

UNIVERSITÉ FRANÇOIS – RABELAIS DE TOURS

ÉCOLE DOCTORALE « Santé, Sciences Biologique et Chimie du Vivant »

ÉQUIPE SAQSE-UR83 Recherches Avicoles-INRA Val de Loire

THÈSE présentée par :

Thanh-Son TRAN

soutenue le : **09 Septembre 2013**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université François – Rabelais de Tours**

Discipline/ Spécialité : Sciences de la Vie

ETUDES GENOMIQUES CHEZ LA POULE: Applications à la résistance au portage de salmonelles et la digestibilité

THÈSE dirigée par :

Madame BEAUMONT Catherine

Directrice de recherches, INRA Val de Loire (Tours)

Madame MIGNON-GRASTEAU Sandrine

Directrice de recherches, INRA Val de Loire (Tours)

et co-encadrée par:

Madame CALENGE Fanny

Chargée de recherches, INRA Jouy en Josas

RAPPORTEURS :

Madame BASTIEN Catherine

Directrice de recherches, INRA Val de Loire (Orléans)

Monsieur BIDANEL Jean-Pierre

Directeur de recherches, INRA Jouy en Josas

JURY :

Monsieur ANDRES Christian

Professeur des Universités, Université de Tours

Madame BASTIEN Catherine

Directrice de recherches, INRA Val de Loire (Orléans)

Monsieur BIDANEL Jean-Pierre

Directeur de recherches, INRA Jouy en Josas

Madame MIGNON-GRASTEAU Sandrine

Directrice de recherches, INRA Val de Loire (Tours)

Madame QUILLET Edwige

Directrice de recherches, INRA Jouy en Josas

A ma famille, Thanh Lâm, Dylan-Thanh Phúc et Lê

Remerciements

Cette bourse de thèse de 3 ans a été co-financée par le Département de Génétique Animale de l'INRA et la Région Centre.

Au moment où j'écris ces mots, j'ai passé presque 3 ans au sein de l'équipe Sélection Avicole, Qualité, Sécurité alimentaire et Environnement (SAQSE). Je tiens particulièrement à remercier les personnes suivantes, qui m'ont soutenu et aidé durant ces années.

A mes encadrantes de thèse: Catherine BEAUMONT, Sandrine MIGNON-GRASTEAU et Fanny CALENGE, avec ma sincère gratitude pour leur aide permanente pendant mes trois années de thèse. Cette thèse n'aurait pas pu aboutir à la soutenance sans leur encadrement efficace qui m'a apporté beaucoup de connaissances, de discussions scientifiques et même leur expérience de vie quotidienne et scientifique. Je connais ma chance de les avoir rencontrées. Merci beaucoup à elles pour leur patience pour surmonter mes difficultés avec la langue française et anglaise. Avec leur support, nous avons surmonté la barrière de langue dont tout le monde pensait qu'elle était dure à franchir.

A Elisabeth LE BIHAN-DUVAL et Michel DUCLOS qui ont accepté que je réalise cette thèse au sein, respectivement, de l'équipe SAQSE, et de l'Unité de recherche avicole (URA) à Nouzilly. Merci beaucoup Elisabeth pour ton aide et tes discussions scientifiques intéressantes pendant ma thèse. Tu as été pour moi une encadrante non officielle.

A mon jury de thèse:

- **Christian ANDRES**, Professeur de la Faculté de Médecine-Université de Tours qui a bien voulu participer comme Président du jury ; qu'il trouve ici l'expression de mes remerciements sincères.

- **Catherine BASTIEN**, Directrice de recherches (HDR), du Centre INRA Val de Loire qui m'a fait l'honneur d'accepter le rôle de rapporteur de cette thèse.

- **Jean-Pierre BIDANEL**, Directeur de recherches (HDR), du Centre INRA de Jouy en Josas, qui a bien voulu être le rapporteur de ce travail, qu'il soit assuré de ma gratitude.

- **Edwige QUILLET**, Directrice de recherches (HDR), INRA Jouy en Josas, qui a accepté de participer au jury comme examinatrice. Merci beaucoup à elle d'avoir accepté mon stage de Master 2 dans son équipe GenAqua et pour ses encouragements chaque fois qu'on s'est croisés à Tours ou aux séminaires des thésards du Département de Génétique Animale...

A mon comité de thèse qui m'a donné beaucoup de propositions, des idées intéressantes et suivi mon travail pendant la thèse:

- **Bertrand BED'HOM** (Ingénieur de recherche, INRA Jouy en Josas),
- **Jean-Michel ELSEN** (Directeur de recherche, INRA Toulouse),
- **Hélène MURANTY** (Chargée de recherche, INRA Pays de Loire),
- **Philippe VELGE** (Directeur de recherche, INRA Val de Loire),

qu'ils trouvent ici l'expression de mes remerciements sincères.

Aux membres de l'équipe SAQSE, qui m'ont soutenu pendant ma thèse et aidé à bien installer ma famille à Tours et à organiser la naissance de mon deuxième fils Dylan, né le 3 Octobre 2012. A **Marie, Christelle, Séverine, Émilie, Rémy, et Anne** pour leur gentillesse et les thésards de l'équipe: **Hugues, Julien, Nabeel, Utlwanang** qui ont partagé avec moi de bons moments. Je leur souhaite plein de courage pour finir leur thèse et pour trouver du travail dans l'avenir. Merci beaucoup à Marie et à Christelle pour vos discussions scientifiques intéressantes. Merci encore à toute l'équipe pour l'ambiance de travail très ouverte et familiale.

Je tiens beaucoup à remercier plusieurs personnes au sein de l'Unité de recherche avicole:

- l'équipe administrative, qui m'a accueilli chaleureusement et qui m'a aidé à débloquer des procédures administratives,
- **Bernard CARRE, Agnès NARCY, Nicole RIDEAU** avec qui j'ai eu beaucoup de discussions scientifiques intéressantes en physiologie avicole,
- **Nathàëlle WACRENIER** pour toute l'aide apportée à la documentation,
- tous les titulaires et stagiaires de l'Unité qui m'ont accueilli très chaleureusement.

Je tiens aussi beaucoup à remercier **Paul, Maryse et Hervé** et tous les membres du **SYSAAF** à côté de mon bureau, avec qui j'ai eu des discussions intéressantes pendant mon séjour à Nouzilly.

Merci beaucoup à tous les membres de l'équipe **UMR Selmet** du CIRAD et des équipes **INRA de l'UE PEAT, UE EASM, l'UR ISP et URA** qui ont contribué à l'obtention des données précises et riches d'information sur lesquelles ont porté les analyses de cette thèse.

A Hélène GILBERT, Olivier DEMEURE, Olivier FILANGI, Pascale LEROY, Carole MORENO, pour leur aide et leurs disponibilités quand j'ai rencontré des difficultés dans mes analyses QTL. Merci à vous pour les explications claires.

A l'Association d'Octave, et particulièrement sa présidente Mme **DO DUY Nguyet Anh**, qui m'ont aidé et soutenu depuis mes premiers jours en France à Orsay.

A l'Association Touraine-VN, et particulièrement, **Jean-Jacques ROUSELLE** (président) et **Françoise ROUSELLE, Pierre-Philippe et Dominique LEROUX, Jean-Pierre et Brigitte MOELLO, Jocelyne ROBIN, Jacques et Régine ANDRIEUX** avec leur gentil fils **Damien, Gérard et Monique DOMISE, Thanh et Mai Liên...** et les membres de l'association qui ont beaucoup aidé ma famille. Sans vous, je n'aurais pas pu mettre toute "ma tête" au travail de thèse. C'est vous qui avez toujours été à mes côtés comme mes parents, mes proches au Vietnam. Avec vous, mon épouse, mes deux fils et moi avons pu passer des moments familiaux inoubliables à Tours. Merci beaucoup pour les services chaleureux rendus aux étudiants vietnamiens à Tours et pour votre amour pour le Vietnam.

A l'association Rencontres du Vietnam, et particulièrement le Professeur **Jean Tran Thanh Van** et son épouse **Kim Tran Thanh Van**, qui m'ont beaucoup encouragé et ont été l'inspiration motivant ma carrière scientifique ainsi que l'amour que j'éprouve pour mon pays natal, le Vietnam. Merci beaucoup à lui et à l'association d'avoir fait le pont pour que je puisse assurer aussi des activités scientifiques et éducatives très utiles pour le Vietnam.

A l'association Aide à l'Enfance du Vietnam (AEVN), en particulier le Professeur **Kim Tran Thanh Van**, présidente, et l'équipe AEVN-Jeunes, dont je m'occupe, pour leur esprit humanitaire et leurs encouragements pendant ma thèse.

Au Professeur **Annick SUZOR-WEINER**, ex-présidente de l'Université Paris-Sud 11, conseillère de Science et Technologie à l'Ambassade de France aux États-Unis, qui m'a encouragé depuis mes études de master à Orsay malgré sa charge de travail importante. Merci beaucoup Annick pour ton amour et ton aide pour le Vietnam.

A mes chers professeurs à Orsay: **Annie SAINCARD-CHANET, Emmanuelle BOY-MARCOTTE, Karine BUDIN, Jean-Michel ROSSIGNOL**...pour leur aide pendant mon master et leur encouragements pendant ma thèse.

A mes amis vietnamiens de Paris et de Tours: Công Tuấn, Văn Hạnh, Thế Anh...qui sont toujours à mes côtés pendant les moments difficiles.

Je tiens enfin à remercier ma famille, mes parents, mes beaux-parents, ma soeur **Hòa**, mes frère **Hà** et **Thủy**, mon beau-frère **Ly**, mes belle-sœur **Ánh, Yến, Liễu** qui sont à mes côtés et m'ont encouragé à surmonter les difficultés dans ma vie. Merci à toi, **Vũ**, mon beau-frère pour notre première rencontre inoubliable qui a été la dernière dans cette vie. Tu m'as promis de me fêter après ma thèse mais tu es parti dans l'autre monde si vite. J'espère que tu es toujours à côté de ta famille et de moi.

Merci beaucoup à **Lê**, mon épouse et mes gentils fils **Thanh Lâm** et **Dylan-Thanh Phúc** qui sont mon amour et ma destination après le travail. Merci beaucoup Lê pour ton service très sérieux pour la famille, comme toutes les femmes vietnamiennes, qui consacrent toute leur vie au succès de leur mari et de leurs enfants. Sans elle, cette thèse n'aurait pas pu arriver à la soutenance.



Résumé

Résumé

Les principaux objectifs de la détection de QTL (Quantitative Trait Loci) sont la compréhension des mécanismes génétiques régissant les caractères complexes afin d'améliorer l'efficacité de la sélection. Les protocoles de détection varient selon la nature et la densité de marqueurs, le type de caractère, les dispositifs étudiés ou encore les lignées parentales, d'où la question de l'adaptation des outils de détection de QTL aux modèles étudiés. Celle-ci a été abordée à travers deux exemples de recherche de QTL menées chez la Poule.

Pour la 1^{ère} partie de la thèse, nous avons identifié des QTLs de résistance au portage de salmonelles par maximum de vraisemblance (MV) dans une population F2 issue d'un croisement entre lignées expérimentales de poules pondeuses consanguines. La densité de marqueurs et la taille de population étaient relativement faibles et la distribution des caractères éloignée d'une distribution normale. Les résultats ont été comparés avec ceux précédemment obtenus par régression linéaire (RL). Les deux méthodes identifient plusieurs QTLs d'effet faible, mais ils diffèrent d'une méthode à l'autre, du fait de la fixation imparfaite des allèles aux QTLs chez les grands-parents, du faible effet des QTLs, de la non-normalité des distributions phénotypiques et de l'absence de prise en compte de la dominance avec la méthode de maximum de vraisemblance.

Pour la 2^{ème} partie, nous avons détecté des QTLs d'efficacité digestive, d'anatomie et de poids à 23 jours avec les deux méthodes, dans une population F2 issue d'un croisement entre lignées de poulets divergentes pour leur efficacité digestive. La densité de marqueurs était moyenne, la taille de population élevée et la distribution des caractères proche de la normale. Les QTLs détectés avec les deux méthodes sont semblables. Neuf QTLs ont été détectés pour l'efficacité digestive et 11 pour l'anatomie du tractus digestif, tous situés sur des micro- ou nano-chromosomes. Un QTL pléiotrope contrôlant à la fois la digestion de l'amidon et la longueur de l'intestin relative au poids vif à 23 jours a été identifié sur le chromosome 26. Des gènes candidats intéressants sont situés dans les régions QTL identifiées.

Les résultats de cette thèse montrent que les deux méthodes utilisées pour identifier des QTLs peuvent dans certains cas être complémentaires, si bien qu'il est utile de les appliquer toutes deux pour comparer les résultats. Cependant, quand la puissance du dispositif est importante, que les effets de dominance sont faibles et les distributions phénotypiques proches d'une répartition normale, les deux méthodes donnent des résultats très similaires.

Mots-clés: poulet, génétique, quantitative trait locus, QTL, salmonelles, digestibilité, EMAn.

Summary

The main objectives of the detection of QTL (Quantitative Trait Loci) are to understand the genetic mechanisms controlling complex traits in order to improve the efficiency of selection. The protocols used to detect QTLs vary according to the nature and density of markers, the type of traits, the structure of population used, which raises the question of the adaptation of statistical methods to of QTL detection to the experimental designs. This question was addressed through two examples of QTL detection in chickens.

For the first part of the thesis, we identified QTLs for resistance to *Salmonella* carrier-state by maximum likelihood (ML), in an F2 population derived from a cross between experimental inbred lines of laying hens. The density of markers and size of the population were rather low and the distribution of traits far from a normal distribution. The results were compared with those previously obtained by linear regression (LR). Both methods identified several QTLs of small effects, but the QTLs obtained are different from one method to another, uncertainty on the fixation of the QTL alleles among grandparents, to the small effect of QTLs, to the non-normal distribution of traits and to the failure to take into account the dominance effect with the maximum likelihood method.

During the second part of the thesis, we detected QTLs for digestibility, anatomy and body weight at 23 days with both methods MV and RL in an F2 population derived from a cross between broilers lines divergently selection on digestive efficiency. The density or markers and size of the population were higher than in the first case and the distribution of traits close to a normal distribution. The positions of the QTLs detected by both methods are similar. A total of 9 QTLs were detected for digestive efficiency and 11 QTL for anatomy of the digestive tract, all of them located on the micro-or nano-chromosomes. A pleiotropic QTL controlling both the starch digestion and the length of the intestine relative to the body-weight at 23 days was identified on chromosome 26. Interesting candidate genes are located in the QTL regions identified.

The results of this thesis show that the two methods used to identify QTLs may in some cases be complementary, so that it is useful to compare their results. However, when the power of the design is important, dominance effects are low and phenotypic distributions close to a normal distribution, both methods give similar results.

Keywords: chicken, genetics, quantitative trait loci, QTL, resistance to *Salmonella* carrier-state, digestibility, AMEn

Table des matières

Remerciements	2
Résumé	7
Résumé	8
Summary	9
Liste des tableaux	14
Liste des figures	15
Liste des annexes.....	18
Liste des publications	19
Liste des abréviations françaises	22
Liste des abréviations anglaises	25
Introduction générale	28
Première partie: Principales méthodes de détection de QTLs	32
I. Principaux marqueurs génétiques utilisés pour la cartographie de QTLs.....	33
I.1 Définition et principales caractéristiques des marqueurs génétiques	33
I.2. Notion de marqueur informatif dans la détection de QTLs	34
I.3. Types de marqueurs utilisés dans la cartographie de QTL	34
I.3.1 Marqueurs microsatellites	34
I.3.2 Marqueurs SNP	35
II. Principes de base de la cartographie génétique des marqueurs	39
II.1. Carte physique et carte génétique	39
II.2. Recombinaison et distance génétique entre marqueurs	39
II.3. Construction d'une carte génétique	40
II.4. Lien entre carte génétique et carte physique	41
III. Principes généraux de la détection de QTLs	43
III.1 Types de croisements utilisés dans la détection de QTLs chez les animaux	43
III.1.1. Croisement entre des lignées consanguines	43
III.1.2. Croisement entre les lignées non consanguines	46
III.1.3. Autres dispositifs.....	46
III.2. Détection de QTLs avec les marqueurs individuels.....	49
III.2.1. Approche par analyse de variance.....	49
III.2.2. Approche par maximum de vraisemblance	50

III.3. Détection de QTLs par cartographie d'intervalles	51
III.3.1. Principales approches statistiques	51
III.3.2. Niveau de significativité et intervalle de confiance	55
III.4. Principales voies d'amélioration de la détection de QTLs par cartographie d'intervalles	57
III.4.1. Détection de plusieurs QTL liés ou « multi-QTL »	57
III.4.2. Détection de QTLs « multi-caractères »	58
III.4.3. Etude de caractères discrets.....	59
IV. Perspectives d'exploitation du génotypage à haut débit pour la détection de QTL	60
IV.1. Détection de QTLs par exploitation du déséquilibre de liaison (DL).....	60
IV.2. Sélection génomique	63
IV.2.1. Principe	63
IV.2.2. Application chez la Poule	64
IV.2.3. Conclusion sur la sélection génomique.....	65
Deuxième partie: Détection de QTLs - Application à des caractères de résistance au portage de salmonelles chez la poule	66
I. Étude bibliographique	68
I.1. Taxonomie	68
I.2. Caractéristiques générales.....	68
I.3. Spectre d'hôte et habitat	70
I.4. Principales étapes de l'infection d'un animal hôte par les salmonelles	72
I.5. Mode de transmission des salmonelles chez la Poule.....	74
I.5.1. Transmission verticale	74
I.5.2. Transmission horizontale	74
II. Conséquences de l'infection par les salmonelles chez les animaux et l'homme.....	75
II.1. Portage asymptomatique.....	75
II.1.1 Description.....	75
II.1.2 Conséquences du portage animal sur la sécurité alimentaire humaine	75
II.2. Gastro-entérites.....	76
II.2.1 Description de la maladie	76
II.2.2 Conséquences économiques des gastro-entérites animales	76
II.3. Infections systémiques.....	77
III. Les moyens de lutte contre les salmonelles chez la Poule	78

III.1. Lutte thérapeutique par utilisation d'antibiotiques.....	78
III.2. Prophylaxie.....	78
III.2.1. Prophylaxie sanitaire:.....	78
III.2.2. Prophylaxie médicale: vaccination.....	79
IV. Etude de la résistance génétique au portage de salmonelles et à la salmonellose chez la Poule : contexte scientifique	81
IV.1. Définitions : résistance au portage de salmonelles et résistance à la salmonellose	81
IV.2. Intérêt de la sélection comme moyen de lutte contre le portage de salmonelles	81
IV.3. Principaux résultats des études du contrôle génétique de la résistance à la salmonellose.....	82
IV.4. Principaux résultats des études du contrôle génétique de la résistance au portage de salmonelles.....	83
IV.4.1. Héritabilité et faisabilité de la sélection.....	83
IV.4.2. Gènes candidats.....	83
IV.4.3. Recherche de QTL	88
<i>Article 1: Use of integrated studies to appreciate potential benefits from genetic resistance to Salmonella carrier state in fowls</i>	89
V. Une analyse QTL par la méthode du maximum de vraisemblance révèle des régions génomiques contrôlant à la fois la résistance à la colonisation et la résistance au portage de salmonelles.....	115
<i>Article 2: A maximum likelihood QTL analysis reveals common genome regions controlling resistance to Salmonella colonization and carrier-state.....</i>	120
VI. Conclusions et perspectives pour la première partie:.....	143
Troisième partie : Détection des QTLs- Application à des caractères de digestibilité chez la Poule	145
I. Le système digestif chez la Poule	147
I.1. Description de l'appareil digestif de la Poule.....	147
I.1.1. La région crâniale	147
II. L'efficacité alimentaire et l'efficacité digestive	154
II.1. Définitions	154
II.1.1. Efficacité alimentaire.....	154
II.1.2. Efficacité digestive	154
II.1.3. Relations entre efficacité alimentaire et efficacité digestive	156

II.2. Sélection de l'efficacité alimentaire	158
II.3. Sélection sur la capacité digestive	160
III. Détection de QTLs pour des caractères de digestibilité et d'anatomie chez la Poule.	166
III.1. Primo-détection de QTLs pour des caractères de digestibilité et d'anatomie.	166
<i>Article 3: Detection of QTL controlling digestive efficiency and anatomy of the digestive tract in chicken fed a wheat-based diet</i>	169
III.2. Analyses supplémentaires	195
III.2.1. Identification des gènes candidats dans les zones des QTLs détectés	195
III.2.2. Résultats de l'analyse multi-caractères	196
III.2.3. Résultats de l'analyse avec le modèle LDLA	201
III.3. Comparaison de deux méthodes reposant soit sur le maximum de vraisemblance, soit sur la régression linéaire	203
III.4. Conclusion et perspectives	207
Conclusion générale et perspectives	207
Bibliographie	211
Annexes	237

Liste des tableaux

Tableau 1: Résumé des symptômes causés chez la Poule par les principaux sérotypes de salmonelles étudiés et principales mesures expérimentales utilisées pour les évaluer chez la Poule (d'après la revue de Calenge et al, 2010).....	71
Tableau 2: Effets de gènes candidats sur la résistance aux salmonelles chez la Poule (d'après Calenge et al, 2010).....	85
Tableau 3 (suite): Effets de gènes candidats sur la résistance aux salmonelles chez la Poule (d'après Calenge et al, 2010).....	86
Tableau 4: Effet des QTLs sous le modèle d'analyse mono-QTL	118
Tableau 5: Effet des QTLs estimé avec le modèle d'analyse deux-QTLs	118
Tableau 6: Poids et longueurs relatives des principales parties du tube digestif chez le poulet, le porc et le rat.	148
Tableau 7: Principales enzymes et produits affectant la digestion des aliments dans l'intestin.	151
Tableau 8 : Comparaison des résultats des analyses mono-caractères et des analyses analyse mono-caractère.	197
Tableau 9 : Comparaison des résultats de l'analyse de liaison classique (LA) et de l'analyse combinée LDLA.....	202
Tableau 10 : Comparaison des résultats obtenus par régression linéaire avec le logiciel QTLExpress et de ceux obtenus par maximum de vraisemblance avec le logiciel QTLMap pour les caractères de digestibilité.	205
Tableau 11 : Principales différences entre les deux dispositifs étudiés	208

Liste des figures

Figure 1: Distribution des marqueurs SNP de la carte physique et consensus chez la Poule (d'après Kranis et al, 2013).....	36
Figure 2: Crossing-over et recombinaison	38
Figure 3: Schéma de croisement en retour "backcross" (BC) utilisé pour la détection de QTLs en supposant l'absence de recombinaison entre loci.	44
Figure 4: Schéma de croisement F2 utilisé pour la détection de QTLs en supposant l'absence de recombinaison entre locus. Les marqueurs M1 et M2 correspondent aux allèles du premier locus (Q1) et du deuxième locus (Q2).	44
Figure 5: Schéma du dispositif "filles" proposé par Soller et Genizi (1978).....	48
Figure 6: Schéma du dispositif "petites-filles" proposé par Weller et al (1990).....	48
Figure 7: Résultat de la détection de QTL contrôlant la gémellité chez les bovins laitiers Norvégiens, sur les mêmes animaux, avec les mêmes marqueurs, mais 3 méthodes d'analyse différentes : LA (a), LD (b) et LDLA (c) (Meuwissen et al, 2002).	61
Figure 8: Image prise au microscope à balayage de salmonelles (<i>Salmonella typhimurium</i>), en rouge, sur une culture de cellules humaines (source : Rocky Mountain Laboratories, NIAID, U.S. National Institute of Health).	67
Figure 9: Image de <i>Salmonella Enteritidis</i> prise au microscope électronique (source: A.B. Doxsett/SCIENCE PHOTO LIBRARY).....	67
Figure 10: Ultrastructure d'une bactérie du genre <i>Salmonella</i> (source: John BAVOSI/SCIENCE PHOTO LIBRARY)	69
Figure 11: Les étapes principales de l'infection d'un animal d'hôte par des salmonelles (Van Immerseel et al, 2005)	73
Figure 12 : Positions des QTLs de résistance au portage de salmonelles détectés avant ce travail de thèse. Les QTLs ont été positionnés par rapport à la position du pic (LOD score maximum).	87
Figure 13: Positions des QTLs de résistance au portage de salmonelles détectés dans le dispositif 1 (P1) et dans le dispositif 2 (P2) durant cette thèse avec le logiciel QTLMap par la méthode du maximum de vraisemblance, sous le modèle à un QTL, par rapport aux QTLs identifiés précédemment.	116

Figure 14: Positions des QTLs de résistance au portage de salmonelles détectés durant cette thèse avec le logiciel QTLMap par la méthode du maximum de vraisemblance, sous le test de la hypothèse de deux QTLs versus celle de l'absence de QTLs dans le dispositif P1 (CLOAQUE4 : niveau de contamination cloacale 4 semaines après inoculation, CLOAQUE5 : niveau de contamination cloacale 5 semaines après inoculation CAEC : niveau de contamination caecale 5 semaines après inoculation).....	117
Figure 15: Schéma du tractus gastro-intestinal de la Poule (d'après Gadoud et al, 1992): la région crâniale est entourée en bleu, la région stomacale en rouge et la région intestinale en vert.....	146
Figure 16 : Coupe longitudinale de la région stomacale chez la Poule (d'après Moran, 1985)	149
Figure 17: Schémas définissant les différents types d'énergie.	153
Figure 18: Relation entre efficacité alimentaire (indice de consommation (IC) et consommation résiduelle (RFI) et l'efficacité digestive (Energie métabolisable apparente corrigé pour un bilan azoté nul (EMAn); Coefficient d'utilisation digestive (CUD).	153
Figure 19: Résultats de l'expérience de sélection sur la consommation résiduelle chez la poule pondeuse (Bordas et Minvielle, 1999).....	157
Figure 20: Processus de la sélection divergente des lignées D+ et D- (Mignon-Grasteau et al, 2004).....	159
Figure 21: Différences d'EMAn entre les D+ et D à la 8ème génération de sélection	161
Figure 22 : Différences entre les lignées D+ et D- selon le régime (blé Rialto ou maïs) (Mignon-Grasteau et al, 2008; 2010) pour le coefficient d'utilisation digestive de l'amidon (CUD-Amidon), le coefficient d'utilisation digestive des lipides (CUD-Lipides) et le coefficient d'utilisation digestive des protéines (CUD-Protéines). 162	162
Figure 23 : Taille relative de l'ensemble gésier-proventricule des D- (gauche) et des D+ (droite).....	164
Figure 24 : Courbes de LRT en analyse mono-caractère (figure 24.a) et multi-caractères (figure 24.b) permettant la détection d'un QTL pléiotrope significatif au niveau du génome sur le chromosome 20.....	198
Figure 25 : Courbes de rapport de vraisemblance réalisées pour les analyses mono-caractères du coefficient d'utilisation digestive de l'amidon (CUDS, en bleu) et de la longueur	

relative de l'intestin (RIL en rouge), et mise en évidence d'un QTL pléiotrope par
analy multi-caractère (en verte) sur le chromosome 26. 200

Figure 26 : Comparaison des courbes de détection de QTLs obtenus avec les logiciels
QTLExpress et QTLMap pour les chromosomes 20 et 27..... 206

Liste des annexes

Annexe 1 - Genetic variability of FCR with suboptimal food and prospects for selection	238
Annexe 2 - Détection de QTLs contrôlant l'efficacité digestive dans un croisement de lignées de poulets sélectionnées de façon divergente pour ce caractère	250
Annexe 3 - Variabilité génétique de l'efficacité alimentaire en régime suboptimal : perspectives pour la sélection	255

Liste des publications

Publications

1. Beaumont C., **Tran T.-S.**, Zongo P., Viet A.-F., Magal P. (2012) *Use of integrated studies to appreciate potential benefits from genetic resistance to Salmonella carrier state in fowls* Chapter XI-Salmonella/Book 2; Intech Publishing, Croatia, ISBN: 978-953-51-0661-6).
2. **Tran T.-S.**, Beaumont C., Salmon N., Fife M., Kaiser P., Le Bihan-Duval E., Vignal A., Velge P., Calenge F. (2012) *A maximum likelihood QTL analysis reveals common genome regions controlling resistance to Salmonella colonization and carrier-state*. BMC Genomics 13:198.
3. **Tran T.-S.**, Narcy A., Carré B., Gabriel I., Rideau N., Gilbert H., Demeure O., Bed'Hom B., Chantry-Darmon C., Boscher M.-Y., Bastianelli D., Sellier N., Chabault M., Calenge F., Le Bihan-Duval E., Beaumont C., Mignon-Grasteau S. (2013): *Detection of QTL controlling digestive efficiency and anatomy of the digestive tract in chicken fed a wheat-based diet*. (Soumis à BMC Genomics).

Conférences:

4. Mignon-Grasteau S., Narcy A., **Tran T.-S.**, de Verdal H., Bastianelli D., Juin H., Carré B. (2012): *Genetic variability of feed conversion ratio with suboptimal food and prospects for selection*. XXIV World's Poultry Congress, Bahia, Brazil 5 -9 August 2012. (comm. orale)
5. **Tran T. S.**, Narcy A., Carré B., Gilbert H., Demeure O., Bed'Hom B., Chantry-Darmon C., Boscher M.-Y., Bastianelli D., Sellier N., Chabault M., Calenge F., Le Bihan-Duval E., Beaumont C., Mignon-Grasteau S. (2013): *Détection de QTL contrôlant l'efficacité digestive dans un croisement de lignées de poulets sélectionnées de façon divergente pour ce caractère*. 10èmes Journées de la Recherche Avicole et des Palmipèdes à foie gras, La Rochelle, France, 28-30 Mars 2013. (comm. orale)
6. Mignon-Grasteau S., Narcy A., **Tran T.-S.**, de Verdal H., Bastianelli D., Juin H., Carré B. (2012): *Variabilité génétique de l'efficacité alimentaire avec un régime sous-optimal et perspectives pour la sélection*. 10èmes Journées de la Recherche Avicole et des Palmipèdes à foie gras, La Rochelle, France, 28-30 Mars 2013. (comm. orale)

7. **Tran T.-S.**, Narcy A., Carré B., Gabriel I., Rideau N., Bastianelli D., Sellier N., Chabault M., Calenge F, Le Bihan-Duval E., Beaumont C., Mignon-Grasteau S (2013): *Detection of QTL controlling digestive efficiency and anatomy of the digestive tract in chicken*. 8th European Symposium on Poultry Genetics-Venise, Italy 25-27/09/2013 (poster)

Liste des abréviations françaises

ADN : Acide désoxyribonucléique

cM : Centimorgan

CUD : Coefficient d'utilisation digestive

D- : Lignée de poulets sélectionnée de façon divergente pour de faibles valeurs d'EMAn (mauvais digesteurs)

D+ : Lignée de poulets sélectionnée de façon divergente pour de fortes valeurs d'EMAn (bons digesteurs)

ED : Énergie digestive

EB : Energie brute

EM : Energie métabolisable

EMA : Energie métabolisable apparente

EMAn : Energie métabolisable apparente corrigée pour un bilan azoté nul

F2 : Une descendance F2 est obtenue en croisant deux individus de la F1

h^2 : Héritabilité

HCl : Acide chlorhydrique

I.C. : Intervalle de confiance

IC : Indice de consommation

M : Morgan

MS : Matière sèche

MV : Maximum de vraisemblance

Mb: Mégabase

pb: Paire de bases

RL : Régression linéaire

S.E. : *Salmonella Enteritidis*

S.T. : *Salmonella Typhimurium*

SAM : Sélection Assistée par Marqueurs

TIAC : Toxi-infection alimentaire collective est définie par l'apparition d'au moins deux cas similaires d'une symptomatologie, en général gastro-intestinale, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire.

Liste des abréviations anglaises

AIL : Lignée d'intercroisement avancé (Advanced Intercrossed Line)

AMEn : Metabolisable energy value of diet, corrected to zero nitrogen retention

BC : Back-cross: rétro-croisement, aussi appelé "croisement en retour" obtenu en croisant un individu de la F1 avec un parent F0.

BW23 : Body weight at 23 days.

c.f.u : Colonies forming units

CDUDM : Coefficients of digestive utilization of dry matter

CDUL : Coefficients of digestive utilization of lipids

CDUP : Coefficients of digestive utilization of proteins

CDUS : Coefficients of digestive utilization of starch

CIM : Composite Interval Mapping

FCR : Feed conversion ratio

ID : Intestinal density

LA : Linkage Analysis (Analyse de liaison)

LD : Linkage Disequilibrium (Déséquilibre de liaison)

LDLA : Modèle combinant Déséquilibre de liaison et Analyse de liaison (Linkage Disequilibrium – Linkage Analysis)

LOD score : Logarithm of the odds score

LR : Linear Regression

LRT : Valeur du test de maximum de vraisemblance (Likelihood Ratio Test)

MIM : Multiple Interval Mapping

ML : Maximum likelihood

PG/I : Ratio of gizzard and proventriculus weights to intestine weight at 23 days

PG/I : Relative of proventriculus and gizzard to intestine weight at 23 days

pb: pair

QTL : Quantitative trait loci

RFI : Residual feed intake

RGW : Ratio of gizzard weight to body weight at 23 days

RIL : Ratio of intestine length to body weight at 23 days

RIW : Ratio of intestine weight to body weight at 23 days

RPGW : Ratio of proventriculus plus gizzard weight to body weight at 23 days of age

RPW : Ratio of proventriculus weight to body weight at 23 days

SNP : Polymorphisme nucléotidique (single-nucleotide polymorphism)

Introduction générale

Le formidable développement des possibilités de génotypage permet désormais d'identifier les zones du génome impliquées dans le contrôle des caractères quantitatifs ou QTLs (Quantitative Trait Loci). Il est en effet désormais possible de rechercher si l'effet de certains marqueurs permet d'expliquer la distribution des performances et d'améliorer ainsi la compréhension des mécanismes génétiques régissant les caractères complexes. Cette approche peut aussi contribuer à l'amélioration de l'efficacité de la sélection. Cependant, son efficacité dépend du protocole retenu pour le phénotypage, de la densité du génotypage, du type d'analyses statistiques et du dispositif génétique.

Comme dans toute étude génétique, la première étape d'une recherche de QTLs consiste à choisir les phénotypes, qui doivent mesurer de façon aussi précise et pertinente que possible la ou les caractéristiques que l'on souhaite étudier. L'idéal serait de mesurer un très grand nombre de caractères reflétant les effets des gènes mais, en pratique, les caractères doivent pouvoir être mesurés assez rapidement pour permettre d'acquérir un nombre suffisant de données et par suite une puissance statistique satisfaisante. La mesure d'un grand nombre de caractères implique également une manipulation répétée des animaux, ce qui peut induire un stress chez ceux-ci et fausser les mesures. De plus, lors d'une primo-détection, les gènes sous-jacents restant inconnus, il n'est pas encore possible de choisir des phénotypes ne reflétant que la simple action d'un ou de quelques gènes, ce qui peut par contre se faire, dans un second temps pour la cartographie fine des QTLs. Par ailleurs, la distribution des caractères est également un élément de choix. La plupart des méthodes statistiques ont en effet été développées, au moins dans un premier temps, sous l'hypothèse de caractères normalement distribués. Si certains caractères comme la croissance ou la composition corporelle ont des distributions très proches de cette hypothèse, la plupart des phénotypes s'écartent de cette distribution, de façon plus ou moins prononcée. Dans certains cas, une transformation mathématique (logarithme, Box-Cox, ...) permet de se rapprocher de l'hypothèse de départ. En revanche, dans d'autres cas, ces transformations ne sont pas possibles. C'est le cas par exemple de certains caractères de comportement comme le comportement en open-field, qui présente une distribution en U (Faure, 1982). Dans certains cas plus extrêmes, les observations sont de nature discrète. Ainsi, par exemple dans le cas de résistance à des maladies, l'animal est soit malade, soit résistant et le caractère de type « tout-ou-rien ». Dans ces derniers cas, les distributions observées sont trop éloignées des

distributions normales théoriques pour ignorer l'écart à l'hypothèse de normalité sur laquelle repose la plupart des méthodes de calcul. Cela implique donc d'utiliser des modèles et des méthodes statistiques dédiés à ces caractères aux distributions atypiques.

Le choix du dispositif génétique constitue la deuxième étape. Il inclut le choix du type de matériel génétique (races, lignées pures ou croisements, et dans ce dernier cas le dispositif de croisement) mais aussi les effectifs et leur répartition par famille. Il résulte d'un compromis entre le besoin d'un grand nombre d'animaux (nombre de familles, nombre d'animaux par famille) pour estimer le plus précisément possible l'effet des QTLs et augmenter la puissance de détection du dispositif et les possibilités pratiques d'acquisition des phénotypes sur ce grand nombre d'animaux.

Enfin se pose la question du choix du type et de la densité des marqueurs utilisés pour le génotypage. L'augmentation exponentielle du nombre de marqueurs s'est souvent faite au détriment de l'informativité de ces marqueurs. Cette augmentation impose également aujourd'hui des développements théoriques et informatiques, car les logiciels actuels sont parfois inadaptés à ce nombre très élevé de marqueurs.

De ce fait, les résultats obtenus dans les multiples études de QTL vont être très variables en partie du fait de tous ces paramètres, mais il est rare de trouver une discussion sur l'impact des différents facteurs de construction des protocoles et de l'adaptation des outils de détection de QTLs aux modèles étudiés. C'est précisément cette question qui sera abordée dans cette thèse, au travers de deux exemples de recherches de QTLs menées chez la Poule, dans deux situations très différentes pour les paramètres décrits ci-dessus. Le premier exemple est une détection de QTLs de la résistance au portage de salmonelles mesurée sur deux populations de 185 et 193 animaux F2 issus de lignées parentales consanguines N (sensibles) et ϕ_1 (résistants) génotypées pour 480 marqueurs SNP, et des caractères présentant une distribution phénotypique non normale. Le second exemple porte sur la capacité digestive avec une population F2 de 820 animaux issue des lignées parentales divergentes D- (mauvaise digestibilité) et D+ (bonne digestibilité), génotypée pour 6000 SNP, avec des caractères normalement distribués.

Au cours de cette thèse, différentes méthodes statistiques pour la détection de QTLs ont été comparées pour identifier laquelle est la plus adaptée dans chaque cas. Des primo-détection de QTLs par cartographie d'intervalle simple (un seul caractère, un seul QTL) ont

d'abord été effectuées, en utilisant d'abord la méthode du maximum de vraisemblance à l'aide du logiciel QTLMap. Les résultats obtenus ont ensuite été comparés avec ceux issus d'une méthode de régression linéaire proposée par le logiciel QTLEXPRESS (un seul caractère, un seul QTL), et obtenus soit avant cette thèse pour l'étude de la résistance au portage de salmonelles, soit au cours de cette thèse pour l'étude de la digestibilité. Dans un deuxième temps, la détection de QTLs a été améliorée par l'utilisation de méthodes adaptées à chaque dispositif. Pour l'étude de la résistance au portage de salmonelles, un modèle à deux QTLs et un modèle dédié aux données discrètes a été utilisé. Pour l'étude de la digestibilité, des modèles multi-caractères et LDLA (Linkage Disequilibrium and Linkage Analysis) ont été employés.

Première partie:
Principales méthodes de détection de QTLs

I. Principaux marqueurs génétiques utilisés pour la cartographie de QTLs

I.1 Définition et principales caractéristiques des marqueurs génétiques

Toute séquence polymorphe d'ADN, c'est à dire présentant plusieurs allèles, qui a une position unique dans le génome et se transmet selon les lois mendéliennes peut être qualifiée de marqueur génétique. Cependant, pour être intéressant, un marqueur moléculaire doit idéalement présenter les caractéristiques suivantes :

- il doit être multi-allélique : s'il suffit dans l'absolu de deux allèles pour que le marqueur soit utilisable, un grand nombre d'allèles est un atout car il améliore l'informativité du marqueur en multipliant le nombre d'individus hétérozygotes. Ainsi, pour un marqueur présentant 2 ou 4 allèles de fréquences égales, on observera respectivement 50 et 75% d'individus hétérozygotes.
- il doit présenter un fort polymorphisme dans la population étudiée, les allèles rares diminuant fortement le nombre potentiel d'animaux hétérozygotes (50% des individus si les deux allèles ont une fréquence de 0,5 chacun, 18% si les fréquences sont de 0,1 pour un allèle et 0,9 pour le second).
- il doit être co-dominant, c'est à dire que les hétérozygotes présentent un phénotype différent des deux homozygotes afin de pouvoir différencier sans ambiguïté hétérozygotes et homozygotes.
- il ne doit pas présenter d'interaction épistatique pour que le génotype puisse être reconnu clairement à partir du phénotype sans influence du génotype sur d'autres locus.
- il doit être neutre : le polymorphisme du marqueur ne doit pas avoir d'effet sur la variabilité phénotypique, c'est à dire que les substitutions alléliques au marqueur n'ont pas d'autre effet phénotypique que ceux qui permettent de déterminer le génotype au marqueur.

- il doit être insensible au milieu pour que les phénotypes enregistrés puissent être reliés au génotype quel que soit le milieu. Cette dernière considération ne s'applique en revanche pas lorsque le caractère étudié est un caractère de sensibilité au milieu.

En outre, l'ensemble des marqueurs utilisés doivent être répartis de façon homogène sur l'ensemble du génome afin d'avoir une bonne puissance de détection sur tout le génome. En réalité, il n'y a pas beaucoup de marqueurs répondant à toutes ces conditions. Les trois premiers critères peuvent être optimisés dans les dispositifs étudiés, mais les trois derniers critères sont difficiles à vérifier en pratique.

I.2. Notion de marqueur informatif dans la détection de QTLs

L'informativité d'un marqueur désigne la possibilité de tracer la transmission des allèles des parents aux descendants sans ambiguïté. Ainsi, les marqueurs pleinement informatifs permettent d'identifier, au niveau des descendants, les allèles hérités du père et ceux hérités de la mère. Tel est par exemple le cas lorsque, pour un marqueur ne comportant que deux allèles, les deux parents sont hétérozygotes et leur descendant homozygote. A l'extrême inverse, si les parents sont homozygotes et de même génotype, on ne peut identifier l'origine des allèles reçus par le descendant et les relier aux phénotypes observés. Cette informativité peut être observée à différentes échelles, de la population dans l'idéal, d'une ou plusieurs familles dans la plupart des cas car les génotypes parentaux et par suite les niveaux d'informativité des marqueurs diffèrent d'une famille à l'autre.

I.3. Types de marqueurs utilisés dans la cartographie de QTL

Parmi les nombreux types de marqueurs moléculaires, les plus utilisés sont les marqueurs microsatellites et les marqueurs SNP (Single Nucleotide Polymorphism).

I.3.1 Marqueurs microsatellites

Les marqueurs microsatellites sont des séquences d'ADN répétées en tandem dont l'unité de répétition est longue de un à quatre nucléotides. Les plus courants sont (A)_n, (TC)_n, (TAT)_n et (GATA)_n, les valeurs de n (nombre de répétitions de la séquence) pouvant aller de quelques unités à plusieurs dizaines. C'est le nombre de répétitions qui définit les allèles. Il faut que le microsatellite soit entouré à droite et à gauche de séquences uniques pour être un

marqueur non ambigu. Au cours des 15 dernières années, les marqueurs microsatellites ont été considérés comme des marqueurs de choix car ils sont très polymorphes, co-dominants et répartis de façon homogène dans le génome. Un de leurs inconvénients est que le génotypage n'est pas facilement automatisable, ce qui rend impossible un génotypage à très haut débit. De plus, leur densité sur le génome est plus réduite que celle des marqueurs SNP. Cependant, chez la Poule, ils ont constitué pendant longtemps les meilleurs marqueurs génétiques possibles pour des analyses QTL car répartis sur tout le génome, multi-alléliques et co-dominants, et ce tant que la séquence du génome n'était pas disponible.

I.3.2 Marqueurs SNP

Les marqueurs SNP sont des mutations d'une seule base dans un fragment d'ADN. Ils sont très généralement bi-alléliques et donc moins souvent polymorphes que les marqueurs microsatellites, si bien qu'ils fournissent moins d'informations que les microsatellites. En revanche, ils sont extrêmement fréquents dans le génome : ainsi, chez la Poule, la fréquence des SNP est de 1 par 50 à 100 paires de bases, contre 1 par 150000 bases pour les microsatellites (Vignal et Besbes, 2005). Chez la Poule, le séquençage du génome achevé en 2004 (Wallis et al, 2004) a permis d'identifier un très grand nombre de SNPs (Rubin, 2010) par la comparaison de différentes souches génétiques très différentes. Kranis et al (2013) ont récemment détecté chez la Poule un nombre encore plus grand de SNP (139 millions de SNP), parmi lesquels 78 millions ségrègent entre 24 souches. Si la densité des SNP ne change pas selon la distance génétique (100 à 200 SNP/ cM), elle varie selon la distance physique, ce qui se traduit chez la Poule par une forte hétérogénéité de couverture des chromosomes. Le génome de la Poule a en effet la particularité d'être constitué de chromosomes nombreux et de tailles extrêmement différentes. Les chromosomes 1 à 8 (et Z) sont dits macro-chromosomes, les chromosomes 9 à 20 sont dits micro-chromosomes et les chromosomes 21 à 32 sont dits nano-chromosomes. On sait que la densité de recombinaison génétique est plus élevée sur les micro- et nano-chromosomes que sur les macro-chromosomes, comme le confirment les travaux récents de Kranis et al (2013) (figure 1). Le séquençage n'étant pas complet, même avec l'assemblage le plus récent, les SNP ne couvrent pas l'ensemble du génome : de nombreux micro- et nano-chromosomes ne sont pas couverts.

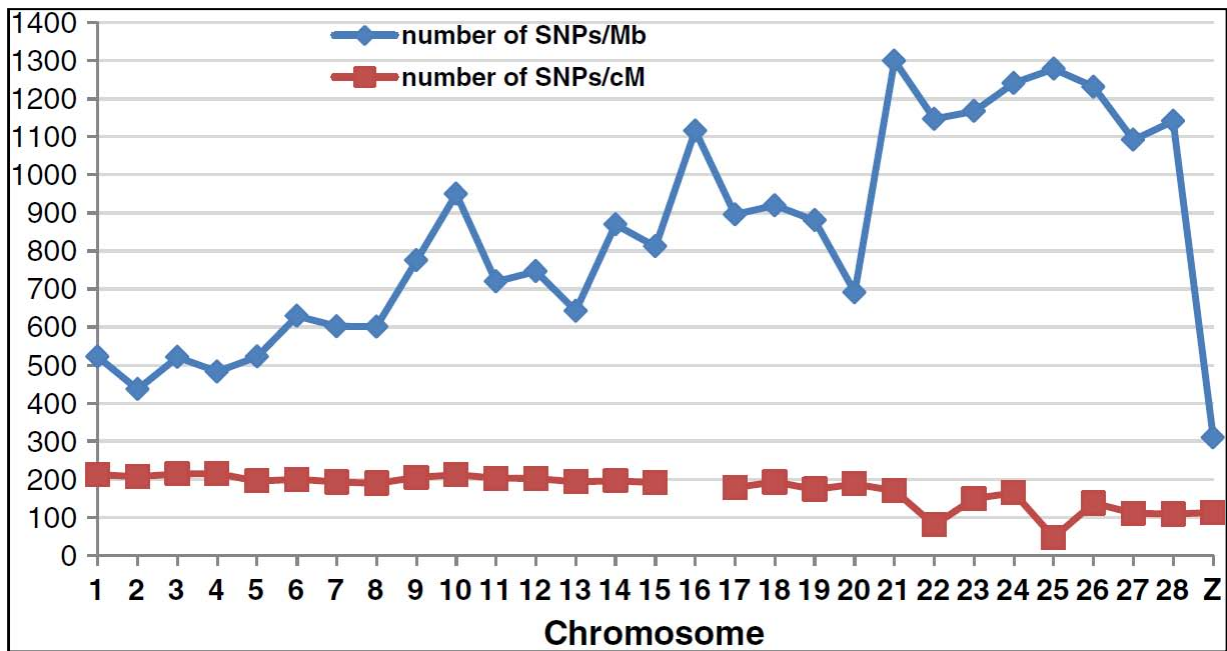


Figure 1: Distribution des marqueurs SNP de la carte physique et consensus chez la Poule (d'après Kranis et al, 2013)

Un avantage majeur des SNP est que leur génotypage est facilement automatisable grâce aux supports de puces à ADN, réduisant fortement leur coût par rapport aux marqueurs microsatellites. Les technologies de puces à ADN les plus connues et efficaces pour le génotypage avec des marqueurs SNP sont l'Illumina BeadArray (Illumina Inc., Sandiego, CA, USA) et l'Affymetrix SNP array (Affymetrix Inc., Santa Clara, CA, USA). Ces deux technologies permettent de génotyper rapidement plusieurs milliers voire jusqu'à un million de marqueurs SNP. Kranis et al (2013) viennent de présenter une puce dite 600K avec 580954 SNP au total (cf. figure 1). Les marqueurs utilisés sur cette puce ont été choisis parmi 1829290 SNP génotypés. On peut noter que sur cette puce, certains chromosomes parmi les nanochromosomes ne sont toujours pas représentés. De plus, le chromosome 16, du fait de sa structure génétique particulière est également peu représenté, ce qui constitue un problème pour l'étude de la résistance génétique aux maladies, ce chromosome étant porteur des gènes du complexe majeur d'histocompatibilité. Cependant la puce de 57636 SNP est pour l'instant la puce la plus souvent utilisée chez cette espèce (Groenen et al, 2011).

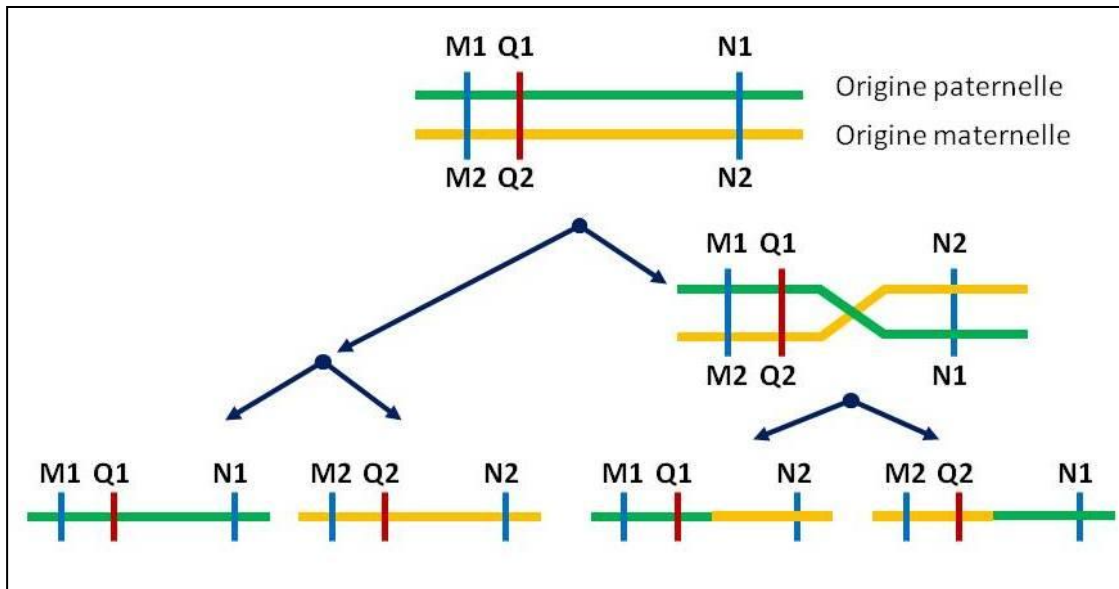


Figure 2: Crossing-over et recombinaison

II. Principes de base de la cartographie génétique des marqueurs

II.1. Carte physique et carte génétique

Deux types de cartes peuvent être utilisés. Dans la carte physique, les marqueurs, le plus souvent très proches (distants de quelques kilobases), sont ordonnés selon leur position physique dans le génome. Les distances entre les différents marqueurs, mesurées en paires de bases (pb), sont dites absolues. Dans la carte génétique, ce sont les distances génétiques qui sont calculées en Morgans (M) ou centimorgans (cM), en fonction du taux de recombinaison entre marqueurs.

II.2. Recombinaison et distance génétique entre marqueurs

Lors de la méiose, un échange de matériel génétique entre deux chromosomes homologues peut avoir lieu à la fois dans un même chromosome et entre les deux chromosomes, d'où un mélange, sur un même chromosome, d'allèles d'origine maternelle et d'allèles d'origine paternelle. Ce phénomène se produit de façon aléatoire et se nomme une recombinaison réciproque (en anglais: crossing-over, cf. figure 2). Il joue un rôle fondamental dans la création et le maintien de la diversité génétique.

La probabilité d'avoir une recombinaison entre deux loci différents situés sur un même chromosome au cours de la méiose est d'autant plus grande que ces loci sont plus éloignés. Inversement, si les loci sont proches, les recombinaisons entre allèles sont très rares et ils restent le plus souvent associés sur le même chromosome dans le gamète produit par la méiose.

La mesure de l'éloignement génétique entre deux loci est exprimée par le taux de recombinaison entre eux. Si la probabilité de recombinaison entre deux loci est égale à 0,5, ces loci dits indépendants ou non liés. Lorsque cette probabilité est inférieure à 0,5, ces marqueurs sont dits liés.

Si r_{ij} est la proportion sur l'ensemble des gamètes de gamètes recombinés pour les deux loci i et j (taux de recombinaison), il existe plusieurs fonctions de calcul de la distance génétique entre ces deux loci (d_{ij}):

- La distance de Morgan est calculée en supposant que les recombinaisons multiples sont rares ; la probabilité de recombinaison entre deux marqueurs est donc considérée comme additive, d'où l'estimation de leur distance génétique :

$$d_{ij} = r_{ij}$$

Ainsi, deux loci présentant un taux de recombinaison de 1% sont dits éloignés de 1 cM.

- Fonction de Haldane (Haldane, 1919), méthode de calcul qui prend en compte la possibilité de crossing-over multiples sur un chromosome et considère qu'ils sont indépendants, d'où :

$$d_{ij} = \frac{1}{2} \ln(1 - 2r_{ij})$$

- La fonction de Kosambi (Kosambi, 1944), plus générale, prend en compte le fait que des crossing-over différents ne sont pas indépendants, c'est à dire qu'un crossing-over observé diminue la probabilité d'un autre crossing-over proche, d'où la formule :

$$d_{ij} = \begin{cases} \ln \left(\frac{1 + 2r_{ij}}{1 - 2r_{ij}} \right) & \text{si } 0 \leq r_{ij} < \frac{1}{2} \\ +\infty & \text{sinon} \end{cases}$$

Toutes les distances ci-dessus sont exprimées en cM.

II.3. Construction d'une carte génétique

La construction d'une carte génétique comprend les grandes étapes suivantes:

- Etape 1: calcul de la liaison entre paires de marqueurs. Pour chaque couple de marqueurs on teste l'hypothèse H_0 : "les deux marqueurs sont indépendants" ($r=0,5$) contre l'hypothèse H_1 : "les deux marqueurs sont liés" ($0 \leq r < 0,5$) où r est le taux de recombinaison entre ces deux marqueurs. Le résultat du test est un LOD score. S'il est supérieur à un seuil de LOD score choisi préalablement, les marqueurs sont liés ; ils font partie du même groupe de liaison. Des marqueurs situés sur un même chromosome peuvent appartenir à plusieurs groupes de liaison différents si les distances génétiques entre groupes de marqueurs sont trop importantes.

- Etape 2 : Les marqueurs sont ordonnés à l'intérieur de chaque groupe de liaison. Le type de calcul effectué dépend du programme de cartographie utilisé. Par exemple, le programme CRIMAP (Green et al, 1990) effectue ses calculs à partir d'un couple de marqueurs fourni par l'utilisateur ou choisi pour être le plus lié (étape 1), puis insère les marqueurs un par un en calculant le logarithme décimal de la vraisemblance de chaque ordre de marqueurs envisagé. A chaque étape, la carte de plus forte vraisemblance est retenue pour l'étape suivante, c'est-à-dire l'insertion d'un marqueur supplémentaire.

Les principaux logiciels pouvant être utilisés pour construire une carte génétique chez les animaux sont MapMaker (Lander et al, 1987), CarthaGène (Givry et al, 2005) et CRIMAP (Green et al, 1990). De nombreux logiciels dédiés aux plantes sont également disponibles : Linkage-1 (Suiter et al, 1983), Mapmarker (Lander et al, 1987), Gmendel (Liu et Knapp, 1990 ; Holloway et Knapp, 1994) et Join Map (Stam, 1993). Le logiciel CRIMAP est le plus utilisé. Il présente cependant la limite importante d'une vitesse de calcul très réduite lorsque le nombre de marqueurs augmente, même dans sa dernière version. Cette lourdeur explique qu'avec l'arrivée des marqueurs SNP en très grand nombre, les cartes génétiques sont de moins en moins fréquemment utilisées, au profit de cartes déduites des positions physiques et de la carte consensus.

La première carte génétique consensus de la Poule a été publiée en 2000 (Groenen et al, 2000). Cette carte a réalisé la synthèse de plusieurs tentatives distinctes de cartographie chez la Poule, qui reposaient à la fois sur des populations différentes et sur des types de marqueurs différents. Ainsi, Crittenden et al (1993) et Bumstead et Palyga (1992) avaient utilisé des souches consanguines de type White Leghorn et/ou de jungle, alors que Groenen et al (1998) avaient étudié un croisement entre deux souches de poulets de chair. Cette première carte compte 801 marqueurs microsatellites. Depuis 2004 et la publication de la séquence du génome de la Poule (Wong et al, 2004), de nombreux marqueurs SNP ont été identifiés. Une nouvelle carte génétique consensus avec une densité plus élevée de marqueurs (9 268 marqueurs SNP) a été publiée en 2009 (Groenen et al, 2009). Cette carte consensus compte 34 groupes de liaison qui couvrent 29 des 38 autosomes et atteint une taille totale de 3228 cM.

II.4. Lien entre carte génétique et carte physique

En raison des limites de vitesse de calcul, la construction de cartes génétiques comptant un grand nombre de marqueurs peut être extrêmement longue, voire impossible.

Quand la qualité de la séquence génomique de l'espèce étudiée est bonne, on peut prendre le risque de déduire la carte génétique de la carte physique, en faisant l'hypothèse que l'ordre des marqueurs est conservé mais aussi qu'aucune erreur n'a été faite sur la carte physique et dans les géotypages que les calculs de carte génétique auraient permis de détecter. D'éventuelles erreurs de position des marqueurs peuvent toujours être détectées par la présence d'un nombre de recombinants significativement plus élevé qu'attendu entre deux marqueurs, donnée fournie par certains logiciels de détection de QTLs comme QTLMap.

En première approximation, on peut considérer que la relation entre la position physique des marqueurs et leur position génétique est linéaire. Par exemple, chez l'être humain, on estime que 10^6 bases (1 Mégabase) représentent 1 cM. On peut ainsi déduire une carte génétique de la position physique et de la carte génétique de référence. Ce type d'équivalence a néanmoins été discuté fortement au cours des dernières années en raison de l'existence de "hot spots", zones du génome où le taux de recombinaison est beaucoup plus élevé qu'en moyenne (Jeffrey et al, 2001; Gabriel et al, 2002). Ainsi, chez la Poule, il semble que le lien entre distance en mégabases et en centimorgans varie selon le type de chromosomes: il serait de 1 cM pour 300000 pb dans les macro-chromosomes (1 à 8 et Z), de 1 cM pour 143000 pb pour les micro-chromosomes (9 à 20) et de 1 cM pour 100000 pb pour les nano-chromosomes (21-32 et LGE22) (Groenen, 2000). Il est donc logique dans cette espèce de prendre en compte ces variations de correspondance entre distance physique et distance génétique pour construire une carte génétique à partir des positions physiques des marqueurs. C'est par exemple le cas du logiciel MarkerSet, qui permet de sélectionner automatiquement les meilleurs marqueurs parmi un panel plus large chez la Poule (Demeure et Lecerf, 2008).

III. Principes généraux de la détection de QTLs

Pour identifier des QTLs, il faut disposer d'animaux informatifs issus de parents qui le soient également, c'est à dire que les génotypes des parents soient tels que l'on puisse observer différents génotypes chez les descendants afin de les mettre en relation avec les phénotypes. Travailler sur des croisements entre types génétiques extrêmes maximise cette probabilité d'observer des ségrégations de gènes en augmentant l'homozygotie des animaux des générations de base et donc l'hétérozygotie des animaux croisés. Le type de croisement dépend des caractéristiques biologiques des espèces. Dans toute cette partie, on notera M1 et M2 les deux allèles aux marqueurs et Q1 et Q2 ceux aux QTLs.

III.1 Types de croisements utilisés dans la détection de QTLs chez les animaux

Dans les protocoles expérimentaux, il existe deux principaux types de croisements, décrits ci-dessous.

