

UNIVERSITE DE RENNES

Master Biologie Moléculaire & Cellulaire

**INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE POUR L'AGRICULTURE,
L'ALIMENTATION ET L'ENVIRONNEMENT**

Unité mixte de recherche Physiologie, Environnement et Génétique
pour l'Animal et les Systèmes d'Élevage (UMR PEGASE)

Adel FODIL-CHÉRIF

Analyse de la diversité génétique et des traces de sélection dans les filières avicoles chair et ponte

MÉMOIRES 1 & 2

Stage du 3 janvier 2023 au 30 juin 2023

Encadrants :

- **HÉRAULT Frédéric** Ingénieur d'Étude
- **PHILIPPE Romain** Chargé de Recherche
- **DIOT Christian** Directeur de Recherche

I



**Université
de Rennes**



INRAE

UNIVERSITE DE RENNES
Master Biologie Moléculaire & Cellulaire

***INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE POUR L'AGRICULTURE,
L'ALIMENTATION ET L'ENVIRONNEMENT***

**Unité mixte de recherche Physiologie, Environnement et Génétique
pour l'Animal et les Systèmes d'Élevage (UMR PEGASE)**

Adel FODIL-CHÉRIF

**Analyse de la diversité génétique et des
traces de sélection dans les filières
avicoles chair et ponte**

MÉMOIRE 1 :

VEILLE SCIENTIFIQUE ET TECHNOLOGIQUE

Stage débuté le 3 janvier 2023

Encadrants :

- **HÉRAULT Frédéric** Ingénieur d'Étude
- **PHILIPPE Romain** Chargé de Recherche
- **DIOT Christian** Directeur de Recherche

I. Contexte de l'étude

L'abattage des poussins mâles après éclosion, pratiqué dans la filière de production d'œufs, est un sujet de préoccupation majeur dans l'industrie avicole, car il est responsable de la mort de sept milliards d'oiseaux chaque année [1]. En France, cela représente environ 50 millions de poussins mâles d'un jour tués chaque année. Ces abattages ont été largement critiqués pour leur cruauté, et ont conduit à une prise de conscience croissante auprès des consommateurs. Pour remédier à cette situation, des campagnes de lutte pour la protection animale ont été lancées ces dernières années et ont contribué à la mise en place de mesures pour protéger les animaux. En février 2022, un décret porté par le ministre de l'Agriculture, a interdit l'abattage des poussins mâles à partir du 1^{er} janvier 2023 [2,3]. La mise en place d'alternatives durables et viables pour remplacer l'abattage des poussins mâles doit tenir compte des contraintes éthiques, sociales, économiques et environnementales pour permettre de répondre aux attentes des consommateurs et d'assurer une transition efficace dans le respect des animaux, de leur bien-être et de l'environnement.

Certaines alternatives nécessitent des investissements importants en termes de recherche et développement, ainsi qu'une adaptation des systèmes d'élevage existants. Il est crucial de poursuivre les efforts pour mettre en place des alternatives à l'abattage des poussins mâles, notamment en poursuivant le développement de technologies innovantes [4], tout en veillant à ce qu'elles soient conformes aux contraintes évoquées précédemment.

• Alternatives à l'abattage de poussins mâles

Trois approches sont explorées pour arrêter l'abattage des poussins mâles à leur naissance. Ces approches comprennent l'ovosexage ou sexage *in ovo* qui permet de déterminer le sexe des poussins avant même qu'ils ne soient éclos, l'élevage des mâles de lignées ponte pour la production de viande et le développement de lignées à double finalité [4,5].

Plusieurs méthodes d'ovosexage ont été décrites, classées ci-après de la plus invasive à la moins invasive : l'étude *in ovo* des cellules sanguines de l'embryon qui contiennent les informations génétiques sur le sexe [6], la mesure hormonale (concentration d'œstrogène ou du sulfate d'œstrone) dans le liquide allantoïdien [7,8], la mesure de biomarqueurs (glucose et acides aminés) [9], la détection d'un marqueur fluorescent (inséré dans le chromosome Z par édition du génome de la mère) pouvant être révélé de la ponte à l'éclosion [10], l'analyse des composés volatils à la surface de l'œuf dès le premier jour d'incubation [11], l'imagerie hyper-spectrale qui est une méthode de spectrométrie par diffraction non invasive [12], et l'imagerie optique chez les lignées de pondeuses ayant un dimorphisme sexuel basé sur la couleur des plumes [13].

Parmi ces différentes méthodes, certaines, telles que la mesure hormonale, sont en cours d'évaluation préliminaire à une application industrielle, tandis que d'autres, comme la méthode optique, présentent des limites, notamment en termes de mise en œuvre tardive (13^{ème} jour d'incubation sur un total de 21 jours d'incubation) et d'adéquation aux souches brunes [14]. Cependant, il est important de noter que certaines techniques d'ovosexage soulèvent des préoccupations éthiques, notamment en ce qui concerne la douleur potentielle ressentie par l'embryon lors de l'élimination précoce de l'œuf qui commence à percevoir la douleur après sept jours de développement. De plus, les méthodes invasives présentent des défis techniques et des risques sanitaires pour les consommateurs, ce qui rend leur utilisation à grande échelle actuellement difficile. Il est crucial de poursuivre les efforts pour améliorer ces méthodes et de tenir compte des enjeux éthiques et techniques [15].

Une approche développée par une équipe israélienne consiste à arrêter le développement de l'embryon mâle dans l'œuf. Cette approche repose sur l'édition du génome du chromosome Z des femelles. Les femelles étant hétérogamétiques (ZW) et les mâles homogamétiques (ZZ), elles vont transmettre à leur descendant mâle le chromosome mâle « édité ». Cette édition du génome provoque après induction par une exposition de plusieurs heures à la lumière bleue, l'arrêt du développement des individus mâles ayant reçu le chromosome Z édité de leur mère [16]. Cependant, cette méthode ne satisfait pas aux conditions de l'Union Européenne car elle implique une modification génétique.

Différentes études ont identifié plusieurs défis en matière de productivité et d'efficacité dans l'élevage des frères mâles de poules de la filière de la ponte [17]. Ces animaux sont moins performants que les mâles de lignées dédiées à la production de viande qu'ils soient de lignée à croissance rapide ou à croissance lente. Le défi majeur est d'améliorer l'efficacité alimentaire pour ces poulets.

Une alternative plus éthique que l'ovosexage pour remplacer l'abattage des poussins mâles est le développement de lignées de poules à double usage, ou "souches duales"[18]. Elle consiste à développer des lignées de poules qui peuvent être utilisées à la fois pour la ponte et pour la production de viande. Cela permettrait d'arrêter d'éliminer les poussins mâles et de les valoriser dans la filière de production de viande [4]. Cependant, la production de viande par les mâles des lignées à double usage actuellement existante n'est aujourd'hui pas satisfaisante d'un point de vue économique [4]. Des recherches sont donc nécessaires pour améliorer la productivité de ces lignées et exploiter pleinement cette alternative.

- **Objectifs du stage**

Dans le cadre de ce stage, notre objectif principal sera d'identifier les régions génétiques ayant répondu à la pression de sélection pour favoriser l'expression des caractères liés à la production d'œufs et de viande chez les poules. Pour ce faire, nous allons identifier les régions génétiques

soumises à une forte pression de sélection, telles que les haplotypes fréquemment présents ou les longs segments homozygotes (ROH), qui peuvent correspondre à des effets de la sélection artificielle qui a pour conséquence de réduire la diversité génétique des populations de volailles sélectionnées. Nous allons mettre en place des analyses génétiques et bioinformatiques sur des populations de volailles de différentes races et lignées pour atteindre ces objectifs. Les résultats obtenus permettront de progresser dans notre compréhension des mécanismes biologiques ayant répondu aux effets de la sélection liés à la production d'œufs et de viande chez les poules, afin d'envisager des stratégies d'amélioration génétique plus éthiques et respectueuses à la fois de l'environnement et du bien-être animal.

II. État de l'art

- **Sélection et perte de diversité génétique**

Les longs segments homozygotes (*Runs of Homozygosity*, ROH) sont définis comme des régions présentant une homozygotie continue dans le génome, qui, en raison de leur longueur, sont supposés provenir d'un ancêtre commun et conservées dans le génome du fait de la sélection. Des phénomènes tels que la dérive génétique, l'effet fondateur, le goulot d'étranglement de la population, la consanguinité et la sélection artificielle, définis ci-après conduisent à la formation de ROH dans le génome [19].

Nous parlons de sélection artificielle lorsqu'elle résulte de choix effectués par l'homme sur une population donnée. Les sélectionneurs ne permettent la reproduction que des animaux répondant à des critères préalablement choisis et adaptés à leur filière. L'objectif sous-jacent étant d'augmenter la fréquence des allèles favorables et de diminuer celle des allèles indésirables. L'objectif de notre étude est de retrouver les régions résultant de la sélection artificielle afin de déterminer les haplotypes favorables aux caractères des filières avicoles : les traces de sélection.

La fréquence allélique d'un gène correspond à la proportion d'un allèle donné dans une population. Celle-ci peut varier d'une génération à l'autre à cause de la dérive génétique, un mécanisme aléatoire qui modifie la fréquence des allèles dans une population en les augmentant ou en les diminuant. La dérive génétique est plus rapide dans des populations plus petites et peut entraîner une diminution de la variabilité génétique à plus ou moins long terme. L'effet fondateur se produit lorsqu'un groupe d'individus issu d'une population mère plus grande se sépare pour coloniser un nouveau milieu, en apportant seulement un échantillon réduit des allèles de la population d'origine. Cela peut entraîner des fréquences alléliques très différentes de la population d'origine. Dans le cadre de la sélection, cette sous-population correspond aux animaux qui ont été sélectionnés pour la reproduction. Les goulots d'étranglements, qui correspondent à une réduction importante de la

population, peuvent également influencer le taux d'homozygotie, en réduisant la diversité génétique. Il en est de même pour la consanguinité, lorsque deux individus avec une parenté étroite se reproduisent entre eux.

- **Études antérieures**

La sélection des volailles a conduit à la spécialisation de lignées pour la production d'œufs (pondeuses) et de viande (chair), chacune avec des caractères distincts pour satisfaire ces finalités. Cependant, les caractères de reproduction qui sont favorables pour la production d'œufs ne sont souvent pas les mêmes que ceux qui sont favorables pour la production de viande, ce qui peut poser des défis pour le développement de lignées à double finalité [20].

