordination avec ces deux sélectionneurs est donc nécessaire afin de pouvoir garantir l'exhaustivité de l'échantillonnage.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Plusieurs réunions ont été organisées avec la SASSO et Hubbard afin de coordonner l'échantillonnage des lignées. Cet échantillonnage doit parvenir au SYSAAF dans le courant du premier semestre 2024. Le SYSAAF a été représenté à la réunion annuelle du projet européen INTAQT (Belfast, 20-22 Juin 2024) pour se coordonner avec les partenaires européens également impliqués dans le projet.

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

La campagne d'échantillonnage a été définie avec les deux sélectionneurs adhérents du SYSAAF producteurs des lignées parentales Label Rouge. L'ensemble des échantillons sera rassemblé dans le cours de l'année 2024. Les premiers résultats de génotypage seront acquis dans la foulée.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Aucune valorisation n'a été effectuée à ce stade. Une présentation des résultats préliminaires aura lieu lors des prochaines journées techniques du SYSAAF.

#### Références bibliographiques citées :

INAO, 2024. Répertoire des croisements utilisables pour la production de volailles Label Rouge. 17p.  
Tixier-Boichard, M., Peynot, N., Duclos, D., Weigend, S., Monteagudo, L., Martinez, A., Delgado, J.V., Gonzalez Prendes, R., Crooijmans, R., Restoux, G., 2022. Mapping genetic diversity in European gene banks: preliminary results on chickens for the validation of IMAGE001 array. R.F. Veerkamp, Y. de Haas (Eds.), Proceedings of 12th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, WCGALP (2022)

Manel, S., Gaggiotti, O.E., Waples, R.S., 2005. Assignment methods: matching biological questions with appropriate techniques. TREE, 20 (3):136-142

### **1.1.1.6. Analyse de la variabilité génétique de deux lignées de crevettes (CONFIDENTIEL)**

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

Les programmes de gestion *in situ* de la diversité des espèces exploitées en France se doivent d'être complétés par des méthodes de conservation *ex situ*. En effet, 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 ou plus généralement de méthodes de biotechnologies de la reproduction. Et même si certains protocoles de congélation ont été établis depuis quelques années sur certaines espèces, il reste de nombreuses espèces sur lesquelles ces protocoles ne sont pas au point.

En 2023, 2 grands types d'actions ont été conduites sur cette thématique :

- des travaux de mise en place méthodologique et technique de cryopréservation sur les palmipèdes et un insecte.
- le développement pour l'espèce poule de méthodes de restauration à partir de cellules souches primordiales.

Ces travaux ont tous pour objet d'améliorer les biotechnologies associées à la cryopréservation et d'étendre les technologies à l'ensemble des espèces gérées et sélectionnées par les entreprises, ou associations de gestion, partenaires du SYSAAF.

#### **1.1.2.1. Développement et mise au point d'un protocole de cryoconservation de la semence de palmipèdes (Projet PalmiGel)**

Objectifs du projet : L'objectif de ce projet de recherche est de mettre au point un protocole de cryopréservation de la semence de palmipèdes pour assurer la sauvegarde du patrimoine génétique des lignées françaises. Les espèces concernées sont : le canard pékin, le canard de barbarie et le jar. Ce projet dénommé PalmiGel, fait l'objet d'un cofinancement par l'Interprofession (CIFOG).

#### État de l'art :

Ce projet a vu le jour suite aux demandes des adhérents sélectionneurs de palmipèdes du SYSAAF de pouvoir sécuriser leurs lignées pures. Aujourd'hui, dans un contexte où la crise de l'influenza Aviaire est très présente sur le territoire Français et en Europe, il est nécessaire de sécuriser la conservation des lignées génétiques des sélectionneurs afin de garantir la fourniture de canetons aux éleveurs et de sauvegarder ces ressources génétiques. Le protocole de cryopréservation de la semence de *Gallus* est relativement maîtrisé, cependant le protocole pour la cryopréservation de la semence de palmipèdes reste totalement à mettre au point. Des caractérisations de la semence de palmipèdes *in vitro* ont été réalisées après congélation pour déterminer les meilleurs paramètres de cryopréservation (Han et al., 2005 ; Taskin et al. 2020). A partir de ces résultats précédemment publiés et des pré-essais réalisés au laboratoire pour tester et mettre au point un protocole de cryopréservation de la semence de palmipèdes, le dyméthylformamide (DMF) et le dyméthylacétamide (DMA) sont les deux cryoprotecteurs qui ont été identifiés pour être testés. Les différents leviers sur lesquels le protocole va jouer pour assurer la sauvegarde du pouvoir fécondant de la semence sont : la durée d'équilibration de la semence avec le cryoprotecteur et la vitesse de congélation de la semence.

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Le protocole doit être mis au point. Pour cela, le meilleur cryoprotecteur entre le DMA et le DMF doit être discriminé. Le temps d'équilibration de la semence avec le cryoprotecteur avant le processus de congélation devra être déterminé.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Un premier test de congélation-décongélation de la semence de canard pékin suivi d'insémination artificielle a été réalisé en mai 2023.

La semence de 140 canards a été prélevée, 12 animaux par 12 animaux, dans 4ml de dilueur à température ambiante.

La semence a ensuite été diluée soit avec du BHSV pour le cryoprotecteur DMF (dyméthylformamide) ou avec du FEB pour le cryoprotecteur DMA (dyméthylacétamide).

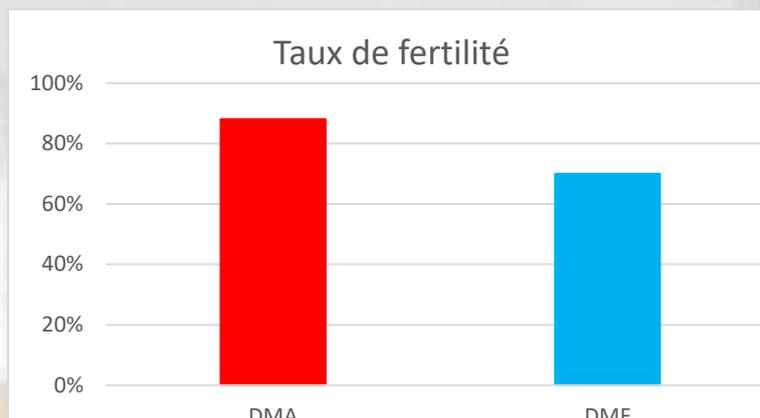
- Avec le cryoprotecteur DMF, la semence a été agitée pendant 10 min à 4°C puis diluée au final à 1/3 avec 6% de DMF du volume final. La solution est équilibrée pendant 10 min à 4°C sous agitation.
- Avec le cryoprotecteur DMA, la semence a été descendue en température à 4°C pendant 15 min sous agitation. Une deuxième fraction de dilueur a été ajoutée pour diluer la semence au 1/2 avec une concentration finale de DMA de 6 % du volumen final. La solution a été équilibrée pendant 30-40 min à 4°C sous agitation

Une fois la semence équilibrée, elle a été placée en paillette de 500µl pour être congelée.

La vitesse de congélation de la semence a été de 40°C par minute pour le DMF et de 60°C par minute pour le DMA. 161 paillettes ont été réalisées avec le cryoprotecteur DMF et 183 paillettes avec le cryoprotecteur DMA. Les paillettes de semence ont été stockées pendant 10 jours en bonbonne d'azote.

Pour réaliser les inséminations, les paillettes de semence ont été décongelée en étant placées pendant 30 secondes dans l'eau à température ambiante. Les inséminations ont été réalisées en semences mélangées à volume constant (80µl/femelle). Deux IA successives ont été effectuées, espacées de 48h. Les œufs ont été collectés 48h après la première IA et stockés pendant 10 jours avant d'être mis en incubation. Le taux de fertilité a été déterminé pour les deux conditions.

Nous avons obtenu les résultats suivants :



### ***Taux de fertilité avec de la semence congelée-décongelée de semence de canard pékin avec les cryoprotecteurs DMA ou DMF***

Un taux de fertilité de 88% a été obtenu avec le DMA et de 70% avec le DMF.

De nouveaux tests vont être effectués afin de confirmer ces résultats avec des canards pékins. Des tests de congélation de la semence de canard de barbarie et jar seront également réalisés courant 2024.

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

Assurer la sauvegarde du patrimoine génétique de la filière palmipède française.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Les premiers résultats ont été présentés devant l'interprofession en Mars 2024.

Ce protocole sera stocké sur un serveur et sur un Cloud pour assurer sa conservation. De plus, ce protocole et la technicité seront diffusés et partagés avec d'autres institutions tel que l'INRAE (unité expérimentales PEAT et Avipole) et les adhérents du SYSAAF (Orvia, Grimaud Frères) pour assurer sa sauvegarde. Ce projet permettra aussi d'approfondir les connaissances sur les méthodes de cryopréservation de la semence aviaire.

#### Références bibliographiques citées :

Han X.F. et al. 2005. Effect of diluents, cryoprotectants, equilibration time and thawing temperature on cryopreservation of duck semen. *International Journal of Poultry Science* 4.4: 197-201

A. Taşkın, et al. 2020. Effects of Extenders and Cryoprotectants on Cryopreservation of Duck Semen. *Turkish Journal of Agriculture, 1965-1970*

### **1.1.2.2. Caractérisation physico-chimique membranaire pour la mise au point d'un protocole de cryopréservation d'œufs et/ou de larves d'insectes (CONFIDENTIEL)**

### **1.1.2.3. Gestion et amélioration des services de la cryobanque des espèces aquacoles CryoAqua en 2023**

Objectifs du projet : L'objectif de cette action est 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.

### Etat 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 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 et la mise en place de développements méthodologiques avec les partenaires. Dans le cadre de programmes de recherche, 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.

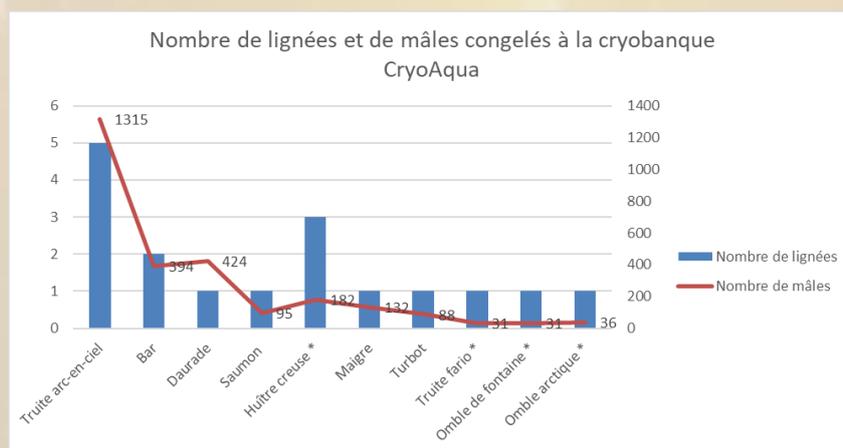
### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

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.

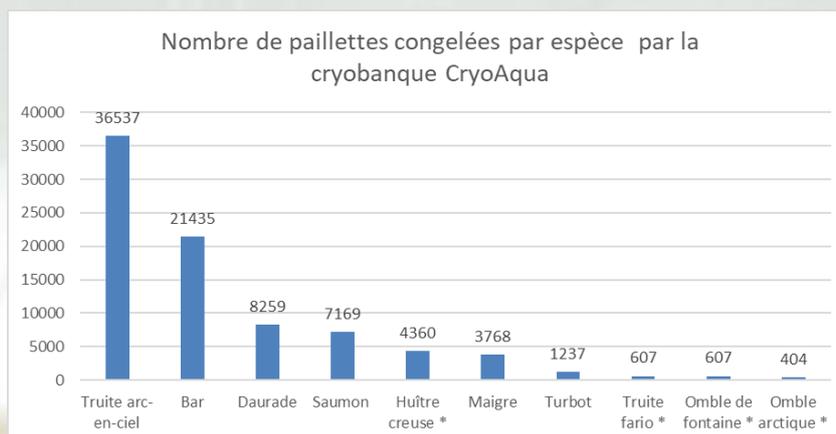
### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

En 2023, les travaux de la cryobanque ont principalement porté sur la sécurisation des investissements en sélection. Quinze opérations de congélation et/ou de sorties de matériel (semences) ont été réalisées pour 6 entreprises de sélection de bar, de daurade, de truite, 1 association de restauration du saumon atlantique sauvage et l'INRAE. 22751 paillettes ont été congelées pour 476 mâles.

Le graphe suivant rapporte le nombre total cumulé en 2023 de mâles congelés par espèces et de lignées depuis l'initiation de la cryobanque CryoAqua. Les effectifs totaux sont de 17 lignées de 10 espèces pour 2728 mâles.



Le graphe suivant détaille le nombre de paillettes congelées par espèce depuis la création de la cryobanque CryoAqua qui est de 84383 paillettes.



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

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 intéressantes 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 et de l'activité 2023 a été réalisées lors des Journées Techniques Inter-Filière du SYSAAF le 11 octobre 2023 par Pierrick Haffray (SYSAAF) : Point sur l'activité de la cryobanque collective CRYOQUA des espèces aquacoles.

#### Références 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>

#### **1.1.2.4. Recherche du meilleur hôte pour restaurer une race avicole à partir de cellules germinales primordiales (PGCs)(projet CRYOSTORE)**

Objectifs du projet : Optimiser un protocole de restauration des races de *gallus* à partir de cellules germinales primordiales (PGCs).

#### État de l'art :

La biodiversité des races de volaille est actuellement menacée par la perte de diversité génétique due à la sélection et l'abandon de certaines productions. La restauration des races anciennes et rares est

d'une importance capitale pour préserver la diversité génétique et assurer la durabilité de l'élevage avicole. A cela, s'ajoute le risque de l'influenza aviaire qui est de plus en plus présent sur le territoire français ; il a notamment affecté des cheptels de lignée pure des entreprises de sélection avicole en 2022. La sauvegarde des lignées pures est primordiale pour assurer la fourniture de poussins ou canetons d'un jour aux éleveurs. Les cellules germinales primordiales, qui sont les précurseurs des cellules germinales, offrent un potentiel unique pour régénérer ces races.

Chez les espèces aviaires, de par leur formation précoce et leur migration dans l'embryon, les PGCs peuvent être isolées de la structure extra-embryonnaire appelée croissant germinale (Song et al., 2014) avant que les gonades ne soient colonisées suite à leur transfert dans la circulation sanguine embryonnaire. Les PGCs isolées de *Gallus* peuvent être cultivées et amplifiées *in vitro*, cryoconservées et/ou transférées dans des embryons hôtes. Les PGCs représentent le seul type cellulaire permettant de restaurer 100% du génotype (Woodcock ME., et al 2019). L'objectif principal de ce programme de recherche (dans le cadre d'une thèse Maria Skłodowska Curie) est de déterminer le meilleur hôte pour recevoir les cellules germinales primordiales dans le but de restaurer des races de volaille en voie d'extinction et de sécuriser le patrimoine génétique aviaire français. Il s'agira, à partir de 2024, de mener des expériences de transplantation cellulaire dans différents types d'hôtes, en évaluant leur capacité à soutenir la colonisation et la maturation des PGCs en cellules germinales fonctionnelles.

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Le protocole de restauration a déjà été mis en œuvre et il est maîtrisé, cependant il reste à définir le meilleur duo donneur-receveur afin d'optimiser le protocole de restauration par les PGCs. Le receveur (Hôte) ne sera pas forcément universel, en effet en fonction de la lignée donneuse, il n'est pas sûr que les PGCs puissent se développer correctement dans l'hôte.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Après une vaste étude bibliographique, le projet a été rédigé et validé par le comité scientifique du projet Européen Cryostore. L'étudiant en thèse qui effectuera les travaux de recherche a été recruté et commencera les travaux en avril 2024. Les formalités administratives pour la réalisation des expérimentations sont en cours. Des formations sur le prélèvement, la culture et l'injection des PGCs pour les partenaires du projet sont en cours.



#### ***Injection de PGCs dans un embryon hôte après 54h d'incubation***

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

Ce projet permettra d'acquérir la maîtrise d'un nouveau protocole de restauration des lignées avicoles permettant de sauvegarder l'entière du génome. Il permettra de mieux comprendre les étapes clés de la formation des gamètes chez *Gallus*, ce qui pourrait avoir un impact sur la ponte et notamment la longévité de la carrière des poules pondeuses. Pour la filière ce projet est une opportunité d'assurer la sauvegarde de leur génétique à un coût abordable.

#### Références bibliographiques citées :

Song Y, Duraisamy S, Ali J, Kizhakkayil J, Jacob VD, Mohammed MA, Eltigani MA, Amisetty S, Shukla MK, Etches RJ, de Lavoie MC. Characteristics of long-term cultures of avian primordial germ cells and gonocytes. *Biol Reprod.* 2014 Jan 23;90(1):15. doi: 10.1095/biolreprod.113.113381. PMID: 24337317. Woodcock ME, Gheyas AA, Mason AS, Nandi S, Taylor L, Sherman A, Smith J, Burt DW, Hawken R, McGrew MJ. Reviving rare chicken breeds using genetically engineered sterility in surrogate host birds. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019 Oct 15;116(42):20930-20937. doi: 10.1073/pnas.1906316116. Epub 2019 Oct 1. PMID: 31575742; PMCID: PMC6800374.

## 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 pedigree des populations en sélection, cette solution n'a pas ou n'est pas encore utilisable pour toutes les espèces ou adaptée à 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 2023, la création et la validation d'outils moléculaires SNP pour la gestion de la variabilité génétique concernaient le canard de barbarie, la perdrix rouge, les esturgeons russes et sibériens, le saumon, la crevette, l'huitre, et un insecte.

Ces outils moléculaires, ou des méthodes plus classiques, sont ensuite utilisés régulièrement pour estimer les évolutions de la diversité intra race ou intra lignée. En 2023, des études approfondies de cette diversité ont été conduites sur la poule (lignées pHu, INRAE) et sur une lignée de crevette tigrée d'une entreprise adhérente.

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

#### 1.2.1.1. Création d'un panel d'assignation de parenté pour deux lignées commerciales de canard barbarie (programme CanAuSol)

Objectifs du projet : Comment se préparer à la potentielle interdiction de l'utilisation des cages au niveau de la reproduction des Barbarie et Pékin en sélection ?

#### État de l'art :

La connaissance du pedigree est cruciale en sélection animale pour des évaluations génétiques précises et pour la gestion de la diversité intra-lignée. Suite à l'initiative "End of the cage age" (ECI (2018) 000004), un bannissement des cages en élevage est envisagé. Pour reproduire les canards de Barbarie sans cage, reconstruire le pedigree post-reproduction au sol est un défi majeur. Les sélectionneurs manquent actuellement d'outils d'assignation de parenté performants adaptés à leurs lignées. Des projets antérieurs ont permis de développer les ressources génomiques nécessaires pour mettre au point un panel d'assignation de parenté. Le programme AsParCan (Brard-Fudulea et al. 2022) a permis à partir d'une puce 600K SNP de choisir 192 marqueurs recommandés pour l'assignation de parenté de lignées INRAE. L'étude CanAuSol vise à développer un panel d'assignation composé des 96 meilleurs SNP pour deux lignées Barbarie d'un sélectionneur, à partir des 192 SNP d'AsParCan.

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

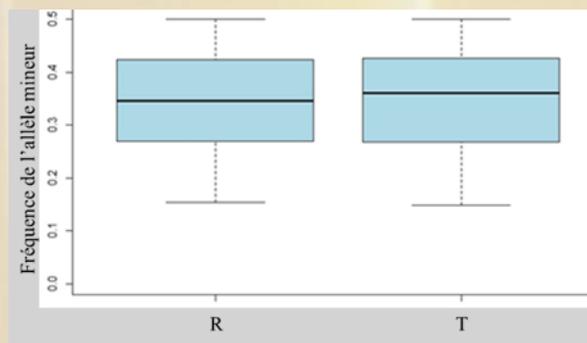
La difficulté dans cette étude est de s'assurer que les marqueurs fonctionnent correctement (*i.e.* lisibles) dans les lignées du sélectionneur malgré le changement de technologie, qui consiste à passer du génotypage sur puce ThermoFisher avec des amorces de 35pb à du génotypage Kaspar avec des amorces de 50pb. Il faut également vérifier si les marqueurs, choisis initialement pour des lignées

expérimentales INRAE, sont suffisamment polymorphes dans les lignées commerciales. Le panel devra aussi être testé à la suite du projet afin de voir si les assignations des descendants provenant de l'élevage au sol fonctionnent correctement.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Quatre-vingt-quatorze échantillons ont été collectés sur deux souches de Barbarie, la souche père à mulard (T) et la souche chair (R). La plaque d'échantillons comprenait à la fois des parents et des descendants et était composée de 7 pères pour chacune des deux souches, et de 14 et 13 mères pour les souches R et T respectivement, ainsi que de 26 et 27 descendants pour les souches R et T respectivement. Le génotypage a été réalisé à la plateforme INRAE Clermont Gentyane. Tous les individus ont été analysés sur les 192 SNP pré-identifiés pour l'assignation de parenté chez le canard (Brard-Fudulea et al. 2022). Les données de génotypage brutes ont été analysées à l'aide du logiciel Fluidigm<sup>®</sup> SNP Genotyping Analysis. Pour mettre au point le panel d'assignation, les marqueurs ont été filtrés sur leur qualité à l'aide du logiciel Plink (Chang et al., 2015). Plusieurs filtres ont été appliqués sur le taux de données manquantes par individu et par SNP, sur les marqueurs présentant des incompatibilités mendéliennes, et sur la fréquence de l'allèle mineur (MAF).

La liste définitive de 96 SNP a ensuite été obtenue en éliminant les marqueurs les moins polymorphes de chaque lignée. À l'issue de ce filtre, les SNP qui ont été gardés présentaient une MAF intra-lignée d'au moins 13,5%.



Les assignations ont été réalisées via le package APIS en utilisant la méthode d'exclusion (seuil = 2). Tous les descendants ont été correctement assignés aux parents prévus dans le pedigree en intégrant la totalité des animaux génotypés par lignée.

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

Le premier panel d'assignation destiné à des lignées commerciales de canard de Barbarie a été créé et les descendants de l'étude ont tous été correctement assignés. Sous réserve de validation sur un nouveau lot d'animaux, ce panel apporte une alternative au sélectionneur pour obtenir le pedigree d'animaux reproduits au sol.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ce travail a été diffusé à l'adhérent sélectionneur détenteur des lignées de barbarie lors d'une réunion, suivi d'un compte-rendu. Un article a été écrit et une présentation orale sera faite lors des Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras le 21 mars 2024 à Tours.

#### Références bibliographiques citées :

Brard-Fudulea, S., Chapuis, H., Leroux, S., Rouger, R., Vignal, A., Diot, C., Teissier, M., 2022. Mise au point d'un panel d'assignation de parenté SNP unique pour les deux espèces de canards et leur hybride. 14èmes Journées de la Recherche sur les Palmipèdes à Foie Gras, Tours.

Chang, C.C., Chow, C.C., Tellier, L.C., Vattikuti, S., Purcell, S.M., Lee, J.J., 2015. Gigascience 4. Volume 4, Issue 1, s13742–015–0047–8.

ECI (2018) 000004: [https://citizens-initiative.europa.eu/initiatives/details/2018/000004/end-cage-age\\_en](https://citizens-initiative.europa.eu/initiatives/details/2018/000004/end-cage-age_en)

### **1.2.1.2. 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 (Projet RufAssign)**

Objectifs du projet : Le projet RufAssign a pour objectifs i) Le développement d'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 ; ii) le développement d'un panel SNP pour la perdrix grise permettant de réaliser l'assignation de parenté et le sexage précoce, iii) la définition des conditions d'utilisation de l'assignation de parenté, en optimisant les effectifs de reproducteurs placés en volières.

#### État de l'art :

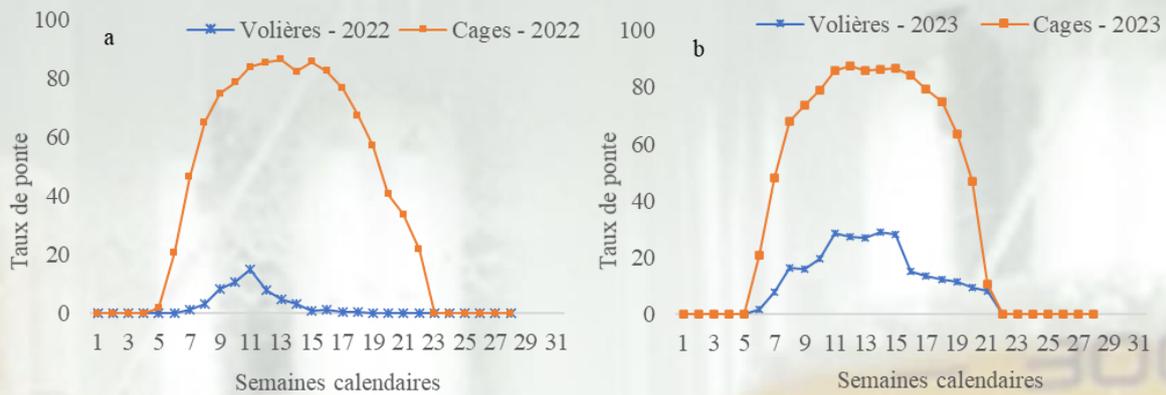
Chez la perdrix rouge (*Alectoris rufa*) comme chez la perdrix grise (*Perdix perdix*), aucun outil d'assignation de parenté n'est disponible. Des marqueurs SNP ont été identifiés chez ces deux espèces de perdrix dans un précédent projet (SNPgibiers). Le séquençage Rad-seq en pools d'animaux issus des 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).

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Plusieurs verrous sont à lever avant de pouvoir réaliser la reproduction des cheptels de sélection en volière. 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. Or, les choix des reproducteurs sont sur la base des valeurs génétiques des candidats et de leur niveau d'apparentement, 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.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Suite aux faibles taux de ponte en volière enregistrés en 2022 pour la perdrix grise, une nouvelle reproduction en volière a été réalisée en 2023 dans 4 volières : 2 volières avec 50 mâles et 50 femelles, et deux volières avec 35 mâles et 50 femelles. Dans le même temps, la reproduction avait lieu en cage pour les perdrix du schéma de sélection. Comme en 2022, il a été observé que le taux de ponte était nettement moins bon en volières qu'en cage. Au pic de ponte, en 2023, le taux de ponte en volière est de 2/3 inférieur au taux de ponte en cage.



### **Taux de ponte comparés de perdrix grises élevées en cage ou en volière sur deux années d'expérimentation en 2022 (a) et en 2023 (b)**

Les reproducteurs potentiels d'une volière de 2023 de sex-ratio équilibré (50 mâles et 50 femelles) ainsi que les 64 perdreaux éclos sur les 10 jours suivant le pic de ponte ont été prélevés pour génotypage sur le panel d'assignation de parenté. Après application de filtre de qualité, 92% des perdreaux issus de la volière cible ont pu être assignés par exclusion avec le logiciel APIS. Les 8% d'animaux non-assignés pourraient être dus à quelques génotypages de parents de moindre qualité. L'observation des accouplements réalisés dans la descendance a permis d'observer une contribution inégale des reproducteurs sur la période observée : 42% des mères potentielles sont représentées, et 50% des mâles.

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

Les résultats produits en 2023 dans RufAssign ont permis de montrer que d'un point de vue zootechnique, la reproduction en volière de la perdrix grise ne permet pas d'atteindre le niveau de ponte obtenu en cage. Des ajustements zootechniques importants seront nécessaires pour améliorer la ponte des perdrix grises. Le panel d'assignation de parenté développé pour la perdrix grise permet d'atteindre un taux d'assignation satisfaisant dans un contexte où quelques parents ont des génotypages de mauvaise qualité. Les résultats de l'assignation de parenté montrent une contribution déséquilibrée des reproducteurs potentiels dans la descendance, en partie imputable au faible taux de ponte qui n'a probablement pas permis d'observer tous les accouplements effectivement réalisés.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Les résultats du projet RufAssign ont été présentés aux Journées Techniques Inter-filières du SYSAAF (Brard-Fudulea & Tricoire 2023), et dans un congrès de génétique avicole européen (Brard-Fudulea et al. 2023).

#### Références bibliographiques citées :

- Brard-Fudulea, S. Tricoire, S. 2023. RufAssign : Assignation de parenté chez la perdrix grise. 6èmes Journées Techniques Inter filières du SYSAAF. 11-12 octobre 2023. (Présentation orale)
- Brard-Fudulea, R. Rouger, S. Tricoire, S. 2023. Main challenges for red partridge mating in cage-free system: reproduction efficiency, pedigree recording and management of genetic diversity. XII European Symposium on Poultry Genetics. 8-10 november 2023 (Présentation orale + poster)
- 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>

### **1.2.1.3. Obtention de marqueurs SNPs pour l'assignation à parenté de deux espèces d'esturgeons (*Acipenser baerii* et *Acipenser gueldenstaedtii*)(Programme S'Sturgeon)**

Objectifs du projet : A l'issue du projet S'STURGEON, un outil de génotypage des deux principales espèces d'esturgeons élevées en France (*A. baerii* et *A. gueldenstaedtii*) de type puce Axiom avec 600K marqueurs SNPs était disponible. Cet outil de génotypage de haute densité n'étant pas utilisable en routine par les entreprises de sélection du fait d'un coût élevé, l'objectif était d'aboutir à un sous-échantillonnage de SNPs qui permette de réaliser des assignations à parenté chez les deux espèces sans que le coût soit prohibitif. Ainsi, obtenir de l'ordre de 1K marqueurs pour l'assignation de chacune des espèces apparaissait comme un objectif efficace techniquement et économiquement.

#### État de l'art :

Il existe peu de programmes de sélection de l'esturgeon à l'échelle mondiale, et ceux qui sont en place ne reposent pas forcément sur des techniques de génotypage. En France, une entreprise pionnière a commencé à utiliser les empreintes génétiques pour reconstituer le pedigree de ses animaux, et ainsi estimer les valeurs génétiques individuelles et familiales dans le but d'opérer une sélection génétique de type généalogique. Le génotypage reposait sur un panel de marqueurs microsatellites. Cette technologie étant de moins en moins proposée par les laboratoires de génotypage, le passage à un panel de type SNPs pour l'assignation à parenté devenait nécessaire pour pérenniser les schémas de sélection « esturgeon ».

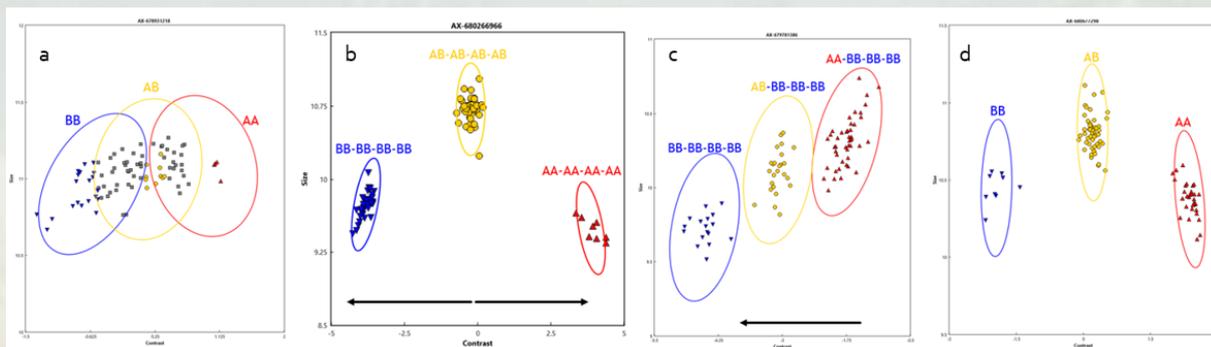
#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Trouver des marqueurs SNPs sur des génomes d'esturgeon polyploïdes (en l'occurrence ici tétraploïde à octoploïde, c'est-à-dire présentant jusqu'à deux duplications de génome) n'est pas trivial. Les algorithmes permettant l'assignation à parenté fonctionnent à ce jour uniquement à partir de génotypes diploïdes. L'enjeu est donc d'identifier des SNPs diploïdes chez les deux espèces d'esturgeon, qui soient suffisamment polymorphes à l'échelle d'une population pour permettre de différencier les individus les uns des autres afin de correctement assigner des descendants à leurs parents. Au-delà de ce défi théorique, la mise en œuvre opérationnelle d'un outil de génotypage basse densité avec ces marqueurs (type panel Agriseq) devrait faire chuter le nombre de SNPs exploitables. Il faudra donc s'assurer que suffisamment de marqueurs puissent être correctement génotypés pour toujours permettre d'assigner les individus à parenté.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Trois couples différents d'*A. baerii* ont été reproduits. Un tissu de nageoire a été prélevé sur chaque parent et 29 larves descendant de chaque couple ont été prélevés individuellement pour génotypage ultérieur sur la puce 600K développée dans le cadre du projet S'STURGEON. De la même façon, quatre couples d'*A. gueldenstaedtii* et 22 larves par couple ont été prélevés.