III.1.1. Croisement entre des lignées consanguines

Le croisement idéal pour la détection de QTLs est le croisement F2 ou back-cross (BC) entre lignées consanguines (dites en anglais "inbred"). Dans une population totalement consanguine, tous les individus sont homozygotes et leurs descendants F1 très majoritairement hétérozygotes (au taux de recombinaison près) et donc informatifs. Ce type de croisement est beaucoup utilisé chez les plantes. En revanche, comme les animaux supportent mal la consanguinité car elle diminue très fortement les performances de reproduction et la vigueur, ce type de population est peu fréquent dans les populations animales, hormis certaines lignées d'animaux de laboratoire comme la Souris. Certaines lignées aviaires présentent cependant une forte consanguinité et un taux élevé d'homozygotie. C'est le cas des lignées de Poule pondeuse (White Leghorn) résistante (G_1) et sensible (N) aux salmonelles qui ont été utilisées dans cette thèse.

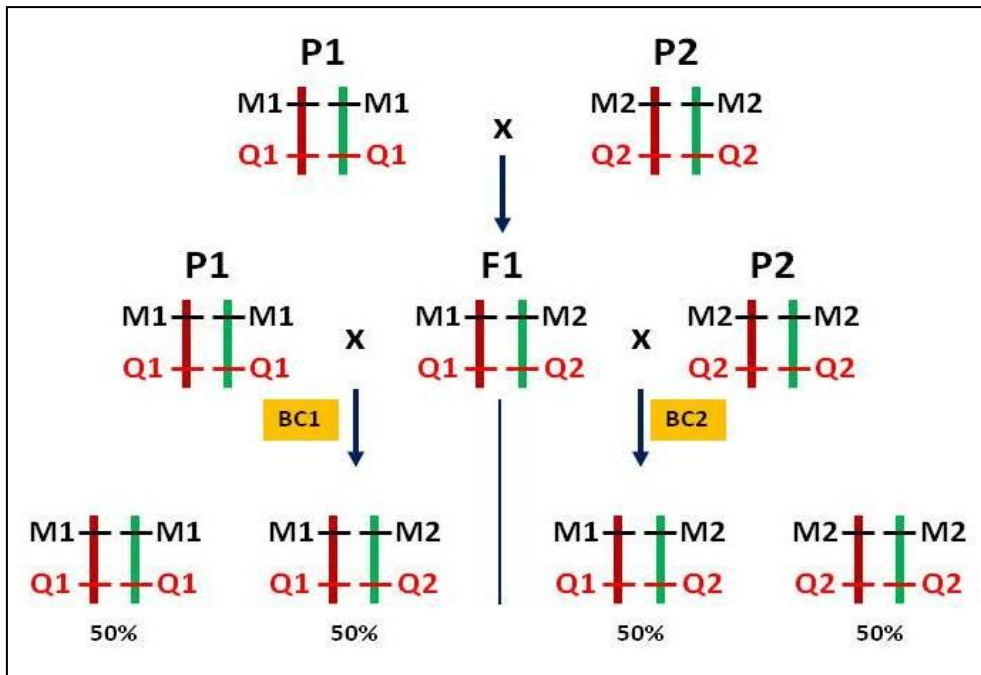


Figure 3: Schéma de croisement en retour "backcross" (BC) utilisé pour la détection de QTLs en supposant l'absence de recombinaison entre loci.

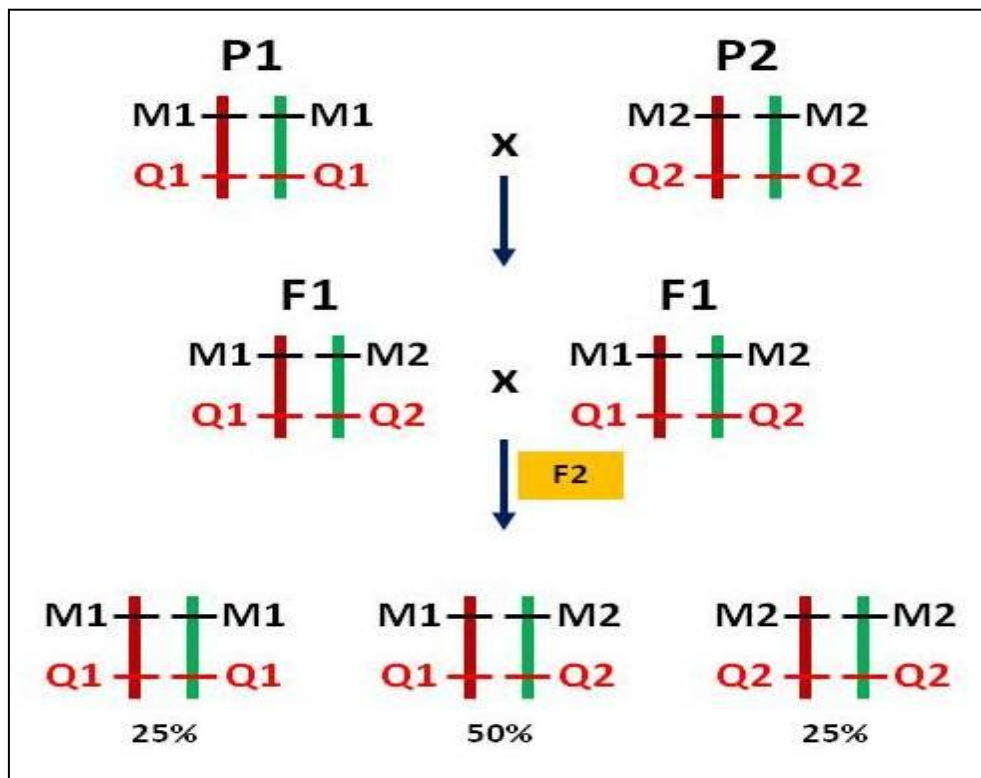


Figure 4: Schéma de croisement F2 utilisé pour la détection de QTLs en supposant l'absence de recombinaison entre locus. Les marqueurs M1 et M2 correspondent aux allèles du premier locus (Q1) et du deuxième locus (Q2).

Les deux types de croisement les plus utilisés sont :

* **Le back-cross** : un premier croisement est réalisé entre deux lignées pour obtenir des animaux F1 le plus souvent hétérozygotes. Ensuite, un croisement dit « en retour » est réalisé entre cette génération et une des deux lignées parentales (cf. figure 3). C'est cette population qui est utilisée pour la détection de QTL. Dans un croisement back-cross BC1 et BC2 respectivement sur la lignée parentale homozygote P1 et P2, on suppose que les parents sont homozygotes au QTL "Q" et au marqueur "M" et présentent donc les génotypes "M1Q1/M1Q1" pour les parents P1, "M2Q2/M2Q2" pour les parents P2. Les animaux F1 présenteront donc tous le génotype "M1Q1/M2Q2". En supposant l'absence de recombinaison entre le marqueur et le QTL, la moitié des descendants de deuxième génération sera homozygote (M1Q1/M1Q1 pour BC1, M2Q2/M2Q2 pour BC2) et l'autre hétérozygote M1Q1/M2Q2. Les moyennes de performances de ces deux groupes sont comparées pour détecter d'éventuels QTLs. Dans le cas d'un caractère dominant, seul le croisement avec la population présentant le phénotype récessif pourra être utilisé.

* **Le croisement F2**: Ce croisement est effectué en croisant entre eux des animaux F1 (hétérozygotes) issus du croisement entre deux lignées parentales homozygotes P1 et P2 pour obtenir une population F2 (cf figure 4). Les animaux F1 présentent les mêmes caractéristiques que pour un backcross et sont donc tous hétérozygotes "M1Q1/M2Q2". En l'absence de recombinaison, la population F2 est constituée d'un quart d'homozygotes M1Q1/M1Q1, d'un quart d'homozygotes M2Q2/M2Q2 et d'une moitié d'hétérozygotes M1Q1/M2Q2. L'information sur la présence et l'effet du QTL provient de la comparaison entre les moyennes de performances de deux groupes homozygotes (M1Q1/M1Q1 et M2Q2/M2Q2) pour cartographier des QTLs. Les individus hétérozygotes (M1Q1/M2Q2) renseignent quant à eux sur le statut de dominance du QTL, mais ne sont pas ou peu utilisés pour en détecter la présence.

Ces deux types de croisements sont utilisés chez les volailles, consanguines ou non (Hocking et al, 2005; Abasht et al, 2006). L'avantage du croisement backcross est d'être plus puissant, en l'absence de dominance, que le croisement F2, car seules deux classes génotypiques sont comparées pour chaque marqueur, avec donc une plus grande proportion d'animaux par classe. A l'inverse, il ne permet pas d'estimer l'effet de dominance du QTL. Par contre, le croisement F2 permet de détecter des QTLs qu'ils soient ou non dominants, alors que pour les détecter dans un croisement de type BC, il faut connaître a priori laquelle

des deux populations est porteuse de l'allèle récessif, ce qui n'est pas le cas dans des primo-détections. Dans les deux cas, l'utilisation d'une F1 obtenue à partir de deux lignées pures améliore la puissance du dispositif car elle assure un déséquilibre d'association maximal entre le marqueur et le QTL recherché.

III.1.2. Croisement entre les lignées non consanguines

En l'absence de lignées consanguines, on utilisera des lignées dites "outbred", ce qui est le cas dans la plupart des études portant sur les animaux de rente. Pour augmenter la puissance du dispositif de détection, on peut utiliser des croisements entre deux races très différentes, par exemple chez le porc, Large White et Meishan (Wei et al, 2011), chez la Poule, White Leghorn et poule de jungle (Schütz et al, 2002 ; 2004; Wright et al, 2006) ou deux lignées sélectionnées de façon divergente. Dans les lignées divergentes, les régions génomiques contrôlant les caractères soumis à sélection sont théoriquement devenues très homozygotes, si bien que l'on peut faire l'hypothèse que les QTL sont à l'état homozygote dans chacune des lignées. Dans ce cas, la recherche de QTL est ciblée sur le caractère soumis à sélection.

Plusieurs lignées divergentes ont été sélectionnées puis utilisées à des fins de recherche de QTL, notamment à l'INRA, qui dispose d'un très important nombre de lignées divergentes sélectionnées sur les principaux critères de production avicoles. Tel a été par exemple, le cas de deux lignées de poules pondeuses sélectionnées pour une faible (R-) ou une forte (R+) consommation alimentaire résiduelle (Bordas et Mérat, 1984), de lignées dites "maigre" et "grasse" (Leclercq et al, 1980) ou de lignées à croissance forte et faible (Mignon-Grasteau et al, 2001). Ces différentes lignées ont été utilisées pour l'identification de QTL (par exemple les R+/R- par Heams et al, 2011; les "maigre" et "grasse" par Lagarrigue et al, 2006; les croissances forte et faible par Nadaf et al, 2007, 2009). Dans cette thèse, ce sont les lignées de poulet de chair sélectionnées sur une forte (D+) ou faible (D-) efficacité digestive (Mignon-Grasteau et al, 2004) qui ont été utilisées pour la détection de QTLs de la digestibilité.

III.1.3. Autres dispositifs

Les dispositifs mis en place dépendent des caractéristiques biologiques des espèces étudiées. Par exemple, si l'étude des croisements convient à des espèces à intervalle de

génération court, elle est plus difficilement ou pas réalisable dans des espèces à intervalles de génération plus longs. Tel est le cas des bovins pour lesquels les généticiens utilisent les données provenant des schémas de sélection, pour lesquels des évaluations génétiques particulièrement précises sont disponibles :

*** Dispositif "père" (ou "filles" chez les bovins) :** Ce type de dispositif est proposé par Soller et Genizi (1978) sur des bovins et porte sur deux générations (cf. figure 5). Les pères et leurs filles sont génotypés, mais seules les filles sont phénotypées. Les phases des parents, c'est à dire la combinaison spécifique d'allèles présents sur les chromosomes homologues des parents, sont reconstituées grâce à l'observation des génotypes des descendants. L'analyse de ségrégation est faite sur les filles phénotypées. La moyenne de performances des individus ayant reçu un allèle paternel au marqueur (M1) est comparée à celle ayant reçu l'autre allèle (M2), quel que soit l'allèle reçu par la mère.

*** Dispositif "grand-père" (ou "petites-filles" chez les bovins) :** Ce type de dispositif proposé par Weller et al (1990) utilise trois générations (cf. figure 6) : un grand-père hétérozygote produit des descendants (fils) qui sont évalués à partir des phénotypes de leur descendantes (les petites-filles du grand-père). Les grands-pères, pères et filles sont génotypés. Le principe est toujours de relier un écart de valeur génétique entre groupes de descendants (fils) à l'allèle reçu du grand-père à chaque marqueur.

Ces analyses sont réalisées intra-famille de grand-père, car un même allèle au marqueur peut être associé à l'allèle favorable au QTL dans une famille et à l'allèle défavorable dans une autre.

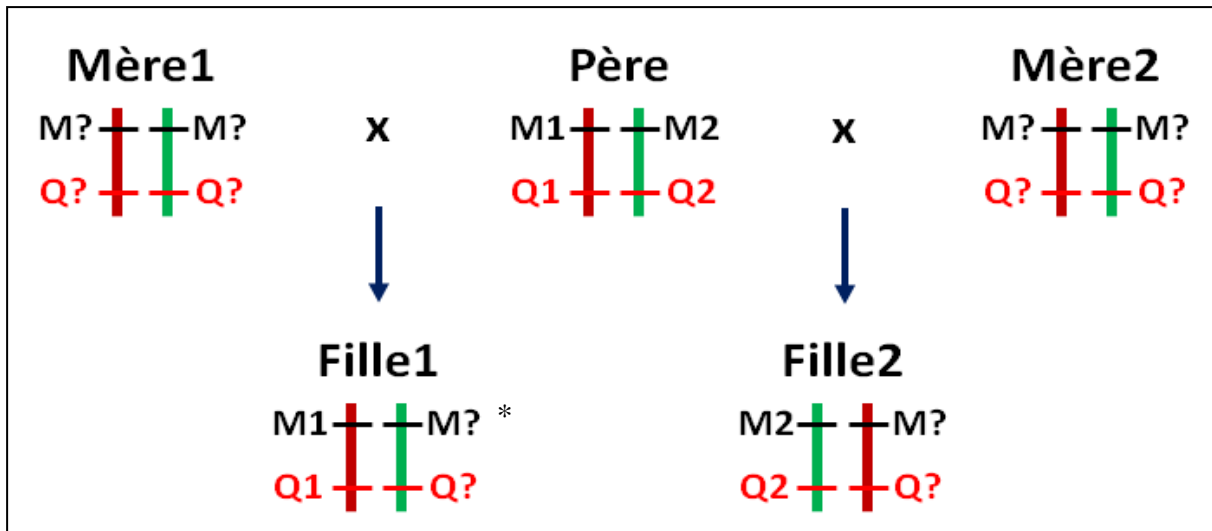


Figure 5: Schéma du dispositif "filles" proposé par Soller et Genizi (1978)

* ? signifie que la phase maternelle est inconnue (l'allèle de la fille est connu)

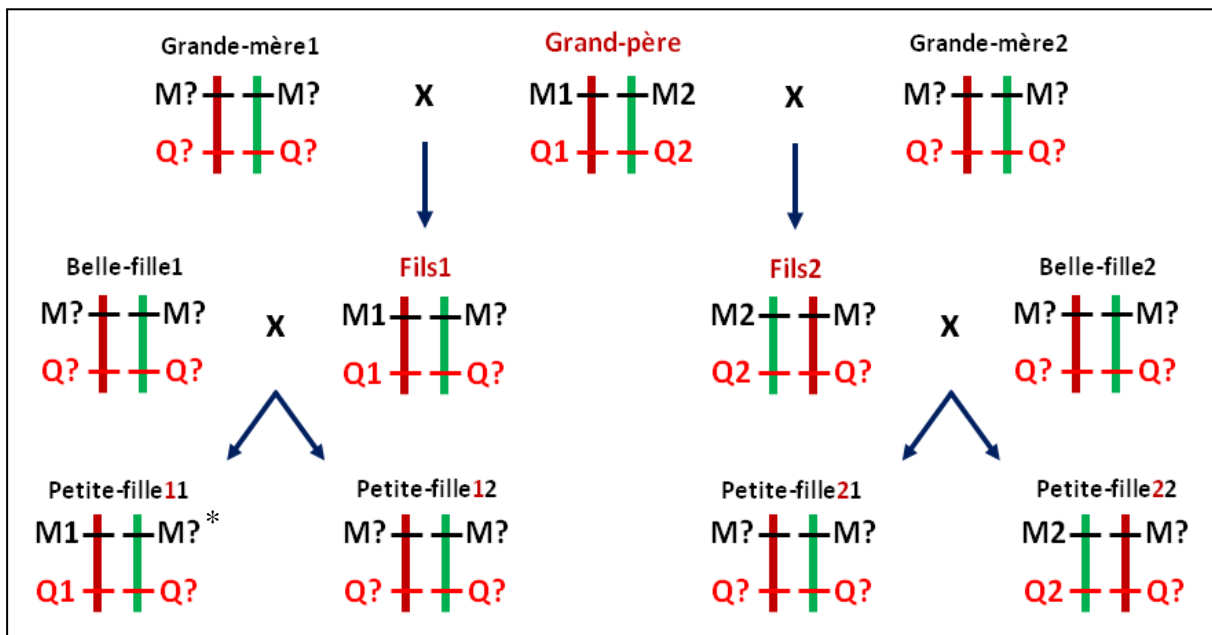


Figure 6: Schéma du dispositif "petites-filles" proposé par Weller et al (1990)

* ? signifie que la phase maternelle est inconnue (l'allèle de la petite-fille est connu)

III.2. Détection de QTLs avec les marqueurs individuels.

Il existe de nombreuses méthodes statistiques de détection de QTL. Nous nous concentrerons dans ce paragraphe sur les cas dans lesquels sont vérifiées deux hypothèses sous-jacentes : la normalité des distributions des caractères analysés et l'homogénéité des variances entre génotypes au QTL. Ces méthodes sont décrites pour des croisements idéaux entre lignées consanguines ou sont généralisées à l'analyse intra-famille dans des croisements entre les lignées non consanguines (outbred).

III.2.1. Approche par analyse de variance

III.2.1.1. Taux de recombinaison nul entre le QTL et le marqueur

Si on considère le cas théorique d'absence de recombinaison entre un QTL et un marqueur M, l'analyse de variance permet l'analyse linéaire de l'effet du génotype au marqueur. Dans le cas des lignées consanguines croisées en backcross, l'analyse de variance permet de comparer les moyennes de performances entre les individus homozygotes (M1M1 ou M2M2) et les individus hétérozygotes (M1M2) au marqueur M. Pour le protocole F2 issu de deux lignées consanguines, on a trois phénotypes différents au marqueur, d'où le modèle utilisé en analyse de variance:

$$Y = \mu + a + e \text{ si l'individu a reçu les allèles M1M1;}$$

$$Y = \mu - a + e \text{ si l'individu a reçu les allèles M2M2;}$$

$$Y = \mu + e \text{ si l'individu a reçu les allèles M1M2.}$$

où Y est la performance de l'individu, a est l'effet additif du marqueur M1 et e est la résiduelle du modèle. La détection de QTLs repose alors sur un test de Fisher entre les hypothèses H0 d'absence de QTL (égalité des moyennes car $a=0$) et H1 de présence d'un QTL à l'effet additif (différence entre moyennes car $a \neq 0$).

III.2.1.2. Taux de recombinaison non nul entre le QTL et le marqueur

Pour le protocole F2, si on considère que le marqueur est co-dominant et que l'on se place dans le cas de deux lignées parentales homozygotes M1Q1/M1Q1 et M2Q2/M2Q2, tous

les individus F1 sont hétérozygotes M1Q1/M2Q2 pour le locus marqueur et pour le QTL. Dans ce cas :

- l'effet additif a est estimé par $(\mu_{Q1Q1} - \mu_{Q2Q2})/2$,

- l'effet de dominance du QTL d peut être estimé comme $[2\mu_{Q1Q2} - \mu_{Q2Q2} - \mu_{Q1Q1}]/2$,

où μ_{Q1Q1} , μ_{Q2Q2} , μ_{Q1Q2} sont les valeurs phénotypiques moyennes des animaux de génotype Q1Q1, Q2Q2 ou Q1Q2, respectivement (Verrier et al, 1997).

Dans ce cas, du fait de l'existence de recombinaison entre le QTL et le marqueur M, un parent F1 qui porte l'allèle M1 au marqueur associé à l'allèle Q1 au QTL ne transmet pas toujours l'allèle Q1 au QTL à ses descendants. Les probabilités des génotypes au QTL sont donc des probabilités conditionnelles, sachant le génotype au marqueur et le taux de recombinaison r . Plus le marqueur et le QTL sont éloignés, plus le taux de recombinaison est important et plus on risque de ne pas détecter le QTL. Par suite, l'association entre marqueur et caractère sera donc délicate à mettre en évidence et rendra difficile voire impossible la mise en œuvre d'une Sélection Assistée par Marqueur (SAM), méthode de sélection qui utilise les marqueurs moléculaires proches de gènes ou de QTL liés à un caractère d'intérêt.

Pour les lignées non consanguines (outbred), il faut également prendre en compte la notion de famille, car l'allèle au marqueur auquel est associé l'allèle favorable dépend des familles. L'effet du marqueur est alors mesuré intra-famille, de père dans le cas des protocoles "père" F2 ou backcross (Soller et Genizi, 1978), de grand-père dans le cas du protocole "grand-père" (Weller et al, 1990).

Pour la détection de QTLs avec un seul marqueur, le test utilisé est le test de Fisher, qui repose sur la comparaison entre moyennes de sous-populations ayant reçu l'un ou l'autre des allèles au marqueur M par leurs parents hétérozygotes.

III.2.2. Approche par maximum de vraisemblance

Dans le cas de l'approche de maximum de vraisemblance, on suppose, au moins en première approche, que la distribution du caractère quantitatif est normale dans chaque classe de génotype. Nous présentons ici le cas particulier des dispositifs issus du croisement entre 2 lignées consanguines, homozygotes au marqueur M et au QTL Q. D'après Luo et Kearsay

(1989), la vraisemblance des observations, sous hypothèse de présence d'un QTL à proximité du marqueur, sachant les informations apportées par les marqueurs est :

$$L = \prod_i^{n_1} f_{M_1M_1}(y_i) \prod_j^{n_2} f_{M_1M_2}(y_j) \prod_k^{n_3} f_{M_2M_2}(y_k)$$

où $f_{M_1M_1}$, $f_{M_1M_2}$, $f_{M_2M_2}$ sont les vraisemblances des observations y sur les individus de génotype M_1M_1 , M_1M_2 et M_2M_2 au marqueur (M) sous hypothèse de présence d'un QTL, respectivement et n_1 , n_2 et n_3 le nombre d'individus de génotype au marqueur M_1M_1 , M_1M_2 et M_2M_2 .

III.3. Détection de QTLs par cartographie d'intervalles

L'avantage des méthodes exploitant les marqueurs un par un est de ne pas nécessiter de carte génétique complète puisque l'on peut faire des tests sur des marqueurs isolés. C'est pratique dans le cas d'espèces animales pour lesquelles la séquence du génome n'est pas disponible. Un des inconvénients majeurs de telles approches est qu'elle ne permet pas de différencier un QTL à effet fort situé loin du marqueur et un QTL très proche du marqueur mais d'effet faible, qui présenteront des valeurs de vraisemblance équivalentes. Cette limite souligne l'intérêt de la prise en compte de plusieurs marqueurs et de la cartographie d'intervalle.

III.3.1. Principales approches statistiques

La méthode de cartographie d'intervalle simple (Interval Mapping) vise à tester systématiquement l'hypothèse de la ségrégation d'un QTL non seulement pour toutes les positions couvertes par les marqueurs génétiques génotypés mais aussi dans les intervalles entre ces marqueurs. Elle a permis d'augmenter la puissance de la détection et la précision sur la localisation des QTLs. Elle permet donc, contrairement aux méthodes portant sur un seul marqueur, de faire la distinction entre l'importance de l'effet du QTL et sa distance par rapport aux marqueurs. Dans la réalité, un test est effectué pas à pas à intervalles réguliers (souvent de 1 centiMorgan (cM) sur un groupe de liaison ou sur un chromosome. Les méthodes utilisées reposent sur le maximum de vraisemblance ou la régression linéaire. Les paragraphes suivants détaillent ces deux méthodes pour le cas de dispositifs F2 issus de croisements entre deux lignées fixées pour les allèles au QTL.

III.3.1.1. Maximum de vraisemblance

L'approche statistique de Maximum de vraisemblance (MV) pour la cartographie d'intervalles est proposée pour la première fois en 1989 par Lander et Botstein (1989). Cette méthode permet d'exploiter l'ensemble des informations apportées par les marqueurs et la distribution du caractère.

Dans ce modèle, on suppose que la distribution des performances est normale de moyenne μ et variance σ^2 . Les k génotypes au QTL dans le cas d'une population F2 sont notés QQ, Qq et qq. La vraisemblance de présence d'un QTL pour un individu l de performance y_l sachant son génotype M_iM_i et N_jN_j , aux marqueurs M et N vaut :

$$V(y_l/M_iN_j) = \sum f(y_l, \mu_{Qk}, \sigma^2) P(Q_k/M_iN_jM_iN_j)$$

avec:

$$P(QQ/M_iN_jM_iN_j) = \frac{(1-r_{MQ})^2(1-r_{NQ})^2}{(1-r_{MN})^2}$$

$$P(Qq/M_iN_jM_iN_j) = \frac{2r_1r_2(1-r_{MQ})(1-r_{NQ})}{(1-r_{MN})^2}$$

$$P(qq/M_iN_jM_iN_j) = \frac{r_{MQ}^2r_{NQ}^2}{(1-r_{MN})^2}$$

où r_{MQ} est le taux de recombinaison entre le marqueur M et le QTL, r_{NQ} le taux de recombinaison entre le marqueur N et le QTL et r_{MN} le taux de recombinaison entre les marqueurs M et N. Il y a 9 génotypes possibles aux marqueurs flanquants. En développant l'équation précédente, on obtient donc la vraisemblance d'une performance y_i sachant le génotype aux marqueurs M_iN_j/M_iN_j :

$$V(y_l/M_iN_jM_iN_j) = \left[\frac{(1-r_{MQ})^2(1-r_{NQ})^2}{(1-r_{MN})^2} \right] \cdot f(y_l, \mu_{QQ}, \sigma^2) + \left[\frac{2r_{MQ}r_{NQ}(1-r_{MQ})(1-r_{NQ})}{(1-r_{MN})^2} \right] \cdot f(y_l, \mu_{Qq}, \sigma^2) + \left[\frac{r_{MQ}^2r_{NQ}^2}{(1-r_{MN})^2} \right] \cdot f(y_l, \mu_{qq}, \sigma^2)$$

La vraisemblance totale pour n individus F2 vaut :

$$V(Y) = \prod_{l=1}^n V(y_l/M_iN_jM_iN_j)$$

Pour tester l'existence du QTL, on teste l'hypothèse H1 "existence de QTL" à la position x contre H0 "absence de QTL" par le calcul du logarithme du rapport de vraisemblance (LRT = Likelihood Ratio Test) obtenu en comparant le Maximum de vraisemblance du modèle complet (H1) et du modèle réduit (H0), qui inclut uniquement les effets polygéniques :

$$LRT = -2 \ln \frac{V(\text{modèle réduit})}{V(\text{modèle complet})}$$

Il est également possible de calculer le LOD score, proposé par Lander et Bostein (1989), lequel vaut

$$\text{LOD} = -\log_{10} \left[\frac{V(\text{modèle réduit})}{V(\text{modèle complet})} \right] = \frac{LRT}{2 \ln 10} \approx \frac{LRT}{4.61}$$

Avec les statistiques de test LRT ou LOD, on peut tester l'existence de QTL à différentes positions du génome. Comme la distribution de cette statistique n'est pas connue, pour apprécier le degré de significativité, on estime un seuil de rejet par simulation des valeurs de LOD ou LRT sous hypothèse nulle. Si la valeur calculée sous l'hypothèse d'existence du QTL dépasse 5% des valeurs simulées sous H0, l'hypothèse nulle d'absence de QTL dans ce groupe de liaison est rejetée et la localisation du QTL retenue comme la plus probable est la position où la valeur de LRT (ou LOD) est maximale. Si elle est inférieure, l'hypothèse nulle est conservée.

Le maximum de vraisemblance associé à la cartographie d'intervalle donne la position du QTL la plus vraisemblable. Son intervalle de confiance dépend de la distribution de ce maximum de vraisemblance au long du chromosome. Il peut par exemple être calculé par la méthode du LOD drop-off, qui consiste à rechercher les positions limites auxquelles on obtient les valeurs de vraisemblance égales au « maximum - 4,61 ». Les principales limites de cette approche sont le temps de calcul et son corollaire, les possibilités limitées de développer le modèle d'analyse, notamment en incluant un éventuel effet dominant du QTL.

Cette approche est appliquée dans le logiciel QTLMap, développé par des chercheurs de plusieurs équipes INRA, dont une version est disponible sur Internet à l'adresse <https://qgp.jouy.inra.fr/>. QTLMap a été créé pour la détection de QTLs par cartographie

d'intervalles basée sur une fonction de vraisemblance, dans des populations animales outbred (Elsen et al, 1999). Il permet d'analyser des mélanges de dispositifs de plein- et demi-frères/soeurs.

III.3.1.2. Régression linéaire (RL)

Alors que l'approche de maximum de vraisemblance implique des temps de calcul lourds, une autre approche plus rapide a été proposée par Haley et Knott (1992) pour le dispositif F2 et par Martinez et Curnow (1992) pour le backcross : la régression linéaire ou cartographie d'intervalle par moindres carrés (Least-squares interval mapping). L'analyse est basée sur la régression des phénotypes sur les probabilités de transmission conditionnelle aux génotypes des marqueurs flanquants, dans lesquelles les coefficients de régression sont des fonctions des effets inconnus du QTL. Avec un dispositif F2, un QTL d'effet additif a et d'effet de dominance d , situé à la position p entre deux marqueurs flanquants A et B, nous estimons les effets du QTL en chaque position testée par l'équation suivante :

$$y_i = \mu + a. [P(QQ/M_p) - P(qq/M_p)] + d. P(Qq/M_p) + e_{ip}$$

où y_i est le phénotype de l'individu i ($i = 1$ à n), μ la performance moyenne; e_{ip} l'erreur aléatoire pour l'individu i à la position p , qui suit une distribution normale, M_p l'ensemble des informations aux marqueurs flanquants (M et N) concernant la position p chez les parents et les descendants.

La présence d'un QTL est appréciée par le test F du rapport des sommes des carrés des résidus du modèle complet (SCR_{H1}), c'est à dire sous l'hypothèse H1 d'existence d'un QTL à celles du modèle réduit (SCR_{H0}) sous l'hypothèse H0 d'absence de QTL. Aitkin et al (1989) ont montré qu'une valeur approximative du LRT peut être obtenue par la formule suivante :

$$LRT = -n \ln \frac{SCR_{H0}}{SCR_{H1}}$$

où n est le nombre d'observations.

En pratique, cette méthode est exploitée par le logiciel QTLEXPRESS, qui est très utilisé en génétique animale (à l'heure actuelle remplacé par GridQTL). Développé par Seaton et al

(2006) et disponible à l'adresse : <http://qtl.cap.ed.ac.uk/>, ce logiciel permet la recherche de QTLs dans des populations inbred et outbred.

III.3.1.3. Lien entre les deux approches

En supposant que les phénotypes sont normalement distribués pour chaque génotype au QTL, que le QTL est complètement lié à l'un ou l'autre des marqueurs et que les résiduelles dans la régression sont normalement distribuées, Haley et Knott (1992) ont montré que l'approche de régression linéaire est asymptotiquement équivalente à celle de maximum de vraisemblance sauf dans le cas de QTL à effets faibles. Ce point de vue est confirmé par Baret et al (1998). Cependant, Kao (2000) a indiqué que les deux méthodes ont des résultats différents dans certaines situations, par exemple quand les QTLs sont éloignés de leurs marqueurs flanquants, ou quand plusieurs QTLs interagissent (Kao, 2000). Chez la Poule, la forte densité de SNP utilisée rend peu probable un fort éloignement entre marqueur et QTLs, mais l'existence d'interaction épistatiques entre QTLs est possible.

III.3.2. Niveau de significativité et intervalle de confiance

III.3.2.1. Seuil de significativité aux niveaux du chromosome et du génome

Le seuil de significativité du test au niveau du chromosome est estimé par simulation (Harrell et Davis, 1982), par exemple dans QTL Map, ou permutation (Churchill et Doerge, 1994) comme dans QTL Express. Mais ce seuil au niveau du chromosome ne prend pas en compte le nombre de chromosomes. Or, la multiplication des tests pour chaque chromosome augmente le risque d'erreur et de détection de faux positifs. Il faut donc définir un seuil de significativité au niveau du génome, prenant en compte le fait que l'on réalise non pas 1 mais X tests différents. La solution préconisée par Lander et Bostein consiste en une approche approximative basée sur la correction de Bonferroni, soit :

$$P_G = 1 - (1 - P_C)^{1/r}$$

où r vaut $\frac{1}{\text{Nombre de chromosome}}$

P_G est le degré de significativité au niveau du génome et P_C celui au niveau du chromosome

Cette méthode ne tient pas compte des différences de taille des chromosomes, ce qui ne pose pas de problème pour la plupart des espèces animales, pour lesquelles les

chromosomes ont tous des tailles relativement équivalentes. En revanche, chez les volailles, le génome comprend des macro-chromosomes, micro-chromosomes et nano-chromosomes, de tailles très différentes. Pour prendre en compte ce déséquilibre entre longueurs des différents types de chromosomes, Tilquin et al (2005) propose après Tuiskula-Haavisto et al (2002) d'utiliser la correction suivante :

$$P_G = 1 - (1 - P_C)^{1/r}$$

où r est le ratio entre la longueur d'un chromosome spécifique et la longueur totale du génome. Dans cette thèse, nous avons utilisé cette méthode pour estimer le seuil approximatif au niveau du génome pour les QTL détectés.

Ainsi, avec la première correction, un QTL sera déclaré significatif au niveau du génome s'il atteint le seuil de $0,05/38 \cong 0,0013$ au niveau du chromosome, quel que soit le chromosome. En revanche, si l'on prend en compte la longueur du chromosome dans la correction, ce seuil variera de 0,01 pour le chromosome 1, le plus long avec 200 Mb à 0,00002 pour le chromosome 16 avec 0,42 Mb respectivement. En aviculture, le premier calcul va donc favoriser les micro-chromosomes, le second les macro-chromosomes.

III.3.2.2. L'intervalle de confiance

L'intervalle de confiance est estimé par deux méthodes principales : "bootstrapping" et "Lod drop off".

La méthode non paramétrique de "bootstrapping" repose sur la création, à partir des N observations expérimentales, de n jeux de données *in silico* par n tirages avec remise. Pour chaque tirage, on cherche et garde la position la plus probable d'un QTL, qui est la valeur maximale des tests statistiques effectués en utilisant le jeu de données obtenu avec ce tirage. Les N positions sont ensuite classées par ordre croissant. L'intervalle de confiance à $\alpha\%$ est déterminé par les positions à $((100 - \frac{\alpha}{2}) \times \frac{N}{100})\%$ et $(\frac{\alpha}{2} \times \frac{N}{100})\%$ entre lesquelles se trouvent $\alpha\%$ des solutions (Visscher et al, 1996). C'est cette méthode qui a été retenue pour QTL Express.

La méthode de "lod drop-off" a été proposée par Lander and Bostein (1989). Elle s'appuie sur le fait que la valeur $2 \times \text{LRT}$ tende asymptotiquement vers une distribution de type χ^2 (à un degré de liberté dans le cas du test de la présence d'un QTL). Avec cette méthode

approximative, l'intervalle de confiance regroupe l'ensemble des positions contenues dans un intervalle de 1 LOD autour du maximum de vraisemblance. En pratique, pour un niveau de seuil recherché à 95%, l'intervalle de confiance est compris entre les deux positions de part et d'autre du QTL pour lesquels le LOD est inférieur de 1 au LOD maximum de la distribution, cette valeur de 1 étant la valeur arrondie de 0,83, rapport entre la valeur limite d'un Khi-deux à 5% (3,84) et la valeur de $2 \times \ln 10$ (4,61). Si on utilise la valeur LRT, l'intervalle de confiance est situé entre les deux positions de part et d'autre du maximum du LRT distante de 4,61. C'est cette méthode qu'utilise QTLMap. Cette seconde méthode fournit des estimations d'intervalle de confiance plus restreints que la méthode de bootstrapping.

III.4 Principales voies d'amélioration de la détection de QTLs par cartographie d'intervalles

III.4.1. Détection de plusieurs QTL liés ou « multi-QTL »

Les modèles précédents supposent l'existence d'un seul QTL pour un chromosome donné. Or il est tout à fait possible que dans certains cas deux ou plusieurs QTL soient génétiquement liés, auquel cas ils sont mal ou pas du tout détectés.

III.4.1.1. Approches multi-QTL pour les dispositifs "inbred"

* *Composite Interval Mapping (CIM)*

La méthode CIM (pour Composite Interval Mapping), proposée indépendamment par Zeng (1994) et par Jansen (1996), est une méthode basée sur la cartographie d'intervalles et la régression linéaire multiple. Elle prend en compte l'impact d'autres régions chromosomiques sur la variabilité du caractère en ajoutant dans l'analyse les effets des marqueurs flanquants les autres régions chromosomiques déjà détectées.

* *Multiple Interval Mapping (MIM)*

Kao et al (1999) et Zeng et al (1999) ont proposé la méthode MIM (Multiple Interval Mapping). Cette méthode est une généralisation de la méthode CIM (Composite Interval Mapping) pour la recherche simultanée d'un nombre quelconque de QTLs sur le génome. A priori, ces méthodes permettent d'estimer beaucoup de paramètres de la structure génétique d'un caractère : l'épistasie entre QTLs, les valeurs génotypiques des individus, et les estimations d'héritabilité des caractères quantitatifs. De ce fait, leur besoin de temps de calcul

est élevé, ce qui explique sans doute pourquoi ces méthodes sont, pour l'instant du moins, peu employées dans la pratique.

III.4.1.2. Approches multi-QTL pour les dispositifs "outbred"

Les méthodes CIM et MIM présentées ci-dessus ne sont pas adaptées pour les dispositifs "outbred" pour lesquels certaines approches ont été proposées, notamment par Jansen et al (1996, 1998) et Kao et al (1999).

La plus récente est celle de Gilbert et Le Roy (2007), qui proposent un modèle basé sur le maximum de vraisemblance pour la détection de deux QTL liés dans un dispositif "outbred". Ce modèle est proche de celui présenté pour la détection d'un seul QTL, mais la fonction de maximum de vraisemblance est exprimée en fonction de deux QTLs à chaque couple de positions.

III.4.2. Détection de QTLs « multi-caractères »

La détection classique de QTL (uni-QTL, uni-caractère) est réalisée pour chaque caractère séparément et ne prend donc pas en compte des éventuelles corrélations entre ces caractères. Or, la corrélation entre caractères peut s'expliquer soit par l'existence d'un gène unique contribuant à l'expression de plusieurs caractères (la pléiotropie) soit par l'existence de liaison(s) génétique(s) entre différents QTLs co-localisés et impliqués chacun dans l'expression d'un caractère. Prendre en compte ces corrélations génétiques entre caractères peut donc améliorer la précision et la puissance de détection des QTLs.

La première approche multi-caractères est proposée par Ronin et al (1995) à partir d'un modèle de calcul marqueur par marqueur. Cette approche considère que les caractères corrélés ont une distribution bi-normale et a été développée pour une population "inbred". Korol et al (1995) montrent que les analyses multi-caractères permettent d'améliorer la précision d'estimation des paramètres et la puissance de détection par la prise en compte des distributions conjointes des caractères. Jiang et Zeng (1995) ont proposé indépendamment d'élargir la méthode CIM uni-caractère et multi-QTL aux analyses multi-caractères (Zeng, 1994). Cette dernière approche permet de tester statistiquement la pléiotropie d'un QTL unique par rapport à l'existence de QTL liés avec des effets sur chaque phénotype. Weller et al (1996) et Mangin et al (1998) ont proposé une méthode synthétisant, dans le cas de croisements entre populations inbred, la majeure partie de l'information phénotypique dans une combinaison linéaire des caractères.

Toutes ces méthodes sont efficaces pour l'analyse de populations issues de croisements entre lignées inbred, car le nombre de paramètres à estimer par caractère est limité par rapport à une population outbred, où le nombre de paramètres est multiplié par le nombre de familles à analyser.

Gilbert et Le Roy (2003, 2007) ont développé une approche s'appliquant aux populations outbred (mélange de demi-frères ou de plein-frères). Basée sur l'analyse discriminante, cette approche utilise l'idée proposée par Weller et al (1996), dans laquelle une combinaison linéaire de caractères est analysée dans une approche uni-QTL ou multi-QTL. Cette combinaison linéaire est celle qui maximise le rapport de la variabilité entre groupes sur la variabilité intra-groupe. Ces groupes sont formés sur la base des allèles au QTL que les individus reçoivent de leur père. Les caractères sont regroupés soit en fonction des positions des QTLs détectés soit en fonction des corrélations phénotypiques entre caractères. Cette approche a été intégrée dans le logiciel QTLMap.

III.4.3. Etude de caractères discrets

Le modèle à seuil a été proposé par Wright (1934) pour les caractères binaires. Il considère que pour toute variable binaire observée y_i ($y_i = 0$ ou 1), il existe une variable sous-jacente z_i suivant une loi normale standard de moyenne μ et de variance σ^2 . Si la valeur de la distribution sous-jacente est inférieure à un seuil S ($z_i < S$), y_i vaut 0. A l'opposé, si z_i est supérieur au seuil S , y_i vaut 1. Ce modèle à seuil a été étendu aux caractères discrets qui contiennent plus de deux classes de variabilité puis à la détection de QTLs (Hackett et Weller, 1995 ; Xu et Atchley, 1996).

IV. Perspectives d'exploitation du génotypage à haut débit pour la détection de QTL

Le développement rapide de la génomique, chez la Poule depuis la publication de la première carte en 2004, comme chez la plupart des organismes vivants ouvre de larges perspectives d'études génomiques.

IV.1. Détection de QTLs par exploitation du déséquilibre de liaison (DL)

Le déséquilibre de liaison (en anglais: « linkage disequilibrium ») est défini comme l'association non aléatoire d'allèles à des locus différents. Ces associations non aléatoires peuvent être dues à une proximité physique ou à des forces évolutives qui ont affecté la population au cours du temps, comme la migration, la mutation, la sélection, la dérive génétique, les régimes d'accouplement ou la migration et le mélange de populations.

Il existe plusieurs formules pour le calcul du déséquilibre de liaison entre allèles appartenant à deux loci. En supposant que deux marqueurs A (d'allèles A1 et A2) et B (d'allèles B1 et B2) sont sur le même chromosome, quatre haplotypes sont possibles: A1_B1, A2_B2, A1_B2 et A2_B1. On définit le paramètre de déséquilibre de liaison D comme :

$$D = F_{A1_B1} \times F_{A2_B2} - F_{A1_B2} \times F_{A2_B1}$$

où F_{Ax_By} est la fréquence de l'haplotype Ax_By et D est exprimé en valeur absolue. Avec cette définition, D est nul si les deux loci A et B sont en équilibre de liaison et est positif si les deux loci A et B sont en déséquilibre de liaison.

La cartographie de QTL utilisant le déséquilibre de liaison exploite l'association non aléatoire entre QTL et un certain nombre de marqueurs du fait de la présence de petits fragments chromosomiques non recombinants identiques dans toute la population étudiée et issus d'un ancêtre commun, appelés des segments "IBD" pour Identical By Descent (Meuwissen et Goddard, 2000). Dans ces segments, les phases marqueur-QTL sont supposées ne pas varier entre familles. Cette approche peut résoudre certaines limites de l'approche de cartographie de QTL par analyse de liaison.

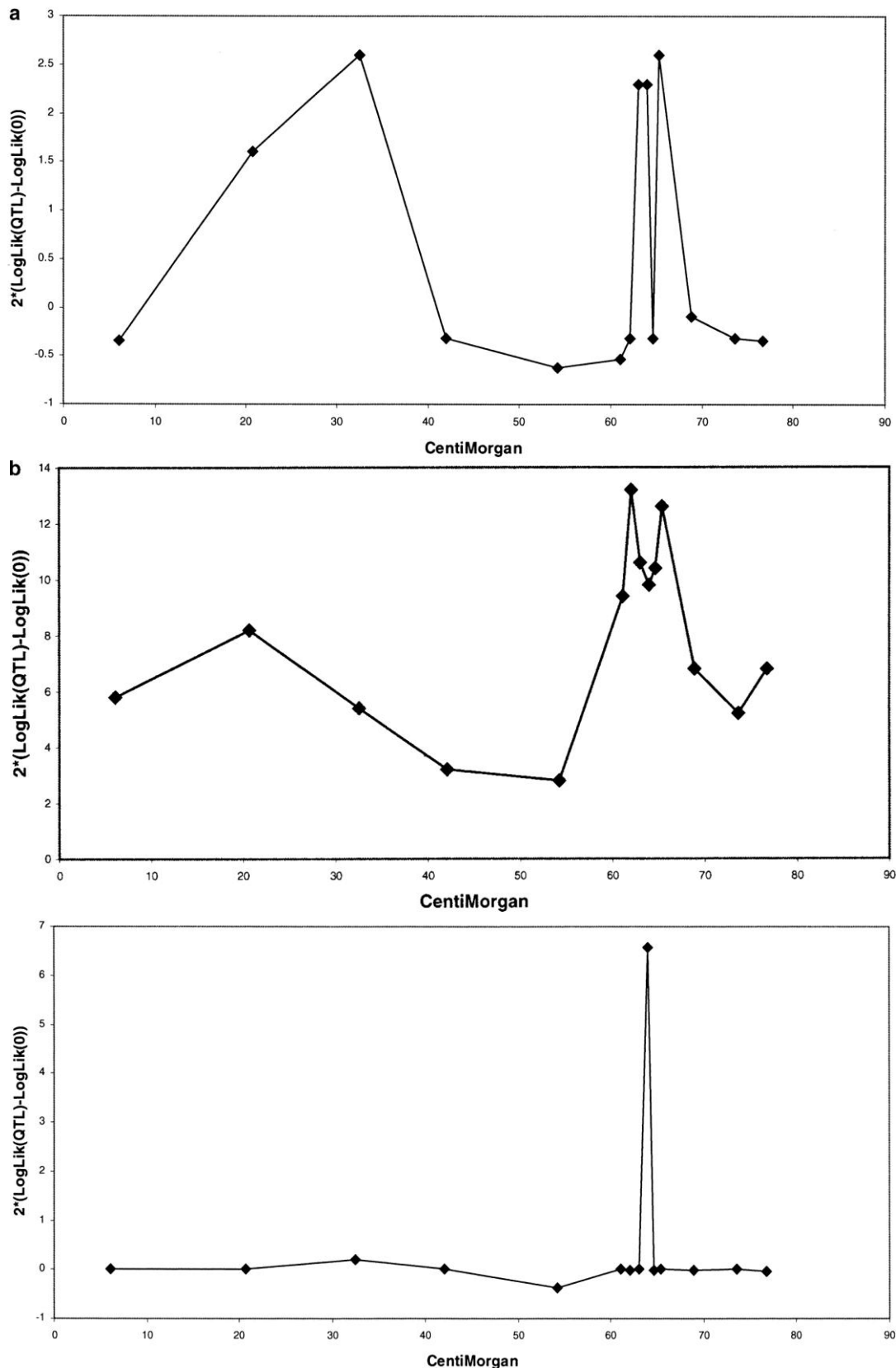


Figure 7: Résultat de la détection de QTL contrôlant la gémellité chez les bovins laitiers Norvégiens, sur les mêmes animaux, avec les mêmes marqueurs, mais 3 méthodes d'analyse différentes : LA (a), LD (b) et LDLA (c) (Meuwissen et al, 2002).

Un intérêt important de cette approche est la vitesse de calcul. Elle comporte aussi théoriquement l'avantage de réduire les intervalles de confiance et donc de raccourcir la distance entre le marqueur et le QTL plus proche (Risch et Merikangas, 1996). Elle nécessite une densité de marqueurs très importante, c'est pourquoi elle était très rarement employée avant le développement des techniques de génotypage à haute densité. Cette méthode est adaptée à une population très large d'individus non reliés entre eux et permet donc de s'affranchir de la nécessité de créer un dispositif familial. Une des limites importantes de cette approche est la présence de faux positifs à cause du très grand nombre de tests réalisés.

Afin de résoudre les limites entre les deux approches de la cartographie de QTL par analyse de liaison (larges intervalles de confiance) et par analyse d'association (risque de faux positifs, nécessité de haute densité de marqueurs), Meuwissen et al (2002) ont proposé une méthode combinant les deux approches (« Linkage Disequilibrium and Linkage Analysis », LDLA). Ces auteurs ont réalisé la première application de cette approche et ont pu réduire l'intervalle de confiance d'un QTL contrôlant le taux de naissance gémellaires chez les bovins laitiers Norvégiens à moins de 1 cM (cf. figure 7).

Le LDLA est intégré au logiciel QTLMap avec deux modèles proposés par Legarra et Fernando (2009) : le premier modèle est basé sur la régression linéaire (Knott et al, 1996), le deuxième utilise le modèle linéaire mixte. Jusqu'à ce jour, à notre connaissance, aucune publication ne mentionne l'application de cette méthode chez la Poule.

IV.2 Sélection génomique

IV.2.1 Principe

La sélection génomique, proposée par Meuwissen et al (2001) est une forme de sélection assistée par marqueurs (SAM) couvrant l'ensemble du génome, reposant sur l'exploitation de puces à SNP de haute densité. La sélection génomique combine certains des avantages de la SAM (qui permet d'éviter des mesures de performances au moins un certain temps) et de la détection de QTLs (en évaluant l'ensemble du génome). Son principe repose sur l'évaluation génétique directe des animaux candidats à la sélection en utilisant uniquement leurs génotypes aux marqueurs et non par leurs phénotypes comme lors d'une sélection classique. Pour être fiable, cette évaluation doit prendre en compte une très grande quantité de marqueurs simultanément. La sélection génomique permet d'améliorer les différents composants du progrès génétique que sont la précision de l'évaluation, l'intervalle de génération et l'intensité de sélection.

En pratique, la sélection génomique est une approche en deux étapes :

- Les effets des génotypes aux marqueurs SNP sur les phénotypes d'intérêt sont estimés dans une population dite «de référence», à la fois génotypée et phénotypée. A partir des résultats d'estimation des effets, on peut constituer une équation de prédiction des phénotypes des descendants en fonction de leurs génotypes aux marqueurs.

- L'équation de prédiction établie est appliquée à la population des animaux candidats à la sélection. Ces animaux candidats ne sont pas phénotypés et leur pedigree peut ne pas être connu, car leur index génomique dépend uniquement de leurs génotypes aux marqueurs. La valeur génétique de chaque animal est calculée en sommant tous les effets des génotypes aux marqueurs SNP qu'ils portent. La valeur génétique peut être prédite dès la naissance de l'animal puisqu'elle ne nécessite qu'un prélèvement de sang pour effectuer le génotypage.

La sélection génomique est appliquée avec succès depuis quelques années chez les bovins laitiers (Hayes et al, 2009; Fritz et al, 2010; Colombani et al, 2012). Jusqu'à maintenant, la sélection génomique n'est pas appliquée chez la Poule car son intérêt chez les volailles est de moindre amplitude que chez les bovins. En effet, sa mise en place a un coût qui reste élevé par rapport à la valeur des reproducteurs (de quelques dizaines d'euros pour un

coq à plusieurs dizaines de milliers d'euros pour un taureau). Elle implique en effet de mesurer des phénotypes et des génotypes sur un grand nombre d'animaux et pour de nombreux marqueurs pour créer la population de référence. De plus, l'intervalle de génération chez la Poule est court donc le gain que l'on peut attendre de la sélection génomique n'est pas aussi intéressant que chez les bovins laitiers.

IV.2.2 Application chez la Poule

Des travaux sont cependant effectués pour étudier sa faisabilité chez la Poule. Ainsi, dans une population fortement sélectionnée de poules pondeuses, Avenando et al (2010) ont montré que la corrélation entre valeurs prédites par la sélection génomique et valeurs réelles se stabilisait autour de 1 500 SNP informatifs et n'était plus améliorée par l'ajout de près de 17000 marqueurs supplémentaires. Ceci signifie que dans certains cas favorables, la densité de marqueurs nécessaire n'est pas aussi importante qu'on pourrait l'attendre. Cependant, l'avantage d'une densité élevée de marqueurs est de maintenir la validité des équations de prédiction sur un plus grand nombre de générations, le nombre de recombinaisons entre marqueurs et gènes d'intérêt étant alors réduit. Ainsi, Avenando et al (2010) ont comparé la précision des équations de prédiction sur 1 à 4 générations de sélection avec un panel à haute densité (1 marqueur tous les 0,075 cM) ou à faible densité (1 marqueur tous les 8 cM). La précision est de l'ordre de 80% après une génération dans les deux cas. Mais après 4 générations de sélection elle baisse à 60% dans le panel à faible densité tandis qu'elle est maintenue à 80% dans le panel à forte densité. Cette baisse implique qu'un effort de phénotypage doit être maintenu en permanence, afin de mettre à jour les équations de prédiction utilisées pour la sélection génomique, et que cet effort est inversement proportionnel à la densité de marqueur utilisée.

Le coût de la sélection génomique dépend donc d'un équilibre entre densité de marqueurs et fréquence du phénotypage. Avenando et al (2010) ont estimé que l'intervalle de génération chez les pondeuses pouvait être ramené à 6 mois en utilisant la sélection génomique, c'est à dire à l'âge auquel les animaux sont sexuellement matures, ce qui accélère la sélection mais augmente la fréquence du phénotypage. A l'avenir, on peut penser que, le coût du génotypage SNP diminuant régulièrement, ce dernier ne sera bientôt plus limitant, alors qu'au contraire, le coût du phénotypage ne devrait pas diminuer.

Avenando et al (2012) ont également montré que l'amélioration de la précision de l'évaluation génétique était particulièrement spectaculaire lorsque les animaux ne pouvaient pas être phénotypés, comme par exemple les mâles pour les caractères de ponte. Dans ce cas, par rapport à une évaluation phénotypique « classique » qui amène à une précision de 42%, l'évaluation génomique avec 36455 SNP permet d'atteindre une précision de 79%. De même, Wolc et al (2011) ont étudié 16 caractères dans une population de 1 145 coqs et 1 563 poules génotypés pour 23356 SNP : ils ont montré que la précision des valeurs génomiques estimées était doublée dans les cas favorables. L'avantage est en revanche beaucoup moins fort pour des caractères faciles à mesurer sur les candidats à la sélection, comme le poids vif chez le poulet de chair.

Enfin, la sélection génomique peut également améliorer l'intensité de sélection. En effet, puisque les animaux peuvent être évalués dès leur naissance, on peut envisager de génotyper un grand nombre d'animaux alors que, pour une sélection classique, le coût d'élevage et de phénotypage impose de présélectionner un nombre d'animaux plus restreint.

IV.2.3 Conclusion sur la sélection génomique

La sélection génomique chez la Poule semble intéressante surtout pour les caractères difficiles ou impossibles à mesurer en routine. Le court intervalle de génération chez cette espèce impose un phénotypage relativement fréquent pour ré-établir les équations de prédiction, ce qui limite l'intérêt de son application pour l'instant. Cependant, avec l'évolution des technologies de génotypage à haut débit et des méthodes de prédiction des effets des marqueurs, il est probable que la sélection génomique soit appliquée chez la Poule dans l'avenir.

La sélection génomique a pour but la sélection des animaux, mais n'est pas faite pour identifier les QTL et leurs gènes causaux. La détection de QTLs est donc une approche incontournable pour mieux comprendre l'architecture génétique d'un caractère, voire l'identification des gènes causaux et leur étude fonctionnelle. C'est pourquoi la sélection génomique ne se substitue pas donc (pour l'instant) à une analyse QTL.

Deuxième partie:
Détection de QTLs - Application à des
caractères de résistance au portage de
salmonelles chez la Poule



Figure 8: Image prise au microscope à balayage de salmonelles (*Salmonella typhimurium*), en rouge, sur une culture de cellules humaines (source : Rocky Mountain Laboratories, NIAID, U.S. National Institute of Health).

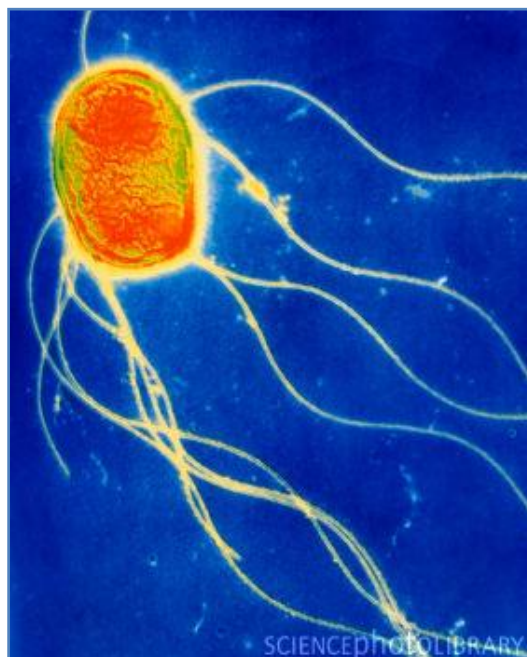


Figure 9: Image de *Salmonella Enteritidis* prise au microscope électronique (source: A.B. Doxsett/SCIENCE PHOTO LIBRARY).

I. Étude bibliographique

I.1. Taxonomie

Le genre *Salmonella* compte deux espèces distinctes : *S. enterica* et *S. bongori* (Popoff et al, 2004). La première espèce est divisée en six sous-espèces : *S. enterica Enterica*, *S. enterica Salamae*, *S. enterica Arizonae*, *S. enterica Diarizonae*, *S. enterica Houtenae* et *Indica* (Tindall et al, 2005). Dans chaque sous-espèce on distingue de nombreux sérotypes caractérisés par les antigènes somatiques (O) et flagellaires (H) des bactéries (schéma de Kaufman-White). On dénombre ainsi plus de 2500 sérotypes classés d'après leurs caractéristiques biochimiques. Cette revue sera plus particulièrement orientée vers *S. enterica Enterica*, responsable des salmonelloses des espèces aviaires.

I.2. Caractéristiques générales

Les salmonelles ont été découvertes aux Etats-Unis en 1885 par Theobald Smith qui travaillait alors, sous la direction du Dr Daniel Elmer Salmon (1850-1914), sur l'efficacité d'un vaccin bactérien chez le porc. La nouvelle espèce bactérienne a été nommée *Salmonella enterica*. Le nom du genre *Salmonella* a été donné en l'honneur du Dr Salmon (Figures 8, 9 et 10).

Les salmonelles sont des bactéries non sporulées de type Gram négatif présentant les caractères généraux de la famille des *Enterobacteriaceae*. Leurs dimensions moyennes sont de 0,5 µm sur 3 µm. Elles sont généralement mobiles. Dépourvues de capsule, elles possèdent une nitrate réductase (qui réduit les nitrates en nitrites) mais pas d'oxydase. Elles fermentent le glucose avec ou sans production de gaz. Elles poussent facilement sur les milieux ordinaires.



Figure 10: Ultrastructure d'une bactérie du genre *Salmonella* (source: John BAVOSI/SCIENCE PHOTO LIBRARY)

La taille du chromosome des salmonelles varie d'un sérotype à l'autre et est comprise entre 4,3 et 5 Mbp (méga-paires de base) (McClelland et al, 2001 ; Parkhill et al, 2001 ; Thomson et al, 2008). Les séquences ADN des différents sérotypes sont relativement proches. Les gènes de virulence des salmonelles peuvent se situer sur un plasmide ou bien sur le chromosome et ce, de façon isolée, en opéron ou bien au sein de régions appelées îlots génomiques. Ces îlots génomiques regroupent de nombreux gènes impliqués dans une même fonction telle que le métabolisme, l'adaptation à un environnement spécifique, la résistance aux antibiotiques ou encore la virulence (Hacker and Kaper, 2000).

I.3. Spectre d'hôte et habitat

L'habitat des salmonelles est très large. Alors que *S. enterica Enterica* est présente chez les animaux à sang chaud (mammifères dont l'homme, oiseaux), les autres sous-espèces se retrouvent chez les animaux à sang froid (reptiles, poissons, insectes) et dans l'environnement. Selon leur spécificité propre et l'hôte, on distingue deux groupes de sérotypes de la sous-espèce *S. enterica Enterica*. Certaines présentent une spécificité étroite pour certaines espèces animales ou pour l'être humain et entraînent des infections sévères : elles sont nommées salmonelloses primaires ou adaptées à l'hôte. Tel est le cas de *S. Typhi*, *S. Paratyphi* A, B, C pour l'homme, *S. abortus ovis* pour les ovins, *S. Gallinarum* pour les volailles, *S. Cholerasuis* et *S. Typhisuis* pour le porc, *S. Abortus equiis* pour les chevaux. Quand elles ne sont pas spécifiques de l'hôte, les infections sont le plus souvent moins graves : on parle alors de salmonelloses secondaires, ubiquitaires ou gastro-intestinales. C'est par exemple le cas de *S. Typhimurium* chez l'homme ou de *S. Enteritidis* chez les volailles.