Des études ont été menées sur des races locales en France afin de notamment caractériser et gérer la diversité génétique de la poule, sous la supervision du SYSAAF (Syndicat des Sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français) [21]. Les races locales sont moins spécialisées et possèdent une plus grande diversité génétique que les lignées commerciales issues d'une sélection. Ces études offrent une source importante de matériel génétique en vue d'améliorer les caractéristiques de croissance et de production pour les volailles à double finalité. De plus, elles ont démontré que les outils moléculaires tels que les estimations basées sur les ROH sont très utiles pour évaluer et surveiller la diversité génétique des lignées de volailles. De telles méthodes pourraient aider les éleveurs à maximiser les avantages génétiques de leurs populations de volailles, ce qui peut conduire à une meilleure production de viande et d'œufs et finalement au développement de lignées à double finalité [22].

La relation entre les caractères de production d'œufs et de viande chez les volailles a également été examinée. Les résultats de ces études de corrélation génétique sont variables. Certaines ont montré des corrélations plutôt négatives tandis qu'une autre a révélé une corrélation forte entre des caractères propres à la production d'œufs et production de viande [23–26]. Ces différentes études montrent d'abord que les différentes races ont des corrélations génétiques entre les différents caractères qui leurs sont propres, mais aussi que le développement de lignée à double finalité peut être un objectif, grâce à une amélioration génétique adéquate, associant des caractères de croissance et de production.

III. Méthodologie

Lors de ce stage, nous entreprendrons une première étude comprenant 4 groupes de 10 oiseaux issus des filières commerciales de poulets de chair et de pondeuses. Nos données proviennent d'une étude génétique de la poule « moderne » (*Gallus gallus domesticus*) basée sur le séquençage d'individus issus de populations multiples [27]. Les poulets de chair proviennent des États-Unis et de

France, leurs données ont été collectées dans le cadre du projet AVIANDIV [28]. Les poudeuses comprennent deux lignées parentales de couleurs différentes, des White Leghorn et Rhode Island Red provenant de LOHMANN Tierzucht GmbH, séquencées dans le cadre du projet SYNBREED [29].

Bien que l'échantillon initial (N=4x10) soit adéquat pour une preuve de concept [30], une seconde étude avec un plus grand pool d'individus devra être menée pour renforcer la fiabilité des résultats. Cette première étude est un pas important pour évaluer notre approche, mais des recherches supplémentaires seront nécessaires pour obtenir des conclusions plus robustes.

Le processus de préparation des données de séquences brutes consiste en premier lieu à aligner les séquences obtenues sur le génome de référence pour les rendre comparables entre elles, et à utiliser des outils tels que GATK [31] et SamTools [32] pour identifier des variants, différent de la séquence de référence [27].

Une fois cette étape réalisée, nous utiliserons le logiciel PLINK pour identifier les régions du génome qui ont été soumises à une sélection et déterminer les haplotypes qui sont fréquents ou présentent des longs segments homozygotes (ROH) pour les deux types de lignées [33], à savoir chair et ponte.

Enfin, nous pourrions utiliser le package BioMart proposé par Bioconductor afin d'exploiter la base de données ENSEMBL pour effectuer une caractérisation fonctionnelle des régions identifiées, afin d'en comprendre le rôle dans le génome [34]. Les différents outils nous permettront d'identifier les régions du génome associées aux caractères d'intérêt pour les deux types de lignées, et de les comprendre sur le plan fonctionnel.

IV. Conclusion

Aujourd'hui, l'amélioration de lignées passe par la sélection des animaux les plus performants avec des approches de génomique. Ainsi, les régions génomiques impliquées dans des caractères de production sont identifiées et les individus présentant les haplotypes les plus favorables à ces caractères sont sélectionnés de manière à améliorer leur descendance. Les dernières découvertes sur les gènes impliqués dans la réponse à la sélection pourraient être mises à profit pour affiner le choix des reproducteurs dans les lignées à double finalité et ainsi améliorer les performances des individus. Le développement de ces lignées constitue à la fois une étape logique mais également un défi majeur pour la filière avicole. Cela permettrait de répondre aux différentes préoccupations des consommateurs, tout en assurant une continuité sans contradiction pour les industriels, avec une approche qui se voudrait responsable d'un point de vue éthique et environnemental.

V. Références bibliographiques

1. Poultry Site. 2015. Global Poultry Trends 2014: Rapid Growth in Asia's Egg Output. Available online: <https://www.thepoultrysite.com/>
2. Décret N° 2022-137 Du 5 Février 2022 Relatif à l'interdiction de Mise à Mort Des Poussins Des Lignées de l'espèce Gallus Gallus Destinées à La Production d'œufs de Consommation et à La Protection Des Animaux Dans Le Cadre de Leur Mise à Mort En Dehors Des Établissements d'abattage, Légifrance : <https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000045124750>
3. Communiqué de presse - Fin de l'élimination des poussins mâles en filières ponte en 2022 Available online: <https://agriculture.gouv.fr/fin-de-lelimination-des-poussins-males-en-filieres-ponte-en-2022>
4. Krautwald-Junghanns, M.-E.; Cramer, K.; Fischer, B.; Förster, A.; Galli, R.; Kremer, F.; Mapesa, E.U.; Meissner, S.; Preisinger, R.; Preusse, G.; et al. Current Approaches to Avoid the Culling of Day-Old Male Chicks in the Layer Industry, with Special Reference to Spectroscopic Methods. *Poultry Science* 2018, *97*, 749–757, doi:10.3382/ps/pex389.
5. Gautron, J.; Réhault-Godbert, S.; Van de Braak, T.G.H.; Dunn, I.C. Review: What Are the Challenges Facing the Table Egg Industry in the next Decades and What Can Be Done to Address Them? *Animal* 2021, *15 Suppl 1*, 100282, doi:10.1016/j.animal.2021.100282.
6. Galli, R.; Preusse, G.; Uckermann, O.; Bartels, T.; Krautwald-Junghanns, M.-E.; Koch, E.; Steiner, G. In Ovo Sexing of Domestic Chicken Eggs by Raman Spectroscopy Available online: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acs.analchem.6b01868>
7. Tran, H.T.; Ferrell, W.; Butt, T.R. An Estrogen Sensor for Poultry Sex Sorting. *Journal of Animal Science* 2010, *88*, 1358–1364, doi:10.2527/jas.2009-2212.
8. Weissmann, A.; Reitemeier, S.; Hahn, A.; Gottschalk, J.; Einspanier, A. Sexing Domestic Chicken before Hatch: A New Method for in Ovo Gender Identification. *Theriogenology* 2013, *80*, 199–205, doi:10.1016/j.theriogenology.2013.04.014.
9. BRUINS, W.S.; STUTTERHEIM, W.M. Gender, Viability and/or Developmental Stage Determination of Avian Embryos in Ovo 2014.
10. Doran, T.J.; Morris, K.R.; Wise, T.G.; O'Neil, T.E.; Cooper, C.A.; Jenkins, K.A.; Tizard, M.L.V.; Doran, T.J.; Morris, K.R.; Wise, T.G.; et al. Sex Selection in Layer Chickens. *Anim. Prod. Sci.* 2017, *58*, 476–480, doi:10.1071/AN16785.
11. Webster, B.; Hayes, W.; Pike, T.W. Avian Egg Odour Encodes Information on Embryo Sex, Fertility and Development. *PLOS ONE* 2015, *10*, e0116345, doi:10.1371/journal.pone.0116345.
12. Rozenboim, I.; Dor, E.B. Hyperspectral Identification of Egg Fertility and Gender 2016.
13. Göhler, D.; Fischer, B.; Meissner, S. In-Ovo Sexing of 14-Day-Old Chicken Embryos by Pattern Analysis in Hyperspectral Images (VIS/NIR Spectra): A Non-Destructive Method for Layer Lines with Gender-Specific down Feather Color. *Poult Sci* 2017, *96*, 1–4, doi:10.3382/ps/pew282.
14. Bourin, M.; Puterflam, J.; Bouvarel, I. Avancées concernant les méthodes d'ovosexage des poussins. 2020.
15. Bruijnijis, M.R.N.; Blok, V.; Stassen, E.N.; Gremmen, H.G.J. Moral "Lock-In" in Responsible Innovation: The Ethical and Social Aspects of Killing Day-Old Chicks and Its Alternatives. *J Agric Environ Ethics* 2015, *28*, 939–960, doi:10.1007/s10806-015-9566-7.
16. i24NEWS Une technologie israélienne met fin au broyage des poussins mâles Available online: <https://www.i24news.tv/fr/actu/international/1670943697-une-technologie-israelienne-met-fin-au-broyage-des-poussins-males>
17. Koenig, M.; Hahn, G.; Damme, K.; Schmutz, M. Utilization of Laying-Type Cockerels as

“Coquelets”: Influence of Genotype and Diet Characteristics on Growth Performance and Carcass Composition. *Archiv für Geflügelkunde* 2012, 76, 197–202.

18. Busse, M.; Kernecker, M.L.; Zscheischler, J.; Zoll, F.; Siebert, R. Ethical Concerns in Poultry Production: A German Consumer Survey About Dual Purpose Chickens. *J Agric Environ Ethics* 2019, 32, 905–925, doi:10.1007/s10806-019-09806-y.

19. Peripolli, E.; Munari, D.P.; Silva, M.V.G.B.; Lima, A.L.F.; Irgang, R.; Baldi, F. Runs of Homozygosity: Current Knowledge and Applications in Livestock. *Animal Genetics* 2017, 48, 255–271, doi:10.1111/age.12526.

20. Mueller, S.; Kreuzer, M.; Siegrist, M.; Mannale, K.; Messikommer, R.E.; Gangnat, I.D.M. Carcass and Meat Quality of Dual-Purpose Chickens (Lohmann Dual, Belgian Malines, Schweizerhuhn) in Comparison to Broiler and Layer Chicken Types. *Poultry Science* 2018, 97, 3325–3336, doi:10.3382/ps/pey172.