Les résultats du génotypage sur la puce haute densité ont été contrôlés : un peu plus d'un quart des marqueurs SNPs n'ont pas été correctement génotypés dans la mesure où il n'était pas possible de distinguer les différents génotypes (A ou B) (la figure ci-dessous l'illustre en a)). De l'ordre d'un cinquième des marqueurs présentaient un génotypage de qualité suffisante pour affecter un génotype à un individu (ce sont par exemple les résultats de génotypage des marqueurs en b), c), d)). Enfin, parmi ces marqueurs de qualité, 10% présentent un comportement diploïde (comme l'illustre le d) de la figure ci-dessous).



Ainsi, 1736 SNPs pour *A. baerii* et 1095 SNPs pour *A. gueldenstaedtii* présentent un comportement diploïde potentiellement utilisable pour l'assignation à parenté. Théoriquement, sur les familles connues d'*A. baerii* et *gueldenstaedtii*, ces marqueurs ont permis d'assigner sans erreur 100% des individus.

Technologiquement, parmi ces SNPs diploïdes, 1538 (*A. baerii*) et 975 SNPs (*A. gueldenstaedtii*) ont pu être montés sur un même panel de génotypage bi-espèces type AgriSeq (2513 marqueurs).

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

La filière « esturgeon » française ne disposait pas de panel de génotypage pour l'espèce *A. gueldenstaedtii*. Le projet S'STURGEON a donc permis d'identifier des marqueurs SNPs pour permettre à l'avenir un génotypage de ces poissons, et donc leur assignation à parenté à des fins d'estimations de valeurs génétiques dans une optique de sélection génétique. Un panel de génotypage existait pour *A. baerii*, mais les microsatellites tombant en désuétude, la possibilité d'utiliser un panel SNPs à l'issue de S'STURGEON assure une pérennité dans les schémas de sélection de cette espèce.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ce travail a été reporté dans le compte-rendu final du projet S'STURGEON (Guiguen et al., 2023). Il a fait l'objet d'une communication orale aux 6<sup>èmes</sup> Journées Techniques Inter-Filières du SYSAAF où les entreprises de sélection des esturgeons étaient présentes (Thomas et al., 2023). L'une de ces entreprises a pu génotyper sur le tout nouveau panel AgriSeq bi-espèces ses premiers esturgeons *A. baerii*. Il devrait être également diffusé à l'international lors de congrès d'aquaculture.

#### Références bibliographiques citées :

Guiguen, Y., Salse, J., Poncet, C., Bestin, A., Thomas, V., 2023. S'Sturgeon : Développement d'outils et de stratégies de sélection génomique pour l'amélioration de la filière caviar d'esturgeons en France. Rapport final.

Thomas, V., Phocas, F., Bestin, A., Debeuf, B., Patrice, P., Morvezen, R., Haffray, P., Poncet, C., Dia Sow, M., Salse, J., Guiguen, Y., 2023. Validation de la puce bi-espèce esturgeon pour une sélection génomique sur la production de caviar. 6<sup>ème</sup> Journées Techniques Inter-filières du SYSAAF, 11-12 octobre 2023, Rennes.

#### **1.2.1.4. Validation d'un panel de marqueurs microsatellites du saumon Atlantique *Salmo salar* pour un nouveau d'un laboratoire de génotypage**

Objectifs du projet : L'objectif est de poursuivre le génotypage des saumons du programme de restauration écologique piloté par MIGADO sur le bassin Garonne-Dordogne. Le génotypage des poissons qui remontent les fleuves, ainsi que ceux qui sont reproduits dans les piscicultures de repeuplement permet (Vandeputte et al., 2021) :

- D'assigner à parenté les individus, ce qui conduit à identifier les saumons issus de pontes en captivité ou en milieu sauvage (et donc d'évaluer l'efficacité du repeuplement),

- De réaliser des analyses de diversité génétique,
- De faire évoluer les pratiques de repeuplement à la lumière des résultats obtenus grâce au génotypage.

Le laboratoire historiquement partenaire du projet ayant cessé son activité de génotypage par microsatellites courant 2023, il était nécessaire de changer de laboratoire.

#### État de l'art :

Le programme de restauration écologique du saumon en Garonne-Dordogne a généré à ce jour de l'ordre de 13 000 génotypes de saumons, tous produits par le même laboratoire à partir d'un panel de microsatellites comportant initialement 9 marqueurs puis étendu à 17 marqueurs). Parmi ceux-ci, un millier de saumons concernent des parents potentiels des prochains saumons qui remonteront les cours d'eau en 2024 que l'on cherchera à génotyper avec le nouveau laboratoire, puis que l'on assignera à parenté. Afin d'éviter de re-génotyper (trop onéreux) ces 1000 parents, il est nécessaire de faire reposer les analyses à venir sur des génotypes identiques issus d'un même panel entre les deux laboratoires.

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Le panel de microsatellites utilisé par le laboratoire historique a pu être transféré à un autre laboratoire de génotypage. Ainsi, les prochains saumons seront génotypés par le nouveau laboratoire sur les mêmes marqueurs. Leurs génotypes seront donc théoriquement comparables à ceux des saumons précédemment génotypés par l'autre laboratoire. L'adéquation des génotypes d'un laboratoire à l'autre est un prérequis nécessaire puisque le but est d'assigner à parenté les nouveaux individus, leurs parents ayant déjà été génotypés à l'époque par l'autre laboratoire. L'incertitude réside dans les calibrations des robots de génotypages entre laboratoires, ainsi que l'expertise du personnel réalisant la lecture des allèles des individus à chaque marqueur. Il se pourrait en effet que ce ne soient pas les mêmes allèles qui soient lus entre laboratoires, auquel cas les résultats ne seraient pas comparables d'un laboratoire à l'autre et on ne pourrait pas assigner la parenté.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Parmi la base de données de génotypes alimentée historiquement par le précédent laboratoire, 119 saumons ont été identifiés pour être génotypés à nouveau par un autre laboratoire. L'objectif étant de comparer les résultats de génotypages entre laboratoires. Dans le meilleur des cas, on s'attend à ce que les mêmes allèles sont identifiés pour les mêmes individus aux différents marqueurs. La stratégie de choix de ces 119 saumons à re-génotyper a consisté à :

- Représenter tous les allèles possibles présents dans la base de données complète des génotypes historiques,
- Représenter si possible au minimum 3 fois chacun des allèles possibles,
- Minimiser le nombre d'individus nécessaires pour les conditions citées ci-dessus afin de minimiser le coût du génotypage,

La figure ci-dessous représente pour chacun des 17 marqueurs (colonnes) les différents allèles possibles (autant de lignes que d'allèles différents). Les cinq niveaux de vert permettent de visualiser les allèles représentés par un unique saumon à re-génotyper (clair) jusqu'à ceux représentés par au moins cinq individus (foncé).

SsaD144	SsaD157	SsaD486	SsaF43	Ssa14	Ssa171	Ssa289	SSOSL311	SSOSL85	SSspG7	SSsp1605	SSsp2201	SSsp2210	SSsp2213	SSsp2215	SSsp2216	SSsp3016
108	300	236	103	139	265	113	124	167	145	334	253	114	239	211	206	67
124	304	248	115	141	306	115	126	169	149	338	257	118	243	215	210	75
128	308		117	143	309	117	130	173	153	342	261	122	247	219	214	79
136	312		119		311	119	132	174	157	346	265	126	255	223	218	83
140	316		121		313		134	176	161	350	269	130	259	227	222	87
144	320		123		319		136	178	165	354	273	135	263	231	226	91
148	324		125		323		138	180	169	358	277	139	267	235	230	99
152	328				327		140	182	173	362	281	144	271	241	234	103
156	332				331		142	184	177		285	149	275	245	238	107
160	336				333		144	186	181		289	153	279	249	242	111
164	340				335		146	188	185		293	157	283	253	246	115
172	344				339		148	190	189		297	161	288	261	250	119
176	348				341		150	192	193		301		292	265	254	123
180	352				343		152		197		305		296		258	127
184	356				345		154		213		309		300		266	135
188	360				347		156		221		313		304		278	
192	364				355		158				326		308			
196	368				357		160				317		312			
200	372						162				322		317			
204	376						164				330		319			
208	380						166				334					
212	384										344					
216	388										352					
220	392										356					
224	396															
228	400															
232																

Les résultats de génotypage de ces individus « test » sont toujours en cours d’analyses. De façon préliminaire, on peut dire que :

- Sur les 17 marqueurs, le nouveau laboratoire a trop de difficultés d’identification des allèles pour se permettre de rendre un résultat de génotypage sur 1 marqueur,
- 7 marqueurs seraient à quelques « traductions » d’allèles près, transposables directement d’un laboratoire à l’autre,
- Les investigations se poursuivent sur 9 marqueurs pour trouver un moyen de les rendre compatibles (ou pas) entre laboratoires.

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

Sans la validation de ce test de transfert de panel de génotypage d’un laboratoire à un autre, MIGADO ne pourra poursuivre ses actions de suivi de la restauration écologique du saumon par génotypage.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ce travail de test du panel microsatellite est préliminaire à toute autre démarche d’acquisition de résultats et ne fera pas l’objet de communication en tant que telle. Une fois le transfert du panel validé, de nouveaux génotypes pour de l’assignation à parenté de saumons seront réalisés et contribueront à générer des résultats diffusables.

#### Références bibliographiques citées :

Vandeputte, M., Bestin, A., Fauchet, L., Allamellou, J.-M., Bosc, S., Menchi, O., Haffray, P., 2021. Can we identify wild-born salmon from parentage assignment data? A case study in the Garonne-Dordogne rivers salmon restoration programme in France. Aquatic Living Resources, 34 (7). <https://doi.org/10.1051/alr/2021008>

#### **1.2.1.5. Développement de deux panels d’assignation 96 SNPs pour 2 espèces de crevettes (CONFIDENTIEL)**

#### **1.2.1.6. Validation d’un panel d’assignation de parenté pour une lignée d’insectes (CONFIDENTIEL)**

### 1.2.2. Méthode de gestion et sélection optimisée adaptée aux espèces, races et lignées de faible effectif – Evolution et maitrise de la diversité génétique intra races ou lignées

Tous les outils disponibles et développés pour analyser la parenté intra population sont ici exploités pour étudier sur différentes populations la variabilité existante ou son évolution. En 2023, les travaux associés à l'estimation de la variabilité génétique ont porté sur deux espèces n'ayant encore jamais pu faire l'objet d'une analyse de leur gestion de consanguinité, l'huître perlière et la crevette tigrée de Madagascar. Par des méthodes plus classiques de suivi des pedigrees, une analyse de variabilité en lignée expérimentale de poule INRAE a été également conduite en 2023.

Dans tous les cas, ces travaux de R&D sont essentiels pour une bonne maitrise de la gestion à long terme de ces ressources génétiques. Les résultats obtenus sur ces trois espèces et 4 lignées montrent que la gestion de la diversité est maitrisée.

#### 1.2.2.1. Développement et validation d'un panel d'assignation de parenté chez la pinctadine à lèvres noire (programme PinctAssign)

Objectifs du projet : L'objectif du projet PinctAssign est de développer un ou des panels d'assignation de parenté chez l'huître perlière *Pinctada margaritifera* utilisables en écloséries commerciales pour gérer les pedigrees pour limiter les risques de perte de variabilité génétique et d'augmentation de consanguinité des lignées commerciales. La connaissance des liens de parentés ouvre aussi des possibilités d'optimisation des croisements et de sécurisation génétique et de développement de programmes de sélection avec des mesures sur apparentés (sélection pedigree) pour des caractères complexes (orient...).

#### État de l'art :

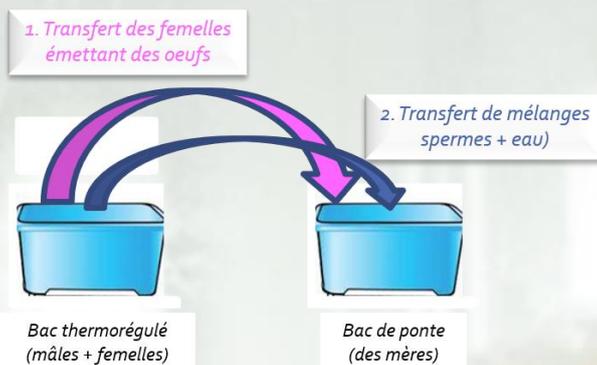
Le développement récent d'écloséries privées d'huître perlière en Polynésie française pourrait s'accompagner de la création de lignées avec une variabilité génétique pouvant limiter les progrès futurs ou engendrer des risques de baisse de performances associés à des croisements entre individus apparentés par consanguinité.

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Pour réduire le risque associé à un taux de mutation élevé chez les mollusques, le projet valorise la puce de génotypage 72 000 marqueurs SNP encore non publiée d'Ifremer devant permettre d'identifier les effectifs de marqueurs nécessaires.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

La première année de ce projet a permis d'évaluer la faisabilité d'identifier les liens de parentés dans la population de l'éclosérie Regahiga Pearls (Rikitea, Les Gambier, Polynésie) à partir de prélèvements réalisés par le SYSAAF et la DRM en août 2022 sur les descendants de 2 cohortes successives (33 pères et 26 mères) produites en 2021 par ponte en masse avec l'appui technique du SYSAAF (origine des géniteurs, plan de croisement, prélèvement d'ADN des parents). Le protocole de fécondation est détaillé dans la figure suivante.



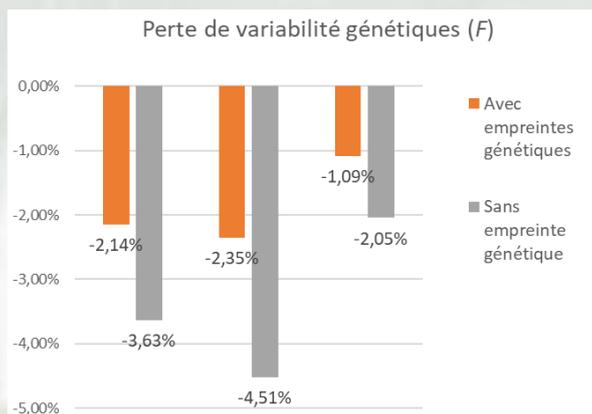
### **Protocole de fécondation avec début d'émission dans un bac de maturation thermorégulé et fécondations après transfert dans un bac de fécondation.**

Les caractéristiques et performances de reproduction et d'élevage larvaire des cohortes sont détaillées dans le tableau suivant.

	1B2	1B3
Emettant des gamètes	18 pères +13 mères	15 pères + 13 mères
Durée entre 1er mâle et la fin dès l'émission de la dernière femelle	45 minutes	
Nombre d'œufs pondus	140 millions	117 millions
Nombre de larves-D	98 millions	86 millions
Densité des collecteurs	1000 à 4000	2000
Nombre de collecteurs	4600	4800

### **Performances de reproduction et de d'élevage larvaire des 2 cohortes étudiées.**

Les animaux ont été transférés en mer dans la baie d'Atiahua à 6-10 m de profondeur à raison de 4 collecteurs /boudin suspendus. De l'ordre de 300 descendants ont été phénotypés fin août 2022 sur des caractères de production et un morceau de branchie a été collecté pour génotypage sur puce 72 000 SNP Ifremer (encore non publiée) en Australie. 1969 marqueurs communs avec 7 familles de plein-frères génotypées d'Apataki (MAF, déséquilibre Hardy-Weinberg...) ont été sélectionnés pour reconstruction des pedigrees (100 % assignation) avec 2 logiciels (Colony et APIS) et calcul des effectifs efficaces de reproducteur ( $N_e$ ) et de la perte de variabilité ( $F$  = consanguinité) selon Chevassus (1989). Un taux d'assignation unique de 100 % a été obtenu avec sur-représentation de pères et de mères en 1B2 et des mères plus équi-représentées dans 1B3. Certains pères donnent très peu de descendants. La perte de variabilité génétique (création de consanguinité) est limitée, de l'ordre de 3-4 % par génération intra-cohorte sans connaissance des pedigrees et de l'ordre de 2 % avec connaissance des pedigrees pour ne pas sur-représenter certaines familles. La fusion des informations sur les 2 cohortes fait baisser la création de consanguinité à respectivement de l'ordre de 2 et 1 % sans ou avec connaissance des pedigrees.



### **Estimation de la perte de variabilité génétique (création de consanguinité) intra cohorte ou en fusionnant les 2 cohortes sur une génération.**

Avec empreintes génétiques, 4 cohortes par génération seraient un minimum ( $N_e = 92$  et  $F = 0,54\%$ ) pour respecter les préconisations internationales. Sans empreintes génétiques, 8 cohortes par génération seraient un minimum ( $N_e = 98$  et  $F = 0,51\%$ ). Ce résultat est très rassurant avec conservation de la variabilité avec au minimum 2 cohortes/an (même sans empreintes génétiques), ce qui est inférieur aux pratiques de l'écloserie. L'analyse des pratiques d'une 2ème écloserie est envisagée courant 2024-2025 et une première estimation d'héritabilité en familles mélangées (croissance et morphologie) pourrait constituer une preuve de concept pour estimer les paramètres génétiques de caractères de qualité de la perle.

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

Ce travail a permis de disposer de premières informations publiques sur les risques de perte de variabilité génétiques avec la domestication dans le contexte du lagon des Gambier.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Les résultats de ces travaux ont été présentés au Conseil de la Perliculture à Papeete et diffusés aux adhérents du SYSAAF lors des JTIF 2023. Un résumé a été acceptée pour présentation orale au Congrès d'Aquaculture Asian Pacific (Surabaya, Indonésie, juillet 2024).

#### Références bibliographiques citées :

Aspects génétiques de la constitution de populations d'élevage destinées au repeuplement. Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture 314. <https://doi.org/10.1051/kmae:1989010>

### **1.2.2.2. Estimation de la diversité génétique dans le cheptel OSO de crevette tigrée de Madagascar par assignation de parenté**

Objectifs du projet : Le programme de sélection d'OSO farming (crevette tigrée de Madagascar) ne disposait pas d'outil de gestion de la variabilité génétique, ni de point de référence pour suivre l'évolution de la diversité génétique dans son cheptel. Cette étude est destinée à la fois au développement d'un panel d'assignation de parenté et à l'analyse des résultats de diversité génétique.

#### État de l'art :

Les outils de génotypage existent dans la littérature, mais aucun n'avait été testé sur la population d'OSO farming. Un génome de référence a été publié (Uengwetwanit et al 2021), ainsi que quelques études mettant en évidence des polymorphismes spécifiques à certaines populations (e.g. Vu. et al.

2023). Aucune de ces ressources n'a été testée sur la population OSO, et aucune donnée de variabilité génétique n'existait spécifiquement sur cette population malgache.

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Etant donné la grande variabilité génomique de l'espèce, l'identification et le développement d'un panel d'assignation est toujours assorti du risque d'échec de génotypage des SNPs et/ou du manque de puissance d'assignation du panel.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

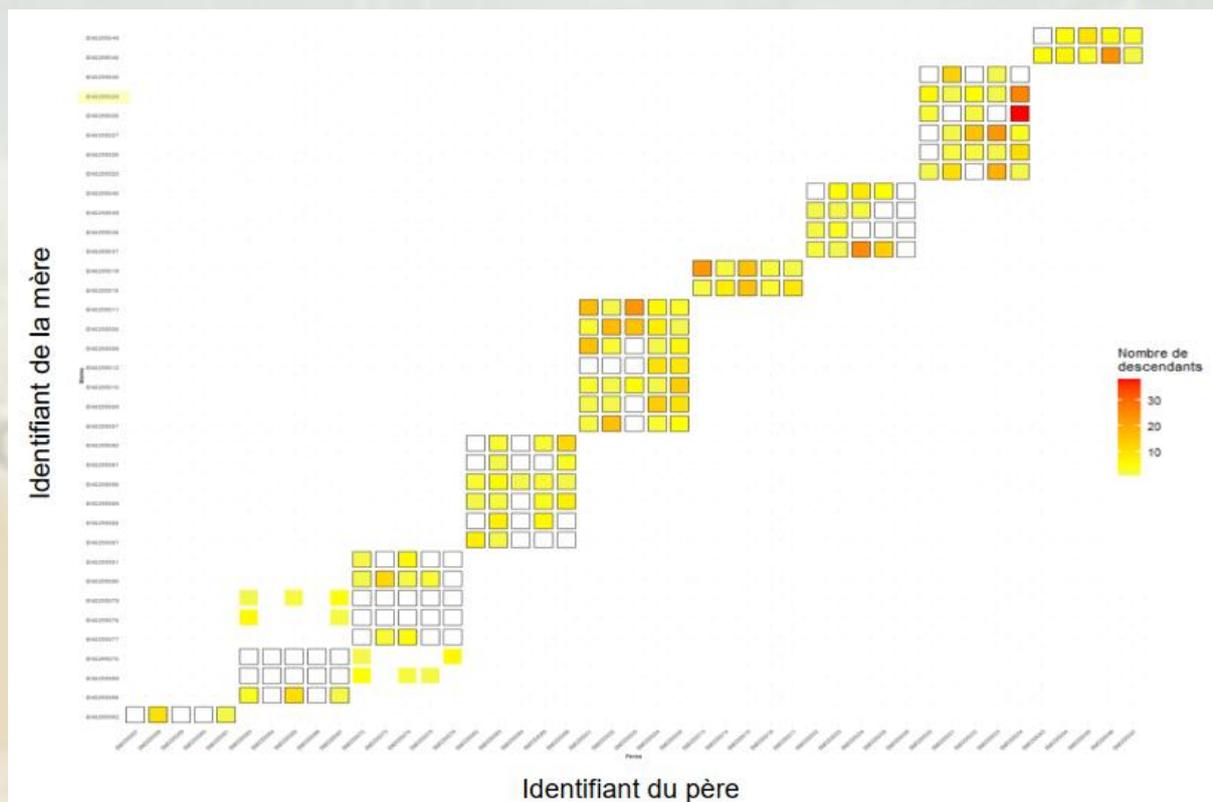
Le génome complet de 30 trios d'individus a été séquencé par technologie NovaSeq. Environ 6 millions de SNP ont ainsi été détectés puis filtrés par la qualité des données de séquence. Parmi eux, 1500 SNP répartis sur le génome ont été sélectionnés. Les échantillons prélevés sur les individus de l'étude (environ 2000 animaux au total) ont été génotypés par technologie AgriSeq (© ThermoFischer) sur ces 1500 SNP. Brièvement, la technologie AgriSeq consiste à séquencer de courtes portions d'intérêt du génome (environ 200bp) en les ciblant par amplification PCR. Ce génotypage a été réalisé par le laboratoire INRAE Gentyane (Clermont Ferrand).

Les données brutes issues du génotypage étaient composées de 1500 SNP et 2164 individus. 12 SNP se sont révélés tri-alléliques, non exploitables par les routines d'analyse qui supposent des SNP bi-alléliques. Le génotypage ayant été imparfait, et ces données constituant le premier test du panel, le taux de données disponibles (aussi appelé « call-rate ») s'élevait à seulement 37,7%, soit 62,3% de données manquantes. Il est nécessaire d'effectuer des tris, basés sur des contrôles qualités des SNPs et des individus. Un premier tri sur le call-rate à 10% sur les SNP et les individus a éliminé tout ce qui contenait plus de 90% de données manquantes, c'est-à-dire 319 individus et 544 SNP, ces individus et SNP étant de toute façon trop peu renseignés pour pouvoir être récupérables et utilisables. Ceux restants sont triés en augmentant le call-rate pour les SNPs jusqu'à 90%, ce qui en conserve 221. Le call-rate est ensuite augmenté pour les individus jusqu'à un seuil de 80%, conservant 1712 animaux, compromis choisi pour garder un maximum d'individus et un minimum de données manquantes (environ 3 %). La vérification de la qualité des SNP est ensuite réalisée par 2 contrôles. Sont éliminés les 23 SNP avec une MAF (Minor Allele Frequency) inférieure à 5%, c'est-à-dire dont l'allèle le plus rare apparaît moins de 5 % du temps, ainsi que, dans ceux restants, les 77 SNP fortement éloignés de l'équilibre de Hardy-Weinberg (avec un seuil à  $10^{-9}$ ). Cela aboutit à un jeu de données constitué de 121 SNP, 1712 individus et 3% de données manquantes.

L'assignation de parenté a été effectuée avec le package APIS (Griot et al., 2020) dans R. et avec le logiciel COLONY (Jones et Wang, 2010). Les données issues des 2 outils ont ensuite été comparées pour conserver le maximum d'assignations fiables.

Le pedigree a permis de calculer la taille efficace de la population ( $N_e$ ) de trois façons : un «  $N_e$  initial » ( $N_{ei}$ ) correspondant à la taille efficace maximale atteignable dans les factoriels si des descendants existaient pour l'ensemble des familles possibles, un «  $N_e$  final » ( $N_{ef}$ ) prenant en compte le nombre de familles avec des descendants assignés et un «  $N_e$  variance » ( $N_{ev}$ ) prenant en compte la variance du nombre de descendants par famille.

Le taux d'assignation de parenté observée était de 87.9%. Le pedigree reconstitué est présenté dans la figure ci-dessous.



Les tailles efficaces calculées pour cette cohorte étaient de  $N_{ei} = 74,64$  ;  $N_{ef} = 71,58$  ;  $N_{evar} = 57,12$ . La taille efficace prenant en compte la variance représente 76 % de la taille efficace initiale. Entre les factoriels cette proportion de conservation de taille efficace varie de 49 à 95 %. Au maximum observé dans un factoriel, la moitié de la taille efficace peut être perdue, principalement quand certains parents n'ont pas de descendants. A l'inverse dans certains factoriels la quasi intégralité de la taille efficace a été conservée car presque toutes les familles possibles sont représentées. Cela représente l'évolution du facteur de consanguinité suivant :  $F_i = -0,67$  ;  $F_f = -0,70$  ;  $F_{var} = -0,88$ .

Même en prenant en compte la variabilité du succès reproducteur, l'évolution de la consanguinité n'excède pas 1% et est donc compatible avec un schéma de sélection durable.

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

Le panel d'assignation, bien que perfectible, est validé pour une utilisation en routine de génotypage. En élevage l'objectif est de conserver une taille efficace supérieure à 100, correspondant aux recommandations de la FAO et au référentiel aquacole du SYSAAF pour la conduite des programmes de sélection des adhérents depuis 2010. Les résultats montrent que même en prenant en compte la variance du nombre de descendants par familles la taille efficace totale du plan de sélection est suffisante. Il n'y a donc pas de problème de diversité génétique, le plan de sélection pourrait même être révisé en diminuant légèrement le nombre de reproducteurs nécessaires. De même l'évolution de consanguinité est inférieure à 1% par génération (ce qui correspond au seuil acceptable visé) au sein d'une seule cohorte. La diversité génétique est efficacement conservée avec ce plan de sélection.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ces résultats ont été valorisés lors des journées techniques du SYSAAF, et seront valorisés lors de réunions nationales (JRFP) et internationales (EAS)

#### Références bibliographiques citées :

Griot, R., Allal, F., Brard-Fudulea, S., Morvezen, R., Haffray, P., Phocas, F., & Vandeputte, M. (2020). APIS: An auto-adaptive parentage inference software that tolerates missing parents. *Molecular ecology resources*, 20(2), 579-590.

Jones, O. R., & Wang, J. (2010). COLONY: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Molecular ecology resources*, 10(3), 551-555.

Uengwetwanit, T., Pootakham, W., Nookaew, I., Sonthirod, C., Anghong, P., Sittikankaew, K., ... & Karoonuthaisiri, N. (2021). A chromosome-level assembly of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) genome facilitates the identification of growth-associated genes. *Molecular ecology resources*, 21(5), 1620-1640.

Vu, N. T., Jerry, D. R., Edmunds, R. C., Jones, D. B., & Zenger, K. R. (2023). Development of a global SNP resource for diversity, provenance, and parentage analyses on the Indo-Pacific giant black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*, 563, 738890.

### 1.2.2.3. Evaluation du choix des reproducteurs des lignées expérimentales de l'INRAE pHu+ et pHu-

Objectifs du projet : Gérer la diversité génétique des lignées expérimentales de l'INRAE pHu- et pHu+.

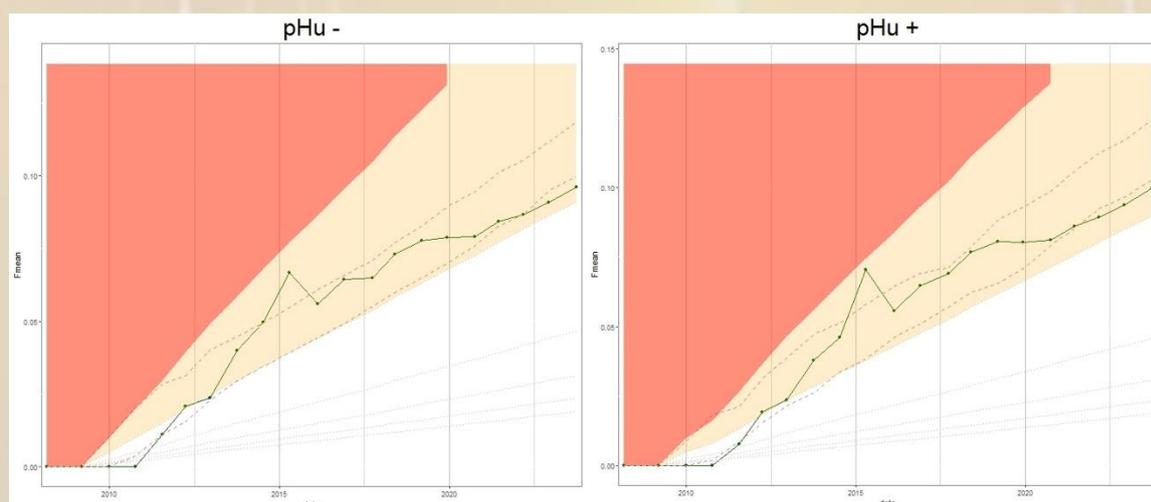
#### État de l'art :

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 met à disposition de l'INRAE ses outils pour l'évaluation génétique de ces deux lignées expérimentales, ainsi que ses algorithmes de choix optimisés des animaux.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

En 2023, plusieurs sessions d'évaluation des cheptels pHu ont été conduites.

- Choix jeune des générations 22M2 et 22P2.
- Choix de mise en cage des générations 22M2 et 22P2
- Choix jeune de la génération 23P et 23M.



*Evolution moyenne de la consanguinité dans les deux lignées divergentes pHu – et pHu+ (trajectoires vertes). L'intervalle délimité par les lignes en tirets rouge représente la trajectoire attendue de la consanguinité si les reproducteurs avaient été tirés au hasard à chaque génération (pour une structure de parquet identique). Cet intervalle*

**correspond donc au scénario attendu si aucune sélection n'avait été effectuée dans la lignée. L'aire en rouge délimite la portion du graphique pour laquelle la taille efficace ( $N_e$ ) est inférieure à 50. L'aire en jaune représente la portion du graphique pour laquelle  $50 < N_e < 100$ . Les droites en pointillé gris représentent l'évolution attendue de la consanguinité pour des tailles efficaces de 200, 300, 400 et 500 respectivement**

A chaque choix jeune, de nouvelles données ont été acquises et incluses dans l'évaluation. Une ré-estimation des paramètres génétiques a alors été effectuée. Contrairement aux années précédentes, les animaux sont mis en parquets à partir du choix de mise en cages. Un nombre plus élevé d'animaux de réserves a été prévu en prévisions de remplacements à opérer.

En ligne avec les années précédentes, les objectifs de sélection sont une stabilisation du pH ultime du filet couplé à une évolution contenue de la consanguinité (voir figure ci dessus).

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

Cette collaboration avec l'INRAE permet d'accompagner les innovations portées par ce programme de recherche au long cours. A très court terme, des innovations majeures de ce programme de sélection devront être imaginées pour pallier à l'arrêt prévu des cages individuelles.

Références bibliographiques citées :

Fletcher, D.L., 2002. Poultry meat quality. *World's Poult. Sci.* 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. *J. Anim. Sci.* 92(9):3816-2824

## 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 fait en partie appel aux nouvelles technologies développées en permanence par le SYSAAF et ses partenaires. A ce titre, nous pouvons citer, l'utilisation des modèles d'intelligence artificielle, l'utilisation de la plateforme SpecGen SYSAAF-Université de Rennes 1-CNRS pour l'acquisition et l'étude des spectres NIRS et Raman, prédicteurs potentiels de divers phénotypes.

La présentation des travaux réalisés sur les phénotypes est scindée en deux grandes parties :

- 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 futur de sélection.

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

En 2023, l'approche phénotypique a en particulier été centrée sur l'utilisation des méthodes de spectroscopie vibrationnelle, méthodes NIRS et RAMAN, développées en collaboration avec l'Université de Rennes I et le CNRS sur la plateforme ScanMat, sur l'utilisation de l'intelligence artificielle, et sur la recherche de biomarqueurs prédicteurs de phénotypes complexes.