Leur principal habitat est constitué par le tube digestif (Humbert et Salvat, 1997), ce qui explique leur diffusion dans les fèces. Elles sont aussi retrouvées dans l'environnement (par exemple : sol, boues). Elles peuvent y survivre pendant plusieurs mois si les conditions de température, de pH et d'humidité sont favorables. Chez les poulets, elles sont présentes en plus grand nombre dans le caecum que dans les autres parties du tube digestif.

Tableau 1: Résumé des symptômes causés chez la Poule par les principaux sérotypes de salmonelles étudiés et principales mesures expérimentales utilisées pour les évaluer chez la Poule (d'après la revue de Calenge et al, 2010)

Sérotype	Formes cliniques chez la Poule	Mesures expérimentales effectuées chez la Poule
<i>S. Enteritidis</i>	<p>- Portage asymptomatique : pas de symptômes.</p> <p>- Dans certains cas : gastro-entérites: diarrhée, oiseau apathique et hésitant à se déplacer, yeux mi-clos, ailes tombantes, plumes ébouriffées.</p> <p>Chez les jeunes, la maladie peut s'aggraver en entraînant une pneumonie ou une évolution vers une forme septicémique.</p>	<p>- Mesures le plus souvent effectuées plusieurs semaines après infection.</p> <p>- Mesure de l'infection systémique : charges bactériennes dans la rate, le foie, l'ovaire.</p> <p>- Mesure du portage intestinal : charges bactériennes dans l'intestin ou dans les fientes.</p>
<i>S. Typhimurium</i>	<p>- Dans certains cas : gastro-entérites: diarrhée, oiseau apathique et hésitant à se déplacer, yeux mi-clos, ailes tombantes, plumes ébouriffées.</p> <p>Chez les jeunes, la maladie peut s'aggraver en entraînant une pneumonie ou une évolution vers une forme septicémique</p>	<p>- Mesures effectuées quelques jours seulement après infection.</p> <p>- Mesure de l'infection systémique : charges microbiennes dans la rate, le foie</p> <p>- Mesures de l'excrétion intestinale : charges bactériennes dans l'intestin grêle, les caeca, le cloaque</p>
<i>S. Gallinarum</i> et <i>S. Pullorum</i>	<p>Typhose (<i>S. Gallinarum</i>) et pullorose (<i>S. Pullorum</i>). Atteinte septicémique. Augmentation de la mortalité et mauvaise qualité des poussins provenant des œufs infectés. Les oiseaux plus âgés présentent une anémie, une apathie, une respiration laborieuse et de la diarrhée</p>	<p>- Prélèvement du sang</p> <p>- Observations cliniques.</p> <p>- Taux de mortalité des poussins.</p>

I.4. Principales étapes de l'infection d'un animal hôte par les salmonelles

Les salmonelles sont des bactéries entéropathogènes invasives. Elles sont toutes considérées comme pathogènes. En cas d'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés, elles parviennent au niveau de l'intestin grêle où elles se multiplient selon les étapes suivantes, résumées dans la figure 11 (Van Immerseel et al, 2005):

1) Après ingestion orale, les bactéries passent par l'estomac pour arriver dans la lumière intestinale.

2) Les bactéries s'attachent aux cellules épithéliales et induisent une modification des filaments d'actine de la cellule.

3) Ceci donne lieu à une internalisation de la bactérie dans la cellule épithéliale. Les salmonelles sont capables de se multiplier à l'intérieur des cellules eucaryotes.

4) Lors d'une réaction inflammatoire, des macrophages vont migrer des vaisseaux sanguins vers la paroi intestinale.

5) Ces macrophages peuvent phagocyter les bactéries, lesquelles disposent de mécanismes leur permettant de survivre et même de se multiplier à l'intérieur des macrophages.

6) Les macrophages infectés peuvent passer dans le sang et se disperser vers d'autres organes, tels que la rate et le foie. Ceci constitue la phase systémique de l'infection.

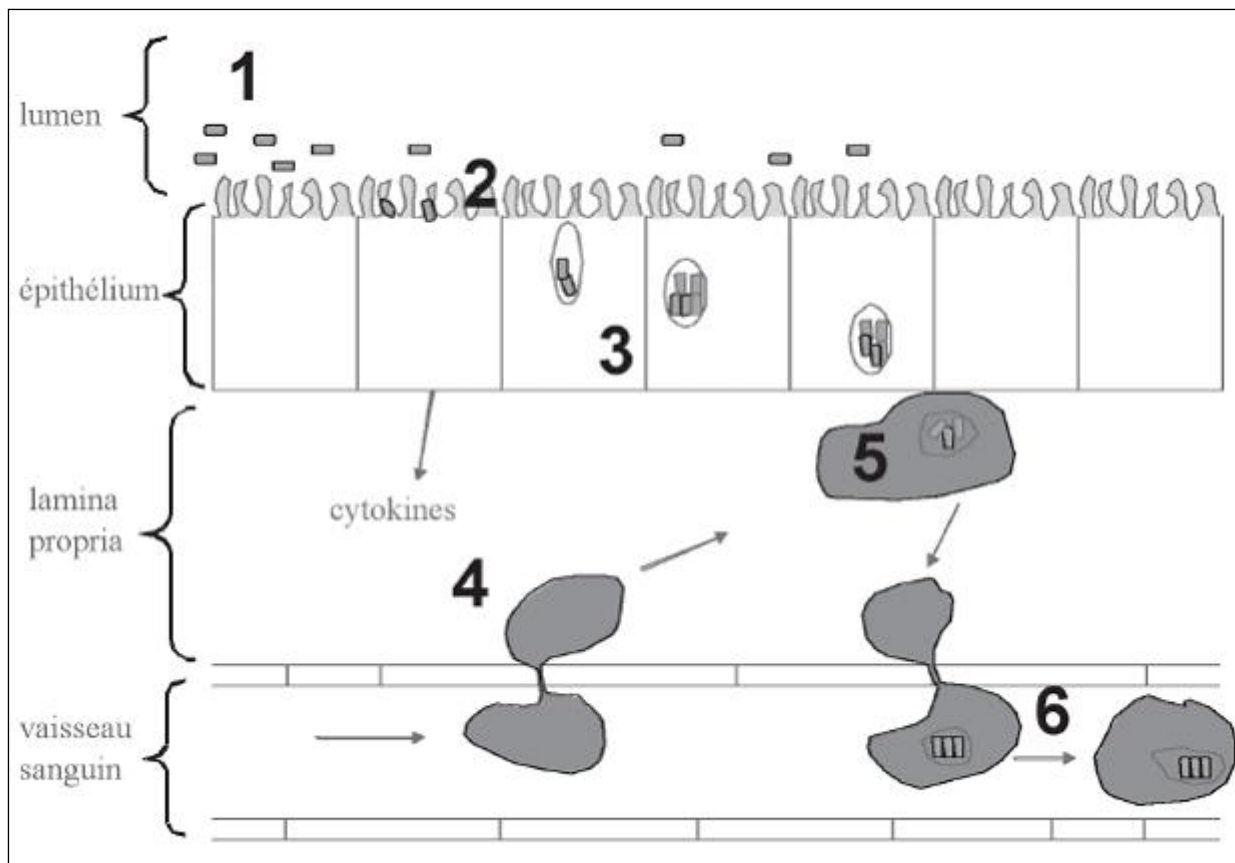


Figure 11: Les étapes principales de l'infection d'un animal d'hôte par des salmonelles (Van Immerseel et al, 2005)

I.5. Mode de transmission des salmonelles chez la Poule

I.5.1. Transmission verticale

Cette transmission de la Poule à ses descendants n'est observée qu'avec quelques sérotypes, dans la plupart des cas *S. Enteritidis* et plus rarement *S. Typhimurium* qui colonisent les milieux intérieurs de l'œuf. Les poussins issus de ces œufs infectés sont viables mais infectés dès l'éclosion par la souche de salmonelles transmise par la mère (Van Immerseel et al, 2005; Poppe, 2000).

I.5.2. Transmission horizontale

La transmission horizontale s'effectue entre individus infectés et individus sains, soit indirectement par le contact entre individus sains et individus contaminés (que ce soient des congénères ou des animaux d'autres espèces tels que les souris ou les insectes présents dans l'environnement) ou entre individus sains et environnement contaminé (bâtiment, air, litière, aliment ou eau de boisson), soit directement par l'ingestion ou l'inhalation de salmonelles. Cette transmission peut commencer dès le couvoir, par des coquilles d'œufs contaminées lors de la ponte. Les salmonelles ne rentrent alors pas dans l'œuf mais sont présentes sur la cuticule. Dans ce cas, le poussin est infecté dès l'éclosion par contact avec la coquille infectée (Poppe, 2000).

II. Conséquences de l'infection par les salmonelles chez les animaux et l'homme

Selon le sérotype et l'hôte, les salmonelles peuvent être responsables d'une colonisation intestinale sans symptôme (portage asymptomatique), de gastro-entérite ou d'une infection généralisée parfois mortelle. Le tableau 1 résume les principaux symptômes rencontrés chez la Poule en fonction du sérotype.

II.1. Portage asymptomatique

II.1.1 Description

Chez l'homme on peut observer un portage asymptomatique : une excrétion asymptomatique de salmonelles dans l'urine ou les fèces peut se prolonger pendant des semaines voire des années (Varnam and Evans, 1991). Chez les animaux domestiques comme le Porc et la volaille (Poule, Canard), on peut également observer un portage asymptomatique de sérotypes ubiquitaires. Les animaux ne présentent pas de symptômes, ce qui rend leur détection et leur traitement ou élimination très difficiles.

II.1.2 Conséquences du portage animal sur la sécurité alimentaire humaine

Le portage animal asymptomatique représente un réel problème de santé publique humaine puisque les salmonelles d'origine animale peuvent se retrouver dans les aliments destinés à la consommation et entraîner une contamination de l'homme. Les salmonelles sont ainsi l'une des premières causes de toxi-infection d'origine alimentaire.

Très peu de sérotypes d'origine animale sont à l'origine d'infections humaines : ce sont surtout *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* qui sont retrouvés et *S. Enteritidis* reste une des premières causes de toxi-infection alimentaire dans les pays industrialisés, même si le nombre de cas diminue (EFSA, 2011). Les produits d'origine avicole (principalement œufs ou produits d'œufs) sont les principales sources de ces souches de salmonelles (EFSA, 2012).

Les catégories de produits d'origine animale pouvant représenter un danger en santé publique sont:

- la viande crue ou pas assez cuite et les produits dérivés (charcuterie),
- les œufs crus et les produits contenant des œufs crus,
- le lait non pasteurisé et tout produit fabriqué à partir de lait non pasteurisé.

Ainsi, en France, sur la période 1995-1999, 32 000 à 43000 cas ont été observés chaque année. Ils ont entraîné de 6 000 à 10 700 hospitalisations avec 100 à 560 décès (Anonyme, 2004). Aux Etats-Unis, en 2008, les salmonelloses ont mené à 157 738 consultations, 14 487 hospitalisations et 415 décès (Economic research service, 2008). Le nombre de cas observés en Europe a néanmoins diminué de moitié depuis 2004 (EFSA, 2011). En parallèle, la prévalence des salmonelloses chez les volailles a diminué de manière significative, en particulier dans les troupeaux de poules pondeuses, en lien avec l'important dispositif de contrôle des salmonelles dans les populations animales mis en place en Europe (EFSA, 2012).

II.2. Gastro-entérites

II.2.1 Description de la maladie

Chez l'homme, les salmonelles ubiquitaires telles que *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* peuvent entraîner des gastro-entérites. La durée d'incubation est le plus souvent de un à deux jours. Elle dépend de la santé de l'hôte, de la dose ingérée et de la virulence de la souche de salmonelles. Les gastro-entérites à salmonelles se manifestent par une diarrhée, des vomissements, de la fièvre, et des douleurs abdominales. Elles sont la conséquence d'une inflammation de la muqueuse intestinale et conduisent, en l'absence de soins, à une déshydratation importante.

Chez la Poule, les symptômes ne sont pas spécifiques : diarrhée, oiseau apathique et hésitant à se déplacer, les yeux mi-clos, les ailes tombantes, les plumes ébouriffées. Ils sont observés essentiellement sur les poussins de moins de 15 jours et sont rares sur les oiseaux de plus de 4 semaines.

II.2.2 Conséquences économiques des gastro-entérites animales

Chez les animaux d'élevage, surtout chez le Porc et les bovins, les salmonelloses peuvent entraîner des pertes économiques importantes dues à la réforme ou la mort des

animaux atteints, aux frais vétérinaires et aux pertes ou retards de production (Targant, 2010). Chez les volailles en revanche, grâce aux différentes mesures de prévention appliquées en élevage, de tels épisodes sont désormais exceptionnels et le portage est la principale préoccupation.

II.3. Infections systémiques

Chez l'homme, une infection systémique peut être observée, en particulier avec les sérotypes strictement adaptés à l'homme, *S. Typhi* et *S. Paratyphi*, sous le nom de fièvre typhoïde. Une à trois semaines après la contamination survient une fièvre continue accompagnée de maux de tête, d'anorexie, d'abattement, de douleurs abdominales avec diarrhée ou constipation. Dans les formes les plus graves, la fièvre typhoïde peut être fatale en l'absence de traitement. Dans les formes légères, l'état reste stationnaire pendant une quinzaine de jours puis la convalescence dure plusieurs semaines.

Les animaux aussi peuvent développer des infections systémiques à salmonelles : les bovins lorsqu'ils sont infectés par *S. Dublin*, les porcins par *S. Choleraesuis*. Chez la Poule, ces infections sont principalement causées par *Salmonella Gallinarum*. Ce sérotype peut être divisé en deux biovars : *Gallinarum*, responsable de la typhose, et *Pullorum*, responsable de la pullorose (Proux et al, 2002). Les principaux symptômes sont caractéristiques d'une atteinte septicémique chez les volailles. On observe également une augmentation de la mortalité et une mauvaise qualité des poussins provenant des œufs infectés. Les oiseaux plus âgés présentent une anémie, une apathie, une respiration laborieuse et de la diarrhée. Ce sont des maladies graves chez la Poule, rarement observées aujourd'hui en Europe mais encore importantes dans les pays en voie de développement (EFSA, 2012). Des vaccins efficaces existent pour lutter contre ces sérotypes de salmonelles.

III. Les moyens de lutte contre les salmonelles chez la Poule

III.1. Lutte thérapeutique par utilisation d'antibiotiques

L'utilisation des antibiotiques a montré son efficacité pour contrôler l'évolution des salmonelloses. Les antibiotiques les plus utilisés sont les sulfamides, l'enrofloxacin, la streptomycine, la gentamicine, les tétracyclines et la fluméquine (Humbert et Salvat, 1998; EFSA, 2006). Il est toujours recommandé d'utiliser les antibiotiques de manière appropriée au bon moment, à la bonne dose et pendant une durée appropriée, pour augmenter leur efficacité mais aussi parce que sans cela leur utilisation pourrait être à l'origine de résistances bactériennes et ainsi d'une plus grande dissémination des salmonelles.

III.2. Prophylaxie

III.2.1. Prophylaxie sanitaire:

La prophylaxie sanitaire est l'ensemble des mesures qui permettent d'éviter l'apparition ou l'extension des maladies. Elle comprend les traitements du milieu d'élevage et repose en premier lieu sur toutes les mesures d'hygiène classique (nettoyage, désinfection, désinsectisation), les mesures qui permettent d'éviter le contact entre animaux sains et malades mais aussi la supplémentation alimentaire.

*** Acidification de l'eau de boisson:**

L'acidification de l'eau de boisson consiste à compléter l'eau de boisson avec un acide organique (acide butyrique), qui abaisse le pH non seulement de l'eau, mais surtout du milieu intestinal le plus loin possible dans l'intestin pour avoir un effet également dans les caeca (Van Immerseel et al, 2006). L'acidification modifie le milieu intestinal en le rendant défavorable à la multiplication des salmonelles. Son action est limitée dans le temps, ce qui implique des administrations répétées et régulières tout au long de la vie des animaux mais plus particulièrement au démarrage. La supplémentation ne peut pas éliminer toutes les salmonelles, mais le but est de les empêcher de se développer le plus tôt possible et de

maintenir le nombre de salmonelles en dessous d'un seuil d'excrétion et donc d'empêcher la contamination horizontale du lot entier (Vandeplas et al, 2010).

*** Les prébiotiques**

Ce sont des aliments non digestibles qui ont un effet favorable par la stimulation sélective de la croissance ou de l'activité d'un nombre limité d'espèces bactériennes déjà présentes dans l'intestin. La flore intestinale transforme ces prébiotiques par fermentation en acide gras volatils, ce qui peut conduire à une modification de l'ensemble de la flore. Les fructo-oligosaccharides sont fréquemment utilisés (Gibson et Roberfroid, 1995; Van Immerseel et al, 2005; Donalson et al, 2008).

*** Les probiotiques**

Ces micro-organismes vivants inclus dans les aliments ont un effet favorable sur l'hôte par amélioration de l'équilibre de la flore intestinale. Chez la volaille, des tests avec des probiotiques et en particulier certaines souches de lactobacilles ont montré leur effet sur la réduction de la colonisation de l'intestin par les salmonelles (Sanmanya et Yamuchi, 2002; Thirabunyanon et Thongwittaya, 2012).

*** Les flores de barrière**

Les flores de barrière sont un mélange complexe de bactéries différentes, en équilibre relativement stable dans le tube digestif des volailles en absence d'agression extérieure (Schneitz, 2000). La composition de la flore n'est pas toujours définie ; elle peut comprendre les genres suivant: *Bacteroides*, *Citrobacter*, *Clostridium sporogenes*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Fusobacterium*, *Eubactérium*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Ruminococcus*, *Propionobacterium*, *Streptococcus faecalis* (Riggi, 1999; Castagnos, 2003; Lutful Kabir, 2009).

III.2.2 Prophylaxie médicale: vaccination

La vaccination est pratiquée sur les poules pondeuses mais pas les poulets de chair, car la durée de vie des animaux est trop courte par rapport à durée nécessaire pour que le vaccin soit efficace. L'injection d'autovaccins ou de vaccins atténués a montré une certaine efficacité par une réduction nette du portage et de l'excrétion. Mais cette prévention n'est suffisante et durable que si l'environnement d'élevage est satisfaisant. De plus, les vaccins ne peuvent pas

éliminer totalement les salmonelles: il est possible d'observer du portage sur des animaux vaccinés (dans le foie, la rate et le colon) et de retrouver des salmonelles dans les fientes (Velge et al, 2008).

IV. Etude de la résistance génétique au portage de salmonelles et à la salmonellose chez la Poule : contexte scientifique

IV.1. Définitions : résistance au portage de salmonelles et résistance à la salmonellose

On peut définir trois niveaux de résistance chez un animal infecté par des salmonelles.

(1) Le poulet est sensible à l'infection (la salmonellose) et il tombe malade ou meurt.

(2) Le poulet est résistant à l'infection mais sensible au portage et donc porteur asymptomatique de salmonelles. Il ne présente pas de symptômes et peut limiter le développement des bactéries jusqu'à un seuil supportable. Dit "porteur sain", cet individu est source de propagation de salmonelles aux autres individus sains et aux autres espèces, en particulier à l'homme.

(3) Le poulet est résistant à l'infection et au portage : les salmonelles infectantes ne peuvent pénétrer dans l'animal.

IV.2. Intérêt de la sélection comme moyen de lutte contre le portage de salmonelles

Les moyens de lutte présentés ci-dessus ne sont pas suffisants pour éliminer complètement les salmonelles des élevages avicoles, en particulier les sérotypes Typhimurium et Enteritidis, responsables des contaminations alimentaires humaines. En outre, certains de ces moyens de lutte présentent des inconvénients tels qu'un coût élevé (vaccination, prébiotiques, probiotiques), une efficacité faible et trop partielle (prébiotiques, probiotiques) et un risque d'apparition de souches de bactéries résistantes aux antibiotiques (antibiotiques). Au vu de ces inconvénients, l'utilisation et la sélection d'animaux génétiquement plus résistants est une alternative intéressante. La connaissance des gènes contrôlant les variations de résistance à l'infection par les salmonelles ou au portage pourrait améliorer l'efficacité de

la sélection, d'où l'intérêt des approches de génétique et génomique (voir par exemple Calenge et al, 2010, 2011, 2012; Beaumont et al, 2012).

IV.3. Principaux résultats des études du contrôle génétique de la résistance à la salmonellose

Depuis longtemps, des publications scientifiques mentionnent des différences de niveau de résistance à la salmonellose causée par les sérotypes Gallinarum et Pullorum (voir les revues de Calenge et al, 2010, Beaumont et al, 2012). Ces sérotypes n'étant plus un véritable problème dans les élevages actuels, les études les plus récentes s'intéressent plutôt aux sérotypes Typhimurium et Enteritidis, qui peuvent être portés de façon asymptomatique par les animaux. Cependant quelques équipes continuent à s'intéresser à la salmonellose.

La première étude recherchant des QTLs de résistance à la salmonellose a analysé les données d'un dispositif back-cross ((6₁ × 15I) × 15I) issu de lignées expérimentales consanguines de type White Leghorn (poule pondeuse). Les animaux ont été infectés à deux semaines d'âge avec le sérotype Typhimurium. Un QTL majeur contrôlant la charge bactérienne de la rate a été identifié sur le chromosome 5 et nommée *SALI*. Le locus *SALI* est impliqué dans l'élimination des bactéries par les macrophages (Mariani *et al*, 2001).

En utilisant la sixième génération de back-cross génotypée avec une haute densité de marqueurs SNP, la position du locus *SALI* a été affinée et confirmée entre 54,0 et 54,8 Mb sur le bras long du chromosome 5. Cette région contient 14 gènes, y compris deux candidats fonctionnels très marquants: le gène *Siva*, codant pour la protéine de liaison à CD27 (CD27-binding protein) et le gène *AKT1*, codant pour l'homologue de protéine kinase à sérine/thréonine RAC-alpha (Fife et al, 2009). *AKT1* est particulièrement intéressant car il est impliqué dans la voie de survie cellulaire, comme un inhibiteur du processus d'apoptose. Les facteurs de survie peuvent supprimer l'apoptose d'une façon indépendante en activant *AKT1*, qui peut alors phosphoryler et inactiver les composants des machines apoptotiques. *AKT1* peut aussi activer NF- κ B en régulant l'I κ B kinase (*IKK*), et aboutir ainsi à la transcription de gènes de pro-survie et à la stimulation de réponses pro-inflammatoires (Madrid et al, 2000).

Plus récemment, quatre QTL contrôlant la résistance à la colonisation intestinale précoce par des salmonelles ont été détectés sur les chromosomes 2, 3, 12 et 25 en utilisant

une population de back-cross ($G_1 \times N$) \times N) issue des lignées G_1 (résistante) et N (sensible) infectées par *S. Typhimurium* (Fife et al, 2011).

IV.4. Principaux résultats des études du contrôle génétique de la résistance au portage de salmonelles

Depuis une vingtaine d'années, l'INRA mène, en collaboration, des travaux sur le contrôle génétique de la résistance au portage de salmonelles. Très peu d'autres équipes de recherche l'ont étudié jusqu'à maintenant.

IV.4.1. Héritabilité et faisabilité de la sélection

Le portage de salmonelles peut être mesuré par la persistance de l'infection bactérienne après infection expérimentale. Pour aborder cette question, des modèles expérimentaux d'infection ont été définis à deux âges différents : poussins (Duchet-Suchaux et al, 1995) et poules pondeuses adultes (Protais et al, 1996). En utilisant ces modèles, l'héritabilité de la résistance au portage a été estimée à 0,20 chez de jeunes oiseaux (Berthelot et al, 1996) et à plus de 0,35 chez des poules pondeuses adultes (Beaumont et al, 1999a). Ces résultats montrent que la résistance au portage de salmonelles est en partie génétiquement contrôlée et suggèrent fortement que la sélection pour augmenter la résistance à la colonisation par les salmonelles pourrait être efficace et réduire le risque d'infection par des salmonelles transmises par la nourriture. Une sélection divergente expérimentale a été réalisée par Beaumont et al (2009b, 2010) à partir d'une souche commerciale de poule pondeuse. Elle a confirmé la faisabilité de la sélection pour la résistance au portage de salmonelles chez la Poule.

IV.4.2. Gènes candidats

L'approche dite « gène candidat » consiste à chercher des gènes potentiellement impliqués dans le contrôle du caractère d'intérêt (ici la résistance au portage de salmonelles) et à valider leur rôle. Les deux gènes candidats *SLC11A1* et *TLR4* testés chez la Poule ont été choisis sur la base d'études génétiques effectuées chez la souris infectée par *S. Typhimurium*. Le premier gène, initialement nommé *Nramp1* (Natural Resistance-associated Macrophage protein), a été identifié sur le chromosome 1 de la souris. Ce gène, membre de la famille "solute carrier family" (famille de porteurs solubles) a ensuite été renommé *SLC11A1*. Chez la Poule, l'homologue du gène *Nramp1* est situé sur le chromosome 7. Le deuxième gène

majeur, *TLR4* (Toll-like receptor 4), appartient à une famille de récepteurs du système inné immunitaire (de type Toll-like). Ce gène est impliqué dans la reconnaissance de *LPS* (lipopolysaccharides), composante de la membrane des bactéries de type Gram négatif. Le gène *Lps* est situé sur le chromosome 4 chez la souris. Son clonage positionnel a mené à l'identification de *TLR4* comme un gène candidat positionnel chez la Poule, chez laquelle il est situé sur le micro-chromosome 17. Le rôle de ces gènes a été testé à la fois pour le contrôle génétique de la résistance au portage et pour le contrôle génétique de la résistance à la salmonellose (Calenge et al, 2010).

En plus de ces deux gènes candidats, d'autres études ont étudié l'association de gènes candidats connus par ailleurs pour être impliqués dans la réponse immune avec la réponse à l'infection par *S. Enteritidis* ou *S. Typhimurium*, les deux sérotypes responsables du portage asymptomatique ; elles sont présentées dans la revue de Calenge et al (2010). Le tableau 3 présente un résumé des gènes candidats étudiés.

Tableau 2: Effets de gènes candidats sur la résistance aux salmonelles chez la Poule (d'après Calenge et al, 2010).

Chr ¹	Gène	Caractère	(Mb) ²	Références
1	<i>CD28 (Cluster of differentiation 28)</i>	Réponse anticorps au vaccin SE Niveau de contamination des caeca (SE)	113.90	Malek et al, 2004
	<i>IAP1 (inhibitor of apoptosis protein 1)</i>	Niveau de contamination des caeca (SE) Niveau de contamination de la rate (SE)	186.92	Kramer et al, 2003 Lamont et al, 2002
2	<i>MD-2 (lymphocyte antigen 96)</i>	Niveau de contamination de la rate (SE)	122.83	Malek et al, 2004
3	<i>TGF-β4 (transforming growth factors β4)</i>	Niveau de contamination des caeca (SE)	18.29	Kramer et al, 2003
	<i>TGF-β2 (transforming growth factors β2)</i>	Niveau de contamination des caeca (SE) Réponse en anticorps à SE	20.54	Kramer et al, 2003 Zhou et Lamont, 2003
	<i>Gal3 (galectin 3)</i>	Niveau de contamination des caeca (SE) Réponse anticorps au vaccin SE	110.26	Hasenstein et al, 2006 Hasenstein et Lamont, 2007
	<i>Gal5 (galectin 5)</i>	Niveau de contamination de la rate (SE)	110.27	Hasenstein et Lamont, 2007
	<i>Gal7 (galectin 7)</i>	Réponse anticorps au vaccin SE	110.25	Hasenstein et al, 2006
	<i>Gal11 (galectin 11)</i>	Niveau de contamination des caeca (SE)	110.21	Hasenstein et Lamont, 2007
	<i>Gal12 (galectin 12)</i>	Niveau de contamination des caeca (SE)	110.21	Hasenstein et Lamont, 2007
	<i>Gal13 (galectin 13)</i>	Niveau de contamination des caeca (SE)	110.20	Hasenstein et Lamont, 2007
4	<i>TRAIL (Tumor necrosis factor -related apoptosis-inducing ligand)</i>	Niveau de contamination de la rate et des caeca (SE)	9.67	Malek et al, 2003
	<i>IL-2 (interleukin-2)</i>	Niveau de contamination des caeca (SE)	55.26	Kramer et al, 2003
5	<i>TGF-β3 (transforming growth factors β3)</i>	Niveau de contamination des caeca (SE)	40.87	Malek et al, 2003
6	<i>PSAP (prosaposin)</i>	Niveau de contamination de la rate et des caeca (SE)	13.02	Kramer et al, 2003 Lamont et al, 2002

¹Chromosome ; ²Position en Mb ; SE: *S. Enteritidis*; ST: *S. Typhimurium*

Tableau 3 (suite): Effets de gènes candidats sur la résistance aux salmonelles chez la Poule (d'après Calenge et al, 2010).

Chr ¹	Gène	Caractère	(Mb) ²	Références
7	<i>SLC11A1</i> (<i>Solute carrier family 11</i>)	Taux de survie (ST) Niveau de contamination de la rate et du foie (SE) Niveau de contamination de la rate (SE) Niveau de contamination de la rate (SE) et nombre d'organes contaminés Niveau de contamination de la rate (SE); Réponse anticorps au vaccin SE Niveau de contamination des caeca (SE)	23.91	Hu et al, 1997 Girad-Santosuosso et al, 2002 Lamont et al, 2002 Beaumont et al, 2003 Liu et al, 2003 Kramer et al, 2003
15	<i>IGL</i> (<i>Immunoglobulin Lambda</i>)	Niveau de contamination des caeca (SE) Réponse en anticorps au vaccin SE	8.17	Kramer et al, 2003 Malek et al, 2003
16	<i>MCH1</i>	Niveau de contamination de la rate (SE)	-	Lamont et al, 2002
	<i>MCH1 class I α1 domain</i>	Réponse anticorps au vaccin SE	0.04	Zhou et Lamont, 2003
	<i>MCH2 class I α1 domain</i>	Réponse anticorps au vaccin SE	0.04	Zhou et Lamont, 2003
	<i>MCH1 class I β1 domain</i>	Réponse anticorps au vaccin SE	0.06	Zhou et Lamont, 2003
17	<i>TLR4</i> (<i>Toll-like receptor 4</i>)	Taux de survie (ST) Taux de survie (ST) Nombre d'organes contaminés	4.06	Hu et al, 1997 Leveque et al, 2003 Beaumont et al, 2003
19	<i>CASP1</i> (<i>Caspase-1</i>)	Niveau de contamination des caeca (SE)	0.64	Kramer et al, 2003
	<i>iNOS</i> (<i>inducible nitric oxide production</i>)	Niveau de contamination des caeca (SE)	9.17	Kramer et al, 2003
26	<i>PIGR</i> (<i>polymeric immunoglobulin receptor</i>)	Niveau de contamination de la rate et des caeca (SE)	0.00	Ghebremicael et al, 2008
	<i>MAPKAPK12</i> (<i>Mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 12</i>)	Niveau de contamination de la rate et des caeca (SE)	2.35	Ghebremicael et al, 2008
	<i>IL10</i> (<i>interleukin-2</i>)	Niveau de contamination de la rate et des caeca (SE)	2.37	Ghebremicael et al, 2008

¹Chromosome ; ²Position en Mb ; SE: *S. Enteritidis*; ST: *S. Typhimurium*

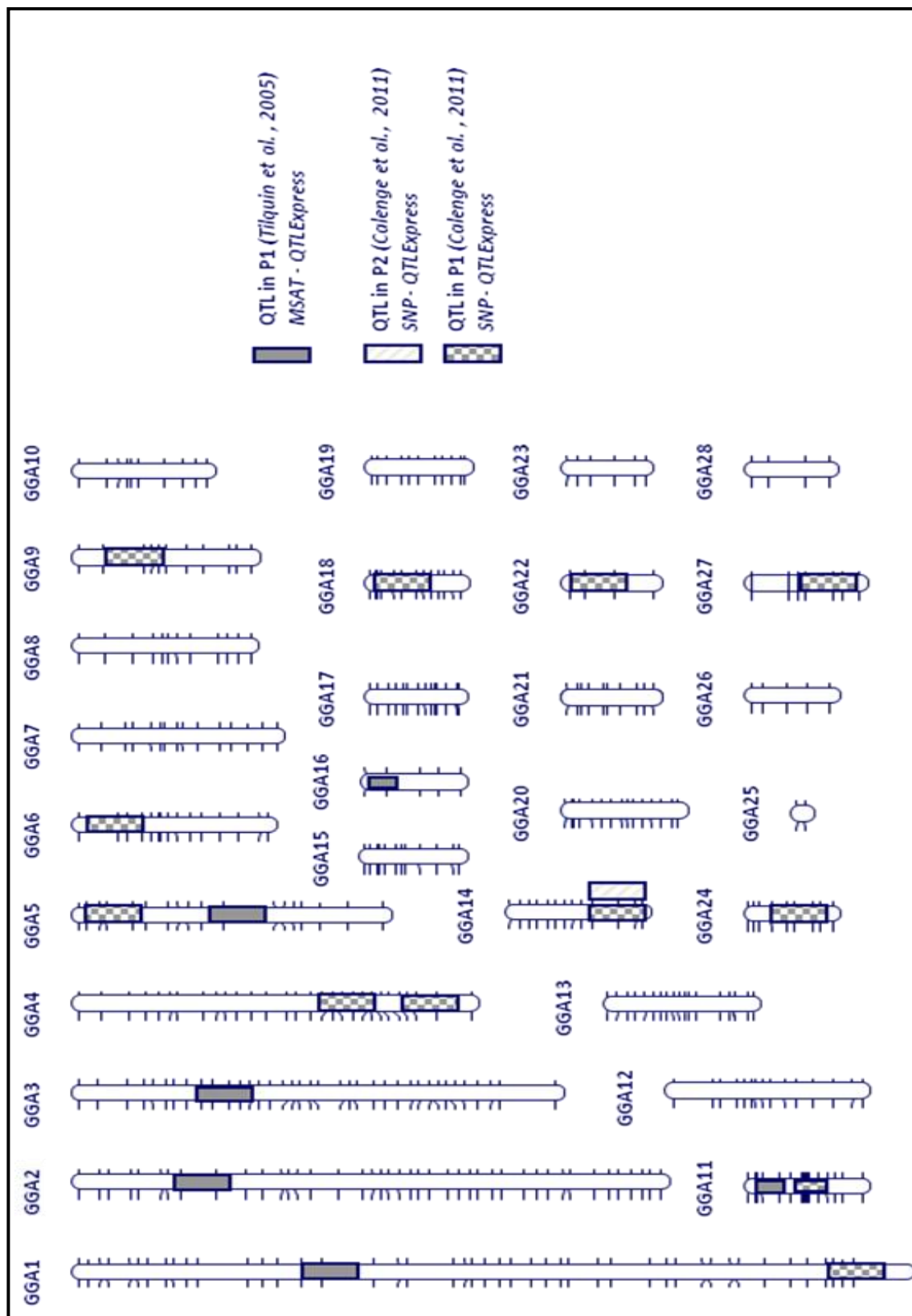


Figure 12 : Positions des QTLs de résistance au portage de salmonelles détectés avant ce travail de thèse. Les QTLs ont été positionnés par rapport à la position du pic (LOD score maximum).

IV.4.3. Recherche de QTL

Comme la résistance au portage est un caractère complexe et que la mesure de ce caractère est très lourde, la détection de QTLs est une approche pertinente pour mettre en place une éventuelle sélection assistée par marqueurs.

Le premier dispositif étudié est une population F2 de 185 animaux issue d'un croisement entre les lignées consanguines White Leghorn N et 6₁, présentant une différence de résistance au portage de salmonelles. Ces animaux ont été infectés à une semaine par *S. Enteritidis* ; les bactéries ont été recherchées dans le cloaque quatre et cinq semaines après infection (CLOAQUE4 et CLOAQUE5), puis, après abattage cinq semaines après infection dans les caeca. Dans ce dernier cas, les bactéries ont été dénombrées et le résultat exprimé en logarithme du nombre de colonies-formant unités ou log (cfu) par gramme de caeca (CAEC). Ces animaux ont été génotypés par des marqueurs microsatellites couvrant 63% de la carte consensus de la Poule. Seuls les animaux de phénotypes extrêmes ont été génotypés (approche dite de génotypage sélectif). Cette première détection de QTLs réalisée avec le logiciel QTLEXPRESS basé sur la régression linéaire a identifié 5 QTLs sur les chromosomes 1, 2, 5, 11 et 16. Parmi ces QTLs, celui situé sur le chromosome 2 est significatif au niveau du génome (Tilquin et al, 2005). Les QTLs des chromosomes 2 et 16 ont été confirmés par Calenge et al (2009) après génotypage de toute la descendance avec de nouveaux marqueurs microsatellites dans les régions des QTLs déjà identifiés. En 2007, un deuxième dispositif F2 Nx6₁ de 193 animaux a été étudié, dans lequel la charge bactérienne des caeca a été mesurée en plus des caractères précédents. Un nouveau scan du génome effectué avec 480 marqueurs SNP a permis de couvrir une plus grande partie du génome (85% de la carte consensus). Il a été réalisé sur les deux dispositifs F2 Nx6₁ pour augmenter le nombre d'animaux étudiés et donc la puissance de détection des QTLs. L'analyse de ces données avec QTLEXPRESS a conduit à la détection de davantage de QTLs dans le premier dispositif et d'un seul QTL dans le second dispositif (Calenge et al, 2011). Un grand nombre de QTLs ont été détectés mais leurs effets sont faibles. Un seul QTL a été détecté en commun entre les deux dispositifs, sur le chromosome 14. Pour résumer tous ces résultats, la figure 12 présente une carte génétique montrant les positions des QTLs identifiés avant cette thèse.

L'article ci-dessous présente une revue plus détaillée des recherches effectuées à l'INRA pour mieux comprendre la génétique de la résistance au portage de salmonelles chez la Poule.

Article 1: Use of integrated studies to appreciate potential benefits from genetic resistance to *Salmonella* carrier state in fowls

Beaumont Catherine, Tran Thanh-Son, Zongo Pascal, Viet Anne-France, Magal Pierre

Book Chapter in the book "Salmonella - Distribution, Adaptation, Control Measures and Molecular Technologies" edited by Bassam A. Annous and Joshua B. Gurtler, ISBN 978-953-51-0661-6, InTech, July 7, 2012, pp. 221-238.

Institut National de la Recherche Agronomique, UR083, Unité de Recherche Avicole,
37380 Nouzilly, France

Institut National de la Recherche Agronomique, UR1282, IASP
37380 Nouzilly, France,

Institut National de la Recherche Agronomique, UMR1300 Bio-agression Epidémiologie et Analyse de Risques, 44307 Nantes, France.

LUNAM Université, Oniris, 44307 Nantes,

Université Victor Segalen Bordeaux 2, UMR CNRS 5251, Institut de mathématiques de Bordeaux,
33076 Bordeaux

1. Introduction

Salmonella, and especially *Salmonella enteritidis*, are one of the major causes of human toxi-infections (Humphrey, 1990), even if the trend is decreasing (European Food Safety Agency [EFSA], 2011). Many prophylactic means have thus been investigated to control the incidence of *Salmonella* in poultry flocks, including vaccination (Zhang-Barber et al, 1999), competitive exclusion (Nurmi et Rantala, 1973), acidification of feed and genetic resistance. More precisely, animals' ability to clear bacteria was considered. Indeed, the absence of clinical symptoms (which is the most classical definition of resistance) does not preclude human contamination since some animals may remain contaminated for weeks or even months without showing any symptoms. Such silent carriers cannot be identified as dangerous and may therefore enter the food chain. At the opposite, animals' ability to clear bacteria will reduce the risk of transmission, first to other animals and second to humans. It will thereafter be denoted as resistance to carrier-state.

The feasibility of selection for an improved resistance to carrier state has been demonstrated by a divergent selection experiment (§2). Thanks to development of genomics, many results were obtained in the past 10 years: several genome regions controlling different traits were identified and the role of other genes was suggested. It will dramatically increase the efficiency of selection. With traditional selection, it is necessary to perform experimental inoculations and to slaughter animals to register the level of contamination. With marker-assisted selection and furthermore genomic selection, it will be possible to directly choose the future breeders. In addition to improved selection efficiency, it will discard the need for artificial infections.

However, even if numerous data are currently available, strategy for application of these results are still questionable: genetic relations between resistance traits are complex and the choice of selection criteria deserves more investigations. Therefore, the whole process, leading from fowl contamination to transmission to other animals or humans was described in an integrated approach, combining genetics and other means. First results showed possible synergy between resistance and at least one another mode of prevention, vaccination. Other studies are required to compare different combinations of prophylactic means and identify new strategies for eradication of Salmonellosis, in coherence with new regulation implemented by the European Commission. They aim at reducing *Salmonella* prevalence in poultry flocks at less than 2% while a recent study estimated it at 29.7 and 23.7%, respectively, of laying and broiler flocks, respectively, with large differences between countries (EFSA, 2007a, 2007b)

The goal of this chapter is to make a review of data currently available on the possibility of reduction of fowl carrier-state through genetic selection. It will enhance the benefits that may be obtained from an integrated approach of genetics of resistance in hens to improve the control of the incidence of *Salmonella* within a flock.

2 Main results on genetics of resistance to *Salmonella*

First studies were achieved very early (Lambert et Knox, 1928; DeVolt et al, 1941) at a time when many animals died from acute salmonellosis. They thus focussed on the reduction of mortality. No experimental inoculation was needed to observe diseased animals and experiments could be achieved directly on the field. Studies focussed on serotypes pathogenic for birds (*Salmonella* Pullorum, *Salmonella* Gallinarum and *Salmonella* Typhimurium). Later on, the incidence of those diseases dramatically reduced with the reinforcement of preventive measures in poultry breeding. The same held for studies of resistance to *Salmonella*. But, in the end of the 1980's, many outbreaks of human toxoinfections due to *Salmonella* Enteritidis occurred, resulting in new developments in genetics of resistance to *Salmonella*. As in former studies, feasibility of such an approach was considered through selection experiment; genetic parameters were estimated to appreciate the response that could be expected. However, with the beginnings of molecular genetics, the research of genes controlling these traits was also addressed.

2.1 Development of protocols of measures and identification of genetic models

One main feature of studies of genetic resistance to *Salmonella* is the very large number of resistance-related traits that were considered (see Calenge et al (2010) for a review). They differ in many factors. Inoculation by the oral route is more representative of what occurs in the field but less reproducible than the intravenous or intramuscular route. According to the *Salmonella* serotype, carrier-state (mostly observed after inoculation with *Salmonella* Enteritidis) or acute disease (mostly observed after inoculation with *Salmonella* Typhimurium) will be studied, but to an extent also depending, among others, on the number of inoculated bacteria. The animal's age at infection is a very important parameter. The interval between infection and observation will also be of importance, especially with reference to long-term carrier-state. Animals' conditions of rearing also influence the outcome of the infection. The susceptibility of egg to *Salmonella* multiplication may also be considered as described by Sellier et al (2007).

Many studies involve both the development of a protocol of measure of resistance and the identification, with this protocol, of lines differing in resistance. Identifying such genotypes is of great importance: their existence strongly suggests the role of genetics in the control of resistance-related traits that are measured. Genetic models for resistance or susceptibility are needed for research of genome regions controlling those traits. The first study was achieved by Bumstead et Barrow (1988). They considered resistance to acute disease due to *Salmonella* Typhimurium and observed difference between partially inbred lines that are especially interesting for QTL research. Other studies addressed carrier-state and focussed on *Salmonella* Enteritidis. Guillot et al (1995) observed differences in response to inoculation of chickens with a high bacterial dose. To mimic carrier-state in chicks, Duchet-Suchaux et al (1995) developed a protocol of experimental inoculation where animals were orally infected with a low dose, showed no symptom but remained infected for several weeks. They could thus identify genetic models for further research, both outbred (Duchet-Suchaux et al, 1997) and partially inbred lines (Tilquin et al, 2005). It is to notice that the former study focussed on the same lines as in Bumstead et Barrow, (1988). Other protocols of inoculation were developed to study persistence for a shorter term (Lamont et al, 2002; Kramer et al, 2003; Hasenstein et Lamont, 2007).

Studies on resistance to carrier-state in adults were less numerous, in spite of importance of laying hens for the risk of human contamination. Protais et al (1996) orally contaminated hens at the peak of lay and bacteria were searched in caeca, spleen, liver and ovary four weeks later. They observed differences between outbred poultry lines. Later on, Sadeyen et al (2006) identified differences between inbred lines using the same protocol while Lindell et al (1994) used a slightly different protocol.

2.2 Response to selection

The first selection experiment for resistance to salmonellosis after an experimental inoculation was undertaken in 1932; it proved to be efficient (Lambert, 1932). A higher resistance was observed for some breeds, among which White Leghorns (Robert and Card, quoted by Hutt et Scholes (1941)). But De Volt et al (1941) showed that the former were less resistant than selected Rhode Island Red hens. This result and others contributed to the development of selection for a higher resistance (see Beaumont et al, 2003a, for a review).

These results are coherent with the estimations of heritability of resistance to death (0.15 and 0.12) obtained respectively by Beaumont et al (1999) after intramuscular inoculation of day-old chicks and

by Janss et Bolder, (2000) after inoculation at two weeks of age. It is to notice that, according to genetic parameters estimated by the latter, more resistant animals would survive longer, contributing to a higher risk for consumers if they were still carriers. This emphasizes the importance of an increase in genetic resistance to carrier-state. An experiment of divergent selection on this trait was achieved by Beaumont et al (2009; 2010). The base population was issued from a layer-type line. Two series of divergent lines were selected, for increased or decreased resistance at a younger age (as in Duchet-Suchaux et al, 1995) or at the peak of lay (using the protocol described by Protais et al, 1996). In adults, selection was on an all-or-none trait called global contamination, coded “1” if at least one organ (i.e. spleen, liver, caeca or ovary) was found positive and “0” in the other cases. Resistance of chicks was assessed by the logarithm of the number of colonies forming units (c.f.u.) per gram of caeca measured 5 weeks after inoculation (i.e. contamination level). A total of 3817 animals were thus measured (1408 adults and 2409 chicks). Clear and significant differences were observed in lines selected on adult performance, with difference in prevalence of about 20%. Selection may be efficient in reducing the level of *Salmonella* carrier-state in hens. Differences between the “chicken” lines were, at least until now, smaller. This may be due to lower heritability but also smaller selection pressure and family sizes, due to experimental constraints and to variations in responses to infections. Indeed, in two hatches out of eight, only a small proportion of animals were still contaminated by *Salmonella* at slaughter; others could not be measured for level of contamination, which also slowed down selection.

Values of estimated genetic parameters were the main information from this experiment. Heritability of resistance was estimated at 0.16 in chicks while it varied from 0.14 to 0.23 with analysed organ in adult hens. It was higher in caeca (0.23) while heritability of ovarian contamination was estimated at a lower value (0.11). Heritability of adult global contamination was found at 0.18.

All genetic correlations between contamination rates of individual organs were positive, ranging from 0.46 to 0.67. Genetic correlations between adult global contamination and contamination in individual organs were very high (from 0.75 for liver to 0.85 for spleen and caeca), except for ovary (0.32). These results are related to the central role of intestine in carrier-state of gastro-intestinal bacteria: bacteria pass through it when inoculated or after recontamination; at the opposite, contamination of other organs is dependent on translocation of intestinal barrier. Contamination of ovaries is especially rare: in this experiment only 6% of them were found contaminated versus 49%, 21% and 62%, respectively, for spleens, livers and caeca, respectively (resulting in a percentage of contaminated adults equal to 76%). This low rate of ovarian infection further reduced the expected response to direct selection against

ovarian contamination. An indirect selection on another criterion should be more efficient. This result and the positive values of genetic correlations between contamination rates of individual organs reinforce the interest of the overall adult contamination: it is more precisely assessed and combines several traits, all of which being positively correlated.

All genetic correlations between carrier-state in chicks and production traits (egg numbers, egg weights and body weights at various ages) were positive (ranging from 0 to 0.37) except for the number of eggs laid between 18 and 24 weeks of age, which was slightly but negatively correlated with resistance (-0.17). These results suggest that selection for increased resistance may be achieved without much detrimental effect on production traits. Unlike what was observed for resistance at a younger age, genetic correlation between adult carrier-state (global contamination) and egg numbers laid at the beginning of lay (between 18 and 24 weeks of age) was positive. At the opposite, those with laying intensity at older ages were negative or very close to 0 (ranging between -0.33 and 0.07). Correlation with body weight at 17 weeks of age was close to 0. These differences in genetic correlations between production traits and resistance at a younger or an older age are consistent with the negative genetic correlation observed between chicken and adult resistance.

The latter was estimated at a quite high and negative value (-0.50) and the probability of the true correlation being positive was estimated at only 5%. This major result holds whether overall contamination is considered or different organs distinguished and whatever the method of estimation. It is probably linked to differences in mechanisms of resistance between chicks, whose immune system is not mature, and hens, who may also benefit from adaptive immune response. The variation with animals' age in genetic control of adult and chicken resistance was suspected, because of differences in relative resistance of poultry lines to resistance to carrier-state at a younger (Duchet-Suchaux et al, 1997) or an older age (Protais et al, 1996). This result implies that most results obtained at a younger age are expected to be irrelevant in adults, if not of opposite sign. They may not be extrapolated to hens without experimental validation. Indeed, differences in expression of gallinacins observed by Sadeyen et al (2004) and Sadeyen et al (2006) were found to be associated, in young chicken, with increased susceptibility but, in adults, with resistance. Similar variations with age should also be the case of a large proportion of genes or genome regions found to be involved in resistance (for a review, see Calenge et al, 2010). This result also implies that increasing genetic resistance of hens should reduce resistance in chicks. This holds for marker-assisted or genomic selection.

2.3 Towards identification of genes or genome regions involved in the control of resistance.

Though promising these results may seem, large-scale selection for increased resistance is very difficult to implement since experimental infections, which are both very expensive and time consuming, are required. Identifying the underlying genes of genetic markers could make it possible to alleviate the need of such experiments.

The major drawback of such genomic studies is the numbers of both phenotypes and genotypes which are required. Studying crosses between inbred lines, following the pioneer studies of Bumstead et Barrow, (1988; 1993) is of great relevance, as it makes it possible to identify QTLs with much less animals than with crosses between outbred lines. Backcross (Mariani et al, 2001; Lamont et al, 2002; Fife et al, 2011), F2 cross (Tilquin et al, 2005) or, more recently, advanced intercross lines (AIL) were considered (Hasenstein et al, 2007; Ghebremichael et al, 2008).

Candidate genes, i.e. genes chosen according to an a priori knowledge of their effect in *Salmonella* resistance were first investigated. That was in particular the case for two genes, SLC11A1 and TLR4, known to be involved in resistance to *Salmonella* in mouse. The first one corresponds to the formerly called Nramp1 (natural resistance-associated macrophage protein) gene. It is responsible for resistance of mice to inoculation with *Salmonella* Typhimurium, *Mycobacterium bovis* and *Leishmania donovani* (Vidal et al, 1993). Later, Nramp1 has been described as a member of a solute carrier family and hence renamed Slc11a1. It is involved in the control of the intracellular replication of parasites in phagosomes. An homologue of Nramp1 was mapped on the chicken chromosome 7 (Hu et al, 1995; Girard-Santosuosso, 1997) and subsequently cloned (Hu et al, 1996).

The second candidate gene, TLR4 (Toll-like receptor 4), previously named Lps, belongs to the large family of Toll-like receptors involved, among others, in the recognition of LPS (lipo-polysaccharides), a component specific of Gram negative bacteria (among which *Salmonella*). Its mutation results in a lack of response to LPS and a higher susceptibility to Gram negative bacteria. The positional cloning of Lps led to the identification of TLR4 as a positional candidate. It was mapped to the chicken micro-chromosome 17 and cloned (Leveque et al, 2003).

Hu et al (1997) observed that both genes explained together up to 33% of the difference in survival of young chicks during the first week after an intra-muscular inoculation at one day of age with *Salmonella* Typhimurium. This difference was smaller when survival during the whole experiment was considered. The effect of the NRAMP1 gene was shown in many other experiments: in early stages of

systemic *Salmonella* infection in meat-type chicks (Kramer et al, 2003) and layer-type hens (Lamont et al, 2002; Liu et al, 2002) or in spleen infection after intravenous inoculation of pullets (Girard-Santossuoso et al, 2002) or hens (Beaumont et al, 2003b). It is interesting to note that Caron et al (2002) showed that the NRAMP1 allele coding for a better resistance of mice to an early and acute infection was also responsible for a higher excretion rate in later stages. This result has not yet been investigated in fowls. If it held, it could imply that selecting for the NRAMP1 allele coding for higher resistance to disease would result in a more intense excretion of *Salmonella* in the environment and thus quicker and more important transmission between animals. At the opposite, only the study of Beaumont et al (2003b) suspected a role of the TLR4 gene. Other candidate genes involved in the immune response were investigated using either polymorphisms within the gene or genetic markers (for a review , see Calenge et al (2010).

Searching for Quantitative Trait Loci (QTLs) is another way to identify genome regions involved in resistance. It is based on a systematic research of effects, on resistance, of anonymous genetic markers, chosen to cover as regularly as possible the whole genome. A first genome scan was achieved by Mariani et al (2001) on resistance to disease due to *Salmonella* typhimurium. A major QTL controlling spleen bacterial load was identified on chromosome 5 and named SAL1. A 6th generation backcross allowed confirming and refining the QTL (Fife et al, 2009). It also suggested two very promising functional candidate genes, which should lead to the identification of the gene(s) underlying the QTL. Tilquin et al (2005) identified QTL for resistance to both disease and carrier-state. One genome-wide significant QTL and five chromosome-wise significant QTL were observed on chromosomes 2, 1, 5, 11 and 16, respectively. This genome scan used selective genotyping (i.e. genotyping of only a subset of animals, chosen as particularly informative, because of extreme phenotypic values); two of those QTLs (on chromosomes 2 and 16) were confirmed after targeted genotyping of all animals (Calenge et al, 2009) while the QTLs on chromosomes 1 and 16 were also observed in the lines issued from the experiment of divergent selection on resistance to carrier-state described by Beaumont et al (2010) (Calenge et al, 2009). More recently, the development of a new generation of genetic markers, Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) allowed a denser coverage of the genome and the identification of new QTLs (Calenge et al, 2011; Fife et al, 2011) and the confirmation of the zone observed as on chromosome 2 (Fife et al, 2011). The results of all publications of QTL research are shown on Table 1.

Chromosome	Position (in cM or Mb)	Reference
1	85, 207 cM	Tilquin et al, 2005
	509 cM	Calenge et al, 2011
2	87 cM	Tilquin et al, 2005
	20 Mb	Fife et al, 2011
3	123 cM	Calenge et al, 2011
	96 Mb	Fife et al, 2011
4	158, 242 cM	Calenge et al, 2011
5	157 cM	Mariani et al, 2001
	100, 111 cM	Tilquin et al, 2005
	38 cM	Calenge et al, 2011
6	8 cM	Calenge et al, 2011
9	68 cM	Calenge et al, 2011
11	18 cM	Tilquin et al, 2005
	63 cM	Calenge et

		al, 2011
12	15 Mb	Fife et al, 2011
14	72, 74, 80 cM	Calenge et al, 2011
16	2 cM	Tilquin et al, 2005
18	12, 14 cM	Calenge et al, 2011
22	29 cM	Calenge et al, 2011
24	41 cM	Calenge et al, 2011
25	1 Mb cM	Fife et al, 2011
27	37, 54, 68 cM	Calenge et al, 2011

Tableau 1: Position of QTLs for resistance to *Salmonella* in chicken already published.

Functional genomics compares the levels of expression (i.e. of activity) of genes at the genome-wide level. It allows the identification of genes involved in the mechanisms of resistance and may also lead to the identification of the genes controlling resistance, provided that the mutations responsible for differences in resistance also result in variations in the levels of expression. Studies compared levels of expression before and after infection, on animals from the same genotypes, or between animals issued from resistant and susceptible poultry lines (for a review, see Calenge et al, 2010). Focussing on the expression of candidate immune genes allows a better understanding of their role (as in Sadeyen et al, 2004; Sadeyen et al, 2006; Swaggerty et al, 2006) in relation with the type of cells as shown by

Chausse et al (2011), when comparing results obtained on the whole caeca by Sadeyen et al (2004) to observations obtained on sorted cells from this organ.

2.4 Potential efficiency of marker assisted or genomic selection

Using results currently available makes it possible to use marker-assisted selection. A first experiment of SNP-assisted selection was achieved by Legarra et al (2011). A total of 600 animals were genotyped for 831 SNP; these markers explained a large proportion of genetic variance, even if no reduction in residual variance could be observed. This drawback will no doubt be alleviated when a larger number of SNP will be considered, leading to genomic selection, i.e. marker-assisted selection based on genotypes assessed though on a very large number of anonymous markers, most often SNP (Meuwissen et al, 2001). Genomic selection investigates the whole genome at least as far as the markers cover it. Even if no application of this procedure to selection of commercial fowls is known yet, that should be the case in the near future. That should especially hold for traits whose measure is expensive and heritability low, as resistance related traits. It should also make it possible to select for several resistance related traits, even if genetic correlations are negative.

However, even with genomic selection, the choice of selection criteria remains a main issue. Whatever the method, it is not possible to consider the numerous resistance-related traits that might be measured using the different protocols of experimental infection described in subsection 2.1. It is necessary to find out the most important ones. Modelling will no doubt be of great interest for such studies. It will consider current knowledge on genetic resistance and other prophylactic means and investigate what may be expected from different methods of selection and prevention as well as from their combination.

3. Mathematical modelling: a way to integrate genetic results for a better understanding of *Salmonella* propagation within a flock of hens

A few models have already been proposed to study *Salmonella* spread within hens (Leslie, 1996, Thomas et al, 2009; Prévost et al, 2006; Zongo et al, 2010a). In two models (Leslie, 1996; Thomas et al, 2009), the transmission of the *Salmonella* is determined by direct contact between animals and the density of bacteria in environment neglected. Prévost et al (2006, 2007, 2008) and Zongo et al (2010a) took into account the effect of the bacterial load of the environment. Variability in animal genetic resistance was introduced by Prévost et al (2008). They distinguished two subpopulations of hens, with a lower or higher resistance to *Salmonella* carrier-state, as the model is a deterministic compartmental model (i.e. the population is divided into categories). In Zongo et al (2010a), individuals are

represented, which makes it possible to model the contamination of each hen and to assume them to have varying degrees of resistance. In particular, effects of animal's capacity of defense on the evolution of the individual bacterial load were considered. Since the model is stochastic, the impact of this variability on propagation within the flock can be investigated.

3.1 Model at the population level

Classically, for a large population (as a flock), compartmental deterministic models are defined and the numbers of animals in each category are modelled. Prévost et al (2006) developed such a model. These authors considered four categories of hens. Naïve (also called susceptible) birds have no protection against *Salmonella*: they are at risk of becoming infected. For hens' contamination, three steps were distinguished. The first is digestive contamination, when the bacteria are located in the digestive tract. Systemic infection occurs after translocation of bacteria through the digestive barrier; it results in contamination of systemic organs, such as liver or spleen, and sometimes also in egg contamination. Afterwards, bacterial clearance leads to recovery (see figure 1).

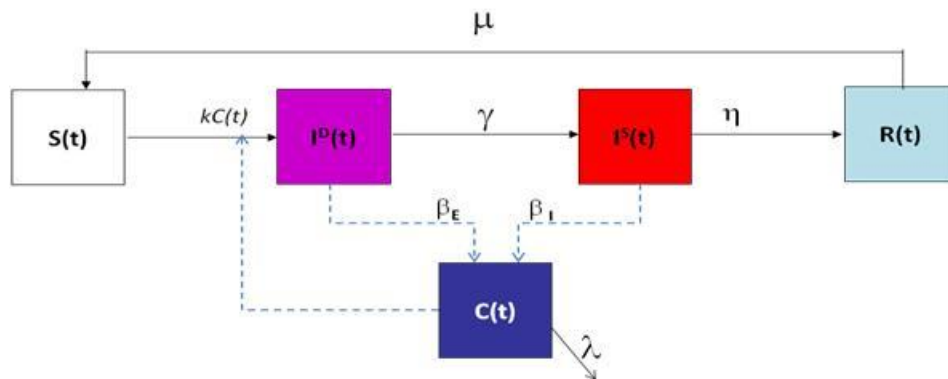


Figure 1: Diagrammatic representation of the evolution of health status for an individual at a given time t : individual may be susceptible (S), infected at the digestive level (I^D) or at the systemic level (I^S) or recovered (R). β_E and β_I are the rates of excretion of infected animals at the digestive or systemic levels. They contribute to the increase in the number of bacteria in the environment. The rate of transition ($kC(t)$) from the susceptible (S) to the infected at the digestive level (I^D) status depends on the number of bacteria in the environment ($C(t)$). Parameters γ , η and μ , respectively, are the rates of transition from one status to another (i.e. from infected at the digestive (I^D) to infected at the systemic level (I^S), from infected at the systemic level I^S to recovered (R) and from recovered to susceptible (S), respectively).