21. SYSAAF Available online: <https://www.sysaaf.fr/>.

22. Restoux, G.; Rognon, X.; Vieaud, A.; Guemene, D.; Petitjean, F.; Rouger, R.; Brard-Fudulea, S.; Lubac-Paye, S.; Chiron, G.; Tixier-Boichard, M. Managing Genetic Diversity in Breeding Programs of Small Populations: The Case of French Local Chicken Breeds. *Genet Sel Evol* 2022, 54, 56, doi:10.1186/s12711-022-00746-2.

23. Niknafs, S.; Nejati-Javaremi, A.; Mehrabani-Yeganeh, H.; Fatemi, S.A. Estimation of Genetic Parameters for Body Weight and Egg Production Traits in Mazandaran Native Chicken. *Trop Anim Health Prod* 2012, 44, 1437–1443, doi:10.1007/s11250-012-0084-6.

24. Haunshi, S.; U, R.; Paswan, C.; Prince, L.L.L.; Chatterjee, R.N. Inheritance of Growth Traits and Impact of Selection on Carcass and Egg Quality Traits in Vanashree, an Improved Indigenous Chicken. *Trop Anim Health Prod* 2021, 53, 128, doi:10.1007/s11250-021-02575-9.

25. Dana, N.; vander Waaij, E.H.; van Arendonk, J.A.M. Genetic and Phenotypic Parameter Estimates for Body Weights and Egg Production in Horro Chicken of Ethiopia. *Trop Anim Health Prod* 2011, 43, 21–28, doi:10.1007/s11250-010-9649-4.

26. Tongsiri, S.; Jeyaruban, G.M.; Hermes, S.; van der Werf, J.H.J.; Li, L.; Chormai, T. Genetic Parameters and Inbreeding Effects for Production Traits of Thai Native Chickens. *Asian-Australas J Anim Sci* 2019, 32, 930–938, doi:10.5713/ajas.18.0690.

27. Qanbari, S.; Rubin, C.-J.; Maqbool, K.; Weigend, S.; Weigend, A.; Geibel, J.; Kerje, S.; Wurmser, C.; Peterson, A.T.; Jr, I.L.B.; et al. Genetics of Adaptation in Modern Chicken. *PLOS Genetics* 2019, 15, e1007989, doi:10.1371/journal.pgen.1007989.

28. AVIANDIV Available online: <https://aviandiv.fli.de/>

29. Synbreed: R2: Chicken Available online: <https://webarchiv.it.ls.tum.de/synbreed.tum.de/sub-projects/r2-chicken/index.html>

30. Willing, E.-M.; Dreyer, C.; Oosterhout, C. van Estimates of Genetic Differentiation Measured by FST Do Not Necessarily Require Large Sample Sizes When Using Many SNP Markers. *PLOS ONE* 2012, 7, e42649, doi:10.1371/journal.pone.0042649.

31. GATK Available online: <https://gatk.broadinstitute.org/hc/en-us>

32. SAMtools Available online: <https://samtools.sourceforge.net/>

33. Meyermans, R.; Gorssen, W.; Buys, N.; Janssens, S. How to Study Runs of Homozygosity Using PLINK? A Guide for Analyzing Medium Density SNP Data in Livestock and Pet Species. *BMC Genomics* 2020, 21, 94, doi:10.1186/s12864-020-6463-x.

34. Durinck, S.; Spellman, P.T.; Birney, E.; Huber, W. Mapping Identifiers for the Integration of Genomic Datasets with the R/Bioconductor Package BiomaRt. *Nat Protoc* 2009, 4, 1184–1191, doi:10.1038/nprot.2009.97.

II

UNIVERSITE DE RENNES

Master Biologie Moléculaire & Cellulaire

***INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE POUR L'AGRICULTURE,
L'ALIMENTATION ET L'ENVIRONNEMENT***

**Unité mixte de recherche Physiologie, Environnement et Génétique
pour l'Animal et les Systèmes d'Élevage (UMR PEGASE)**

Adel FODIL-CHÉRIF

Analyse de la diversité génétique et des traces de sélection dans les filières avicoles chair et ponte

MÉMOIRE 2 :

RESULTATS ET DISCUSSION

Stage du 3 janvier 2023 au 30 juin 2023

Encadrants :

- | | |
|---------------------------|------------------------|
| - HÉRAULT Frédéric | Ingénieur d'Étude |
| - PHILIPPE Romain | Chargé de Recherche |
| - DIOT Christian | Directeur de Recherche |

RESUME

Dans cette étude, une analyse détaillée de la diversité génétique et des traces de sélection, en particulier des régions d'homozygotie dans des lignées de poules destinées à la production de chair ou d'œufs a été réalisée. L'objectif était d'identifier des régions spécifiques à chaque filière, celles-ci devant par la suite être prises en compte pour envisager de nouveaux systèmes de production, représentant des alternatives durables et plus éthiques aux systèmes actuels. Une forte variabilité génétique a ainsi été identifiée entre les animaux des filières ponte et chair, probablement due en partie aux différentes sélections réalisées dans ces deux filières. Des régions d'homozygotie spécifiques à chaque lignée ont été identifiées, correspondant à des régions QTL déjà décrites comme étant impliquées dans la variabilité de caractères de production de viande ou d'œufs, et comportant pour certaines des gènes candidats fonctionnels, *ELOVL4*, *TTK*, et *ICAI* qui pourraient jouer un rôle dans la production d'œufs. Cette étude est une preuve de concept pour l'identification de régions génétiques homozygotes spécifiques à chaque filière avicole, qu'elles soient destinées à la production de chair ou d'œufs.

REMERCIEMENTS

Je souhaite commencer par exprimer toute ma gratitude à toutes les personnes que j'ai eu l'honneur de rencontrer et avec qui j'ai pu échanger durant ce stage.

Je souhaite exprimer toute ma gratitude et ma reconnaissance envers mes trois encadrants pour m'avoir accordé leur confiance en me permettant de réaliser ce stage. Merci à Frédéric HERAULT pour ton aide précieuse, ta bienveillance et tes conseils. Merci à Christian DIOT, je suis à la fois très heureux et reconnaissant d'avoir pu bénéficier de nos échanges enrichissants et de ton expérience à mes côtés. Enfin, Romain PHILIPPE, bien que notre temps ensemble ait été limité, un grand merci pour ton expertise et nos discussions très stimulantes.

Un grand merci à toute l'équipe GGA, en particulier à Nicolas BEDERE et Pascale LE ROY pour leur aide et leurs réponses à mes questions.

Je tiens également à exprimer ma gratitude envers Sophie BRARD-FUDULEA pour son aide dans la réalisation de ce stage.

Je ne saurais oublier de remercier tous les stagiaires avec qui j'ai pu partager ces moments. À Olivia et Juli, mes camarades de bureau, merci pour votre compagnie au quotidien. À Marie et Ilona, merci pour tous ces trajets et ces rires partagés ensemble. Et bien sûr, Anna, Camille, Clémentine, Laure, Lola, Malinka, Manon, Maxence, Nathan, Pierre et Yannick, ce fut un plaisir de partager cette expérience avec vous tous.

Pour finir, je tiens à remercier mes parents et mes deux sœurs pour leurs encouragements et leur soutien inconditionnel.

SOMMAIRE

Introduction	1
Matériel & Méthodes	1
- Données de séquences	1
- Ressources informatiques	2
- Contrôle qualité et alignement des séquences	2
- Identification des variants (<i>Variant Calling</i>)	2
- Détection des régions d'homozygotie	2
- Relevé des SNP présents ou absents dans des segments ROH pour chaque individu	3
- Classification ascendante hiérarchique	3
- Identification des régions ROH d'intérêt	3
- Identification et caractérisation fonctionnelle des gènes localisés dans des régions ROH spécifiques	4
Résultats	4
- Identification des SNP-ROH dans les différentes lignées et filières	4
- Analyse des régions homozygotes	4
- Analyse de la répartition des SNP-ROH entre les individus de chaque filière	5
- Regroupement des individus en fonction des SNP présents ou absents dans les régions ROH ...	6
- Identification des régions ROH spécifiques à chaque filière	6
- Identification des gènes présents dans les ROH spécifiques à chaque filière	7
- Identifications de QTL colocalisées dans les régions ROH de chaque filière	8
Discussion	8
- Diversité génétique entre les filières	9
- Analyse des regroupements d'individus à partir des SNP-ROH	10
- Identification des régions spécifiques, gènes et QTL pour chaque filière	10
Conclusion	11
Figures & Tableaux	13
Références bibliographiques	19

INTRODUCTION

L'industrie avicole, en France et à l'échelle mondiale, est confrontée à une préoccupation majeure : l'abattage des poussins mâles après éclosion. Cette pratique, responsable de l'élimination de 7 milliards de poussins chaque année, a été interdite en France à partir de 2023, nécessitant désormais de nouvelles pratiques d'élevage. Plusieurs alternatives ont été proposées pour remplacer cette méthode, comprenant le sexage *in ovo*, l'élevage de mâles pour la production de viande et le développement de lignées à double finalité. Néanmoins, chacune de ces alternatives présente des défis importants, qu'ils soient d'ordre technique, économique ou éthique. Le développement de lignées à double finalité se présente comme une alternative intéressante, bien qu'elle nécessite une compréhension plus avancée des déterminismes génétiques des productions de chair et d'oeufs.

Notre étude s'inscrit dans ce contexte, l'objectif étant de fournir une preuve de concept pour l'identification de traces de sélection spécifiques à chaque filière. Notre approche consiste à identifier des régions génomiques homozygotes spécifiques à chaque filière et à les annoter en vue de comprendre le lien avec les caractères.

La prise en compte de ces nouvelles connaissances pourrait permettre le développement de nouveaux systèmes de production assurant une transition vers des pratiques d'élevage plus durables et plus responsables dans l'industrie avicole.

MATERIEL & METHODES

Données de séquences

Dans cette étude, nous avons réutilisé des séquences génomiques issues de bases de données publiques pour constituer notre échantillon initial de quatre groupes de dix oiseaux représentant quatre lignées commerciales : deux lignées de poulets de chair et deux lignées de poules pondeuses afin d'établir une preuve de concept. Cet échantillon, bien que de taille limitée, a été considéré comme adéquat pour une première évaluation de notre approche [1].