Les phénotypages de composition corporelle ont concerné la truite pour la composition en acide gras du muscle, la poule pour la composition lipidique du jaune d'œufs et chez l'insecte pour la composition de la larve. Les modèles d'intelligence artificielle sont quant à eux envisagés pour le phénotypage de la ponte chez les oiseaux et le phénotypage des caractéristiques de la perle de l'huitre.

Concernant les biomarqueurs, ils ont été testés, recherchés, pour prédire la stéatose chez le canard gras, le développement embryonnaire chez la poule ou la fertilité chez le coq. Enfin, des nouveaux modèles d'exploitations des lignées en sélection ont été testés, sur la poule exploitée en élevage bio et sur le gibier à plume pour tenir compte des nouvelles attentes de ces filières.

### **2.1.1. Amélioration des équations de prédiction des acides gras par spectrométrie Raman chez la truite (Programme Phenomix)**

Objectifs du projet : L'objectif de l'étude était d'améliorer les équations de prédiction des acides gras chez la truite arc-en-ciel à partir de spectres Raman (Prado et al., 2022), pour en estimer l'héritabilité génomique afin d'améliorer la qualité nutritionnelle des produits.

#### État de l'art :

Il existe une composante génétique influençant la composition en acides gras chez les poissons, en particulier les salmonidés (Horn et al., 2018). Mais le coût de mesure des acides gras par analyses biochimiques 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 consistant à estimer la composition en acides gras à partir de spectres Raman a été testée chez la truite arc-en-ciel (Prado et al., 2022). Certains acides gras prédits par cette méthode alternative ont été identifiés comme héréditaires (Blay et al., 2021).

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

La forte variabilité de composition en acides gras qui peut être rencontrée entre individus peut avoir un impact significatif sur la capacité prédictive des équations de calibration. L'origine et le nombre de poissons utilisés pour leur mise au point sont des points déterminants. La préparation des échantillons pour l'acquisition des spectres doit être répétable.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Des équations de prédictions ont été formulées lors d'un précédent projet FEAMP Omega-Truite pour estimer chez la truite arc-en-ciel la composition en acides gras, quantifiée par chromatographie en phase gazeuse (CPG), à partir de spectres Raman mesurés sur du gras viscéral. Une seconde génération de truites a été produite pour le projet Phénomix sur laquelle l'acquisition de spectres Raman avait été planifiée sur une fenêtre spectrale allant de 550 à 1800  $\text{cm}^{-1}$ . Un échantillon de gras viscéral prélevé sur une partie des individus a également été analysé par CPG. Ainsi 180 échantillons ont été ajoutés aux 302 échantillons déjà utilisés dans le projet Omega-Truite, portant la taille du jeu de données d'apprentissage à un total 482 échantillons.

Deux méthodes d'apprentissage statistique, la régression 'ridge' et la répression 'PLS', ont été mises en œuvre pour calibrer les nouvelles équations de prédiction. L'ajout de nouveaux échantillons au jeu de données d'apprentissage a permis d'améliorer les coefficients de détermination  $R^2$  estimés par validation croisée pour une majorité d'acides gras.

Acides gras	R <sup>2</sup> Omega-Truite (Prado et al., 2022)	R <sup>2</sup> ridge Phénomix	R <sup>2</sup> PLS Phénomix
<i>Principaux groupes d'AG</i>			
SFA	0,42	0,74	0,79
MUFA	0,75	0,95	0,97
PUFA	0,79	0,87	0,87
Total Ω-3	0,66	0,67	0,66
Total Ω-6	0,83	0,92	0,94
<i>Acides gras Ω-9</i>			
18:1	0,85	0,69	0,77
20:1	0,77	0,64	0,68
<i>Acides gras Ω-6</i>			
18:2 (LA)	0,84	0,92	0,94
18:3	0,46	0,44	0,54
20:2	0,04	0,02	0,01
20:3	0,02	0,01	0,01
20:4	0,61	0,42	0,38
<i>Acides gras Ω-3</i>			
18:3 (ALA)	0,82	0,74	0,86
18:4	0,04	0,15	0,13
20:5 (EPA)	0,76	0,68	0,68
22:5	0,44	0,51	0,56
22:6 (DHA)	0,81	0,68	0,72
EPA + DHA	0,82	0,71	0,74

***Coefficient de détermination R<sup>2</sup> des valeurs d'AG prédites par validation croisée sur le jeu de données de calibration par régression ridge dans le projet Oméga-Truite et par régression ridge et régression PLS dans le projet Phénomix.***

Toutefois, à la lumière des graphiques représentant les valeurs prédites à partir des spectres par régression ridge ou régression PLS en fonction des valeurs estimées par CPG, nous pouvons constater une forte hétérogénéité des teneurs en acides gras entre les différents lots ayant servi pour l'estimation des équations de prédiction. Les modèles de prédiction permettent de nettement séparer ces lots les uns des autres. Mais la précision des prédictions intra-lots reste encore à améliorer.

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

L'ajout de nouveaux échantillons au jeu de données de calibration a permis d'améliorer les indicateurs de précision de prédiction en comparaison aux précédents travaux (Prado et al., 2022). Malgré tout, la précision des prédictions au sein d'un lot semble encore insuffisante pour envisager leur utilisation en routine dans un programme de sélection.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Les résultats de ces travaux seront diffusés aux adhérents du SYSAAF et aux partenaires scientifiques du projet.

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., Ruyter, B., Meuwissen, T.H.E., Hillestad, B., Sonesson, A.K., 2018. Genetic effects of fatty acid composition in muscle of Atlantic salmon. Genet Sel Evol 50, 23. <https://doi.org/10.1186/s12711-018-0394-x>

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., 2022. Prediction of fatty acids composition in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* by using Raman micro-spectroscopy. Analytica Chimica Acta 1191, 339212. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.339212>

### **2.1.2. Phénotypage et estimation de paramètres génétiques de la composition lipidique de jaune d'œufs à l'aide d'approche NIRS (programme GEroNIMO)**

Objectifs du projet : Le projet vise à rendre possible un phénotypage à haut débit la composition lipidique des jaunes d'œufs.

#### État de l'art :

La persistance de ponte des poules pondeuses au-delà des traditionnelles 70 semaines est un levier pour améliorer la compétitivité économique et la performance environnementale de la filière (Bain et al., 2016). Ce phénotype a donc été intégré parmi les objectifs des entreprises de sélection. La sélection sur ce caractère ne doit en revanche pas affecter négativement les qualités technologiques du produit telle que la composition lipidique.

Pour l'heure, des analyses coûteuses sont nécessaires pour apprécier la composition lipidique des jaunes d'œufs. Pourtant les méthodes de spectroscopie infrarouge semblent être pertinentes pour déterminer la composition des jaunes d'œufs (Dalle Zotte et al., 2008) ou des œufs homogénéisés (Zhao et al., 2018). Ces méthodes présentent l'avantage de pouvoir produire des données de phénotypage haut-débit compatible avec leur valorisation dans un schéma de sélection.

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Une phase de mise au point est nécessaire pour que la plateforme de spectroscopie puisse acquérir des données sur cette nouvelle matrice qu'est le jaune d'œuf. L'objectif final étant la production de paramètres génétiques sur la composition lipidique estimées par NIRS, il est nécessaire que cette technologie permette d'estimer de façon suffisamment fine les différences inter-individuelles. Ce résultat n'est pas garanti au départ du projet.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Les derniers œufs nécessaires à la calibration ont été collectés dans le cours de l'année 2023. Il s'agit d'œufs de races locales (6 races locales x 12 œufs). Ces œufs ont été expédiés à la plateforme de spectroscopie pour analyse. Cinq spectres par jaune d'œuf ont été acquis. Ces données ont complété le jeu de données acquis en 2022 de 1800 œufs de lignées commerciales provenant de l'entreprise Novogen. Parmi l'ensemble de ces échantillons, 810 ont été acheminés vers la plateforme d'analyse lipidomique METATOUL pour analyse. L'ensemble de ces résultats seront analysés en 2024.

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

En cas de succès, ce projet permettra d'inclure une nouvelle méthode de phénotypage moins onéreuse de la composition lipidique des jaunes d'œufs. Ce caractère pourra alors être introduit comme nouvel objectif par les entreprises de sélection.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Aucune valorisation des travaux n'a eu lieu sur la période considérée

#### Références bibliographiques citées :

Bain, M.M., Nys, Y., Dunn, I.C., 2016. Increasing persistency in lay and stabilising egg quality in longer laying cycles. What are the challenges? Br. Poult. Sci. 57 (3): 330-338

Dalle Zotte, A., Berzaghi, P., Jansson, L.M., Andrighetto, I., 2006. The use of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) in the prediction of chemical composition of freeze-dried egg yolk and discrimination between different n – 3 PUFA feeding sources. Anim. Feed Sci. Technol. 128(1-2):108-121

Zhao, Q., Lv, X., Jia, Y., Chen, Y., Xu, G., Qu, L., 2018. Rapid determination of the fat, moisture, and protein contents in homogenized chicken eggs based on near-infrared reflectance spectroscopy. Poult. Sci. 97(6):2239-2245

### **2.1.3. Mise au point d'une méthode de phénotypage NIRS pour la composition chimique chez l'insecte (CONFIDENTIEL)**

### **2.1.4. Etude de potentiels biomarqueurs du développement embryonnaire et de la stéatose hépatique pour la sélection génétique avicole (projet ChemPredict)**

Objectifs du projet : Il s'agit de mesurer l'expression du gène de la chémérine dans le tissu adipeux des canards mulard au cours du gavage et après arrêt du gavage afin de mieux comprendre l'origine de l'augmentation de la chémérine plasmatique lors du gavage, et de voir si la chémérine peut être un marqueur précoce de la qualité du foie.

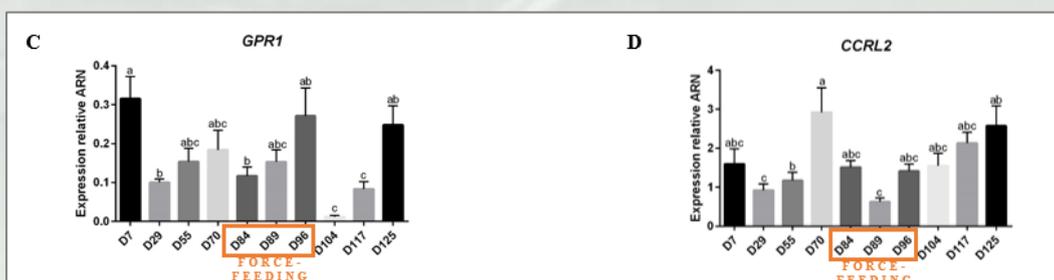
#### État de l'art :

Durant l'expérimentation réalisée en 2022-2023 au sein du laboratoire SENSOR de l'UMR-PRC (INRAE), nous avons observé qu'avant gavage, le poids du foie est environ de  $55,07 \pm 3,21$  g et augmente significativement avec un poids maximal de  $600,3 \pm 36,02$ g au dernier jour du gavage J96. Puis, la taille du foie diminue après arrêt du gavage retrouvant des poids similaires avant gavage environ  $56,79 \pm 2,01$  g ( $p < 0,0001$ ).

Concernant le poids du tissu adipeux abdominal, nous observons une augmentation de son poids jusqu'à J55 ( $44,54 \pm 4,08$  g). Pendant la période de gavage, bien évidemment le poids du tissu adipeux augmente avec également un pic à J96 ( $145,1 \pm 7,47$  g). Puis, à la suite de l'arrêt du gavage, le poids du tissu adipeux chute à environ  $90,97 \pm 5,21$  g ( $p < 0,0001$ ). Avant le gavage, la concentration plasmatique de chémérine diminue significativement jusqu'à J70 ( $192,5 \pm 2,78$  ng/mL). Puis, la concentration de chémérine dans le plasma des animaux gavés augmente de manière importante avec un pic de concentration à J96 (dernier jour de gavage) ( $620 \pm 6,57$  ng/mL). Après arrêt du gavage, la concentration de chémérine dans la circulation sanguine diminue et revient à des niveaux d'avant gavage ( $220,3 \pm 6,57$  ng/mL) ( $p < 0,0001$ ). L'objectif de ce projet en 2023 a été d'étudier l'origine de l'augmentation de la chémérine plasmatique durant le gavage en émettant l'hypothèse que les variations de chémérine dans le sang sont dues à des variations de l'expression du gène de la chémérine dans le foie ou dans le tissu adipeux abdominal.

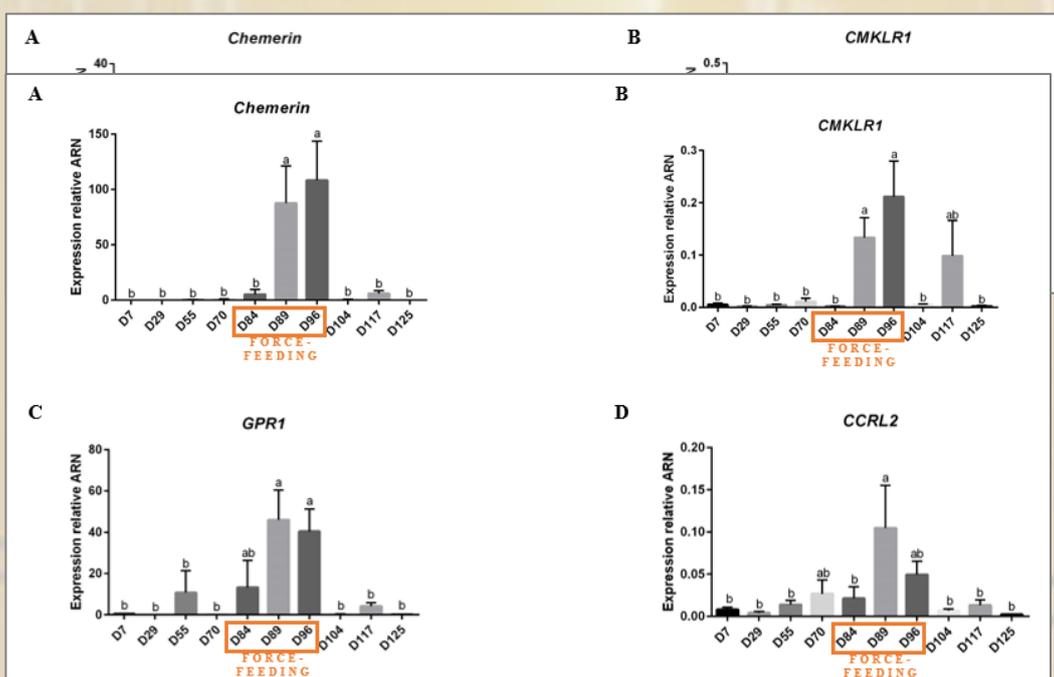
#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Il fallait vérifier que notre anticorps détectait bien les différentes isoformes de la chémérine. Si nous n'arrivons pas à expliquer l'origine des variations de concentration plasmatique de chémérine par une augmentation de l'expression de la chémérine au niveau du foie ou du tissu adipeux abdominal, il faudra rechercher dans d'autres tissus comme le tissu adipeux viscéral.



**Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :**

L'expression génique du système chémérine à savoir la chémérine et ses trois récepteur (CMKLR1, GPR1 et CCRL2) dans le foie et dans le tissu adipeux abdominal a été analysée avant, pendant et après gavage. Nous observons que l'expression génique de la chémérine ne varie pas durant le gavage (Figure). L'analyse génique des récepteurs à la chémérine, CMKLR1, GPR1 et CCRL2 n'explique pas les variations de chémérine plasmatique puisque l'expression de CMKLR1 est faible durant le gavage et augmente après arrêt du gavage. Le gène GPR1 diminue après le gavage et l'expression de CCRL2 augmente à J70 et diminue à J89 (Figure suivante)



**Expression du système chémérine (A) et de ses récepteurs CMKLR1 (B), GPR1 (C) et CCRL2 (D) dans le foie à l'abattage des canards mulards avant gavage (D29 à 70), pendant une période de gavage (D84 à D96) et après arrêt du gavage (D104 à D125) (n=14 à chaque période).**

En revanche, l'expression de la chémérine et de ses trois récepteurs dans le tissu adipeux abdominal est faible avant le gavage et augmente durant la période de gavage (Figure suivante) ayant un profil d'expression similaire au profil de concentration de la chémérine plasmatique.

***Expression du système chémérine (A) et de ses récepteurs CMKLR1 (B), GPR1 (C) et CCRL2 (D) dans le tissu adipeux abdominal à l'abattage des canards mulards avant gavage (D29 à 70), pendant une période de gavage (D84 à D96) et après arrêt du gavage (D104 à D125) (n=14 à chaque période).***

Nous avons observé un profil identique entre les concentrations plasmatiques de chémérine et l'expression génique du système chémérine dans le tissu adipeux abdominal avec à chaque fois une augmentation durant le gavage suggérant que les variations de chémérine dans le sang sont dues à des variations du gène de la chémérine et de ses récepteurs au niveau du tissu adipeux abdominal.

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

Mieux comprendre les régulations métaboliques du gavage chez les canards à gaver et disposer d'un outil technologique permettant de prédire la taille du foie avant gavage.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Présentation orale aux Journées techniques du SYSAAF (oct 2023).

Présentation orale à la commission scientifique du CIFOG (Mars 2023)

**2.1.5. Développement d'un nouvel outil pour évaluer et prédire la fertilité des coqs (projet FertiMax)**

Objectifs du projet : L'objectif consiste à évaluer la faisabilité de diagnostic de la fertilité des coqs par une approche de protéomique : l'Intact Cell MALDI-TOFF Mass Spectrometry (ICM-MS)

État de l'art :

Au cours des dernières années, des approches protéomiques ont été utilisées pour décrypter les voies moléculaires impliquées dans la capacité de fécondation des spermatozoïdes, dans plusieurs espèces animales (invertébrés et vertébrés) et plus récemment dans les espèces aviaires, en particulier chez le poulet, par le laboratoire INRAE-PRC, dans le cadre du projet d'infrastructure CRB-Anim (Labas V. 2015). L'ICM-MS est une méthode sensible et reproductible capable d'évaluer les peptides et protéines endogènes directement sur des cellules intactes. Alors que ce type de test diagnostique est nécessaire dans une grande variété d'espèces d'élevage, l'espèce aviaire est un choix parfait pour le développement de cette solution. En effet, la pression relative à la sélection mâle dans cette industrie est très élevée (les programmes d'élevage incluent généralement l'accouplement d'un mâle avec dix femelles). En fait, une forte variabilité individuelle de la fertilité mâle est observée au sein des races sélectionnées pour la production d'œufs ou le développement de la viande, où la capacité de reproduction mâle n'est pas considérée comme trait sélectionné prioritaire. Au cours de la dernière décennie, nous avons exploré l'utilisation potentielle de la technique ICM-MS pour évaluer et discriminer le statut de fertilité des poulets avec une capacité reproductive contrastée, sur diverses races ou lignées. Toutes ces recherches ont révélé que l'ICM-MS, associée à un modèle mathématique adapté, est capable de classer les coqs selon leur statut de fertilité, dans des conditions expérimentales comprenant un petit nombre d'animaux (Soler L. 2016 et Soler L. 2020). Ce nouveau test diagnostique présente une corrélation plus élevée avec la fertilité observée que les tests in vitro classiquement utilisés. Ainsi, cette stratégie peut être utilisée comme nouvel outil de diagnostic de la fertilité mâle dans la volaille. En conséquence, dans un premier projet financé par INRAE en 2018, nous avons exploré la faisabilité de cette approche dans des conditions de ferme, dans de grands groupes de coqs de chair et de ponte. Cette première enquête a révélé que (1) la technologie ICM-MS peut être appliquée à un grand nombre d'échantillons de sperme dans des conditions de ferme, (2) les spectres de peptides/protéines de sperme peuvent être obtenus rapidement, (3) les spectres de sperme diffèrent entre les races de coqs et (4) des modèles mathématiques peuvent être développés pour discriminer les individus selon leur fertilité. Cependant, nous n'avons pas réussi à finaliser le test

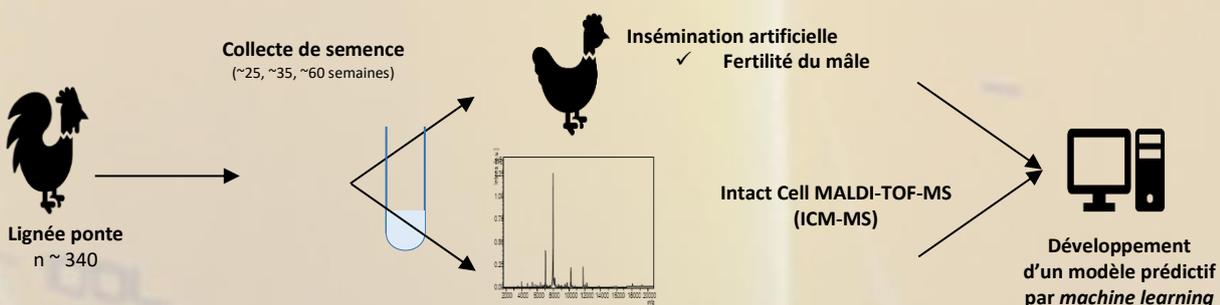
diagnostique en raison du nombre insuffisant d'individus pour valider les algorithmes. Ainsi, une nouvelle exploration comprenant beaucoup plus d'animaux est nécessaire pour développer un test de fertilité finalisé pouvant être appliqué à l'industrie avicole.

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Le risque est faible car les dispositifs expérimentaux sont solides (en particulier avec l'utilisation de conditions expérimentales appropriées (basées sur le précédent projet FERTIMALE 2018-2021). La perte de données de phénotypage due à la mortalité des animaux, au faible volume de semence collectée et aux problèmes analytiques (sang ou urée dans la semence) est évaluée à 30% maximum. Dans ces conditions dégradées, la cohorte est toujours suffisante pour construire et valider des modèles mathématiques. Même si les conditions sont limitées, nous utiliserons nos profils de spectres précédents (n= 51) obtenus sur une lignée similaire pour l'étape de validation. Le seul risque mineur est de ne pas réussir à identifier des protéines/gènes spécifiques associés à une meilleure fertilité, ce qui n'entravera pas l'estimation des valeurs d'héritabilité mais limitera l'utilisation de SNP candidats pour la sélection génomique. Pour atténuer ce risque, les expériences protéomiques Top-Down seront augmentées en appliquant des bio-séparations plus préparatives par HPLC avant  $\mu$ LC-HR-MS/MS ou en adoptant une stratégie ciblée avec une fragmentation manuelle afin d'améliorer la qualité des spectres MS/MS.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

En partenariat avec l'INRAE et l'entreprise de sélection ISA (Hendrix genetics), nous avons collecté des échantillons de sperme de 340 coqs à 3 âges différents (C1 : âge de reproduction précoce - ~25 semaines ; C2 : âge de maturité sexuelle - ~35 semaines et C3 : âge de reproduction tardive - ~60 semaines), afin d'évaluer leur qualité à l'aide de paramètres classiques (volume, concentration, morphologie, motilité) et de les préparer pour la conservation avant les investigations moléculaires. Concrètement ; la semence a été recueillie par massage dorsal et la qualité du sperme a été évaluée par analyse de sperme assistée par ordinateur (CASA). Le sperme a été traité par centrifugation pour séparer le plasma séminal et les spermatozoïdes. Les spermatozoïdes ont été lavés selon un protocole standardisé, dilués autour de 500 000 cellules/ $\mu$ L puis congelés et conservés à  $-80^{\circ}\text{C}$  jusqu'au phénotypage moléculaire par spectrométrie de masse qui sera réalisé au cours de l'année 2024. La semaine suivant la collecte, le sperme a été collecté une nouvelle fois pour inséminer 7-8 femelles par mâle. Les ovules ont été collectés pendant 10 jours, ce qui conduit à 70-80 ovules potentiellement fécondés par mâle. Le taux de fertilité a été déterminé par le mirage au 14ème jour d'incubation et le taux de fécondation a été évalué par la présence d'un développement embryonnaire précoce noté après le casse de l'œuf. Ces résultats sont en cours d'analyse.



#### **Protocole expérimental du projet Fertimax**

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

Ce projet permettra de développer une nouvelle méthode de diagnostic de fertilité mâle fiable afin de limiter l'impact économique de l'augmentation des carrières de reproducteurs mâles, et de prédire, dès le plus jeune âge, le potentiel reproducteur d'un individu coq. Une étude de marché préalable, financée par C-Valo et réalisée par l'entreprise Erdyn en 2021, a révélé que cette solution pourrait concerner entre 16 000 et 40 000 coqs participant aux programmes de reproduction chaque année en France, pour différentes entreprises d'élevage (8 interrogées). Un test de diagnostic basé sur la technologie ICM-MS combinée à la modélisation mathématique sera une solution *in vitro* simple, rapide (retour des résultats en moins d'une semaine) et peu coûteuse, basée sur un prélèvement tissulaire non invasif, qui pourra être développée pour prédire la fertilité des mâles, en rupture avec les méthodes traditionnelles. Avec FERTIMAX, cette solution technique devrait être finalisée et validée en conditions d'élevage, afin de déposer une licence d'exploitation putative d'ici la fin du projet.

#### Références bibliographiques citées :

Labas V, Grasseau I, Cahier K, Gargaros A, Harichaux G, Teixeira-Gomes AP, et al. Qualitative and quantitative peptidomic and proteomic approaches to phenotyping chicken semen. *J Proteomics*. 2015;112:313–35. doi:10.1016/j.jprot.2014.07.024.

Soler L, Labas V, Thélie A, Grasseau I, Teixeira-Gomes AP, Blesbois E. Intact cell MALDI-TOF MS on sperm: A molecular test for male fertility diagnosis. *Mol Cell Proteomics*. 2016;15:1998–2010.

Soler L, Uzbekova S, Blesbois E, Druart X, Labas V. Intact cell MALDI-TOF Mass Spectrometry, a promising proteomic profiling method in farm animal clinical and reproduction research. *Theriogenology*. 2020.

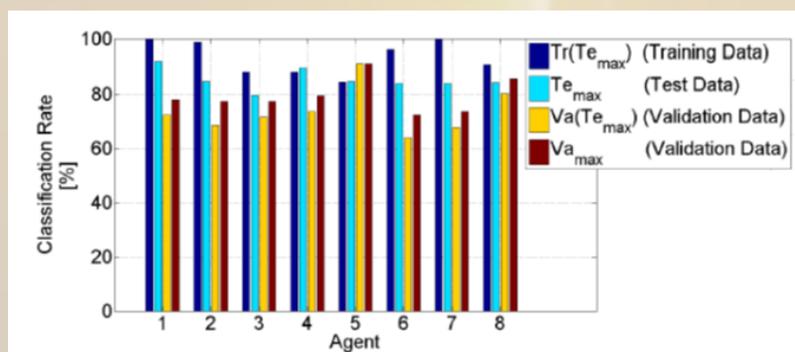
#### 2.1.6. Entraînement d'un modèle d'intelligence artificielle pour le phénotypage de la ponte (CONFIDENTIEL)

#### 2.1.7. Prédiction de la qualité des perles par intelligence artificielle (Projet Phenotyp)

Objectifs du projet : L'objectif du projet Phenotyp (thèse) est d'améliorer et développer des méthodes de prédiction de la qualité des perles en utilisant l'intelligence artificielle. Plus précisément, il est attendu le développement d'un outil informatique couplé à un protocole de mesure de la qualité des perles qui soient automatisables, précis et à coût réduit. Cela permettra alors d'étudier des croisements génétiques d'huîtres perlières afin d'améliorer de qualité des perles produites.

#### État de l'art :

L'Université de Polynésie Française (UPF) a développé dans le cadre des programmes RAPA (Reconnaissance Automatique de la qualité des Perles de Tahiti) et MAIAO (logiciel de mesure automatique de l'épaisseur de perles) coordonnés par la DRM de premières méthodes de prédiction de l'épaisseur de nacre ou de la couleur et du lustre des perles dans 2 thèses précédentes (Loesdau et al., 2015 ; Mondonneix et al., 2018).



## ***Représentation de la classification artificielle des 150 perles selon 8 catégories en fonction du jeu de données utilisée (Projet RAPA).***

Pour les 8 classifications utilisées, le taux de bonne classification est supérieur à 84% sur l'ensemble d'apprentissage et 79% sur l'ensemble de test montrant que l'utilisation des histogrammes de répartition des pixels par axes de l'espace RGB combinée à l'utilisation des réseaux de neurones artificiels est utilisable pour classer très rapidement et de façon répétable des perles sur leur couleur perçue. La mesure par rayons-x a été transférée à la filière et au Gouvernement de Polynésie à la Cellule de Contrôle de la Qualité des Perles (CCQP). Les effectifs utilisés pour la validation de la prédiction de la couleur et du lustre doivent être augmentés pour mieux couvrir la diversité des premiers caractères prédits. De plus, d'autres caractères pourraient être aussi prédits par intelligence artificielle (forme, défaut, orient...).

### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

L'UPF dispose de l'expérience et des compétences requises. Le projet présente peu d'incertitudes si ce n'est de disposer de suffisamment d'échantillons pour couvrir la diversité de chacun des caractères possibles.

### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

L'année 2023 a permis de finaliser le montage du projet de thèse, de sélectionner un étudiant en thèse et de commencer à mettre en place une « perlothèque » de référence qui sera propriété de la DRM, certains échantillons à forte valeur pouvant être mis à disposition temporairement par des perliculteurs ou des artisans. L'étudiant recruté en septembre a commencé par 3-4 mois de travail bibliographique et l'appropriation des thèses précédentes. Il a pris connaissance des sources MatLab des étudiants antérieurs et il sera envisagé leur traduction sous Python plus adapté à l'IA.

Plusieurs questions se posaient comme les effectifs de perle par phénotype par caractère, la traçabilité individuelle pérenne du millier d'échantillons envisagé, le niveau de traitement de la surface (du produit brut collecté à celui poli avec élimination des principaux défauts).

La très grande diversité des phénotypes (ex palette de 300 couleurs) impose de disposer de l'ordre de 60 perles (15 au départ) / classe de couleur qui seront regroupées selon potentiellement une vingtaine de classes. Un travail avec l'UPF, la DRM et un négociant (M. Wiart, Société Poe Black Perl) a permis de commencer à définir des effectifs de perles présentant une combinaison des différents caractères avec un objectif final de l'ordre de 1250 perles. L'augmentation du prix de la perle n'a permis d'initier l'achat des perles auprès du grossiste qu'à la fin de l'année 2023.

Une méthode de marquage individuelle par laser est envisagée et est en attente de chiffrage du coût par échantillon.

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

La thèse en est à ses débuts et à ce stade, les acquis sont essentiellement méthodologiques. La finalité est de mesurer de façon précise, simple et répétable des caractères sur quelques milliers d'individus par lignée et par an, si possible de façon non létale sur les candidats (ou létale sur des huîtres parentes ayant pu servir de matériel génétique dans le processus de greffe) à un coût compatible avec les capacités d'investissements de la DRM. Ces caractères à mesurer, constituant le phénotype d'une perle, sont la couleur, le lustre, l'orient (iridescence), la vitesse de dépôt d'aragonite, les défauts de surface et de forme et l'épaisseur de la coquille.

### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Aucune valorisation n'a encore été réalisée mais le principe d'une première publication a été retenu pour soumission à publication début 2025. Le projet et les premiers résultats seront présentés lors du Conseil de la Perliculture de l'automne 2024 et lors des Journées Techniques du SYSAAF.

#### Références bibliographiques citées :

Loesdau, M., Chabrier, S., Gabillon, A., 2015. "Automatic Classification of Tahitian Pearls," in *Image Processing & Communications Challenges 6*, vol. 313, R. S. Choraś, Ed. Cham: Springer International Publishing, 2015, pp. 95–101.

Mondonneix, G., Chabrier, S., Mari, J.M., Gabillon, A., 2018. Ordinal Learning with Vector Space Based Binary Predicates and Its Application to Tahitian Pearls' Luster Automatic Assessment. Presented at the International Conference on Image and Signal Processing. ICISP 2018: Image and Signal Processing, Lecture Notes in Computer Science, pp. 90–98.

#### **2.1.8. Évaluation du potentiel de production de lignée double fin en élevage biologique ou à faible intrants. (Projet H2020 PPillow)**

Objectifs du projet : Le projet PPILOW vise à co-construire, 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 (frères des pondeuses) en développant des croisements à double fin. A cette fin 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-fin dans trois pays différents ; l'Allemagne, le Danemark et la France.

Les lignées double-fin 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 comparé aux études publiées dans la littérature (Rezaei, Mehdi, et al. 2018). Le but final est de définir le génotype le plus prometteur en termes de performances dans ces différentes conditions d'élevage.

#### État de l'art :

De nombreux génotypes double-fin ont été testé notamment en Afrique où le sexage des poussins est rarement effectués à la naissance. A ce jour, il n'y'a aucun génotype qui apporte un compromis satisfaisant pour les éleveurs que ce soit au niveau économique ou de l'attente des consommateurs.