First contamination depends on the environmental bacterial load. Indeed, propagation of the infection may occur through aerosols from one contaminated animal to another animal, especially when they are reared in the same cage, or indirectly because of environmental contamination, mainly through water and feed. It is to note that this model neglected vertical transmission through transovarian route (Humphrey et al, 1989). Once contaminated at the digestive level, animals will become infected to a systemic level then get immunised. Thus, the rates of transition to the systemic level and, afterwards, the recovered status are constant.

Numerical analyses give hints for developing control measures as they highlight the influence of factors contributing to the variation of egg contamination and thus to the risk of human contamination. The recovery rate, representing the ability of hens to eliminate *Salmonella*, influences both maximal prevalence and duration of the epizooty. The rate of return to the susceptible state, i.e. the loss of protective immunity, is also of major importance. These results could be related to biological mechanisms. The mechanisms explaining the response to selection for a lower or higher contamination level were not the same. Selection on higher resistance had mostly modified the hen's clearance ability while a higher rate of return to the susceptible state was responsible for the higher level of contamination of the other line, which had a shorter immune protection time. This is coherent with results on immune response of lines differing (among other resistance traits) in resistance to carrier state, whether inbred (Sadeyen et al, 2006), or outbred (Proux et al, 2002; Protais et al, 2003).

The effect of the introduction of a proportion of more resistant animals among the population was investigated. It reduces the peak of infection (i.e. the maximal percentage of infected animals), because the more resistant animals excrete less bacteria in the environment, reducing cross contamination. But it also delays the extinction of the epizooty as a higher proportion of animals are still naïve and infected later. Increasing genetic resistance to a greater extent but in a proportion of the population or increasing it to a lesser extent but in all animals will lead to different results. Inversely, results of genotype comparisons will not be the same when animals with different degrees of bacterial clearance are reared together or not. This point should be further studied in practice.

The effect of vaccination on flocks with different levels of genetic ability to clear bacteria was also investigated. The vaccine was more efficient in more resistant animals, in relation with the differences in the persistence of immunity. These differences are coherent with observations made by Protais et al (2003). It is important to note that the combination of vaccination and genetic selection resulted in a percentage of contamination similar to what the European community is asking for.

3.2 Taking into account the variability at the animal level

A stochastic individual-based model was developed for a finer modelling of the variability of hen's response to contamination (Zongo et al, 2010a). Such models are largely used in ecology (Grimm et al, 2006) and were already used to model the growth and migration of *Salmonella* Enteritidis in hens' eggs (Grijnspeerdt et al, 2005). The model extends the model previously derived by Prévost et al (2006).

The variation over time (that is the derivative) of the individual bacterial load $B(\tau, x)$ was modelled as resulting from bacterial multiplication within the individual (i.e. growth rate), and from contamination by environmental bacteria. The latter was dependant on the number of bacteria present in the neighbourhood of the individual, that is the density of bacteria. It is to note that such a more precise modelling could also be derived using a deterministic approach as follows:

$$\underbrace{\frac{\partial B(\tau, x)}{\partial \tau}}_{\text{Variation within individual}} = \underbrace{g(B(\tau, x))}_{\text{Growth rate}} + \underbrace{I_p(t, x)}_{\text{Inhaled or ingested within environment}}$$

Equation 1: Derivative, according to time, of individual bacterial load ($B(t,x)$ at time t and position x is equal to the sum of growth rate, g , of $B(t,x)$ and of contamination through ingestion or inhalation of bacteria present in the neighbourhood, that is $I_p(C(t,x))$. This derivative is computed at each time step and position.

Contrary to Prévost et al (2008), two steps in digestive contamination were distinguished (Figure 2): a transient contamination and a long term one. When in the transient status, animals may overcome the contamination and get rid of the bacteria, provided that their bacterial load (thereafter denoted B) remains lower than a threshold D . Once the hen is contaminated at a bacteria load higher than D , its capacities of defence are overwhelmed and it will become systematically infected.

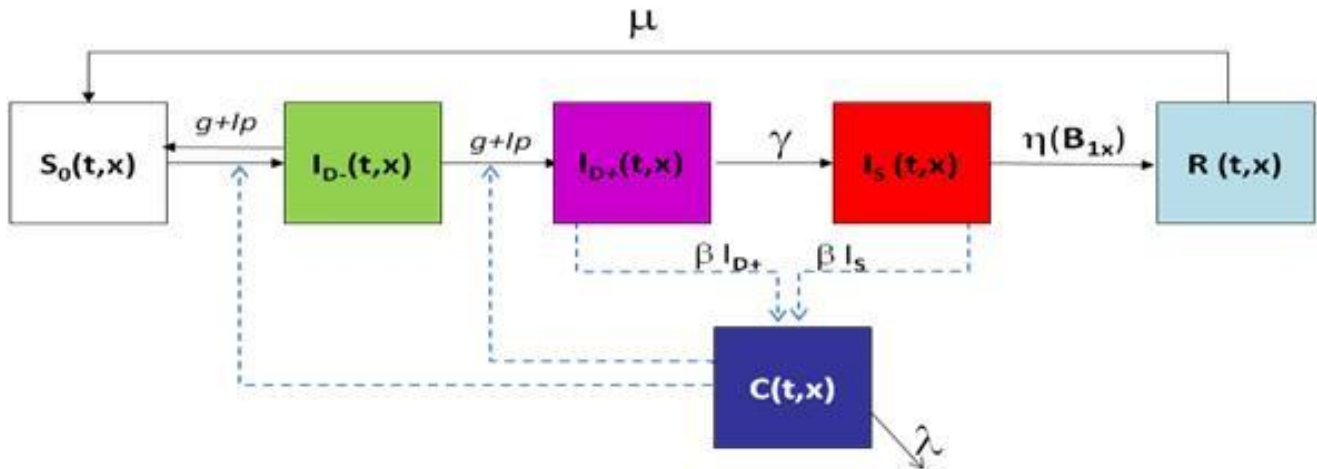


Figure 2 Diagrammatic representation of the evolution of health status for an individual at time t and position x and its interaction with the level of environmental contamination at this position, $C(t,x)$. The individual may be susceptible (S_0), infected at the digestive level with a low dose of contamination (I_{D-}), suffering from a long term digestive contamination (I_{D+}), contaminated at the systemic level (I_S) or recovered (R). The number of bacteria carried by an individual in the I_{D-} status depends on the growth rate g of its bacterial load and of the quantity of ingested bacteria; the latter depends on the level of environmental contamination in the neighbourhood ($I_{p(t,x)}$). The individual bacterial load regulates transitions from S_0 to I_{D-} (reciprocally from I_{D-} to S_0) and from I_{D-} to I_{D+} . Parameters γ , η and μ , respectively, regulates durations of status I_{D+} , I_S and R , respectively. β_{D+} and β_I are the rates of excretion of infected animals at respectively the transient digestive and systemic level.

Transitions from susceptible to digestive contamination status (both I_{D-} and I_{D+}) are regulated by the individual bacterial load, which is computed at each time step and for each animal. When it is greater than zero and lower than the individual threshold, $D(x)$, individual status changes from S_0 to I_{D-} . The individual may go back in S_0 -state unless $B(t_{n+1},x)$ becomes greater than $D(x)$ and individual status changes from I_{D-} to I_{D+} . Other transitions are stochastic with average durations equal to $1/\gamma$, $1/\eta(B_{1x})$ and $1/\mu$, respectively, for the transitions from I_{D+} -state to I_S -state, I_S -state to R -state and from R state to S_0 respectively.

The threshold $D(x)$ is assumed to vary from an animal to another as it depends on many factors: the bacterial strain (as can be seen for example from Bumstead and Barrow, 1993), gut flora (Nurmi et Rantala, 1973), animals' genetic resistance (§ 1). This variability and the differences in initial contamination result in a variability in bacterial load as can be seen on Figure 3.

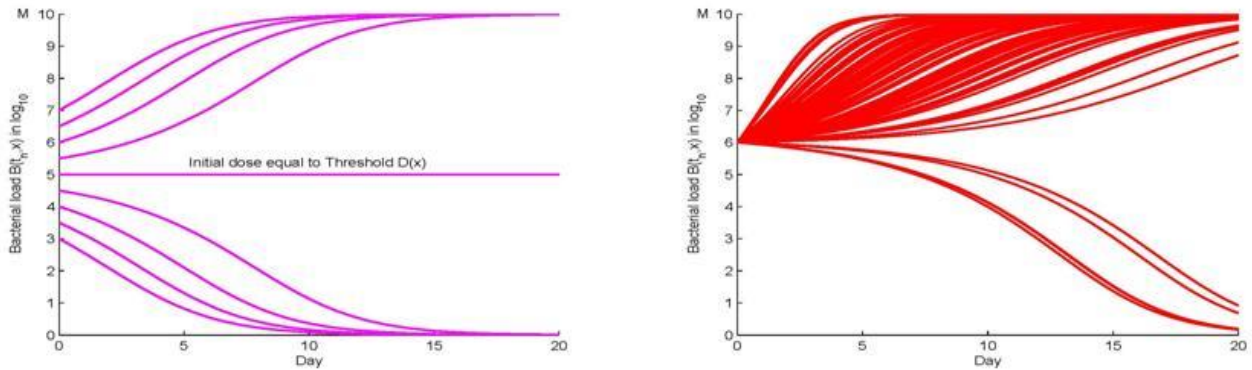


Figure 3 Evolution of individual bacterial load ($B(t,x)$) within an individual at the position x and time t according to the number of bacteria ingested by the animal and the threshold for animals' ability to overcome the contamination ($D(x)$). M is the maximal bacterial load that an animal may carry (set here at $10 \log_{10}$ c.f.u.). In (a), $D(x)$ is set to the same value for each animal ($5 \log_{10}$ c.f.u.). Four initial doses are above the threshold, one equal to it and four doses below it. In (b), the thresholds D are random, leading to different thresholds for each animal so that, for the same initial dose (set here at $6 \log_{10}$ c.f.u.), there is individual variability in evolution of the bacteria load.

The density of bacteria ($C(t,x)$) in the environment at time t and position x depends on the rate of diffusion of bacteria, on the natural rate of mortality of bacteria, λ , as well as on the density of bacteria excreted by infectious individuals close to position x .

As the model is spatial, Zongo et al (2010a) show that the position of the first contamination influences both the kinetics of infection and the maximal percentages of infected animals (see figure 4).

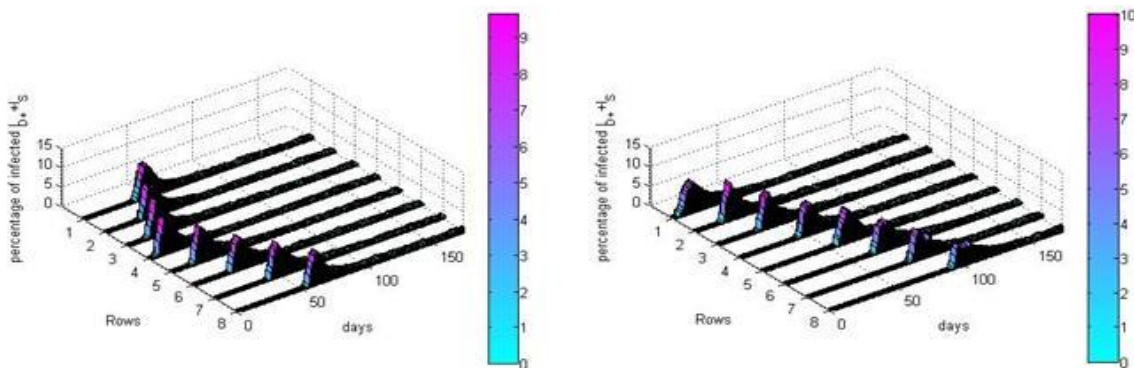


Figure 4: Influence of the position of the first infection on the evolution over time of the percentage of infected animals (at the digestive level, in a persistent way (I_{D+}), or systematically (I_S)), when (a) infection starts in the middle (row 4 out of 8) or (b) in the corner of the hen house (row 1 out of 8). Only median values of the sum of percentages of infected animal are represented. The color bars indicate the relation between color and percentage of infected animals.

One investigation considered two levels of excretion, since it may vary between hens (Ishola, 2009). As can be seen on figure 5, both the propagation speed and the maximum level of infection are strongly influenced (Zongo et al, 2010b). But more studies are still needed to investigate this question.

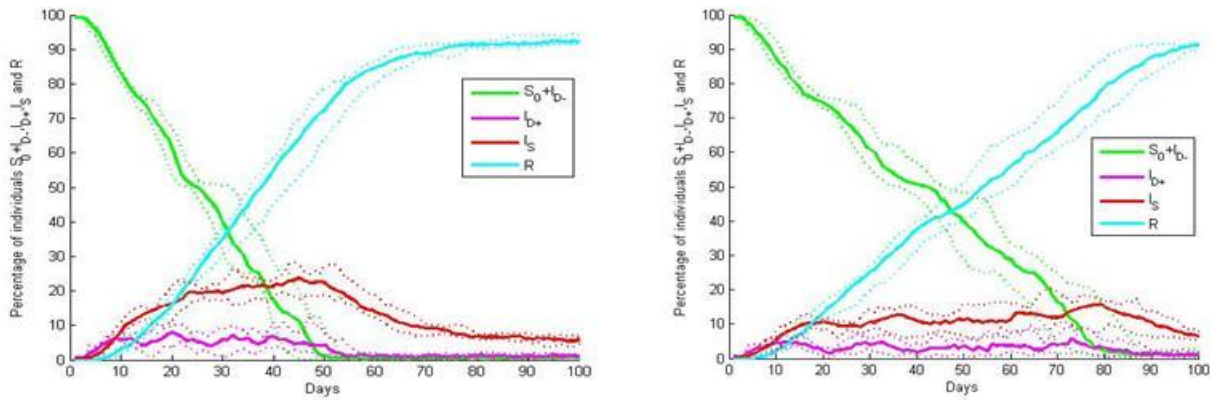


Figure 5 Evolution of status of individuals (susceptible (S_0), infected at the digestive level with a low dose of contamination (I_{D-}), suffering from a long term digestive contamination (I_{D+}), contaminated at the systemic level (I_S) or recovered (R)), according to days after the first contamination, when (a) all individuals in the I_{D+} or I -state excrete (b) half of individuals at I_{D+} -state or I_S -state excrete. Median values obtained on 100 simulations are shown by solid lines curves, while the 5th and 95th percentiles are shown by dotted lines.

3.3. Perspectives

First, the relative effects of animals' capacity of bacterial clearance and level of excretion should be studied. Both have important effects and most probably interact with each other and with the animals' capacities to overcome transient digestive contamination (threshold D). Since, in hen houses, bacterial doses are most often rather small, it will be important to study the effects of both average values and variability of these factors.

Second, interactions between animals may be more precisely modelled. The model derived by Zongo et al (2010a) assumes that all hens within a cage are contaminated at the same time and carry the same bacterial load. When the number of hens within cage becomes large, this major hypothesis does not totally hold. Moreover, new systems of rearing should be considered, such as aviaries, extensive rearing or enriched cages. They should be more and more frequent with the European commission banning of traditional cages after 2012. They no doubt interact with sanitary risks. *Salmonella* propagation should also be considered in flocks of younger animals.

Rearing together animals with different profiles of resistance should also be considered. It is worth comparing whether it is more efficient to select one type of resistance (as for example capacity of bacterial clearance or low level of excretion) or several resistance-related traits. In particular, flocks composed of several lines selected on different resistance related traits or performance should be considered. At a longer term, such studies should integrate the links between immune capacities and performance, as investigated by Van der Most et al (2011). Complementary studies should also consider egg yolk's genetic ability to resist bacterial infection as evidenced by Sellier et al (2007).

4. Conclusion

Selection for higher resistance to carrier-state may be an efficient way to control *Salmonella* propagation within a flock. It might profitably be used as an additional mean of prevention of human food poisoning. The choice of the selection criteria must be considered carefully as it will have a strong influence on the results of selection. Other means of prevention must also be considered to choose the best strategy of prevention according to its impact on the level of animal contamination and then on the *Salmonella* propagation. Modelling will contribute to integrate genetic and experimental data at individual level to evaluate the propagation at the population level. It will allow the comparison of the impact of different scenarios on the propagation within a flock with, for example, different profiles of resistance or different prophylactic measures. Reversely, these studies will ask new questions and necessitate new experiments to confirm results or give values of some parameters. In particular, if the resistance and the propagation are different according to *Salmonella* strains, different models can be developed, providing there are sufficient data to define them. For other pathogenic agents, such as *Campylobacter*, integrated studies should also be envisaged.

5. Acknowledgment

The grants Aliment Demain SF20 from French Ministries of Research and of Agriculture, RESISAL from French National Agency for Research, as well the help of the Region Centre and of the EADGENE Network of Excellence are greatly acknowledged. Pascal Zongo benefited from a post-doctoral scholarship from the INRA direction.

The authors are grateful to all those who contributed to these studies and in particular to the experimental units Pole d'Expérimentation Avicole de Tours et Plate-Forme d'Infectiologie Expérimentale de Tours who rear animals. The help of Nathaele Wacrenier for literature review is acknowledged.

6. References

Beaumont, C.; Protais, J.; Guillot, J.; Colin, P.; Proux, K.; Millet, N. et Pardon, P. (1999). Genetic Resistance to Mortality of Day-Old Chicks and Carrier-State of Hens after Inoculation with *Salmonella* Enteritidis. *Avian Pathology*, Vol. 28, No. 2, (Avril 1999.), pp. (131-135), ISSN 0307-9457

Beaumont, C.; Dambrine, G.; Chaussé, A.-M. et Flock, D. (2003a). Selection for Disease Resistance : Conventional Breeding for Resistance to Bacteria and Viruses, In: *Poultry Genetics, Breeding and Biotechnology*, W. Muir et S. Aggrey (Eds.), pp. (357-382), CAB International, ISBN 0-85199-660-4, Oxon, UK

Beaumont, C.; Protais, J.; Pitel, F.; Leveque, G.; Malo, D.; Lantier, F.; Plisson-Petit, F.; Colin, P.; Protais, M.; Roy, P. L.; Elsen, J.; Milan, D.; Lantier, I.; Neau, A.; Salvat, G. et Vignal, A. (2003b). Effects of Two Candidate Genes on the *Salmonella* Carrier-State in Fowl. *Poultry Science*, Vol. 82, No. 5, (May 2003.), pp. (721-726), ISSN 0032-5791

Beaumont, C.; Chapuis, H.; Sellier, N.; Calenge, F.; Zongo, P.; Velge, P. et Protais, J. (2009). Selection for Increased Resistance to *Salmonella* Carrier-State. *World Poultry Science Association (WPSA), 6th European Poultry Genetics Symposium, Bedlewo, Poland, 30 September - 2 October, 2009*, pp.(26-35)

Beaumont, C.; Chapuis, H.; Sellier, N.; Calenge, F.; Zongo, P.; Velge, P. et Protais, J. (2010). Selection for Increased Resistance to *Salmonella* Carrier-State. *Worlds Poultry Science Journal*, Vol. 66, No. 2, (June 2010), pp. (251-259), ISSN 0043-9339

Bumstead, N. et Barrow, P. (1988). Genetics of Resistance to *Salmonella* Typhimurium in Newly Hatched Chicks. *British Poultry Science*, Vol. 29, No. 3, (September 1988), pp. (521-529), ISSN 0007-1668

Bumstead, N. et Barrow, P. (1993). Resistance to *Salmonella Gallinarum*, *S. Pullorum* and *S. Enteritidis* in Inbred Lines of Chickens. *Avian Diseases*, Vol. 37, No. 1, (January 1993.), pp. (189-193), ISSN 0005-2086

Calenge, F.; Lecerf, F.; Demars, J.; Feve, K.; Vignoles, F.; Pitel, F.; Vignal, A.; Velge, P.; Sellier, N. et Beaumont, C. (2009). Qtl for Resistance to *Salmonella* Carrier State Confirmed in Both Experimental and Commercial Chicken Lines. *Animal Genetics*, Vol. 40, No. 5, (April 2009), pp. (590-597), ISSN 0268-9146

Calenge, F.; Kaiser, P.; Vignal, A. et Beaumont, C. (2010). Genetic Control of Resistance to Salmonellosis and to *Salmonella* Carrier-State in Fowl: A Review. *Genetics Selection Evolution*, Vol. 42, No. 11, (April 2010), doi:10.1186/1297-9686-42-11, ISSN 0999-193X

Calenge, F.; Vignal, A.; Demars, J.; Feve, K.; Menanteau, P.; Velge, P. et Beaumont, C. (2011). New Qtl for Resistance to *Salmonella* Carrier-State Identified on Fowl Microchromosomes. *Molecular Genetics and Genomics*, Vol. 285, No. 3, pp. (237-243), ISSN 1617-4615

Caron, J.; Loredó-Osti, J.; Laroche, L.; Skamene, E.; Morgan, K. et Malo, D. (2002). Identification of Genetic Loci Controlling Bacterial Clearance in Experimental *Salmonella* *Enteritidis* Infection : An Unexpected Role of Nramp1 (Slc11a1) in the Persistence of Infection in Mice. *Genes and Immunity*, Vol. 3, No. 4, (June 2002), pp. 196-204, ISSN 1466-4879

Chaussé, A. M. ; Grépinet, O.; Bottreau, E.; Le Vern, Y. ; Menanteau, P. ; Trotereau, J. ; Robert, V. ; Kaiser, P. ; Kerboeuf, D. ; Beaumont, C. et Velge, P. (2011) Expression of TLR4 and downstream effectors in selected caecal cell sub-populations of chicks resistant or susceptible to *Salmonella* carrier-state. *Infection and Immunity*, Vol.79, No. 8, (August 2011), pp (3445-3454), ISSN : 0019-9567

DeVult, H.; Quigley, G. et Byerly, T. (1941). Studies of Resistance to Pullorum Diseases in Chickens. *Poultry Science*, Vol. 20, No. 4, pp. (339-341), ISSN 0032-5791

Duchet-Suchaux, M.; Léchopier, P.; Marly, J.; Bernardet, P.; Delaunay, R. et Pardon, P. (1995). Quantification of Experimental *Salmonella* Enteritidis Carrier State in B13 Leghorn Chicks. *Avian Diseases*, Vol. 39, No. 4, (October-December 1995) pp. (796-803), ISSN 0005-2086

Duchet-Suchaux, M.; Mompert, F.; Berthelot, F.; Beaumont, C.; Léchopier, P. et Pardon, P. (1997). Differences in Frequency, Level and Duration of Cecal Carriage between Four Outbred Chicken Lines Infected Orally with *Salmonella* Enteritidis. *Avian Diseases*, Vol. 41, No. 3, (July-September 1997), pp. (559-567), ISSN 0005-2086

EFSA. (2007a). *The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2005*, EFSA, Retrieved from http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620767319.htm

EFSA. (2007b). Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the Baseline Survey on the Prevalence of *Salmonella* in Broiler Flocks of Gallus Gallus, in the Eu, 2005-2006. *The EFSA Journal*, Vol. 98, No 2, (April 2007.), pp. (1-85) ISSN 1831-4732

EFSA. (2011). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009. *The EFSA Journal*, Vol. 9, No. 3, (March 2010), pp. (2090-2367), ISSN 1831-4732

Fife, M.; Salmon, N.; Hocking, P. et Kaiser, P. (2009). Fine Mapping of the Chicken Salmonellosis Resistance Locus (Sal1). *Animal Genetics*, Vol. 40, No. 6, (December 2009), pp. (871-877), ISSN 0268-9146

Fife, M.; Howell, J.; Salmon, N.; Hocking, P.; van Diemen, P.; Jones, M.; Stevens, M. et Kaiser, P. (2011). Genome-Wide Snp Analysis Identified Major Qtl for *Salmonella* Colonization in the Chicken. *Animal Genetics*, Vol. 42, No. 2, (April 2011), pp. (134-140), ISSN 0268-9146

Ghebremicael, S.B.; Hasenstein, J.R. et Lamont, S. (2008). Association of interleukin-10 cluster genes and *Salmonella* response in the chicken. *Poultry Science*, Vol. 87, No. 1, (January 2008), pp (22-26), ISSN 0043-9339

Girard-Santosuosso, O. (1997). Partial Conservation of the Mammalian Nramp1 Syntenic Group on Chicken Chromosome 7. *Mammalian Genome*, Vol. 8, (August 2007), pp. (614-616) ISSN 0938-8990

Girard-Santosuosso, O.; Lantier, F.; Lantier, I.; Bumstead, N.; Elsen, J.-M. et Beaumont, C. (2002). Heritability of Susceptibility to *Salmonella Enteritidis* Infection in Fowls and Test of the Role of the Chromosome Carrying the Nramp1 Gene. *Genetic Selection Evolution*, Vol. 342, (April 2002), pp. (211-219), ISSN 0999-193X

Grijnspeerdt, K.; Kreft, J. U. et Messens, W. (2005). Individual-Based Modelling of Growth and Migration of *Salmonella Enteritidis* in Hens' Eggs. *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 100, No. 1-3, (April 2005), pp. (323-333), ISSN 0168-1605

Grimm, V.; Berger, U.; Bastiansen, F.; Eliassen, S.; Ginot, V.; Giske, J.; Goss-Custard, J.; Grand, T.; Heinz, S. K.; Huse, G.; Huth, A.; Jepsen, J. U.; Jorgensen, C.; Mooij, W. M.; Müller, B.; Pe'er, G.; Piou, C.; Railsback, S. F.; Robbins, A. M.; Robbins, M. M.; Rossmannith, E.; Rüger, N.; Strand, E.; Souissi, S.; Stillman, R. A.; Vabo, R.; Visser, U. et DeAngelis, D. L. (2006). A Standard Protocol for Describing Individual-Based and Agent-Based Models. *Ecological Modelling*, Vol. 198, No. 1-2, (June 2006), pp. 115-126), ISSN 0304-3800

Guillot, J.; Beaumont, C.; Bellatif, F.; Mouline, C.; Lantier, F.; Colin, P. et Protais, J. (1995). Comparison of Resistance of Various Poultry Lines to Infection by *Salmonella Enteritidis*. *Veterinary Research*, Vol. 26, No. 2, pp. (81-86), ISSN 0928-4249

Hasenstein, J. R. et Lamont, S. J. (2007). Chicken Gallinacin Gene Cluster Associated with *Salmonella* Response in Advanced Intercross Line. *Avian Diseases*, Vol. 51, No. 2, (June 2007), pp. (561-567), ISSN 0005-2086

Hu, J.; Bumstead, N.; Burke, D.; FA, P. d. L.; Skamene, E.; Gros, P. et Malo, D. (1995). Genetic and Physical Mapping of the Natural Resistance-Associated Macrophage Protein 1 (Nramp1) in Chicken. *Mammalian Genome*, Vol. 6, No. 11, (November 1995), pp. (809-815), ISSN 0938-8990

Hu, J.; Bumstead, N.; Skamene, E.; Gros, P. et Malo, D. (1996). Structural Organization, Sequence, and Expression of the Chicken Nramp1 Gene Encoding the Natural Resistance-Associated Macrophage Protein 1. *DNA Cell Biol*, Vol. 15, No. 2, (February 1996), pp. (113-123), ISSN 1044-5498

Hu, J.; Bumstead, N.; Barrow, P.; Sebastiani, G.; Olien, L.; Morgan, K. et D, M. (1997). Resistance to Salmonellosis in the Chicken Is Linked to Nramp1 and Tnc. *Genome Research*, Vol. 7, No. 7, (July 1997), pp. (693-704), ISSN 1088-9051

- Humphrey, T.J.; Baskerville, A.; Mawer, S.; Rowe, B, et Hopper, S. (1989) *Salmonella* Enteritidis Phage Type 4 From The Contents Of Intact Eggs: A Study Involving Naturally Infected Hens. *Epidemiology and Infection*, Vol. 103, No. 3, (December 1989), pp.(415-423), ISSN 0950-2688
- Humphrey, T. J. (1990). Public Health Implications of Infection of Egg-Laying Hens with *Salmonella* Enteritidis Phage Type 4. *World Poultry Science Association Journal*, Vol. 46, No. 1, (March 1990), pp. 5-13, ISSN 0043-9339
- Hutt, F. et Scholes, J. (1941). XIII. Breed Differences in Susceptibility to *Salmonella* Pullorum. *Poultry Science*, Vol. 20, No. 4, (July 1941), pp. 342-352) , ISSN 0032-5791
- Ishola, O. O. (2009) Effects Of Challenge Dose On Faecal Shedding Of *Salmonella* Enteritidis In Experimental Infected Chickens. *African Journal of Biotechnology* , Vol. 8, No. 7, (April 2009), pp. (1343–1346), ISSN 1684-5315
- Janss, L. L. G. et Bolder, N. M. (2000). Heritabilities of and Genetic Relationships between *Salmonella* Resistance Traits in Broilers. *Journal of Animal Science*, Vol. 78, No. 9, (September 2000), pp. (2287-2291), ISSN 0021-8812
- Kramer, J.; Malek, M. et Lamont, S. (2003). Association of Twelve Candidate Gene Polymorphisms and Response to Challenge with *Salmonella* Enteritidis in Poultry. *Animal Genetics*, Vol. 34, No. 5, (October 2003), pp. (339-348), ISSN 0268-9146
- Lambert, W. et Knox, C. (1928). The Inheritance of Resistance to Fowl Typhoid in Chickens. *Iowa State Journal of Science*, Vol. 2, pp. (179-187)
- Lambert, W. V. (1932). Natural Resistance to Disease in the Chicken. Natural Resistance to disease in the chickens. III The Comparative Resistance of Different Breeds. *Journal of Immunology*, Vol. 23, No.3, (September 1932), pp. (253–259) , ISSN 0022-1767
- Lamont, S.; Kaiser, M. et Liu, W. (2002). Candidate Genes for Resistance to *Salmonella* Enteritidis Colonization in Chickens as Detected in a Novel Genetic Cross. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, Vol. 87, No. 3-4, (September 2002), pp. (423-428), ISSN 0165-2427

- Legarra, A.; Calenge, F.; Mariani, P.; Velge, P. et Beaumont, C. (2011). Use of a Reduced Set of Single Nucleotide Polymorphisms for Genetic Evaluation of Resistance to *Salmonella* Carrier State in Laying Hens. *Poultry Science*, Vol. 90, No. 4, (April 2011), pp. (731-736), ISSN 0032-5791
- Leslie, J. (1996). Simulation of the Transmission of *Salmonella* Enteritidis Phage Type 4 in a Flock of Laying Hens. *Veterinary Record*, Vol. 139, No. 16, (October 1996), pp. (388-391), ISSN 0042-4900
- Leveque, G.; Forgetta, V.; Morroll, S.; Smith, A.; Bumstead, N.; Barrow, P.; Loredó-Osti, J.; Morgan, K. et Malo, D. (2003). Allelic Variation in *Tlr4* Is Linked to Susceptibility to *Salmonella* Enterica Serovar Typhimurium Infection in Chickens. *Infection and Immunity*, Vol. 71, No. 3, (March 2003), pp. (1116-1124), ISSN 0019-9567
- Lindell, K.; Saeed, A. et McCabe, G. (1994). Evaluation of Resistance of Four Strains of Commercial Laying Hens to Experimental Infection with *Salmonella* Enteritidis Phage Type Eight. *Poultry Science*, Vol. 73, No. 6, (June 1994), pp. (757-762), ISSN 0032-5791
- Liu, W.; Miller, M. et Lamont, S. (2002). Association of Mhc Class I and Class I Gene Polymorphisms with Vaccine or Challenge Response to *Salmonella* Enteritidis in Young Chicks. *Immunogenetics*, Vol. 54, No. 8, (November 2002), pp. (582-590), ISSN 0093-7711
- Mariani, P.; Barrow, P.; Chang, H.; Groenen, M.; Negrini, R. et Bumstead, N. (2001). Localization to Chicken Chromosome 5 of a Novel Locus Determining Salmonellosis Resistance. *Immunogenetics*, Vol. 53, No. 9, (December 2001), pp. (786-791), ISSN 0093-7711
- Meuwissen, T.; Hayes, B. et Goddard, M. (2001). Prediction of Total Genetic Value Using Genome Wide Dense Marker Maps. *Genetics*, Vol. 157, No. 4, (April 2001), pp. (1819-1829), ISSN 0016-6731
- Nurmi, E. et Rantala, M. (1973). New Aspects of *Salmonella* Infection in Broiler Production. *Nature*, Vol. 241, No. 5386, (January 1973), pp. (210-211), ISSN 0028-0836
- Prévost, K.; Magal, P. et Beaumont, C. (2006). A Model of *Salmonella* Infection within Industrial House Hens. *Journal of Theoretical Biology*, Vol. 242, No. 3, (October 2006), pp.(755-763), ISSN: 0022-5193

Prévost, K. ; Magal, P.; Protais, J. et Beaumont, C. (2008), Effect of hens' genetic resistance to *Salmonella* carrier-state on incidence of bacterial contamination: synergy with vaccination, *Veterinary Research*, Vol. 39, No. 2, (March-April 2008), doi: 10.1051/vetres:2007058, ISSN 0928-4249

Prévost, K. ; Beaumont, C. et Magal, P. (2007), Asymptotic behavior in a *Salmonella* Infection Model, *Mathematical Modelling of Natural Phenomena*, Vol. 2, No. 1, (January 2007), pp. (1-22), ISSN: 0973-5348

Protais, J.; Nagard, B.; Boscher, E.; Queguiner, S. ; Beaumont, C. et Salvat, G. (2003). Changes in *Salmonella Enteritidis* Contamination in Two Layer Lines Vaccinated During the Rearing Period. *British Poultry Science*, Vol. 44, No. 5, (December 2003), pp. (827-828), ISSN 0007-1668

Protais, J.; Colin, P.; Beaumont, C.; Guillot, J.; Lantier, F.; Pardon, P. et Bennejean, G. (1996). Line Differences in Resistance to *Salmonella Enteritidis* Pt4 Infection. , *Poultry Science*, Vol. 37, No. 2, (May 1996), pp.(329-339), ISSN 0007-1668

Proux, K.; Jouy, E.; Houdayer, C.; Protais, J.; Dibb-Füller, M.; Boscher, E.; Gillard, A.; Gracieux, P.; Gilbert, F.; Beaumont, C. et Duchet-Suchaux, M. (2002). Reliable Elisas Showing Differences between Resistant and Susceptible Lines in Hens Orally Inoculated with *Salmonella Enteritidis*. *Veterinary Research*, Vol. 33, No. 1, (January-February 2002), pp. (23-33), ISSN 0928-4249

Sadeyen, J.-R.; Trotureau, J.; velge, P.; Marly, J.; Beaumont, C.; Barrow, P.; Bumstead, N. et Lalmanach, A.-C. (2004). *Salmonella* Carrier State in Chicken: Comparison of Expression of Immune Response Genes between Susceptible and Resistant Animals. *Microbes and Infection*, Vol. 6, No. 14, (November 2004), pp. (1278-1286), ISSN 1286-4579

Sadeyen, J.-R.; Trotureau, J.; Protais, J.; Beaumont, C.; Sellier, N.; Salvat, G.; Velge, P. et Lalmanach, A.-C. (2006). *Salmonella* Carrier-State in Hens: Study of Host Resistance by a Gene Expression Approach. *Microbes and Infection*, Vol. 8, No. 5, (April 2006), pp. (1308-1314), ISSN 1286-4579

Sellier, N.; Vidal, M. L.; Baron, F.; Michel, J.; Gautron, J.; Protais, M.; Beaumont, C.; Gautier, M. et Nys, Y. (2007). Estimations of Repeatability and Heritability of Egg Albumen Antimicrobial Activity and of Lysozyme and Ovotransferrin Concentrations. *British Poultry Science*, Vol. 48, No. 5, (October 2007), pp. (559-566), ISSN 0007-1668

- Swaggerty, C.; Kaiser, P.; Rothwell, L.; Pevzner, I. et Kogut, M. (2006). Heterophil Cytokine Mrna Profiles from Genetically Distinct Lines of Chickens with Differential Heterophil-Mediated Innate Immune Responses. *Avian Pathology*, Vol. 35, No. 2, (April 2006), pp. (102-109), ISSN 0307-9457
- Thomas, M. E.; Klinkenberg, D.; Ejeta, G.; Knapen, F. V.; Bergwerff, A. A.; Stegeman, J. A. et Bouma, A. (2009). Quantification of Horizontal Transmission of *Salmonella Enterica* Serovar Enteritidis Bacteria in Pair-Housed Groups of Laying Hens. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 75, No. 19, (October 2009), pp. (6361-6366), ISSN 0099-2240
- Tilquin, P.; Barrow, P.; Marly, J.; Pitel, F.; Plisson-Petit, F.; Velge, P.; Vignal, A.; Baret, P.; Bumstead, N. et Beaumont, C. (2005). A Genome Scan for Quantitative Trait Loci Affecting the *Salmonella* Carrier-State in the Chicken. *Genetics Selection Evolution*, Vol. 37, No. 5, (September-October 2005), pp. 539-561, ISSN 0999-193X
- Van der Most, P. J. ; De Jong, B. ; Parmentier, H. K. et Verhulst, S. (2010) Ecological immunology Trade-Off Between Growth And Immune Function: A Meta-Analysis Of Selection Experiments. *Functional Ecology*. Vol. 25, No. 1, (February 2011), pp. (74-80), doi: 10.1111/j. pp. 1365-2435. 2010.01800.x, ISSN 0269-8463
- Vidal, S.; Tremblay, M.; Govoni, G.; Gauthier, S.; Sebastiani, G.; Malo, D.; Skamene, E.; Olivier, M.; Jothy, S. et Gros, P. (1993). The Ity/Lsh/Bcg Locus: Natural Resistance to Infection with Intracellular Parasites Is Abrogated by Disruption of the Nramp1 Gene. *Journal of Experimental Medicine*, Vol. 182, No. 3, (September 1995), pp. (655-666), ISSN 0022-1007
- Zhang-Barber, L.; Turner, A. K. et Barrow, P. A. (1999). Vaccination for Control of *Salmonella* in Poultry. *Vaccine*, Vol. 17, No. 20-21, (June 1999), pp. (2538-2545), ISSN 0264-410X
- Zongo, P.; Viet, A.-F.; Magal, P. et Beaumont, C. (2010a). A Spatio-Temporal Model to Describe the Spread of *Salmonella* within a Laying Flock. *Journal of Theoretical Biology*, Vol. 267, No. 4, (December 2010), pp. (595-604), ISSN 0022-5193
- Zongo, P. ; Viet, A.F. ; Magal, P. et Beaumont, C. (2010b) A Model Of Spatio-Temporal Propagation Of *Salmonella* Considering The Animal Immune Response, *European Poultry Conference*, Tours, France, August 24-26, 2010.

V. Une analyse QTL par la méthode du maximum de vraisemblance révèle des régions génomiques contrôlant à la fois la résistance à la colonisation et la résistance au portage de salmonelles.

Les différentes analyses QTL publiées jusqu'à ce travail de thèse ont identifié de nombreux QTLs à effets faibles (figure 12). Ces QTLs sont assez instables et aucun n'a été identifié systématiquement dans chacune des analyses effectuées. Toutes ces analyses ont été réalisées en utilisant l'option "F2 inbred" du logiciel QTLEXPRESS (Seaton et al, 2006). Cette option repose sur l'hypothèse que tous les pères F1 sont hétérozygotes et partagent l'effet d'un QTL commun. Or il est probable que ce ne soit pas toujours vrai dans notre cas, les lignées parentales n'étant pas complètement fixées.

L'objectif de cette première partie de ma thèse était de tester une autre méthode d'analyse QTL utilisant la méthode du maximum de vraisemblance, ce qui a été fait avec le logiciel QTLMap développé à l'INRA. Cette méthode ne suppose pas la fixation des allèles aux QTLs dans les lignées parentales. Il est donc possible de tester l'existence de QTL d'effets différent entre les familles de père. Avec QTLMap, il est aussi possible de tester la coexistence de deux QTLs sur un même chromosome et d'analyser des données discrètes. J'ai donc étudié non seulement les résultats des écouvillonnages cloacaux (CLOAQUE4 et CLOAQUE5) mais aussi ceux de la variable discrète déduite des précédentes, présence/absence de salmonelles dans les cloaques (CLOAQUE4d et CLOAQUE5d). Pour ces analyses j'ai utilisé les mêmes données que celles de l'analyse précédente (Calenge et al, 2011), c'est-à-dire deux populations de 185 et 193 animaux F2 issues des lignées parentales consanguines N (sensible) et 6₁ (résistante) génotypées avec 480 marqueurs SNP. J'ai ainsi observé l'impact sur la détection de QTLs de deux approches statistiques différentes en utilisant les mêmes données. Les principaux résultats sont résumés sur les figures 13 pour les analyses mono-QTL et 14 pour les analyses deux QTL.

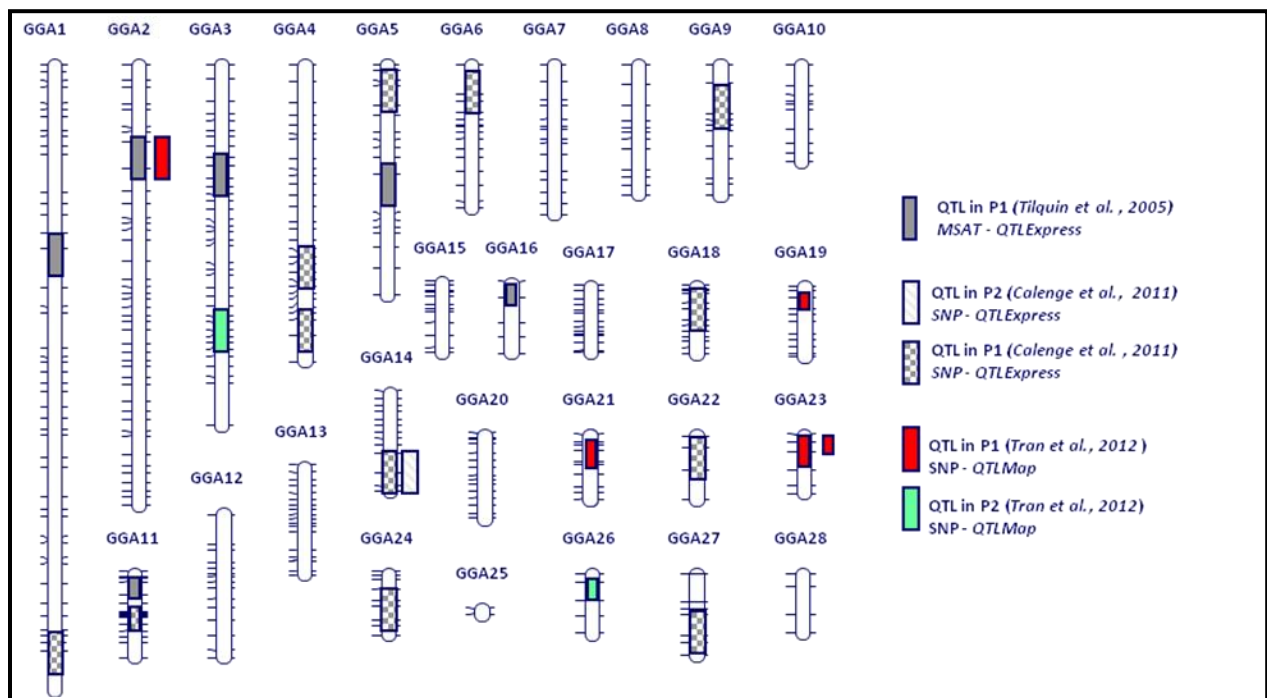


Figure 13: Positions des QTLs de résistance au portage de salmonelles détectés dans le dispositif 1 (P1) et dans le dispositif 2 (P2) durant cette thèse avec le logiciel QTLMap par la méthode du maximum de vraisemblance, sous le modèle à un QTL, par rapport aux QTLs identifiés précédemment.

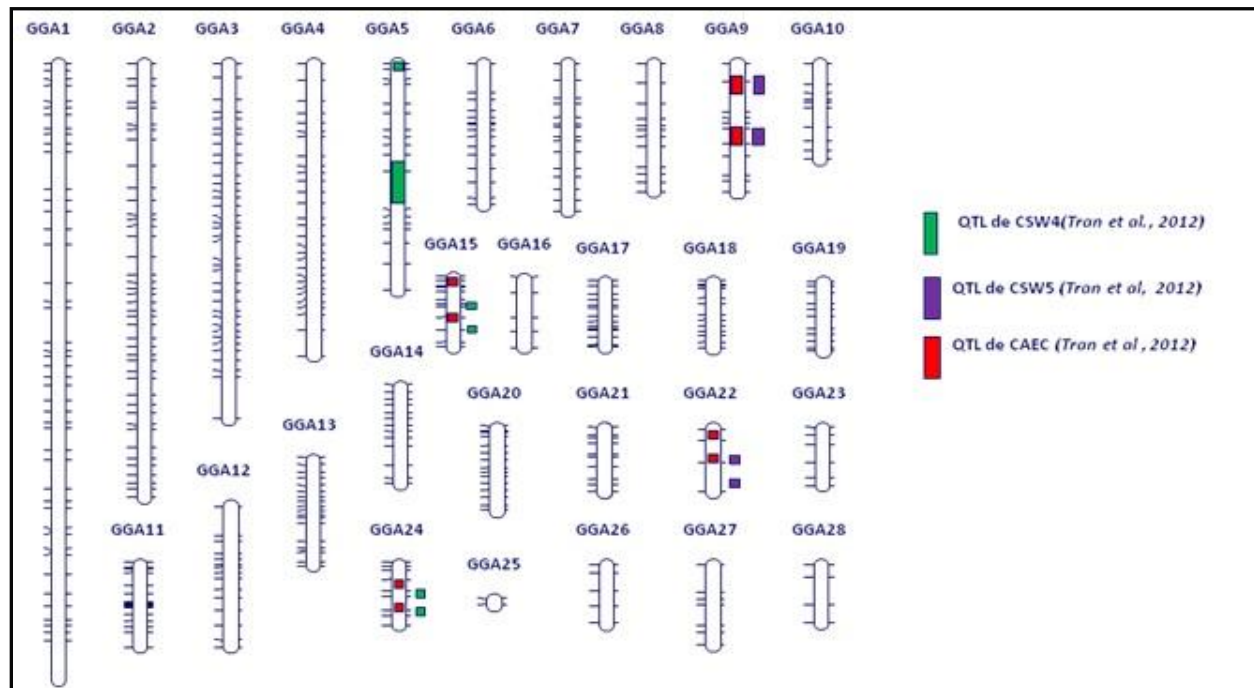


Figure 14: Positions des QTLs de résistance au portage de salmonelles détectés durant cette thèse avec le logiciel QTLMap par la méthode du maximum de vraisemblance, sous le test de la hypothèse de deux QTLs versus celle de l'absence de QTLs dans le dispositif P1 (CLOAQUE4 : niveau de contamination cloacale 4 semaines après inoculation, CLOAQUE5 : niveau de contamination cloacale 5 semaines après inoculation CAEC : niveau de contamination caecale 5 semaines après inoculation).

Tableau 4: Effet des QTLs sous le modèle d'analyse mono-QTL

Chr ¹	Dispositif	Caractère	QTL (cM) ²	NFS ³	Effet QTL (en écart-type du caractère)
2	P1	CAEC	86	4	1.00
3	P2	CAEC	236	5	0.63
19	P1	CAEC	21	3	0.41
21	P1	CLOAQUE4	3	4	0.22
23	P1	CAEC	10	5	0.51
23	P1	CLOAQUE4d	1	6	0.04
26	P2	CAEC	29	2	0.66

¹Chromosome ; ²Position du QTL en cM ; ³Nombre de familles de père pour lesquelles l'hétérozygotie est significative

Tableau 5: Effet des QTLs estimé avec le modèle d'analyse deux-QTLs

Chr ¹	Dispositif	Caractère ²	QTL (cM) ³	NFS ⁴	Effet QTL (en écart-type du caractère)
5	P1	CLOAQUE4	2	3	0.26
			104	5	0.21
9	P1	CAEC	46	2	0.04
			56	4	1.59
		CLOAQUE5	45	4	0.15
			52	2	0.01
15	P1	CAEC	8	4	0.16
			29	4	0.24
		CLOAQUE4	20	5	0.27
			33	4	0.18
22	P1	CAEC	0	4	0.25
			28	4	0.26
		CLOAQUE5	29	4	0.09
			42	4	0.12
24	P1	CAEC	23	5	0.31
			51	6	0.31
		CLOAQUE4	44	6	0.13
			51	6	0.20

¹Chromosome ; ²CLOAQUE4 : niveau de contamination cloacale 4 semaines après inoculation, CLOAQUE5 : niveau de contamination cloacale 5 semaines après inoculation CAEC : niveau de contamination caecale 5 semaines après inoculation ; ³Position de deux QTLs détectés en cM (pour chaque caractère QTL 1 en haut, QTL 2 en bas) ; ⁴Nombre de familles de père pour lesquelles l'hétérozygotie est significative.

Nous avons également testé l'existence de zones génomiques communes entre la résistance à la colonisation intestinale précoce et la résistance au portage avec l'utilisation d'une densité de marqueurs accrue dans les régions QTL contrôlant la colonisation intestinale précoce par les salmonelles par *S. Typhimurium*, identifiés sur les chromosomes 2 et 3 (Fife et al, 2011). Nous avons ainsi montré qu'une zone du génome contrôle pour partie ces deux caractères.

Le programme AnnotQTL a été utilisé pour identifier des gènes candidats positionnels et fonctionnels. Afin de limiter le nombre de gènes candidats, nous avons choisi de cibler les zones entourant les QTLs détectés par analyse mono-QTL et délimitées par les deux marqueurs flanquant chaque pic de QTL. Nous avons choisi uniquement les gènes et les micro-ARN impliqués dans la réponse immunitaire.

Article 2: A maximum likelihood QTL analysis reveals common genome regions controlling resistance to *Salmonella* colonization and carrier-state.

BMC Genomics 2012, 13:198

Tran Thanh-Son¹, Beaumont Catherine¹, Salmon Nigel², Fife Mark², Kaiser Pete³, Le Bihan-Duval Elisabeth¹, Vignal Alain⁴, Velge Philippe⁵, Calenge Fanny^{1§}.

¹ INRA, UR83 Recherches Avicoles, F-37083 Nouzilly, France

² Institute for Animal Health, Compton, Berkshire, RG20 7NN, UK

³ The Roslin Institute et R(D)SVS , University of Edinburgh, Easter Bush, Midlothian EH25 9RG, UK

⁴ INRA UR 0444 Laboratoire de Génétique Cellulaire, F-31326 Auzeville, France

⁵ INRA, UR 1282 IASP Infectiologie Animale et Santé Publique, F-37083 Nouzilly, France

[§] Corresponding author

E-mail addresses

TST: Son.Tran@tours.inra.fr

CB: Catherine.Beaumont@tours.inra.fr

NS: nigel.salmon@iah.ac.uk

MF: mark.fife@iah.ac.uk

PK: pete.kaiser@roslin.ed.ac.uk

ELD: Elisabeth.Duval@tours.inra.fr

AV: Alain.Vignal@toulouse.inra.fr

PV: Philippe.Velge@tours.inra.fr

FC: Fanny.Calenge@tours.inra.fr

Abstract

Background

The serovars Enteritidis and Typhimurium of the Gram-negative bacterium *Salmonella enterica* are significant causes of human food poisoning. Fowl carrying these bacteria often show no clinical disease, with detection only established post-mortem. Increased resistance to the carrier state in commercial poultry could be a way to improve food safety by reducing the spread of these bacteria in poultry flocks. Previous studies identified QTLs for both resistance to carrier state and resistance to *Salmonella* colonization in the same White Leghorn inbred lines. Until now, none of the QTLs identified was common to the two types of resistance. All these analyses were performed using the F2 inbred or backcross option of the QTLEXPRESS software based on linear regression. In the present study, QTL analysis was achieved using Maximum Likelihood with QTLMap software, in order to test the effect of the QTL analysis method on QTL detection. We analyzed the same phenotypic and genotypic data as that used in previous studies, which were collected on 378 animals genotyped with 480 genome-wide SNP markers. To enrich these data, we added eleven SNP markers located within QTLs controlling resistance to colonization and we looked for potential candidate genes co-localizing with QTLs.

Results

In our case the QTL analysis method had an important impact on QTL detection. We were able to identify new genomic regions controlling resistance to carrier-state, in particular by testing the existence of two segregating QTLs. But some of the previously identified QTLs were not confirmed. Interestingly, two QTLs were detected on chromosomes 2 and 3, close to the locations of the major QTLs controlling resistance to colonization and to candidate genes involved in the immune response identified in other, independent studies.

Conclusions

Due to the lack of stability of the QTLs detected, we suggest that interesting regions for further studies are those that were identified in several independent studies, which is the case of the QTL regions on chromosomes 2 and 3, involved in resistance to both *Salmonella* colonization and carrier state. These observations provide evidence of common genes controlling *S. Typhimurium* colonization and *S. Enteritidis* carrier-state in chickens.

Background

Bacteria belonging to the *Salmonella enterica* species are responsible for diseases in several animal species and in humans. *Salmonella enterica* serotypes Enteritidis and Typhimurium are two of the main sources of human food poisoning. One of the most important factors is that poultry can carry these bacteria without any clinical symptoms, and thus the carriage of disease goes unnoticed prior to culling. Selection and breeding of chickens more resistant to *Salmonella* carrier state, i.e. able to rapidly clear *Salmonella*, could reduce the spread of these bacteria in poultry stocks and hence improve food safety. Selection for resistance to carrier-state requires the use of genetic markers in poultry breeding programs. Identification of such markers by several authors has been done using different approaches. These include candidate gene analyses, genome scans with single marker analyses, quantitative trait loci (QTLs) detection studies by interval mapping with microsatellites and more recently SNP markers (reviewed in [1]).

Several QTLs involved in the genetic control of resistance to *Salmonella* carrier state have been identified in experimental inbred lines derived from White Leghorn laying hens. A first study was undertaken using a selective genotyping approach (i.e. animals with extreme phenotypes were chosen) with only partial genome coverage [2]. Several QTLs for resistance to carrier-state were identified in two crosses between the experimental inbred lines N and 6₁: one genome-wide significant QTL on

chromosome 2 and five chromosome-wide significant QTLs on chromosomes 1 (2 QTLs), 5, 11 and 16. Two of these QTLs, on chromosomes 2 and 16, were confirmed in a subsequent analysis including all animals, while those on chromosomes 1 and 16 were replicated in an independent population of a commercial line of laying hens [3]. More recently a new, more powerful QTL analysis was carried out [4], using a higher number of animals genotyped with a higher number of markers (480 SNPs). Using this approach, we were able to perform a more extended genome scan which resulted in the identification of novel QTLs on several microchromosomes, not previously covered in other analyses. Among them, one QTL on microchromosome 14 was significant at the genome-wide level. However, although half of the phenotypic data used were the same as in previous analyses, several of the QTLs previously observed were not detected in the new analysis, including the genome-wide significant QTL on chromosome 2 [2] [3].

Similar (and in some cases the same) White Leghorn inbred lines have also been used to identify genome regions controlling resistance to acute salmonellosis. The major QTL *SALI* was originally identified in a backcross between lines 6₁ and 15I on chromosome 5 [5]. Its location has recently been refined in a further analysis [6]. In addition, four QTLs controlling resistance to *Salmonella* colonization have been detected in a (6₁xN)xN backcross on chromosomes 2, 3, 12 and 25 [7]. Until now, none of the QTLs controlling carrier-state has been identified close to those QTLs for resistance to colonization or systemic salmonellosis. This is why it was hypothesized that the genetic controls of *Salmonella* carriage and colonization were independent [2] [3] [4]. Nevertheless, in our last genome scan performed with QTLEXPRESS, an effect nearing significance could be observed on chromosome 3. In addition, our earliest QTL analyses identified a QTL on chromosome 2 [2] [3], although it was not confirmed in our last SNP genome scan [4].

These apparently inconsistent results may be partly dependent on the method of QTL analysis. All were performed using the F2 inbred option of the QTLEXPRESS software [8]. This option relies on the hypothesis that all F1 fathers are heterozygous and share a common QTL effect, which is only partially

true in this case. The aim of the present study was therefore to perform QTL analysis using Maximum Likelihood with the QTLMap software, which does not require any assumption about fixation of the QTL alleles in the founder lines. With this software it was also possible to evaluate different QTL effects between sire families, to test the co-existence of two QTLs and to analyze discrete data. For these analyses we used the same data as previously described [4], i.e. 480 SNP genotypes for 378 animals already phenotyped. This dataset was enriched with eleven SNP markers flanking the QTLs controlling *Salmonella* colonization identified by Fife et al, [7] on chromosomes 2, 3, 12 and 25 [7]. We were thus able to observe the impact on QTL detection of two different statistical approaches using the same set of data, whilst interrogating any overlap in the carrier state/colonization QTLs using increased marker density in the QTL regions controlling *Salmonella* colonization.

Materials and methods

Animals

Briefly, as described previously [4], two progenies were considered. Both were F2 crosses between the experimental inbred White Leghorn lines N and ϕ_1 , each from different parents. The first one (called P1) comprised 185 F2 animals reared and phenotyped in 2005 and the second (P2) 193 F2 animals reared and phenotyped in 2007. Animals were reared at the PEAT unit (Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours).

SNP genotyping and mapping

As described previously [4], a set of 480 fully informative SNP markers was used to genotype the F2 animals and their parents and a genetic map was produced using the Cri-Map program. In addition, animals belonging to P2 were typed for 11 SNP markers flanking the four QTLs identified on chromosomes 2, 3, 12 and 25 in a $(\phi_1 \times N) \times N$ backcross progeny [7]. The conformity of marker

segregation with Mendelian inheritance rules was checked by Chi-square tests. New genetic maps of chromosomes 2, 3, 12 and 25 were built with Cri-Map using only the genotypes obtained from P2.

***Salmonella* challenges**

As previously described, experimental infections of both F2 progeny were performed at the PFIE (Plateforme d'Infectiologie Expérimentale) [9]. One-week-old birds were orally inoculated with 5×10^4 bacteria from the *S. Enteritidis* phage type 4 (PT 4) strain 1009, which is a spontaneous nalidixic acid (NA) and streptomycin (SM) resistant mutant strain. Within each experiment all chicks were hatched on the same day. In P1, two cloacal swabs were taken 4 and 5 weeks p.i. and results expressed as \log_{10} colony-forming units (cfu) and thereafter called CSW4 (cloacal swab week 4) and CSW5. Results were also expressed as a discrete trait for CSW4: 0 when no bacteria were found and 1 for positive results for the CSW4 trait (CSW4d). For both P1 and P2, chicks were sacrificed 5 weeks p.i. and the number of *Salmonella* cfu counted in the caeca. Caecal bacterial counts were expressed as log (cfu) per gram of caeca (CAEC). In brief, traits measured in P1 were CAEC, CSW4 and CSW5 while in P2 only CAEC was measured.

QTL analysis software and significance thresholds

QTLs were identified in P1 and P2 separately using the QTLMap software [10] [11], which performs interval mapping based on maximum likelihood calculations [12]. Initially, single-QTL analysis was performed using the ratio of likelihoods under the hypothesis of one (H1) vs no QTL (H0). When no QTL was detected, this was followed by analysis for complex QTLs by comparing maximum likelihood under the hypothesis of two QTLs segregating (H2) versus that of the absence of QTL(H0). The model used for all analyses took into account the population mean. Likelihood was completely linearized as described in [10]. For the analysis of CSW4d, the model took into account the discrete distribution of the trait.

For each trait on each chromosome, the significance threshold at the chromosome-wide level was calculated from the results of 1,000 permutations performed under the null hypothesis of no QTL segregating. The genome-wide probability was further derived from the chromosome-wide probability using an approximate Bonferroni correction:

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

in which r was obtained by dividing the length of a specific chromosome by the length of the genome considered for QTL detection (3,3918 cM), as in [2]. Confidence intervals for QTLs (95%) were calculated by using the one-LOD drop-off method following Lander and Botstein [12].

Candidate gene identification

For all QTLs detected using the one-QTL analysis, candidate genes were identified by the software AnnotQTL [13], available at <http://annotqtl.genouest.org>. This tool was designed to assist the characterization of genes in a QTL region as a step towards selecting the best candidate genes. It localizes the genes to a specific region using NCBI and Ensembl data and adds the functional annotations available from other databases (Gene Ontology, Mammalian Phenotype, HGNC and Pubmed). To limit the number of genes considered, for each QTL the interval considered was defined by the two SNP markers flanking the QTL peak.