L'échantillon étudié comprend 40 individus provenant de lignées parentales de type chair ou ponte : 10 individus d'une lignée de type chair américaine, 10 individus d'une lignée de type chair française et 20 individus de lignée de type ponte : 10 White Leghorn et 10 Rhode Island Red. Ces échantillons proviennent de deux projets visant à étudier la diversité génétique chez la poule (AVIANDIV et

SYNBREED) [2]. Les séquences ont été générées dans le cadre d'une étude portant sur l'évolution adaptative des lignées commerciales de poules [3].

Ressources informatiques

Nous avons utilisé des outils bio-informatiques pour réaliser des alignements de génomes et identifier des variants dans les séquences d'ADN de poulets issus des différentes lignées. Toutes les analyses ont été effectuées avec les ressources du cluster de la plateforme bioinformatique de Genotoul, en utilisant l'environnement SLURM pour permettre la gestion des ressources et des tâches [4].

Contrôle qualité et alignement des séquences

Afin d'évaluer la qualité des séquences que nous avons utilisées pour cette étude, le logiciel FastQC (v0.11.7) a été utilisé pour analyser nos fichiers de séquences brutes. Les séquences ont ensuite été alignées sur le génome de référence *Gallus gallus* (GRCg7b, Ensembl, gene build version 109) à l'aide de l'aligneur BWA (v0.7.17) [5,6]. La profondeur de lecture a été évaluée à l'aide des outils Bedtools (v2.25.0) et Samtools (v1.9) [7].

Identification des variants (*Variant Calling*)

Pour réaliser l'identification des variants (SNP et INDEL), l'outil *HaplotypeCaller* GATK (v4.1.7.0) a été utilisé. Le génotypage a été réalisé avec l'outil *GenotypeGVCFs* de GATK. Les variants ont été par la suite triés à l'aide des outils *SelectVariants* (pour sélectionner les SNP) et *VariantFiltration* (pour filtrer les variants selon leur qualité) [8], conformément aux recommandations de GATK en matière de filtrage, afin de ne conserver que les variants de bonne qualité. Au total, 15 424 085 polymorphismes nucléotidiques (SNP) ont été identifiés dans l'ensemble des séquences.

Détection des régions d'homozygotie

L'identification des régions d'homozygotie (ROH) a été réalisée avec le logiciel PLINK (v1.90) [9] avec des paramètres correspondant à ceux utilisés dans une étude antérieure similaire [10].

Pour détecter des régions ROH le logiciel parcourt le génome de chaque individu par fenêtre glissante. Ces fenêtres doivent contenir au moins 50 SNP (*--homozyg-window-snp*) et contenir au maximum 3 SNP hétérozygotes (*--homozyg-window-het*) et jusqu'à 5 SNP manquants (*--homozyg-window-missing*). Pour qu'un SNP soit qualifié comme appartenant à un segment ROH, celui-ci doit avoir été identifié dans au

moins 5 % des fenêtres d'analyses le contenant. La taille minimale d'un segment ROH a été définie à 300 kb (*--homozyg-kb*) et il doit contenir au moins 50 SNP (*--homozyg-snp*). La densité minimum de SNP dans un segment ROH est de 1 SNP / 50 kb (*--homozyg-density*) et l'écart maximal entre deux SNP d'un même segment a été fixé à 1000 kb (*--homozyg-gap*). Par simplification, ces SNP présents dans des régions ROH seront par la suite mentionnés sous la forme SNP-ROH.

Relevé des SNP présents ou absents dans des segments ROH pour chaque individu

Un tableau précisant la localisation du SNP, ainsi que pour chaque individu, la présence ou l'absence de ce SNP dans un segment ROH a été généré à l'aide du logiciel R (version R 4.2.2). Ce tableau inclut les 15 424 085 SNP identifiés sur les 39 chromosomes du génome de la poule, ainsi que sur la paire de chromosomes sexuels.

Pour chaque individu, la présence ou l'absence de chaque SNP-ROH a été indiquée par les chiffres 1 ou 0, respectivement. Cette représentation binaire facilite l'analyse et la comparaison des données entre les individus, en permettant l'identification rapide des différences génétiques.

Classification ascendante hiérarchique

Les données de présence ou absence des SNP dans des ROH chez les différents individus ont été utilisées pour réaliser une classification ascendante hiérarchique (CAH), une méthode statistique non supervisée permettant de regrouper les individus selon la similarité de leurs données ROH.

La CAH a été mise en œuvre avec la fonction *hclust* (package stats v.4.0.5) du logiciel R.

Un dendrogramme, réalisé avec la fonction *plotColoredClusters* (package ClassDiscovery v.3.4.0) a permis de visualiser les proximités génétiques relatives entre les différents individus de l'étude.

Identification des régions ROH d'intérêt

Des régions ROH, spécifiques aux deux filières étudiées ont été recherchées. Ces régions d'intérêt sont constituées de groupes de SNP-ROH, présents chez une majorité d'individus d'une filière et absents des segments ROH trouvés pour l'autre filière.

Pour y parvenir, le relevé de tous les SNP-ROH pour tous les individus étudiés a été utilisé. Un seuil a été fixé : un SNP-ROH doit être présent chez au moins 16 individus dans la filière concernée uniquement.

Ces seuils, arbitraires, ont été choisis pour s'assurer que les SNP sélectionnés soient représentatifs de chaque filière.

Identification et caractérisation fonctionnelle des gènes localisés dans des régions ROH spécifiques

L'identification et la caractérisation des gènes présents dans ces régions d'intérêt ont été réalisées à l'aide du package R biomaRt (v. 2.54.0). Les informations sur les gènes ont été récupérées à partir de la base de données Ensembl [11] et de la version *bGalGall.mat.broiler.GRCg7b* du génome de la poule [12]. Pour chaque gène localisé dans ces régions d'intérêt, le nom, la description, la localisation et les annotations fonctionnelles provenant de la classe processus biologique de la *Gene Ontology Annotations* ont été récupérés. Cette analyse a permis l'établissement d'une liste de gènes candidats fonctionnels spécifiques pour chaque filière.

La base de données de QTL [13], recensant les régions du génome associées à la variation de caractères quantitatifs chez le poulet, a été utilisée pour caractériser les régions ROH identifiées.

RÉSULTATS

Identification des SNP-ROH dans les différentes lignées et filières

L'analyse de la diversité génétique à travers l'étude des ROH des différentes lignées de poulets de chair et de ponte a permis de mettre en évidence une variabilité importante du nombre de SNP-ROH pour chaque filière et lignée (**Tableau 1**).

Un total de 13 852 716 SNP-ROH a été identifié pour au moins un individu dans les filières de chair et de ponte. Au sein de la filière chair, un total de 10 188 253 SNP-ROH a été identifié, dont 5 567 047 dans la lignée américaine et 6 289 184 dans la lignée française.

Pour la filière de ponte, un total de 12 667 046 SNP-ROH a été identifié. Dans la lignée Rhode Island 9 198 306 SNP-ROH ont été identifiés, tandis que 10 959 026 ont été identifiés dans la lignée White Leghorn.

Analyse des régions homozygotes

Les segments ROH identifiés pour chaque type génétique et chaque lignée montrent une grande variabilité en termes de nombre, de taille et de distribution des ROH (**Tableau 2**).

Pour la filière chair, la lignée américaine présente un total de 2 491 ROH. La taille maximale des ROH détectés est de 5 094 kb, pour une taille moyenne de 637 kb. Ces ROH représentent une couverture moyenne d'environ 15 % du génome. La lignée française comporte un total de 3 161 ROH, une taille maximale de 3 470 kb, une taille moyenne de 619 kb, avec une couverture moyenne d'environ 19 % du génome.

Concernant la filière de ponte, la lignée Rhode Island contient un total de 5 122 ROH, une taille maximale de 3 761 kb, une taille moyenne de 588 kb, avec une couverture moyenne d'environ 29 % du génome. La lignée White Leghorn présente un total de 6 313 ROH, une taille maximale de 4 269 kb, une taille moyenne de 658 kb, avec une couverture moyenne d'environ 39 % du génome.

La **Figure 1** montre les pourcentages de couverture des chromosomes par les régions ROH pour chaque lignée, indiquant des variations considérables selon les lignées et les chromosomes, particulièrement pour les neuf premières paires de chromosomes autosomiques. Le niveau moyen de couverture chromosomique est plus élevé chez les animaux de type ponte que chez les animaux de type chair.

Concernant ces chromosomes, la couverture varie entre 12 et 24 % dans la lignée américaine et entre 14 et 24 % dans la lignée française.

Pour la lignée Rhode Island, la couverture est supérieure à 20 % pour les 9 premiers chromosomes, et atteint jusqu'à 40 %. Pour la lignée White Leghorn, la couverture de ces chromosomes varie entre 25 % et 68 %.

Analyse de la répartition des SNP-ROH entre les individus de chaque filière

Le **Tableau 3** présente le comptage des SNP localisés dans les ROH pour chaque individu des filières de poulets de chair et de ponte.

La cellule située en haut à gauche du tableau indique le nombre de SNP (1 571 369), parmi les 15 millions initialement recensés, qui ne sont présents chez aucun individu dans les deux filières, SNP qui ne sont donc pas des SNP-ROH chez tous les individus des deux filières.

Dans la première ligne du tableau, correspondant aux SNP-ROH identifiés chez les individus de la filière ponte seulement, les quatre dernières cellules totalisent 16 147 SNP. Ces SNP-ROH sont localisés dans des segments ROH spécifiques aux individus de la filière ponte.

Aucun SNP n'a été identifié comme étant à la fois présent chez au moins 16 individus dans la filière chair et absent dans la filière ponte. Néanmoins, 519 SNP ont été trouvés chez au moins 12 individus de la filière chair et aucun individu de la filière ponte.

La **Figure 2** est un histogramme illustrant la distribution des SNP présents dans les régions ROH en fonction des individus des filières chair et ponte.

Dans la filière chair, les SNP-ROH sont en majorité présents chez 1 à 3 individus. Une baisse rapide du nombre de SNP-ROH est ensuite observée lorsque le nombre d'individus qui les partagent augmente.

Pour la filière ponte, la distribution est différente. Une augmentation du nombre de SNP-ROH est observée entre 1 et 4 individus. Par la suite, un plateau est atteint avec environ 1,3 millions de SNP-ROH partagés par 4 à 8 individus. A partir de 8 individus, une diminution progressive du nombre de SNP-ROH partagés est observée en fonction du nombre d'individus concernés pour atteindre environ 32 000 SNP-ROH partagés par tous les 20 individus.