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

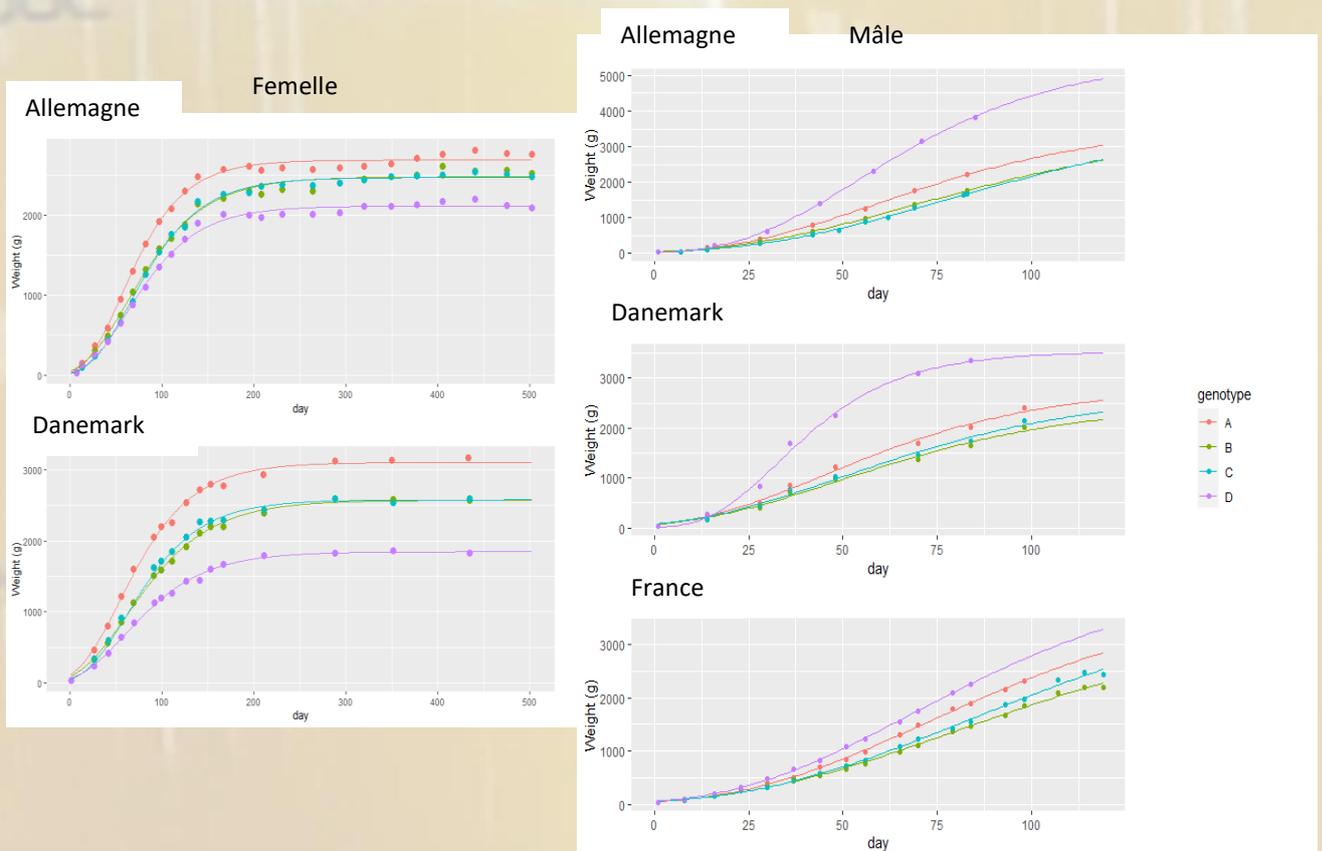
La difficulté de ce projet réside dans le fait que la production d'œufs est opposée à la production de chair. Il faut donc trouver un compromis entre la production en œuf, le poids et la conformation des poulets afin de répondre aux attentes des éleveurs et des consommateurs. Ce marché de niche est difficile à satisfaire.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Trois génotypes différents à double fin (A, B et C) ont été élevés dans trois pays différents (France, Danemark et Allemagne) et les performances des animaux ont été enregistrées. Les mâles et les femelles ont été élevés séparément. Les mâles ont été mesurés pour les performances liées à la production de viande et à l'efficacité alimentaire, à savoir le poids corporel et le ratio de consommation d'aliments. Les femelles ont été mesurées pour les performances et l'efficacité de la production d'œufs, c'est-à-dire le poids corporel, le taux de ponte et le ratio de consommation d'aliments liés à la production d'œufs.

Nous avons utilisé les paramètres du modèle de Gompertz estimés pour le poids corporel des mâles afin de calculer le temps nécessaire par pays pour atteindre un poids cible de 2000g (cf. figure). On constate de très fortes différences entre les génotypes. Le génotype A est le plus rapide à atteindre le

poids cible (entre 10,9 et 12,4 semaines selon les pays). Au maximum, le génotype B a besoin de 15,2 semaines en France pour atteindre le poids cible. Aucun des génotypes A, B ou C n'a montré un temps pour atteindre le poids cible inférieur à 10,9 semaines. À titre de comparaison, le témoin a atteint le poids cible 5 semaines plus tôt que tous les génotypes double fin (entre 6,1 et 10,9 semaines selon les pays). Le poids corporel des femelles était très différent d'un génotype à l'autre, mais présentait le même classement que le poids corporel des mâles. Le génotype A était systématiquement le plus lourd, les génotypes B et C étant plus légers et très semblables l'un à l'autre (cf. figure). Bien que le poids corporel des femelles ne puisse pas être utilisé directement pour évaluer la performance des poules pondeuses, ce paramètre a une importance particulière d'un point de vue zootechnique car il signifie que pour une densité donnée d'animaux par mètre carré, les animaux plus lourds auront moins d'espace que les plus légers.



**Evolution du poids moyen des mâles en fonction du temps. Les points représentent les observations faites sur le dispositif expérimental. Les lignes représentent la courbe de croissance de Gompertz générée avec la meilleure estimation des paramètres pour chaque combinaison Pays x Génotype.**

Comme on pouvait s'y attendre, tous les génotypes à double fin présentent des performances inférieures à celles des génotypes spécialisés. Le choix d'un génotype adéquat dépendra fortement de l'importance relative accordée aux performances des poulets de chair par rapport à celles des pondeuses.

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 en filière bio. 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 :

Dual-Purpose Poultry in Organic Egg Production and Effects on Egg Quality parameters. *Foods* 2021, 10, 97. Marianne Hammershøj, Gitte Hald Kristiansen, and Sanna Steinfeldt  
doi: 10.3390/foods11030311

Références bibliographiques citées :

Ibrahim D, Goshu G, Esatu W, Cahaner A. Dual-purpose production of genetically different chicken crossbreeds in Ethiopia. 1. Parent stocks' feed intake, body weight, and reproductive performance. *Poult Sci.* 2019 Aug 1;98(8):3119-3129. doi: 10.3382/ps/pez136. PMID: 30938809.

Torres A, Muth PC, Capote J, Rodríguez C, Fresno M, Valle Zárate A. Suitability of dual-purpose cockerels of 3 different genetic origins for fattening under free-range conditions. *Poult Sci.* 2019 Dec 1;98(12):6564-6571. doi: 10.3382/ps/pez429. PMID: 31376357; PMCID: PMC8913997.

Jasouri M, Zamani P, Alijani S. Dominance genetic and maternal effects for genetic evaluation of egg production traits in dual-purpose chickens. *Br Poult Sci.* 2017 Oct;58(5):498-505. doi: 10.1080/00071668.2017.1336748. Epub 2017 Jun 23. PMID: 28556686.

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.

### **2.1.9. Effet de la méthode de phénotypage de la ponte sur l'efficacité de la sélection de ce caractère**

Objectifs du projet : Il s'agit d'étudier le compromis existant entre précision du phénotypage de la ponte et efficacité de la sélection.

État de l'art :

Dans les lignées de faisans maintenues chez Gen'ethic, la ponte est agrégée sur deux périodes successives de 10 semaines. Pour chacune de ces deux périodes, la ponte est enregistrée 5 jours sur 7. Cet enregistrement de la ponte peut donc être considéré comme une approximation de la ponte réelle (i.e. enregistrée 7 jours sur 7). Actuellement, Gen'ethic se pose la question de réformer la façon dont la ponte est enregistrée. La présente analyse a pour but de donner quelques indications sur la façon la plus pertinente d'enregistrer ce caractère.

Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Deux questions ont été formulées pour tenter de répondre au mieux aux interrogations de Gen'ethic

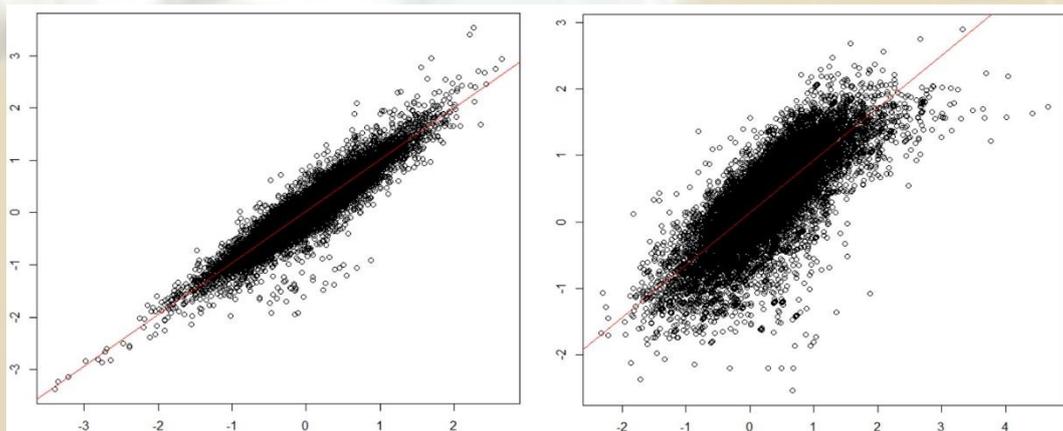
- 1) Pour une période donnée, quel est l'effet sur le gain génétique attendu de l'approximation de la ponte en enregistrant seulement 5 jours sur 7 ? Est-il pertinent d'étendre l'enregistrement de la ponte à 7 jours sur 7 ?

Ce premier point a été abordé en utilisant des données de ponte empruntées à un autre adhérent du SYSAAF.

- 2) Est-il possible de compenser la perte totale de phénotypage sur la deuxième période d'enregistrement par le gain de précision produit par un enregistrement 7 jours sur 7 en première période ?

En l'absence de données de ponte enregistrées 7 jours sur 7 chez Gen'ethic, cette question a été abordée en examinant l'effet sur la ponte totale d'une sélection basée sur les valeurs génétiques de la première période de ponte.

Bien que l'enregistrement 5/7 soit très corrélé à l'enregistrement 7/7 de la ponte (Figure ci-dessous), l'enregistrement journalier de la ponte permet d'obtenir une estimation plus précise des valeurs génétiques et ainsi d'espérer un gain génétique marginalement plus élevé à chaque génération (estimé à +4%). En revanche, la sélection des individus sur leur seule valeur génétique en première période de ponte (1 à 10 semaines) ne permet pas de sélectionner efficacement sur la totalité de la période de ponte (1-20 semaines, Figure ci-dessous, -11%).



Graphique illustrant la corrélation entre les différentes valeurs génétiques prédites dans ce travail. A gauche : Les valeurs génétiques de ponte 7/7 en fonction des valeurs génétiques de ponte 5/7 ( $r$  de Pearson 0.93,  $p < 0.001$ ). A droite : Valeurs génétiques de ponte 5/7 de 1 à 20 semaines en fonction des valeurs génétiques de ponte 5/7 de 1 à 10 semaines ( $r$  de Pearson 0.79,  $p < 0.001$ )

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

Ces résultats ont permis à l'adhérent d'apprécier la pertinence de modifier son protocole de suivi de la ponte. Des données de ponte collectées 7/7 en première période de ponte seront prochainement reçues pour compléter cette analyse

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ce travail a fait l'objet d'un rapport qui a été partagé avec Gen'ethic (SYSAAF, 2023)

#### Références bibliographiques citées :

SYSAAF, 2023. Effet de la méthode d'enregistrement de la ponte sur l'efficacité de la sélection.

## 2.2. Approche génétique

Afin d'évaluer l'intérêt et d'estimer l'efficacité de l'introduction d'un caractère dans un objectif de sélection, des études génétiques préalables sont nécessaires. Ces études peuvent aborder la réponse à la sélection attendue, investiguer sur les corrélations génétiques avec les autres caractères d'intérêt, ou encore se pencher sur des types d'interactions génétiques complexes. En 2023, ces travaux de caractérisation génétique de caractères phénotypiques ont notamment porté sur des caractères de résistance aux maladies, de qualité et composition de produit, et d'indicateurs de robustesse. 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.

### 2.2.1 Evaluation de la réponse à la sélection commerciale ou de traces de sélection

Ce sous-chapitre aborde des aspects de réponse à la sélection, observés dans des expérimentations comparant soit un lot témoin et un lot sélectionné sur plusieurs générations (2.2.1.1, 2.2.1.2), soit deux lots sélectionnés pour des objectifs opposés sur plusieurs générations (2.2.1.3). Le dernier projet de ce sous-chapitre utilise une autre approche basée sur des données moléculaires : les régions différentiellement fixées du génome sont observées dans des souches sélectionnées pour des productions différentes (2.2.1.4).

### **2.2.1.1. Premières utilisations des technologies de nez et de langue électroniques pour caractériser la réponse à la sélection chez le bar avec substitutions protéiques et lipidiques (Projet Aqualmapct <https://projects.luke.fi/aquaimpact/>)**

Objectifs du projet : L'objectif de cette action dans le projet Aqualmapct était de compléter la caractérisation de la réponse corrélée à 2,5 générations de sélection commerciale du bar chez EMG-Ichtus sur les caractères qualitatifs de texture, olfactifs et gustatifs de la chair en utilisant pour une première fois en génétique aquacole les technologies de nez et de langue électroniques.

#### État de l'art :

La production des animaux utilisés pour étudier la réponse à 2,5 générations de sélection a été présentée dans les comptes-rendus d'activités du SYSAAF 2021 et 2022 pour les caractères de croissance, de morphologie, de rendement, d'efficacité alimentaire et de rétention lipidique et protéique mais aussi de métabolomes, de stress et d'intégrité du tube digestif. Ils ont déjà fait l'objet de 4 publications scientifiques (Montero et al., 2023 ; Torrecilas et al., 2023 ; Serradell et al., 2023 ; Rimoldi et al., 2023). Lors de toutes ces mesures de réponses, les poissons de chacun des génotypes Témoin Wild Type (WT) ou Sélectionné High Growth (HG) étaient alimentés suivant deux régimes alimentaires isoprotéiques, isolipidiques et isoénergétiques appelés Contrôle (C) ou du futur (SCP) avec substitution :

- des farines de poissons par des protéines de culture bactérienne (SCP ou single cell protein) ou agriculture cellulaire par fermentation méthanotrophique de *Methylococcus capsulatus* naturellement présente dans le tube digestif des poissons (FeedKind®, Calysta, USA) ;
- des huiles de poissons par des huiles de poulet et de microalgues marines riches en DHA (Veramaris, Netherlands).

Il n'existe pas de références scientifiques sur l'impact de la sélection commerciale sur les caractéristiques gustatives et olfactives de la chair de poissons ni en interaction avec de nouvelles sources protéiques ou lipidiques testées. De même, il n'existait pas de références sur l'utilisation des technologies de nez ou de langue électronique pour objectiver ces caractères ici mesurés avec les appareils de langue (Astree) et de nez (FOX 4000) électroniques de l'entreprise Alpha MOS (Toulouse, France).

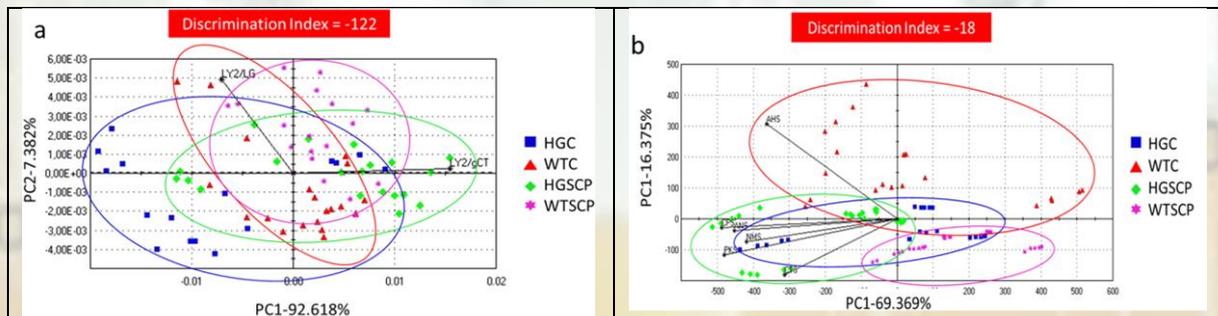
#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Le travail reposait essentiellement sur le travail d'une équipe italienne de l'Université de l'Insubria dont cette partie était leur spécialité. Il y avait donc peu d'aléas, les poissons ayant réussi à être produits et élevés antérieurement par l'entreprise de sélection EMG-Ichtus, l'Ifremer puis l'Université de Las Palmas.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

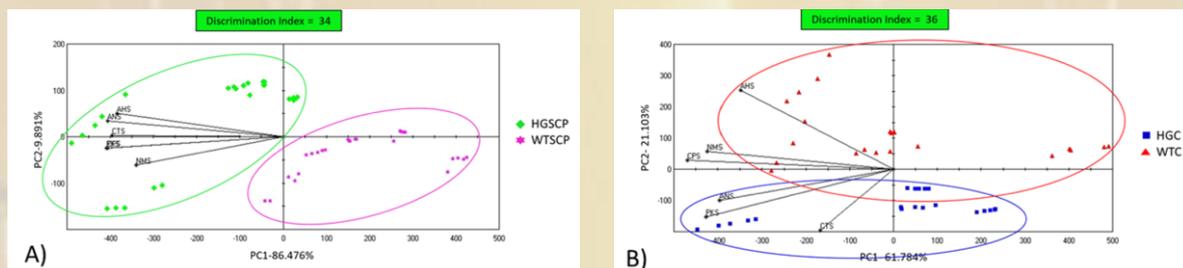
Le travail réalisé en 2023 a principalement résidé dans l'interprétation des résultats et la participation à la rédaction du projet de publication. Les principaux résultats rapportés en termes de texture (Texturomètre TA-XT2, Stable Micro Systems Ltd, UK) sont que ni la sélection ni la substitution alimentaire ne sont associés à un impact sur la texture du filet. Concernant l'analyse de la composition

en acides gras, la sélection réduit la teneur de la chair en AGPI dont EPA et DHA, mais pas de l'animal entier. Les analyses comparatives entre les 4 groupes montrent globalement une absence de différence olfactive en composés volatiles avec le nez électronique avec un chevauchement des groupes comme l'illustre la figure a) suivante. Les analyses gustatives avec la langue électronique montrent figure b) une interaction avec les poissons témoins nourrit avec l'aliment Control.



### Carte olfactive (a) ou gustative (b) obtenues par nez ou langue électroniques

L'analyse gustative entre génotypes avec les mêmes aliments présentée sur la figure suivante montre que les poissons sélectionnés (HG) ou témoins (WT) présentent une signature gustative différente quel que soit l'aliment, complétant l'approche globale précédente.



De façon synthétique, la sélection n'a pas modifié la texture ni les caractéristiques volatiles mais les poissons sélectionnés présentent une qualité gustative différente en fonction des aliments, les poissons Témoins étant plus sensibles au changement d'aliment que les poissons sélectionnés (HG).

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

Ce travail a permis de générer des résultats obtenus de façon originale avec les nouvelles technologies d'E-Sensing. Ils montrent une moindre teneur en acides gras AGPI avec la sélection associée à une qualité gustative différente qui en l'absence d'utilisation d'un jury de dégustation ne permet pas d'associer ces différences à une préférence des consommateurs.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Le projet et les premiers résultats seront présentés lors des Journées Techniques Interfilières du SYSAAF. Un projet de publication a été accepté pour publication en 2024 : Moroni, F., Carvalho M., Di Rosa A.R., Torrecillas, S., Fontanillas, R., Haffray P., Allal, F., Bajek, A., Chiofalo, B., Terova, G., Montero D., 2024. Genetic selection and novel feeds containing bacterial protein as a substitute for fishmeal in European sea bass: effects on growth, fatty acid profile and E-Sensing analysis of fillets. *Aquaculture Reports* 35, 102021, <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102021>

#### Références bibliographiques citées :

Montero, D., Carvalho, M., Terova, G., Fontanillas, R., Serradell, A., Ginés, R., Tuset, T., Acosta, F., Rimoldi, R., Bajek, A., Haffray, P., Allal, F., Torrecillas, S., 2023. Nutritional innovations in superior European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) genotypes: implication on fish performance and feed utilization. *Aquaculture*. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739486>

Torrecillas, S., Rimoldi, R., Montero, D., Serradell, A., Acosta, F., Fontanillas, R., Allal, F., Haffray, P., Bajek, A., 2023. Genotype x nutrition interactions in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): effects on intestinal microbiota and gut health. *Aquaculture*, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739639>

Serradell, A., Montero, D., Terova, G., Rimoldi, S., Makol, A., Acosta, F., Bajek, A., Haffray, P., Allal, F., Torrecillas, S., 2023. Functional additives in selected European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) genotype: Effects on stress response and gill antioxidant response to hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) treatment. *Animals*, 13(14), 2265. <https://doi.org/10.3390/ani13142265>

Rimoldi, S., Montero, D., Torrecillas, S., Serradell, A., Acosta, F., Haffray, P., Hostins, B., Fontanillas, R., Allal, F., Bajek, A., Terova, G., 2023. Genetically superior European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and nutritional innovations: Effects of functional feeds on fish immune response, disease resistance, and gut microbiota. *Aquaculture Reports* 33, 101747. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101747>

### 2.2.1.2. Maximisation de la résistance génétique aux pathogènes chez le bar (projet MedMax)

Objectifs du projet : L'objectif du projet est de faire la démonstration opérationnelle de la supériorité (par rapport à la sélection classique sur collatéraux) des méthodes de sélections génomiques assistées par marqueurs génétiques. Cette évaluation concrète des méthodes mises en place, porteuses d'améliorations futures, a pour objectif de permettre de proposer une offre de services adaptée pour obtenir une efficacité maximale de la sélection au meilleur coût.

#### État de l'art :

Ce projet fait suite au projet FEAMP Gènesea et aux projets H2020 PerformFISH et AquaIMPACT qui ont démontré l'existence de variabilité génétique et donc la faisabilité de la sélection pour la résistance à ces pathogènes en environnement représentatif.

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Nous avons généré deux lots de poissons dont les parents ont été différenciellement sélectionnés pour leurs valeurs génétiques de survie au challenge VNN. Ces parents sont issus de la même génération et ont des valeurs génétiques proches. Pour maximiser et rendre plus facilement observables les différences de performances, il aurait fallu des individus avec des valeurs génétiques plus différentes.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Nous avons challengé 2 lots pour la résistance au VNN. Un lot « Sel » issu de 48 pères sélectionnés pour la résistance au VNN et un lot « Tem » issu de 47 pères de la même génération, représentant un échantillon non sélectionné d'individus. Les 4121 animaux challengés ont été génotypés. Les résultats de survie au challenge sont inattendus car ils sont quasi-identiques entre lot témoin et lot sélectionné. Ceci pourrait être dû à la faible différence de valeurs génétiques entre les lots « Sel » et « Tem ». Nous avons mesuré la corrélation entre les valeurs génétiques des pères et les moyennes de survie des descendants pour chacun de ces pères.

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

Nous avons observé que la corrélation entre les valeurs génétiques des pères et les moyennes de survie était plus forte lorsque les valeurs génétiques des pères était prédites en intégrant l'effet du QTL majeur trouvé dans un précédent projet (Griot et al., 2021). Ainsi, ces travaux montrent qu'il est

impératif d'utiliser les QTL dans les évaluations génétiques afin d'estimer les valeurs génétiques avec le plus de précision possible.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Delpuech, E., Vandeputte, M., Morvezen, R., Bestin, A., Besson, M., Brunier, J., Bajek, A., Imarazene, B., François, Y., Bouchez, O., 2023. Whole-genome sequencing identifies interferon-induced protein IFI6/IFI27-like as a strong candidate gene for VNN resistance in European sea bass. *Genetics Selection Evolution* 55, 1–12.

Delpuech E., Allal F., Besson M., Bajek A., Brunier J., Francois Y., Cousin X., Sourdioux M., Morin T., Haffray P., Phocas F., Vandeputte M., 2023. Trans-generational validation of candidate DNA variants for resistance to Viral Nervous Necrosis and *Vibrio harveyi* in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture Europe 2023*, Vienna, Austria, 19-21 September 2023 (oral).

Delpuech, E., Vandeputte, M., Morvezen, R., Bestin, A., Besson, M., Bajek, A., Brunier, J., Cherbuin, A., Imarazene, B., Morin, T., Francois, Y., Sourdioux, M., Cousin, X., Haffray, P., Phocas, F., Allal, F., 2022. IFI6, an interferon alpha induced protein, identified by whole genome sequencing as involved in Viral Nervous Necrosis resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *International Symposium on Genetics in Aquaculture XIV*, Puerto Varas, Chile, 27 November–2 December 2022 (oral).

Delpuech E., Vandeputte M., Phocas F., Bestin A., Besson M., Bajek A., Brunier J., Cherbuin A., Imarazene B., Morin T., Francois Y., Sourdioux M., Haffray P., Morvezen R., Allal F., 2022. Fine mapping for Viral Nervous Necrosis resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) identified by whole genome sequencing. *Aquaculture Europe 2022*, Rimini, Italy, 27-30 September 2022.

Delpuech, E., Vandeputte, M., Phocas, F., François, Y., Bestin, A., Besson, M., Bajek, A., Brunier, J., Imarazene, B., Bruant J-S., Cousin X, Morin, T., Sourdioux, M., Haffray, P., Morvezen, R., Allal, F., 2022. Cartographie fine de la résistance à la nécrose nerveuse virale chez le bar identifiée par séquençage du génome entier. 7èmes Journées de la Recherche Piscicole, Paris, 5-6 July 2022. <https://www.itavi.asso.fr/publications/cartographie-fine-de-la-resistance-a-la-necrose-nerveuse-virale-chez-le-bar-identifiee-par-sequencage-du-genome-entier>

Delpuech E., Vandeputte M., Phocas F., Bestin A., Besson M., Bajek A., Brunier J., Imarazene B., Sourdioux M., Haffray P., Morvezen R., Allal F., 2022. Whole genome sequencing to refine the detection of QTL for Viral Nervous Necrosis in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Genomics in Aquaculture*, Granada, Spain, 5-7 May 2022.

#### Références bibliographiques citées :

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., 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* 530, 735930. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735930>

### **2.2.1.3. Réponse à la sélection sur caractères de rendement après 3 générations de sélection différentielle chez la truite (Projet RedOUT)**

Objectifs du projet : La possibilité de sélectionner sur les rendements reste aujourd'hui contestée dans le monde scientifique du fait de la complexité du caractère. Un plan de croisement spécifique a été utilisé pour la production de la cohorte expérimentale du projet RedOUT, combinant des mâles et des femelles issus de 2 lignées commerciales de truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), dont une est sélectionnée depuis 3 générations pour améliorer ses performances de rendement à la découpe. Une étude de réponse à la sélection a ainsi pu être menée par la comparaison des performances des individus associés à chacune des lignées.

#### État de l'art :

Le rendement en filet est un caractère modérément héritable (Haffray et al., 2012). Des techniques d'imagerie par échographie ont été développées pour estimer les rendements sur les candidats vivants et améliorer l'efficacité de la sélection pour ce type de caractère (Haffray et al., 2013). Il a été observé chez la truite arc-en-ciel 1,16% de différence de rendement en filet après une génération de sélection généalogique divergente sur caractères de rendements (Vandeputte et al., 2019). Un gain de 4,2% de

rendement carcasse a également été rapporté sur une autre population commerciale en sélection depuis depuis 10 générations pour les caractères de croissance et de rendements, mais sans impact sur le rendement en filet (Vandeputte et al., 2022).

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Les caractères de rendement en chair nécessitent de sacrifier l’animal pour effectuer la mesure, ils ne peuvent par conséquent pas être mesurés directement sur les candidats. De plus leur variation phénotypique est relativement faible, et souvent fortement corrélée au poids de l’individu. L’amélioration génétique des caractères de rendement nécessite donc la mise en place d’une stratégie spécifique pour son implémentation dans les programmes de sélection.

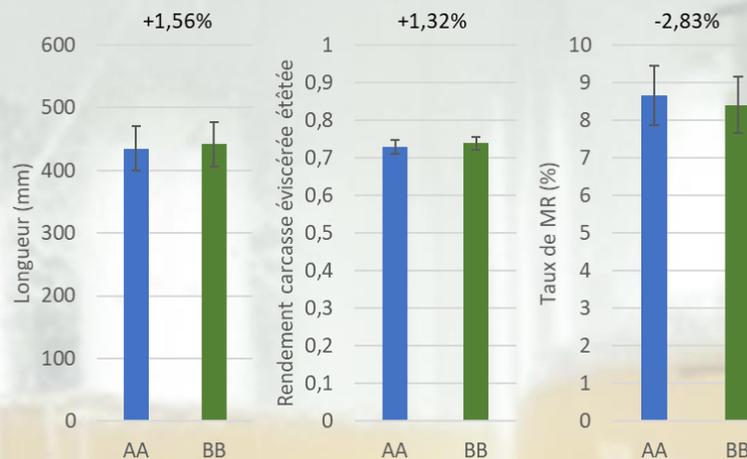
Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Une cohorte expérimentale de truite arc-en-ciel a été produite en décembre 2020 par le croisement de mâles et femelles issus de 2 lignées commerciales A et B sélectionnées différenciellement depuis 3 générations. Les croisements AA et BB ont été regroupés à 9 mois, à un poids moyen de 56,5g et 48,2g respectivement. A 18 mois, les poissons ont été phénotypés pour les caractères de découpe, la quantité de gras sous-cutané a été mesurée grâce à l’IRM d’une darne prélevée lors de la découpe, et la proportion de muscle rouge (MR) a été quantifiée par analyse d’image selon la méthode de référence développée dans le projet. Un prélèvement ADN a été réalisé pour le génotypage, et 214 et 792 poissons ont été réassignés à des parents issus des lignées A et B respectivement.

La réponse à la sélection pour chaque caractère a été étudiée par la comparaison des moyennes des descendants des lignées A et B corrigées du poids moyen du lot au regroupement à 9 mois. Bien qu’il n’y ait pas de différence de poids, les poissons de la lignée B sont plus longs que ceux de la lignée A. Ils ont un rendement tête plus faible, mais un rendement carcasse éviscérée étêtée supérieur de 1,32%. Malgré des taux de gras dans la chair mesurés par Fatmeter significativement différents entre les 2 lignées, le taux de gras sous-cutané mesuré par IRM est semblable. Enfin, la proportion de MR est 2,83% moins importante pour la lignée B.

Caractère	Df	F value	p-value <sub>croisement</sub> Anova
Poids individu	1	1,650	0,200
Longueur individu	1	6,354	0,012
Coefficient de condition K	1	1,522	0,218
Rendement tête	1	5,164	0,024
Rendement carcasse éviscérée	1	0,566	0,453
Rendement viscères	1	1,495	0,223
Rendement carcasse éviscérée étêtée	1	11,000	0,001
Fat2 moyen	1	102,241	<0,001
Taux gras sous-cutanée - IRM	1	0,161	0,689
Taux de MR	1	18,015	<0,001

**Significativité de l’effet du croisement**



### **Moyenne des performances corrigées (ET) en fonction du croisement pour les caractères de longueur, rendement carcasse éviscérée étêtée et taux de MR**

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

Cette étude met en évidence des augmentations significatives de longueur et rendement carcasse éviscérée étêtée après 3 générations de sélection différentielle entre 2 lignées commerciales. Elle confirme l'efficacité de l'intégration des caractères de rendement dans les index de sélection.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Les résultats de ces travaux ont été présentés à la filière au cours de journées de restitutions organisées par le SYSAAF. Ils permettent de valoriser le travail mené en sélection depuis 10 ans.

#### Références bibliographiques citées :

- Haffray, P., Bugeon, J., Pincent, C., Chapuis, H., Mazeiraud, E., Rossignol, M.-N., Chatain, B., Vandeputte, M., Dupont-Nivet, M., 2012. Negative genetic correlations between production traits and head or bony tissues in large all-female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 368–369, 145–152. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.09.023>
- 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. <https://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 Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*, Using Sib Selection or Based on Correlated Ultrasound Measurements. *Front. Genet.* 10, 1225. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01225>
- Vandeputte, M., Corraze, G., Doerflinger, J., Enez, F., Clota, F., Terrier, F., Horat, M., Larroquet, L., Petit, V., Haffray, P., Skiba-Cassy, S., Dupont-Nivet, M., 2022. Realised genetic gains on growth, survival, feed conversion ratio and quality traits after ten generations of multi-trait selection in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, fed a standard diet or a “future” fish-free and soy-free diet. *Aquaculture Reports* 27, 101363. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101363>

#### **2.2.1.4. Analyse des traces de sélection dans les filières avicoles chair et œuf (projet CoDivTraS)**

Objectifs du projet : Les objectifs de CoDivTraS, cofinancé par le GIS Avenir-Elevage sont i) d'identifier des régions homozygotes spécifiques des type génétiques chair ou ponte, ii) de définir leur caractéristiques fonctionnelles, iii) d'améliorer la compréhension des mécanismes biologiques

impliqués dans la réponse à la sélection.