Results

Additional SNP genotyping and mapping

The list of additional SNP markers and quality data describing them are detailed in Table 1. Marker IAH-12D was non-informative in our progeny. Marker IAH-2C on chromosome 2 was in moderate distortion ($p < 0.05$) while markers IAH-3A, IAH-3B and IAH-12D were in very strong segregation distortion ($p < 0.001$). These markers must be considered with caution. New, enriched maps of

chromosomes 2, 3, 12 and 25 were constructed based on the SNP genotypes collected from P2, excluding IAH-12D.

QTL analyses

QTLs identified in this study are detailed in Table 2 and Figure 1 for one-QTL analyses and in Table 3 for two-QTL analyses. One-QTL analyses led to the identification of five QTLs in P1, on four chromosomes. One QTL was significant at the genome-wide level on chromosome 2 (for CAEC). The four other QTLs were significant at the chromosome-wide level and mapped on chromosome 19 (CAEC), 21 (CSW4) and 23 (CAEC, CSW4_d). In P2, two QTLs significant at the chromosome-wide level were identified on chromosomes 3 and 26 for CAEC. The former was significant at $p < 0.01$ at the chromosome-wide level. Interestingly, with the enriched map of chromosome 3 the significance of this QTL was higher ($p = 0.005$). Using the other enriched maps did not lead to the detection of QTL on chromosomes 2, 12 and 25.

Two-QTLs analyses led to significant QTLs on six chromosomes in P1. That was the case for chromosomes 5 (CSW4), 9 (CAEC, CSW5), 15 (CAEC, CSW4), 21 (CSW4), 22 (CAEC, CSW5) and 24 (CAEC, CSW4). In P2, no QTL was detected with the two-QTLs analysis.

Positional candidate genes

Positional candidate genes identified using the software AnnotQTL [13] are listed in Table 4. A high number of genes were identified in each interval. We chose to focus only on genes known to be involved in the immune response, including those controlling signaling pathways. MiRNAs which have the potential to play a role in immune mediation were also included. Genes listed can therefore be considered as both positional and functional candidate genes. No additional evidence for the involvement of these candidate genes in *Salmonella* carrier state or colonization has currently been documented.

Discussion

Results of QTL detection are dependent, amongst other parameters, on the statistical method used for analysis. In this study, we used maximum likelihood analyses with the QTLMap software [10] [11], whereas regression analysis with the QTLEXPRESS software [8] was used in our previous studies [3], [4]. The two approaches were expected to give partly different results. Although we used the same data as previously described [4], genotypes were enriched with eleven SNP markers flanking QTLs for resistance to *Salmonella* colonization.

Numerous QTLs identified using QTLMap

QTLEXPRESS assumes the F0 lines to be inbred, particularly with the F2 inbred option of QTLEXPRESS used previously [4]. This contrasts to QTLMap which takes into account the alleles segregating within the lines, both between and within sire families. This is of particular importance since the N and 6₁ lines are highly but not totally inbred, possibly accounting for the reason why more genome-wide QTLs were found in this study than previously observed [4]. Nadaf et al, achieved a similar result with the same two software packages [14]. They analyzed a F2 cross between lines largely divergent for a phenotype of growth, but not fixed for the QTL alleles. They obtained similar results: with QTLMap, they found 5 genome-wide and 4 chromosome-wide significant QTLs, while with QTLEXPRESS there were only 3 and 2 respectively. Two of the QTLs found to be of chromosome-wide significance with QTLEXPRESS were estimated as genome-wide significant with QTLMap. As suggested by the authors, these differences probably originate from the allele segregation within each line. In our case, although segregation was expected to be less frequent since the lines were partly inbred, QTLMap allowed identification of more QTLs with higher significance.

Numerous QTLs were detected with the none vs two QTLs analysis. The latter deals with the possibility that two linked QTL located within a very short interval could not be detected because they

are exerting antagonistic effects. Except for CSW4 on GGA5, for the other traits and chromosomes the distance between the two QTLs was rather short and ranged from 7 to 28 cM. Moreover, on several chromosomes, QTLs controlling different traits were observed in close proximity, which supports the reliability of our results. For instance, on chromosome 9, both QTLs controlling CAEC (46 cM; 56 cM) were very close to those involved in the control of CSW5 (45 cM; 52 cM). On microchromosome 22, two pairs of QTLs were identified for CAEC (0 cM; 28 cM) and for CSW5 (29 cM; 42 cM). On chromosome 24, one of the QTLs controlling CAEC and one of the QTLs controlling CSW4 co-localized at 51 cM. All these co-localisations suggest that these regions may indeed have an impact on the control of *Salmonella* carrier-state.

QTLMap software makes it possible to test binary data, such as the presence/absence of bacteria. The distribution of such traits is far from being Gaussian while normality is assumed for most methods of QTL research. In this study, this question was of special interest for cloacal swabs at 4 and 5 weeks p.i., for which only 41.6% and 33% of animals respectively were positive for the presence of bacteria. When analyzing the binary trait CSW4_d, with the model dedicated to discrete data, only one significant QTL was found on chromosome 23 at 1 cM, close to the QTL detected for CAEC at 10 cM. This QTL, although highly significant at the chromosome-wide level, was not significant at the genome-wide level. Another QTL was detected on chromosome 21 with CSW4_d after deleting the three sire families which had the lowest likelihood ratio. It was only significant at the chromosome-wide level, most probably because of a lack of power due to the loss of information when categorizing the data. Since this QTL co-localizes with QTL identified for CSW4 both with the one-QTL and the two-QTL analysis, it is probably not a statistical artifact.

Comparison with previous results obtained with QTLEXPRESS

Although a high number of QTLs were identified with each of the software packages, only one QTL on chromosome 22 was identified with both of them. On this chromosome, the QTL for CSW5

identified at 29 cM by the two-QTLs analysis is located at the same position as the QTL found by [4]. We could not identify the dominant QTLs observed by [4] with QTLEXPRESS, since QTLMap does not take dominance effects into account. In particular, for the most significant QTL detected on chromosome 14 for CAEC, dominance effects were very high ($d=0.90$) while additive effects were very low ($a=-0.11$), with a ratio $d/2a$ equal to -4.25 . This is probably why it could not be detected by the additive model with QTLMap. Moreover, some of these dominant QTLs could also be false positives as observed by [16]. When analyzing, with a large set of methods, a set of simulated data with only additive QTLs, several dominant QTLs were observed [16]. Conversely, using QTLMap we detected a QTL on chromosome 2 at 86 cM, which was not observed previously [4] using the same set of SNP markers with QTLEXPRESS (except the 3 additional markers close to QTLs observed by Fife *et al.*, [7]). However a QTL for CSW4 was previously detected at 87 cM using microsatellites [2] [3]. The lack of detection of this QTL in the previous QTLEXPRESS analysis [4] could be due to the poor information content of several sire families at markers surrounding the QTL region, which is best taken into account by the QTLMap software. The map density and the information content of markers are lower in this region of chromosome 2 than in other regions. For all other QTLs, it must be assumed that either they are statistical artefacts or they display effects so weak that they are significant with only one of the two methods of analysis tested.

Similarly to Calenge *et al.*, [4], we identified a very low number of QTL in P2. This may be as a result of the lower number of traits measured (one versus three). However, even when considering only the trait CAEC measured in P2, there were fewer QTLs detected in P2 than in P1. This might be related to the phenotypic distributions, which are highly different in P1 and P2. In P1 most animals were free of *Salmonella* (76.2%), while in P2 most animals were infected (92.3%). Despite the fact that, in both P1 and P2, the logarithm of numbers of colony forming units was measured, the biological meaning of both traits differs. The former trait is related to capacity for bacterial clearance: more resistant animals are free from bacteria while the susceptible individuals remain infected. The latter refers to the level of

infection: the more resistant animals can maintain the infection at a lower level. Mechanisms underlying both traits may thus be quite different and the same holds for the genes controlling them [17].

Are *Salmonella* carrier-state and colonization controlled by common loci?

Although most QTLs identified in the present study were not identified in the previous QTLExpress analysis, some of them co-localize with QTLs or candidate genes identified in other, independent studies, which strengthens their interest and reliability.

The QTL on chromosome 3 is of particular interest. Although it was not significant at the genome-wide level, it was the more significant of the two QTLs detected in P2. In addition, it co-localizes with a QTL for resistance to *Salmonella* colonization identified at 96 Mb (vs 94.5 Mb) for the same measure (caecal bacterial count) assessed after infection with another *Salmonella* serotype at an earlier interval post-inoculation (5 days p.i.) [7]. Interestingly, when SNP markers surrounding the QTLs for resistance to colonization were added to the genetic map, the significance of the QTL for resistance to carrier-state reaches the genome-wide significance level. This might be due to the additional information brought by these markers, one of which may be close to the causal gene for the QTL. Nevertheless, two of the three additional SNP markers were in strong segregation distortion, and it therefore cannot be excluded that skewed segregations cause an artificial increase of the QTL significance. Indeed, one of the distorted markers was mapped at an incorrect position when considering physical positions of markers (inversion with an adjacent marker). However, this result is coherent with the co-localisation of this QTL and several candidate genes involved in innate immunity: interleukins *IL-17A* and *IL-17F* at 110.36 Mb and 110.37 Mb respectively, and the avian beta-defensins *AvBD1* to *AvBD14* between 110.20 Mb and 110.27 Mb. Moreover, polymorphisms in four genes within the beta-defensin cluster (*AvBD3*, *11*, *12* and *13*) were associated with caecal bacterial load in chickens orally infected with *S. Enteritidis*, while *AvBD5* was associated with spleen bacterial load [18] [19]. Other genes (including

the avian beta-defensins) are also located in close proximity to the QTL (between 110.20 and 110.27 Mb) and were associated with caecal and spleen bacterial loads, as well as antibody response to *Salmonella* Enteritidis vaccine [18] [19].

A similar observation can be made for the QTL identified on chromosome 2 in P1, which is located adjacent to a QTL associated with the presence of a hardened caseous caecal core after infection with *Salmonella* Typhimurium [7]. Although the QTL peaks are located 10 Mb apart and their confidence intervals do not overlap, QTL locations are known to vary according to many parameters. In this meta-analysis, infection protocols and *Salmonella* serotypes were different, as were the parents of the progenies. Although belonging to the same lines, separation of these flocks may have, over time, resulted in divergence, as strongly suggested by the incomplete segregation of some of the new SNP markers added to our original SNP set. The number of markers used in both of these studies and the strong linkage disequilibrium in these mapping populations may also impact on the resolution of the QTLs. It is therefore possible that both QTLs for these disparate traits do co-localize. Moreover, the gene *IL-6* (interleukin-6), whose product drives induced innate responses in chickens [7], is located close to the QTL peak (30.9 Mb with the QTL peak at 38.5 Mb). A TLR4 interactor with leucine-rich repeats (ENSGALG00000011145) gene is also located in the region defined by flanking markers. TLR4 is known to be involved in the pathway leading to carrier-state [1]. Other putative candidate genes could be observed in the QTL regions. Further investigations are needed to elucidate their putative role in the control of resistance to *Salmonella* carrier-state in these populations, with reference to the traits measured in this study.

These co-localisations on chromosomes 2 and 3 suggest that these regions may be involved in general mechanisms of resistance, acting on both colonization and carrier-state and effective on both serotypes (Enteritidis and Typhimurium). This result is not surprising: limiting bacteria colonization shortly after infection could be one of the ways to limit bacteria carriage several weeks after infection. Another way of limiting carriage could be, for instance, high bacterial clearance ability. Genes

involved in the immune response are interesting candidates for the causative genes underlying these QTLs and warrant further research. Nevertheless, due to the high number of putative candidate genes, a finer mapping of the QTL will be necessary before studying the actual implication of one or several of these genes in resistance to carrier state.

On chromosome 5 the QTL identified at 104 cM for CSW4 in the two-QTL analysis is close to the QTL detected by Tilquin et al, at 111 cM for CSW5 [2]. In addition, similarly to both Tilquin et al, [2] and Calenge et al, [4], we observed a suggestive QTL for CAEC at the same location (108 cM). Nevertheless, these QTL effects are too weak to be considered of interest for further research.

Even with QTLMap, no QTL could be detected on chromosome 7 close to the *SLC11A1* gene (previously named *NRAMP1*), which was shown to be involved in the resistance to both acute salmonellosis [20] [21] [22] and *Salmonella* carrier-state [23]. This result is consistent with previous observations [2] [3] [4]. It can be assumed that either this gene does not segregate in this cross or its effect is too weak to be detected.

Conclusions

We observed numerous QTLs for resistance to *Salmonella* carrier-state using maximum likelihood. The role of several genomic regions in the control of *Salmonella* carrier-state was confirmed, consistent with previous findings, while testing the existence of two segregating QTLs allowed the identification of novel regions. The observed differences with QTLEXPRESS were most probably due to the different hypotheses concerning allele segregation, to the strong dominance effect of some of the QTL and to the weakness of some QTL effects. In this context, the most interesting QTLs are probably those that were identified several times in independent studies, even more so when they also co-localize with candidate positional or functional genes. This is why the QTL regions identified on chromosomes 2 and 3 are of particular interest for further research and potentially for

marker assisted selection. In addition, their involvement in the resistance to both *S. Typhimurium* colonization and *S. Enteritidis* carrier-state is particularly interesting for selection purposes.

Authors' contributions

ST performed QTL analyses and drafted the manuscript. FC and CB contributed to data analyses and to manuscript drafting. MF, NS and PK contributed to obtaining the marker data. PV performed the *Salmonella* challenges. AV obtained the original set of SNP data. ELD contributed to the QTLMap analyses. All authors contributed to the revision of the manuscript and approved the final manuscript.

Acknowledgements and Funding

SNP marker genotyping was funded by the European project SABRE (Sustainable Animal Breeding; EC number FOOD-CT-2006-01625). The additional SNP genotyping was funded by the European project EADGENE (European Animal Disease Genomics Network of Excellence for Animal Health and Food Safety; EC number FOOD-CT-2004-506416). The work of Thanh-Son Tran is supported by a regional study grant (Région Centre, France) and by the Animal Genetics Department of INRA.

References

1. Calenge F, Kaiser P, Vignal A, Beaumont C: **Genetic control of resistance to salmonellosis and to Salmonella carrier-state in fowl: a review.** *Genetics Selection Evolution* 2010, **42**(11).
2. Tilquin P, Barrow P, Marly J, Pitel F, Plisson-Petit F, Velge P, Vignal A, Baret P, Bumstead N, Beaumont C: **A genome scan for quantitative trait loci affecting the Salmonella carrier-state in the chicken.** *Genetics Selection Evolution* 2005, **37**(5):539-561.
3. Calenge F, Lecerf F, Demars J, Fève K, Vignoles F, Pitel F, Vignal A, Velge P, Sellier N, Beaumont C: **QTL for resistance to salmonella carrier state confirmed in both experimental and commercial chicken lines.** *Animal Genetics* 2009, **40**(5):590-597.

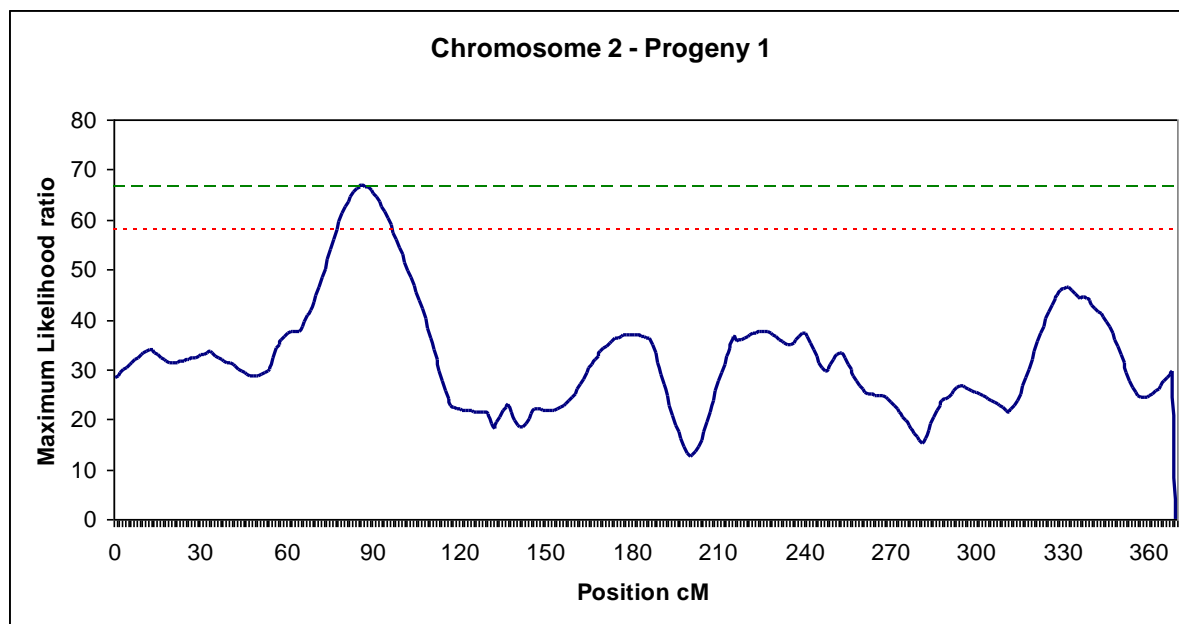
4. Calenge F, Vignal A, Demars J, Feve K, Menanteau P, Velge P, Beaumont C: **New QTL for resistance to Salmonella carrier-state identified on fowl microchromosomes.** *Molecular Genetics and Genomics* 2011, **285**(3):237-243.
5. Mariani P, Barrow P, Chang H, Groenen M, Negrini R, Bumstead N: **Localization to chicken chromosome 5 of a novel locus determining salmonellosis resistance.** *Immunogenetics* 2001, **53**(9):786-791.
6. Fife M, Salmon N, Hocking P, Kaiser P: **Fine mapping of the chicken salmonellosis resistance locus (SAL1).** *Animal Genetics* 2009, **40**(6):871-877.
7. Fife M, Howell J, Salmon N, Hocking P, van Diemen P, Jones M, Stevens M, Kaiser P: **Genome-wide SNP analysis identified major QTL for salmonella colonization in the chicken.** *Animal Genetics* 2011, **42**(2):134-140.
8. Seaton G, Hernandez J, Grunchev J, White I, Allen J, De Koning D, Wei W, Berry D, Haley C, Knott S: **GridQTL: A Grid Portal for QTL Mapping of Compute Intensive Datasets.** In: *8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production.* Belo Horizonte, Brazil; 2006.
9. Duchet-Suchaux M, Léchopier P, Marly J, Bernardet P, Delaunay R, Pardon P: **Quantification of experimental Salmonella enteritidis carrier state in B13 leghorn chicks.** *Avian Diseases* 1995, **39**(4):796-803.
10. Elsen JM, Mangin B, Goffinet B, Boichard D, Le Roy P: **Alternative models for QTL detection in livestock. I. General introduction.** *Genetics Selection Evolution* 1999, **31**(3):213-224.
11. Le Roy P, Elsen JM, Boichard D, Mangin B, Bidanel JP, Goffinet B: **An algorithm for QTL detection in mixture of full and half sib families.** In: *World Congress of Genetic Applied to Livestock Production.* Armidale: University of New England; 1998: 257-260.

12. Lander E, Botstein D: **Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps.** *Genetics* 1989 **121**(1):185-199.
13. Demeure O, Lecerf F, Bretaudeau A, Sallou O, Desert C, Blum Y, Lagarrigue S: **AnnotQTL: a new tool to gather functional and comparative information on a genomic region.** *Nucleic Acids Research* 2011, **Vol. 39**(suppl. 2):6.
14. Nadaf J, Gilbert H, Pitel F, Berri CM, Feve K, Beaumont C, Duclos MJ, Vignal A, Porter TE, Simon J *et al*: **Identification of QTL controlling meat quality traits in an F-2 cross between two chicken lines selected for either low or high growth rate.** *BMC Genomics* 2007, **8**:155.
15. Maliepaard C, Bastiaansen JWM, Calus MPL, Coster A, Bink MCAM: **Comparison of analyses of the QTLMAS XIII common dataset. II: QTL analysis.** *BMC proceedings* 2010, **4**(Suppl 1):S1.
16. Demeure O, Bacciu N, Filangi O, Le Roy P: **QTL detection for a medium density SNP panel: comparison of different LD and LA methods.** *BMC proceedings* 2010, **4 Suppl 1**:S10.
17. Chaussé A-M, Grépinet O, Bottreau E, Le Vern Y, Menanteau P, Trottereau J, Robert V, Wu Z, Kerboeuf D, Beaumont C *et al*: **Expression of Toll-Like Receptor 4 and Downstream Effectors in Selected Cecal Cell Subpopulations of Chicks Resistant or Susceptible to Salmonella Carrier State.** *Infection and Immunity* 2011, **Vol. 79**(8):10.
18. Hasenstein J, Zhang G, Lamont S: **Analyses of five gallinacin genes and the salmonella enterica serovar Enteritidis response in poultry.** *Infection and Immunity* 2006, **74**(6):3375-3380.
19. Hasenstein JR, Lamont SJ: **Chicken gallinacin gene cluster associated with Salmonella response in advanced intercross line.** *Avian Diseases* 2007, **51**(2):561-567.
20. Hu J, Bumstead N, Burke D, FA PdL, Skamene E, Gros P, Malo D: **Genetic and physical mapping of the natural resistance-associated macrophage protein 1 (NRAMP1) in chicken.** *Mammalian Genome* 1995, **6**(11):809-815.

21. Hu J, Bumstead N, Skamene E, Gros P, Malo D: **Structural organization, sequence, and expression of the chicken NRAMP1 gene encoding the natural resistance-associated macrophage protein 1.** *DNA Cell Biol* 1996, **15**(2):113-123.
22. Hu J, Bumstead N, Barrow P, Sebastiani G, Olien L, Morgan K, D M: **Resistance to salmonellosis in the chicken is linked to NRAMP1 and TNC.** *Genome Research* 1997, **7**(7):693-704.
23. Beaumont C, Dambrine G, Chaussé A-M, Flock D: **Selection for disease resistance : conventional breeding for resistance to bacteria and viruses.** In: *Poultry Genetics, Breeding and Biotechnology*. Edited by Muir W, Aggrey S. Oxon, UK: CAB International; 2003: 357-382.

Figure 1. Maximum likelihood ratio for trait CAEC on chromosome 2, progeny P1 (a) and chromosome 3 enriched with three markers close to a QTL for resistance to *Salmonella* colonisation, progeny P2 (b). Results obtained from QTLMap software.

---, 5% genome-wide significance; - - -, 5% chromosome-wide significant.



(a)

(b)

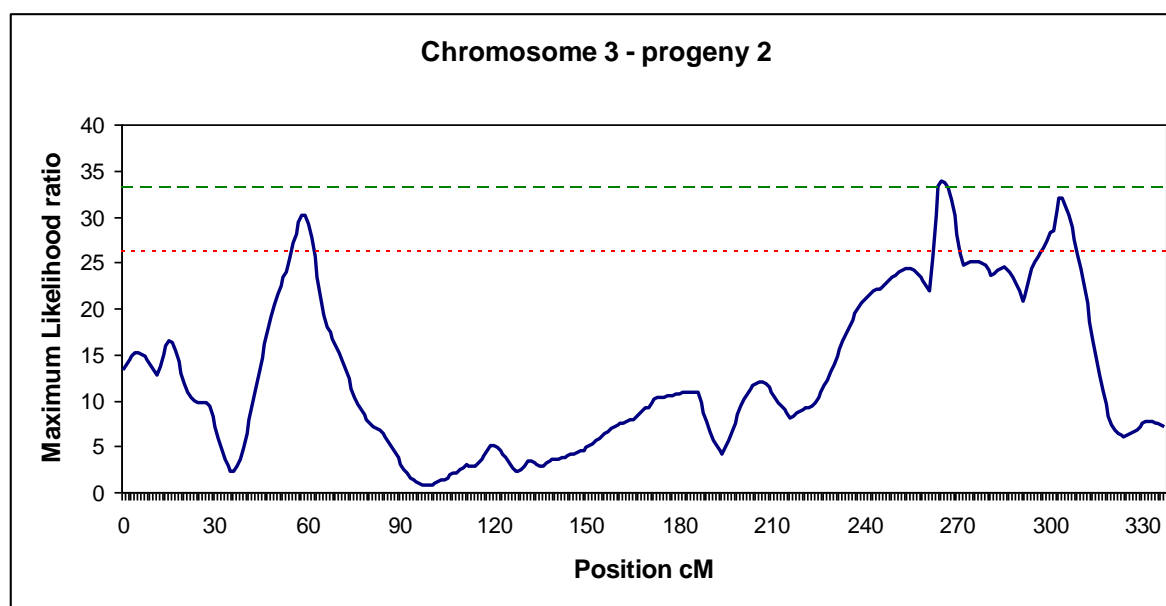


Table 1: Quality data about the SNP markers flanking QTL for *Salmonella* colonization [7] added to the original SNP data set [4].

Marker	Chr ¹	Position (b)	N ²	Inf ³	SD ⁴	p _{SD} ⁵
IAH-2B	2	19,869,778	182	23/23	NS	0.052
IAH-2C		22,726,015	182	23/23	S*	0.010
IAH-2D		24,308,758	179	22/23	NS	0.130
IAH-3A	3	92,315,616	152	20/23	S****	0.000
IAH-3B		95,968,986	182	23/23	S****	0.001
IAH-3C		110,245,601	184	23/23	NS	0.378
IAH-12B	12	14,781,290	181	23/23	NS	0.597
IAH-12C		17,496,361	181	23/23	NS	0.704
IAH-12D		18,927,306	162	1/23	S****	0.000
IAH-25A	25	875,498	92	17/23	NS	0.093
IAH-25B		1,843,484	184	23/23	NS	0.556

¹ Chromosome.

² Number of genotypes available in the F2 Nx6₁ progeny P2.

³ Informativity: number of heterozygous F1 parents on the total number of F1 parents.

⁴ Significance level of the segregation distortion evaluated with a Chi-square test: NS non significant; * significant with p<0.05 ; **** significant with p<0.001.

⁵ Probabilities associated with a Chi-square test between genotypic frequencies expected according to Mendelian rules and observed frequencies.

Table 2. Parameters associated with the QTLs identified in progeny 1 (P1) and progeny (P2) using a one-QTL test.

Chr ¹	Progeny	Trait	QTL position (cM)	C.I. ² (cM)	LRT ³	Flanking markers ⁴ (Mb)	P-value ⁵ (Chr)	S.L. ⁶
2	P1	CAEC	86	80-92	66.83	31.8-38.3	<0.005	***
3	P2	CAEC	236	234-241	30.29	94.25-98.25	<0.01	**
19	P1	CAEC	21	17-29	56.01	2.71-3.80	<0.01	**
21	P1	CSW4	3	0-6	21.48	0.40-1.22	<0.05	*
23	P1	CAEC	10	7-15	50.25	1.32-2.74	<0.005	*
23	P1	CSW4 _d	1	0-6	46.83	0.72-1.32	<0.05	*
26	P2	CAEC	29	21-37	49.30	2.60-3.31	<0.05	*

¹ Chromosome number

² 1-LOD-drop confidence interval (cM)

³ Likelihood Ratio Test

⁴ Positions of the two markers flanking the QTL peak

⁵ P-values obtained by 1000 chromosome-wide permutations

⁶ Significance level: *significant at P<0.05 at the chromosome-wide level, ** significant at P<0.01 at the chromosome-wide level, *** significant at P<0.05 at the genome-wide level, NS non-significant .

Table 3. Parameters associated with the QTLs identified in progeny 1 (P1) with a two-QTL test

Chr ¹	Progeny	Trait	First QTL (cM) ²	Second QTL (cM) ³	LRT ⁴	Flanking markers Q1 ⁵ (Mb)	Flanking markers Q2 ⁶ (Mb)	P-value ⁷	SL ⁸
5	P1	CSW4	2	104	48.10	1.32-4.46	31.57-41.62	<0.05	*
9	P1	CAEC	46	56	118.85	6.35-8.848	14.00-16.64	<0.0001	***
9	P1	CSW5	45	52	58.07	6.35	11.64-14.01	<0.0001	***
15	P1	CAEC	8	29	112.14	4.23-5.16	7.46-8.85	<0.005	**
15	P1	CSW4	20	33	48.40	6.15-6.94	7.46-8.85	<0.01	*
22	P1	CAEC	0	28	84.75	1.17	1.53-2.63	<0.05	*
22	P1	CSW5	29	42	59.70	2.63	2.63-3.19	<0.0001	***
24	P1	CAEC	23	51	87.78	3.56	5.13-6.13	<0.05	*
24	P1	CSW4	44	51	38.59	5.13	5.13-6.13	<0.0001	***

¹ Chromosome number

² Location of the first QTL

³ Location of the second QTL

⁴ Likelihood Ratio Test

⁵ Positions of the two markers flanking the first QTL peak

⁶ Positions of the two markers flanking the second QTL peak

⁷ P-values of the H0 vs H2 test obtained by 1000 chromosome-wide permutations

⁸ H0 vs H2 significance level: *significant at P<0.05 at the chromosome-wide level, ** significant at P<0.01 at the chromosome-wide level, *** significant at P<0.05 at the genome-wide level, NS non-significant.

Table 4. List of the genes involved in the immune response identified between the markers flanking the peaks of the QTL detected

Chicken chr. ¹	QTL position FM ² position	Human chr. ³	Start (pb)	Gene ID ⁴	Symbol	Description	Ensembl ID ⁵
2	38.06 Mb/ 86 cM 31.78-38.35 Mb	7	32,053,542	777943	MIR148A	microRNA mir-148a	ENSGALG00000018281
		7	32,326,549	420629	SKAP2	src kinase associated phosphoprotein 2	ENSGALG00000011051
		7	32,584,271	-	gga-mir-1732	microRNA-mir-1732	ENSGALG00000025254
		7	32,586,148	777944	MIR196-2	microRNA mir-196-2	ENSGALG00000018282
		7	32,879,740	395490	TAX1BP1	Tax1 (human T-cell leukemia virus type I) binding protein 1	ENSGALG00000011123
		7	33,469,922	428436	TRIL	TLR4 interactor with leucine-rich repeats	-
		7	33,567,743	428437	CHN2	chimerin (chimaerin) 2, involved in Rac signalling	ENSGALG00000011164
		3	33,985,086	420640	ANKRD28	ankyrin repeat domain 28 (promotes cell migration)	ENSGALG00000011226
		3	34,275,134	395109	RFTN1	raftlin, lipid raft linker 1 (B cell-specific major lipid raft protein)	ENSGALG00000011241
		3	34,473,226	420645	PLCL2	phospholipase C-like 2, involved in MAPK pathway and PI3K signalling	ENSGALG00000011248
		3	35,783,173	420649	RAB5A	RAB5A, member RAS oncogene family, involve in endocytosis	ENSGALG00000011272
		3	37,167,138	420654	NKIRAS1	NFKB inhibitor interacting Ras-like 1	ENSGALG00000011289
19	3.38 Mb/ 21 cM 2.71- 3.80 Mb	1	2,823,176	417489	LAT2/ NTAL_CHICK	Linker for activation of T cells family, member 2	ENSGALG0000001305
		17	3,408,203	395930	RABEP1/ RABAPTIN1	rabaptin, RAB GTPase binding effector protein 1	ENSGALG0000001737
23	0.84 Mb/ 1 cM 0.72- 1.32	1	843,249	428208	HIVEP3	Human immunodeficiency virus type I enhancer binding protein 3	ENSGALG00000000635
26	2.95 Mb/ 29 cM 2.60-3.31 Mb		2,896,047	-	gga-mir-205a	microRNA-mir-205a	ENSGALG00000018312
		1	2,976,923	419862	TRAF3IP3	TRAF3 interacting protein 3, TNF-receptor associated interacting protein	ENSGALG0000001373
		1	2,989,458	419863	IRF6	Interferon regulatory factor 6	ENSGALG0000001405

¹ Chicken chromosome ; ² Flanking markers ; ³ Human chromosome ; ⁴ Gene identification on NCBI database ; ⁵ Identification of gene on Ensembl database

VI. Conclusions et perspectives pour la première partie:

Au cours de cette première partie de la thèse, j'ai identifié des QTLs par la méthode du maximum de vraisemblance en utilisant le logiciel QTLMap et des modèles à un seul (figure 13 et tableau 1) ou à deux QTLs (figure 14 et tableau 2). Les résultats diffèrent de ceux précédemment obtenus par méthode de régression linéaire, probablement du fait des différences dans les hypothèses sous-jacentes à chaque logiciel, du faible effet des QTLs et de l'absence de prise en compte de la dominance par le logiciel QTLMap. Il est toutefois intéressant de noter qu'un QTL a été identifié sur le chromosome 3 au même endroit qu'un QTL impliqué dans la résistance à la colonisation par *Salmonella* Typhimurium, ce qui suggère que cette région du génome pourrait être impliquée dans des mécanismes généraux de résistance agissant à la fois sur la colonisation précoce et le portage. Elle serait de plus efficace sur les deux sérotypes (Enteritidis et Typhimurium). A partir de ces résultats, le programme AnnotQTL a été utilisé pour identifier des gènes candidats positionnels dont l'annotation suggère un rôle dans la réponse immunitaire et la résistance aux salmonelles. Une vingtaine de gènes candidats ont ainsi été positionnés dans les intervalles de confiance des QTLs. Toutefois aucun d'entre eux n'apparaît suffisamment pertinent à ce stade de l'étude pour être étudié plus spécifiquement.

La grande taille des régions identifiées limite les possibilités d'exploitation des QTLs en sélection, avec un trop grand risque de perdre l'association entre marqueurs et allèles favorables aux QTLs. C'est pourquoi la cartographie fine des QTLs est en cours dans l'équipe par l'exploitation de lignées d'intercroisement avancé (AIL).

Les méthodes de détection des QTLs sont actuellement en pleine évolution. Avec le développement des puces à SNP à haute densité, on peut envisager des approches de génétique d'association, ou encore des méthodes dites LDLA qui combinent les approches de génétique d'association (LD dites pour linkage disequilibrium ou déséquilibre de liaison) et de détection de QTLs (dites LA pour linkage analysis ou analyses de liaison). Ces méthodes permettent théoriquement de préciser la position des QTLs par rapport à des analyses QTL classiques grâce à un génotypage dense.

Troisième partie :

Détection des QTLs- Application à des
caractères de digestibilité chez la Poule

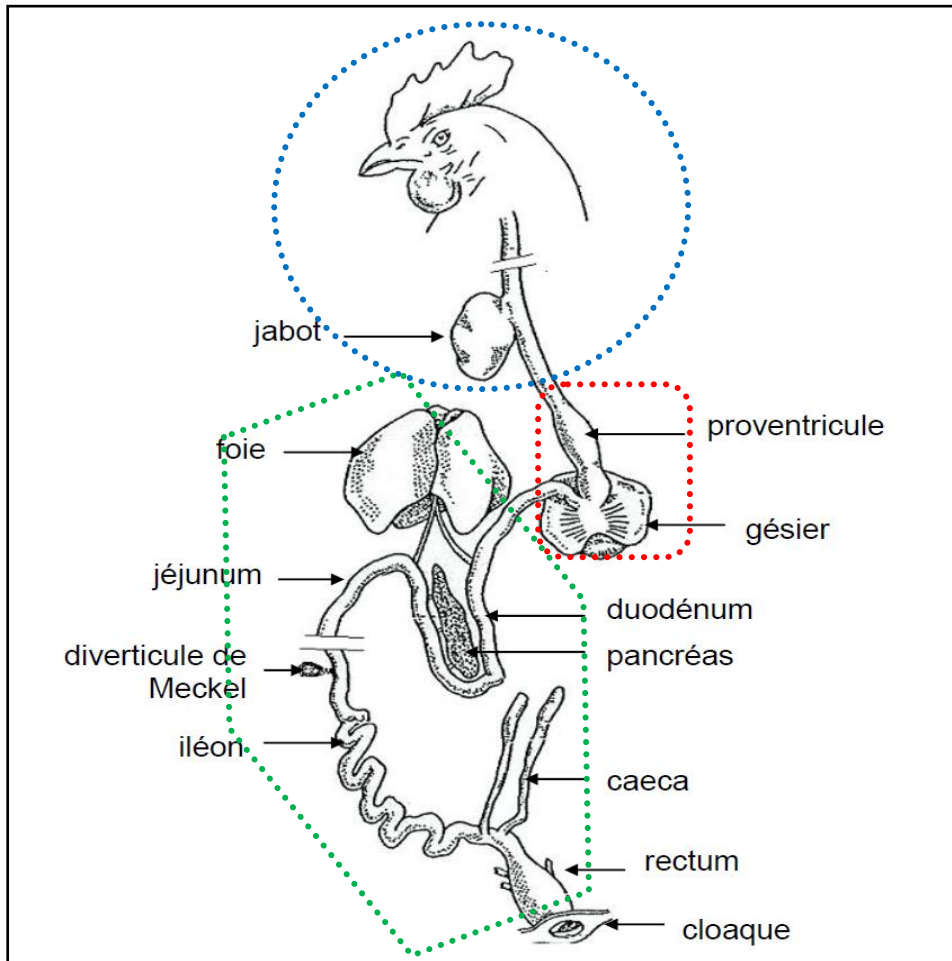


Figure 15: Schéma du tractus gastro-intestinal de la Poule (d'après Gadoud et al, 1992): la région crâniale est entourée en bleu, la région stomacale en rouge et la région intestinale en vert.

I. Le système digestif chez la Poule

Dans ce chapitre, nous présentons une vue globale de l'appareil digestif de la Poule et détaillons les mécanismes de digestion au niveau du gésier et de l'intestin, deux parties très importantes dans le tractus gastro-intestinal.

I.1. Description de l'appareil digestif de la Poule

Le tractus digestif de la Poule peut se diviser en 3 parties principales : la région crâniale qui va du bec au jabot, la région stomacale qui comprend proventricule et gésier et la région intestinale (voir figure 15). Cette structure présente des différences fondamentales par rapport aux mammifères, comme l'existence de certains organes absents chez les mammifères (comme le jabot), ou des différences de proportion entre les organes, comme la quasi-absence du colon chez les oiseaux alors que celui-ci est très développé chez les mammifères (voir Tableau 6).

I.1.1. La région crâniale

La région crâniale comprend le bec et la cavité buccale, l'œsophage et le jabot. Le bec est fort et conique, ce qui est adapté à une alimentation de type granivore (Belabbas, 2007). La partie visible du bec est une production cornée ou rhamphothèque, servant à la préhension des aliments. Dans la cavité buccale, les aliments sont mêlés à la salive, dont le rôle principal est de lubrifier et ramollir les aliments, mais qui contient également une amylase, enzyme commençant le processus de digestion de l'amidon, composant principal de l'aliment des volailles.

Après déglutition, les aliments passent dans l'œsophage, organe tubuliforme musculo-muqueux. Cet organe, de façon passive, assure le transport de la cavité buccale au proventricule. Le jabot est un élargissement de l'œsophage en forme de réservoir. Il sert à stocker les aliments et à les ramollir en continuant à les humecter de mucus, et permet également la poursuite de la digestion de l'amidon par l'amylase amenée par la salive dans la cavité buccale (Belabbas, 2007). Au niveau du jabot, la dégradation de l'amidon est également facilitée par certaines bactéries amylolytiques comme les lactobacilles, mais dans une proportion modeste (Champ et al, 1985).

Tableau 6: Poids et longueurs relatives des principales parties du tube digestif chez le poulet, le porc et le rat.

Région	Organe	Poids (en % du poids vif)			Longueur (en % de la longueur du tractus)		
		Poulet ¹	Porc ⁴	Rat ³	Poulet ¹	Porc ²	Rat ²
Région crâniale	Jabot	1.2	-	-	-	-	-
Région stomacale	Proventricule	0.6	0.73	-	-	-	-
	Gésier	4.1		-	-	-	-
Région intestinale	Duodénum	1.1	3.26	-	14.3	78.0	6.5
	Jéjunum	4.6		-	62.8		75.4
	Iléon	0.6		-	9.7		2.0
	Caecac	1.0	0.23	-	9.3	1.0	4.0
	Rectum	0.2	1.34	-	3.9	21.0	12.1
Glandes annexes	Pancréas	0.29	0.15	0.46	-	-	
	Foie	3.04	2.68	4.57	-	-	

¹ Belabbas, 2007; ² Kararli, 1995; ³ Diaz-Flores et al, 2006; ⁴ Agyekum et al, 2012

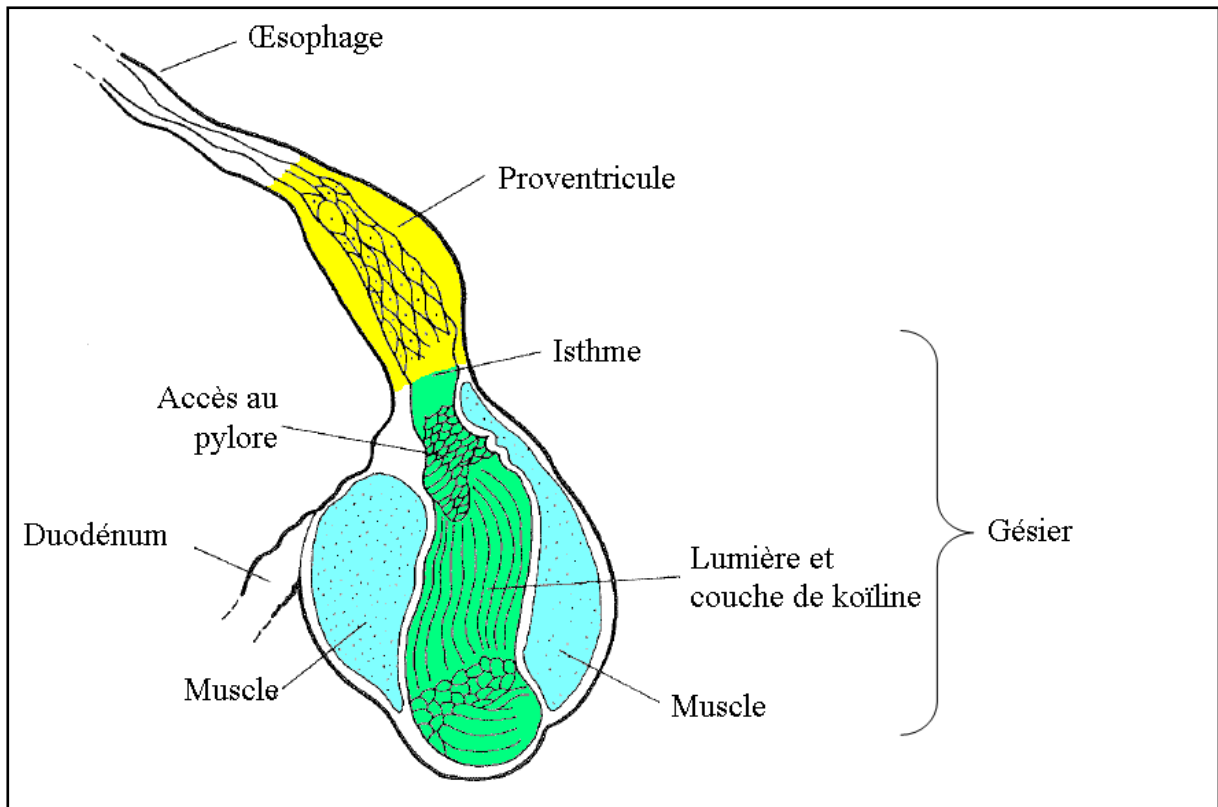


Figure 16 : Coupe longitudinale de la région stomacale chez la Poule (d'après Moran, 1985)

I.1.3. La région stomacale

La région stomacale comprend le proventricule ou estomac glandulaire et le gésier ou estomac musculaire (Figure 16).

Le proventricule est un renflement fusiforme dont la muqueuse est très riche en glandes à mucus. La paroi interne est très épaisse. Son rôle principal est la sécrétion d'acide chlorhydrique (HCl) et de pepsinogène grâce à des cellules spéciales oxynco-peptiques (cellules oxyntiques) ; il permet de débiter la digestion chimique des aliments (Moran, 1985; Denbow, 1999). C'est pour cette raison que le digestat au niveau du proventricule est très acide, avec un pH variant de 2,5 à 4,0 (Gonzalez-Alvarado et al, 2008; Jiménez-Moreno et al, 2009). Ce pH bas est un facteur d'activation du pepsinogène en pepsine, qui va dégrader les protéines (Crevieu-Gabriel, 1999; Denbow, 1999).

Le gésier est un organe très musculeux qui communique avec le proventricule au niveau de l'isthme et est séparé de l'intestin grêle par le pylore. Du fait de sa structure musculaire, il sert principalement à broyer les aliments (digestion mécanique) et à poursuivre la digestion gastrique initiée dans le proventricule. Une couche de cuticule et koïline recouvre la surface interne du gésier et le protège des acides et des enzymes protéolytiques sécrétées par les glandes du proventricule. Chez la Poule, les contractions du gésier se font sans induction neurale (Costa, 2006) grâce aux cellules interstitielles de Cajal (CIC) qui sont situées au niveau de l'isthme du gésier. Ces cellules génèrent spontanément des ondes lentes et les propagent de façon passive dans les muscles lisses (Szurszewski, 1998). Grâce à la contraction du gésier, les aliments sont broyés et la surface de contact entre aliments et enzymes digestives est augmentée. La capacité de broyage du gésier permet de rendre le digestat accessible au niveau de l'intestin. Le poids du gésier reflète donc la puissance de broyage de l'organe, ainsi que son activité (Moran, 1982; Denbow, 2000). Rideau et al (2013) ont montré que la sélection d'animaux à faible ou forte efficacité digestive avait fortement modifié la structure de cet isthme entre proventricule et gésier, les animaux les plus efficaces présentant un isthme plus grand, une lumière plus large et une surface beaucoup plus régulière que les animaux les moins efficaces.

Tableau 7: Principales enzymes et produits affectant la digestion des aliments dans l'intestin.

Organe sécréteur	Enzyme/Produit sécrété(e)	Fonction principale
Pancréas	Bicarbonate de sodium	Neutralisation de l'acidité du chyme ¹
	Protéases (trypsinogène, chymotrypsinogène, procarboxypeptidases, pro-élastase)	Hydrolysent des protéines en peptides sous forme de trypsine, chymotrypsine et des protéases après activation ^{1,2}
	Lipase	Dégradation des lipides, en association avec les sels biliaires ^{3,4}
	Alpha-amylase	Dégradation des molécules d'amidon en oligomères de glucose ²
Foie	Bicarbonate de sodium, acides biliaires (acide cholique et chénodéoxycholique)	Activation du pepsinogène en pepsine ^{4,5}
Membrane intestinale	Entérokinase	Activation du trypsinogène en trypsine ⁴
	Dipeptidases et aminopeptidases	Dégradation des dipeptides et des acides aminés ^{4,6}
	Disaccharidases (maltase, isomaltase)	Dégradation des molécules d'amidon en oligomères de glucose ^{4,7}
	β -fructofuranosidase (invertase)	Hydrolyse le saccharose ⁴

¹ Moran, 1985; ² Pubols, 1991; ³ Krogdahl, 1985; ⁴ Jin et al, 1998; ⁵ Denbow, 1999; ⁶ Crevieu-Gabriel et al, 1999; ⁷ Uni et al, 1996.

I.1.4. La région intestinale

La région intestinale comprend l'intestin grêle, les caeca, le rectum et le cloaque et est le lieu principal de digestion des aliments grâce aux enzymes digestives sécrétées par le foie et la vésicule biliaire ou présentes sur la surface apicale de la membrane intestinale. Les principales enzymes concernées sont répertoriées dans le tableau 7. L'intestin est également le lieu d'absorption des nutriments.

L'intestin grêle est lui-même divisé en 3 parties. Le duodénum est en forme d'anse, située entre le pylore et la portion distale de l'anse duodénale. S'y déverse le suc pancréatique, qui contient les enzymes pancréatiques, le pancréas étant situé au creux de l'anse duodénale. Le pancréas synthétise et sécrète des enzymes responsables de la digestion des protéines (trypsine, chymotrypsine, élastase et carboxypeptidases), des lipides (lipase, co-lipase) et de l'amidon (alpha-amylase). Le jéjunum démarre après la portion distale de l'anse duodénale et se prolonge jusqu'au diverticule de Merckel. Les sécrétions biliaires produites par le foie s'y déversent par les canaux hépatique et biliaire. L'iléon est situé entre le diverticule de Merckel et la jonction iléo-cæcale. Ces deux derniers segments sont les lieux principaux d'absorption des nutriments.

Les caeca sont situés à la jonction entre l'intestin grêle et le rectum. Cette partie est très développée chez la Poule, leurs caeca étant par exemple 2,3 fois plus lourds et 4,3 fois plus longs que ceux du Porc (cf. Tableau 6, Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007). Cette région particulièrement riche en bactéries (Gabriel et al, 2005; 2012) sert à réabsorber l'eau et à améliorer, grâce aux micro-organismes, la digestion de la cellulose et de certaines protéines peu digestibles (Belabbas, 2007, Gabriel et al, 2005).

Le rectum, dernière partie de l'intestin est le dernier organe du tractus digestif. Il est très court chez les oiseaux par rapport aux mammifères (tableau 6). C'est un lieu de réabsorption d'eau. C'est également un centre d'intenses fermentations microbiennes (Cranwell, 1968).

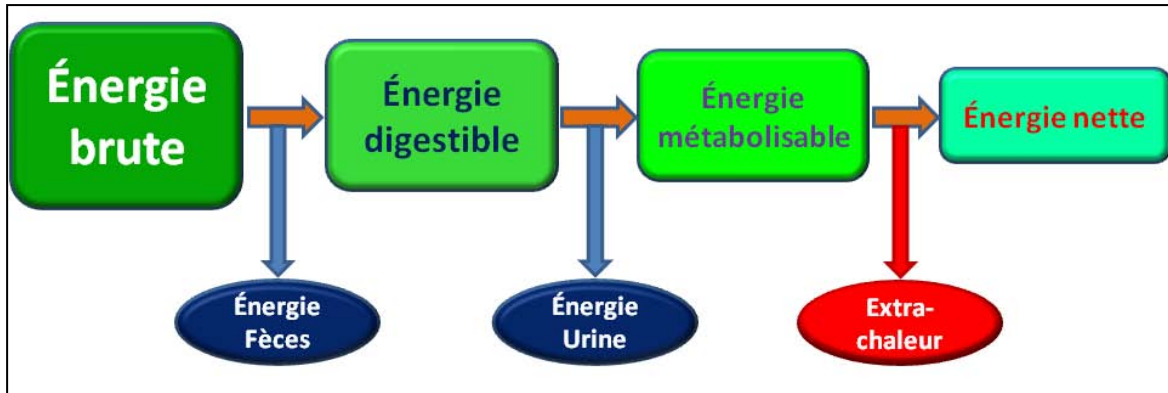


Figure 17: Schémas définissant les différents types d'énergie.

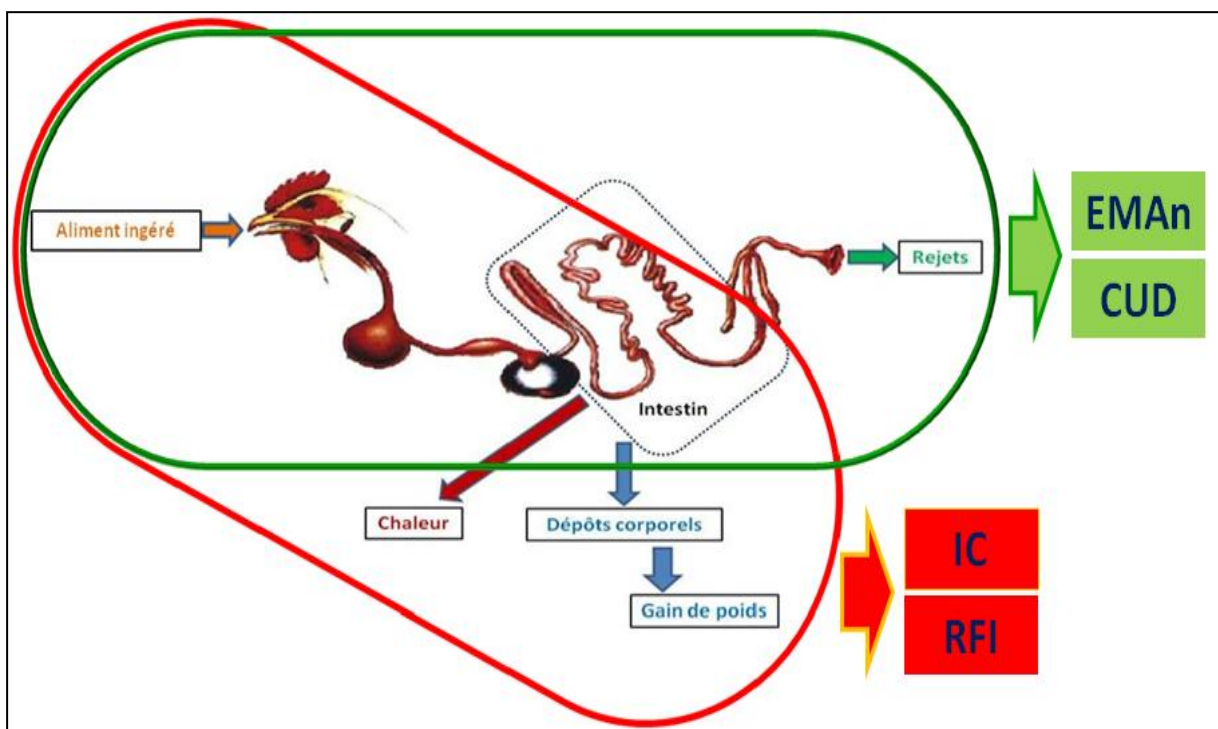


Figure 18: Relation entre efficacité alimentaire (indice de consommation (IC) et consommation résiduelle (RFI) et l'efficacité digestive (Energie métabolisable apparente corrigé pour un bilan azoté nul (EMAn); Coefficient d'utilisation digestive (CUD).

II. L'efficacité alimentaire et l'efficacité digestive

L'aliment représente de 55 à 65% du coût de production des poulets de chair, (Riffard et al, 2011). Améliorer l'efficacité alimentaire est donc très important pour la rentabilité économique des élevages, surtout dans le contexte actuel d'augmentation du prix des aliments. L'efficacité digestive est une des composantes de l'efficacité alimentaire, dont l'amélioration permettrait non seulement de limiter les coûts de production mais aussi de valoriser efficacement des matières premières alternatives non utilisées pour l'alimentation humaine ou des ressources locales tout en réduisant le volume des rejets. Ces caractères jouent un rôle important dans le contexte de développement durable pour réduire l'impact environnemental de la production animale. Il a été montré que sélectionner sur l'efficacité digestive permettait d'améliorer l'efficacité alimentaire (Mignon-Grasteau et al, 2004). Dans ce paragraphe, nous présentons les relations entre efficacité alimentaire et efficacité digestive.

II.1. Définitions

II.1.1. Efficacité alimentaire

Les deux critères principaux utilisés pour décrire l'efficacité alimentaire sont l'indice de consommation et la consommation résiduelle, que l'on définit comme suit :

- L'indice de consommation (IC) est le rapport de la quantité d'aliment consommée au gain de poids. Un indice de 2 indique donc que pour produire 1 kg de viande (ou d'œufs dans le cas d'une poule pondeuse), l'animal aura consommé 2 kg d'aliment.

- La consommation alimentaire résiduelle est la différence entre la consommation alimentaire observée et son estimation obtenue par régression par rapport aux besoins d'entretien (souvent représenté par le poids métabolique de l'animal) et les besoins de production de l'animal calculés à partir du gain de poids, de la composition du gain de poids et/ou de la production d'œufs (Nordskog et al, 1972; Tixier-Boichard et al, 1995).

II.1.2. Efficacité digestive

L'efficacité digestive est un critère moins général que l'efficacité alimentaire, car il se focalise sur la part digestive de l'utilisation de l'aliment par l'animal.

La figure 17 montre les différentes étapes de la digestion de l'aliment et les différents paramètres pouvant être estimés à chaque étape.

L'énergie digestible (ED) est obtenue par différence entre l'énergie brute ingérée qui dépend de la composition de l'aliment et de la consommation de l'animal (EB) et l'énergie perdue dans les fèces excrétés. L'énergie métabolisable (EM) est obtenue par différence entre l'énergie digestible et celle perdue dans l'urine. Si l'énergie digestible est souvent utilisée chez le porc, elle est extrêmement difficile à mesurer chez les volailles, car les fèces et l'urine sont excrétés simultanément au niveau du cloaque. C'est donc plutôt l'énergie métabolisable qui est utilisée.

L'énergie métabolisable apparente (EMA) est l'énergie disponible pour les besoins métaboliques (d'entretien et de production) de l'animal. Elle se calcule comme suit (Hill et Anderson, 1958) :

$$\text{EMA (Kcal/kg)} = \frac{\text{AI} \times \text{EB}_{\text{AI}} - \text{QE} \times \text{EB}_{\text{E}}}{\text{AI}}$$

où AI est la quantité d'aliment ingérée (en kg MS), QE la quantité d'excrétats séchés (en kg MS), EB_{AI} l'énergie brute contenue dans l'aliment ingéré (Kcal/kg MS) et EB_e l'énergie brute des excréta (Kcal/kg MS).

L'EMA ne tient cependant pas compte des pertes fécales et urinaires d'origine endogène. Pour corriger ce biais, on utilise l'énergie métabolisable apparente corrigée pour un bilan azoté nul (EMAn). Les variations d'EMAn sont donc uniquement d'origine digestive. Pour passer de l'EMA à l'EMAn, on prend en compte la rétention azotée due aux synthèses tissulaires qui représentent environ 20% des protéines du gain de poids (Δp). Ces protéines contiennent 16% d'azote et chaque gramme d'azote sous forme d'acide urique fournit 8,22 Kcal (Hill et Handerson, 1958). La formule de l'EMA est donc corrigée de la façon suivante:

$$\text{EMAn (Kcal/kg)} = \frac{\text{AI} \times \text{EB}_{\text{AI}} - \text{QE} \times \text{EB}_{\text{E}} - \Delta p \times 0,2 \times 8,22 \times 0,16}{\text{AI}}$$

où Δp est le gain du poids (g).

Hormis pour l'énergie, on peut également calculer des paramètres d'efficacité digestive pour les différents composants principaux de l'aliment, au travers des coefficients d'utilisation digestive (CUD). Ces coefficients d'utilisation digestive correspondent à la proportion d'un nutriment qui est digéré et absorbé par rapport à sa quantité ingérée. En pratique, le CUD d'un nutriment N est calculé par la formule:

$$\text{CUD}_N(\%) = \frac{C_{AN} \times AI - C_{NE} \times QE}{C_{AN} \times AI}$$

où AI est la quantité d'aliment ingérée (en kg MS), QE la quantité d'excréta séchés (en kg MS), C_{AN} la proportion du nutriment N dans l'aliment (%), C_{EN} la proportion du nutriment N dans les fèces (%).

II.1.3. Relations entre efficacité alimentaire et efficacité digestive

Les différences entre efficacité digestive et efficacité alimentaire sont schématisées dans la figure 18. L'aliment ingéré est digéré, absorbé au niveau intestinal, puis utilisé pour produire de nouveaux tissus (dépôt de muscle, de tissu adipeux, ou encore de minéraux) ou dispersé sous forme de chaleur (pour maintenir la température basale, ou par perte de chaleur liée à l'activité physique ou à la digestion). Les critères d'efficacité alimentaire tels que l'indice de consommation ou la consommation résiduelle intègrent la capacité à digérer, mais tiennent également compte de l'utilisation métabolique des aliments (gain de poids des animaux, activité physique, production d'extra-chaleur) ainsi que de leur consommation alimentaire. En revanche, ils ne prennent pas en compte les excréments des animaux. Au contraire, les critères d'efficacité digestive prennent en compte la consommation alimentaire ainsi que les caractéristiques d'excrétion, mais pas les caractéristiques métaboliques comme la production de nouveaux tissus ou les pertes de chaleur. L'efficacité digestive décrit donc une fonction plus limitée que l'efficacité alimentaire, mais sa mesure de ce dernier caractère est plus lourde (car elle impose de collecter, sécher et analyser les fientes), raison pour laquelle elle est beaucoup moins souvent utilisée.