Regroupement des individus en fonction des SNP présents ou absents dans les régions ROH

La **Figure 3** présente un dendrogramme regroupant les 40 individus étudiés en fonction de l'appartenance ou non d'un SNP à un segment ROH pour chaque individu.

Sur cette figure, 3 clusters sont identifiables. Le premier cluster est formé par les 10 individus de la lignée ponte White Leghorn, se situant à une distance génétique plus grande des deux autres clusters.

Le second cluster regroupe 9 individus de la filière ponte Rhode Island. Il est plus proche des individus de type chair regroupés dans le troisième cluster que des individus White Leghorn regroupés dans le premier cluster.

Le troisième cluster regroupe les 20 individus des deux lignées chair de manière cohérente ainsi qu'un individu Rhode Island, qui est regroupé avec les individus chair de la lignée américaine.

Identification des régions ROH spécifiques à chaque filière

Dix régions ROH spécifiques à la filière ponte, localisées sur 5 chromosomes ont été identifiées. Aucun segment ROH spécifique à la filière chair, c'est-à-dire commun à au moins 16 individus chair et absent chez les individus de la filière ponte n'a été identifié. En abaissant le seuil de détection aux régions

communes à au moins 12 individus, deux régions ROH identifiées uniquement chez des individus chair ont pu être identifiées sur les chromosomes 5 et Z (**Tableau 4**).

La **Figure 4** permet de visualiser (sous forme d'un Manhattan Plot) les régions ROH spécifiques aux filières ponte et chair localisées sur le chromosome 1, où 3 pics associés aux 4 régions ROH spécifiques de la filière ponte sont mis en avant.

Identification des gènes présents dans les ROH spécifiques à chaque filière

Les gènes présents dans les régions ROH spécifiques à la filière ponte et à la filière chair ont été identifiés (**Tableaux 4 et 5**).

Pour la filière ponte, quatre régions d'intérêt ont été identifiées sur le chromosome 1. La première région 1a, contient 13 gènes, dont 2 annotés : le gène *LRIG3* (*Leucine-Rich Repeats And Immunoglobulin-Like Domains 3*) et le gène *SLC16A7* (*Solute Carrier Family 16 Member 7*). Les trois autres régions sur ce chromosome (régions 1b, 1c et 1d) sont plus petites et contiennent chacune un seul gène, non annoté.

Sur le chromosome 2, une seule région d'intérêt a été identifiée (région 2). Elle contient un seul gène annoté, *ICAI* (I).

Le chromosome 3 comporte deux régions d'intérêt, les régions 3a et 3b. La région 3a comporte 2 gènes qui ne sont pas annotés et la région 3b comporte 8 gènes, dont 4 sont annotés : *BCKDHB* (*Branched Chain Keto Acid Dehydrogenase E1 Beta*), *SH3BGR2* (*SH3 Domain Binding Glutamate-Rich Protein Like 2*), *TTK* (*TTK Protein Kinase*) et *ELOVL4* (*ELOVL Fatty Acid Elongase 4*).

Sur le chromosome 4, deux régions ont été identifiées, les régions 4a et 4b. La région 4a comporte 2 gènes non annotés et la région 4b contient 3 gènes, dont 2 annotés : *SEC24D* (*SEC24 Homolog D, COPII Coat Complex Component*) et *METTL14* (*Methyltransferase Like 14*).

Enfin, sur le chromosome Z, une région d'intérêt (Z) a été identifiée. Elle contient 6 gènes, dont 3 sont annotés : *UNC13B* (*Unc-13 Homolog B*), *RUSC2* (*RUN And SH3 Domain Containing 2*) et *ATP8B4* (*ATPase Phospholipid Transporting 8B4*).

Concernant la filière chair, la région ROH localisée sur le chromosome 5 comporte le gène *DPH6* (*Diphthamine Biosynthesis 6*). Nous n'avons pas pu identifier de gène dans la seconde région ROH, sur le chromosome Z.

Identifications de QTL colocalisées dans les régions ROH de chaque filière

Pour compléter l'annotation des régions ROH de chaque filière, une recherche de correspondances entre les régions ROH spécifiques identifiées et des régions QTL renseignées dans la base de données Animal QTLdb a été effectuée. Les résultats de cette analyse sont présentés dans le **Tableau 6**.

Dans la filière ponte, les régions ROH 1c et 1d du chromosome 1 sont colocalisées avec plusieurs QTL impliqués dans la variabilité de plusieurs caractères en lien avec la production d'œufs : le poids de l'œuf, la force et l'épaisseur de la coquille d'œuf, ainsi que le nombre d'œufs.

La région ROH spécifique sur le chromosome 2 est colocalisée avec des QTL pour le nombre d'œufs, la couleur jaune de la coquille d'œuf et l'âge au premier œuf.

Le ROH du chromosome 3 est colocalisée avec un QTL de couleur de la coquille d'œuf.

Le chromosome 4 montre une colocalisation avec des QTL pour le poids de l'œuf et le nombre d'œufs.

Enfin, la région ROH du chromosome Z spécifique de la filière ponte est colocalisée avec des QTL pour les dimensions de l'œuf (hauteur et largeur), le taux de production d'œufs, la rigidité de la coquille d'œuf et le poids de la coquille d'œuf.

En ce qui concerne la filière chair, la région ROH du chromosome 5 est colocalisée avec plusieurs QTL en lien avec le poids corporel, le poids de la carcasse, un gain de poids corporel, ainsi que le poids de filet.

Sur le chromosome Z, la région ROH spécifique de la filière chair est colocalisée avec des QTL liés au poids de gras abdominal et au poids corporel.

DISCUSSION

Dans le cadre de cette étude, l'objectif principal était d'identifier des régions homozygotes au sein du génome de poulets de lignées chair et ponte, celles-ci pouvant résulter de croisements entre individus apparentés, et dans le cadre de la sélection entre individus présentant des niveaux de caractères intéressants pour la production d'œufs et de viande. Ces régions peuvent donc refléter les effets de la sélection artificielle, souvent associée à une diminution de la diversité génétique avec l'augmentation de la fréquence des allèles favorables ou la diminution des allèles défavorables, dans les populations de

volailles sélectionnées mais peuvent également résulter d'autres phénomènes tels que la dérive génétique, l'effet fondateur ou la consanguinité.

Afin d'atteindre cet objectif, un ensemble d'analyses génétiques et bioinformatiques a été réalisé sur différentes lignées de poules. L'approche a inclus l'identification des SNP présents chez chaque individu, l'identification des régions ROH spécifiques à chaque filière ainsi que des gènes et QTL annotant ces ROH spécifiques à la filière de chair et à la filière de ponte.

L'analyse des séquences génomiques a donné de bons résultats en termes de profondeur et de qualité, similaires à ceux obtenus dans des études antérieures utilisant les mêmes données [3]. Cette qualité des données permet une plus grande fiabilité des résultats obtenus et confirme l'identification de nos SNP.

Diversité génétique entre les filières

Notre étude a permis de mettre en avant des différences de structure génétique entre les filières de ponte et de chair.

Le nombre important de SNP-ROH identifiés au cours de notre étude souligne la diversité génétique au sein des lignées de poulets de chair et de ponte (**Tableau 1**). Le nombre de SNP-ROH de 12 667 046 au sein de la filière ponte contre 10 188 253 dans la filière chair montre une plus grande diversité génétique dans la filière chair.

Les caractéristiques des régions d'homozygotie ont également mis en évidence des différences entre les lignées associées à chaque filière (**Tableau 2**). Le nombre total de ROH distincts observés dans les lignées de chair et de ponte est très différent, deux fois supérieur dans la filière ponte que dans la filière chair, en particulier chez les White Leghorn, avec une couverture moyenne du génome par les ROH atteignant 39 % (**Figure 1**) alors que la couverture n'est que de 15 % et 19 % pour les lignées américaine et française de la filière chair. Ces résultats indiquent que la part du génome à l'état homozygote est plus importante dans les poules de la filière ponte, en d'autres termes que leur génome présente moins de variabilité génétique, résultant sans doute d'une pression de sélection plus importante dans cette filière (avec par exemple moins de fondateurs et/ou fondateurs plus consanguins).

Ces observations sur un niveau d'homozygotie global différent entre les deux lignées sont en accord avec des études antérieures menées dans des filières avicoles [3,14,15]. Elles ont toutes souligné une plus grande variabilité dans les lignées de filières chair et donc un niveau d'homozygotie plus élevé chez les poulets de filière ponte. La **Figure 2**, qui présente la distribution du nombre de SNP présents dans les

ROH commun à plusieurs individus illustre bien cette plus grande variabilité génétique de la filière chair par rapport à la filière ponte.

Analyse des regroupements d'individus à partir des SNP-ROH

Les informations sur les SNP-ROH étudiés pour chaque individu ont permis de regrouper de manière cohérente les individus en différents clusters, comme le montre le dendrogramme (**Figure 3**). Ce type de représentation, par regroupements successifs des individus en fonction de leurs similarités, permet de former des groupes d'individus proches. Chaque nœud de l'arbre représente la fusion de deux groupes, et la hauteur des nœuds correspond à la distance entre ces groupes. Ainsi, plus la hauteur d'un nœud est élevée, plus les groupes fusionnés sont distincts. Cela valide l'approche utilisée en confirmant que les SNP-ROH permettent de regrouper les individus et de discriminer les lignées, et donne une idée de la proximité des individus et des lignées entre eux, conformément aux études antérieures dans le domaine [16,17].

Identification des régions spécifiques, gènes et QTL pour chaque filière

Des régions ROH spécifiques à chaque filière ont pu être identifiées, ces régions étant identifiées chez un grand nombre d'individus d'une filière et absentes chez les individus de l'autre filière.

Nos résultats ont mis en évidence divers gènes dans les régions ROH spécifiques de chaque filière, certains étant de bons candidats fonctionnels et présentant une colocalisation avec des QTL dans ces mêmes régions.

Les gènes *ELOVL4* et *TTK* se sont révélés être des candidats fonctionnels potentiels pour la filière de ponte. Cependant, il est à noter que les QTL identifiés dans leur région ne semblent pas directement liés à leurs processus biologiques.