#### État de l'art :

Dans la filière avicole, les objectifs de production de viandes ou d'œufs ont conduit à la sélection de lignées spécialisées et hautement productives pour la croissance musculaire ou pour la ponte. Cette hyperspécialisation s'est accompagnée d'une diminution de capacité reproductive dans les lignées chair et d'une dévalorisation de la carcasse dans les lignées ponte, aboutissant *in fine* au développement de pratiques qui ne sont plus acceptées par les citoyens, tel que l'élimination de plus de 7 milliards de poussins mâles par an dans la filière ponte (Krautwald-Junghanns et al., 2018). Pour des raisons d'éthique et de bien-être animal, cette pratique a été interdite en Allemagne au début de l'année 2022, et en France au 31 décembre 2022. Pour faire face à ces modifications de pratiques, diverses alternatives sont proposées, parmi lesquelles l'utilisation de lignées à double finalité chair et ponte. L'identification de régions génomiques sous sélection dans les lignées commerciales de type chair et ponte est un élément clé pour une meilleure compréhension des mécanismes biologiques ayant conduit à cette spécialisation. L'identification de telles régions, qui peuvent être caractérisées par la présence de segments homozygotes (ROH) sur le génome, pourrait s'avérer utile pour le développement de lignées à double finalité

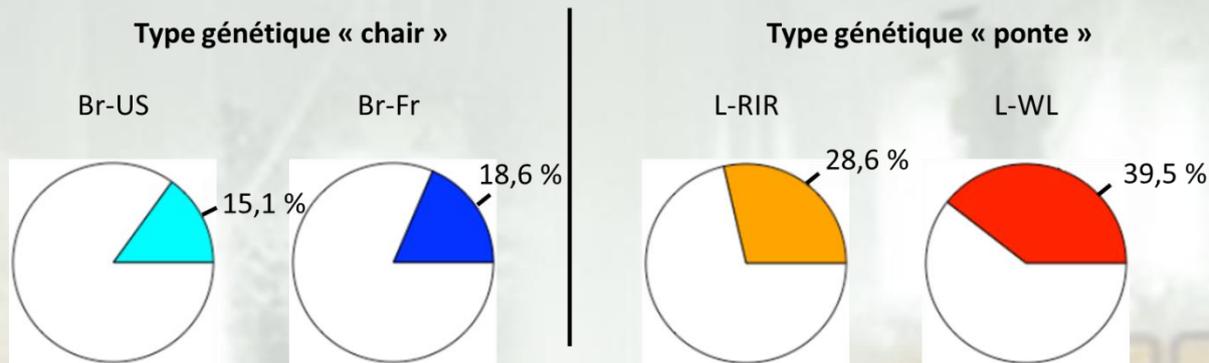
#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Les performances de croissance ou l'efficacité alimentaire des lignées commerciales actuellement affichées double finalité sont encore inférieures à celles des lignées commerciales de type « chair » (Baldinger and Bussemas, 2021a). De même, ces lignées à double finalité pondent moins d'œufs et des œufs de plus petit calibre et consomment plus sur une période de ponte donnée que les lignées commerciales de type « ponte » (Baldinger and Bussemas, 2021b). Des travaux restent donc nécessaires pour l'obtention d'animaux double-fin présentant des niveaux de performance suffisant à la fois sur les caractères de production de chair et d'œufs.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Cette étude repose sur la réutilisation de données de séquençage génomique provenant de 40 individus correspondant à deux lignées pures commerciales de type chair et deux lignées commerciales de type ponte. Vingt individus étaient de type chair (10 d'une lignée commerciale américaine et 10 d'une lignée commerciale française), et vingt individus étaient de type ponte (10 d'une lignée à œufs bruns, et 10 d'une lignée à œufs blancs). Les séquences ont été alignées sur le génome de référence du poulet de chair, puis les variants ont été identifiés et filtrés (logiciels (bwa-0.7.17, samtools-1.16.1, gatk-4.1.7.0, SnpEff-4.3T). Les régions ROH ont été détectées avec le logiciel PLINK v1.09 en utilisant une fenêtre glissante de 300kb, dans lesquelles devaient se trouver au moins 50 SNP, avec au maximum 3 marqueurs hétérozygotes et 5 marqueurs non-génotypés. Les informations de présence/absence de ROH ont ensuite été utilisées pour calculer une matrice de distance entre individus, qui a servi de base pour une classification ascendante hiérarchique. Dans les régions ROH considérées comme spécifiques de l'un ou l'autre des types chair et pondeuse, les gènes présents ont été recherchés dans la base de données Ensembl.

Au total, 2 941 régions ROH ont été identifiées chez la lignée de chair américaine et 3 161 chez la lignée de chair française. Les régions ROH sont plus nombreuses chez les lignées de type ponte, avec 5 122 ROH détectés chez la Rhodes Island et 6 313 chez la White Lgehorn. En termes de spécificité, seules 9 régions ROH ne sont présentes que chez le type ponte, et aucune chez le type chair. Ces régions se situent sur les chromosomes 1, 2, 3, 4 et Z. Cinq de ces régions sont colocalisées avec des QTL ayant des effets sur la qualité ou la quantité des œufs produits. La recherche de gènes dans ces ROH a permis de détecter en particulier le gène TTK protein kinase qui intervient dans la ségrégation des chromosomes lors de la méiose féminine.



### **Couverture génomique des ROH dans le type génétique chair (US – américain et Fr – français) et dans le type génétique ponte (RIR – Rhodes Island et WL-White Leghorn)**

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

Conformément à ce qui avait déjà été montré (Tixier-Boichard et al., 2021), la détection d'un nombre de ROH plus élevé dans les données de séquence des pondeuses que dans celles des poulets de chair met en évidence une variabilité génétique moindre dans le génome des animaux de type « ponte » comparé au génome des animaux de type « chair ». Cette étude préliminaire basée sur l'identification de régions ROH a permis d'identifier 9 régions dans le génome des populations de ponte, dont 1 région portant un gène candidat fonctionnel. Ces résultats très encourageants devront être confortés par un élargissement du jeu de données en utilisant des données génétiques plus nombreuses et provenant de noyaux de sélection variés.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ces travaux ont été présentés aux Journées Techniques Interfilières du SYSAAF (Herault et al. 2023).

#### Références bibliographiques citées :

- Baldinger, L., Bussemas, R., 2021. Dual-purpose production of eggs and meat — Part 1: cockerels of crosses between layer and meat breeds achieve moderate growth rates while showing unimpaired animal welfare. *Organic Agriculture* 11. <https://doi.org/10.1007/s13165-021-00357-z>
- Baldinger, L., Bussemas, R., 2021. Dual-purpose production of eggs and meat—part 2: hens of crosses between layer and meat breeds show moderate laying performance but choose feed with less protein than a layer hybrid, indicating the potential to reduce protein in diets. *Org. Agr.* 11, 73–87. <https://doi.org/10.1007/s13165-020-00328-w>
- Herault, F., Fodil-Chérif, A., Philippe, R., Brard-Fudulea, S., Diot, C., 2023. Analyse de la diversité génétique et des traces de sélection dans les filières avicoles chair et ponte. 6<sup>ème</sup> Journées Techniques Inter-Filières du SYSAAF, Rennes, 11-12 octobre 2023, Rennes.
- Tixier-Boichard, M., Lecerf, F., Héroult, F., Bardou, P., & Klopp, C. 2021. Le projet « Mille Génomes Gallus » : partager les données de séquences pour mieux les utiliser. *INRAE Productions Animales*, 33(3), 189–202. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2020.33.3.4564>

### **2.2.2. Estimation d'héritabilité et de corrélations génétiques entre caractères**

L'intégration dans les objectifs de sélection d'un schéma d'un nouveau caractère nécessite d'une part de vérifier si ce caractère est héritable dans la population, et d'autre part d'estimer les corrélations génétiques nulles, favorables ou défavorables avec les autres caractères du schéma afin d'en tenir compte dans le choix des candidats. Une grande partie des travaux présentés ci-après concerne des caractères de production (2.2.2.1 à 2.2.2.2). Cependant depuis plusieurs années les schémas de

sélection portent de plus en plus leurs efforts de R&D sur des caractères de qualité (2.2.2.3, 2.2.2.4, 2.2.2.5, 2.2.2.6), ou encore de résistance aux maladies (2.2.2.7) ou aux stress thermiques ou hypoxiques (2.2.2.8).

### 2.2.2.1. Estimation des paramètres génétiques du développement du muscle rouge chez la truite (projet 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 flaveur 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. L'estimation des paramètres génétiques relatifs au développement du muscle rouge doit permettre de quantifier la composante génétique de la proportion de muscle rouge. Il s'agit d'un préalable nécessaire pour évaluer la faisabilité de la sélection pour la maîtrise du muscle rouge et envisager son implémentation dans les programmes de sélection.

#### État de l'art :

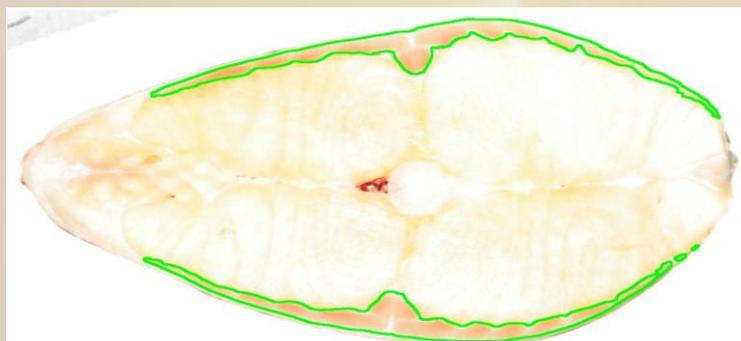
Rares sont les études portant sur les facteurs influençant la proportion de muscle rouge, mais il a été observé chez des lignées isogéniques (Quillet et al., 2005) de fortes différences dans la proportion de muscle rouge (données non publiées). Ces résultats suggèrent la présence d'une composante génétique dans la proportion de muscle rouge. Les calculs 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 (photo, IRM) permettent la mesure de ces déchets de parage.

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Le développement d'une méthode à la fois fiable, répétable et suffisamment rapide pour la quantification du muscle sur près de 1500 poissons représente le principal verrou avant l'estimation de paramètres génétiques associés à ce caractère. Une méthode de mesure par analyse d'images a ainsi été mise au point pour les besoins du projet.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

En 2022, 1436 poissons issus d'une cohorte expérimentale de truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* produite par le croisement des 2 lignées commerciales ont été phénotypés, la partie caudale de chaque individu a été congelée et un prélèvement ADN a été réalisé pour génotypage et assignation de parenté. Une fine tranche de la partie caudale prélevée *a posteriori* été prise en photo pour quantifier le muscle rouge (MR) par intelligence artificielle avec réseau de neurones selon le protocole mis au point au cours du projet.



## **Segmentation du muscle rouge par une méthode d'intelligence artificielle avec réseau de neurones**

Les poissons phénotypés ont été génotypés en 2023 et 1415 individus ont été conservés après filtres qualité des phénotypes, génotypes et assignation. La proportion de MR rapportée à la surface de la darne était en moyenne de 8,52%. Un modèle animal utilisant une matrice de ressemblance génomique a été utilisé pour estimer les paramètres génétiques pour la surface brute de MR (SMR) et la proportion de MR (PMR). Les héritabilités des caractères de surface de MR sont modérées : 0,24 (0,04) pour la surface et 0,32 (0,05) pour la proportion. La corrélation génétique entre les deux caractères est faible (0,50).

	SMR	PMR
SMR	0,24 (0,04)	0,52 (0,10)
PMR		0,32 (0,05)

### **héritabilités (ET ; sur la diagonale) et corrélation génétique (ET ; au-dessus de la diagonale) pour les caractères de surface de muscle rouge**

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

Ce travail inédit a permis d'estimer pour la première fois la composante génétique associée à la quantité de muscle rouge chez la truite arc-en-ciel. La proportion de muscle rouge est un caractère héritable. La diminution du muscle rouge dans les cheptels commerciaux par son intégration dans un programme de sélection génétique est donc envisageable.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Les résultats de ces travaux ont été présentés à la filière au cours de journées de restitutions organisées par le SYSAAF. Ils pourront faire l'objet d'une présentation lors des prochaines Journée de la Recherche Piscicole et lors de congrès internationaux.

#### Références bibliographiques citées :

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>

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>

### **2.2.2.2. Estimation de l'effet fixe stade de mue chez la crevette bleue pour des caractères de production et de couleur**

Objectifs du projet : L'objectif de cette action était de reprendre les données d'un projet précédent « StyliSNIP » afin de quantifier l'importance de l'effet du stade de mue et de ré-évaluer l'intérêt de sa prise en compte sur les estimations de valeurs génétiques dans les programmes de sélection des crevettes conseillés par le SYSAAF.

#### État de l'art :

Dans le projet StyliSNIP sur la crevette bleue, nous avons montré un effet du stade de mue sur la plupart des caractères mesurés (poids et longueur ou couleurs en système  $L^*a^*b^*$  avant et après cuisson et rendement en queue cuite (Enez et al., 2018). Cependant nous n'avons pas quantifié l'importance de cet effet « fixe » sur les performances ni sur les estimations des paramètres génétiques

ou les valeurs génétiques. Nous n'avons pas non plus estimé l'héritabilité des différents stades de mue à un moment précis de mesure sous l'hypothèse que certaines familles seraient plus en avance que d'autre dans le processus de mue, avec une éventuelle interaction entre familles et processus de mue.

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Le travail reposait sur la reprise de données conservées dans la base de données INFAQUA. Il n'y avait pas d'incertitude particulière.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Une interaction entre bassin et stades de mue a été estimée (test de Khi2 entre les caractères 2 à 2,  $p < 0,001$ ) montrant que chacun des bassins ne présente pas la même structure de mue. Dans le tableau suivant, les caractères présentant un effet « stade de mue » sont surlignés en gris avec la plus grande différence entre les catégories de l'ordre de 5,99 % pour le poids cru, 1,55 % pour la longueur corporelle, 1,93 % pour la longueur de la queue, 8,26 % et 8,41 % pour le poids de la queue cuite ou le poids cuit et 2,57 % pour le rendement en queue cuite rapportée au poids cru.

	Stage A	Stage B	Stage C	Stage D	p-value	Différence maximale (%)
Effectifs	388	462	127	213		
Poids cru (g)	14.18 (0.13)	14.59 (0.12)	15.03 (0.22)	14.41 (0.17)	0.006	5,99
Longueur corporelle crue (cm)	12.89 (0.04)	12.99 (0.03)	13.09 (0.06)	12.91 (0.05)	0.025	1,55
Longueur de la tête crue (cm)	5.10 (0.01)	5.12 (0.01)	5.15 (0.03)	5.10 (0.02)	0.210	-
Longueur de la queue crue (cm)	7.79 (0.02)	7.86 (0.02)	7.94 (0.04)	7.82 (0.03)	0.009	1,93
% de tête (%)	39.57 (0.04)	39.46 (0.04)	39.37 (0.08)	39.48 (0.06)	0.271	-
% de queue (%)	60.43 (0.04)	60.54 (0.04)	60.63 (0.08)	60.52 (0.06)	0.271	-
Poids cuit (g)	13.55 (0.13)	14.21 (0.12)	14.69 (0.23)	13.97 (0.18)	<0.001	8,41
Poids queue cuite (g)	7.99 (0.08)	8.32 (0.08)	8.65 (0.15)	8.20 (0.11)	0.001	8,26
Rendement en queue cuite / poids cru (%)	55.96 (0.15)	56.74 (0.14)	57.40 (0.27)	56.56 (0.21)	0.002	2,57
Rendement en queue cuite / poids cuit (%)	58.74 (0.13)	58.41 (0.12)	58.83 (0.23)	58.47 (0.18)	0.064	

#### ***Effet du stade de mue sur les caractères de production chez la crevette bleue***

Les héritabilités estimées des caractères de production sont similaires avec ou sans prise en compte de l'effet « stade de mue » pour le poids cru ( $0,51 \pm 0,11$  vs  $0,53 \pm 0,11$ ), la longueur ( $0,46 \pm 0,10$  vs  $0,47 \pm 0,10$ ), la longueur de la queue ( $0,45 \pm 0,10$ ), le poids cuit ( $0,52 \pm 0,11$ ) le poids de la queue ( $0,50 \pm 0,11$  vs  $0,52 \pm 0,11$ ) ou le rendement en queue ( $0,21 \pm 0,07$ ). Les coefficients de corrélations des valeurs génétiques en considérant ou non les stades de mues par test de corrélations de Pearson ou de Spearman sont similaires et varient entre et 0,9974 et 0,9930. Il est donc conclu que la prise en compte de l'effet « stade de mue » ne modifie pas le classement des candidats (corrélations) ni le progrès potentiel (héritabilité similaire).

La structure de la mue (caractère à seuil en 4 classes de mues) au moment de la mesure estimée la première fois chez un crustacé n'est pas héritable avec des héritabilités avec Remlf90 de  $0.012 \pm 0.019$  ( $h^2 \pm ET$ ) ou avec THRGibbsf90 ([IC 95%]) de  $0.014$  [ $0.001$  ;  $0.194$ ].

Enfin, la recherche d'un prédicteur non léthal du rendement en queue cuite par rapport au poids total cru a permis de montrer l'intérêt de la mesure du ratio longueur de tête / longueur totale ( $r_g = -0,59 \pm$

0,45) ou inversement de façon complémentaire de la longueur de la queue/ longueur totale ( $rg = 0,59 \pm 0,45$ ).

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

Ce travail permet de conclure à l'absence d'intérêt de la prise en compte l'effet fixe « stade de mue » pour estimer les valeurs génétiques des principaux caractères de production malgré sa significativité. Le sur-paramétrage des modèles ne génère pas de biais ou de perte de précision. Enfin la corrélation génétique entre la taille relative de la tête et le rendement en queue, encore jamais rapportée chez un crustacé, pourrait éventuellement permettre d'envisager une sélection sur candidats de façon non létale cependant assez imprécise, l'appréciation des causes des imprécisions, comme des différences d'épaisseurs étant maintenant nécessaire afin de tenter d'aboutir à un prédicteur non létal opérationnel. L'évaluation de l'importance de cet effet sur les caractères de couleur crue ou cuite pourrait aussi être envisagée avec les données disponibles.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Un projet de publication est en cours de rédaction.

#### Références bibliographiques citées :

Enez, F., Lorgeoux, B., Mahunon, H., Bugeon, J., Vandeputte, M., Gagnaire, P-A., Bierne, N., Blanc, P. P., Haffray, P., 2018. Genetic parameters for growth and colour traits in Pacific blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* in a mixed family design with SNP parentage assignment in New-Caledonia. Proceedings of the World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 11, 279. <http://www.wcgalp.org/system/files/proceedings/2018/genetic-parameters-growth-and-colour-traits-pacific-blue-shrimp-litopenaeus-stylirostris-mixed.pdf>

### **2.2.2.3. Estimation des paramètres génétiques de croissance et qualité dans le cheptel OSO de crevette tigrée de Madagascar**

Objectifs du projet : De nombreuses études ont évalué l'héritabilité de certains caractères chez *Penaeus monodon*. Toutefois, aucune de ces études n'a été menée spécifiquement sur la population de crevettes tigrées d'OSO à Madagascar, et très peu se sont penchées sur des caractéristiques cruciales pour les consommateurs, telles que la texture ou la couleur. Il est donc opportun et innovant dans le cadre du schéma de sélection génétique d'évaluer les héritabilités et corrélations génétiques de ces caractères novateurs.

#### État de l'art :

Les héritabilités liées au poids chez la crevette tigrée sont fortes et varient entre 0,39 et 0,48 (Hasan et al, 2020). Ces valeurs sont plus élevées que chez les autres espèces de crevettes où l'héritabilité est en moyenne autour de 0,30 (Hasan et al, 2020). Les valeurs pour la longueur du corps sont relativement similaires et les corrélations phénotypiques et génétiques entre ces 2 caractères ainsi qu'avec les traits morphologiques sont très fortes, autour de 0,80 (Hasan et al, 2020). Le taux de croissance a lui une héritabilité extrêmement variable selon les études et le stade de vie étudié (entre 0,16 et 0,45). Les caractères liés à l'alimentation (efficacité alimentaire, prise alimentaire par exemple) sont fortement héritables, avec des valeurs variant autour de 0,58. En revanche, les caractères liés à la survie et à la reproduction semblent faiblement héritables (héritabilité inférieure à 0,15) et peu corrélés aux autres catégories de paramètres. Cependant, il existe peu d'études sur chacun de ces traits (Hasan et al, 2020). Aucune héritabilité n'est à notre connaissance disponible pour la mesure de texture, mais quelques études ont montré une forte héritabilité de la couleur, notamment chez *L vannamei* (Giang et al. 2019).

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Cette étude est descriptive, les risques associés sont donc limités. Cependant, il s'agissait de la première mise en pratique du panel d'assignation par marqueurs SNPs mis au point en collaboration entre le SYSAAF et OSO, il n'y avait donc pas de recul sur son efficacité ni sur sa puissance. Il s'agissait également de la première étude de grande ampleur utilisant un texturomètre sur la crevette, sans recul sur la pertinence ou l'utilité de cette méthode de phénotypage.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Une cohorte de crevettes issue du programme de sélection d'OSO farming a été phénotypée et génotypée. 1000 animaux ont été pesés, avant et après congélation, ainsi qu'après cuisson. Une mesure en texturométrie a été acquise sur chaque individu avant et après cuisson. La couleur a été évaluée par analyse d'image suite à une prise de photo. Les mêmes animaux ont été génotypés sur un panel Agriseq d'assignation de parenté, comportant 1500 SNPs. Le pedigree a été reconstruit à partir des données de génotypage, et les héritabilités et corrélations génétiques ont été évaluées par l'utilisation de modèles mixtes appropriés. Le tableau suivant résume les principaux résultats d'héritabilité (sur la diagonale) et de corrélation génétiques (au-dessus de la diagonale).

	PoidsCuit	Longueur	RendRes	TextCarap Crue	TextChair Crue	TextCarap Cuit	TextChair Cuit	bZone2Crue	aZone2Cuit
PoidsCuit	<b>0,50±0,09</b>	0,99±0,01	0,16±0,31	0,99±0,02	0,74±0,16	0,92±0,12	0,95±0,05	0,17±0,17	0,22±0,23
Longueur		<b>0,53±0,09</b>	0,11±0,27	0,97±0,03	0,72±0,17	0,92±0,07	0,95±0,05	0,17±0,17	0,20±0,21
RendRes			<b>0,14±0,05</b>	0,22±0,35	-0,02±0,38	0,10±0,32	0,20±0,32	0,15±0,28	0,13±0,34
TextureCarapCrue				<b>0,32±0,08</b>	0,82±0,22	0,89±0,11	NA	0,04±0,21	0,36±0,24
TextureChairCrue					<b>0,16±0,05</b>	0,73±0,22	0,84±0,14	-0,23±0,27	0,25±0,29
TextureCarapCuit						<b>0,19±0,06</b>	0,88±0,17	0,06±0,25	0,43±0,31
TextureChairCuit							<b>0,28±0,07</b>	-0,25±0,20	0,24±0,26
bZone2Crue								<b>0,38±0,08</b>	-0,13±0,37
aZone2Cuit									<b>0,19±0,05</b>

#### ***Héritabilités et corrélations génétiques des caractères d'intérêt chez la crevette tigrée de Madagascar***

Les héritabilités estimées se sont révélées très élevées pour tous les caractères de croissance, avec des corrélations génétiques entre eux proches de l'unité, ce qui suggère qu'un programme de sélection axé sur la croissance pourrait être efficace. En revanche, le rendement présentait une héritabilité faible et était peu corrélé à la croissance. La texture semblait modérément héritable et corrélée aux paramètres de croissance, ce qui suggère qu'une sélection pour la croissance entraînerait également une sélection d'animaux avec une chair plus ferme. En ce qui concerne la couleur, elle était héritable mais non corrélée aux autres paramètres étudiés. Ainsi, une sélection basée sur la croissance n'aurait pas d'impact sur la couleur des crevettes crues et cuites. Cependant, une sélection spécifique sur ce paramètre serait envisageable si un changement vers une autre nuance de couleur était souhaité.

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

Globalement les résultats de cette étude sont extrêmement encourageants pour l'entreprise OSO farming car ils permettent de confirmer l'efficacité de leur technique de reproduction et de leur plan de sélection sur la croissance. L'étude de la texture et la couleur fournit des informations importantes sur les interactions entre les différents paramètres et ouvre des possibilités de sélection future.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Les résultats ont été valorisés lors des journées techniques du SYSAAF en Octobre 2023, et feront l'objet de communication aux JRF 2024 et EAS 2024

#### Références bibliographiques citées :

Giang, C. T., Knibb, W., Muu, T. T., Ninh, N. H., & Nguyen, N. H. (2019). Prospects for genetic improvement in objective measurements of body colour in Pacific Whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Marine Science and Engineering*, 7(12), 460.

Hasan, M. M., Tulloch, R. L., Thomson, P. C., Raadsma, H. W., & Khatkar, M. S. (2020). Meta-analysis of genetic parameters of production traits in cultured shrimp species. *Fish and Fisheries*, 21(6), 1150-1174.

#### **2.2.2.4. Estimation des paramètres génétiques et recherche de QTL pour des caractères de découpe et résistance aux maladies (CONFIDENTIEL)**

#### **2.2.2.5. Estimation des paramètres génétiques pour des caractères de qualité de produits (CONFIDENTIEL)**

#### **2.2.2.6. Première estimation des paramètres et de valeurs génétiques en sélection généalogique chez l'abeille pour la production de miel**

Objectifs du projet : L'objectif est d'estimer les paramètres et les valeurs génétiques pour la production de miel avec un modèle animal à l'aide du pedigree dans une population en sélection. Ces paramètres permettent d'évaluer la faisabilité d'une sélection généalogique avec l'estimation de l'héritabilité ( $h^2$ ) du caractère. L'estimation des valeurs génétiques permet de proposer les futurs reproducteurs pour la génération suivante.

#### État de l'art :

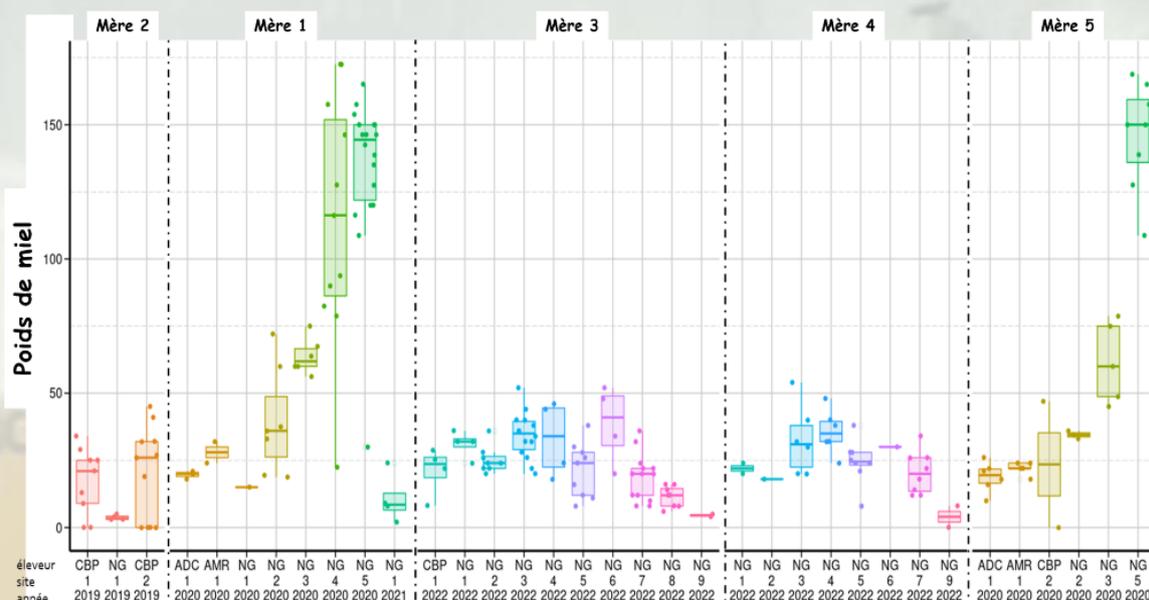
Les ingénieurs du SYSAAF ont effectué une formation en 2022 sur l'utilisation du BLUP pour un modèle animal avec les particularités biologiques, génétiques et la structuration des schémas de sélection en abeilles. Différents travaux existent dans la littérature sur l'estimation des paramètres génétiques (Basso et al., 2024) mais aucun n'existe sur cette population en sélection. En effet, les paramètres génétiques varient d'une population à l'autre en lien avec la structuration de la population, la diversité génétique, le schéma de sélection, etc.

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Il avait été mis en évidence que le jeu de données avait beaucoup de déconnexion : les effets fixes (année de performance, lieu de la ruche) n'étaient pas bien répartis entre les familles, créant une déconnexion entre les effets fixes et la génétique. Une déconnexion trop importante peut causer des difficultés d'estimation des paramètres génétiques et des valeurs génétiques, ou conduire à des résultats peu fiables.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Après un travail important sur le nettoyage du jeu de données, une première analyse phénotypique (valeur brute) a montré qu'une variabilité importante est liée à l'année de collecte et au rucher (emplacement géographique identifié de plusieurs ruches).



### ***Variabilité du poids de miel entre les reines (points) d'une même famille maternelle (entre les lignes en pointillées) et entre les différents ruchers (en couleur)***

Les analyses des paramètres génétiques confirment un effet rucher/année important (+ de 65% de la variabilité observée) et des héritabilités pour la production de miel de 0,45 ( $\pm 0,19$ ) à l'aide d'un modèle ouvrières et de 0,19 ( $\pm 0,11$ ) avec le modèle reine. Les modèles ouvrière et reine ont convergé, c.-à-d. que le jeu de données était de taille et de qualité suffisantes pour estimer les paramètres. Mais on peut voir une variation importante autour de l'estimation de l'héritabilité, montrant une structuration dans les données imparfaite pour une bonne évaluation de ces paramètres. Cela est sûrement lié à la déconnexion dans les données entre les effets génétiques et les effets fixes (année/rucher). Le modèle colonie n'a pas convergé, en lien avec le manque de puissance dans les données pour distinguer les effets génétiques du groupe ouvrières et l'effet maternel rattaché à la reine de la colonie. Les héritabilités obtenues dans cette population restent très bonnes par rapport aux différentes estimations que l'on retrouve dans la littérature (Basso et al., 2024)

Les premières valeurs génétiques ont pu être estimées pour choisir les reproducteurs de l'année 2023. Plusieurs recommandations ont été proposées pour améliorer le schéma de sélection. Une première recommandation concerne la qualité des données afin d'améliorer les futures analyses. Une seconde recommandation porte sur la connexion entre la génétique et l'effet rucher, et a particulièrement été discutée. Les effets de ces améliorations ne seront visibles que lors du traitement des données de 2024.

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

Les travaux ont permis de valider les acquis de la formation BLUP apicole effectuée en 2022 et de confirmer la possibilité de proposer une sélection BLUP à différents groupes de sélection apicole. Les résultats ont été présentés au groupe de sélection de l'Abeille Ligérienne pour l'indexation de leurs reines, et pour la définition de premiers plans de fécondation prenant en compte ces valeurs génétiques ainsi que les liens d'apparement.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Les résultats de ces travaux ont été présentés lors des Journées Techniques Inter-Filière du SYSAAF en 2023.

#### Références bibliographiques citées :

Basso, B., Kistler, T., Phocas, F., 2024. Genetic parameters, trends, and inbreeding in a honeybee breeding program for royal jelly production and behavioral traits. *Apidologie* 55, 11. <https://doi.org/10.1007/s13592-023-01055-3>

### 2.2.2.7. Estimation de paramètres génétiques chez le ver de farine, *Ténébrio molitor*

#### Objectifs du projet :

L'objectif principal du projet est d'assurer la propriété des meilleures lignées génétiques de ténébrion comme avantage stratégique en termes de compétitivité d'une part, et d'améliorer les lignées par sélection génétique pour permettre un bond technologique et productif d'autre part. Pour la deuxième année du projet, le SYSAAF s'est principalement impliqué dans la réalisation des objectifs de la tâche 3 qui étaient de re-estimer les paramètres génétiques de traits d'intérêts, et de mettre en place plusieurs lignées sous sélection chez *Tenebrio molitor*.