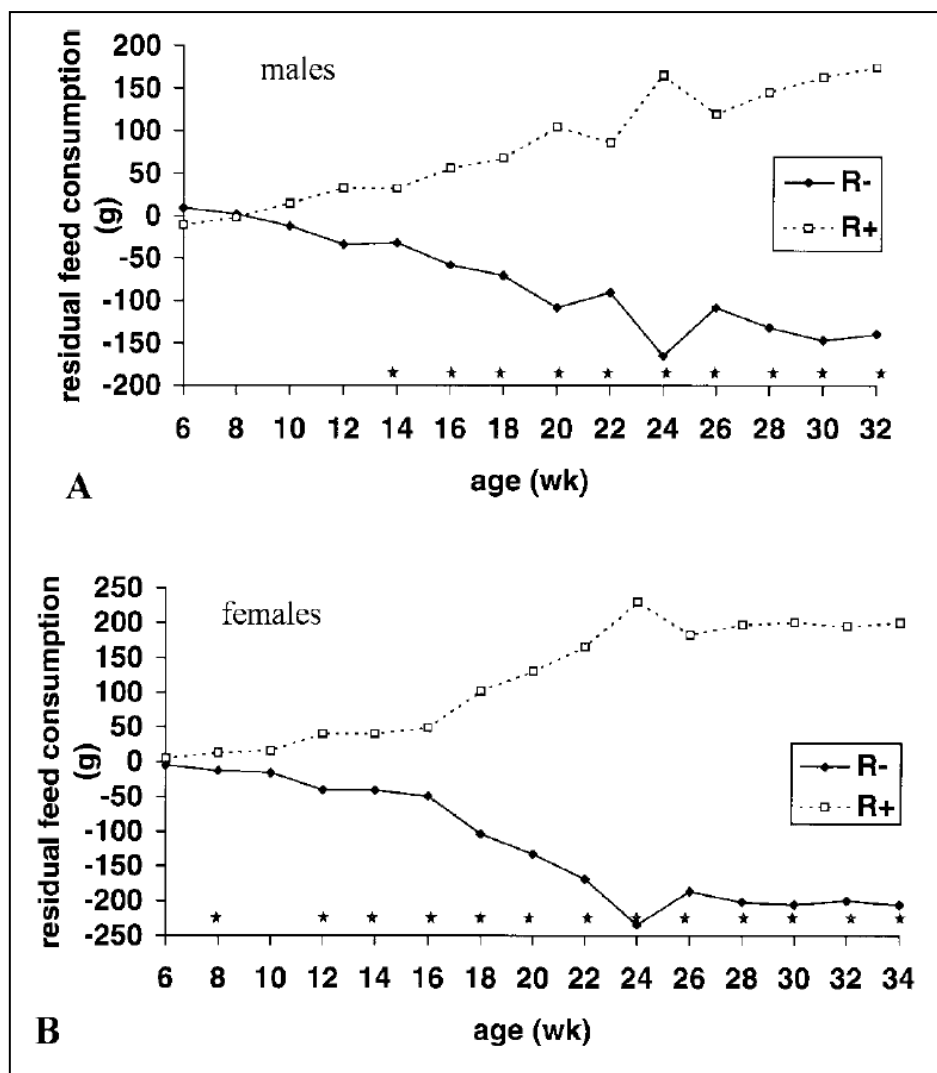


Figure 19: Résultats de l'expérience de sélection sur la consommation résiduelle chez la poule pondeuse (Bordas et Minvielle, 1999).

II.2. Sélection de l'efficacité alimentaire

L'efficacité alimentaire est un caractère complexe, contrôlé par de nombreux gènes. Ce type de caractère dépend de multiples facteurs comme la vitesse de croissance (l'intensité de production), l'engraissement, la consommation alimentaire (nombre et durée des repas), la digestibilité, l'efficacité du métabolisme (rendement des protéines), les besoins d'énergie pour la croissance (rendements en muscle et en gras), la production de chaleur,... (Pym 1990; Herd et Arthur 2009). La sélection d'animaux pour une meilleure efficacité alimentaire implique donc une évolution de nombreux caractères.

Ces critères sont modérément à fortement héritables, soit 0,27-0,33 pour la consommation résiduelle chez l'adulte (Tixier-Boichard et al.,1995), 0,33-0,55 pour la consommation alimentaire chez le poulet en croissance (Bernon et Chambers, 1988; Pym et al, 1991; Wang et al, 1991; Chambers et al, 1994) et 0,40-0,50 pour l'indice de consommation (Pym, 1990). Ils sont depuis longtemps intégrés dans les schémas de sélection avicole, autant chez le poulet de chair que chez la poule pondeuse. Plusieurs expériences de sélection ont été réalisées chez le poulet de chair (Pym et Solvyns 1979; Tomas et al, 1991; Buyse et al, 1998). Elles ont entraîné une diminution de l'engraissement des animaux par rapport aux lignées sélectionnées pour leur vitesse de croissance. Elles ont aussi montré que l'énergie retenue sous forme de protéines rapportée au poids métabolique est plus élevée chez les poulets sélectionnés pour l'efficacité alimentaire, et la dégradation des protéines musculaires plus faibles que chez des poulets sélectionnés pour la vitesse de croissance. La sélection sur l'efficacité alimentaire entraîne aussi une diminution des rejets (Pym 1990; Pinares-Patino et al, 2003; Zhang et Aggrey 2003; Hill et Azain 2009). Chez la poule pondeuse également, plusieurs expériences de sélection génétique de l'efficacité alimentaire ont été réalisées (Bordas et Mérat, 1981;1984; Katle et Kolstadt, 1991; Schulman et al, 1994). Parmi elles, Bordas et Mérat (1984) ont sélectionné deux lignées de poules pondeuses R+ et R- pour de fortes et faibles valeurs de consommation résiduelle (figure 19). Gabarrou et al (1998) ont montré que cette sélection avait entraîné des modifications importantes de la production de chaleur (due à la digestion de l'aliment et à l'activité physique), beaucoup plus importante chez les R- que chez les R+, illustrant l'aspect généraliste de l'efficacité alimentaire.

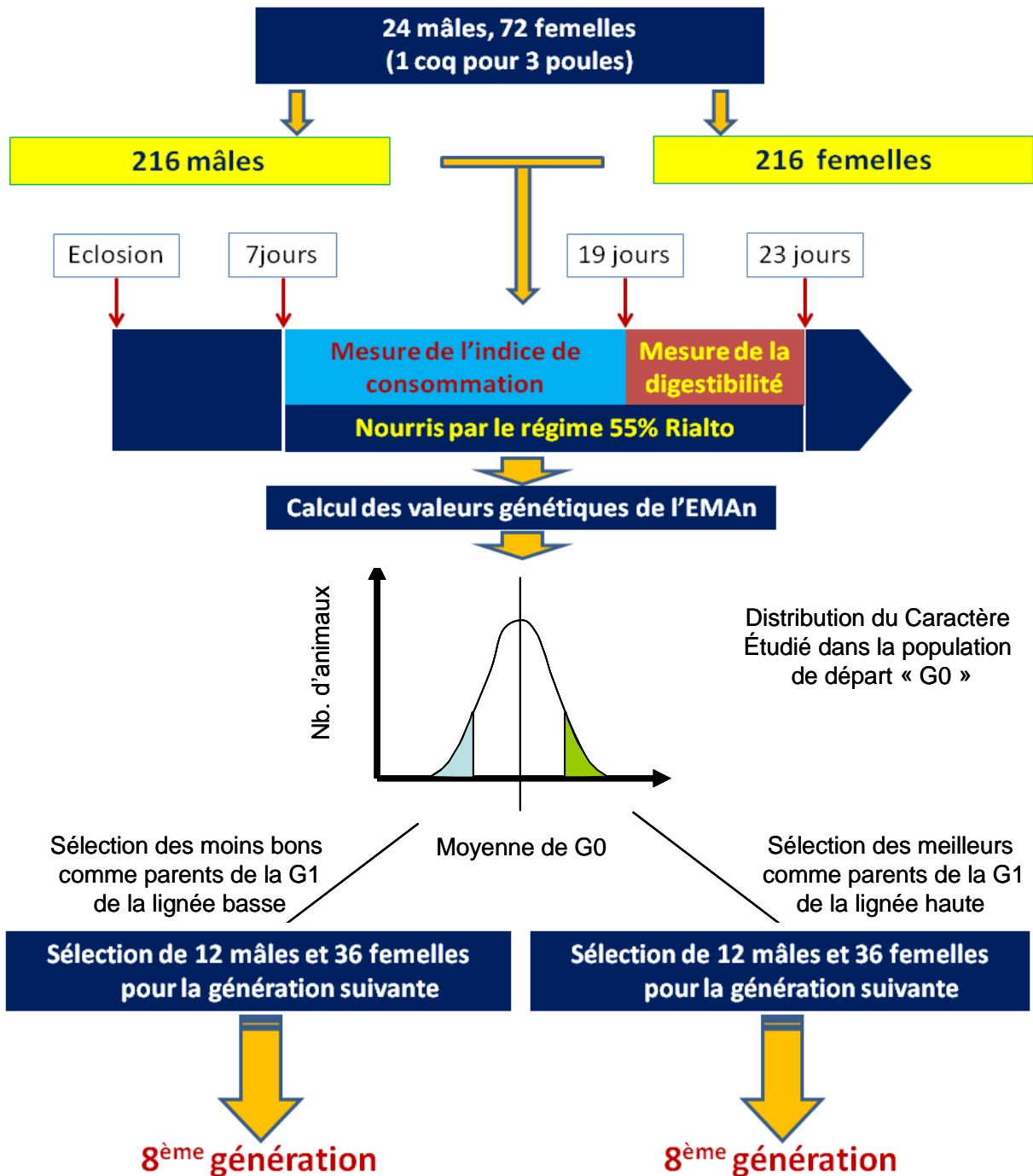


Figure 20: Processus de la sélection divergente des lignées D+ et D- (Mignon-Grasteau et al, 2004)

Malgré l'importance économique de ce type de caractère pour la production de volailles, il n'existe pas beaucoup d'études de détection des QTLs contrôlant l'efficacité alimentaire chez la Poule. Parmi les 3808 QTLs publiés dans 191 articles jusqu'à présent chez la poule, seulement 25 QTLs sont liés aux caractéristiques d'efficacité alimentaire (www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb, 20/04/2013). Les recherches concernant l'indice de consommation, la consommation résiduelle et l'efficacité alimentaire (de Koning et al, 2003, 2004; Parsanejad et al, 2004; Hansen et al, 2005; Rowe et al, 2006; Ewald et al, 2007) qui ont abouti à la détection de relativement peu de QTL sur ces caractères, mais plutôt de QTLs contrôlant les composantes de l'indice de consommation, tels que la consommation alimentaire, la croissance et la composition corporelle.

II.3. Sélection sur la capacité digestive

Il a longtemps été admis qu'à l'opposé de la consommation, de l'efficacité alimentaire et de l'utilisation d'énergie, la digestibilité ne dépendait pas de la génétique (Pym 1990). Cette constatation reposait sur le fait que l'efficacité digestive est en effet une part mineure de l'efficacité alimentaire des animaux lorsqu'ils sont nourris avec des régimes optimisés, faciles à digérer. En 2004, Mignon-Grasteau et al ont cependant montré que la digestibilité de l'énergie (mesurée par le critère de l'EMAN) dépendait de la génétique chez le poulet de chair avec une héritabilité élevée ($h^2 = 0,37$). Pour ce faire, ces auteurs ont utilisé un régime contenant 55% de blé Rialto, variété particulièrement difficile à digérer en raison de sa forte dureté et de sa viscosité élevée (Carré et al, 2002), plaçant ainsi les animaux en situation de challenge. L'héritabilité de la digestibilité des protéines, de l'amidon et des lipides est également élevée et varie de 0,33 à 0,47. Ces caractères sont très fortement corrélés entre eux et à l'EMAN. Lorsque les animaux sont nourris avec un régime classique à base de maïs et de soja, facile à digérer, l'héritabilité de l'efficacité digestive est beaucoup plus faible (0,04 à 0,15), sauf pour l'amidon qui conserve une héritabilité comparable à celle obtenue avec un régime à base de blé (Mignon-Grasteau et al, 2010).

Suite à cette première étude, des lignées ont été sélectionnées de façon divergente sur une forte (D+) ou faible (D-) efficacité digestive. (Carré et al, 2002). Après l'éclosion, les poussins ont été nourris de J7 à J23 avec ce régime. La figure 20 présente le résumé du processus de la sélection des D+ et D-. A chaque génération, 12 mâles et 36 femelles ont été choisis comme futurs reproducteurs, parmi 216 animaux testés dans chaque lignée. Les lignées D+ et D- ont été sélectionnées pendant 8 générations puis maintenues sans sélection pour des recherches complémentaires.

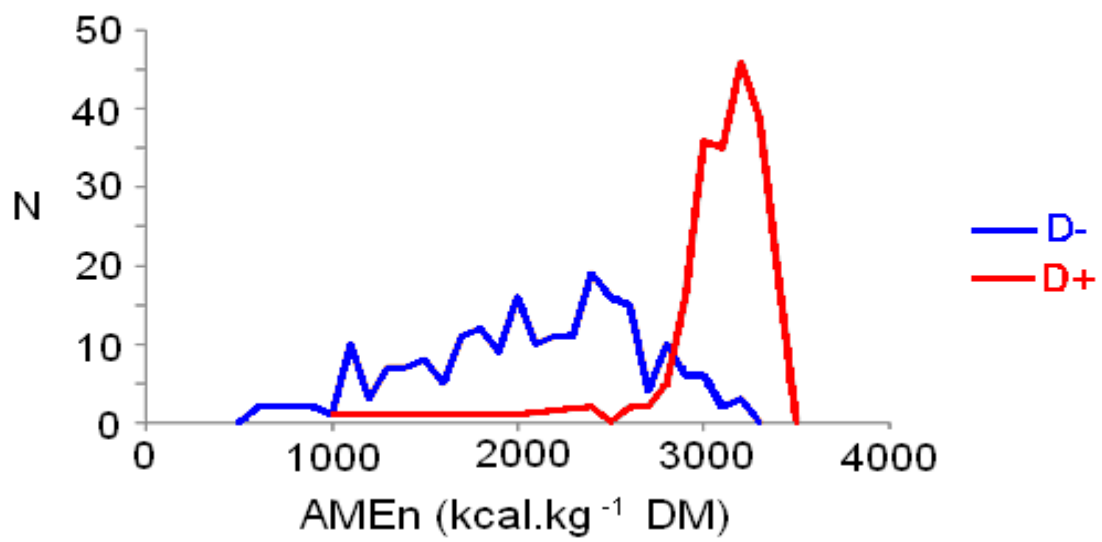


Figure 21: Différences d'EMAn entre les D+ et D à la 8ème génération de sélection –

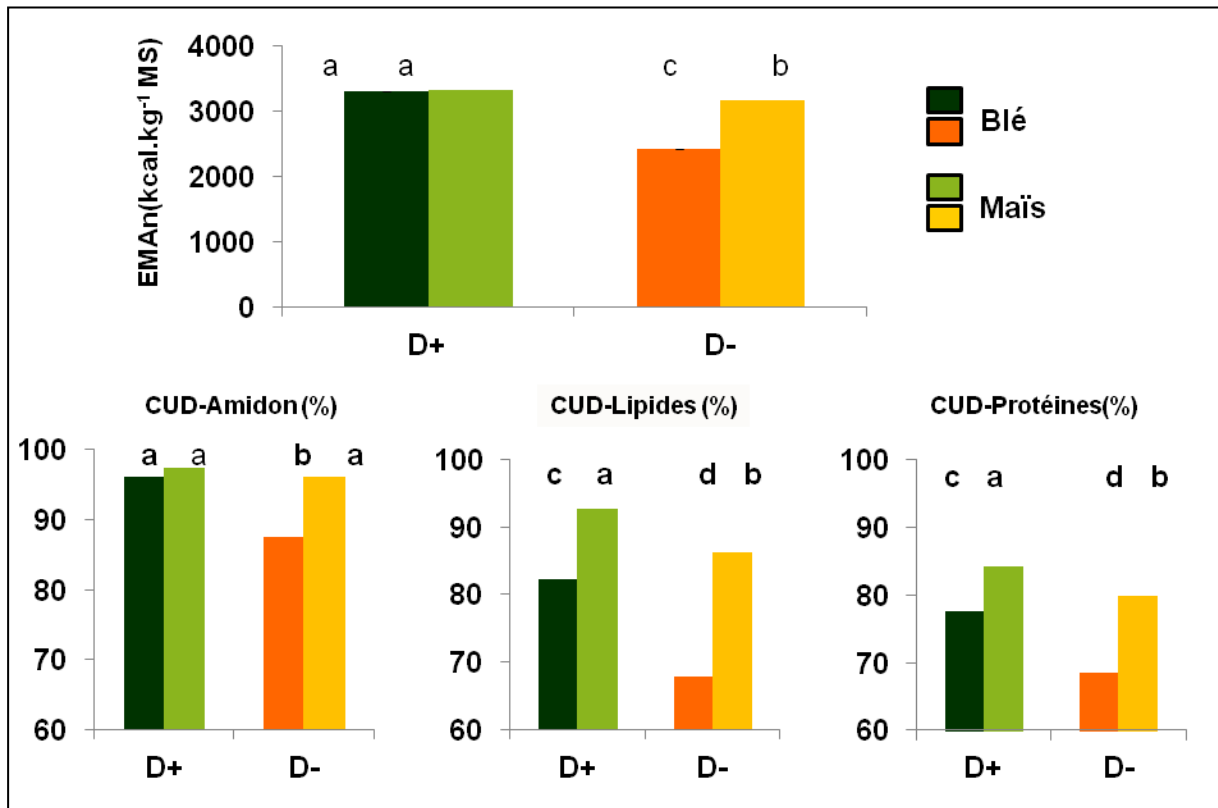


Figure 22 : Différences entre les lignées D+ et D- selon le régime (blé Rialto ou maïs) (Mignon-Grasteau et al, 2008; 2010) pour le coefficient d'utilisation digestive de l'amidon (CUD-Amidon), le coefficient d'utilisation digestive des lipides (CUD-Lipides) et le coefficient d'utilisation digestive des protéines (CUD-Protéines).

Le croisement F2 utilisé dans cette thèse pour la détection de QTLs des caractères de digestibilité et d'anatomie a ainsi été créé à partir de ces lignées désormais maintenues sans sélection.

Après 8 générations de sélection, le critère de sélection (EMAn) diffère de 30 à 40% (figure 21) entre les deux lignées divergentes de poulets bons (D+) et mauvais digesteurs (D-) selon les expériences (Carré et al, 2008; de Verdal et al, 2010b; Mignon-Grasteau et al, 2010).

Cette différence d'efficacité digestive est également observée pour l'amidon, les lipides et les protéines, dont les coefficients d'utilisation digestive sont plus élevés chez les D+ de 10%, 20% et 13%, respectivement (figures 22, Mignon-Grasteau et al, 2010). Quand les animaux sont nourris avec un régime facile à digérer à base de maïs, ces différences sont plus faibles mais toujours significatives pour l'EMAn et les coefficients d'utilisation digestive, 1 à 8% plus élevés chez les D+ que chez les D-. Cette différence de capacité digestive est donc très fortement liée au régime. On observe la même situation pour la digestibilité de l'amidon (10% de différence sur blé, 1% avec maïs), des lipides (21% de différence sur blé, 7% sur maïs) et des protéines (13% sur blé, 5% sur maïs, Rougière et al, 2009; Mignon-Grasteau et al, 2010). En revanche, EMAn et poids vif n'étant que très faiblement corrélés, la sélection n'a pas modifié le poids vif à 23 jours et faiblement les rendements en filet en en gras abdominal (de Verdal et al, 2013b).

Consécutivement à l'amélioration de l'efficacité digestive, la sélection génétique chez les D+ et D- a amené une modification des rejets et du développement du tractus digestif. Malgré une consommation alimentaire 18,5% plus élevée chez les D- que chez les D+, les quantités excrétées (poids de fientes sèches rapporté à la consommation alimentaire) sont 79% plus importantes chez les D- (de Verdal et al, 2013a). La composition des rejets est également affectée, les D+ excréant 53,4% moins d'azote et de 21,4% moins de phosphore que les D- (de Verdal et al, 2013a). Dans ces deux lignées, le ratio de l'azote sur le phosphore excrété est de 3,46 pour les D+ et de 4,34 pour les D- (de Verdal et al, 2010b). La sélection sur l'EMAn ou le CUD permet donc de réduire les rejets plus efficacement qu'une sélection sur l'indice de consommation: de 37 à 40% pour les rejets totaux et azotés, de 207 à 209% pour les rejets phosphorés (de Verdal et al, 2010c).



Figure 23 : Taille relative de l'ensemble gésier-proventricule des D- (gauche) et des D+ (droite).

(Photo fournie par S. Mignon-Grasteau, communication personnelle).

Les résultats de plusieurs études ont montré que de fortes différences de morphologie du tractus gastro-intestinal accompagnaient les différences d'efficacité digestive chez les lignées D+ et D-, avec un fort développement de la partie supérieure du tube digestif (proventricule et gésier, voir figure 23), et à l'inverse, un développement inférieur de l'intestin grêle chez les D+ par rapport aux D- (Garcia et al, 2007; Rougère et al, 2009; Rougère et Carré, 2010). Dans le même sens, de Verdal et al (2011) ont mis en évidence des corrélations génétiques fortes entre anatomie et efficacité digestive, notamment avec le poids de l'intestin. Chez les D+, on a alors une plus grande quantité de fines particules du fait d'une action plus élevée des sécrétions enzymatiques et du broyage des aliments, qui seront alors plus facilement absorbés dans l'intestin grêle. Enfin, Rougère et Carré (2010) et Rideau et al (2013) ont montré que ces différences anatomiques étaient également liées à de fortes variations de vitesse de transit, considérablement plus rapide chez les D- que chez les D+, ce qui réduit d'autant les possibilités d'absorption des nutriments chez ces derniers.

III. Détection de QTLs pour des caractères de digestibilité et d'anatomie chez la Poule.

III.1. Primo-détection de QTLs pour des caractères de digestibilité et d'anatomie.

La détection de QTLs dans cette partie de thèse a été réalisée dans le cadre du projet CHIEF (Chicken Environmentally Friendly) financé par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR). Ce projet repose sur l'étude d'une population F2 de 820 animaux obtenue par croisement des lignées divergentes sélectionnées sur leur forte (D+) ou faible (D-) efficacité digestive (voir figure 20) , estimée par l'AMEn (Energie métabolisable corrigée pour un bilan azoté nul). Cette population a été phénotypée pour environ 70 caractères de différents types :

- **efficacité digestive et alimentaire** : AMEn, coefficients d'utilisation digestive de l'amidon (CDUS), des lipides (CDUL), des protéines (CDUP), de la matière sèche (CDUDM), rétention du phosphore, indice de consommation, consommation alimentaire résiduelle¹,

- **rejets** : poids de fientes fraîches et sèches, brutes ou rapportées à la consommation alimentaire, ratio « Azote/Phosphore » dans les fientes, taux d'humidité et pH des fientes,

- **croissance et consommation alimentaire** : poids à différents âges de 0 à 23 jours, consommation alimentaire de 9 à 23 jours,

- **anatomie** : poids des différents segments du tractus digestif (proventricule, gésier, duodénum, jéjunum, iléon), longueur des segments intestinaux, engraissement abdominal, poids du filet, pH des contenus du gésier et du jéjunum,

- **métabolisme du phosphore** : taux de phosphore plasmatique, résistance du tibia à la rupture, longueur, diamètre et volume du tibia, taux de matière sèche et de cendres tibiales,

- **comportement** : alimentaire (fréquence des comportements alimentaires, nombre et durée des repas, intervalle moyen entre repas), activité générale (fréquence des séquences

¹ Résiduelle de la régression de la consommation alimentaire sur le poids métabolique et le gain de poids de l'animal

d'animaux en mouvement, couché, debout), sensibilité au stress (nombre d'inductions et durée d'immobilité tonique dans le test d'immobilité tonique, latence avant mouvement dans un test d'isolement en environnement nouveau).

Dans une première étape et avant cette thèse, l'accès à une puce contenant 57 636 SNP (Illumina Infinium chicken SNP array) dans le cadre du projet ChickIBD a permis de tester 6 mâles F0 pères des F1 (3 mâles D+ et 3 mâles D-) et 6 mâles F1 (pères ou oncles des animaux F2) afin de choisir parmi ces marqueurs ceux qui étaient à la fois les plus informatifs (hétérozygotes sur les animaux F1) et les mieux répartis sur le génome, à l'aide du logiciel MarkerSet (Demeure et Lecerf, 2008). Grâce à cette première étape, un ensemble de 6000 marqueurs a été retenu pour génotyper l'ensemble des animaux F0, F1 et F2 du dispositif étudié. Les marqueurs finaux couvrent les chromosomes 1 à 28, le groupe de liaison LGE22C19 et le chromosome Z.

Par ailleurs, les estimations des paramètres génétiques des caractères (utilisées par la suite dans les fichiers de paramètres de QTLMap) ont été réalisées avec le logiciel VCE6 et un modèle comprenant (Lê, 2012):

- l'effet génétique additif de l'animal (N = 1153),
- l'effet maternel d'environnement permanent pour le poids à 23 jours (N = 58)
- l'effet fixé du lot (N = 5),
- l'effet fixé de la cellule d'élevage (N = 3),
- l'effet fixé du sexe (N = 2)
- l'effet fixé de la hauteur des cages (N = 3),

et, pour les caractères anatomiques, l'effet fixé de l'expérimentateur qui segmentait le tractus digestif (N = 7) et de la demi-journée d'abattage (N = 2)

Cette partie de la thèse se focalise sur la détection de QTLs des caractères de capacité digestive (5 caractères) et d'anatomie du tractus digestif (7 caractères) ainsi que du poids vif à 23 jours, non seulement pour détecter des zones génomiques contrôlant ces caractères mais aussi pour étudier la relation entre la capacité digestive et l'anatomie du tractus digestif entre les D+ et les D- (cf. §II de cette partie).

Les analyses QTL ont été réalisées à l'aide des deux logiciels les plus utilisés en génétique animale : QTLMap et QTLEXPRESS. L'objectif de cette double analyse était, comme pour l'étude de la résistance au portage de salmonelles, de comparer, dans ce dispositif, les résultats obtenus avec ces deux logiciels qui utilisent des méthodes statistiques différentes (régression linéaire pour QTLEXPRESS, maximum de vraisemblance et pour QTLMap) sur la détection de QTLs dans ce dispositif. Dans un premier temps, nous avons réalisé la détection de QTLs pour tous les caractères de digestibilité et d'anatomie avec le logiciel QTLMap (Gilbert et al, 2008, Elsen et al, 2009, Filangi et al, 2010). Les résultats obtenus sont présentés dans le troisième article de la thèse soumis à BMC Genomics (cf. article 3). Dans cet article, nous avons effectué une analyse mono-QTL et mono-caractère avec le modèle d'analyse de liaison (LA) classique.

Article 3: Detection of QTL controlling digestive efficiency and anatomy of the digestive tract in chicken fed a wheat-based diet

Soumis à BMC Genomics

(http://www.biomedcentral.com/imedia/8441320279933259_article.pdf)

**Thanh-Son Tran¹, Agnès Narcy¹, Bernard Carré¹, Irène Gabriel¹, Nicole Rideau¹,
Hélène Gilbert², Olivier Demeure^{3,4}, Bertrand Bed'Hom⁵, Céline Chantry-Darmon⁶,
Marie-Yvonne Boscher⁶, Denis Bastianelli⁷, Nadine Sellier⁸, Marie Chabault¹, Fanny
Calenge⁵, Elisabeth Le Bihan-Duval¹, Catherine Beaumont¹, Sandrine Mignon-
Grasteau^{1*}**

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

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

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

⁴ Agrocampus Ouest, UMR1348 PEGASE, F-35042 Rennes, France

⁵ INRA, UMR1313 GABI, Domaine de Vilvert, F-78352 Jouy en Josas cedex, France

⁶ INRA, LABOGENA, Domaine de Vilvert, F-78352 Jouy en Josas cedex, France

⁷ CIRAD, UMR Selmet, F-34398 Montpellier cedex 5, France

⁸ INRA, UE1295 PEAT, F-37380 Nouzilly, France

* Corresponding author

Email addresses:

TST: son.tran@tours.inra.fr

AN: agnes.narcy@tours.inra.fr

BC: bernard.carre@tours.inra.fr

IG: irene.gabriel@tours.inra.fr

NR: nicole.rideau@tours.inra.fr

HG: helene.gilbert@toulouse.inra.fr

OD: olivier.demeure@rennes.inra.fr

BB: bertrand.bedhom@jouy.inra.fr

CCD: celine.chantry@jouy.inra.fr

MYB: marie-yvonne.boscher@jouy.inra.fr

DB: denis.bastianelli@cirad.fr

NS: nadine.sellier@tours.inra.fr

MC: marie.chabault@tours.inra.fr

FC: fanny.calenge@jouy.inra.fr

ELBD: elisabeth.lebihan@tours.inra.fr

CB: catherine.beaumont@tours.inra.fr

SMG: sandrine.grasteau@tours.inra.fr

Abstract

Background: Improving digestive efficiency is a major goal in poultry production, as it would reduce production costs, make possible the use of alternative feedstuffs and decrease the volume of animal manure. Since measuring digestive efficiency is rather difficult, identifying molecular markers associated with genes controlling this trait would be a valuable tool for selection. Initially detection of QTL was undertaken on 820 meat-type chickens originating from 6 sire families in an F2 cross between D- and D+ lines divergently selected on low or high AMEn (apparent metabolizable energy value of diet corrected to zero nitrogen balance) measured at 3 weeks of age in animals fed a diet based on a low quality cultivar wheat (Rialto). Birds were measured for (1) five traits characterizing digestive efficiency: AMEn, coefficients of digestive utilization of starch (CDUS), lipids (CDUL), proteins (CDUP), and dry matter (CDUDM); (2) seven traits describing the anatomy of the digestive tract: relative weights of the proventriculus, gizzard and intestine and proventriculus plus gizzard (RPW, RGW, RIW, RPGW), relative length of intestine (RIL), density of intestine (ID), ratio of proventriculus and gizzard to intestine weight (PG/I); and (3) body weight at 23 days of age. All the animals were genotyped for 6,000 SNP markers, selected from 54,000 as the most informative for the cross and regularly distributed on the genome. Markers were distributed on 28 autosomes, the Z chromosome and 1 unassigned linkage group.

Results: Using the QTLMap software developed for linkage analyses by interval mapping, nine QTL controlling digestive efficiency traits, 11 QTL controlling anatomy-related traits and two QTL controlling body weight at 23 days of age were detected. On chromosome 20, two QTL significant at the genome level were present at the same position for CDUS and CDUDM, two traits that were highly correlated genetically. Moreover, chromosome-wide QTLs were detected on chromosome 16 for AMEn, CDUS, CDUDM and CDUP. On chromosomes 23 and 26, chromosome-wide QTLs were identified for CDUS, and co-

localization between QTL controlling digestive efficiency and the ratio of intestine length to body weight were found on chromosomes 16 and 26. A final chromosome-wide QTL was found on chromosome 27 for CDUDM.

Conclusions: This study identified several genome regions involved in the control of digestive efficiency. Further studies are needed to identify the genes underlying these effects, and to validate them in commercial populations and breeding environments.

Keywords: Chicken, QTL, digestive efficiency, genetics, gizzard, gastrointestinal tract, nutrition

Background

Feed costs represents the main cost of production for meat-type chickens, ranging from 55 to 65 % depending on the production type [1], and poultry diet costs have been increasing for several years. In France, for instance, the mean cost of poultry diets increased by 9% between 2009 and 2010, and by 34% between 2005 and now. This trend will possibly continue since the increase in the human population will simultaneously lead to an increased need for poultry meat and for the crops required for both animal and human consumption. Increasing the use of alternative feedstuffs would be one way to decrease the competition between human and animal consumption. However, most alternative feedstuffs are products with relatively low nutritional value, thus leading to lower production performance and increased animal excretion. Selecting birds for improved digestive efficiency would be one way to address this question. To reduce feed costs and improve feed efficiency, laying hens and meat-type chickens have been selected on traits such as feed conversion ratio (FCR) and residual feed intake (RFI) [2-5], mainly when fed with high quality, easy to digest diets. It was recently shown that genetic selection on digestive efficiency resulted in improved feed efficiency [6, 7]. The digestibility of energy, proteins, lipids and starch showed heritability estimates ranging between 0.33 and 0.47. These studies were performed using a diet that was difficult to digest, including a high proportion of wheat from the Rialto cultivar the digestibility of which has been shown poor [8]. In these studies, D+ and D- lines were divergently selected for high and low digestive efficiency, respectively, measured at 3 weeks of age. Digestive efficiency was assessed by the apparent metabolizable energy value of the diet, corrected to zero nitrogen retention (AMEn). After 8 generations of selection, the AMEn value of the Rialto wheat diet was found to be 33% higher in D+ than in D- birds [9]. When birds were fed a corn diet that was easier to digest, differences between lines were much smaller but always

significant for AMEn and coefficients of digestive utilization, values being 1 to 8 % higher in the D+ than in the D- line [10]. These differences in digestive efficiency were associated with changes in the relative sizes of organs of the digestive tract, i.e. smaller intestines and heavier gizzards in the D+ than in the D- line, as well as differences in motility and transit time through the gastrointestinal tract (much faster in the D- than in the D+ line) [11, 12]. Measuring digestive efficiency on a large number of animals in a non-invasive way involves measuring fecal digestibility instead of ileal digestibility. It is time-consuming and animals must be kept in cages, *i.e.* in conditions different from current rearing conditions. Identifying genetic markers involved in the variability of this type of trait would thus provide valuable tools for marker-assisted selection. Despite the importance of feed efficiency for poultry production, very few QTL controlling these traits have been detected to date and nothing detected has been related to digestive efficiency. In fact, among the 3442 QTL so far detected in poultry (laying hens and broilers), only 25 have been related to feed efficiency (www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb, 27/12/2012). Furthermore, none of these studies have described the composition of the diet used and none has measured digestibility [13-18], although it has been shown that the genetic determinism and level of inheritance of digestive efficiency are closely linked to diet composition [19].

The aim of this study was therefore to undertake the first research into QTL controlling digestive efficiency and the anatomy of the digestive tract in an F2 cross between the divergent D+ and D- chicken lines while fed a challenging wheat-based diet.

Materials and methods

Animals

Chicken from the D+ and D- lines divergently selected on high or low AMEn, respectively[6], were crossed at the eighth generation of selection to produce an F2 design. The F2 generation

consisted of 820 animals originating from 6 sires and 60 F1 dams (half from the cross of D+ males with D- females, and half from D- males with D+ females). Five batches of chicks were produced between January and June 2010.

From hatching to 10 days of age, birds were reared in one group on the floor, and then they were transferred in individual cages. Throughout the experiment, birds were fed a diet similar to the diet containing 55% Rialto wheat used during the selection experiment (Table 1), except that clinacox was used instead of robenidine as anticoccidial as it does not disturb development of intestinal microbiota.

Phenotype measurements

For all F2 birds, AMEn values of the diet and coefficients of digestive utilization of dry matter (CDUDM), starch (CDUS), proteins (CDUP) and lipids (CDUL) were individually measured between 17 and 20 days of age using a method based on total collection of excreta, as described by Bourdillon *et al.*[20]. This age was chosen as it is the median age of the broilers' rearing period. Gross energy, lipid, starch, and protein contents of individual freeze-dried excreta were measured for all birds using the Near Infrared Spectroscopy procedure (NIRS, Foss NIRSystems, Inc., Silver Spring, MD) described by Bastianelli *et al.*, [21], using calibration based on the chemical analyses of 38 excreta samples.

At 23 days of age, birds were weighed (BW23) and slaughtered, and the gizzard, proventriculus and small intestine were removed, emptied and weighed. Organ weights relative to body weight, expressed as a percentage, were designated RGW, RPW, RPGW and RIW for the gizzard, proventriculus, gizzard plus proventriculus, i.e. the upper part of the digestive tract and intestine, respectively. Intestine length relative to body weight (RIL, in cm.g^{-1}), intestine density calculated as the ratio of intestine weight to intestine length (ID, in

$\text{g}\cdot\text{cm}^{-1}$), and the proventriculus plus gizzard to intestine weight ratio (PG/I, $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) were also calculated. Elementary statistics for these traits are shown in Table 2.

Markers and genotyping

To optimize marker informativity in the experimental cross, a sample of 6 F0 and 6 F1 males was genotyped with 57,636 SNP using the Illumina Infinium chicken SNP array. The 6,000 most informative markers evenly distributed across the genome were selected using the MarketSet software [22]; they were used to genotype all F0, F1 individuals and F2 progeny by mean of the dedicated Illumina Infinium custom array. These 6,000 SNP markers were distributed on 28 autosomes, on 1 unassigned linkage group (LGE22C19) and the Z chromosome.

The markers presenting deviations from the Hardy-Weinberg equilibrium within families or inconsistent genotyping relative to pedigree or genetic map information were discarded from the analysis in order to eliminate false positive QTL detection. Finally, 3,379 markers were used (Table 3). The genetic map was deduced from the physical position of the SNP markers and from the genetic consensus reference map published by Groenen et al, [23]. This set of markers covers 3,099.1 cM.

QTL analysis

QTL detection was carried out with the QTLMap software [24] using a half-sib model [25, 26] with interval mapping based on maximum likelihood estimations [27]. This model does not make assumptions on the number of QTL alleles segregating in the design. The traits were analyzed separately. Depending on preliminary analysis of variance, some fixed effects were included in the model such as batch (all traits, 4 levels), sex (CDUS, CDUP, BW, RGW, RPW, RPGW, RIW, RIL, PG/I, 2 levels), rearing cell (CDUP, 3 levels), cage row (AMEn,

CDUDM, CDUL, CDUP, BW, RGW, RPW, RPGW, RIW, RIL, 3 levels), slaughter per half-day (RGW, RPGW, PG/I, ID, 2 levels), experimenter at slaughter (i.e the person in charge of cutting intestinal segments, RGW, RPW, RPGW, RIW, RIL, PG/I, ID, 7 levels). QTL analyses were performed by comparing the hypothesis of one QTL (H1) *versus* no QTL (H0) to test the segregation of a QTL on each linkage group.

For each trait on each chromosome, the significance threshold at the chromosome-wide level was calculated from the results of 1,000 simulations of performance under the null hypothesis, with a trait heritability estimated on our design (Table 2). For the most significant QTL, 20,000 simulations were made to derive the genome-wide *p*-value (P_G) from the chromosome-wide *p*-value (P_C) using an approximate Bonferroni correction:

$$P_G = 1 - (1 - P_C)^{1/r}$$

where *r* was the of length of a specific chromosome to the length of the genome ratio considered for QTL detection as in Tilquin et al, [28]. Confidence intervals for QTLs (95%) were estimated using the LOD drop-off method as proposed by Lander and Botstein [27].

The significance of the QTL effects within each sire family was tested using a Student test, by assuming an equal distribution of the QTL alleles in the progeny. A QTL effect was retained as significant for Student test *p*-values <0.05, and the corresponding sire families were assumed to segregate for this QTL. These familial substitution effects were estimated in families found to significantly segregate for the QTL.

Results

Nine QTLs were detected for digestive efficiency (Table 4), 11 for anatomy of the digestive tract (Table 5) and 2 for body weight at 23 days (Table 5). Most QTLs for digestive efficiency were identified for CDUDM and CDUS, two traits which are strongly correlated [29, 30]. Two genome-wide QTLs controlling CDUS and CDUDM were observed at the same position

on chromosome 20 (Figure 1A). Similarly, four chromosome-wide QTLs were detected at the same region on chromosome 16 for AMEn, CUDS, CDUDM and CUDP. On chromosome 27, a chromosome-wide QTL was detected for the coefficient of digestive utilization of the dry matter. It should be noted that for QTLs detected on chromosomes 20 and 27, the shape of the likelihood ratio test (LRT) curve was the same for all digestive efficiency traits (Figures 1A, 2A) although the LRT did not reach significance for them all.

Among the 11 QTLs detected for anatomy of the digestive tract, four were controlling traits related to the upper part of the tract (i.e. gizzard and proventriculus) on chromosomes 1, 6, 8 and 21, five the lower part (i.e. small intestine) on chromosomes 8, 12, 16, 18, 26, and two the upper to lower parts of the gastrointestinal tract ratio (PG/I) on chromosomes 11 and 21. All these QTL were detected only at the chromosome-wide level. On chromosome 21, we observed a co-localization between a QTL for the relative weight of the upper part of the digestive tract and for the upper part to the lower part ratio.

We observed co-localization of digestive efficiency and anatomy traits only on chromosomes 16 (AMEn, CDUDM, CDUS, CDUP, RIL) and 26 (CDUS and RIL) (Figures 3A, 3B).

The magnitude of QTL effects ranged mainly from 0.15 to 0.60 phenotypic standard deviation, the greatest effects being observed on chromosome 20 for genome-wide significant QTLs. This large QTL was significant in most of the sire families of the design (4 and 5 families depending on the traits). For the other digestive efficiency traits and for body weight, the QTL effects were significant in 2 to 5 sire families.

The 95% confidence interval for the QTL localizations ranged from 2 cM for chromosome 20 (CDUS and CDUDM) and chromosome 12 (ID) to 27 cM for chromosome 23 (CDUS). They tended to be narrower for the most significant QTLs.

Discussion

This study is the first to highlight the presence of QTLs for digestive efficiency in the chicken. A total of 9 QTL controlling digestive efficiency traits, and 11 QTL controlling anatomy-related traits were found. Indeed, the power of the study was enhanced both by testing the birds on a low quality diet, revealing high variability, and by studying a cross between divergent lines.

However, it is of note that except the QTL on chromosome 20, most of these QTLs were only significant at the chromosome level ($P < 0.05$). This was probably linked to the fact that these QTLs were not fixed in the F0 population: only 3 or 4 of the 6 sire families were found to be heterozygous at these QTLs. This observation is also consistent with the complexity of digestive efficiency traits which are probably polygenic in their determinism. Although digestive efficiency assessed by AMEn is one of the components of FCR, it nevertheless includes a large number of physiological processes such as digestive secretions, absorption, motility and neurohumoral coordination, the roles of which also vary with nutrients. The weak effects of most QTLs also suggested polygenic control, with the exception of QTLs controlling CUDS on chromosome 20 and RIL on chromosome 16, although the latter was significant in only two families.

Since the digestive efficiency of the whole diet is dependent on the digestive efficiency of each of these nutrients, QTL controlling digestive efficiency were mainly found for components of AMEn (mainly CDUS) and not for AMEn itself, in spite of significant and highly positive genetic correlations (0.60-0.90) and heritability of similar magnitude between AMEn, CDUDM and CDUS, and the latter was the selection criterion. This result was consistent with the results of previous QTL studies devoted to FCR that revealed few QTLs for this trait but rather QTLs on components of FCR, such as feed intake, growth and body

composition. For example, in studies devoted to QTL detection for FCR [13-18, 31], fewer QTLs were found for feed conversion ratio (9) than for production traits such as growth or egg production (16) or body composition (13).

Most QTL were found for CUDS. Indeed, the highest percentage of dietary content is starch, which can explain that selection on digestive efficiency mostly affected the digestibility of the major component of the diet. Moreover, the digestion of starch probably involves a more limited number of physiological limiting factors than the other components of the diet, with only a few types of enzymatic hydrolyses (α -amylase, maltase, isomaltase), and a very efficient process for the absorption of glucose, the end product. It is generally accepted that the potential for starch hydrolysis in terms of enzyme secretions is very high in chickens [32]. Thus, the low digestive utilization of starch observed in some birds probably originated from disorders of digestive motility [12] or of the coordination between motility and pancreatic secretions. It should be noted that there was no QTL for the coefficient of digestive utilization of lipids. Although its heritability was similar to that of the other traits, it also depended on an interaction between the bird and the intestinal microbiota, especially the balance between *Lactobacillus salivarius* and *Escherichia coli* and between *Lactobacillus salivarius* and *Clostridium leptum* (data not shown). This double contribution of both the bird and its intestinal microbiota to the digestibility of lipids can make QTL detection more difficult.

Although the results depended on the nature of the nutrients, we revealed two regions carrying QTLs for several traits on chromosomes 16 (4 QTLs) and 20 (2 QTLs). All digestive efficiency traits also showed a peak in these positions, although they did not reach significance. This result is in agreement with the strong genetic correlations observed between the digestive efficiency traits [19], However, no such co-localization or putative vicinity could be observed on chromosomes 23 and 27, which suggest partially different genetic control

between traits, although it may also result from a false negative result. These results cannot be attributed to a lack of power of our design, which exceeded 92% for all QTLs.

In our study, we did not find QTLs at positions already published for feed efficiency traits recorded with high quality diets [13-18], except for chromosome 16 for which Ewald et al, [18] published a QTL for feed conversion ratio. Given the poor precision of localization on chromosome 16, we cannot exclude the possibility that these two QTLs are the same. This general discrepancy between QTLs for feed and digestive efficiency is not surprising. The latter is one of the components of the former that also includes growth rate, body composition, feed intake and heat production. Furthermore, these studies were undertaken with animals fed on high quality diets, thus leading to a fairly low contribution of digestive efficiency in the variation of the FCR. Moreover, the chickens used in these earlier studies were somewhat different in that they grew considerably faster than the chickens used in the current study.

The consistency between QTLs published in the literature and those found in our study was better for traits related to the anatomy of the digestive tract than for digestive efficiency traits. On chromosome 1, we observed a QTL controlling RPGW at 456 cM. Gao et al, and Nones et al, also observed overlapping QTLs for gizzard weight on chromosome 1 [33, 34]. Despite the fact that their location was fairly distant from ours (around 50 cM), they estimated very large confidence intervals, suggesting that we cannot completely exclude the possibility that their QTL was the same as ours. On chromosome 11, the QTL controlling PG/I was within the very large confidence interval (0-35 cM) of the QTL for intestine length detected by Gao et al, [34]. On chromosome 26, the confidence interval of the QTL at 37 cM (34-40 cM) controlling RIL was not overlapping, but was still quite close to the G0S2 gene identified for its effect on intestine length by Zeng et al, [35]. Identifying co-localization between QTL for the gizzard and the intestine is not surprising, in view of the fact that greater intestinal

development can be interpreted as an attempt to counterbalance a functional disorder of the gizzard [11].

On chromosome 26, QTLs controlling CDUS and relative intestine length were co-localized. This was consistent with the strong phenotypic differences in gastrointestinal tract morphology observed between D+ and D- lines, with a heavier gastric compartment and a lighter small intestine in the D+ than in the D- line [10, 11, 36], as well as with the genetic correlations between digestive efficiency and anatomy traits, in particular with the weight of the intestine [29]. Identifying the genes underlying the QTLs should make it possible to distinguish between effects of gene(s) controlling both variation in digestive efficiency and gut morphology and a physiological effect of digestive efficiency on gut morphology.

Even if QTLs have moderate effects, their use in selection may result in a significant reduction in production costs. For instance, the QTL controlling body weight at 23 days on chromosome 1 was responsible for 2.3% increase in body weight. Extrapolating this difference to the whole production cycle results in an increase in BW of 46 g per chick at 23 days of age which, when multiplied by the number of chickens per year per laying house (around 120,000), represents an increase of 5 520 kg of meat per henhouse and per year. Similarly, increasing starch digestibility by 2.2% (as for the QTL on chromosome 20) could save 4 tons of feed per year per laying house.

Conclusion

In view of the fact that using a poor diet increased the genetic variability of the traits of interest, and thus the power of QTL detection, it can be suggested that the QTLs detected in this study could also be expressed when breeding birds with a more digestible diet. Previous studies showed that the extent of differences between D+ and D- lines depended on diet composition [37], and that anatomical differences were not found at hatching [9, 10]. Animals

thus reacted to diets while challenged. However, even when reduced, most differences between lines remained significant with high quality diets [10, 11], suggesting that these QTLs are also involved in the variations in digestive efficiency observed with more favorable diets, consistent with the high and positive genetic correlations between digestive efficiency traits estimated on wheat and corn diets [19]. It is also possible that epigenetic phenomena are involved without affecting the positions of the QTL themselves. Further studies should be undertaken to address this question.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

All authors contributed to manuscript preparation and scientific discussion. In addition TST contributed to genetic analyses, AN to study conception and design, phenotyping of the digestive tract, BC to study conception, design and phenotyping for AMEn measurements, IG to study conception and design, phenotyping, NR to phenotyping, HG to genetic analyses, development of QTLMap software, OD to genotype verification, BB to genotype and marker verification, CCD to genotyping of animals, MYB to genotyping of animals, DB to digestive efficiency measurement, NS to supervision of animal rearing, MC to reproduction of experimental lines and creation of F2 cross, FC to scientific discussion, ELBD to study conception, design and phenotyping, CB to study conception in QTL analysis and scientific discussion and SMG to coordination of the project, study conception and design, selection of experimental lines. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgments

This research was funded by the National Agency for Research in France, contract ANR-09-GENM-007. This paper is part of the PhD work of Thanh-Son Tran, funded by the Region Centre in France and the Animal Genetics Department at INRA.

We also thank members of the UE PEAT and UE EASM experimental units and of the URA research units at INRA and UMR Selmet at CIRAD for their technical help in animal rearing and chemical and laboratory analyses.

References

1. Riffard C, Gallot S, Magdelaine P: **Performances techniques et coûts de production en volailles de chair, poulettes et pondeuses. Résultats 2010. Rapport technique.** Paris: ITAVI; 2011.
2. Schulman N, Tuiskula-Haavisto M, Siitonen L, Mantysaari EA: **Genetic variation of residual feed consumption in a selected Finnish egg-layer population.** *Poult Sci* 1994, **73**:1479-1484.
3. Katle J, Kolstad N: **Selection for efficiency of food utilisation in laying hens: direct response in residual food consumption and correlated responses in weight gain, egg production and body weight.** *Br Poult Sci* 1991, **32**:939-953.
4. Bordas A, Mérat P: **Correlated responses in a selection experiment on residual feed-intake of adult Rhode-Island Red cocks and hens.** *Ann Agric Fenn* 1984, **23**:233-237.
5. Pym RAE: **Nutritional Genetics.** In *Poultry Breeding and Genetics.* Edited by Crawford RD. Amsterdam: Elsevier; 1990: 847-876.
6. Mignon-Grasteau S, Muley N, Bastianelli D, Gomez J, Péron A, Sellier N, Millet N, Besnard J, Hallouis JM, Carré B: **Heritability of digestibilities and divergent selection for digestion ability in growing chicks fed a wheat diet.** *Poult Sci* 2004, **83**:860-867.
7. de Verdal H, Mignon-Grasteau S, Bastianelli D, Même N, Le Bihan-Duval E, Narcy A: **Reducing the environmental impact of poultry breeding by genetic selection.** *J Anim Sci* 2012, **91**:613-622.
8. Carré B, Idi A, Maisonnier S, Melcion JP, Oury FX, Gomez J, Pluchard P: **Relationship between digestibilities of food components and characteristics of wheats (*Triticum aestivum*) introduced as the only cereal source in a broiler chicken diet.** *Br Poult Sci* 2002, **43**:404-415.
9. de Verdal H, Mignon-Grasteau S, Jeulin C, Le Bihan-Duval E, Leconte M, Mallet S, Martin C, Narcy A: **Digestive tract measurements and histological adaptation in**

- broiler lines divergently selected for digestive efficiency.** *Poult Sci* 2010, **89**:1955-1961.
10. Rougère N, Gomez J, Mignon-Grasteau S, Carré B: **Effects of diet particle size on digestive parameters in D+ and D- genetic chicken lines selected for divergent digestion efficiency.** *Poult Sci* 2009, **88**:1206-1215.
 11. Rougère N, Carré B: **Comparison of gastrointestinal transit times between chickens from D+ and D- genetic lines selected for divergent digestion efficiency.** *Animal* 2010, **4**:1861-1872.
 12. Rougère N, Malbert CH, Rideau N, Cognié J, Carré B: **Comparison of gizzard activity between chickens from genetic D+ and D- lines selected for divergent digestion efficiency.** *Poult Sci* 2012, **91**:460-467.
 13. de Koning DJ, Windsor D, Hocking PM, Burt DW, Law A, Haley CS, Morris A, Vincent J, Griffin H: **Quantitative trait locus detection in commercial broiler lines using candidate regions.** *J Anim Sci* 2003, **81**:1158-1165.
 14. de Koning DJ, Haley CS, Windsor D, Hocking PM, Griffin H, Morris A, Vincent J, Burt DW: **Segregation of QTL for production traits in commercial meat-type chickens.** *Genet Res* 2004, **83**:211-220.
 15. Parsanejad R, Praslickova D, Zadworny D, Kuhnlein U: **Ornithine decarboxylase: Haplotype structure and trait associations in white leghorn chickens.** *Poult Sci* 2004, **83**:1518-1523.
 16. Rowe SJ, Windsor D, Haley CS, Burt DW, Hocking PM, Griffin H, Vincent J, De Koning DJ: **QTL analysis of body weight and conformation score in commercial broiler chickens using variance component and half-sib analyses.** *Anim Genet* 2006, **37**:269-272.
 17. Hansen C, Yi N, Zhang YM, Xu S, Gavora J, Cheng HH: **Identification of QTL for production traits in chickens.** *Anim Biotechnol* 2005, **16**:67-79.
 18. Ewald SJ, Ye X, Avendano S, McLeod S, Lamont SJ, Dekkers JCM: **Associations of BF2 alleles with antibody titres and production traits in commercial pure line broiler chickens.** *Anim Genet* 2007, **38**:174-176.
 19. Mignon-Grasteau S, Juin H, Sellier N, Bastianelli D, Gomez J, Carré B: **Genetic parameters of digestibility of wheat- or corn-based diets in chickens.** In *Proceedings of the Ninth World Congress on Genetics Applied to Livestock Production: 2-6 August 2010; Leipzig.*
 20. Bourdillon A, Carré B, Conan L, Duperray J, Huyghebaert G, Leclercq B, Lessire M, McNab J, Wiseman J: **European reference method for the in vivo determination of metabolizable energy with adult cockerels - Reproducibility, effect of food-intake and comparison with individual laboratory methods.** *Br Poult Sci* 1990, **31**:557-565.
 21. Bastianelli D, Bonnal L, Juin H, Mignon-Grasteau S, Davrieux F, Carré B: **Prediction of the chemical composition of poultry excreta by near infrared spectroscopy.** *J Near Infrared Spectroscop* 2010, **18**:69-77.
 22. Demeure O, Lecerf F: **MarkerSet: a marker selection tool based on markers location and informativity in experimental designs.** *BMC Res Notes* 2008, **1**:9.
 23. Groenen MA, Wahlberg P, Foglio M, Cheng HH, Megens HJ, Crooijmans RP, Besnier F, Lathrop M, Muir WM, Wong GK *et al*: **A high-density SNP-based linkage map of the chicken genome reveals sequence features correlated with recombination rate.** *Genome Res* 2009, **19**:510-519.
 24. Filangi O, Elsen JM, Gilbert H, Legarra A, Le Roy P, Moreno C: **QTLMap: a software for QTL detection in outbred populations.** In *Proceedings of World Congress on Genetics Applied to Livestock Production: 1-6 August 2010, Leipzig.*

Available at <http://www.kongressband.de/wcgalp2010/assets/pdf/0787.pdf>;
2010:0787.

25. Le Roy P, Elsen JM, Boichard D, Mangin M, Bidanel JP, Goffinet B: **An algorithm for QTL detection in mixture of full and half sib families**. In *Proceedings of the sixth World Congress of Genetics Applied to Livestock Production: 11-16 January 1998; Armidale*.
26. Elsen JM, Mangin B, Goffinet B, Boichard D, Le Roy P: **Alternative models for QTL detection in livestock. I. General introduction**. *Genet Sel Evol* 1999, **31**:213-224.
27. Lander ES, Botstein D: **Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps**. *Genetics* 1989, **121**:185-199.
28. Tilquin P, Barrow PA, Marly J, Pitel F, Plisson-Petit F, Velge P, Vignal A, Baret PV, Bumstead N, Beaumont C: **A genome scan for quantitative trait loci affecting the Salmonella carrier-state in the chicken**. *Genet Sel Evol* 2005, **37**:539-561.
29. de Verdal H, Narcy A, Bastianelli D, Chapuis H, Meme N, Urvoix S, Le Bihan-Duval E, Mignon-Grasteau S: **Improving the efficiency of feed utilization in poultry by selection. 1. Genetic parameters of anatomy of the gastro-intestinal tract and digestive efficiency**. *BMC Genet* 2011, **12**:59.
30. Lê TN: **Analyse multifactorielle de caractères liés à l'efficacité digestive et aux rejets chez le poulet de chair**. Master thesis. François-Rabelais Université, Animal Production Departement; 2011.
31. Pinto LFB, Packer IU, Ledur MC, Moura ASAMT, Nones K, Coutinho LL: **Mapping quantitative trait loci in Gallus gallus using principal components**. *Rev Bras Zootec* 2010, **39**:2434-2441.
32. Carré B: **Causes for variation in digestibility of starch among feedstuffs**. *Worlds Poultry Science Journal* 2004, **60**:76-89.
33. Nones K, Ledur MC, Ruy DC, Baron EE, Melo CM, Moura AS, Zanella EL, Burt DW, Coutinho LL: **Mapping QTLs on chicken chromosome 1 for performance and carcass traits in a broiler x layer cross**. *Anim Genet* 2006, **37**:95-100.
34. Gao Y, Du ZQ, Wei WH, Yu XJ, Deng XM, Feng CG, Fei J, Feng JD, Li N, Hu XX: **Mapping quantitative trait loci regulating chicken body composition traits**. *Anim Genet* 2009, **40**:952-954.
35. Zeng F, Xie L, Pang X, Liu W, Nie Q, Zhang X: **Complementary deoxyribonucleic acid cloning of avian G0/G1 switch gene 2, and its expression and association with production traits in chicken**. *Poult Sci* 2011, **90**:1548-1554.
36. Garcia V, Gomez J, Mignon-Grasteau S, Sellier N, Carré B: **Effects of xylanase and antibiotic supplementations on the nutritional utilisation of a wheat diet in growing chicks from genetic D+ and D- lines selected for divergent digestion efficiency**. *Animal* 2007, **1**:1435-1442.
37. Carré B, Mignon-Grasteau S, Juin H: **Breeding for feed efficiency and adaptation to feed**. *World Poult Sci J* 2008, **64**:377-390.
38. INRA-AFZ: **Tables de composition et valeur nutritionnelle des matières premières**. Edited by INRA. Paris: Association Française de zootechnie; 2004.

Table 1 Diet composition

Ingredients	Content (%)
Corn	6.04
Rialto ¹ wheat	52.53
Soybean oil	6.00
Soybean meal 48	28.40
Corn gluten 60	3.10
Calcium carbonate	1.34
Dicalcium phosphate	1.58
Sodium chloride	0.30
Mineral and vitamin mix ²	0.35
DL Methionine	0.12
L-Lysine 78	0.22
Clinacox ³	0.02
Characteristics⁴ (calculated)	
AMEn (kcal.kg ⁻¹)	3110
Crude proteins (%)	21.1
Lysine (%)	1.16
Methionine + Cystine (%)	0.83
Calcium (%)	1.11
Total phosphorus (%)	0.66
Non-phytate phosphorus (%)	0.42

¹Wheat was from the Rialto cultivar characterized as “medium hard”, and high viscosity of water extract;

²Supplied per kilogram of diet: 0.5 mg Co; 16 mg Cu; 47 mg Fe; 1.6 mg I; 65 mg Mn; 0.2 mg Se; 72 mg Zn; 12,000 IU retinyl acetate; 3,440 IU cholecalciferol; 80 mg dl- α tocopheryl acetate; 4 mg thiamine; 6.4 mg riboflavin; 20 mg calcium pantothenate; 0.02 mg vitamin B12; 4 mg menadione; 5.6 mg pyridoxine hydrochloride; 0.4 mg folic acid; 0.24 mg biotin; 80 mg niacin; 440 mg choline; 40 mg antioxidant;

³Coccidiostat;

⁴Calculated

[39].

Table 2 Elementary statistics and heritability of the traits related to digestive efficiency and anatomy of digestive tract estimated in F2

Trait¹	Mean	Standard deviation	h²
AMEn (kcal.kg ⁻¹ DM)	3287	234.00	0.36
CDUDM (%)	70.10	4.82	0.29
CDUS (%)	95.96	4.84	0.33
CDUL (%)	76.86	12.28	0.29
CDUP (%)	81.71	3.89	0.40
RPW (%)	0.80	0.40	0.31
RGW (%)	2.10	0.70	0.64
RPGW (%)	2.83	0.53	0.21
RIW (%)	5.36	0.70	0.20
RIL (cm.g ⁻¹)	0.26	0.03	0.37
ID (g.cm ⁻¹)	0.21	0.03	0.30
PG/I (g.g ⁻¹)	0.54	0.18	0.44
BW23 (g)	451.46	58.50	0.23

¹ AMEn: metabolisable energy value of diet, corrected to zero nitrogen retention; CDUDM: coefficient of digestive utilization of dry matter; CDUS: coefficient of digestive utilization of starch; CDUL: coefficient of digestive utilization of lipids; CDUP: coefficient of digestive utilization of proteins; RGW: relative gizzard weight to body weight at 23 days; RPW: proventriculus weight relative to body weight at 23 days; RIW: intestine weight relative to body weight at 23 days of age; RIL: Intestine length relative to body weight at 23 days; ID: intestinal density; RPGW: proventriculus plus gizzard weight relative to body weight at 23

days of age; PG/I: ratio of gizzard and proventriculus weights to intestine weight at 23 days;
 BW23: body weight at 23 days.