ELOVL4 est impliqué dans la biosynthèse des acides gras, notamment sur l'allongement des acides gras à très longue chaîne. Cette fonction pourrait avoir une relation avec le jaune d'œuf, étant donné que les acides gras constituent une grande partie des lipides de ce dernier. *TTK* joue un rôle crucial dans la méiose féminine, un processus cellulaire indispensable pour la formation des cellules reproductrices féminines et donc la production d'œufs. Toute modification dans ce gène pourrait vraisemblablement perturber la méiose et influencer sur le taux de ponte. Cependant, le QTL colocalisé dans la région spécifique trouvée sur le chromosome, pour ces deux gènes est associé à la couleur de la coquille d'œuf, une caractéristique qui ne correspond pas tout à fait aux processus biologiques qui annotent les gènes. Ces régions identifiées

comme fortement homozygotes pourraient expliquer la difficulté à détecter des QTL pertinents dans ces zones. Une étude des différentes formes haplotypiques des segments ROH et de leurs fréquences dans les lignées permettrait d'analyser les effets de ces régions spécifiques sur les caractères d'intérêt.

Par ailleurs, notre étude a également identifié le gène *ICAI* dans une région ROH spécifique à la filière de ponte, qui a été identifié dans une étude antérieure [17]. *ICAI* est un auto-antigène impliqué dans le diabète insulino-dépendant et le syndrome de Sjogren chez l'homme et pourrait jouer un rôle dans la régulation de la sécrétion d'insuline. Ce gène se trouve dans la même région que le QTL associé au nombre d'œufs. Cette colocalisation pourrait être en lien avec la fonction de *ICAI*, car la régulation de la sécrétion d'insuline pourrait être liée à la gestion des ressources énergétiques et au métabolisme, ce qui pourrait avoir un lien avec la production d'œufs. Des recherches supplémentaires sur *ICAI* pourraient apporter de nouvelles informations sur son rôle potentiel dans la production et la qualité des œufs.

La colocalisation de régions QTL décrites avec chaque région ROH spécifiques a été analysée. Dans la filière ponte, la région ROH du chromosome 1 correspond à plusieurs QTL impliqués dans la variabilité des caractères de la production d'œufs. Comme mentionné, la région ROH du chromosome 2 colocalise avec des QTL pour des caractères de nombre d'œufs, de couleur de la coquille d'œuf et de l'âge au premier œuf. Les ROH du chromosome 4 sont colocalisés avec des QTL liés à la production d'œufs, ce qui laisse envisager leur implication dans le contrôle de ces caractères. Quant à la région du chromosome Z, elle est colocalisée avec des QTL influençant la morphologie de l'œuf.

Pour la filière chair, la région du chromosome 5 colocalise avec plusieurs QTL liés au poids corporel et à d'autres caractéristiques de croissance, ce qui suggère son implication dans la régulation de ces traits. De la même manière, la région du chromosome Z associée à des QTL liés au poids de gras abdominal et au poids corporel pourrait jouer un rôle dans la détermination de ces caractères chez les volailles de chair.

L'annotation des régions ROH a donc permis de confirmer qu'elles sont impliquées dans la variabilité de caractères de chair et de ponte et d'identifier des gènes candidats pouvant expliquer le lien entre génotypes et caractères.

CONCLUSION

Dans le cadre de cette étude, différentes analyses génétiques et bioinformatiques ont été réalisées pour explorer et comparer la diversité génétique entre des poules de filières chair ou ponte, ainsi que pour identifier les régions spécifiques à chaque lignée. Les résultats obtenus ont révélé une diversité génétique

tranchée entre les filières de chair et de ponte, ce qui reflète sans doute des effets de la sélection dans ces filières, et ont permis de mettre en évidence des gènes candidats spécifiques. Parmi ceux-ci, les gènes *ELOVL4*, *TTK* et *ICAI* pourraient jouer des rôles essentiels dans la production d'œufs étant donné leurs fonctions. L'analyse des QTL a également révélé des régions chromosomiques potentiellement associées à des caractères importants pour la production d'œufs et de viande.

Cette étude constitue une preuve de concept pour l'identification de régions génétiques spécifiques à chaque filière et l'identification de gènes candidats potentiellement impliqués dans la production d'œufs ou de viande. Ces résultats doivent désormais être confortés par des analyses de diversité génétique et de recherche de traces de sélection impliquant d'autres méthodologies, par exemple basées sur des statistiques interpopulationnelles et prenant en compte la structure haplotypique. Il serait également intéressant d'élargir le jeu de données avec d'autres individus, provenant de différentes sélections pour la production d'œufs ou de viande.

FIGURES & TABLEAUX

Total de SNP dans les ROH	
Filière CHAIR	10 188 253
Lignée américaine	5 567 047
Lignée française	6 289 184
Filière PONTE	12 667 046
Rhode Island	9 198 306
White Leghorn	10 959 026

Tableau 1. Dénombrement des SNP présents dans au moins un ROH pour un individu au sein des différentes filières et lignées.

		Nombre de ROH par taille			Total ROH ¹	Taille maximale ²	Taille moyenne ³	Couverture moyenne ⁴
		300-500 kb	500-1000 kb	>1000 kb				
Filière CHAIR	Lignée américaine	1 256	922	313	2 491	5 094,53	637,45 (414,17)	15,07 %
	Lignée française	1 595	1 206	360	3 161	3 470,54	619,39 (364,76)	18,59 %
Filière PONTE	Rhode Island	2 671	1 974	477	5 122	3 761,02	588,35 (318,66)	28,61 %
	White Leghorn	2924	2442	947	6313	4269,74	658,28 (401,56)	39,45 %

Tableau 2. Récapitulatif des caractéristiques des Régions d’Homozygotie (ROH) parmi les différentes lignées des poulets de chair et de ponte.

¹Total ROH : nombre total de régions d'homozygotie (ROH) détectées pour chaque lignée ;

²Taille maximale : taille maximale d'un segment ROH, en kilobases (kb), parmi tous les segments ROH détectés pour chaque lignée ;

³Taille moyenne : taille moyenne de tous les segments ROH détectés pour chaque lignée, exprimée en kilobases (kb) suivie de l'écart-type entre parenthèses ;

⁴Couverture moyenne : en pourcentage, le niveau moyen de couverture du génome par les ROH pour chaque lignée.

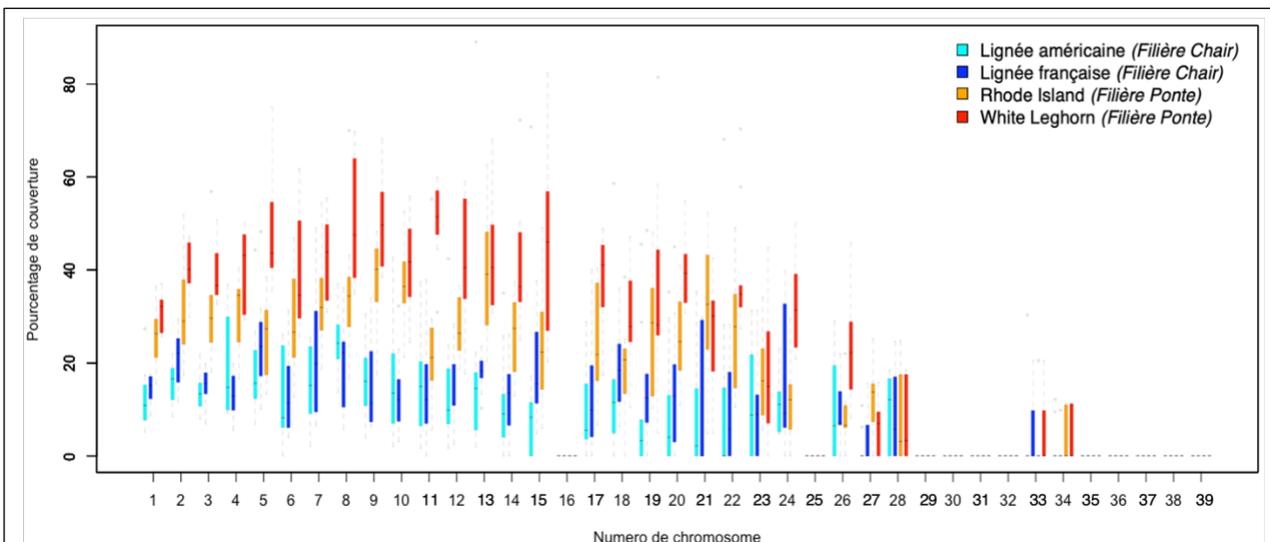


Figure 1. Pourcentages de couverture génomique des régions ROH par chromosome pour chaque lignée. Les boîtes à moustache représentent la distribution des pourcentages de couverture génomique des régions ROH par chromosome pour chaque lignée (Filière chair : Cyan - Lignée américaine ; Bleu - Lignée Française & Filière ponte : Orange - Rhode Island ; Rouge - White Leghorn).

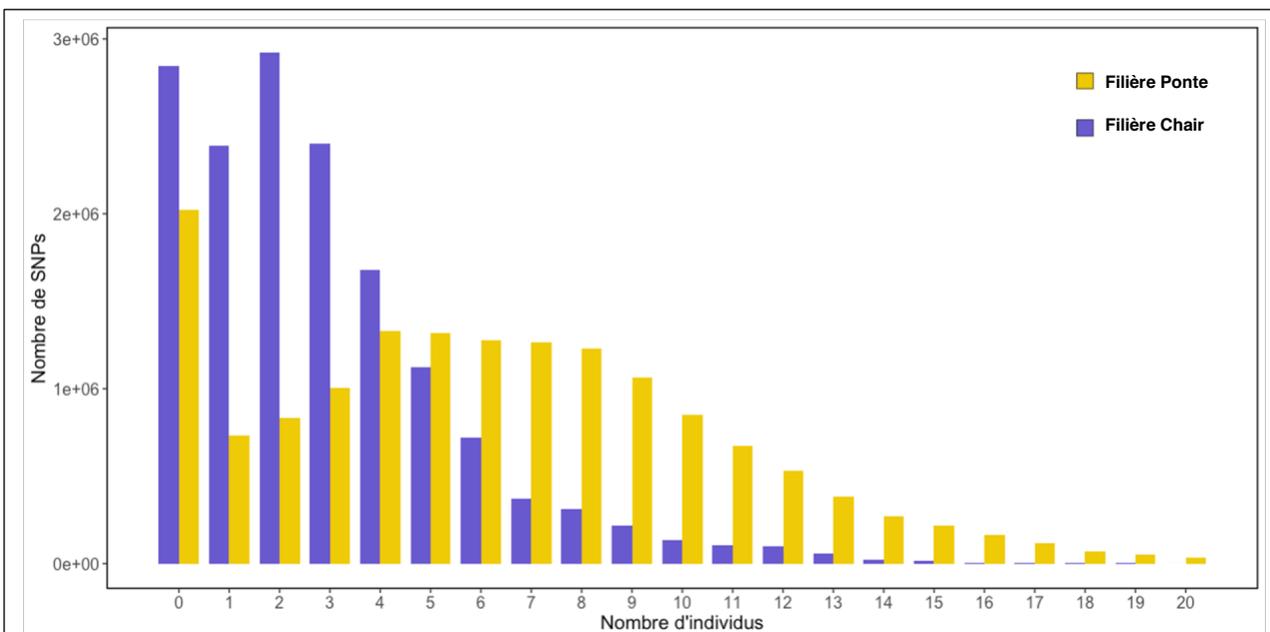


Figure 2. Répartition des SNPs présents dans les régions ROH en fonction du nombre d'individus dans les filières chair (bleu) et ponte (jaune).