#### Etat de l'art :

Malgré le potentiel du vers de farine (*Tenebrio molitor*) en tant que bio-convertisseur et source d'aliment nutritive durable, les méthodes de production en grande quantité de biomasse par cette espèce restent primitives, exigeant un travail manuel important (Cortes Ortiz et al., 2016). En plus de la technologie de production de masse sous-optimale, la production commerciale de *T. molitor* repose actuellement sur un nombre varié de souches présentant des caractéristiques non documentées, qui ont rarement été sélectionnées pour une production optimisée de biomasse. Des travaux antérieurs ont récemment montré qu'il était possible d'optimiser la production de biomasse chez *T. molitor* en sélectionnant des caractéristiques simples telles que la taille de la nymphe (Morales-Ramos et al., 2019). Le projet ŸnFABRE propose de fixer des priorités sur la sélection, l'amélioration génomique et la multiplication des meilleurs spécimens de cette espèce qui a de très grandes potentialités pour l'industrie agro-alimentaire de demain. L'ambition est de produire des souches résistantes et performantes de vers de farine en développant des outils, des méthodes et des structures sur mesure inspirées des dernières technologies de pointe.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

A partir des estimations de paramètres génétiques (héritabilités et corrélations génétiques et phénotypiques), effectuées en première année du projet pour les différentes catégories de phénotypes d'intérêts, nous en avons sélectionné un certain nombre d'entre eux qui ont permis de créer deux lignées principales sélectionnées sur la base des valeurs génétiques (EBVs), et une lignée diversité. Parmi les deux lignées phénotypées, la première est sélectionnée sur des critères de croissance : poids de la puppe (PW), temps de développement (DTEP), gain moyen journalier de masse individualisé entre 63 et 35 jours (ADG35\_63), et digestibilité cumulée à 63 jours (DIC63) ; la deuxième est sélectionnée sur des critères de reproduction : poids des adultes (AW), index rendant compte de la réduction du nombre d'œufs fécondés par ponte, d'une ponte à l'autre (ELDR), taux d'éclosion à 21 jours (EHR) et nombre total d'œufs obtenus pour l'ensemble des pontes (TELC). Ces huit critères ont été inclus dans une même analyse pour réestimer les paramètres génétiques présentés dans le tableau : héritabilités et corrélations génétiques, avec les écart-types entre parenthèses. Ces résultats montrent que la plupart des traits des deux lignées sont négativement corrélés, ce qui implique une sélection divergente entre les deux lignées. Une troisième lignée nommée « diversité », non sélectionnée, a été également mise en place, avec une gestion de l'apparentement optimisée pour éviter la consanguinité. Cette lignée constitue une lignée témoin qui pourra être utilisée pour comparer les performances des deux autres lignées sélectionnées.

Pour toutes ces lignées, des objectifs spécifiques de sélection sont définis et les générations successives de Ténébrions sont produites de façon indépendante.

	PW	AW	DTEP	ELDR	TELC	EHR	ADG35_63	DIC63
PW	<b>0.51 (0.01)</b>	0.99 (0.001)	0.67 (0.02)	-0.37 (0.04)	0.27 (0.04)	-0.18 (0.03)	0.32 (0.03)	0.15 (0.04)
AW		<b>0.47 (0.01)</b>	0.68 (0.02)	-0.36 (0.04)	0.30 (0.04)	-0.16 (0.03)	0.29 (0.03)	0.16 (0.05)
DTEP			<b>0.25 (0.01)</b>	-0.48 (0.04)	0.16 (0.06)	-0.22 (0.03)	-0.40 (0.03)	0.55 (0.05)
ELDR				<b>0.21 (0.02)</b>	0.005 (0.07)	-0.01 (0.04)	0.18 (0.05)	-0.07 (0.05)
TELC					<b>0.22 (0.02)</b>	-0.26 (0.04)	0.18 (0.06)	-0.05 (0.07)
EHR						<b>0.40 (0.01)</b>	0.25 (0.04)	-0.16 (0.05)
ADG35_63							<b>0.33 (0.02)</b>	-0.47 (0.06)
DIC63								<b>0.20 (0.02)</b>

**héritabilités (diagonale) et corrélations génétiques (hors-diagonale) des caractères de reproduction et de croissance pour les deux lignées sous sélection. Les erreurs-standards sont entre parenthèses**

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

La mise en place de lignées sous sélection constitue un enjeu stratégique pour la filière Ténébrion, car ces lignées améliorées permettront à Ynsect d'être autonome dans la production de biomasses quantitatives et qualitatives, répondant à des critères d'intérêts spécifiques.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ce travail a été présenté à l'adhérent lors de plusieurs réunions successives, et un rapport annuel d'activité de projet a été produit et rendu à l'adhérent.

Références bibliographiques :

Cortes Ortiz, J. A., A. T. Ruiz, J. A. Morales-Ramos, M. Thomas, M. G. Rojas, J. K. Tomberlin, L. Yi, R. Han, L. Giroud, and R. L. Jullien. 2016. Insect mass production technologies, pp. 154–201. In A. T. Dossey, J. A. Morales-Ramos, and M. G. Rojas (eds.), *Insects as sustainable food ingredients: production, processing and food applications*. Academic Press, San Diego, CA.

Morales-Ramos J. A., Hans C. Kelstrup, M. Guadalupe Rojas, and V. Emery 2019. Body Mass Increase Induced by Eight Years of Artificial Selection in the Yellow Mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) and Life History Trade-offs. *Journal of Insect Science*, 19 (2) : 4; 1–9

### 2.2.2.8. Corrélations génétiques des challenges contrôlés hypoxie et hyperthermie (projet Hypotemp)

Objectifs du projet : La truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) est un poisson poïkilotherme, ce qui en fait un animal particulièrement sensible aux variations de qualité de l'eau, notamment la température et la teneur en oxygène. Le projet Hypotemp a pour objectif d'investiguer les possibilités de sélection pour des poissons plus robustes aux variations de conditions de milieux. Cette étude présente les résultats d'estimation des corrélations génétiques des réponses à deux challenges contrôlés d'hyperthermie et d'hypoxie.

État de l'art :

L'amélioration génétique des poissons pour leur résilience face à un environnement d'élevage variable apparait comme un enjeu majeur dans le contexte actuel de changement climatique (Allal and Nguyen, 2022). Le caractère génétique de la réponse à des stress hyperthermiques et hypoxiques aigus a déjà été démontré chez la truite arc-en-ciel au cours du projet Hypotemp. Ainsi l'héritabilité associée à un challenge contrôlé hyperthermique a été évaluée à 0,29 (Lagarde et al., 2023), et celle pour un challenge contrôlé hypoxique a été estimée à 0,24 (Prchal et al., 2023).

### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

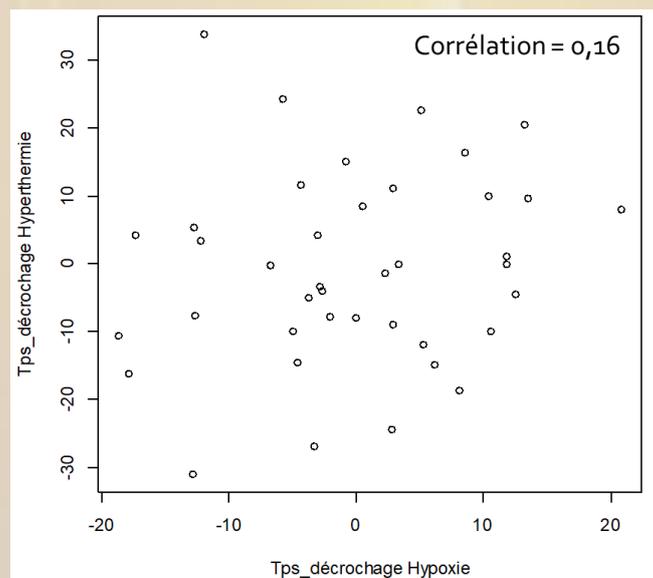
Malgré l'évidence du caractère génétique dans la réponse à des stress hyperthermiques et hypoxiques, la répétabilité de ces challenges contrôlés sur des populations différentes reste à valider. La capacité des installations expérimentales pour la réalisation des challenges contrôlés limite le nombre de poissons testables et leur taille.

### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Une cohorte expérimentale a été produite en décembre 2020 à partir d'un croisement spécifique incluant 40 mâles et 40 femelles de 2 lignées commerciales A et B de truite arc-en-ciel. Les 4 groupes créés ( $\sigma^7A \times \phi^7A$ ,  $\sigma^7A \times \phi^7B$ ,  $\sigma^7B \times \phi^7A$ ,  $\sigma^7B \times \phi^7B$ ) ont été élevés séparément jusqu'aux challenges. Le challenge hyperthermique s'est déroulé durant 4 jours en juillet 2021 à un poids moyen de 52,17g avec un protocole comparable à Lagarde et al. (2023). Le challenge hypoxique s'est également étalé sur 4 jours en septembre 2021 selon un protocole semblable à celui décrit par Prchal et al. (2023) sur des poissons d'un poids moyen de 81,20g. Pour chaque jour de challenge, environs 50 individus de chacun des 4 groupes ont été mélangés pour en tester environs 200 par jour. L'heure au moment du décrochage des poissons a été enregistrée individuellement. A la fin du challenge, chaque poisson a été pesé et un prélèvement d'ADN a été réalisé pour génotypage afin de reconstituer le pedigree. Ainsi 547 poissons sur le challenge hyperthermique et 747 sur le challenge hypoxique ont pu être phénotypés, génotypés et assignés à parenté, soit un total de 1294 individus utilisables pour les analyses génétiques. Les héritabilités du nombre de minutes avant décrochage pour chacun des challenges ont été estimées avec un modèle animal incluant les effets du poids au challenge, du jour de challenge et du type de croisement. La température au décrochage lors du challenge hyperthermique a également été analysée.

L'héritabilité au challenge hypoxique est de  $0,24 \pm 0,10$ . Pour le challenge hyperthermique, l'héritabilité a été estimée à  $0,38 \pm 0,09$  pour le caractère de temps avant décrochage, et à  $0,33 \pm 0,09$  pour la température au décrochage.

La corrélation génétique entre les 2 challenges, objectif des travaux de 2023, n'a finalement pas pu être estimée en raison de problèmes de convergence des analyses. Néanmoins l'étude des moyennes de temps avant décrochage par famille paternelle ne fait apparaître aucune corrélation entre les challenges hypoxique et hyperthermique, suggérant que les variabilités génétiques de ces 2 caractères sont faiblement corrélées.



***Corrélation familiale entre les temps avant décrochage des challenges hyperthermiques et hypoxiques***

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

Ces travaux ont permis de valider les héritabilités aux challenges contrôlés à l'hyperthermie et l'hypoxie sur une autre population de truite arc-en-ciel. Ces premiers résultats n'ont pas montré de corrélation entre les challenges hyperthermique et hypoxique, mais doivent encore être confirmés sur une population plus importante.

### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Les résultats de ces travaux ont été présentés à la filière au cours de journées de restitutions organisées par le SYSAAF. Ils pourront faire l'objet d'une présentation lors des prochaines Journée de la Recherche Piscicole et lors de congrès internationaux.

### Références bibliographiques citées :

Allal, F., Nguyen, N.H., 2022. Genomic Selection in Aquaculture Species, in: Ahmadi, N., Bartholomé, J. (Eds.), Complex Trait Prediction, Methods in Molecular Biology. Springer US, New York, NY, pp. 469–491. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2205-6\\_17](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2205-6_17)

Lagarde, H., Lallias, D., Patrice, P., Dehaullon, A., Prchal, M., François, Y., D'Ambrosio, J., Segret, E., Acin-Perez, A., Cachelou, F., Haffray, P., Dupont-Nivet, M., Phocas, F., 2023. Genetic architecture of acute hyperthermia resistance in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and genetic correlations with production traits. *Genet Sel Evol* 55, 39. <https://doi.org/10.1186/s12711-023-00811-4>

Prchal, M., D'Ambrosio, J., Lagarde, H., Lallias, D., Patrice, P., François, Y., Poncet, C., Desgranges, A., Haffray, P., Dupont-Nivet, M., Phocas, F., 2023. Genome-wide association study and genomic prediction of tolerance to acute hypoxia in rainbow trout. *Aquaculture* 565, 739068. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.739068>

## **2.2.3. Estimation de dominance et d'interactions génétique-environnement**

Les paragraphes précédents portaient sur des études multi-caractères présentant des relations simples, c'est-à-dire des corrélations génétiques négatives ou positives. D'autres interactions plus complexes sont possibles. Dans ce sous-chapitre, ce sont des effets de dominance pour un même caractère qui ont été investigués (2.2.3.1) et des effets génétique-milieu (2.2.3.2).

### **2.2.3.1. Estimation des effets de dominance pour des caractères de production et de découpe chez la truite (projet RedOUT)**

Objectifs du projet : En génétique quantitative, l'effet de dominance pour un phénotype s'oppose au principe d'effet génétique additif, qui par définition suppose que la valeur génétique des descendants d'un couple correspond à la moyenne de leurs parents. Un effet de dominance se caractérise par une version d'un allèle ou une combinaison d'allèles qui s'exprime plus fortement que les autres versions. L'étude vise à déterminer si des effets de dominance sont observables pour des caractères de production et de découpe chez la truite arc-en-ciel.

#### État de l'art :

Peu d'études investiguent la dominance en aquaculture, notamment en raison des plans de croisement classiquement utilisés qui ne permettent pas de capter avec précision cet effet. Des effets de dominance pour les caractères de poids ont été rapportés chez la truite fario *Salmo trutta* (Vandeputte et al., 2002), le saumon coho (Gallardo et al., 2010), le tilapia (Joshi et al., 2018) et la carpe (Wang et al., 2006). Mais à ce jour aucun travaux n'a rapporté d'effet de dominance ou de vigueur hybride chez la truite arc-en-ciel.

### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Dans le cadre du projet RedOUT, un protocole expérimental a été mis en place avec l'objectif d'estimer les effets génétiques additifs. Plusieurs groupes d'individus issus de croisements de 2 lignées commerciales distinctes de truite-arc-en-ciel ont été produits. L'étude des effets de dominance a ainsi été rendu possible, mais uniquement par la comparaison des performances moyennes de chaque groupe en raison du nombre limité d'individus par croisement.

### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Une cohorte expérimentale de truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* a été produite en décembre 2020 par le croisement de mâles et femelles ( $\sigma^7A \times \phi^8A$ ,  $\sigma^7A \times \phi^8B$ ,  $\sigma^7B \times \phi^8A$ ,  $\sigma^7B \times \phi^8B$ ) issus de 2 lignées commerciales A et B sélectionnées différenciellement depuis 3 générations. Les 4 croisements ont été regroupés pour un élevage en commun à 9 mois. A 18 mois, 1436 poissons issus de cette cohorte ont été phénotypés et génotypés à partir d'un prélèvement ADN pour reconstituer leur pedigree. Des caractères de découpe ont été enregistrés, et la proportion de muscle rouge a été mesurée par analyse d'image selon la méthode de référence développée dans le projet.

En 2023, l'effet de dominance pour chaque caractère a été étudié par la comparaison des moyennes des croisements corrigées du poids moyen du lot au regroupement à 9 mois. Une analyse de variance a été utilisée pour tester la significativité de l'effet du croisement. En cas de significativité, la comparaison des croisements 2 à 2 a été réalisée à l'aide d'un test de Tukey.

Des différences entre les croisements sont observables sur les poids des compartiments (tête, viscères, carcasse). Les poissons de la lignée A ont des têtes plus grosses et un taux de gras sous-cutané plus faible, alors que les rendements carcasses éviscérées étêtés et la longueur sont significativement plus élevés pour la lignée B qui a été sélectionnée sur la croissance tardive et sur les rendements technologiques. La proportion de muscle rouge est moins importante sur la lignée B, dont une partie des objectifs de sélection repose sur la diminution des déchets de parage dont le muscle rouge fait partie. Nos résultats n'ont pas permis de déceler d'effet de dominance parmi les caractères étudiés, qu'il s'agisse de la croissance, du rendement, ou de la quantité de tissu adipeux.

Caractères	p-value <sub>croisement</sub> Anova	Ecart à la moyenne			
		AA	AB	BA	BB
Poids individu (g)	0,644	-35,70	+10,90	-2,49	+13,10
Longueur individu (mm)	0,016	-3,00	+4,61	-1,41	+3,80
Coefficient de condition K (%)	0,628	+0,01	-0,07	-0,13	-0,16
Fat2 (%)	<0,001	-1,02	+0,20	-0,11	+0,76
Poids viscères (g)	0,028	-2,13	+2,16	-4,59	-1,30
Rendement viscères (%)	0,381	-0,05	-0,06	-0,13	-0,28
Poids carcasse éviscéré (g)	0,374	0,00	0,00	0,00	0,00
Rendement carcasse éviscéré (%)	0,854	0,00	0,00	0,00	0,00
Poids tête (g)	0,024	+1,54	+5,62	-4,83	-0,67
Rendement tête (%)	0,010	+0,41	+0,35	-0,41	-0,15
Poids carcasse éviscéré étêté (g)	0,019	-12,28	+26,68	-18,39	+9,67
Rendement carcasse éviscéré étêté (%)	0,001	-0,50	-0,30	+0,33	+0,46
Surface darne (mm <sup>2</sup> )	0,051	-24,04	+50,88	-46,59	+10,83
Surface muscle rouge (mm <sup>2</sup> )	0,017	+0,93	+4,62	-6,57	-1,52
Taux muscle rouge (%)	<0,001	+0,13	+0,01	-0,11	-0,11

### **Significativité de l'effet du croisement et écart de la moyenne de chaque croisement à la moyenne générale**

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

L'absence de vigueur hybride pour les caractères de croissance et de rendement confirme le caractère additif des effets génétiques qui leurs sont associés chez la truite arc-en-ciel. La mise en place de croisements à des fins d'exploitation d'un effet d'hétérosis entre lignées n'apparaît donc pas une stratégie intéressante à mettre en place chez cette espèce au regard des résultats cette étude, contrairement au schéma de sélection couramment utilisés chez le porc ou en volaille (Phocas et al., 2016).

### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Les résultats de ces travaux ont été présentés à la filière au cours de journées de restitutions organisées par le SYSAAF. Ils feront l'objet d'une présentation lors des prochaines Journées de la Recherche Piscicole et lors de congrès internationaux.

### Références bibliographiques citées :

- Gallardo, J.A., Lhorente, J.P., Neira, R., 2010. The consequences of including non-additive effects on the genetic evaluation of harvest body weight in Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Genet Sel Evol* 42, 19. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-42-19>
- Joshi, R., Woolliams, J., Meuwissen, T., Gjøen, H., 2018. Maternal, dominance and additive genetic effects in Nile tilapia; influence on growth, fillet yield and body size traits. *Heredity* 120, 452–462. <https://doi.org/10.1038/s41437-017-0046-x>
- Phocas, F., Belloc, C., Bidanel, J., Delaby, L., Dourmad, J.Y., Dumont, B., Ezanno, P., Fortun-Lamothe, L., Foucras, G., Frappat, B., González-García, E., Hazard, D., Larzul, C., Lubac, S., Mignon-Grasteau, S., Moreno, C.R., Tixier-Boichard, M., Brochard, M., 2016. Review: Towards the agroecological management of ruminants, pigs and poultry through the development of sustainable breeding programmes. II. Breeding strategies. *Animal* 10, 1760–1769. <https://doi.org/10.1017/S1751731116001051>
- Vandeputte, M., Quillet, E., Chevassus, B., 2002. Early development and survival in brown trout (*Salmo trutta fario* L.): indirect effects of selection for growth rate and estimation of genetic parameters. *Aquaculture* 204, 435–445. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00829-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00829-8)
- Wang, C.-H., Li, S.-F., Xiang, S.-P., Wang, J., Liu, Z.-G., Pang, Z.-Y., Duan, J.-P., Xu, Z.-B., 2006. Additive, dominance genetic effects for growth-related traits in common carp, *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture Res* 37, 1481–1486. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2006.01585.x>

### **2.2.3.2. Estimation des interactions GxE entre différents sites d'élevage sur le littoral français pour la survie au 1er été chez l'huître creuse *C. gigas* (projet SCORE)**

Objectifs du projet : Une interaction génotype-environnement se caractérise pour un caractère par un classement différent des familles dans deux environnements différents. Considérer ce paramètre est un point crucial lors de l'élaboration d'un programme de sélection, en particulier chez l'huître creuse qui est élevée dans des environnements ouverts très variables. Cette étude a ainsi pour objectif d'évaluer les interactions génotype-environnement associées à la survie au premier été en mer à travers 7 sites représentant les principales zones conchylicoles françaises.

### État de l'art :

Un grand nombre d'études consacrées à l'estimation des interactions génotype-environnement ont déjà été menées en aquaculture (Sae-Lim et al., 2016). Chez l'huître, la base génétique de la survie au premier été a déjà été largement démontré, mais l'étude des interactions génotype-environnement qui y sont associées se sont concentrées sur un nombre limité de sites le long du littoral français (Dégremont et al., 2005). Plusieurs facteurs ont été investigués pour expliquer les mortalités, suggérant un fort impact des conditions environnementales (de Melo et al., 2018).

### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Au cours de la présente étude, les conditions environnementales sur les sites de testage n'ont pas été suivies au cours du challenge. Seule la survie à la fin de l'été a été enregistrée, les divers facteurs environnementaux pouvant influencer sur la survie n'ont donc pu être intégrés dans les analyses. Le très grand nombre d'individus challengés et l'élevage en familles séparées qui a été réalisé ont complexifié la convergence des traitements génétiques.

### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

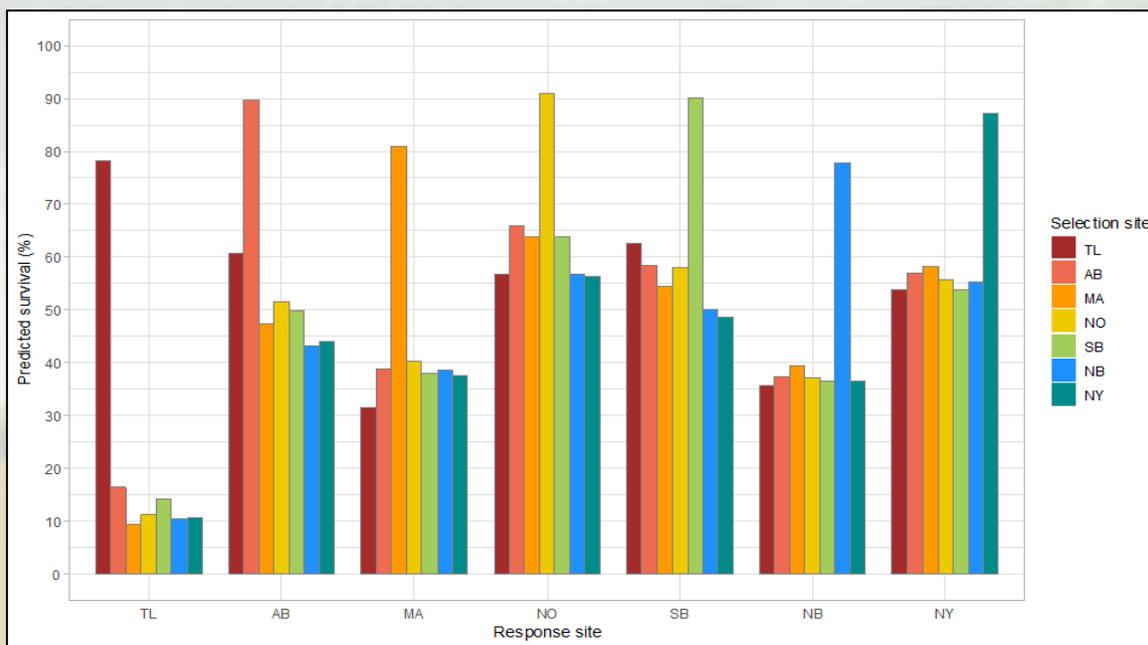
Un total de 121 familles d'huitre creuse *Crassostrea gigas* réparties en 2 cohortes ont été produites en septembre 2012 (C1) et février 2013 (C2) à partir de 20 mâles et 19 femelles d'une part et de 12 mâles et 21 femelles d'autre part. Près de 565000 naissains ont été placés au printemps 2013 sur 7 sites de testage le long des côtes méditerranéennes et atlantiques françaises (NY : Normandie, NB : Bretagne Nord, SB : Bretagne Sud, NO : Noirmoutier, MA : Marennes, AB : Arcachon, TL : Thau). Les mortalités subies ont été relevées en octobre 2013.

Ces données ont été analysées en 2023 à partir d'un modèle animal pour estimer les héritabilités sur chaque site et chaque cohorte. Les interactions génotypes-environnement ont été estimées à partir des corrélations génétiques entre sites 2 à 2 estimées avec des modèles bicaractères. Sur la base des paramètres génétiques estimés sur la cohorte C1, la survie théorique sur chaque site après 10 générations de sélection massale a été calculée en fonction du site où la sélection est opérée.

Les taux de survie varient en fonction des sites de 3,6% à 19,3% pour C1 et de 1,3% à 9,1% pour C2. Les héritabilités sont comprises entre 0,22 et 0,35 selon les sites, et une héritabilité de 0.24 [0,20;0,27] a été estimée en incluant l'ensemble des données. Les corrélations génétiques sont relativement fortes (>0,80) entre la majorité des sites de la côte atlantique. En revanche, la survie sur le site méditerranéen de Thau est génétiquement peu corrélée aux autres sites. D'après les prédictions de survie, l'efficacité de la sélection est maximale lorsque la sélection est opérée sur le site lui-même. Les gains de survie sont environs deux fois moins importants lorsque la sélection est réalisée sur un site distinct pour la côte atlantique. Ces résultats de survie attendue confirment la spécificité du site de Thau pour lequel une sélection sur un site distinct ne permettra pas de générer un progrès substantiel.

Sites	TL	AB	MA	NO	SB	NB	NY
TL	0.22 [0.15;0.29]	0.37 [0.19;0.59]	0.30 [0.10;0.52]	0.58 [0.28;0.74]	0.48 [0.24;0.64]	0.32 [0.03;0.61]	0.26 [0.04;0.48]
AB		0.28 [0.23;0.34]	0.81 [0.67;0.87]	0.54 [0.34;0.69]	0.78 [0.65;0.88]	0.62 [0.42;0.76]	0.75 [0.60;0.83]
MA			0.34 [0.28;0.39]	0.68 [0.52;0.78]	0.81 [0.70;0.88]	0.74 [0.63;0.84]	0.87 [0.79;0.91]
NO				0.33 [0.23;0.40]	0.69 [0.52;0.81]	0.70 [0.49;0.83]	0.70 [0.55;0.80]
SB					0.33 [0.26;0.39]	0.74 [0.55;0.84]	0.77 [0.63;0.88]
NB						0.27 [0.18;0.36]	0.80 [0.65;0.88]
NY							0.35 [0.28;0.41]

**héritabilités [IC 95%] pour la survie sur chaque site (sur la diagonale) et corrélations génétiques entre sites [IC 95%] (au-dessus de la diagonale)**



### ***Prédictions de survie (%) sur les différents sites en fonction du site de sélection après 10 générations de sélection massale***

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

Les résultats de ces travaux permettent de constater la spécificité du site d'élevage méditerranéen vis-à-vis de la réponse à la sélection en comparaison aux sites et méthodes d'élevage utilisés sur la côte atlantique. Ils démontrent la nécessité de mettre en place d'une stratégie adaptée pour que l'ensemble de la filière puisse bénéficier des progrès génétiques générés par les programmes de sélection.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Une publication scientifique de présentation de ces travaux est en cours de finalisation. Les derniers résultats de ces travaux feront l'objet de présentations lors de prochaines journées techniques à destination de la filière conchyicole.

#### Références bibliographiques citées :

de Melo, C.M.R., Morvezen, R., Durland, E., Langdon, C., 2018. Genetic by Environment Interactions for Harvest Traits of the Pacific Oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) across Different Environments on the West Coast, USA. *Journal of Shellfish Research* 37, 49–61. <https://doi.org/10.2983/035.037.0104>

Dégremont, L., Bédier, E., Soletchnik, P., Ropert, M., Huvet, A., Moal, J., Samain, J.-F., Boudry, P., 2005. Relative importance of family, site, and field placement timing on survival, growth, and yield of hatchery-produced Pacific oyster spat (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture* 249, 213–229. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.03.046>

Sae-Lim, P., Gjerde, B., Nielsen, H.M., Mulder, H., Kause, A., 2016. A review of genotype-by-environment interaction and micro-environmental sensitivity in aquaculture species. *Reviews in Aquaculture* 8, 369–393. <https://doi.org/10.1111/raq.12098>

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

L'objectif de cet axe de R&D est d'œuvrer pour le maintien et l'amélioration de la compétitivité des acteurs de la génétique bénéficiant d'un appui du SYSAAF. Cet axe se décline en une 1<sup>ère</sup> tâche visant à développer et optimiser les schémas de sélection, et une 2<sup>nde</sup> portant sur l'intégration dans les schémas de nouveaux caractères à portée agroécologique ou répondant à des attentes sociétales.

Pour les entreprises ou les organismes ne réalisant pas encore de sélection, le 1<sup>er</sup> pas vers une recherche de compétitivité dans le secteur de la génétique consiste à développer et mettre en place un schéma de sélection. Cette étape nécessite des travaux de R&D, en particulier pour les espèces et populations nouvellement sélectionnées. L'optimisation des schémas de sélection avicoles, aquacoles et entomocoles peut ensuite être envisagée via différents leviers. Dans une démarche de recherche d'efficacité, les travaux de simulation des schémas peuvent apporter des éléments de décision pour un dimensionnement et/ou une organisation optimale du schéma en fonction des objectifs du sélectionneur en termes de progrès génétique et de gestion de la diversité, et de ses moyens. La compétitivité des schémas peut également être améliorée via la mise en place de la sélection génomique, et si possible en minimisant les coûts de génotypage. Cette réduction des coûts peut être recherchée par différents procédés nécessitant une phase de R&D préalable : recours à l'imputation, amélioration du clustering pour maximiser l'information extraite d'un outil de génotypage donné, ou bien encore remplacement de l'information génomique par une information de type spectrale plus abordable. Enfin, tout schéma de sélection génère un volume important de données, nécessitant à la fois des outils de saisie et de stockage adaptés au schéma de sélection, et ensuite des scripts de traitement répondant aux besoins à la fois en termes de rapidité de traitement des données, et en termes d'informations apportées aux sélectionneurs pour la gestion de leur schéma. Des phases de R&D sont nécessaires pour la création, l'adaptation et l'optimisation de ces outils qui sont au cœur du métier du sélectionneur.

Au-delà de l'efficacité des schémas, des premières étapes de leur conception à la collecte jusqu'au traitement des données, les travaux de R&D portent également sur la prise en compte de nouveaux enjeux. Dans la plupart des filières, les premiers travaux de sélection portent sur l'augmentation de la production (volumes, quantités). Ces dernières années ont vu apparaître de nouveaux enjeux pour la sélection, dont en particulier des attentes sociétales en matière de bien-être animal, et la nécessité de préparer les animaux aux changements agroécologiques. La prise en compte de ces besoins est un enjeu majeur pour les entreprises de sélection, et font l'objet de travaux de R&D pour arriver à une prise en compte de ces attentes dans les schémas de sélection.

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

##### 3.1.1. Compétitivité via le pilotage et l'optimisation de schémas

En espèces aquacoles, certaines espèces ne disposent pas encore de schéma de sélection, malgré la nécessité d'améliorer les populations pour des caractères d'intérêt. C'est par exemple le cas pour le silver bard et le panga, élevés au Cambodge, pour lesquels une mission de R&D a été réalisée afin d'accompagner la mise en place de programmes de sélection pour ces espèces, en s'appuyant sur les connaissances déjà obtenues sur les espèces aquacoles déjà en sélection au SYSAAF (3.1.1.1). Parmi ces espèces dont la sélection est déjà maîtrisée figure le bar. Un précédent programme de recherche a estimé qu'un gain substantiel de niveau génétique serait possible sur la résistance à des maladies, en utilisant des évaluations génomiques pour maximiser le progrès. Cependant, le prix du génotypage doit être pris en compte. Pour optimiser le schéma en termes de coûts et de gain phénotypique, des

simulations fines du schéma de sélection et de ses variantes peuvent être réalisées. Ce type de travaux ont été conduits dans le cadre du projet MedMax (3.1.1.2). Chez la mouche soldat noire, les toutes premières preuves de concept de sélection ont été réalisées en se basant sur des schémas de sélection massale, sans enregistrement du pedigree (3.1.1.3). Un projet réalisé en 2023 a permis de modéliser un schéma de sélection généalogique pour cette espèce, en prenant en compte dans les hypothèses les modalités d'enregistrement du pedigree de la BSF (3.1.1.4). Enfin, toujours chez la mouche soldat noire, des travaux originaux de modélisation ont été conduits afin de prédire l'évolution de la consanguinité dans une population fermée et dont la base de sélection est initialisée par des croisements consanguins.