Table 3 Distribution of markers used in genotyping and in the final analysis

Chromosome	Initial number of SNPs	Final number of SNPs used in the analysis	Map length (cM)¹
1	930	548	483.9
2	710	410	312.4
3	530	268	268.7
4	431	116	202.4
5	286	134	158.3
6	167	89	110.4
7	173	106	113.1
8	133	77	91.6
9	239	120	89.1
10	208	114	89.7
11	211	140	69.2
12	195	116	73.9
13	182	110	58.9
14	159	101	67.5
15	130	71	55.2
16	4	3	0
17	108	60	53.4
18	109	56	52.2
19	96	51	52.6
20	141	76	52.2
21	94	58	52.7
22	50	35	58.9
23	75	42	45.2
24	85	47	47.6
25	21	15	57.4
26	71	60	46.9
27	60	19	52.6
28	56	43	51.6
LGE22C19	12	3	53.2
Z	326	291	231.5

¹ Map length (in centimorgans) of sex-averaged maps follows Groenen et al, [23].

Table 4 QTLs detected for digestive efficiency

Chromosome	Trait ¹	Position (cM)	CI ²	Level of significance ³	QTL effect ⁴ (NF ⁵)
16	AMEn	0	-	*	0.17 (4)
	CDUDM	0	-	*	0.18 (4)
	CDUS	0	-	*	0.16 (5)
	CDUP	0	-	*	0.20 (4)
20	CDUDM	9	8-10	***	0.40 (5)
	CDUS	9	8-10	***	0.57 (4)
23	CDUS	30	8-35	*	0.22 (3)
26	CDUS	36	31-45	*	0.20 (3)
27	CDUDM	12	9-17	*	0.20 (3)

¹AMEn: metabolisable energy value of diet, corrected to zero nitrogen retention; CDUDM: coefficient of digestive utilization of dry matter; CDUS: coefficient of digestive utilization of starch; CDUL: coefficient of digestive utilization of lipids; CDUP: coefficient of digestive utilization of proteins;

²1-LOD-drop off confidence interval (lower and upper boundaries, cM);

³*: P<0.05 chromosome wide; ***: P<0.05 genome wide;

⁴QTL effect as a percentage of the phenotypic standard deviation of trait;

⁵Number of F1 sires families heterozygous for the QTL (P<0.05, Student test).

Table 5 QTLs detected for anatomy of the digestive tract

Chromosome	Trait ¹	Position (cM)	CI ² (cM)	Level of significance ³	QTL effect ⁴ (NF ⁵)
1	BW23	463	455-465	**	0.25 (4)
	RPGW	456	453-462	*	0.20 (4)
6	RPW	84	74-87	*	0.23 (3)
8	RIL	3	0-6	*	0.20 (4)
	RGW	44	35-49	*	0.14 (4)
11	PG/I	17	13-21	*	0.20 (4)
12	ID	44	43-45	*	0.22 (3)
16	RIL	0	-	*	0.25 (2)
18	RIL	45	38-51	*	0.19 (5)
21	PG/I	27	13-34	*	0.20 (4)
	RPGW	27	14-33	*	0.22 (4)
26	BW23	25	21-26	**	0.31 (2)
	RIL	37	34-40	*	0.27 (2)

¹RGW: Relative gizzard weight to body weight at 23 days; RPW: Relative proventriculus weight to body weight at 23 days; RIL: Relative intestine length to body weight at 23 days; RPGW: Relative gizzard weight and proventriculus weight to body weight at 23 days; ID: intestinal density; PG/I: ratio of gizzard and proventriculus weights to intestine weight at 23 days; BW23: body weight at 23 days;

²1-LOD-drop off confidence interval (lower and upper boundaries, in cM);

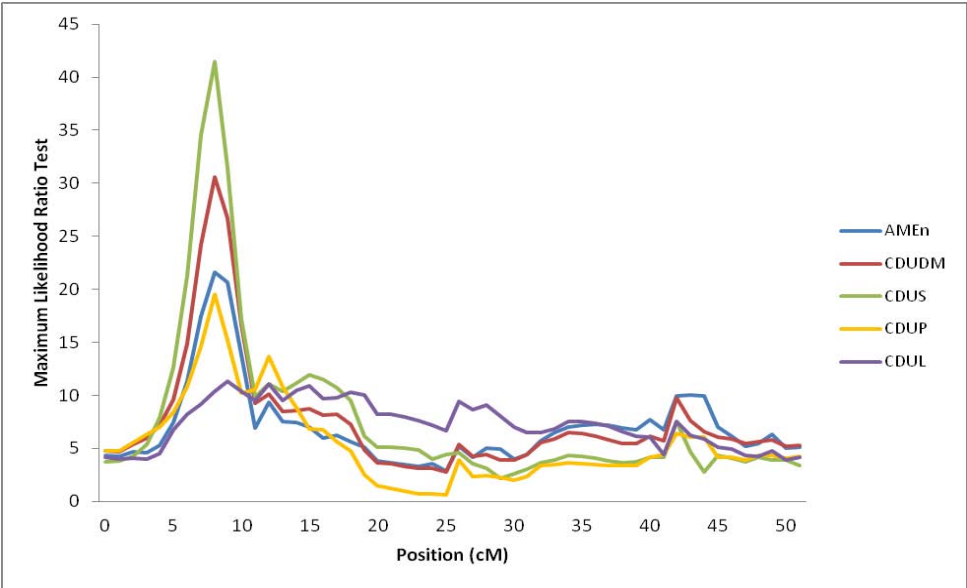
³*: P<0.05; **: P<0.01 chromosome wide;

⁴QTL effect as a percentage of the phenotypic standard deviation of trait;

⁵Number of F1 sire families heterozygous for the QTL (P<0.05, Student test).

Figure 1 Curves for the maximum likelihood ratio tests on chromosome 20 (A) digestibility traits (AMEn, CDUDM, CDUS, CDUP, CDUL); (B) anatomy of the digestive tract (RGW, RPW, RIW, RPGW, PG/I, RIL, ID).

(A)



(B)

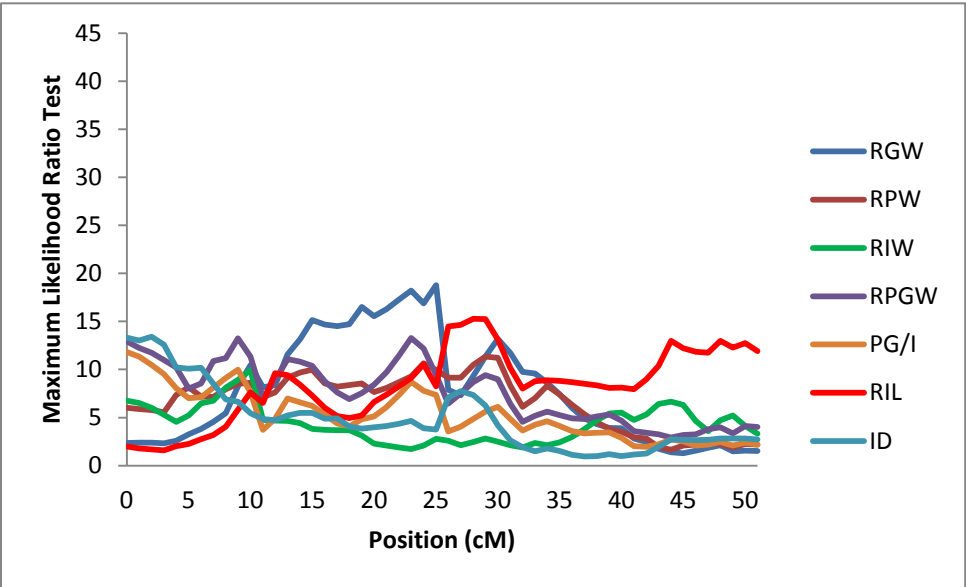
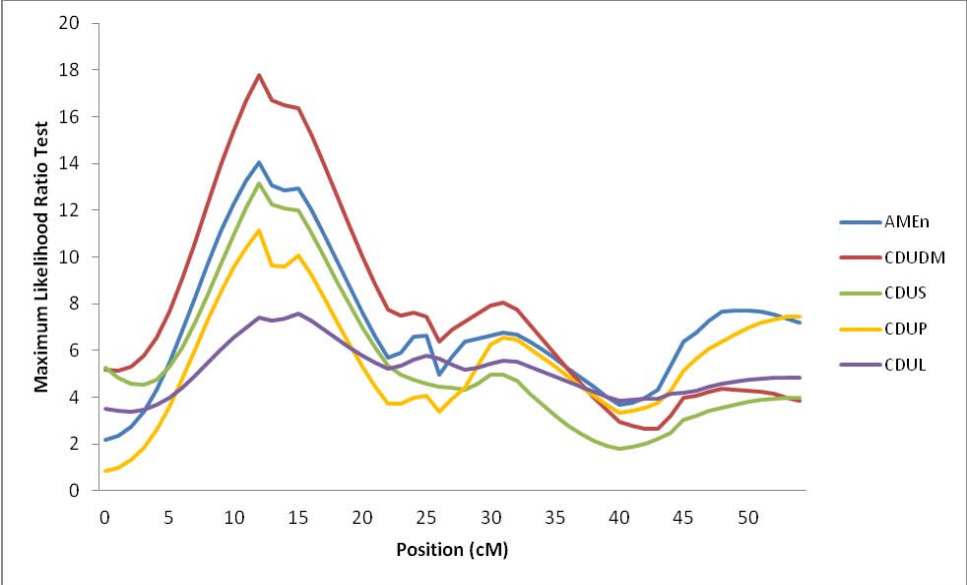


Figure 2 Curves for the maximum likelihood ratio tests on chromosome 27 (A) digestibility traits (AMEn, CDUDM, CDUS, CDUP, CDUL); (B) anatomy of the digestive tract (RGW, RPW, RIW, RPGW, PG/I, RIL, ID).

(A)



(B)

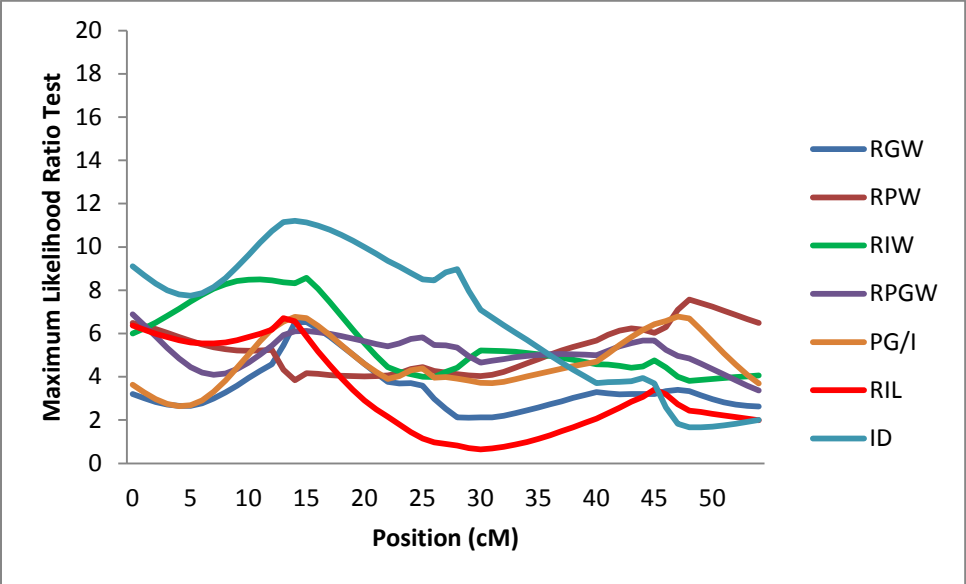
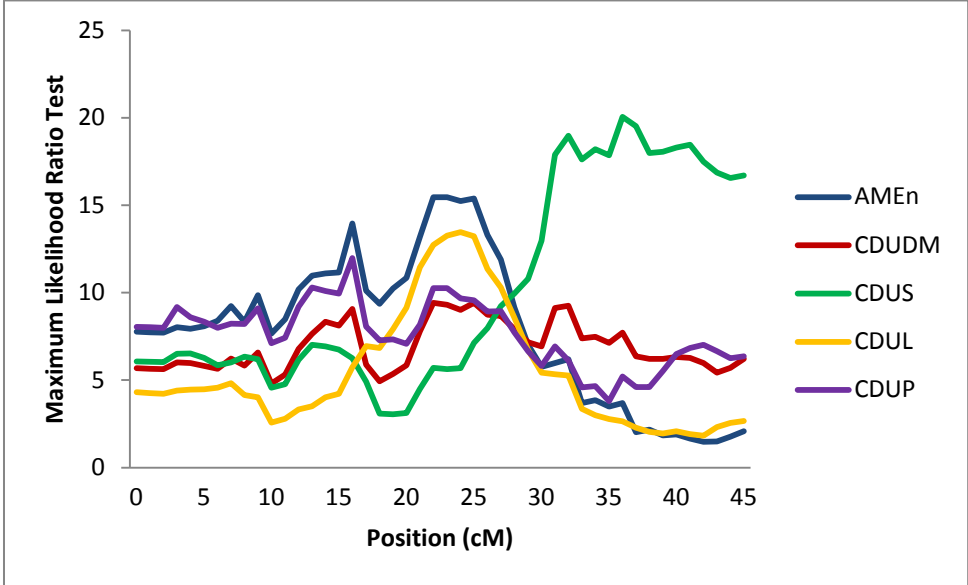
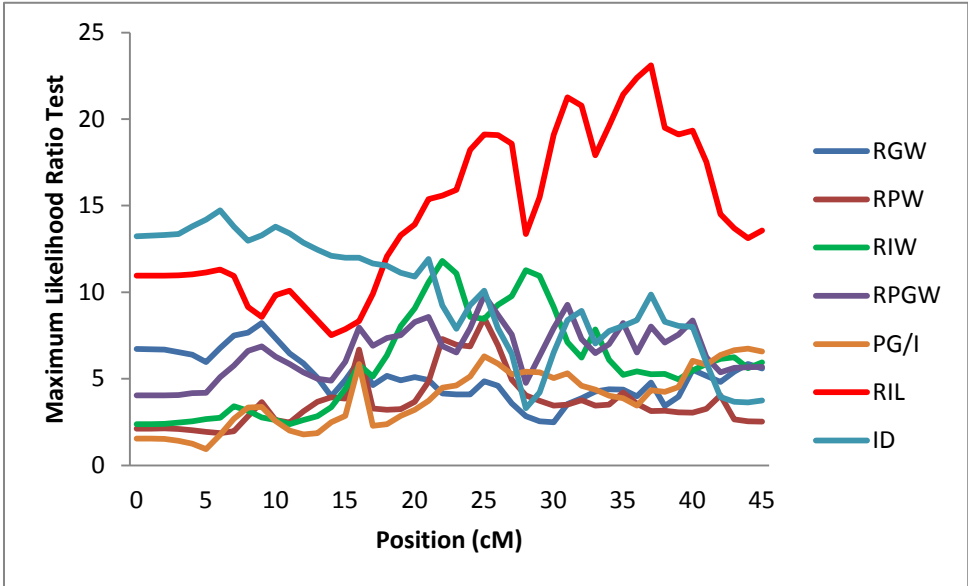


Figure 3 Curves for the maximum likelihood ratio tests on chromosome 26 (A) digestibility traits (AMEn, CDUDM, CDUS, CDUP, CDUL); (B) anatomy of the digestive tract (RGW, RPW, RIW, RPGW, PG/I, RIL, ID).

(A)



(B)



III.2. Analyses supplémentaires

Afin de faciliter la lecture, dans la suite du document les noms des caractères seront abrégés comme dans l'article 3.

III.2.1. Identification des gènes candidats dans les zones des QTLs détectés

Afin d'identifier des gènes candidats pour les QTLs détectés (22 QTLs), nous avons utilisé le logiciel AnnotQTL (<http://annotqtl.genouest.org>, Demeure et al, 2011) et consulté la base de données Ensembl (<http://www.ensembl.org>). Nous avons ainsi pu recenser tous les gènes présents dans les intervalles de confiance des QTLs (appelés par la suite zones des QTLs) et repérer parmi eux ceux potentiellement impliqués dans le déterminisme de l'efficacité digestive chez la Poule.

Globalement, les gènes candidats identifiés dans les zones QTL pour être potentiellement impliqués dans le déterminisme de l'efficacité digestive (52 gènes), se réfèrent à 4 grandes fonctions : les aspects mécaniques de la digestion (11 gènes, 19,64%), les aspects chimiques de la digestion (22 gènes, 39,30%), le développement et l'entretien du tube digestif (11 gènes, 19,64%) et l'immunité (12 gènes, tous situés sur le chromosome 16, 21,42%). Quatre de ces gènes sont impliqués dans deux processus biologiques différents. Les gènes les plus pertinents comme candidats aux QTLs du point de vue de leur fonction sont liés à l'aspect mécanique de la digestion, en particulier le péristaltisme et la contraction des muscles lisses des organes du tractus gastro-intestinal et du gésier. Ce résultat est cohérent avec les différences d'anatomie et de la fréquence de contraction du tube digestif observées entre deux lignées D+ et D-. Ainsi, le gésier des D+ est 34% plus lourd chez les D+ que chez les D- (de Verdal et al, 2010). Rougère et al (2012) ont en outre montré que les contractions du gésier sont similaires entre les 2 souches au moment des repas mais qu'elles baissent en dehors des repas de 20% chez les D+, alors qu'elles sont maintenues en permanence à un niveau élevé chez les D-. Or, l'aspect mécanique de la digestion joue un rôle important dans la digestibilité, en facilitant le mélange des enzymes digestives et du bol alimentaire et en rendant les nutriments plus accessibles et donc plus facilement absorbables dans l'intestin grêle. Rougère et Carré (2010) ont montré que ce paramètre était fortement affecté par la sélection des lignées, le temps de rétention des aliments dans le tractus étant de 25% à 168% plus élevé chez les D+ que chez les D- selon le type d'aliment et la taille des particules.

Les gènes impliqués dans les aspects chimiques de la digestion concernent les 3 types de composants : amidon, lipides et protéines. On peut également mentionner qu'il a été démontré au cours du projet CHIEF qu'il existait des différences de pH dans le tractus entre lignées D+ et D- (S. Mignon-Grasteau, communication personnelle), paramètre pouvant influencer l'activation des enzymes digestives.

Plusieurs gènes affectent le développement et l'entretien des tissus du tractus gastro-intestinal, notamment le développement des cellules de l'intestin et la différenciation des cellules neuroendocrines de l'estomac. Parmi ces cellules neuroendocrines, on peut mentionner les cellules de Cajals, qui jouent un rôle de modérateur important pour la motricité du gésier chez la Poule (Gabella et Halasy, 1987).

Sur le chromosome 16, on ne peut à proprement parler de zone QTL, car nous ne disposons que de 3 marqueurs. Seuls des gènes contrôlant la réponse immunitaire, en particulier le locus CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) sont mentionnés dans cette zone. Ces QTLs pourraient affecter le comportement antibactérien des animaux et donc la composition du microbiote, dont Gabriel et al (2012) ont montré qu'ils différaient entre D+ et D-, et, au sein des F2, entre animaux à forte ou faible efficacité alimentaire.

Ces résultats vont maintenant être confrontés à des analyses transcriptomiques réalisées sur des animaux d'efficacité alimentaire extrême de ce dispositif, afin de confirmer l'intérêt des gènes candidats, mais également de suggérer de nouvelles pistes.

III.2.2. Résultats de l'analyse multi-caractères

Afin de bénéficier de l'information apportée par les différents caractères d'efficacité digestive et d'anatomie (0,6-0,9) mesurés, pour augmenter, du fait de leurs fortes corrélations, la puissance de détection des QTL, nous avons réalisé une détection de QTLs avec le modèle multi-caractères de QTLMap. Gilbert et le Roy (2003) ont montré que cette approche augmente la puissance de détection, en particulier pour les QTL à effet faible que ne détecterait pas une analyse mono-caractère. Elle permet aussi de tester l'existence d'un gène causal à effet pléiotrope au QTL. Nous avons uniquement appliqué ce modèle pour les régions identifiées lors des analyses mono-caractère. Le choix des caractères à inclure dans ces analyses multi-caractères a été fait selon 1) la co-localisation : ont été regroupés les caractères qui présentaient des positions de QTL (estimées en approche mono-caractère classique par le maximum de vraisemblance) proches et 2) la corrélation : ont été regroupés

les caractères présentant des corrélations phénotypiques élevées, supérieures en valeur absolue à 0,50.

Tableau 8 : Comparaison des résultats des analyses mono-caractères et des analyses analyse mono-caractère.

Chr ¹ .	Mono-caractère				Multi-caractères		
	Caractère	Position (cM) ²	I.C ³ (cM)	Niveau de significativité ⁴	Position (cM)	I.C (cM)	Niveau de significativité
16	AMEn	0	-	*	0	-	-
	CDUDM	0	-	*			
	CDUS	0	-	*			
	CDUL	0	-	*			
	CDUP	0	-	*			
20	AMEn	9	-	-	9	8-10	**
	CDUDM	9	8-10	**			
	CDUS	9	8-10	**			
	CDUL	9	-	-			
	CDUP	9	-	-			
23	AMEn	30	-	-	36	-	-
	CDUDM	30	-	-			
	CDUS	30	8-35	*			
	CDUL	30	-	-			
	CDUP	38	-	-			
26	AMEn	22	-	-	24	-	-
	CDUDM	22	-	-			
	CDUS	36	31-45	*			
	CDUL	24	-	-			
	CDUP	16	-	-			
27	AMEn	12	-	-	12	-	-
	CDUDM	12	9-17	*			
	CDUS	12	-	-			
	CDUL	15	-	-			
	CDUP	12	-	-			

¹Chr = Chromosome ; ² Position : Position au pic de maximum de LRT ; ³I.C : Intervalle de confiance ; ⁴Niveau de significativité : * (p<0,05 au niveau du chromosome), ** (p<0,05 au niveau du génome).

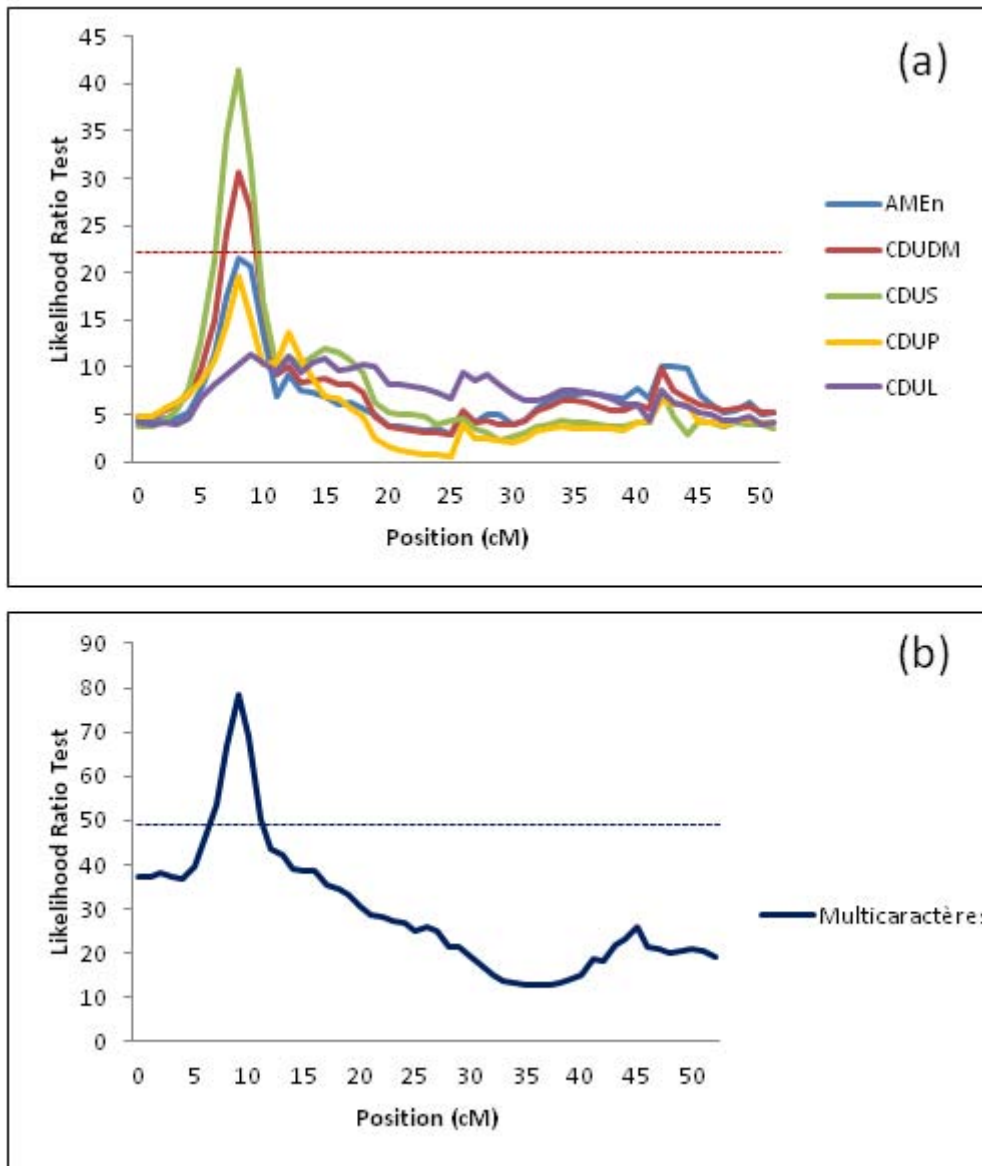


Figure 24 : Courbes de LRT en analyse mono-caractère (figure 24.a) et multi-caractères (figure 24.b) permettant la détection d'un QTL pléiotrope significatif au niveau du génome sur le chromosome 20

Le tableau 8 présente les différentes combinaisons de caractères utilisées. Les résultats obtenus avec ce modèle multi-caractères sont cohérents avec ceux obtenus avec le modèle mono-caractère en ce qui concerne la co-localisation des positions des QTLs, bien que dans la plupart des cas ils ne soient pas significatifs au niveau du chromosome. Le tableau 8 présente les résultats des analyses multi-caractères pour les chromosomes sur lesquels des QTLs avaient été détectés par le modèle mono-caractère. Nous n'avons détecté qu'un seul QTL potentiellement pléiotrope, sur le chromosome 20 à 9 cM.. Pour ce dernier, le niveau de significativité est augmenté par rapport à l'approche mono-QTL : de 0,001; il passe à 0,0005 au niveau du chromosome et le QTL est significatif au niveau du génome (cf. figure 24). Ce résultat est cohérent avec des travaux précédents montrant que le niveau de significativité est amélioré en analyse multi-caractères par rapport aux analyses mono-caractères (Stylianou et al, 2004, Christians et Senger, 2007, Le Mignon et al, 2009, Kileh-Wais et al, 2013). La différence par rapport à notre étude est que nos travaux n'incluent que des caractères significatifs en analyse mono-caractère.

Les positions des maximums de vraisemblance détectés par les deux modèles sont similaires, sauf pour le cas de certains QTL identifiés sur le chromosome 26. Ce dernier résultat est cohérent avec le fait que, sur ce chromosome, les caractères regroupés pour l'analyse multi-caractères présentaient des pics plus éloignés dans l'analyse mono-caractère que pour les autres chromosomes. Pour la plupart des cas, l'absence de détection de QTLs en analyse multi-caractères peut provenir du faible effet des QTLs sur chaque caractère, soit de l'absence de QTL pléiotropique dans cette zone. Lorsque l'on ôte de l'analyse du chromosome 26 les deux caractères ayant les positions QTL les plus éloignées (CDUS et CDUP), le pic détecté pour l'analyse conjointe de l'AMEn, du CDUDM, et du CDUL donne un pic à 25 cM, proche des positions obtenues en analyses mono-caractère, mais ce pic n'est pas significatif. Cela renforce l'hypothèse qu'il n'y a pas un QTL pléiotropique contrôlant plusieurs caractères de digestibilité sur le chromosome 26, et que le QTL contrôlant le CDUS à 36 cM est distinct des autres. Nous avons également réalisé une analyse multi-caractère entre les caractères CDUS et longueur relative de l'intestin (RIL), qui présentaient tous les deux un QTL significatif au niveau du chromosome, à 36 cM sur le chromosome 26 ($p < 0,05$). Cette analyse multi-caractères a permis de détecter un QTL à la même position, à 37 cM, avec un intervalle de confiance réduit (34-41 cM vs. 31-45 cM pour le QTL contrôlant CDUS et 34-40 pour celui contrôlant RIL) et une significativité plus importante ($p < 0,01$ vs $p < 0,05$ en mono-caractère).

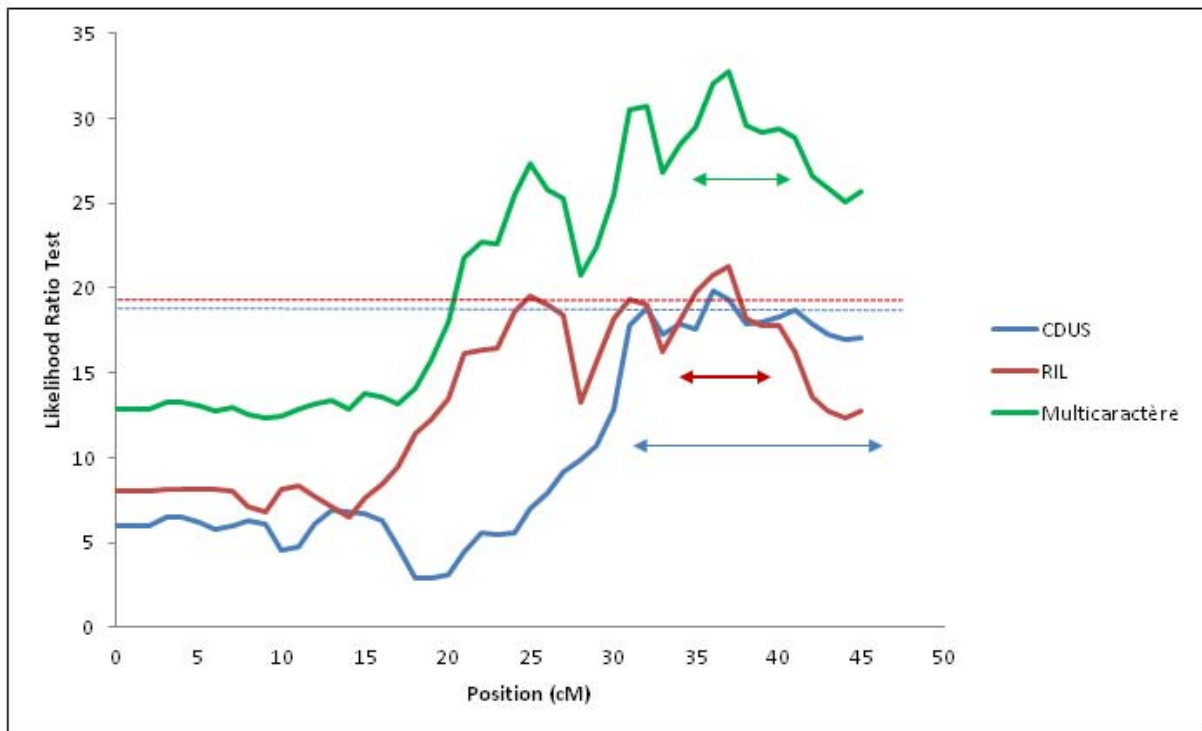


Figure 25 : Courbes de rapport de vraisemblance réalisées pour les analyses mono-caractères du coefficient d'utilisation igestive de l'amidon (CUDS, en bleu) et de la longueur relative de l'intestin (RIL en rouge), et mise en évidence d'un QTL pléiotrope par analy multi-caractère (en verte) sur le chromosome 26.

Les lignes pointillées en rouge et en vert figurent les seuils à 5% au niveau du chromosome en analyse mono-caractère pour RIL et CDUS, respectivement.

Les flèches horizontales représentent la largeur de l'intervalle de confiance den analyse mono-caractère pour CUDS (en bleu) et de RIL (en rouge) et en analyse multi-caractère (en vert).

Ce QTL pléiotrope, c'est-à-dire ayant un effet à la fois sur un caractère d'efficacité digestive et un caractère d'anatomie du tractus digestif, est cohérent avec une forte implication des différences de l'anatomie du tractus digestif dans la digestibilité (Gracia et al, 2007, Rougière et al, 2009, 2010) et avec la forte corrélation génétique entre ces caractères (0,36-0,77 ; de Verdal et al, 2011b). On peut enfin noter que cette zone contient beaucoup de gènes candidats impliqués dans la digestion (cf. §III.2.1 de cette partie), ce qui conforte l'intérêt de cette région.

III.2.3. Résultats de l'analyse avec le modèle LDLA

La densité de marqueurs du dispositif n'étant pas suffisante pour permettre une analyse de déséquilibre de liaison (LD), nous avons utilisé le modèle LDLA qui combine le modèle d'analyse de liaison (LA) et le modèle de déséquilibre de liaison et permet de mieux préciser la localisation des QTL (Meuwissen et al, 2002, Legarra et Fernando, 2009) Dans notre cas, les résultats obtenus par l'analyse LDLA sont identiques à ceux obtenus par le modèle LA, que ce soit pour les positions, la largeur des intervalles de confiance ou le niveau de significativité des QTL. Cela est probablement à attribuer à notre densité de marqueurs, trop peu élevée pour permettre un réel gain de l'utilisation du LDLA (cf. tableau 9).

Chr ¹ .	Analyse de liaison (LA)				Analyse LDLA		
	Caractère	Position (cM) ²	I.C ³ (cM)	Sig ⁴	Position (cM)	I.C (cM)	Sig
16	AMEn	0	-	*	0	-	*
	CDUDM	0	-	*	0	-	*
	CDUS	0	-	*	0	-	*
	CDUL	0	-	*	0	-	*
	CDUP	0	-	*	0	-	*
20	AMEn	9	-	-	9	-	-
	CDUDM	9	8-10	**	9	8-10	**
	CDUS	9	8-10	**	9	8-10	**
	CDUL	9	-	-	9	-	-
	CDUP	9	-	-	9	-	-
23	AMEn	30	-	-	30	-	-
	CDUDM	30	-	-	30	-	-
	CDUS	30	8-35	*	30	8-35	*
	CDUL	30	-	-	30	-	-
	CDUP	38	-	-	38	-	-
26	AMEn	22	-	-	22	-	-
	CDUDM	22	-	-	22	-	-
	CDUS	36	31-45	*	36	31-45	*
	CDUL	24	-	-	24	-	-
	CDUP	16	-	-	16	-	-
27	AMEn	12	-	-	12	-	-
	CDUDM	12	9-17	*	12	9-17	*
	CDUS	12	-	-	12	-	-
	CDUL	15	-	-	15	-	-
	CDUP	12	-	-	12	-	-

¹Chr : chromosome ; ²Position : position au pic de maximum de LRT ; ³I.C : intervalle de confiance ; ⁴: niveau de significativité : * (p<0,05 au niveau du chromosome), ** (p<0,05 au niveau du génome).

Tableau 9 : Comparaison des résultats de l'analyse de liaison classique (LA) et de l'analyse combinée LDLA

III.3. Comparaison de deux méthodes reposant soit sur le maximum de vraisemblance, soit sur la régression linéaire

De même que pour l'étude de la résistance au portage de salmonelles, nous avons réalisé pour les caractères de digestibilité une détection de QTLs avec la méthode de régression linéaire et le modèle "Half-sib" proposé par le logiciel QTLEXPRESS (Seaton et al, 2006). Cette option est destinée à l'analyse de familles issues de parents non consanguins. Elle étudie la ségrégation des allèles de chacun des deux parents (F1) dans la descendance (F2). Ce modèle ne suppose pas que les effets des QTLs soient identiques pour toutes les familles. Le seuil de significativité au niveau du chromosome est obtenu par 1000 permutations et l'intervalle de confiance des QTLs est calculé par l'approche "bootstrapping" avec 10 000 échantillonnages. Les résultats obtenus avec ce modèle ont été comparés avec ceux obtenus avec le logiciel QTLMap sur les mêmes données, et les résultats sont donnés dans le tableau 10.

Les résultats obtenus avec QTLEXPRESS sont globalement très cohérents avec ceux obtenus avec QTLMap. Cela est cohérent avec les études montrant qu'il y a peu de différence entre les résultats d'analyse par ces deux méthodes dès que les effectifs sont importants ce qui est le cas ici (Haley et Knott, 1992, Xu 1995) contribuant à la forte puissance du dispositif (plus de 92%), que les effets des QTL ne sont pas trop faibles et en l'absence d'interactions entre QTLs (cf. § III.1 de cette partie).

QTLEXPRESS apparaît toutefois plus puissant : les différences observées portent sur :

- le niveau de significativité qui est plus élevé avec le logiciel QTLEXPRESS pour cinq des QTL,

- la détection de QTL : si QTLMap permet de détecter un QTL contrôlant le CDUS sur le chromosome 26 que QTLEXPRESS n'identifie pas, deux QTL contrôlant l'AMEN (GGA26 à 25 cM) et le CDUS (GGA27 à 12 cM) sont détectés par QTLEXPRESS mais pas par QTLMap.

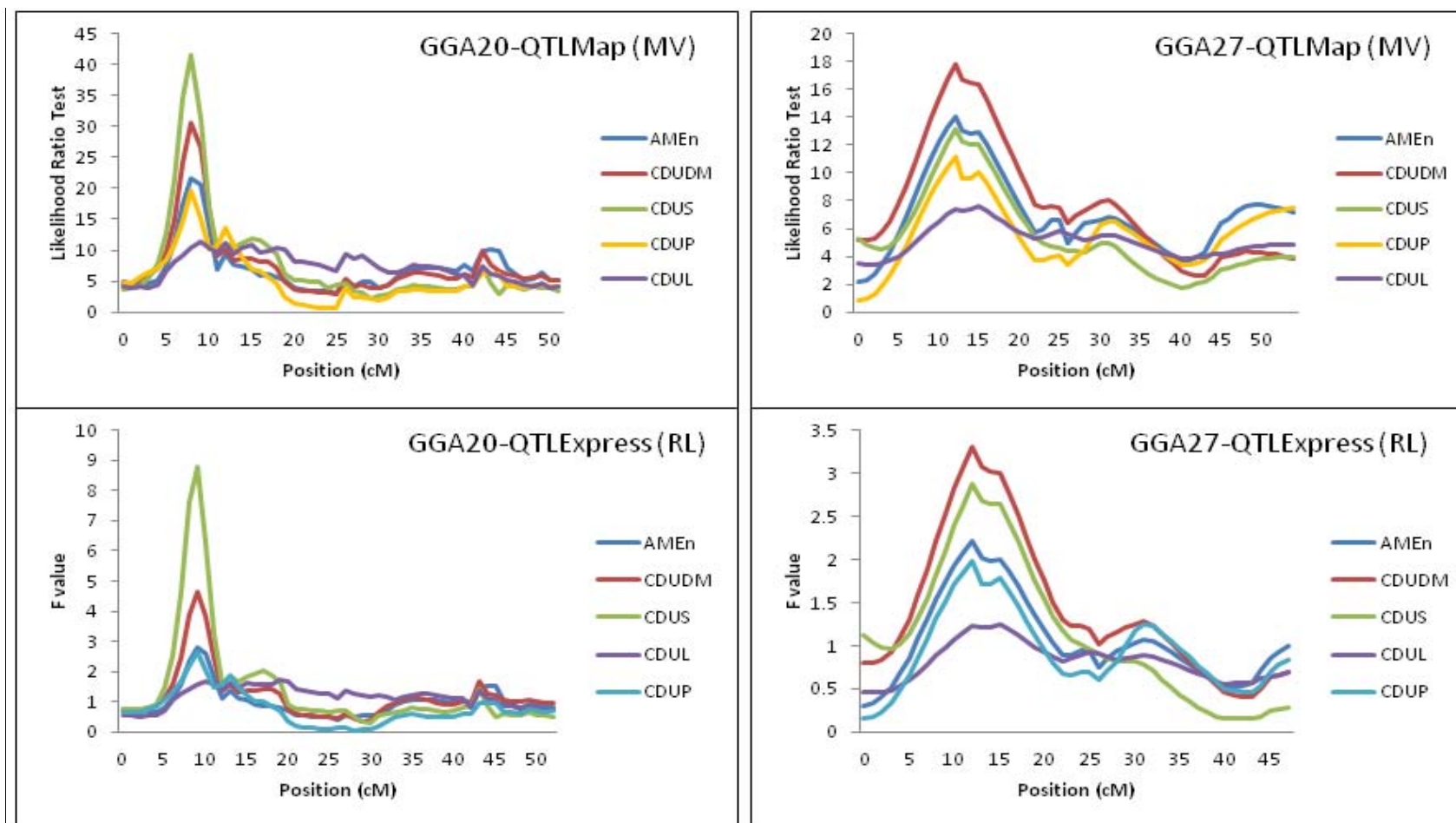
Ces différences entre les deux méthodes restent donc limitées pour ce dispositif: elles pourraient être dues au faible effet des QTLs. Notons que le modèle "Half-Sib" dans QTLEXPRESS ne prend pas en compte l'effet de dominance contrairement au modèle "F2-inbred" utilisé pour l'étude de la résistance au portage de salmonelles. Ce modèle est donc plus proche du modèle exploité par QTLMap, ce qui contribue sans doute à la plus grande

cohérence des résultats obtenus entre les deux méthodes de calcul dans cette étude par rapport à celles menées pour la partie «salmonelles ». Par ailleurs, les intervalles de confiance donnés par QTLExpress sont plus larges que ceux calculés par l'approche "LOD-drop-off" dans QTLMap. En moyenne, les premiers sont de l'ordre de 30 cM et les seconds de 18 cM. Cependant, ces derniers sont calculés dans des hypothèses asymptotiques le plus souvent non vérifiées, malgré la similitude de résultats des deux approches. Ils sont donc généralement optimistes.

Tableau 10 : Comparaison des résultats obtenus par régression linéaire avec le logiciel QTLEXPRESS et de ceux obtenus par maximum de vraisemblance avec le logiciel QTLMap pour les caractères de digestibilité.

Chr	Caractère	Résultats du logiciel QTLEXPRESS				Résultats du logiciel QTLMap		
		Position	F-ratio	I.C.1 ¹	Niveau de significativité ¹	Position (cM)	I.C.2 ²	Niveau de significativité
16	AMEn	0	3.02	-	*	0	-	*
	CDUDM	0	2.95	-	*	0	-	*
	CDUS	0	2.93	-	**	0	-	*
	CDUL	0	2.08	-	-	0	-	-
	CDUP	0	3.00	-	*	0	-	*
20	AMEn	9	2.79	-	-	9	-	-
	CDUDM	9	4.64	8-45	***	9	8-10	***
	CDUS	9	8.80	8-26	***	9	8-10	***
	CDUL	19	1.73	-	-	10	-	-
	CDUP	9	2.64	-	-	9	-	-
23	AMEn	30	1.08	-	-	30	-	-
	CDUDM	30	2.21	-	-	30	-	-
	CDUS	30	3.49	8-41	**	30	8-35	*
	CDUL	30	2.06	-	-	30	-	-
	CDUP	38	2.73	-	-	38	-	-
26	AMEn	25	2.84	7-32	*	22	-	-
	CDUDM	25	1.85	-	-	22	-	-
	CDUS	36	2.48	-	-	36	31-45	*
	CDUL	24	2.40	-	-	24	-	-
	CDUP	16	1.93	-	-	16	-	-
27	AMEn	12	2.21	-	-	12	-	-
	CDUDM	12	3.30	9-46	**	12	9-17	*
	CDUS	12	2.88	0-32	*	12	-	-
	CDUL	15	1.25	-	-	15	-	-
	CDUP	12	1.99	-	-	12	-	-

¹I.C.1: Intervalle de confiance obtenu par "bootstrapping" avec 10000 échantillonnages avec QTLEXPRESS ; ²* : significatif à 5% au niveau du chromosome ; ** : significatif à 1% au niveau du chromosome ; *** : significatif à 5% au niveau du génome ; ³ I.C.2: L'intervalle de confiance calculé approximativement par "LOD-drop-off" avec QTLMap



¹ AMEn: Energie métabolisable corrigée par un bilan azoté nul ; CDUDM: Coefficient d'utilisation digestive de la matière sèche ; CDUS: Coefficient d'utilisation digestive de l'amidon ; CDUP: Coefficient d'utilisation digestive des protéines CDUL: Coefficient d'utilisation digestive des lipides ; ² MV: Maximum de vraisemblance (QTLMap) ; ³ RL: Régression linéaire (QTLEXPRESS)

Figure 26 : Comparaison des courbes de détection de QTLs obtenus avec les logiciels QTLEXPRESS et QTLMap pour les chromosomes 20 et 27.

III.4. Conclusion et perspectives

En résumé, les résultats obtenus dans cette étude avec les deux méthodes sont très similaires ce qui est cohérent avec la forte puissance (estimée à plus de 92%) du dispositif de détection de QTLs. Les quelques différences sont probablement dues aux faibles effets de certains QTLs.

L'existence de QTLs co-localisés entre caractères de digestibilité est cohérent avec le niveau très élevé des corrélations entre ces caractères (0,6-0,9). Il est intéressant de noter qu'un QTL à effet pléiotrope, contrôlant à la fois la digestion de l'amidon et la longueur de l'intestin a été identifié à 36 cM sur le chromosome 26.

L'ensemble des QTLs identifiés pourrait être impliqué dans les différences observées entre ces caractères entre les lignées divergentes D+ et D- (Garcia et al, 2007; Rougière et al, 2009; Rougière et Carré, 2010). Les études de transcriptomique en cours devraient permettre de confirmer ou d'infirmer les gènes candidats putatifs identifiés dans les zones QTL.

Les faibles effets des QTLs détectés sont à relier à la complexité des caractères d'efficacité digestive, dont le déterminisme est vraisemblablement polygénique. Du fait de la faiblesse de ces effets, les intervalles de confiance restent larges. Une analyse d'association avec une haute densité de marqueurs permettrait de les réduire (Risch et Merikangas, 1996; Meuwissen and Goddard, 2000).

Il serait également intéressant de tester l'hypothèse de l'existence simultanée de deux QTL sur tous les chromosomes. En effet, dans le dispositif, certaines courbes de détection de QTLs présentent plusieurs pics au dessus du seuil de significativité par chromosome. A l'opposé, seule cette approche peut permettre de détecter des QTLs proches mais présentant des effets opposés. Enfin, les analyses multi-caractères pourraient être enrichies en mettant à profit l'ensemble du phénotypage réalisé au cours de ce projet (dans lequel environ 70 caractères ont été mesurés), sans se limiter aux caractères d'efficacité digestive et d'anatomie.

Conclusion générale et perspectives

L'objectif principal de la détection de QTLs est la compréhension des mécanismes génétiques régissant les caractères complexes afin d'améliorer l'efficacité de la sélection de ces caractères. Au cours de cette thèse, les analyses QTLs ont été réalisées avec deux protocoles présentant de nettes différences résumées dans le tableau 11.

Tableau 11 : Principales différences entre les deux dispositifs étudiés

	Résistance au portage de Salmonelles	Digestibilité
Lignées parentales	Consanguines	Divergentes
Densité de marqueurs	Faible (485 SNP)	Moyenne (6000 SNP)
Taille de population	378 individus répartis en deux populations indépendantes (P1 : 185 ; P2 : 193)	820 individus répartis en trois lots
Distribution des caractères	Non normale	Proche de la normale
Héritabilité	Faible (0,20)	Moyenne à forte (0,29-0,40)

Les résultats acquis au cours de cette thèse permettent de mieux comprendre l'architecture génétique complexe des caractères de digestibilité et de résistance au portage de salmonelles. Dans les deux cas, nous n'avons observé ni gènes majeurs, ni un contrôle génétique totalement polygénique (c'est-à-dire avec uniquement des QTLs à effets très faibles) mais une situation intermédiaire avec de multiples QTLs d'effets faibles à modérés. Pour le portage de salmonelles, nous avons confirmé certains QTLs identifiés avant cette thèse et trouvé une région génomique contrôlant à la fois la résistance au portage et la résistance à la maladie. Pour la digestibilité, il s'agissait d'une primo-détection de QTLs contrôlant l'efficacité digestive, laquelle se révèle être un caractère complexe, comme le montre le nombre de QTLs impliqués dans son déterminisme ainsi que leur effet modéré. Nous avons mis en évidence de nombreux QTLs, dont deux ayant un effet à la fois sur l'efficacité digestive et sur l'anatomie du tractus digestif.

Dans les deux cas, des QTLs ont été recherchés avec deux méthodes d'analyse: régression linéaire (logiciel QTLEXPRESS) et maximum de vraisemblance (logiciel QTLMap).

Dans le cas de la résistance au portage de salmonelles, les QTLs n'ont été identifiés qu'avec une seule des deux méthodes d'analyse utilisées. La raison principale tient certainement aux différences entre les méthodes de maximum de vraisemblance et de régression linéaire. Ces différences sont plus fortes pour le croisement entre deux lignées consanguines car l'option "inbred" de QTLEXPRESS implique l'hypothèse que les allèles au QTL sont fixés dans les lignées parentales. Or les F0 (grand-parents) ne sont pas parfaitement homozygotes, bien que les lignées auxquelles ils appartiennent soient considérées comme consanguines. Si bien qu'on ignore en réalité le niveau de fixation des allèles grand-parentaux aux QTLs. A l'inverse QTLMap autorise l'hétérozygotie chez les grand-parents (pas d'hypothèse sur la ségrégation des allèles aux QTLs). De plus l'effet de dominance n'est pas pris en compte dans QTLMap, ce qui constitue une autre différence importante entre ces deux méthodes, or plusieurs QTLs avec un effet de dominance important ont été identifiés avec QTLEXPRESS sur le dispositif des salmonelles. Enfin, la faiblesse des effets des QTLs identifiés et la non-normalité des données ont pu aggraver ces différences méthodologiques. Le fait que chaque QTL n'ait été identifié qu'avec une méthode ne veut pas nécessairement dire qu'il s'agit d'un faux positif, mais peut signifier aussi qu'avec la méthode utilisée la puissance de détection était suffisamment forte pour le détecter, alors qu'avec l'autre méthode elle était trop faible.

Dans le cas des caractères de digestibilité, à l'inverse, les deux méthodes mènent à des résultats très proches. Cette plus forte robustesse des résultats est sans doute à rattacher à la puissance du dispositif de détection des QTLs. En effet, plus le dispositif est important et le caractère héritable et plus on a de chance de détecter les QTLs existants, même en cas d'écart aux hypothèses de base. Une autre raison logique est que le modèle "Half-sib" dans QTLEXPRESS ne prend pas en compte l'effet de dominance contrairement au modèle "F2-inbred" utilisé pour l'étude de la résistance au portage de salmonelles. Ce modèle est donc plus proche du modèle exploité par QTLMap, ce qui explique sans doute en grande partie la plus grande cohérence des résultats obtenus entre les deux méthodes de calcul.

Mais dans les deux cas, il peut être difficile d'interpréter les différences entre méthodes de calcul, en particulier parce que des paramètres et/ou hypothèses varient d'une méthode à l'autre. Néanmoins, si les QTLs identifiés par les deux méthodes apparaissent robustes et très vraisemblablement fiables, on ne peut pour autant exclure les résultats obtenus avec une seule des deux approches. Il peut s'agir de QTLs de moindre effet (pour lesquels la puissance du dispositif est plus faible), ségrégant entre familles, présentant des effets de dominance, ... Par ailleurs, nos résultats confirment l'intérêt de l'analyse multi-caractères pour améliorer la détection de QTL. Les caractères liés à la digestibilité sont fortement corrélés,

si bien que l'analyse multi-caractères permet une plus grande précision dans la détection de QTL.

Quelles perspectives?

Les intervalles de confiance de tous les QTLs identifiés sont encore trop vastes pour identifier des gènes candidats. Plusieurs approches sont possibles pour parvenir à préciser ces intervalles. L'une d'entre elles est d'augmenter la densité de marqueurs dans les zones QTL afin de pouvoir réaliser des analyses d'association, qui permettent en général une cartographie plus fine des QTLs. Pour la résistance au portage de salmonelles, ce travail est en cours de réalisation, avec une analyse d'association menée sur un croisement AIL (Advanced Intercross Lines) entre les lignées N et 6₁ (Calenge, communication personnelle). Les premiers résultats confirment la localisation de plusieurs des QTLs obtenus au cours de cette thèse. Une autre façon, plus indirecte, d'identifier les gènes aux QTLs est d'effectuer des études de transcriptomique, qui permettent d'identifier de potentiels gènes candidats. Cette approche complémentaire est intéressante pour identifier l'expression de réseaux de gènes connus pour leur implication dans l'expression des caractères d'intérêt. Cette recherche va prochainement débiter dans l'équipe pour les caractères de digestibilité.

Avec l'évolution de la génomique et l'amélioration rapide des modèles d'analyse et des technologies de séquençage, il devrait devenir de plus en plus facile d'identifier des gènes candidats pour les QTLs. L'existence de puces à SNP à très haute densité permettra bientôt d'effectuer des analyses d'association plus précises, à condition toutefois que le nombre d'animaux étudiés soit suffisamment important. Le séquençage direct du génome, qui peut-être remplacera le génotypage SNP, permettra de disposer directement des informations sur le polymorphisme et donc des mutations candidates dans les régions génomiques (QTL) identifiées au préalable. Le plus difficile pour identifier les gènes contrôlant les variations des caractères d'intérêt demeurera très certainement d'obtenir des distributions phénotypiques adéquates dans des populations de taille suffisante, en particulier pour la résistance aux maladies ou au portage de bactéries.

Bibliographie

1. **Abasht, B., J. C. Dekkers, and S. J. Lamont.** Review of quantitative trait loci identified in the chicken. *Poultry Science*. **2006**. 85, 2079-2096.
2. **Agyekum, A. K., B. A. Slominski, and C. M. Nyachoti.** Organ weight, intestinal morphology, and fasting whole-body oxygen consumption in growing pigs fed diets containing distillers dried grains with solubles alone or in combination with a multienzyme supplement. *Journal of Animal Science*. **2012**. 90, 3032-3040.
3. Aitkin, M., D. Anderson, B. Francis, and J. Hinde. 1989. Statistical modelling in GLIM Oxford University Press, Oxford.
4. Anonyme. 2004. Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France. IVS, France: 192p.
5. Anonyme. 2008. Data Foodborne Illness Cost Calculator Economic research service.
6. Avendano, S., K. A. Watson, and A. Kranis. 2010. Genomics in poultry breeding-From utopias to deliverables in 9th World Congress on genetics Applied to Livestock Production, Leipzig, Germany.
7. Avendano, S., K. A. Watson, and A. Kranis. 2012. Genomics in poultry breeding-Into consolidation phases in XXIV World's Poultry Congress, Salvador, Bahia, Brasil.
8. **Baret, P. V., S. A. Knott, and P. M. Visscher.** On the use of linear regression and maximum likelihood for QTL mapping in half-sib designs. *Genetical Research*. **1998**. 72, 149-158.
9. **Bastianelli, D., L. Bonnal, H. Juin, S. Mignon-Grasteau, F. Davrieux, and B. Carré.** Prediction of the chemical composition of poultry excreta by near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*. **2010**. 18, 69-77.
10. **Beaumont, C., H. Chapuis, J. Protais, N. Sellier, P. Menanteau, P. Fravallo, and P. Velge.** Resistance to *Salmonella* carrier state: selection may be efficient but response depends on animal's age. *Genetics Research*. **2009a**. 91, 161-169.
11. **Beaumont, C., H. Chapuis, N. Sellier, F. Calenge, P. Zongo, P. Velge, and J. Protais.** Selection for increased resistance to *Salmonella* carrier-state. *World Poultry Science Association (WPSA), 6th European Poultry Genetics Symposium, Bedlewo, Poland, 30 September - 2 October, 2009*. **2009b**. 26-35.
12. **Beaumont, C., H. Chapuis, N. Sellier, F. Calenge, P. Zongo, P. Velge, and J. Protais.** Selection for increased resistance to *Salmonella* carrier-state. *Worlds Poultry Science Journal*. **2010**. 66, 251-259.
13. **Beaumont, C., G. Dambrine, A.-M. Chaussé, and D. Flock.** Selection for disease resistance : conventional breeding for resistance to bacteria and viruses. in: *Poultry Genetics*,

Breeding and Biotechnology W. Muir, and S. Aggrey, edition. Oxon, UK: CAB International, **2003a**. Pages 357-382 p

14. **Beaumont, C., J. Protais, J. Guillot, P. Colin, K. Proux, N. Millet, and P. Pardon.** Genetic resistance to mortality of day-old chicks and carrier-state of hens after inoculation with *Salmonella enteritidis*. *Avian Pathology*. **1999**. 28, 131-135.
15. **Beaumont, C., J. Protais, F. Pitel, G. Leveque, D. Malo, F. Lantier, F. Plisson-Petit, P. Colin, M. Protais, P. Le Roy, J. M. Elsen, D. Milan, I. Lantier, A. Neau, G. Salvat, and A. Vignal.** Effect of two candidate genes on the *Salmonella* carrier state in fowl. *Poultry Science*. **2003b**. 82, 721-726.
16. **Beaumont, C., T.-S. Tran, P. Zongo, A.-F. Viet, and P. Magal.** Use of integrated studies to elucidate potential benefits from genetic resistance to *Salmonella* carrier state in fowl. in: *Salmonella: distribution, adaptation, control, measures and molecular technologies* B. A. and J. B. Gurtler., edition. Rijeka, Croatia: INTECH, **2012**. Pages 231-238 p
17. **Belabbas H.** **2007**. Dynamique de croissance des organes chez le poulet de chair. Master d'Anatomie Vétérinaire, Université El-Hadj Lakdhar, Faculté des sciences, Département Vétérinaire. Pages 97 p
18. **Bernon, D. E., and J. R. Chambers.** Genetic-parameters of unadjusted and adjusted age-constant feed consumption and efficiency of meat type chickens. *Poultry Science*. **1988**. 67, 1497-1504.
19. **Berthelot, F., C. Beaumont, F. Mompert, O. Girard-Santosuosso, P. Pardon, and M. Duchet-Suchaux.** Estimated heritability of the resistance to cecal carrier state of *Salmonella enteritidis* in chickens. *Poultry Science*. **1998**. 77, 797-801.
20. **Bordas, A., and P. Merat.** Genetic variation and phenotypic correlations of food consumption of laying hens corrected for body weight and production. *British Poultry Science*. **1981**. 22, 25-32.
21. **Bordas, A., and P. Mérat.** Correlated responses in a selection experiment on residual feed-intake of adult Rhode-Island Red cocks and hens. *Annales Agriculturae Fenniae*. **1984**. 23, 233-237.
22. **Bordas, A., and F. Minvielle.** Patterns of growth and feed intake in divergent lines of laying domestic fowl selected for residual feed consumption. *Poultry Science*. **1999**. 78, 317-323.
23. **Bourdillon, A., B. Carré, L. Conan, J. Duperray, G. Huyghebaert, B. Leclercq, M. Lessire, J. McNab, and J. Wiseman.** European reference method for the in vivo determination of metabolizable energy with adult cockerels - Reproducibility, effect of food-

intake and comparison with individual laboratory methods. *British Poultry Science*. **1990**. 31, 557-565.

24. **Bumstead, N., and P. Barrow.** Genetics of resistance to *Salmonella Typhimurium* in newly hatched chicks. *British Poultry Science*. **1988**. 29, 521-529.

25. **Bumstead, N., and P. Barrow.** Resistance to *Salmonella gallinarum*, *S. pullorum* and *S. enteritidis* in inbred lines of chickens. *Avian Diseases*. **1993**. 37, 189-193.

26. **Bumstead, N., and J. Palyga.** A preliminary linkage map of the chicken genome. *Genomics*. **1992**. 13, 690-697.

27. **Buyse, J., H. Michels, J. Vloeberghs, P. Saevels, J. M. Aerts, B. Ducro, D. Berckmans, and E. Decuyper.** Energy and protein metabolism between 3 and 6 weeks of age of male broiler chickens selected for growth rate or for improved food efficiency. *British Poultry Science*. **1998**. 39, 264-272.

28. **Calenge, F., and C. Beaumont.** Toward integrative genomics study of genetic resistance to *Salmonella* and *Campylobacter* intestinal colonization in fowl. *Front Genet*. **2012**. 3, 14.

29. **Calenge, F., P. Kaiser, A. Vignal, and C. Beaumont.** Genetic control of resistance to salmonellosis and to *Salmonella* carrier-state in fowl: a review. *Genetics Selection Evolution*. **2010**. 42.

30. **Calenge, F., F. Lecerf, J. Demars, K. Feve, F. Vignoles, F. Pitel, A. Vignal, P. Velge, N. Sellier, and C. Beaumont.** QTL for resistance to *Salmonella* carrier state confirmed in both experimental and commercial chicken lines. *Animal Genetics*. **2009**. 40, 590-597.

31. **Calenge, F., M. H. Pinard-van der Laan, and C. Beaumont.** Apports de la genomique a l'etude de la resistance genetique aux maladies. *9èmes Journees de la Recherche Avicole, Tours, France, 29 et 30 mars*. **2011a**. 452-461.