		← Filière Ponte →																			
×	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
0	2E+06	2E+05	2E+05	1E+05	1E+05	2E+05	1E+05	94904	89314	36925	34574	22595	34013	21782	9949	4948	4915	6639	113	2973	1507
1	2E+05	2E+05	2E+05	2E+05	3E+05	2E+05	2E+05	2E+05	2E+05	1E+05	1E+05	98578	47985	39693	19973	19802	16281	7532	2315	2875	0
2	1E+05	1E+05	2E+05	3E+05	3E+05	3E+05	3E+05	3E+05	3E+05	2E+05	2E+05	1E+05	87773	47335	27096	22459	22889	11176	12387	9187	42
3	60332	89367	1E+05	2E+05	3E+05	2E+05	3E+05	3E+05	2E+05	2E+05	2E+05	1E+05	83792	49000	31558	42559	29070	15108	9959	8340	1471
4	55465	52072	90179	85086	2E+05	2E+05	2E+05	2E+05	2E+05	2E+05	1E+05	92395	72676	39554	25308	22421	13548	16037	3758	1197	8
5	20914	27886	53458	61154	69900	92502	1E+05	1E+05	1E+05	1E+05	88288	57471	68451	54444	27696	20920	15552	8128	3720	538	1499
6	7825	15338	22395	30168	61414	40986	50172	63908	82915	88796	65523	50772	26008	33837	36787	18712	5549	7428	5744	3579	2283
7	3515	2549	6428	11492	30049	30871	20718	32712	29985	50554	32158	28683	23458	16684	10262	12963	8174	12480	3784	1010	2688
8	2470	7776	4823	9770	18695	10111	22530	24232	38152	27017	23656	16290	21376	28623	21721	9619	5231	9986	4489	1355	3575
9	1049	2013	1020	4583	13096	14404	12517	12437	23181	18042	8952	7859	15932	18328	20060	15999	9703	3912	4349	2595	4642
10	1118	113	1899	572	4913	5811	4144	9102	8720	9159	14882	12088	11086	8306	12517	5425	11697	2707	5222	1512	5292
11	690	0	0	4099	3603	3104	897	5204	10460	3339	6866	10277	12001	6947	11709	5588	7893	4564	2799	3751	1311
12	500	925	1243	3856	3466	1278	3246	4320	10403	4071	10942	6148	10499	4684	3765	7574	2178	3550	7270	5078	5563
13	19	9	0	119	1930	1012	1243	0	6366	3704	803	2561	9404	8247	6236	2208	2122	3815	1888	3960	1917
14	0	0	0	0	0	0	435	21	707	750	16	186	2690	3347	1573	1246	4799	1534	533	1112	120
15	0	0	0	0	0	0	0	207	4	10	2416	1420	2897	2435	2221	769	1975	234	635	361	0
16	0	0	0	0	0	0	0	245	89	1	186	354	1869	592	77	194	444	10	607	0	0
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	7	751	1524	467	8	59	26	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	188	65	48	111	798	4	0
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	544	1	879	1255	1036	958	462	1	0
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	122	0	0	0

Tableau 3. Relevé du nombre de SNP présents dans les ROH pour les individus des filières chair et ponte. Ce tableau présente le nombre de SNP détectés entre un certain nombre d'individus de la filière chair (en ordonnée) et un certain nombre d'individus de la filière ponte (en abscisse) au sein des régions d'homozgotie (ROH). Pour exemple, la valeur en bleu, présente à l'intersection de la ligne 4 et de la colonne 3 représente le nombre de SNP communs aux ROH de 4 individus de la filière chair et de 3 individus de la filière ponte. Les valeurs en rouge correspondent aux SNP spécifiques de chaque lignée.

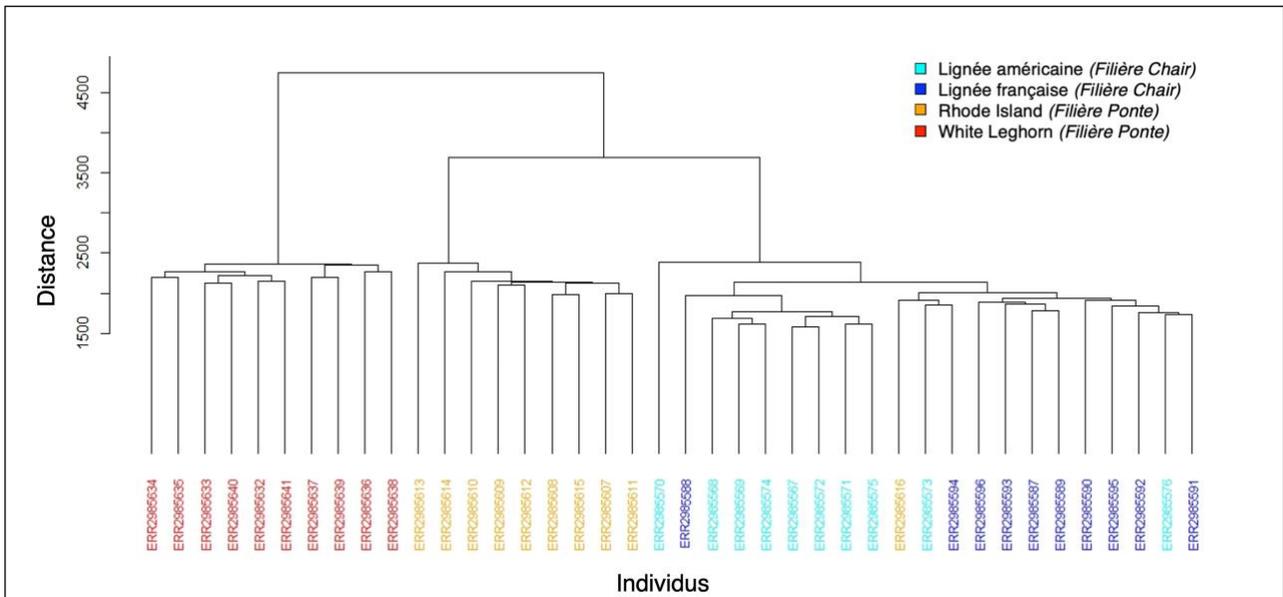


Figure 3. Dendrogramme présentant le regroupement des individus de chaque lignée en fonction de la présence ou l'absence de SNP dans les régions ROH. (Filière Chair : Cyan - Lignée américaine ; Bleu - Lignée Française & Filière Ponte : Orange - Rhode Island ; Rouge - White Leghorn)

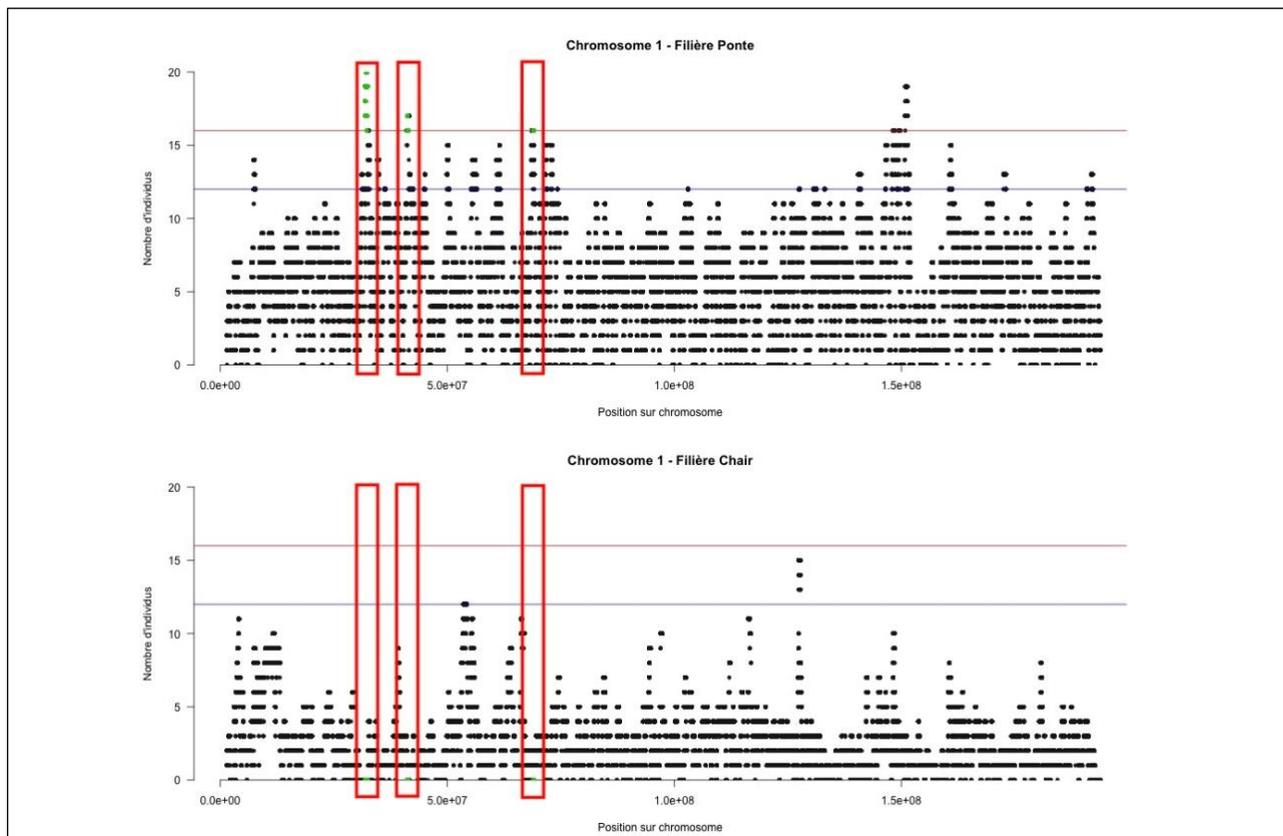


Figure 4. Régions ROH spécifiques de la filière ponte sur le chromosome 1 des filières chair et ponte. L'axe des ordonnées du Manhattan Plot correspond au nombre d'individus partageant un SNP particulier, l'axe des abscisses correspond à la position sur le chromosome en paires de bases. Les régions ROH spécifiques de la filière ponte sont représentées en vert.