### 3.1.1.1. Définition de schémas de sélection piscicoles pour le FiA au Cambodge (programme EISACam)

Objectifs du projet : Le SYSAAF est partenaire de l'IRD dans l'appel d'offre « IT1 Hatcheries development and Research for Ecological Intensification System » de l'appel à projet CapFish (30 M€) de l'Union Européenne pour soutenir le développement des pêches et de l'aquaculture au Cambodge dans le cadre du projet. Dans ce projet, le SYSAAF doit aider l'administration Cambodgienne responsable des pêches et de l'aquaculture, le FiA (Fisheries Administration). L'objectif de la participation du SYSAAF est la définition et la mise en œuvre de 2 programmes de sélection piscicoles dans les 2 centres de recherche du NARDI et du FARDEC.

#### État de l'art :

La production aquacole cambodgienne (500 000 T) repose sur de l'auto-production de juvéniles de production et l'importation, principalement en provenance du Vietnam et de la Thaïlande (Joffre et al., 2010 ; Ministry of Agriculture, 2017). Le Cambodge ne dispose pas de compétence en amélioration génétique des espèces aquacoles et aucun programme de sélection n'est encore initié malgré le très grand nombre d'espèces élevées. Les priorités d'espèces à sélectionner ne sont pas non plus définies.

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Les incertitudes reposent sur la capacité des partenaires cambodgiens à définir leurs besoins ainsi que du système pour mettre en œuvre pratiquement les recommandations.

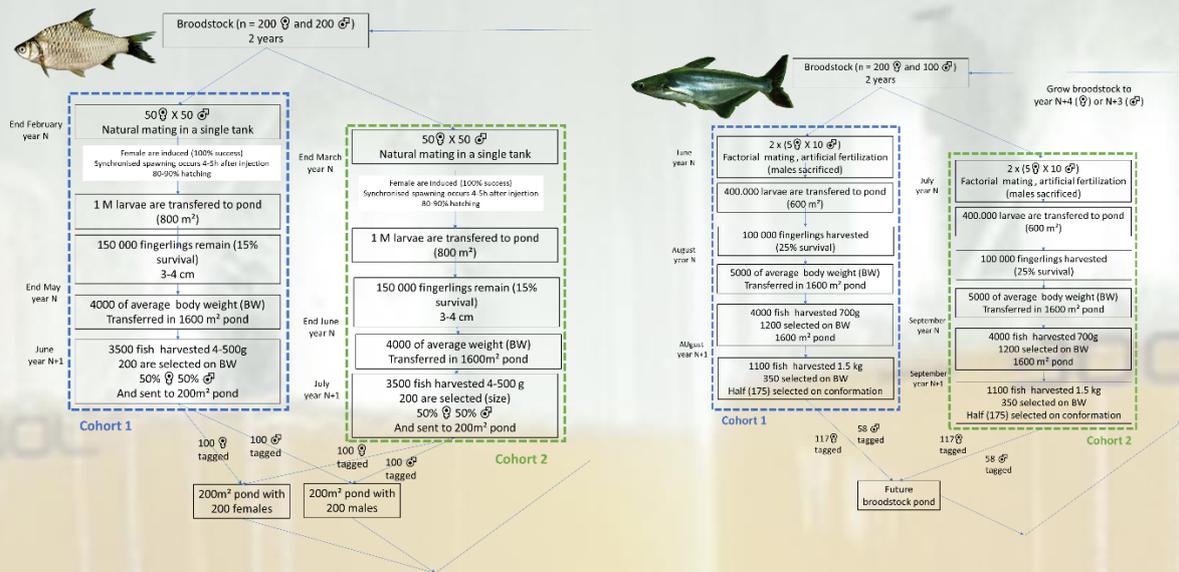
#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Deux missions ont été réalisées par 2 ingénieurs SYSAAF en partenariat avec un ingénieur INRAE.

La première mission a permis de découvrir la pisciculture cambodgienne, les principales espèces élevées et l'organisation scientifique, technique et professionnelle. Des visites de fermes ont été réalisées avec des ingénieurs IRD en place qui gèrent le programme et avec des personnels du FiA. Une part importante du travail a été d'analyser les avantages ou les difficultés en fonction des espèces. Le travail a principalement porté sur les espèces suivantes : le pangasius (*Pangasianodon hypophthalmus*), le poissons chat à queue rouge (*Hemibagrus wyckioides*), le silver barb (*Puntius gonionotus*), la carpe de hoeven (*Leptobarbus hoevenii*), le FiA devant définir à l'issue de cette première mission les 2 espèces prioritaires.

Lors de la 2<sup>ème</sup> mission, un des agents SYSAAF a formé une vingtaine d'étudiants et de chercheurs aux principes de la sélection génétique. Cette formation a ensuite permis de concevoir avec les partenaires 2 programmes de sélection du panga (espèce de production pour l'export en filet) et du silver barb (espèce utilisée en rizipisciculture à intérêt local comme source de protéine pour les cultivateurs). L'ensemble des étapes ont été discutées de la reproduction à la sélection. Les caractères d'intérêt sont à ce stade essentiellement la croissance et l'amélioration de la robustesse.

Un schéma de sélection sur le silver barb est illustré ci-dessous.



## Schémas de sélection définis avec les partenaires du FiA et de l'IRD sur le silver barb et le panga

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

Le travail conduit a permis de poser les bases nécessaires pour définir des programmes de sélection génétique simples et robustes, premiers programmes de sélection au Cambodge.

### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

L'initiation de la sélection est envisagée sur 2024 en février (silver barb) et en juin (panga), 2 missions étant encore envisagées pour accompagner les partenaires et définir les modalités pour une suite possible à l'issue du programme se terminant mi-2025.

Des rapports intermédiaires ont été rédigés à chaque mission et remis à l'IRD et au FiA.

### Références bibliographiques citées :

Joffre, O., Kura, Y., Pant, J., Nam., S., 2010. Aquaculture for the poor in Cambodia – Lessons learned. The WorldFish Center, Phnom Penh, Cambodia.

Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, 2017. National Strategic Plan for Aquaculture Development in Cambodia 2016-2030. Fisheries Administration, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Cambodia

### 3.1.1.2. Utilisation d'un outil de modélisation de programme de sélection permettant d'estimer les gains phénotypiques et économiques liés à des améliorations ou des adaptations des programmes de sélection (projet MedMax)

**Objectifs du projet :** L'objectif de ce projet 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 outils inclura notamment des stratégies de sélection sur la résistance aux maladies.

### État de l'art :

La sélection génomique a été introduite chez les sélectionneurs français depuis plusieurs années au travers de plusieurs projets de R&D (FishBoost, PerformFish, Aqualmpact, GeneSea). Sur des

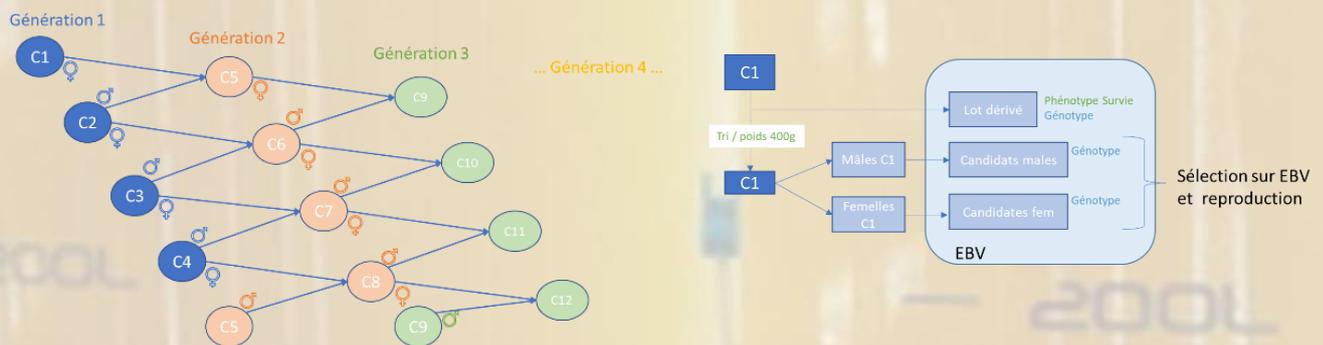
caractères tels que la résistance aux maladies qui sont difficilement mesurables car létaux, la sélection génomique peut apporter d'importants gains d'efficacité. Pour la sélection sur la résistance à la nodavirose ou à la vibriose, Griot et al. (2021) ont récemment estimé un gain d'efficacité de la sélection génomique par rapport à la sélection généalogique allant jusqu'à 25%.

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Le développement d'un tel outil de modélisation s'appuie sur l'utilisation d'un programme dédié, développé pour créer des simulations de schémas de sélection (logiciel MoBPS - Modular Breeding Programm Simulator). Dans un premier temps, il a été nécessaire de s'appropriier le logiciel et ses nombreuses possibilités afin de développer dans un second temps un modèle proche du schéma de sélection actuellement mis en œuvre chez le sélectionneur. Différents paramètres (nombre de marqueurs, nombre de candidats...) ont pu être définis afin de définir les différentes stratégies à comparer entre-elles.

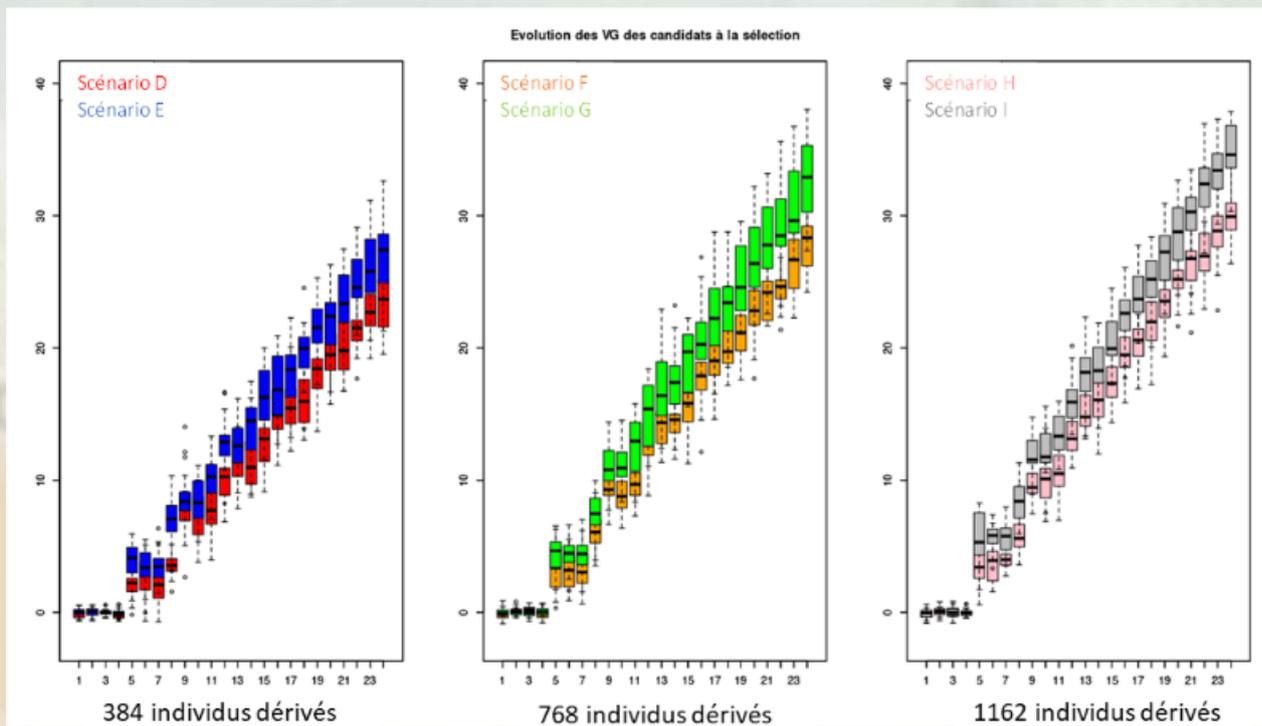
Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Le logiciel utilisé est un package développé pour le langage R et disponible en open source (Pook et al. 2020). La première partie du travail a consisté à modéliser la structure d'un schéma de sélection de bar commun en générations chevauchantes où les femelles de l'année N se reproduisent avec les mâles de l'année N-1. La particularité de ce schéma est de modéliser le phénotypage d'un lot dérivé (i.e. phénotypés pour leur résistance à un virus) et l'évaluation génétique réalisée sur leurs collatéraux candidats à la sélection.



**Schématisation d'une structure en générations chevauchantes (à gauche) et processus de traitement d'une cohorte (à droite)**

La seconde partie du projet a consisté à comparer plusieurs scénarii en faisant varier certains paramètres comme le nombre d'individus dans le lot dérivé ou le nombre de candidats à la sélection, le taux de survie (phénotype du lot dérivé), ou encore le taux de sélection. Les résultats attendus de ces modélisations sont une évolution des valeurs génétiques et/ou du gain génétique au cours des générations, permettant d'identifier le(s) meilleur(s) scénarios. Par exemple ci-dessous, l'évolution des valeurs génétiques selon les effectifs et taux de sélection montre que le scénario le plus efficace est le scénario G.



**Evolution des valeurs génétiques (VG) des candidats à la sélection en fonction du nombre d'individus du lot dérivé et du taux de sélection appliqué. Scénarios D, F, H : 23,4% de sélection. Scénarios E, G, I : 11,7% de sélection**

La totalité des travaux prévus n'a pas pu être réalisée dans le temps imparti par le projet MedMax qui arrivait à échéance. Notamment, l'utilisation d'un QTL majeur dans le paramétrage du modèle n'a pas encore été investiguée. Cependant, plusieurs essais réalisés nous ont permis d'identifier des approches qui seront à explorer pour utiliser un QTL majeur connu dans le jeu de donnée.

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

Le modélisation d'un schéma de sélection de bars communs dans ce projet a constitué une opportunité pour la prise en main du logiciel de modélisation et pour identifier son potentiel et ses limites. Le développement d'un tel outil de comparaison de stratégies, d'estimation des coûts/bénéfices pourra constituer à terme un outil de support au développement de la sélection génomique chez les sélectionneurs.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Les travaux réalisés ont été décrits dans un rapport technique joint au dossier projet MedMax. Ils pourront faire l'objet de présentations techniques lorsqu'ils auront été achevés et consolidés.

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, 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  
Pook, T., M. Schlather, and H. Simianer, 2020 – MoBPS – Modular Breeding Program Simulator. *G3 : Genes, Genomes, Genetics* 10:1915-1918.

### **3.1.1.3. Validation de la preuve de concept d'un schéma de sélection généalogique familiale chez l'insecte par simulation MoBPS (CONFIDENTIEL)**

### **3.1.1.4. Prédiction de l'évolution de la consanguinité dans un schéma de sélection d'insectes (CONFIDENTIEL)**

## **3.1.2 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 les valeurs génétiques des candidats à la sélection. Depuis quelques années, l'accès aux techniques de génotypage haut-débit s'est démocratisé et a permis aux entreprises de sélection aquacole notamment 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 pour tenter de réduire les coûts induits par l'utilisation de la génomique tout en préservant l'augmentation du progrès génétique. En fonction des espèces, l'objectif est de réaliser une estimation de paramètres génétiques et une évaluation génomique basée sur un faible nombre de marqueurs (3.1.2.1), ou de développer un panel de 1K SNP, à utiliser pour génotyper les candidats et les collatéraux phénotypés, dont les données manquantes seront ensuite imputées en se basant sur les génotypes 75K SNP des parents (3.1.2.2). Les résultats obtenus in silico ont conduit à développer les panels 1K SNP mis au point pour un génotypage en technologie AgriSeq, cependant la qualité du génotypage avec ces nouveaux outils a été très inférieure à celle attendue, nécessitant des investigations pour quantifier la perte en précision des évaluations causée par le changement de technologie (3.1.2.3). Chez d'autres espèces, ce n'est pas un changement d'outil de génotypage qui a fait l'objet de R&D, mais le génotypage d'individus triploïdes sur une puce destinée à des diploïdes : une méthode originale de clustering a dû être mise au point pour rendre possible le génotypage de ces individus (3.1.2.4). Enfin, chez la daurade et chez l'huitre, c'est une approche novatrice qui a été mise en œuvre afin d'évaluer la possibilité de remplacer l'information génomique par une information spectrale moins coûteuse afin d'estimer les niveaux de ressemblance entre individus (3.1.2.5).

### **3.1.2.1. Première utilisation de marqueurs SNPs pour tester en conditions réelles la sélection génomique (CONFIDENTIEL)**

### **3.1.2.2. Développement et utilisation de panel SNPs 1K pour l'intégration de l'imputation dans un schéma de sélection aquacole (CONFIDENTIEL)**

### **3.1.2.3. Évaluation de l'effet de pertes/dégradation du génotypage sur la précision des schémas de sélection génomique (CONFIDENTIEL)**

### **3.1.2.4. Développement d'un outil de clustering et d'assignation de parenté chez les triploïdes (projet HypoTemp)**

Objectifs du projet : Chez la truite arc-en-ciel, où les triploïdes représentent une proportion significative de la production, les programmes de sélection génétique sont tous réalisés sur des lignées diploïdes. Or, pour maximiser le gain génétique chez les triploïdes, il est nécessaire d'évaluer les valeurs

généétiques des frères et sœurs triploïdes des candidats diploïdes. Dans les programmes de sélection avec élevage en familles mélangées (appliqués en France), cela implique le génotypage correct des triploïdes et la récupération de leur pedigree. Ici, nous présentons une méthodologie basée sur un nouveau package R « GenoTriplo » et sur une adaptation d'APIS (Griot et al., 2020) permettant d'atteindre cet objectif.

#### État de l'art :

A l'heure actuelle, très peu de logiciels existent pour analyser les fichiers de génotypage d'animaux triploïdes. A notre connaissance, le package R « fitPoly », initialement développé pour les individus tétraploïdes, est le seul logiciel disponible en source ouverte pour réaliser le génotypage d'animaux triploïdes. Cependant, nos tests sur fitPoly ont produit des résultats incohérents ne permettant pas d'atteindre nos standards de qualité de génotypages.

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Nos premiers tests sur les logiciels disponibles n'étant pas concluant, nous ne savions pas s'il était possible de produire des génotypages de triploïdes de bonne qualité.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Nous avons développé le package R GenoTriplo en 2 étapes : le regroupement puis l'attribution de génotype. Ce package a ensuite été testé sur un jeu de données de génotypage (puce Thermo Fisher de 57k SNP) de 1 232 truites arc-en-ciel triploïdes issues de 190 mères et 98 pères diploïdes. Les signaux alléliques de ces génotypages ont été acquis en utilisant le logiciel Axas. La phase de regroupement utilise ces signaux alléliques pour grouper ensemble les individus ayant les mêmes génotypes pour un SNP donné. Ensuite, la phase d'attribution donne à chaque individu un génotype (AAA, AAB, ABB ou BBB) en fonction du regroupement réalisé dans la phase précédente. Finalement, nous avons adapté le package R APIS pour réaliser l'assignation de parenté des triploïdes à leurs parents diploïdes. Ici, l'assignation de parenté fait office de validation de la méthode GenoTriplo. Cette méthodologie nous a permis de maximiser les nombres de SNP de bonne qualité (27 948 SNP = 73.5%). Elle nous a aussi permis de réaliser l'assignation avec succès puisque la totalité des 1 232 truites ont été assignées à leurs parents respectifs.

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

L'avantage de GenoTriplo par rapport aux autres méthodes est que le logiciel cherche à créer 8 groupes au lieu de 4 (un par génotype, AA, AAB, ABB ou BBB), puis il réassocie les groupes « proches » afin d'en conserver 4. Cela permet à l'algorithme d'identifier des groupes avec peu d'individus, au lieu de les inclure à tort dans un groupe plus important. Par conséquent, GenoTriplo trouve plus de marqueurs informatifs que les autres méthodes développées auparavant comme celle de Grashei et al., (2020).

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ces travaux ont fait l'objet d'une présentation en congrès (Besson et al., 2023).

#### Références bibliographiques citées :

Besson, M., Roche, J., Patrice, P., Haffray, P., Allal, F., Vandeputte, M., Phocas, F., 2023. AN R-BASED PIPELINE FOR GENOTYPE CALLING AND PARENTAGE ASSIGNMENT OF TRIPLOID OFFSPRING TO THEIR DIPLOID PARENTS. Presented at the Aquaculture Europe 2023.

Grashei, K.E., Ødegård, J., Meuwissen, T.H.E., 2020. Genotype calling of triploid offspring from diploid parents. Genetics Selection Evolution 52, 15. <https://doi.org/10.1186/s12711-020-00534-w>

Griot, R., Allal, F., Brard-Fudulea, S., Morvezen, R., Haffray, P., Phocas, F., Vandeputte, M., 2020. APIS: An auto-adaptive parentage inference software that tolerates missing parents. Molecular ecology resources 20, 579–590.

### 3.1.2.5. Sélection phénotypique, investigation d'une méthode innovante de mesure des ressemblances entre individus dans un objectif de sélection génétique (programme Phenomix)

#### Objectifs du projet :

Dans les programmes de sélection, le pedigree est historiquement utilisé pour établir l'appariement entre individus pour l'estimation des valeurs génétiques des candidats à la sélection. Depuis une dizaine d'années, l'accès aux techniques de génotypage haut-débit s'est démocratisé et a permis aux entreprises de sélection aquacoles le passage à la sélection génomique, qui permet une estimation plus fine de la ressemblance entre individus grâce à des marqueurs de l'ADN. Une solution alternative à l'utilisation des génotypages consiste en l'acquisition de données spectrales individuelles par spectrométrie (NIR, MIR, Raman), et à 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'huître.

#### État de l'art :

Une preuve de concept de sélection phénotypique, se basant 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 (Rincent et al., 2018). Les premiers résultats de sélection phénotypique présentés par Rincent et al. (2018) montrent qu'il est possible d'estimer des valeurs génétiques au moins aussi précises qu'en sélection génomique chez le blé et le peuplier.

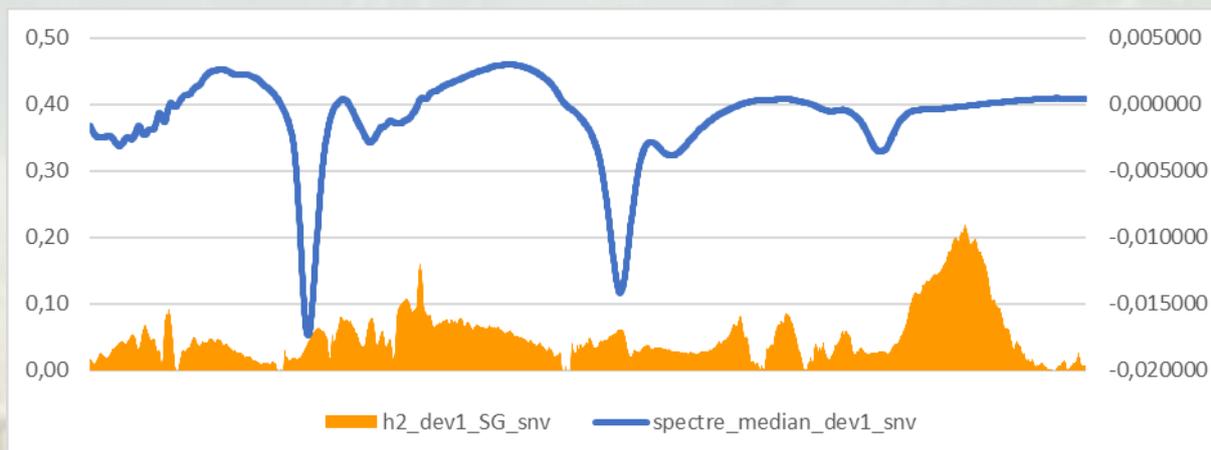
#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

La sélection phénotypique 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 chez les espèces animales, et plus particulièrement les espèces aquacoles. L'étude permettra d'apporter une première réponse sur la possibilité d'utiliser cette nouvelle méthode de sélection chez des espèces dont les caractéristiques biologiques et les spécificités des schémas de sélection sont très différentes des espèces végétales.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Les analyses réalisées en 2023 ont porté sur un jeu de données daurade d'une part, et huître d'autre part. Sur les daurades, l'objectif était dans un 1<sup>er</sup> temps d'estimer l'héritabilité le long des spectres Raman avec le logiciel airemlf90. Malgré un modèle génétique très simple, des difficultés de convergence ont été rencontrées. Les investigations réalisées, avec notamment une randomisation des échantillons, a mis en évidence une perte de traçabilité entre l'échantillon et le spectre, sans qu'il soit possible de savoir si le lien avait été perdu au moment du prélèvement de tissu ou au moment de l'acquisition du spectre, et sans possibilité de rétablir la traçabilité. Le jeu de données daurades n'a donc pas été exploité au-delà de ces vérifications.

Sur le jeu de données huître, des spectres NIR avaient été acquis en 2022. Les prétraitements possibles étaient la normalisation, la correction de la ligne de base, le lissage, et la dérivée. Avant prétraitement, l'héritabilité médiane le long du spectre estimée avec airemlf90 était de 0.04. Afin de maximiser l'héritabilité le long des spectres, ce sont les prétraitements de dérivée 1<sup>ère</sup> de Savitzky-Golay et la normalisation par SNV qui ont été retenus. Après prétraitement, l'héritabilité le long des spectres était comprise entre 0 et 0,21.



### ***Spectre médian et héribilités estimées après application des prétraitements maximisant l'hérabilité le long des spectres NIR d'huître creuse***

La prochaine étape d'analyse des données (non-finalisée en 2023) est l'estimation de la précision d'une évaluation phénotypique des caractères d'intérêt chez l'huître creuse, basée sur une matrice de ressemblance calculées à partir des spectres NIR prétraités.

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

Le remplacement du génotypage par un phénotypage haut-débit pour les analyses génétiques au sein des programmes de sélection permettrait des gains notables en coût de fonctionnement, voire de précision de sélection, rendant 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. La comparaison de la précision d'évaluations génétiques, génomiques et phénotypiques chez l'huître creuse reste à réaliser.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Brard-Fudulea et al. 2023

#### Références bibliographiques citées :

Brard-Fudulea, S. 2023. Phénomix – Sélection phénotypique chez les espèces aquacoles. Rapport final (01/01/2020 – 30/06/2023)

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&#58; Genes|Genomes|Genetics* g3.200760.2018. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200760>

### **3.1.3 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 tel qu'Eucalyptus (3.1.3.1). Les logiciels du SYSAAF doivent ensuite être en mesure de produire dans les délais impartis par le schéma de sélection les résultats attendus, pour les

assignations de parenté sur de grands effectifs par exemple (3.1.3.2). L'optimisation des temps de calcul peut également porter sur les estimations de paramètres génétiques (héritabilité et corrélations) sur les nouveaux caractères étudiés dans les schémas de sélection et dans les programmes de recherche (3.1.3.3). 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 (3.1.3.4). Enfin, il est important dans le cadre du schéma de sélection de vérifier la cohérence des évolutions génétiques et phénotypiques (3.1.3.5).

### **3.1.3.1. Déploiement du logiciel finalisé Eucalyptus pour la collecte, la gestion et l'analyse de données génétiques**

Objectifs du projet : Ce projet a pour objectif la diffusion d'un outil unique de collecte, de gestion, et d'analyse de données génétiques adapté aux programmes de sélection aquacoles, avicoles, et entomocoles en remplacement des outils déjà existant INFAQUA et INFIVI.

#### État de l'art :

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, 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.

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

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.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

En 2023, les travaux ont porté sur la fiabilisation du logiciel, et plus particulièrement de ses nouvelles fonctionnalités ayant été développées spécifiquement dans le cadre de cette nouvelle version et répondant à des besoins terrain qui n'étaient pas couverts par les versions précédentes du logiciel. En particulier, des tests réalisés en partenariat avec deux entreprises de sélection aquacoles ont été réalisés afin de valider en conditions réelles les développements réalisés, en lien avec la bancarisation des informations de stocks de gamètes cryoconservés par chaque entreprise. En parallèle de ces derniers tests, la diffusion du logiciel a pu commencer auprès des entreprises ayant un besoin urgent d'utilisation de certaines fonctionnalités particulières du logiciel (notamment en ce qui concerne la gestion des reproductions). Au total, ce sont ainsi 3 premières entreprises qui ont pu être formées à l'utilisation du logiciel en 2023 (deux entreprises de sélection aquacoles, et une entreprise de sélection entomocole). Deux d'entre elles utilisent désormais le logiciel, tandis que la dernière doit encore résoudre des difficultés qui lui sont propres avant de migrer définitivement vers ce nouvel outil. En parallèle, une adaptation du programme aux chantiers de saisie spécifiques de la sélection avicole a été initiée afin de remplacer dès 2024 le module de saisie d'INFAVI, inadapté aux nouveaux terminaux de saisie portables de type PDA présents sur le marché et fonctionnant sous Android. Le module de saisie des données d'INFAVI n'est en effet compatible qu'avec des systèmes d'exploitation Microsoft dont Windows CE.

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

Le passage à ce nouvel outil commun Eucalyptus présente plusieurs intérêts selon les filières. Pour les filières aquacole et avicole, l'intérêt principal réside dans le fait de disposer d'un outil récent et adapté aux nouveaux besoins des entreprises, qui ont pu évoluer plus ou moins fortement depuis les premiers développements des outils INFAQUA et INFAVI vieillissants. Ce nouvel outil présente notamment l'intérêt d'être plus simple à maintenir de par sa structure modulaire. Il ouvre aussi la possibilité d'une portabilité sur tablettes Android, ce qui est un besoin exprimé par certains adhérents (actuellement obligés d'utiliser des PDA sous Windows CE, vieillissants eux aussi et de plus en plus difficiles à se procurer car Microsoft en a arrêté le support).

Pour la filière entomocole, l'intérêt principal est de disposer pour la première fois d'un outil de collecte, de gestion, et d'analyse des données génétiques. Cette filière n'ayant jusqu'alors jamais disposé d'un tel outil, elle fait ici un grand pas en avant en bénéficiant d'un outil abouti directement utilisable regroupant 20 années d'évolutions et de fiabilisation des outils INFAQUA et INFAVI précédents.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Le logiciel a été installé chez trois sélectionneurs.

#### Références bibliographiques citées :

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.

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>

### **3.1.3.2. Optimisation des temps de calcul pour l'assignation de parenté avicole**

Objectifs du projet : L'objectif de ces travaux était d'une part d'améliorer les temps de calcul pour des assignations de parenté sur des jeux de données de grande taille correspondant à des schémas de sélection reposant entièrement sur l'assignation pour l'enregistrement du pedigree, et d'autre part de remédier à des résultats incohérents observés dans les pedigrees proposés.

#### État de l'art :

L'assignation de parenté permet à partir de marqueurs de l'ADN de reconstituer les liens parents-descendants entre des animaux génotypés. Des panels SNP de petite taille sont suffisants pour reconstituer sans erreur des pedigrees, sous réserve que tous les parents soient génotypés et que l'outil soit suffisamment puissant (Griot et al. 2019). Dans le même temps, un nombre croissant de schémas de sélection avicoles et aquacoles jusqu'alors génétiques deviennent ou sont devenus des schémas avec des évaluations génomiques, basées des dizaines de milliers de marqueurs. Avec cette densité de marqueurs, si la totalité des reproducteurs et des descendants sont génotypés, un sous-ensemble de ces marqueurs peut être utilisé pour l'assignation de parenté. Cependant, avec un nombre élevé de candidats à assigner et de parents potentiels, le temps de calcul nécessaire pour une assignation de parenté peut devenir trop long pour respecter les délais impartis par le schéma pour produire le pedigree, puis les valeurs génomiques des candidats.

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

L'enjeu est ici de réduire significativement les temps de calcul, et de rendre possible des assignations en parallèle par un même indexeur dans plusieurs grands jeux de données sans outrepasser les capacités des outils de calcul. Un verrou à lever est celui de la stabilité des résultats d'assignation avant et après optimisation de la procédure de réalisation des assignations.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Les travaux d'optimisation ont été conduits sur un jeu de données à assigner de grande taille, composé de 129 pères potentiels, de 880 mères potentielles, et de 3619 descendants potentiels. L'assignation de ce jeu de données via la procédure de référence consistait à lancer l'assignation avec le package APIS sur un poste de travail individuel. L'assignation de parenté était réalisable en 6 heures de temps de calcul sous réserve de découper le problème à résoudre en 3 sous-ensembles, et mobilisait 3 des 4 cœurs de l'ordinateur. Les travaux d'optimisation ont consisté 1) à lancer le package d'assignation de parenté sur le logiciel Rstudio présent sur le serveur du CTIG, 2) à augmenter le nombre de cœurs utilisés (passage de 3 à 10), 3) à spécifier l'usage de la version Fortran optimisée du package et 4), à demander au logiciel une présélection des parents potentiels les plus probables sur un critère d'exclusion. Avec cette méthode, le délai d'assignation sur la totalité du jeu de données analysé en une seule fois était de 40mn. La modification progressive de la procédure a permis de constater que c'était l'augmentation du nombre de cœurs qui avait le plus fort effet sur la diminution des temps de calcul. Cependant, il a été observé lors de la mise en œuvre de cette nouvelle procédure que le pedigree obtenu n'était pas cohérent avec les accouplements réalisés dans le schéma. Des investigations réalisées via R ont confirmé que les taux d'incompatibilités mendéliennes étaient largement supérieurs aux 2% habituellement admissibles. Finalement, une analyse détaillée des logs a permis de mettre en évidence que si ligne à ligne les sorties de l'ancienne et la nouvelle procédure contenaient exactement les mêmes nombres d'incompatibilités et les mêmes valeurs de probabilités mendéliennes, les identifiants des animaux attachés à ces valeurs changeaient entre les deux analyses. Il a finalement été mis en évidence que c'était l'option de présélection d'un nombre restreint de parents potentiels qui était à l'origine de cette perte du lien correct entre l'animal et son génotype. La procédure a donc été corrigée en enlevant cette option, dont la suppression n'impacte que marginalement le temps de calcul.

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

Ces travaux ont permis d'améliorer les temps de calcul pour la réalisation des assignations de parenté portant sur de grands jeux de données, et dont les résultats sont un préalable aux indexations

génomiques qui se réalisent sur des pas de temps restreint. L'erreur détectée au niveau du package d'assignation a été signalée pour correction.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

La procédure de lancement nouvellement développée et validée sera mise en œuvre pour les assignations de parenté prévues en 2024.

Références bibliographiques citées :

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>

### **3.1.3.3. Amélioration d'un script pour automatiser les paramètres génétiques sur DGA20**

Objectifs du projet : L'objectif est d'adapter un script utilisé en interne pour estimer les paramètres génétiques à l'aide de données pedigree et/ou génomique pour l'utiliser sur un cluster de calcul.

État de l'art :

Les paramètres génétiques sont très souvent re-estimés en routine pour faire les évaluations génétiques, afin d'estimer l'héritabilité des caractères et les corrélations génétiques entre les caractères. Lors du phénotypage d'un nouveau caractère (projet de recherche pour de futurs caractères, nouveau caractère d'intérêt, méthode de phénotypage différente), il est important d'estimer les paramètres génétiques et les corrélations génétiques avec les autres caractères. Selon le nombre de caractères à analyser et l'utilisation ou non de la génomique, les temps de calcul peuvent être très importants (de quelques heures à plusieurs jours), et ralentir le serveur utilisé en routine pour les indexations et les analyse de données, etc.

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

L'objectif ici est de réduire le temps de calcul si possible, et d'utiliser un autre cluster adapté aux travaux en parallélisation. Les incertitudes concernent l'adaptabilité du script à l'utilisation du cluster ciblé.

Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Les premiers travaux ont été menés sur un jeu de données avec 28 caractères, soit 378 combinaisons possibles des caractères deux à deux. La première étape visait à adapter la mise en forme des données en vue des analyses à effectuer. La seconde étape de développement devait permettre de lancer les différentes combinaisons en parallèles. L'objectif est d'éviter d'attendre que les calculs portant sur la première combinaison de caractère soient finis avant de passer à la combinaison suivante. Ensuite, la dernière étape consiste à récupérer l'ensemble des résultats dans un fichier de données exploitable et synthétique.

Ce travail a permis de réduire les temps de calculs totaux. Par exemple, quand l'estimation des paramètres génétiques pour 2 caractères prenait 5 minutes par combinaison, il fallait sans parallélisation 31,5h de calcul en continu. Avec le nouveau script, en lançant 50 estimations de paramètres génétiques en parallèle, 40 minutes suffisaient pour produire les paramètres génétiques estimés pour l'ensemble des combinaisons.

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

Ces travaux ont permis d'améliorer les temps de calcul pour l'estimation des paramètres génétiques, et de valider l'utilisation d'un nouveau cluster de calcul.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

La procédure sera diffusée en interne pour utilisation en cas de besoin. Celle-ci sera fera l'objet d'une amélioration continue pour répondre aux différentes problématiques rencontrées et pour faciliter son utilisation.

### 3.1.3.4. Evolution des algorithmes de choix génétiques utilisés au SYSAAF (Projet MAAT)

Objectifs du projet : Le projet a pour objectifs de tester l'efficacité de l'algorithme génétique pour le choix des animaux, et de comparer ses performances à l'algorithme de recuit-simulé.

#### État de l'art :

A la suite d'une évaluation génétique d'un cheptel, le SYSAAF propose un choix des futurs reproducteurs de sorte à satisfaire les objectifs de sélection de la lignée. Ces objectifs de sélection sont multifactoriels : augmentation des performances, contrôle de la parenté/consanguinité, stabilisation de certains caractères. Un algorithme de choix est nécessaire pour résoudre ce problème complexe de contribution optimale (Optimal Contribution Selection; Meuwissen, 1997, Wellman, 2019). Un algorithme d'optimisation sous contraintes est utilisé depuis une dizaine d'année par le SYSAAF pour répondre à cet objectif : le recuit-simulé (Chapuis et al., 2014). Depuis 10 ans, aucune évolution significative de cet algorithme n'a été apportée par le SYSAAF. Aucune étude comparative avec des algorithmes concurrents n'a été produite. Dans ce projet nous testons les performances de l'algorithme de recuit-simulé (RS) au regard d'un algorithme concurrent : l'algorithme génétique (Kingham, 2011).

#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Il est possible que l'algorithme génétique ne soit pas plus performant que l'algorithme de recuit-simulé malgré l'existence d'études comparatives généralistes indiquant la supériorité de l'algorithme génétique (e.g. Hart, 1995).

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Une première version de l'algorithme génétique a été développée en collaboration avec l'ITAVI. De façon similaire à l'algorithme de recuit-simulé implémenté dans le programme optichoix, cette première version optimise un indice synthétique tout en satisfaisant une contrainte sur la parenté entre individus sélectionnés. Un premier essai comparatif a été mené sur la lignée Alsacienne appartenant au Centre de Sélection de Béchanne, dont les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

	Recuit-Simulé	Algorithme génétique
Différentiel de sélection ♂	0,139	<b>0,357</b>
Différentiel de sélection ♀	<b>0,125</b>	0,034
Différentiel de sélection global	0,132	<b>0,195</b> <b>(+48%)</b>
♂ en commun		61%
♀ en commun		85%
Animaux en commun		78%
Parenté moyenne	0,0700	0,0700

### *Comparaison des résultats obtenus entre les deux algorithmes sur la lignée Alsacienne du Centre de Sélection de Béchanne*

Ces résultats préliminaires indiquent clairement que l'algorithme génétique permet d'espérer des gains plus importants que le recuit simulé à niveau de parenté constant entre individus sélectionnés. Une comparaison sur un nombre plus important de lignées sera menée dans le courant de l'année 2024.

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

Ce travail aboutira à la mise à disposition d'un nouvel outil plus performant de choix des animaux. Les gains génétiques à espérer pour chacun des adhérents seront donc plus importants.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ce travail a été valorisé par une présentation dans le cadre des Journées Techniques Interfilières du SYSAAF (Rouger & Guyot, 2023)

Références bibliographiques citées :

Meuwissen, T.H.E, 1997. Maximising the response of selection with a predefined rate of inbreeding. J. Animal Sci. 75:934-940  
Wellmann, R., 2019. Optimum contribution selection for animal breeding and conservation: the R package optiSel. BMC Bioinformatics 20, 25  
Chapuis, H., Pincent, C., Colleau, J.J., 2015. Optimizing selection with several constraints in poultry breeding. J. Anim. Breed. Genet. 133(1):3-12.  
Kinghorn, B.P., 2011. An algorithm for efficient constrained mate selection. Genet. Sel. 43:4  
Hart, W.E., 1995. A theoretical comparison of evolutionary algorithms and simulated annealing. Conference on Evolutionary programming, (San Diego, United States), 29 Feb 1996.  
Rouger, R., Guyot, Y., 2023. Maât : Nouveaux algorithmes pour les choix optimisés d'animaux. 6<sup>ème</sup> Journées Techniques Inter-filières du SYSAAF, 11-12/10/23

### **3.1.3.5. Développement d'une action Koala de comparaison des évolutions génétiques et phénotypiques**

Objectifs du projet : Ce projet avait pour objectif de proposer aux sélectionneurs adhérents un outil visuel des progrès génétiques accomplis dans leur lignée.

État de l'art :

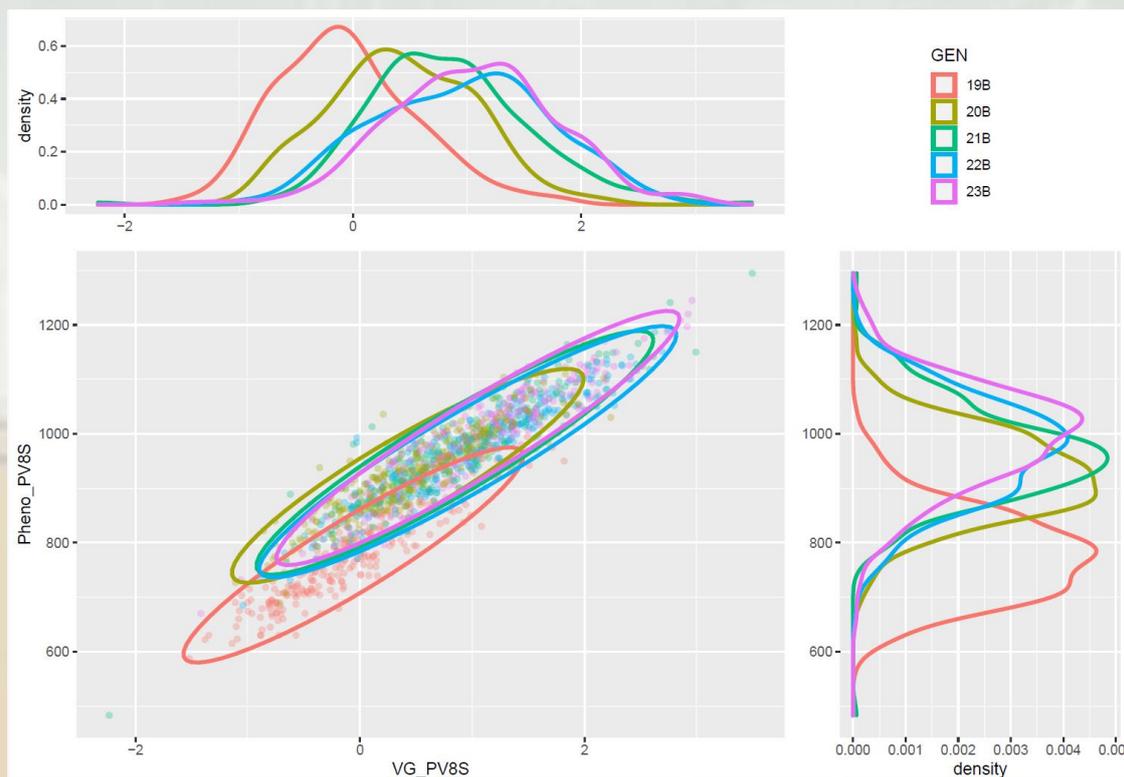
Pour chaque évaluation génétique opérée par le SYSAAF, un graphique d'évolution des valeurs génétiques de la lignée sur les dernières générations est produit pour le sélectionneur. Ce graphique permet d'anticiper les caractères sur lesquels des gains sont à attendre. Ces progrès attendus ne sont jamais évalués au regard de l'évolution phénotypique de la lignée. Ce travail vise à représenter graphiquement l'évolution phénotypique brute de la lignée en fonction de l'évolution des valeurs génétiques.

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Le développement de cet outil pourrait potentiellement mettre en évidence des évolutions phénotypiques ne correspondant pas aux attendus connaissant les évolutions génétiques, et conduire à se questionner sur les raisons de ces écarts.

Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Une action s'appuyant sur un script R a été développée et implémentée dans l'outil d'indexation Koala, pour représenter l'évolution phénotypique brute de la lignée en fonction de l'évolution génétique de cette dernière pour un caractère donné. Un exemple est présenté dans la figure suivante.



**Evolution phénotypique et génétique concernant le poids à 8 semaines des mâles de la lignée Alsacienne. En haut : évolution de la distribution des valeurs génétiques du poids à 8 semaines des mâles. A droite : évolution de la distribution du poids à 8 semaines des mâles**

Ces graphiques ont été produits pour un certain nombre de lignées et de caractères. Dans l'exemple de la figure, l'évolution phénotypique de la lignée alsacienne est conforme aux prédictions des valeurs génétiques (les distributions se décalent dans le même sens).

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

La représentation graphique permet de s'assurer de la réalisation effective des gains génétiques attendus. Si ce n'est pas le cas, des actions correctives au niveau de l'évaluation du SYSAAF ou des modalités de sélection de l'adhérent pourront être étudiées.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ces graphiques servent de support didactique lors des réunions bilans organisées annuellement avec les sélectionneurs adhérents.

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

La réponse aux attentes sociétales et la préparation des animaux aux changements agroécologiques font partie des préoccupations des sélectionneurs, et font l'objet de projets de R&D dédiés. Parmi ces sujets, on peut mentionner les conditions d'élevage des animaux, leur résistance aux maladies, ou encore la réalisation de mesures non létales. En volaille, le phénotypage à haut-débit de la ponte et de la qualité d'œuf nécessitent il y a quelques années encore d'utiliser des cages individuelles afin d'établir le lien œuf-mère. La mise au point de nids électroniques permet de passer à un phénotypage des

animaux au sol, mais nécessite de développer un modèle d'indexation intégrant l'historique cage et sol (3.2.1.1). Chez la truite arc-en-ciel, c'est la résistance des populations à la flavobactériose qui a été testée, afin d'intégrer à moyen terme ce phénotype dans les objectifs de sélection (3.2.1.2).

Toujours chez la truite, un autre objectif était d'améliorer les technologies associées à la diffusion de la génétique en particulier en mettant au point une méthode de vérification de la ploïdie réalisable sur l'adulte avec un prélèvement non-létal (3.2.2.1). Enfin, la réalisation de ces travaux, et plus généralement de l'ensemble des projets présentés dans ce dossier, sont favorisés au SYSAAF par l'existence d'une démarche forte d'innovation qui a fait l'objet d'une étude de caractérisation (3.2.2.2).

### **3.2.1. : Intégration dans l'évaluation génétique de critères obtenus en nouvelles conditions d'élevage plus respectueuse du Bien Être Animal et de caractères de résistances aux maladies**

#### **3.2.1.1. Intégration dans l'évaluation des espèces avicoles de caractères au sol et en cage (CONFIDENTIEL)**

#### **3.2.1.2. Evaluation de la résistance de populations de truites à la flavobactériose (Projet Flavicontrol)**

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'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, et impacte fortement la production de truites arc-en-ciel. La flavobactériose est considérée par Le Bouquin *et al.* (2018 – Rapport de l'ANSES 2019) comme la pathologie la plus fréquente en France, identifiée 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 2023, démarche expérimentale et résultats :

Le projet a été initié au cours de l'année 2022, avec la réalisation de challenges infectieux menés par l'INRAE et l'IERP sur des populations de truites fournies par les adhérents du SYSAAF. 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 a également coordonné la réalisation des génotypages des échantillons prélevés au cours des challenges. L'exploitation de ces résultats a pu être réalisée au cours de l'année 2023 par l'INRAE et a mis en évidence de fortes héritabilités du caractère de résistance ( $h^2=0,57$  ou  $0,39$  selon la population testée). Les résultats ont également montré l'existence de QTL sur les chromosomes 3, 17 et 31 du génome de la truite, expliquant jusqu'à 75% de la variabilité génétique de la résistance des truites à la flavobactériose. Par ailleurs, en 2023, le SYSAAF a fourni à l'INRAE des œufs de truites commerciales d'entreprises non

partenaires du projet afin que soit évaluée la sensibilité de ces poissons. Une des deux populations, présentant une trop forte mortalité en amont du challenge n'a pas pu être évaluée. Pour la 2<sup>e</sup> population, les résultats montraient un taux de survie par balnéation d'environ 80% et d'une DL50 par injection à  $2.4.10^4$  CFU/ml, soit une dose plus élevée que les autres populations testées, ceci signifiant qu'une plus forte concentration de bactérie est nécessaire pour affecter 50% de la population testée.

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

Ce projet permettra 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 résultats du projet ont pu être présentés lors du congrès Aquaculture Europe en 2023 (Pouil et al. 2023) ainsi que lors des journées techniques du SYSAAF en 2023 (Rochat et Pouil, 2023). Les travaux ont également fait l'objet d'un rapport de fin de projet (Duchaud, 2023).

#### 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.

Pouil, S., Rigaudeau, D., Rochat, T., Lee, B-H., Segret, E., Desgranges, A., Lallias, D., Dupont-Nivet, M., D'Ambrosio, J., Patrice, P., François, Y., Duchaud, E., Phocas, F. Quantitative trait loci for resistance to flavobacterium psychrophilum identified using high-density genotyping in rainbow trout french selected lines. *Aquaculture Europe 2023* September 18 - 21, 2023, Vienne, Autriche, European Aquaculture Society, présentation orale

Duchaud, E. 2023. Flavocontrol - Dispositif d'infectiologie au service de l'innovation dans le contrôle de la flavobactériose. Rapport final (01/08/2021 - 31/03/2023)

Rochat, T. et Pouil S., Flavocontrol, Etude des caractères de résistance à la flavobactériose chez la truite arc-en-ciel. Journées techniques Interfilières du SYSAAF 2023, 11-12 Octobre 2023, Rennes.

### **3.2.2. Adapter globalement les processus de sélection et de diffusion du progrès génétique**

#### **3.2.2.1. Étude des conditions pour des mesures de ploïdie sur un prélèvement sanguin par cytométrie en flux**

Objectifs du projet : L'objectif du projet est d'évaluer la possibilité d'effectuer une analyse de ploïdie sur un prélèvement sanguin par cytométrie en flux et d'obtenir un protocole d'analyse robuste.

#### État de l'art :

Historiquement, les analyses de ploïdie par cytométrie en flux chez la truite arc-en-ciel étaient effectuées sur œufs fécondés pour obtenir les résultats le plus précocement possible. Ces analyses ont été ensuite remplacées par une analyse sur des alevins par un prélèvement caudal pour simplifier

l'analyse en laboratoire. Un adhérent a interrogé le SYSAAF sur la possibilité d'effectuer une analyse de ploïdie chez des truites adultes avec un prélèvement non léthal pour l'animal.

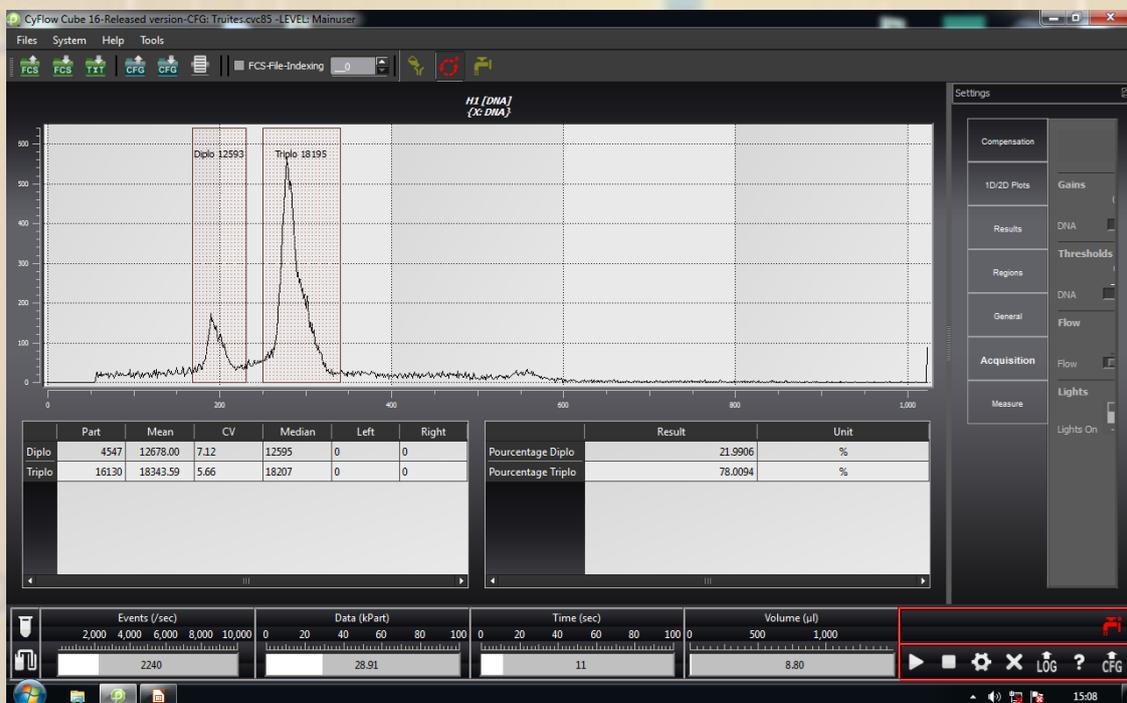
#### Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

Au début du projet, aucune mesure de ploïdie n'avait été effectuée sur la truite adulte au SYSAAF. La première approche a été d'identifier quel prélèvement non léthal pouvait être effectué chez l'adulte. En plus du type de prélèvement, les incertitudes portaient sur les conditions de prélèvement, le transport des échantillons, et l'adaptation du protocole d'analyse pour prendre en charge le nouveau type d'échantillon.

#### Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Une première étude a été effectuée pour étudier le conditionnement du prélèvement de sang pour le transport afin de garder les cellules le plus intactes possible pour l'analyse et la préparation des échantillons destinés à l'analyse. Quatre conditionnements ont été testés : sang pur, sang dilué avec StorFish 1:3, sang dilué avec StorFish 1:5, sang dilué dans du DAPI (colorant utilisé pour la cytométrie) 1:5. Pour chaque conditionnement, plusieurs dilutions avec du DAPI ont été testées pour la préparation des échantillons (1:1, 1:3, 1:5, 1:15, 1:30). Ensuite l'ensemble des échantillons ont été passé en cytométrie pour évaluer le meilleur conditionnement et dilution. Seul le conditionnement avec le StorFish a fonctionné, avec un meilleur résultat pour la dilution 1:5 pour le conditionnement et le transport. Ensuite, une dilution du prélèvement avec du DAPI pour 1:30 donne les meilleurs résultats.

Une seconde étude a été effectuée pour valider le protocole sur d'autres échantillons. Dans cette étude, des tests ont été effectués sur un mélange d'échantillons (1 triploïde +1 diploïde et 4 triploïdes+1 diploïde) pour évaluer la possibilité d'analyser plusieurs échantillons en même temps, afin d'améliorer la vitesse de la procédure et les coûts des analyses. On peut voir dans la figure ci-dessous la capture d'écran du logiciel de cytométrie pour le mélange 4 triploïde et 1 diploïde. Nous avons bien la présence d'un pic pour les triploïdes et d'un pic pour le diploïde.



*Aperçu des résultats de l'analyse de cytométrie pour l'analyse simultanée de quatre triploïdes et d'un diploïde*

Ensuite deux lots de 98 échantillons ont été analysés par pool de 5 échantillons. À chaque fois que la présence d'un diploïde était détectée dans un pool, les échantillons étaient passé 1 par 1 pour un

nouveau contrôle. Chaque recontrôle a montré la présence d'un individu diploïde, écartant la présence de faux positif. Le passage des deux lots a permis de valider la possibilité de faire l'analyse sur un grand nombre d'échantillons.

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

Nous avons maintenant un protocole pour analyser la ploïdie d'un lot sur des truites adultes avec un prélèvement non légal disponible pour la filière. Ce protocole est adapté pour une analyse en routine avec un nombre d'échantillons important.

Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Pas de valorisation effectuée en 2023.

### **3.2.2.2. Analyse du processus d'innovation au SYSAAF (Projet EatFish)**

Projet Financier : Union Européenne via EATFISH, Marie Curie Innovative Training Network (project number 956697)

Objectifs du projet :

En tant qu'organisation partenaire du secteur privé du projet, SYSAAF a offert sa collaboration aux doctorants pour qu'ils étudient de première main le processus de développement de nouveaux produits aquacoles destinés à des segments de marché spécifiques dans le cadre des objectifs d'EATFISH.

État de l'art :

Les gestionnaires et les universitaires ont identifié la gestion des connaissances comme une source essentielle d'avantage concurrentiel. La connaissance est une ressource potentiellement utile pour l'entreprise car elle peut être précieuse, inhabituelle, difficile à imiter et non substituable, en particulier si elle a une dimension tacite. L'importance croissante de la connaissance dans la société moderne nécessite un changement dans la manière dont nous envisageons l'innovation dans les entreprises, qu'elle soit technique, de produit ou de processus, stratégique ou organisationnelle (Seidler-de Alwis & Hartmann, 2008). Selon Kakabadse (2001), la construction, la transformation et la commercialisation des connaissances et des informations nécessitent de nouvelles compréhensions organisationnelles et des capacités cognitives plus avancées dans la pratique de la gestion stratégique. Cela est particulièrement vrai dans les entreprises de sélection, où les connaissances scientifiques et pratiques se combinent pour conduire la sélection et l'innovation. L'intégration de l'aquaculture dans l'agriculture s'est avérée être un facteur crucial pour stimuler l'efficacité productive de l'aquaculture et réduire son empreinte environnementale dans la production alimentaire mondiale (Houston et al., 2020). À l'ère de l'information, le terme "travailleur du savoir", inventé par Peter Drucker (1959), désigne la capacité à utiliser l'intelligence et à créer de nouvelles solutions, et les connaissances et le savoir-faire sont devenus l'un des principaux actifs de valeur du secteur.

Aléas, incertitudes scientifiques et/ou verrous technologiques :

La connaissance finit par être un concept abstrait qu'il est difficile d'ancrer en tant que causalité de l'innovation.

Travaux de recherche réalisés en 2023, démarche expérimentale et résultats :

Enrichissant notre étude et offrant une base solide pour l'analyse de la production, de la transmission et de la transformation des connaissances en innovation dans ce secteur spécifique, nous avons cherché à savoir comment les connaissances du personnel du SYSAAF sont codifiées afin d'atteindre le plus haut niveau d'efficacité. La première partie consiste à observer la fréquence des échanges d'informations entre les différents partenaires et associés du SYSAAF. Nous visons à évaluer les

résultats des connaissances en mesurant les bénéfices reçus de l'application des connaissances, tels que la satisfaction des partenaires, l'augmentation de la productivité, le développement des entreprises satellites et l'augmentation de l'auto-suffisance du territoire. Une deuxième partie a été réalisée par une enquête composée d'une première partie qui cherche à comprendre le niveau d'expertise qui a été visé dans les recrutements du SYSAAF, ce qui nous permet de mettre en évidence le conglomérat de savoir-faire et de connaissances que l'organisation possède aujourd'hui. Dans la troisième partie, nous étudions les canaux par lesquels les échanges d'informations ont lieu et l'importance accordée par les responsables de ces échanges à chaque canal de diffusion. Il en va de même pour un autre organisme actif dans le développement et la création de connaissances en Norvège, Nofima.

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

Le travail réalisé dans la description et la quantification du traitement des connaissances dans deux pays dans des situations différentes nous permet de mettre en évidence la position stratégique que ces institutions jouent dans le cadre national de la sélection génétique et ses implications pour l'industrie de l'aquaculture.

#### Valorisation, diffusion, scientifique et technique des travaux :

Ce travail est le fruit d'une collaboration entre l'UBO, le SYSAAF et Nofima. Les deux organisations ont accueilli le doctorant pour une période d'environ un mois afin d'établir la base de l'intérêt pour les deux parties et d'obtenir des résultats mutuellement satisfaisants.

Les travaux de SYSAAF et de Nofima ont été présentés à l'EAS 2023 à Vienne et à l'EAFE 2023 à Athènes, en complément du travail de diffusion propre à EATFISH à travers les médias sociaux et les ateliers avec les autres partenaires.

#### Références bibliographiques citées :

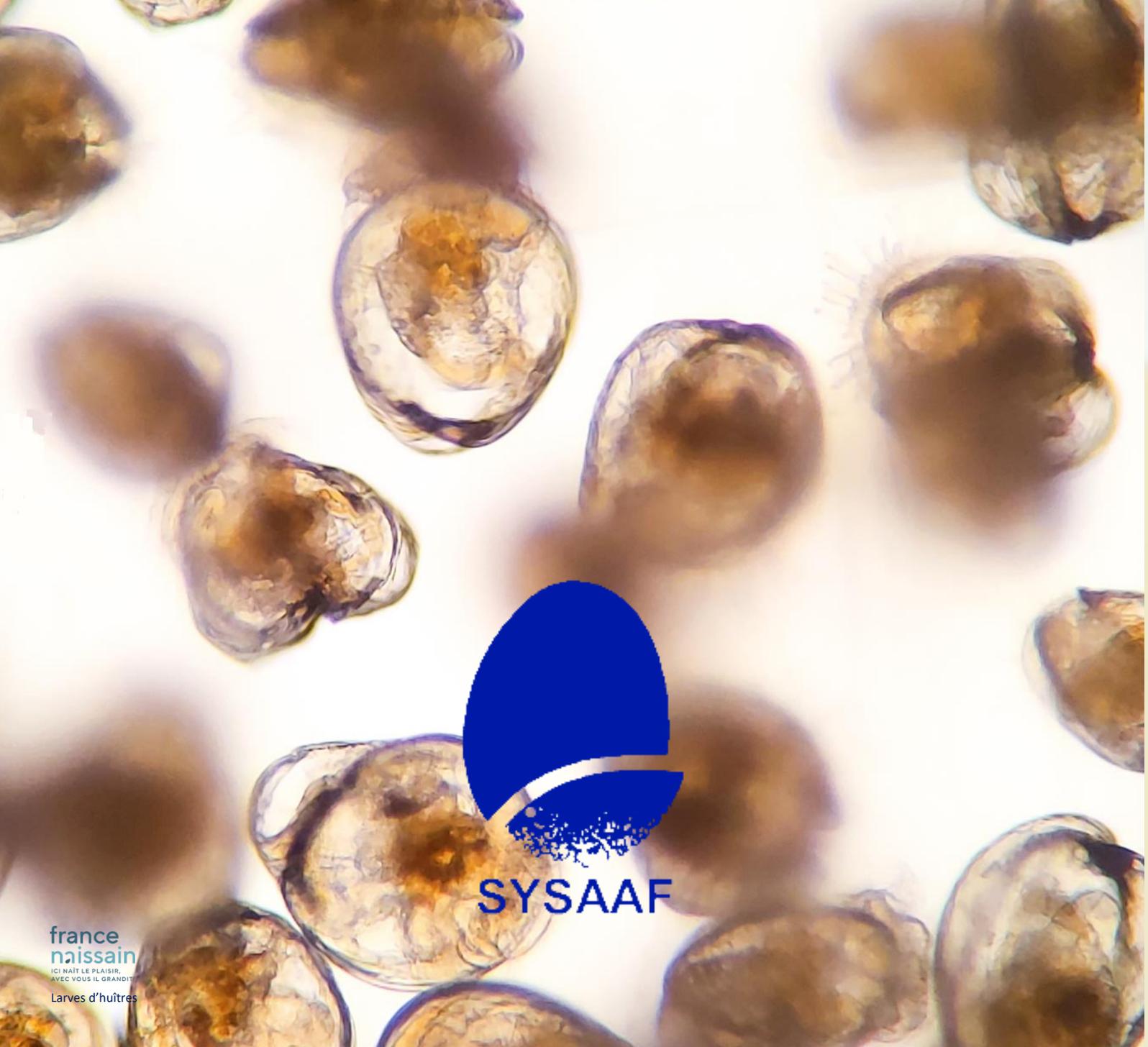
Seidler-de Alwis, R., & Hartmann, E. (2008). The use of tacit knowledge within innovative companies: knowledge management in innovative enterprises. *Journal of Knowledge Management*, 12(1), 133-147.

K. Kakabadse, N., Kouzmin, A., & Kakabadse, A. (2001). From tacit knowledge to knowledge management: Leveraging invisible assets. *Knowledge and Process Management*, 8(3), 137-154.

Houston, R. D., Bean, T. P., Macqueen, D. J., Gundappa, M. K., Jin, Y. H., Jenkins, T. L., ... & Robledo, D. (2020). Harnessing genomics to fast-track genetic improvement in aquaculture. *Nature Reviews Genetics*, 21(7), 389-409.

A Drucker, P.F. (1996). *Landmarks of Tomorrow: A Report on the New "post-modern" World*. Book, 9781560006220 (<https://books.google.fr/books?id=AzEDmQEACAAJ>)





france  
naissain  
ICI NAÎT LE PLAISIR,  
AVEC VOUS IL GRANDIT  
Larves d'huîtres

**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](mailto:sysaaf@INRAE.fr)

Site internet : [www.sysaaf.fr](http://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, B. Desnoues, A. Donkpegan, F. Enez, Y. François, R. Morvezen,  
P. Patrice, M. Reverchon, R. Richer, R. Rouger & S. Thiercelin.

Nous remercions particulièrement l'entreprise adhérente France Naissain qui à l'occasion de l'Assemblée Générale du SYSAAF a ouvert les portes de son établissement à Bouin (85) qui nous a autorisé à illustrer notre rapport d'activité avec ses photos.