Tableau 4. Identification des régions ROH spécifiques pour les filières Ponte et Chair

Région	Chr.	Début	Fin	Nombre de SNPs	Nombre de gènes	Gènes annotés
Filière PONTE						
1a	1	31922417	32399666	4726	13	LRIG3, SLC16A7
1b	1	41158474	41202840	513	1	-
1c	1	41507811	41507811	1	1	-
1d	1	68973852	68983033	162	1	-
2	2	24908638	24908656	4	1	ICA1
3a	3	64097437	64162905	650	2	-
3b	3	78818705	79096277	5839	8	BCKDHB, TTK, ELOVL4, SH3BGR2
4a	4	28107949	28219360	900	2	-
4b	4	54435183	54502726	1008	3	SEC24D, METTL14
Z	Z	9338225	9557728	2344	6	UNC13B, ATP8B4, RUSC2
Filière CHAIR						
5	5	31 574 973	31 636 840	500	1	DPH6
Z	Z	59 691 744	59 692 498	19	0	-

Tableau 5. Gènes localisés dans des régions ROH spécifiques pour les filières Ponte et Chair

Région	Chr.	Début	Fin	Nom du gène	Description du processus biologique
Filière PONTE					
1a	1	31 862 744	31 939 424	LRIG3	Participation à la morphogenèse de l'otolithe.
1a	1	32 176 446	32 256 026	SLC16A7	Transport du lactate et du pyruvate.
2	2	24 858 796	24 943 602	ICA1	Régulation de la sécrétion d'insuline.
3b	3	78 744 865	78 857 576	BCKDHB	Catabolisme des acides aminés à chaîne ramifiée.
3b	3	78 897 876	78 930 673	TTK	Participation à la méiose féminine.
3b	3	78 962 862	78 997 190	ELOVL4	Biosynthèse des acides gras.
3b	3	79 039 485	79 076 656	SH3BGR2	Localisation dans le nucléoplasme.
4b	4	54 435 465	54 487 986	SEC24D	Transport vésiculaire du RE au Golgi.
4b	4	54 492 815	54 537 662	METTL14	Implication dans la méthylation de l'ARNm.
Z	Z	9 192 952	9 401 031	UNC13B	Contribution à l'exocytose et au développement neuromusculaire.
Z	Z	9 425 477	9 489 182	ATP8B4	Translocation des lipides et transport des phospholipides.
Z	Z	9 491 791	9 545 546	RUSC2	Liaison à une protéine.
Filière CHAIR					
5	5	31 472 184	31 659 707	DPH6	Biosynthèse de diphthamine

Tableau 6. QTL colocalisés dans des régions ROH spécifiques pour les filières Ponte et Chair

Région	Chr.	Position (bp)	Caractère
Filière PONTE			
1c	1	24 917 328 - 158 086 603	Poids de l'œuf
1d	1	59 653 080 - 71 391 936	Force de la coquille d'œuf
1d	1	60 353 988 - 70 396 651	Épaisseur de la coquille d'œuf
1d	1	42 221 028 - 70 945 170	Nombre d'œufs
2	2	4 338 498 - 43 385 123	Nombre d'œufs
2	2	0 - 31 118 900	Couleur de la coquille d'œuf
2	2	0 - 31 118 900	Âge au premier œuf
3b	3	78 982 483 - 78 982 487	Couleur de la coquille d'œuf
4b	4	28 877 129 - 60 955 340	Poids de l'œuf
4b	4	28 371 695 - 81 577 047	Nombre d'œufs
Z	Z	0 - 40 856 300	Longueur longue de l'œuf
Z	Z	0 - 40 856 300	Longueur courte de l'œuf
Z	Z	0 - 40 856 300	Taux de production d'œufs
Z	Z	0 - 40 856 300	Poids de la coquille d'œuf
Z	Z	3 268 504 - 10 214 075	Rigidité de la coquille d'œuf
Filière CHAIR			
5	5	31593575-31593579	Poids corporel
5	5	10747849-58624632	Poids de la carcasse
5	5	12850045-58624632	Gain de poids corporel
5	5	13294171-38846220	Poids de filet
Z	Z	48210434-67412895	Poids de la graisse abdominale
Z	Z	48210434-67412896	Poids corporel

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Willing, E.-M.; Dreyer, C.; Oosterhout, C. van Estimates of Genetic Differentiation Measured by F_{ST} Do Not Necessarily Require Large Sample Sizes When Using Many SNP Markers. *PLOS ONE* **2012**, *7*, e42649, doi:10.1371/journal.pone.0042649.
2. Malomane, D.K.; Simianer, H.; Weigend, A.; Reimer, C.; Schmitt, A.O.; Weigend, S. The SYNBREED Chicken Diversity Panel: A Global Resource to Assess Chicken Diversity at High Genomic Resolution. *BMC Genomics* **2019**, *20*, 345, doi:10.1186/s12864-019-5727-9.
3. Qanbari, S.; Rubin, C.-J.; Maqbool, K.; Weigend, S.; Weigend, A.; Geibel, J.; Kerje, S.; Wurmser, C.; Peterson, A.T.; Jr, I.L.B.; et al. Genetics of Adaptation in Modern Chicken. *PLOS Genetics* **2019**, *15*, e1007989, doi:10.1371/journal.pgen.1007989.
4. Bioinfo - GENOTOUL Available online: <https://bioinfo.genotoul.fr/> (accessed on 30 May 2023).
5. Andrew, S. FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data. **2010**, doi:<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>.
6. Li, H.; Durbin, R. Fast and Accurate Short Read Alignment with Burrows–Wheeler Transform. *Bioinformatics* **2009**, *25*, 1754–1760, doi:10.1093/bioinformatics/btp324.
7. Danecek, P.; Bonfield, J.K.; Liddle, J.; Marshall, J.; Ohan, V.; Pollard, M.O.; Whitwham, A.; Keane, T.; McCarthy, S.A.; Davies, R.M.; et al. Twelve Years of SAMtools and BCFtools. *GigaScience* **2021**, *10*, giab008, doi:10.1093/gigascience/giab008.
8. Best Practices Workflows – GATK Available online: <https://gatk.broadinstitute.org/hc/en-us/sections/360007226651-Best-Practices-Workflows> (accessed on 30 May 2023).
9. Meyermans, R.; Gorssen, W.; Buys, N.; Janssens, S. How to Study Runs of Homozygosity Using PLINK? A Guide for Analyzing Medium Density SNP Data in Livestock and Pet Species. *BMC Genomics* **2020**, *21*, 94, doi:10.1186/s12864-020-6463-x.
10. Almeida, O.A.C.; Moreira, G.C.M.; Rezende, F.M.; Boschiero, C.; de Oliveira Peixoto, J.; Ibelli, A.M.G.; Ledur, M.C.; de Novais, F.J.; Coutinho, L.L. Identification of Selection Signatures Involved in Performance Traits in a Paternal Broiler Line. *BMC Genomics* **2019**, *20*, 449, doi:10.1186/s12864-019-5811-1.
11. Durinck, S.; Spellman, P.T.; Birney, E.; Huber, W. Mapping Identifiers for the Integration of Genomic Datasets with the R/Bioconductor Package BiomaRt. *Nat Protoc* **2009**, *4*, 1184–1191, doi:10.1038/nprot.2009.97.
12. Gallus_gallus - Ensembl Genome Browser 109 Available online: https://www.ensembl.org/Gallus_gallus/Info/Index (accessed on 30 May 2023).

13. Animal QTL Database Release 50 Available online: <https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/index> (accessed on 30 May 2023).
14. Kranis, A.; Gheyas, A.A.; Boschiero, C.; Turner, F.; Yu, L.; Smith, S.; Talbot, R.; Pirani, A.; Brew, F.; Kaiser, P.; et al. Development of a High Density 600K SNP Genotyping Array for Chicken. *BMC Genomics* **2013**, *14*, 59, doi:10.1186/1471-2164-14-59.
15. Boschiero, C.; Moreira, G.C.M.; Gheyas, A.A.; Godoy, T.F.; Gasparin, G.; Mariani, P.D.S.C.; Paduan, M.; Cesar, A.S.M.; Ledur, M.C.; Coutinho, L.L. Genome-Wide Characterization of Genetic Variants and Putative Regions under Selection in Meat and Egg-Type Chicken Lines. *BMC Genomics* **2018**, *19*, 83, doi:10.1186/s12864-018-4444-0.
16. Rubin, C.-J.; Zody, M.C.; Eriksson, J.; Meadows, J.R.S.; Sherwood, E.; Webster, M.T.; Jiang, L.; Ingman, M.; Sharpe, T.; Ka, S.; et al. Whole-Genome Resequencing Reveals Loci under Selection during Chicken Domestication. *Nature* **2010**, *464*, 587–591, doi:10.1038/nature08832.
17. Talebi, R.; Szmatoła, T.; Mészáros, G.; Qanbari, S. Runs of Homozygosity in Modern Chicken Revealed by Sequence Data. *G3 Genes|Genomes|Genetics* **2020**, *10*, 4615–4623, doi:10.1534/g3.120.401860.