32. **Calenge, F., A. Vignal, J. Demars, K. Feve, P. Menanteau, P. Velge, and C. Beaumont.** New QTL for resistance to *Salmonella* carrier-state identified on fowl microchromosomes. *Molecular Genetics and Genomics*. **2011b**. 285, 237-243.

33. **Caron, J., J. Loredó-Osti, L. Laroche, E. Skamene, K. Morgan, and D. Malo.** Identification of genetic loci controlling bacterial clearance in experimental *Salmonella enteritidis* infection : an unexpected role of Nramp1 (Slc11a1) in the persistence of infection in mice. *Genes and Immunity*. **2002**. 3, 196-204.

34. **Carpenter, S., T. Carlson, J. Dellacasagrande, A. Garcia, S. Gibbons, P. Hertzog, A. Lyons, L.-L. Lin, M. Lynch, T. Monie, C. Murphy, K. J. Seidl, C. Wells, A. Dunne,**

and L. A. J. O'Neill. TRIL, a functional component of the TLR4 signaling complex, highly expressed in brain. *Journal of Immunology*. **2009**. 183, 3989-3995.

35. **Carré, B.** Causes for variation in digestibility of starch among feedstuffs. *Worlds Poultry Science Journal*. **2004**. 60, 76-89.

36. **Carré, B., A. Idi, S. Maisonnier, J. P. Melcion, F. X. Oury, J. Gomez, and P. Pluchard.** Relationship between digestibilities of food components and characteristics of wheats (*Triticum aestivum*) introduced as the only cereal source in a broiler chicken diet. *British Poultry Science*. **2002**. 43, 404-415.

37. **Carré, B., S. Mignon-Grasteau, J. Besnard, N. Rougère, H. Juin, and D. Bastianelli.** The D+ and D- "Digestion" chicken lines selected for divergent digestion efficiency on a wheat-based diet. In: *Proc. World Poultry Congress*, Brisbane, Australia, **2008a**.

38. **Carré, B., S. Mignon-Grasteau, and H. Juin.** Breeding for feed efficiency and adaptation to feed. *World's Poultry Science Journal*. **2008b**. 64, 377-390.

39. **Castagnos, S.** **2003**. Contribution à l'étude de l'efficacité d'une flore de barrière indéfinie (AVIGUARD©) contre les salmonelles sur des poulets labels du sud-ouest. Docteur vétérinaire Docteur vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse, Toulouse. Pages 79p

40. **Chambers, J. R., L. Wang, and I. McMillan.** Genetic-variation of broiler feed consumption and efficiency corrected for differences in test body weights. *Poultry Science*. **1994**. 73, 1196-1203.

41. **Champ, M.** Digestion des glucides chez le monogastrique. *Reproduction Nutrition Development*. **1985**. 25, 819-842.

42. **Chaussé, A.-M., O. Grépinet, E. Bottreau, Y. Le Vern, P. Menanteau, J. Trotereau, V. Robert, Z. Wu, D. Kerboeuf, C. Beaumont, and P. Velge.** Expression of Toll-Like Receptor 4 and downstream effectors in selected cecal cell subpopulations of chicks resistant or susceptible to *Salmonella* carrier state. *Infection and Immunity*. **2011**. Vol. 79, 10.

43. **Christians, J. K., and L. K. Senger.** Fine mapping dissects pleiotropic growth quantitative trait locus into linked loci. *Mammalian Genome*. **2007**. 18, 240-245.

44. **Churchill, G. A., and R. W. Doerge.** Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics*. **1994**. 138, 963-971.

45. **Costa, M.** All together now: from pacemakers to gastric peristalsis. *Journal of Physiology*. **2006**. 571, 1.

46. **Cranwell, P. D.** Microbial fermentation in the alimentary tract of the pig. *Nutrition abstracts and Reviews*. **1968**. A and B 38, 721-730.

47. **Crittenden, L. B., L. Provencher, L. Santangelo, I. Levin, H. Abplanalp, R. W. Briles, W. E. Briles, and J. B. Dodgson.** Characterization of a red jungle fowl by white leghorn backcross reference population for molecular mapping of the chicken genome. *Poultry Science*. **1993**. 72, 334-348.
48. **Curtiss, R., W. Xin, Y. Li, W. Kong, S. Y. Wanda, B. Gunn, and S. Wang.** New technologies in using recombinant attenuated *Salmonella* vaccine vectors. *Critical Reviews in Immunology*. **2011**. 30, 255-270.
49. **Dadgostar, H., S. E. Doyle, A. Shahangian, D. E. Garcia, and G. H. Cheng.** T3JAM, a novel protein that specifically interacts with TRAF3 and promotes the activation of JNK. *FEBS Letters*. **2003**. 553, 403-407.
50. **de Givry, S., M. Bouchez, P. Chabrier, D. Milan, and T. Schiex.** CARHTA GENE: multipopulation integrated genetic and radiation hybrid mapping. *Bioinformatics*. **2005**. 21, 1703-1704.
51. **de Koning, D. J., C. S. Haley, D. Windsor, P. M. Hocking, H. Griffin, A. Morris, J. Vincent, and D. W. Burt.** Segregation of QTL for production traits in commercial meat-type chickens. *Genetical Research*. **2004**. 83, 211-220.
52. **de Koning, D. J., D. Windsor, P. M. Hocking, D. W. Burt, A. Law, C. S. Haley, A. Morris, J. Vincent, and H. Griffin.** Quantitative trait locus detection in commercial broiler lines using candidate regions. *Journal of Animal Science*. **2003**. 81, 1158-1165.
53. **de Verdal, H., S. Mignon-Grasteau, D. Bastianelli, N. Meme, E. Le Bihan-Duval, and A. Narcy.** Reducing the environmental impact of poultry breeding by genetic selection. *Journal of Animal Science*. **2012**. 91, 613-622.
54. **de Verdal, H., S. Mignon-Grasteau, D. Bastianelli, N. Meme, E. Le Bihan-Duval, and A. Narcy.** Reducing the environmental impact of poultry breeding by genetic selection. *Journal of Animal Science*. **2013a**. 91, 613-622.
55. **de Verdal, H., S. Mignon-Grasteau, C. Jeulin, E. Le Bihan-Duval, M. Leconte, S. Mallet, C. Martin, and A. Narcy.** Digestive tract measurements and histological adaptation in broiler lines divergently selected for digestive efficiency. *Poultry Science*. **2010a**. 89, 1955-1961.
56. **de Verdal, H., A. Narcy, D. Bastianelli, H. Chapuis, N. Meme, S. Urvoix, E. Le Bihan-Duval, and S. Mignon-Grasteau.** Improving the efficiency of feed utilization in poultry by selection. 1. Genetic parameters of anatomy of the gastro-intestinal tract and digestive efficiency. *BMC Genetics*. **2011a**. 12.
57. **de Verdal, H., A. Narcy, D. Bastianelli, H. Chapuis, N. Meme, S. Urvoix, E. Le Bihan-Duval, and S. Mignon-Grasteau.** Improving the efficiency of feed utilization in

poultry by selection. 1. Genetic parameters of anatomy of the gastro-intestinal tract and digestive efficiency. *BMC Genetics*. **2011b**. 12, 59.

58. **de Verdal, H., A. Narcy, D. Bastianelli, N. Meme, S. Urvoix, A. Collin, E. le Bihan-Duval, and S. Mignon-Grasteau.** Genetic variability of metabolic characteristics in chickens selected for their ability to digest wheat. *Journal of Animal Science*. **2013b**. 91, 2605-2615.

59. **de Verdal, H., A. Narcy, E. Le Bihan-Duval, H. Chapuis, D. Bastianelli, N. Mème, and S. Mignon-Grasteau.** Selection for excretion traits in chicken. In: *Proc. 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Leipzig, Germany, **2010b**.

60. **de Verdal, H., A. Narcy, E. Le Bihan-Duval, and S. Mignon-Grasteau.** Excretion and gastro-intestinal tract development in chickens divergently selected on their capacity of digestion. In: *Proc. XIIIth European Poultry Conference*, Tours, France, **2010c**.

61. **De Volt, H., G. Quigley, and T. Byerly.** Studies of resistance to pullorum diseases in chickens. *Poultry Science*. **1941**. 20, 339-341.

62. **Demeure, O., N. Bacciu, O. Filangi, and P. Le Roy.** QTL detection for a medium density SNP panel: comparison of different LD and LA methods. *BMC proceedings*. **2010**. 4 Suppl 1, S10.

63. **Demeure, O., and F. Lecerf.** MarkerSet: a marker selection tool based on markers location and informativity in experimental designs. *BMC Research Notes*. **2008**. 1, 9.

64. **Demeure, O., F. Lecerf, A. Bretaudeau, O. Sallou, C. Desert, Y. Blum, and S. Lagarrigue.** AnnotQTL: a new tool to gather functional and comparative information on a genomic region. *Nucleic Acids Research*. **2011**. Vol. 39, 6.

65. **Denbow, D. M.** Gastrointestinal anatomy and physiology. in: *Sturkie's Avian Physiology* G. C. Whittow, edition. Academic Press, **1999**. Pages 299-325 p

66. **Diaz-Flores, M., M. A. Ibanez-Hernandez, R. E. Galvan, M. Gutierrez, G. Duran-Reyes, R. Medina-Navarro, D. Pascoe-Lira, C. Ortega-Camarillo, C. Vilar-Rojas, M. Cruz, and L. A. Baiza-Gutman.** Glucose-6-phosphate dehydrogenase activity and NADPH/NADP(+) ratio in liver and pancreas are dependent on the severity of hyperglycemia in rat. *Life Sciences*. **2006**. 78, 2601-2607.

67. **Donalson, L. M., J. L. McReynolds, W. K. Kim, V. I. Chalova, C. L. Woodward, L. F. Kubena, D. J. Nisbet, and S. C. Ricke.** The influence of a fructooligosaccharide prebiotic combined with alfalfa molt diets on the gastrointestinal tract fermentation, *Salmonella enteritidis* infection, and intestinal shedding in laying hens. *Poultry Science*. **2008**. 87, 1253-1262.

68. **Duchet-Suchaux, M., P. Léchopier, J. Marly, P. Bernardet, R. Delaunay, and P. Pardon.** Quantification of experimental *Salmonella* enteritidis carrier state in B13 Leghorn chicks. *Avian Diseases*. **1995**. 39, 796-803.
69. **Duchet-Suchaux, M., F. Mompert, F. Berthelot, C. Beaumont, P. Léchopier, and P. Pardon.** Differences in frequency, level and duration of cecal carriage between four outbred chicken lines infected orally with *Salmonella enteritidis*. *Avian Diseases*. **1997**. 41, 559-567.
70. **EFSA.** Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in broiler flocks of *Gallus gallus*, in the EU, 2005-2006. *The EFSA Journal*. **2007a**. 98, 1-85.
71. **EFSA.** 2007b. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial resistance and Foodborne outbreaks in the European Union in 2005. EFSA.
72. **EFSA.** The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009. *The EFSA Journal*. **2011**. 9, 2090.
73. **EFSA.** The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2010 *The EFSA Journal*. **2012**. 10.
74. **Elsen, J.-M., O. Filangi, H. Gilbert, P. Le Roy, and C. Moreno.** A fast algorithm for estimating transmission probabilities in QTL detection designs with dense maps. *Genetics Selection Evolution*. **2009**. 41.
75. **Elsen, J. M., B. Mangin, B. Goffinet, D. Boichard, and P. Le Roy.** Alternative models for QTL detection in livestock. I. General introduction. *Genetics Selection Evolution*. **1999**. 31, 213-224.
76. **Ewald, S. J., X. Ye, S. Avendano, S. McLeod, S. J. Lamont, and J. C. M. Dekkers.** Associations of BF2 alleles with antibody titres and production traits in commercial pure line broiler chickens. *Animal Genetics*. **2007**. 38, 174-176.
77. **Fenwick, C., S. Y. Na, R. E. Voll, H. H. Zhong, S. Y. Im, J. W. Lee, and S. Ghosh.** A subclass of Ras proteins that regulate the degradation of I kappa B. *Science*. **2000**. 287, 869-873.
78. **Fife, M., J. Howell, N. Salmon, P. Hocking, P. van Diemen, M. Jones, M. Stevens, and P. Kaiser.** Genome-wide SNP analysis identified major QTL for *Salmonella* colonization in the chicken. *Animal Genetics*. **2011**. 42, 134-140.
79. **Fife, M., N. Salmon, P. Hocking, and P. Kaiser.** Fine mapping of the chicken salmonellosis resistance locus (SAL1). *Animal Genetics*. **2009**. 40, 871-877.

80. **Filangi, O., J. M. Elsen, H. Gilbert, A. Legarra, P. Le Roy, and C. Moreno.** QTLMap: a software for QTL detection in outbred populations. In: *Proc. World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Leipzig, Germany, **2010**.
81. **Fonty, G., and F. Chaucheyras-Durand.** 2007. *Les écosystèmes digestifs*. Lavoisier, **2007**, Pages 300 p.
82. Fritz, S., F. Guillaume, P. Croiseau, A. Baur, C. Hoze, R. Dassonneville, M. Y. Boscher, L. Journaux, D. Boichard, and V. Ducrocq. 2010. Mise en place de la Sélection Génomique dans les trois principales races françaises de bovins laitiers. Pages 455-458 in 17èmes Rencontres Recherches Ruminants, Paris.
83. **Gabarrou, J. F., P. A. Geraert, N. François, S. Guillaumin, M. Picard, and A. Bordas.** Energy balance of laying hens selected on residual food consumption. *British Poultry Science*. **1998**. 39, 79-89.
84. **Gabella, G., and K. Halasy.** On the nerve plexus of the chicken gizzard. *Anatomy and Embryology*. **1987**. 177, 97-103.
85. **Gabriel, I., B. Konsak, and S. Mignon-Grasteau.** Genetic selection of poultry based on digestive capacity - impact on gut microbiota. *Recent Advances in Animal Nutrition*. **2012**. (inpress), 197-238.
86. **Gabriel, I., S. Mallet, and P. Sibille.** La microflore digestive des volailles: facteurs de variation et conséquences pour l'animal. *INRA Productions Animales*. **2005**. 18, 309-322.
87. **Gabriel, S. B., S. F. Schaffner, H. Nguyen, J. M. Moore, J. Roy, B. Blumenstiel, J. Higgins, M. DeFelice, A. Lochner, M. Faggart, S. N. Liu-Cordero, C. Rotimi, A. Adeyemo, R. Cooper, R. Ward, E. S. Lander, M. J. Daly, and D. Altshuler.** The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science*. **2002**. 296, 2225-2229.
88. **Gadoud, R., M. M. Joseph, R. Jussiau, M. J. Lisberney, B. Mangeol, L. Montmeas, and A. Tarrit.** 1992. *Nutrition et alimentation des animaux d'élevages*. Paris, France: Les éditions Foucher, **1992**, Pages 286 p.
89. **Gao, Y., Z. Q. Du, W. H. Wei, X. J. Yu, X. M. Deng, C. G. Feng, J. Fei, J. D. Feng, N. Li, and X. X. Hu.** Mapping quantitative trait loci regulating chicken body composition traits. *Animal Genetics*. **2009**. 40, 952-954.
90. **Garcia, V., J. Gomez, S. Mignon-Grasteau, N. Sellier, and B. Carre.** Effects of xylanase and antibiotic supplementations on the nutritional utilisation of a wheat diet in growing chicks from genetic D+ and D- lines selected for divergent digestion efficiency. *Animal*. **2007**. 1, 1435-1442.
91. **Ghebremicael, S., J. Hasenstein, and S. Lamont.** Association of interleukin-10 cluster genes and *salmonella* response in the chicken. *Poultry Science*. **2008**. 87, 22-26.

92. **Gibson, G. R., and M. B. Roberfroid.** Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*. **1995**. 125, 1401-1412.
93. **Gilbert, H., and P. Le Roy.** Comparison of three multitrait methods for QTL detection. *Genetics Selection Evolution*. **2003**. 35, 281-304.
94. **Gilbert, H., and P. Le Roy.** Methods for the detection of multiple linked QTL applied to a mixture of full and half sib families. *Genetics Selection Evolution*. **2007**. 39, 139-158.
95. **Gilbert, H., P. Le Roy, C. Moreno, D. Robelin, and J. M. Elsen.** QTLMAP, a software for QTL detection in outbred populations. *Annals of Human Genetics*. **2008**. 72, 694-694.
96. **Girard-Santosuosso, O.** Partial conservation of the mammalian NRAMP1 syntenic group on chicken chromosome 7. *Mammalian Genome*. **1997**. 8, 614-616.
97. **Girard-Santosuosso, O., F. Lantier, I. Lantier, N. Bumstead, J.-M. Elsen, and C. Beaumont.** Heritability of susceptibility to *Salmonella enteritidis* infection in fowls and test of the role of the chromosome carrying the NRAMP1 gene. *Genetic Selection Evolution*. **2002**. 342, 211-219.
98. **Gonzalez-Alvarado, J. M., E. Jimenez-Moreno, D. G. Valencia, R. Lazaro, and G. G. Mateos.** Effects of fiber source and heat processing of the cereal on the development and pH of the gastrointestinal tract of broilers fed diets based on corn or rice. *Poultry Science*. **2008**. 87, 1779-1795.
99. Green, P., K. Falls, and S. Crooks. 1990. CRI-MAP documentation, version 2.4 Washington University School of Medicine, St. Louis.
100. **Grijnspeerdt, K., J. U. Kreft, and W. Messens.** Individual-based modelling of growth and migration of *Salmonella enteritidis* in hens' eggs. *International Journal of Food Microbiology*. **2005**. 100, 323-333.
101. **Grimm, V., U. Berger, F. Bastiansen, S. Eliassen, V. Ginot, J. Giske, J. Goss-Custard, T. Grand, S. K. Heinz, G. Huse, A. Huth, J. U. Jepsen, C. Jorgensen, W. M. Mooij, B. Müller, G. Pe'er, C. Piou, S. F. Railsback, A. M. Robbins, M. M. Robbins, E. Rossmanith, N. Rüger, E. Strand, S. Souissi, R. A. Stillman, R. Vabo, U. Visser, and D. L. DeAngelis.** A standard protocol for describing individual-based and agent-based models. *Ecological Modelling*. **2006**. 198, 115-126.
102. **Groenen, M., P. Wahlberg, M. Foglio, H. Cheng, H. Megens, R. Crooijmans, F. Besnier, M. Lathrop, W. Muir, G. Wong, I. Gut, and L. Andersson.** A high-density SNP-based linkage map of the chicken genome reveals sequence features correlated with recombination rate. *Genome Research*. **2009**. 19, 510-519.

103. **Groenen, M. A., H. J. Megens, Y. Zare, W. C. Warren, L. W. Hillier, R. P. Crooijmans, A. Vereijken, R. Okimoto, W. M. Muir, and H. H. Cheng.** The development and characterization of a 60K SNP chip for chicken. *BMC Genomics*. **2011**. 12, 1471-2164.
104. **Groenen, M. A. M., H. H. Cheng, N. Bumstead, B. F. Benkel, W. E. Briles, T. Burke, D. W. Burt, L. B. Crittenden, J. Dodgson, J. Hillel, S. Lamont, A. P. de Leon, M. Soller, H. Takahashi, and A. Vignal.** A consensus linkage map of the chicken genome. *Genome Research*. **2000**. 10, 137-147.
105. **Groenen, M. A. M., R. Crooijmans, A. Veenendaal, H. H. Cheng, M. Siwek, and J. J. van der Poel.** A comprehensive microsatellite linkage map of the chicken genome. *Genomics*. **1998**. 49, 265-274.
106. **Guillot, J., C. Beaumont, F. Bellatif, C. Mouline, F. Lantier, P. Colin, and J. Protais.** Comparison of resistance of various poultry lines to infection by *Salmonella enteritidis*. *Veterinary Research*. **1995**. 26, 81-86.
107. **Hacker, J., and J. B. Kaper.** Pathogenicity islands and the evolution of microbes. *Annual Review of Microbiology*. **2000**. 54, 641-679.
108. **Hackett, C. A., and J. I. Weller.** Genetic mapping of quantitative trait loci for traits with ordinal distributions. *Biometrics*. **1995**. 51, 1252-1263.
109. **Haldane, J. B. S.** The combination of linkage values and the calculation of distances between the loci of linked factors. *J. Genetics*. **1919**. 8, 299-309.
110. **Haley, C. S., and S. A. Knott.** A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers. *Heredity*. **1992**. 69, 315-324.
111. **Hansen, C., N. Yi, Y. M. Zhang, S. Xu, J. Gavora, and H. H. Cheng.** Identification of QTL for production traits in chickens. *Animal Biotechnology*. **2005**. 16, 67-79.
112. **Harrell, F. E., and C. E. Davis.** A new distribution-free quantile estimator. *Biometrika*. **1982**. 69, 635-640.
113. **Hasenstein, J., G. Zhang, and S. Lamont.** Analyses of five gallinacin genes and the *salmonella enterica* serovar Enteritidis response in poultry. *Infection and Immunity*. **2006**. 74, 3375-3380.
114. **Hasenstein, J. R., and S. J. Lamont.** Chicken gallinacin gene cluster associated with Salmonella response in advanced intercross line. *Avian Diseases*. **2007**. 51, 561-567.
115. **Hayes, B. J., P. J. Bowman, A. J. Chamberlain, and M. E. Goddard.** Invited review: Genomic selection in dairy cattle: progress and challenges. *Journal of Dairy Science*. **2009**. 92, 433-443.
116. **Heams, T., T. Zerjal, B. Bed'Hom, A. Vignal, O. Demeure, P. Le Roy, D. Esquerre, N. Bruneau, J. L. Coville, M. Tixier-Boichard, and A. Bordas.** 2011. Détection de QTLs liés à

l'efficacité alimentaire de la poule pondeuse dans des lignées divergentes in 9ème Journées de la Recherche Avicole, Tours, France.

117. **Herd, R. M., and P. F. Arthur.** Physiological basis for residual feed intake. *Journal of Animal Science*. **2009**. 87(E. Suppl.), E64-E71.
118. **Hill, F. W., and D. L. Anderson.** Comparison of metabolizable energy and productive energy determinations with growing chicks. *Journal of Nutrition*. **1958**. 64, 587-603.
119. **Hill, R. A., and M. Azain.** Growth and development symposium: The molecular basis for feed efficiency. *Journal of Animal Science*. **2009**. 87 (E-suppl), E39-E40.
120. **Hocking, P. M.** Review of QTL mapping results in chickens. *Worlds Poultry Science Journal*. **2005**. 61, 215-226.
121. Holloway, J., and S. J. Knapp. 1994. G-Mendel 3.0 Users Guide. O. S. U. Department of Crop and Soil Science ed., Corvallis, OR, USA.
122. **Hu, J., N. Bumstead, P. Barrow, G. Sebastiani, L. Olien, K. Morgan, and M. D.** Resistance to salmonellosis in the chicken is linked to NRAMP1 and TNC. *Genome Research*. **1997**. 7, 693-704.
123. **Hu, J., N. Bumstead, D. Burke, P. d. L. FA, E. Skamene, P. Gros, and D. Malo.** Genetic and physical mapping of the natural resistance-associated macrophage protein 1 (NRAMP1) in chicken. *Mammalian Genome*. **1995**. 6, 809-815.
124. **Hu, J., N. Bumstead, E. Skamene, P. Gros, and D. Malo.** Structural organization, sequence, and expression of the chicken NRAMP1 gene encoding the natural resistance-associated macrophage protein 1. *DNA and Cell Biology*. **1996**. 15, 113-123.
125. Humbert, F., and G. Salvat. 1997. Risques de transmission des salmonelles en aviculture : détection et prévention en Europe. Pages 83-89. Scientific and Technical Review - OIE.
126. **Humphrey, T. J.** Public health implications of infection of egg-laying hens with *Salmonella enteritidis* phage type 4. *World Poultry Science Association Journal*. **1990**. 46, 5-13.
127. **Humphrey, T. J., A. Baskerville, S. Mawer, B. Rowe, and S. Hopper.** Salmonella-enteritidis phage type-4 from the contents of intact eggs - a study involving naturally infected hens. *Epidemiology and Infection*. **1989**. 103, 415-423.
128. **Hutt, F., and J. Scholes.** XIII. Breed differences in susceptibility to *Salmonella pullorum*. *Poultry Science*. **1941**. 20, 342-352.
129. INRA-AFZ. 2004. Tables de composition et valeur nutritionnelle des matières premières. INRA ed. Association Française de zootechnie, Paris.

130. **Ishola, O. O.** Effects of challenge dose on faecal shedding of *Salmonella enteritidis* in experimental infected chickens. *African Journal of Biotechnology*. **2009**. 8, 1343-1346.
131. **Jansen, R. C.** A general Monte Carlo method for mapping multiple quantitative trait loci. *Genetics*. **1996**. 142, 305-311.
132. **Jansen, R. C., D. L. Johnson, and J. A. Van Arendonk.** A mixture model approach to the mapping of quantitative trait loci in complex populations with an application to multiple cattle families. *Genetics*. **1998**. 148, 391-399.
133. **Janss, L. L. G., and N. M. Bolder.** Heritabilities of and genetic relationships between salmonella resistance traits in broilers. *Journal of Animal Science*. **2000**. 78, 2287-2291.
134. **Jeffreys, A. J., L. Kauppi, and R. Neumann.** Intensely punctate meiotic recombination in the class II region of the major histocompatibility complex. *Nature Genetics*. **2001**. 29, 217-222.
135. **Jiang, C., and Z. B. Zeng.** Multiple trait analysis of genetic mapping for quantitative trait loci. *Genetics*. **1995**. 140, 1111-1127.
136. **Jiménez-Moreno, E., J. M. Gonzalez-Alvarado, A. de Coca-Sinova, R. Lazaro, and G. C. Mateos.** Effects of source of fibre on the development and pH of the gastrointestinal tract of broilers. *Animal Feed Science and Technology*. **2009**. 154, 93-101.
137. **Jin, S. H., A. Corless, and J. L. Sell.** Digestive system development in post-hatch poultry. *World's Poultry Science Journal* **1998**. 54, 335-345.
138. **Kao, C. H.** On the differences between maximum likelihood and regression interval mapping in the analysis of quantitative trait loci. *Genetics*. **2000**. 156, 855-865.
139. **Kao, C. H., Z. B. Zeng, and R. D. Teasdale.** Multiple interval mapping for quantitative trait loci. *Genetics*. **1999**. 152, 1203-1216.
140. **Kararli, T. T.** Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*. **1995**. 16, 351-380.
141. **Katle, J., and N. Kolstad.** Selection for efficiency of food utilisation in laying hens: direct response in residual food consumption and correlated responses in weight gain, egg production and body weight. *British Poultry Science*. **1991**. 32, 939-953.
142. **Kileh-Wais, M., J. M. Elsen, A. Vignal, K. Feves, F. Vignoles, X. Fernandez, H. Manse, S. Davail, J. M. Andre, D. Bastianelli, L. Bonnal, O. Filangi, E. Baeza, D. Guemene, C. Genet, M. D. Bernadet, F. Dubos, and C. Marie-Etancelin.** Detection of QTL controlling metabolism, meat quality, and liver quality traits of the overfed interspecific hybrid mule duck. *Journal of Animal Science*. **2013**. 91, 588-604.

143. **Knott, S. A., J. M. Elsen, and C. S. Haley.** Methods for multiple-marker mapping of quantitative trait loci in half-sib populations. *Theoretical and Applied Genetics*. **1996**. 93, 71-80.
144. **Korol, A. B., Y. I. Ronin, and V. M. Kirzhner.** Interval mapping of quantitative trait loci employing correlated trait complexes. *Genetics*. **1995**. 140, 1137-1147.
145. **Kosambi, D. D.** The estimation of map distances from recombination values. *Annals of Eugenics*. **1944**. 12, 172-175.
146. **Kramer, J., M. Malek, and S. Lamont.** Association of twelve candidate gene polymorphisms and response to challenge with *Salmonella enteritidis* in poultry. *Animal Genetics*. **2003**. 34, 339-348.
147. **Kranis, A., A. A. Gheyas, C. Boschiero, F. Turner, L. Yu, S. Smith, R. Talbot, A. Pirani, F. Brew, P. Kaiser, P. M. Hocking, M. Fife, N. Salmon, J. Fulton, T. M. Strom, G. Haberer, S. Weigend, R. Preisinger, M. Gholami, S. Qanbari, H. Simianer, K. A. Watson, J. A. Woolliams, and D. W. Burt.** Development of a high density 600K SNP genotyping array for chicken. *BMC Genomics*. **2013**. 14, 1471-2164.
148. **Krogdahl, A.** Digestion and absorption of lipids in poultry. *Journal of Nutrition*. **1985**. 115, 675-685.
149. **Lagarrigue, S., F. Pitel, W. Carre, B. Abasht, P. Le Roy, A. Neau, Y. Amigues, M. Sourdioux, J. Simon, L. Cogburn, S. Aggrey, B. Leclercq, A. Vignal, and M. Douaire.** Mapping quantitative trait loci affecting fatness and breast muscle weight in meat-type chicken lines divergently selected on abdominal fatness. *Genetics Selection Evolution*. **2006**. 38, 85-97.
150. **Lambert, W., and C. Knox.** The inheritance of resistance to fowl typhoid in chickens. *Iowa State Journal of Science*. **1928**. 2, 179-187.
151. **Lambert, W. V.** Natural resistance to disease in the chicken. I. The effect of selective breeding on natural resistance to fowl typhoid. *Journal of Immunology*. **1932**. 23, 229-240.
152. **Lamont, S., M. Kaiser, and W. Liu.** Candidate genes for resistance to *Salmonella enteritidis* colonization in chickens as detected in a novel genetic cross. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. **2002**. 87, 423-428.
153. **Lander, E. S., and D. Botstein.** Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics*. **1989**. 121, 185-199.
154. **Lander, E. S., P. Green, J. Abrahamson, A. Barlow, M. J. Daly, S. E. Lincoln, and L. A. Newberg.** MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics*. **1987**. 1, 174-181.

155. **Le Mignon, G., F. Pitel, H. Gilbert, E. Le Bihan-Duval, F. Vignoles, O. Demeure, S. Lagarrigue, J. Simon, L. A. Cogburn, S. E. Aggrey, M. Douaire, and P. Le Roy.** A comprehensive analysis of QTL for abdominal fat and breast muscle weights on chicken chromosome 5 using a multivariate approach. *Animal Genetics*. **2009**. 40, 157-164.
156. **Le Roy, P., J. M. Elsen, D. Boichard, M. Mangin, J. P. Bidanel, and B. Goffinet.** An algorithm for QTL detection in mixture of full and half sib families. In: *Proc. 6th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production*, University of New England, Armidale **1998**.
157. **Lê, T. N. 2012.** Analyse multifactorielle de caractères liés à l'efficacité digestive et aux rejets chez le poulet de chair. Master Animal Production. Université François-Rabelais, Tours.
158. **Legarra, A., F. Calenge, P. Mariani, P. Velge, and C. Beaumont.** Use of a reduced set of single nucleotide polymorphisms for genetic evaluation of resistance to *Salmonella* carrier state in laying hens. *Poultry Science*. **2011**. 90, 731-736.
159. **Legarra, A., and R. L. Fernando.** Linear models for joint association and linkage QTL mapping. *Genetics Selection Evolution*. **2009**. 41.
160. **Leslie, J.** Simulation of the transmission of *Salmonella enteritidis* phage type 4 in a flock of laying hens. *Veterinary Record*. **1996**. 139, 388-391.
161. **Leveque, G., V. Forgetta, S. Morroll, A. Smith, N. Bumstead, P. Barrow, J. Loredó-Osti, K. Morgan, and D. Malo.** Allelic variation in *TLR4* is linked to susceptibility to *Salmonella enterica* serovar typhimurium infection in chickens. *Infection and Immunity*. **2003**. 71, 1116-1124.
162. **Lindell, K., A. Saeed, and G. McCabe.** Evaluation of resistance of four strains of commercial laying hens to experimental infection with *Salmonella enteritidis* phage type eight. *Poultry Science*. **1994**. 73, 757-762.
163. **Liu, B. H., and S. J. Knapp.** GMENDEL: a program for mendelian segregation and linkage analysis of individual or multiple progeny populations using log-likelihood ratios. *Journal of Heredity*. **1990**. 81, 407.
164. **Liu, W., M. Kaiser, and S. Lamont.** Natural resistance-associated macrophage protein 1 gene polymorphisms and response to vaccine against or challenge with *Salmonella enteritidis* in young chicks. *Poultry Science*. **2003**. 82, 259-266.
165. **Liu, W., M. Miller, and S. Lamont.** Association of MHC class I and class I gene polymorphisms with vaccine or challenge response to *Salmonella enteritidis* in young chicks. *Immunogenetics*. **2002**. 54, 582-590.

166. **Luo, Z. W., and M. J. Kearsey.** Maximum likelihood estimation of linkage between a marker gene and a quantitative locus. *Heredity* **1989**. 63, 401-408.
167. **Lutful Kabir, S. M.** The role of probiotics in the poultry industry. *International Journal of Molecular Science*. **2009**. 10, 3531-3546.
168. **Madrid, L., C. Wang, D. Guttridge, A. Schottelius, A. Baldwin, and M. Mayo.** Akt suppresses apoptosis by stimulating the transactivation potential of the RelA/p65 subunit of NF-kappaB. *Molecular and Cellular Biology*. **2000**. 20, 1626-1638.
169. **Malek, M., J. Hasenstein, and S. Lamont.** Analysis of chicken TLR4, CD28, MIF, MD-2, and LITAF genes in a *Salmonella enteritidis* resource population. *Poultry Science*. **2004**. 83, 544-549.
170. **Malek, M., and S. Lamont.** Association of *INOS*, *TRAIL*, *TGF-beta2*, *TGF-beta3*, and *IGL* genes with response to *Salmonella enteritidis* in poultry. *Genetics Selection Evolution*. **2003**. 35, S99-S111.
171. **Mangin, B., P. Thoquet, and N. Grimsley.** Pleiotropic QTL Analysis. *Biometrics*. **1998**. 54, 88-89.
172. **Mariani, P., P. Barrow, H. Chang, M. Groenen, R. Negrini, and N. Bumstead.** Localization to chicken chromosome 5 of a novel locus determining salmonellosis resistance. *Immunogenetics*. **2001**. 53, 786-791.
173. **Martinez, O., and R. N. Curnow.** Estimating the locations and the sizes of the effects of quantitative trait loci using flanking markers. *Theoretical and Applied Genetics*. **1992**. 85, 480-488.
174. **McClelland, M., K. E. Sanderson, J. Spieth, S. W. Clifton, P. Latreille, L. Courtney, S. Porwollik, J. Ali, M. Dante, F. Y. Du, S. F. Hou, D. Layman, S. Leonard, C. Nguyen, K. Scott, A. Holmes, N. Grewal, E. Mulvaney, E. Ryan, H. Sun, L. Florea, W. Miller, T. Stoneking, M. Nhan, R. Waterston, and R. K. Wilson.** Complete genome sequence of *Salmonella enterica* serovar typhimurium LT2. *Nature*. **2001**. 413, 852-856.
175. **Meuwissen, T. H., and M. E. Goddard.** Fine mapping of quantitative trait loci using linkage disequilibria with closely linked marker loci. *Genetics*. **2000**. 155, 421-430.
176. **Meuwissen, T. H. E., B. J. Hayes, and M. E. Goddard.** Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*. **2001**. 157, 1819-1829.
177. **Meuwissen, T. H. E., A. Karlsen, S. Lien, I. Olsaker, and M. E. Goddard.** Fine mapping of a quantitative trait locus for twinning rate using combined linkage and linkage disequilibrium mapping. *Genetics*. **2002**. 161, 373-379.
178. **Mignon-Grasteau, S., C. Beaumont, and F. H. Ricard.** Genetic analysis of a selection experiment on the growth curve of chickens. *Poultry Science*. **2001**. 80, 849-854.

179. **Mignon-Grasteau, S., H. Juin, N. Sellier, D. Bastianelli, J. Gomez, and B. Carré.** Genetic parameters of digestibility of wheat- or corn-based diets in chickens. In: *Proc. 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Leipzig, Germany, **2010**.
180. **Mignon-Grasteau, S., N. Muley, D. Bastianelli, J. Gomez, A. Peron, N. Sellier, N. Millet, J. Besnard, J. M. Hallouis, and B. Carré.** Heritability of digestibilities and divergent selection for digestion ability in growing chicks fed a wheat diet. *Poultry Science*. **2004**. 83, 860-867.
181. **Mijouin, L., M. Rosselin, E. Bottreau, J. Pizarro-Cerda, P. Cossart, P. Velge, and A. Wiedemann.** Salmonella enteritidis Rck-mediated invasion requires activation of Rac1, which is dependent on the class I PI 3-kinases-Akt signaling pathway. *FASEB Journal*. **2012**. 26, 1569-1581.
182. **Moran, E. T., Jr.** 1982. *Comparative nutrition of fowl and swine*. Guelph, Ontario: **1982**, Pages 253 p.
183. **Moran, E. T., Jr.** Digestion and absorption of carbohydrates in fowl and events through perinatal development. *The Journal of Nutrition*. **1985**. 115, 665-674.
184. **Morris, C. A., C. D. K. Bottema, N. G. Cullen, S. M. Hickey, A. K. Esmailzadeh, B. D. Siebert, and W. S. Pitchford.** Quantitative trait loci for organ weights and adipose fat composition in Jersey and Limousin back-cross cattle finished on pasture or feedlot. *Animal Genetics*. **2010**. 41, 589-596.
185. **Nadaf, J., H. Gilbert, F. Pitel, C. M. Berri, K. Fève, C. Beaumont, M. J. Duclos, A. Vignal, T. E. Porter, J. Simon, S. E. Aggrey, L. A. Coghurn, and E. Le Bihan-Duval.** Identification of QTL controlling meat quality traits in an F-2 cross between two chicken lines selected for either low or high growth rate. *BMC Genomics*. **2007**. 8, 155.
186. **Nadaf, J., F. Pitel, H. Gilbert, M. J. Duclos, F. Vignoles, C. Beaumont, A. Vignal, T. E. Porter, L. A. Coghurn, S. E. Aggrey, J. Simon, and E. Le Bihan-Duval.** QTL for several metabolic traits map to loci controlling growth and body composition in an F(2) intercross between high- and low-growth chicken lines. *Physiological Genomics*. **2009**. 38, 241-249.
187. **Nones, K., M. C. Ledur, D. C. Ruy, E. E. Baron, C. M. Melo, A. S. Moura, E. L. Zanella, D. W. Burt, and L. L. Coutinho.** Mapping QTLs on chicken chromosome 1 for performance and carcass traits in a broiler x layer cross. *Animal Genetics*. **2006**. 37, 95-100.
188. **Nordskog, A. W., H. L. French, A. C.R., and D. W. Casey.** Breeding for efficiency of egg production. *World's Poultry Science Journal*. **1972**. 29, 175-188.
189. **Nurmi, E., L. Nuotio, and C. Schneitz.** The competitive exclusion concept: development and future. *International Journal of Food Microbiology*. **1992**. 15, 237-240.

190. **Nurmi, E., and M. Rantala.** New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. *Nature*. **1973**. 241, 210-211.
191. **Parkhill, J., G. Dougan, K. D. James, N. R. Thomson, D. Pickard, J. Wain, C. Churcher, K. L. Mungall, S. D. Bentley, M. T. Holden, M. Sebahia, S. Baker, D. Basham, K. Brooks, T. Chillingworth, P. Connor, A. Cronin, P. Davis, R. M. Davies, L. Dowd, N. White, J. Farrar, T. Feltwell, N. Hamlin, A. Haque, T. T. Hien, S. Holroyd, K. Jagels, A. Krogh, T. S. Larsen, S. Leather, S. Moule, P. O'Gaora, C. Parry, M. Quail, K. Rutherford, M. Simmonds, J. Skelton, K. Stevens, S. Whitehead, and B. G. Barrell.** Complete genome sequence of a multiple drug resistant *Salmonella enterica* serovar Typhi CT18. *Nature*. **2001**. 413, 848-852.
192. **Parsanejad, R., D. Praslickova, D. Zadworny, and U. Kuhnlein.** Ornithine decarboxylase: Haplotype structure and trait associations in white leghorn chickens. *Poultry Science*. **2004**. 83, 1518-1523.
193. **Pinares-Patino, C. S., M. J. Ulyatt, K. R. Lassey, T. N. Barry, and C. W. Holmes.** Persistence of differences between sheep in methane emission under generous grazing conditions. *Journal of Agricultural Science*. **2003**. 140, 227-233.
194. **Pinto LFB, Packer IU, Ledur MC, Moura ASAMT, Nones K, and Coutinho LL.** Mapping quantitative trait loci in *Gallus gallus* using principal components. *Revista Brasileira de Zootecnia*. **2010**. 39, 2434-2441.
195. Poppe C. 2000. *Salmonella* infections in the Domestic Fowl. Pages 107-132 in *Salmonella in domestic animals*. C. Wray, and A. Wray eds. CABI International, London, U.K.
196. **Popoff, M.Y., J., Bockemuhl, L.L, Gheesling.** Supplement 2002 (no 46) to the Kauffmann-White scheme. *Research in Microbiology*. **2004**. 155, 568-570.
197. **Prévost, K., P. Magal, and C. Beaumont.** A model of *Salmonella* infection within industrial house hens. *Journal of Theoretical Biology*. **2006**. 242, 755-763.
198. **Prévost, K., P. Magal, J. Protais, and C. Beaumont.** Effect of genetic resistance of the hen to *Salmonella* carrier-state on incidence of bacterial contamination: synergy with vaccination. *Veterinary Research*. **2008**. 39, 20.
199. **Protais, J., N. B., B. E., Q. S., C. Beaumont, and G. Salvat.** Changes in *Salmonella enteritidis* contamination in two layer lines vaccinated during the rearing period. *British Poultry Science*. **2003**. 44, 827-828.
200. **Protais, J., P. Colin, C. Beaumont, J. Guillot, F. Lantier, P. Pardon, and G. Bennejean.** Line differences in resistance to *Salmonella enteritidis* PT4 infection. *British Poultry Science*. **1996**. 37, 329-339.

201. **Proux, K., E. Jouy, C. Houdayer, J. Protais, M. Dibb-Füller, E. Boscher, A. Gillard, P. Gracieux, F. Gilbert, C. Beaumont, and M. Duchet-Suchaux.** Reliable ELISAs showing differences between resistant and susceptible lines in hens orally inoculated with *Salmonella enteritidis*. *Veterinary Research*. **2002**. 33, 23-33.
202. **Pubols, M. H.** Ratio of digestive enzymes in the chick pancreas. *Poultry Science*. **1991**. 70, 337-342.
203. **Pym, R. A. E.** Nutritional Genetics. in: *Poultry Breeding and Genetics* R. D. Crawford, edition. Amsterdam, The Netherlands: **1990**. Pages 847-876 p
204. **Pym, R. A. E., R. J. Johnson, D. B. Etse, and P. Eason.** Inheritance of plasma insulin-like growth factor-i and growth-rate, food-intake, food efficiency and abdominal fatness in chickens. *British Poultry Science*. **1991**. 32, 285-293.
205. **Pym, R. A. E., and A. J. Solvyns.** Selection for food conversion in broilers - body-composition of birds selected for increased body-weight gain, food-consumption and food conversion ratio. *British Poultry Science*. **1979**. 20, 87-97.
206. **Reinhold, A., S. Reimann, D. Reinhold, B. Schraven, and M. Togni.** Expression of SKAP-HOM in DCs is required for an optimal immune response in vivo. *Journal of Leukocyte Biology*. **2009**. 86, 61-71.
207. Rideau, N., E. Godet, C. Combémoré, M. Chaudeau, B. Carré, and S. Mignon-Grasteau. 2013. L'isthme gastrique de 2 lignées de poulets sélectionnées sur leurs capacités digestives présente des différences morphologiques et histologiques in 10ème Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie-Gras, 26-28 Mars, La Rochelle.
208. Riffard C, Gallot S, and Magdelaine P. 2011. Performances techniques et coûts de production en volailles de chair, poulettes et pondeuses. Résultats 2010. Technical Report. Pages 1-57. ITAVI ed., Paris.
209. **Risch, N., and K. Merikangas.** The future of genetic studies of complex human diseases. *Science*. **1996**. 273, 1516-1517.
210. **Ronin, Y. I., V. M. Kirzhner, and A. B. Korol.** Linkage between loci of quantitative traits and marker loci: multi-trait analysis with a single marker. *Theoretical and Applied Genetics*. **1995**. 90, 776-786.
211. **Rougière, N. 2010.** Etude comparée des paramètres digestifs des poulets issus des lignées génétiques D+ et D- sélectionnées pour une efficacité digestive divergente. Thèse doctorat. Université François-Rabelais de Tours, Tours.
212. **Rougière, N., and B. Carré.** Comparison of gastrointestinal transit times between chickens from D+ and D- genetic lines selected for divergent digestion efficiency. *Animal*. **2010**. 4, 1861-1872.

213. **Rougière, N., J. Gomez, S. Mignon-Grasteau, and B. Carré.** Effects of diet particle size on digestive parameters in D+ and D- genetic chicken lines selected for divergent digestion efficiency. *Poultry Science*. **2009**. 88, 1206-1215.
214. **Rougiere, N., C. H. Malbert, N. Rideau, J. Cognie, and B. Carre.** Comparison of gizzard activity between chickens from genetic D+ and D- lines selected for divergent digestion efficiency. *Poultry Science*. **2012**. 91, 460-467.
215. **Rowe, S. J., D. Windsor, C. S. Haley, D. W. Burt, P. M. Hocking, H. Griffin, J. Vincent, and D. J. De Koning.** QTL analysis of body weight and conformation score in commercial broiler chickens using variance component and half-sib analyses. *Animal Genetics*. **2006**. 37, 269-272.
216. **Rubin, C. J., M. C. Zody, J. Eriksson, J. R. Meadows, E. Sherwood, M. T. Webster, L. Jiang, M. Ingman, T. Sharpe, S. Ka, F. Hallbook, F. Besnier, O. Carlborg, B. Bed'hom, M. Tixier-Boichard, P. Jensen, P. Siegel, K. Lindblad-Toh, and L. Andersson.** Whole-genome resequencing reveals loci under selection during chicken domestication. *Nature*. **2010**. 464, 587-591.
217. **Sadeyen, J.-R., J. Trotureau, J. Protais, C. Beaumont, N. Sellier, G. Salvat, P. Velge, and A.-C. Lalmanach.** Salmonella carrier-state in hens: study of host resistance by a gene expression approach. *Microbes and Infection*. **2006**. 8, 1308-1314.
218. **Sadeyen, J.-R., J. Trotureau, P. velge, J. Marly, C. Beaumont, P. Barrow, N. Bumstead, and A.-C. Lalmanach.** *Salmonella* carrier state in chicken: comparison of expression of immune response genes between susceptible and resistant animals. *Microbes and Infection*. **2004**. 6, 1278-1286.
219. **Saeki, K., S. Fukuyama, T. Ayada, M. Nakaya, D. Aki, G. Takaesu, T. Hanada, Y. Matsumura, T. Kobayashi, R. Nakagawa, and A. Yoshimura.** A major lipid raft protein raftlin modulates T cell receptor signaling and enhances Th17-mediated autoimmune responses. *Journal of Immunology*. **2009**. 182, 5929-5937.
220. **Schneitz, C., and G. Mead.** Competitive Exclusion. in: *Samonella in domestic animals* C. W. a. A.Wray,edition. London, UK: CABI,**2000**. Pages 301-322 p
221. **Schulman, N., M. Tuiskula-Haavisto, L. Siitonen, and E. A. Mantysaari.** Genetic variation of residual feed consumption in a selected Finnish egg-layer population. *Poultry Science*. **1994**. 73, 1479-1484.
222. **Schulte, L. N., A. Eulalio, H.-J. Mollenkopf, R. Reinhardt, and J. Vogel.** Analysis of the host microRNA response to *Salmonella* uncovers the control of major cytokines by the let-7 family. *Embo Journal*. **2011**. 30, 1977-1989.

223. **Schutz, K., S. Kerje, O. Carlborg, L. Jacobsson, L. Andersson, and P. Jensen.** QTL analysis of a red junglefowl x White Leghorn intercross reveals trade-off in resource allocation between behavior and production traits. *Behavior Genetics*. **2002**. 32, 423-433.
224. **Schutz, K. E., S. Kerje, L. Jacobsson, B. Forkman, O. Carlborg, L. Andersson, and P. Jensen.** Major growth QTLs in fowl are related to fearful behavior: possible genetic links between fear responses and production traits in a red junglefowl x White Leghorn intercross. *Behavior Genetics*. **2004**. 34, 121-130.
225. Seaton, G., J. Hernandez, J. Grunchev, I. White, J. Allen, D. De Koning, W. Wei, D. Berry, C. Haley, and S. Knott. 2006. GridQTL: A Grid Portal for QTL Mapping of Compute Intensive Datasets in 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Belo Horizonte, Brazil.
226. **Sellier, N., M. L. Vidal, F. Baron, J. Michel, J. Gautron, M. Protais, C. Beaumont, M. Gautier, and Y. Nys.** Estimations of repeatability and heritability of egg albumen antimicrobial activity and of lysozyme and ovotransferrin concentrations. *British Poultry Science*. **2007**. 48, 559-566.
227. **Shembade, N., N. S. Harhaj, M. Yamamoto, S. Akira, and E. W. Harhaj.** The human T-cell leukemia virus type 1 tax oncoprotein requires the ubiquitin-conjugating enzyme Ubc13 for NF-kappa B activation. *Journal of Virology*. **2007**. 81, 13735-13742.
228. **Soller, M., and A. Genizi.** Efficiency of experimental-designs for detection of linkage between a marker locus and a locus affecting a quantitative trait in segregating populations. *Biometrics*. **1978**. 34, 47-55.
229. **Srikanth, C. V., R. Mercado-Lubo, K. Hallstrom, and B. A. McCormick.** *Salmonella* effector proteins and host-cell responses. *Cellular and Molecular Life Sciences*. **2011**. 68, 3687-3697.
230. **Stam, P.** Construction of integrated genetic linkage maps by means of a new computer package: JoinMap. *The Plant Journal*. **1993**. 3, 739-744.
231. **Stenmark, H., G. Vitale, O. Ullrich, and M. Zerial.** Rabaptin-5 is a direct effector of the small GTPase Rab5 in endocytic membrane fusion. *Cell*. **1995**. 83, 423-432.
232. **Stylianou, I. M., J. K. Christians, P. D. Keightley, L. Bunger, M. Clinton, G. Bulfield, and S. Horvat.** Genetic complexity of an obesity QTL (Fob3) revealed by detailed genetic mapping. *Mammalian Genome*. **2004**. 15, 472-481.
233. **Suiter, K. A., J. F. Wendel, and J. S. Case.** LINKAGE-1: a PASCAL computer program for the detection and analysis of genetic linkage. *Journal of Heredity*. **1983**. 74, 203-204.

234. **Swaggerty, C., P. Kaiser, L. Rothwell, I. Pevzner, and M. Kogut.** Heterophil cytokine mRNA profiles from genetically distinct lines of chickens with differential heterophil-mediated innate immune responses. *Avian Pathology*. **2006**. 35, 102-U109.
235. **Szurszewski, J. H.** A 100-year perspective on gastrointestinal motility. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*. **1998**. 274, 447-453.
236. **Tachibana, M., E. Kiyokawa, S. Hara, S.-i. Iemura, T. Natsume, T. Manabe, and M. Matsuda.** Ankyrin repeat domain 28 (ANKRD28), a novel binding partner of DOCK180, promotes cell migration by regulating focal adhesion formation. *Experimental Cell Research*. **2009**. 315, 863-876.
237. **Takeuchi, S., N. Yamaki, T. Iwasato, M. Negishi, and H. Katoh.** Beta 2-Chimaerin binds to EphA receptors and regulates cell migration. *FEBS Letters*. **2009**. 583, 1237-1242.
238. **Targant, H.** **2010.** L'îlot de multirésistance aux antibiotiques, Salmonella Genomic Island 1 (SGI1) : variabilité, diffusion inter - espèces et implication dans la virulence. Doctorat. Lyon.
239. **Thirabunyanon, M., and N. Thongwittaya.** Protection activity of a novel probiotic strain of *Bacillus subtilis* against *Salmonella* Enteritidis infection. *Research in Veterinary Science*. **2012**. 93, 74-81.
240. **Thomas, M. E., D. Klinkenberg, G. Ejeta, F. V. Knapen, A. A. Bergwerff, J. A. Stegeman, and A. Bouma.** Quantification of horizontal transmission of *Salmonella enterica* serovar enteritidis bacteria in pair-housed groups of laying hens. *Applied and Environmental Microbiology*. **2009**. 75, 6361-6366.
241. **Thomson, N. R., D. J. Clayton, D. Windhorst, G. Vernikos, S. Davidson, C. Churcher, M. A. Quail, M. Stevens, M. A. Jones, M. Watson, A. Barron, A. Layton, D. Pickard, R. A. Kingsley, A. Bignell, L. Clark, B. Harris, D. Ormond, Z. Abdellah, K. Brooks, I. Cherevach, T. Chillingworth, J. Woodward, H. Norberczak, A. Lord, C. Arrowsmith, K. Jagels, S. Moule, K. Mungall, M. Sanders, S. Whitehead, J. A. Chabalgoity, D. Maskell, T. Humphrey, M. Roberts, P. A. Barrow, G. Dougan, and J. Parkhill.** Comparative genome analysis of *Salmonella enteritidis* PT4 and *Salmonella Gallinarum* 287/91 provides insights into evolutionary and host adaptation pathways. *Genome Research*. **2008**. 18, 1624-1637.
242. **Tilquin, P., P. A. Barrow, J. Marly, F. Pitel, F. Plisson-Petit, P. Velge, A. Vignal, P. V. Baret, N. Bumstead, and C. Beaumont.** A genome scan for quantitative trait loci affecting the *Salmonella* carrier-state in the chicken. *Genetics Selection Evolution*. **2005**. 37, 539-561.

243. **Tindall, B. J., P. A. D. Grimont, G. M. Garrity, and J. P. Euzeby.** Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. **2005**. 55, 521-524.
244. **Tixier-Boichard, M., D. Boichard, E. Groenveld, and A. Bordas.** Restricted maximum likelihood estimates of genetic parameters of adult male and female rhode island red chickens divergently selected for residual feed consumption. *Poultry Science*. **1995**. 74, 1245-1252.
245. **Tomas, F. M., R. A. E. Pym, and R. J. Johnson.** Muscle protein turnover in chickens selected for increased growth rate, food consumption or efficiency of food utilisation; effects of genotype and relationship to plasma IGF-I and growth hormone. *British Poultry Science*. **1991**. 32, 363-376.
246. **Tuiskula-Haavisto, M., M. Honkatukia, J. Vilkki, D. J. de Koning, N. F. Schulman, and A. Maki-Tanila.** Mapping of quantitative trait loci affecting quality and production traits in egg layers. *Poultry Science*. **2002**. 81, 919-927.
247. **Uni, Z., Y. Noy, and D. Sklan.** Development of the small intestine in heavy and light strain chicks before and after hatching. *British Poultry Science*. **1996**. 37, 63-71.
248. **Van der Most, P. J., B. de Jong, H. K. Parmentier, and S. Verhulst.** Trade-off between growth and immune function: a meta-analysis of selection experiments. *Functional Ecology*. **2010**. 25, 74-80.
249. **Van Immerseel, F., J. De Buck, F. Boyen, F. Pasmans, S. Bertrand, J. M. Collard, C. Saegerman, J. Hooyberchs, F. Haesebrouck, and R. Ducatelle.** *Salmonella* dans la viande de volaille et dans les oeufs: Un danger pour le consommateur qui demande la mise en place d'un programme de lutte efficace. *Annales de Medecine Veterinaire*. **2005**. 149, 34-48.
250. **Vandeplass, S., R. Dubois Dauphin, Y. Beckers, P. Thonart, and A. Thewis.** *Salmonella* in chicken: current and developing strategies to reduce contamination at farm level. *Journal of Food Protection*. **2010**. 73, 774-785.
251. Varnam, A. H., and M. G. Evans. 1991. Foodborne Pathogens: An Illustrated Text. Pages 557 Mosby Year Book.
252. **Velge, P., I. Virlogeux-Payant, A. C. Lalmanach, C. Belloc, P. Fravallo, A. Vignal, and C. Beaumont.** Decrease the prevalence of *Salmonella* carrier state in animals: a multidisciplinary approach. *Productions Animales*. **2008**. 21, 117-126.
253. Verrier, E., P. Brabant, and A. Gallais. 1997. L'apport des marqueurs moléculaires I. N. A. Paris-Grignon ed., Paris.

254. **Verstrepen, L., K. Verhelst, I. Carpentier, and R. Beyaert.** TAX1BP1, a ubiquitin-binding adaptor protein in innate immunity and beyond. *Trends in Biochemical Sciences*. **2011**. 36, 347-354.
255. **Vidal, S., M. Tremblay, G. Govoni, S. Gauthier, G. Sebastiani, D. Malo, E. Skamene, M. Olivier, S. Jothy, and P. Gros.** The Ity/Lsh/Bcg locus: natural resistance to infection with intracellular parasites is abrogated by disruption of the Nramp1 gene. *Journal of Experimental Medicine*. **1993**. 182, 655-666.
256. Vignal, A., and B. Besbes. 2005. Séquençage du génome de la poule et perspectives d'application en poule pondeuse in Sixièmes Journées de la Recherche Avicole, Saint Malo, France.
257. **Visscher, P. M., R. Thompson, and C. S. Haley.** Confidence intervals in QTL mapping by bootstrapping. *Genetics*. **1996**. 143, 1013-1020.
258. **Wallis, J. W., J. Aerts, M. A. Groenen, R. P. Crooijmans, D. Layman, T. A. Graves, D. E. Scheer, C. Kremitzki, M. J. Fedele, N. K. Mudd, M. Cardenas, J. Higginbotham, J. Carter, R. McGrane, T. Gaige, K. Mead, J. Walker, D. Albracht, J. Davito, S. P. Yang, S. Leong, A. Chinwalla, M. Sekhon, K. Wylie, J. Dodgson, M. N. Romanov, H. Cheng, P. J. de Jong, K. Osoegawa, M. Nefedov, H. Zhang, J. D. McPherson, M. Krzywinski, J. Schein, L. Hillier, E. R. Mardis, R. K. Wilson, and W. C. Warren.** A physical map of the chicken genome. *Nature*. **2004**. 432, 761-764.
259. **Wang, L. Z., J. R. Chambers, and I. McMillan.** Heritabilities of adjusted and unadjusted feed and abdominal fat traits in a broiler dam population *Poultry Science*. **1991**. 70, 440-446.
260. **Weller, J. I., Y. Kashi, and M. Soller.** Power of daughter and granddaughter designs for determining linkage between marker loci and quantitative trait loci in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. **1990**. 73, 2525-2537.
261. **Weller, J. I., G. R. Wiggans, P. M. VanRaden, and M. Ron.** Application of a canonical transformation to detection of quantitative trait loci with the aid of genetic markers in a multi-trait experiment. *Theoretical and Applied Genetics*. **1996**. 92, 998-1002.
262. **Wolc, A., C. Stricker, J. Arango, P. Settar, J. E. Fulton, N. P. O'Sullivan, R. Preisinger, D. Habier, R. Fernando, D. J. Garrick, S. J. Lamont, and J. C. Dekkers.** Breeding value prediction for production traits in layer chickens using pedigree or genomic relationships in a reduced animal model. *Genetics Selection Evolution*. **2011**. 43, 1297-9686.
263. **Wong, G. K. S., B. Liu, J. Wang, Y. Zhang, X. Yang, Z. J. Zhang, Q. S. Meng, J. Zhou, D. W. Li, J. J. Zhang, P. X. Ni, S. G. Li, L. H. Ran, H. Li, J. G. Zhang, R. Q. Li, S. T. Li, H. K. Zheng, W. Lin, G. Y. Li, X. L. Wang, W. M. Zhao, J. Li, C. Ye, M. T. Dai, J.**

- Ruan, Y. Zhou, Y. Z. Li, X. M. He, Y. Z. Zhang, X. G. Huang, W. Tong, J. Chen, J. Ye, C. Chen, N. Wei, G. Q. Li, L. Dong, F. D. Lan, Y. Q. Sun, Z. P. Zhang, Z. Yang, Y. P. Yu, Y. Q. Huang, D. D. He, Y. Xi, D. Wei, Q. H. Qi, W. J. Li, J. P. Shi, M. H. Wang, F. Xie, J. J. Wang, X. W. Zhang, P. Wang, Y. Q. Zhao, N. Li, N. Yang, W. Dong, S. N. Hu, C. Q. Zeng, W. M. Zheng, B. L. Hao, L. W. Hillier, S. P. Yang, W. C. Warren, R. K. Wilson, M. Brandstrom, H. Ellegren, R. Crooijmans, J. J. van der Poel, H. Bovenhuis, M. A. M. Groenen, I. Ovcharenko, L. Gordon, L. Stubbs, S. Lucas, T. Glavina, A. Aerts, P. Kaiser, L. Rothwell, J. R. Young, S. Rogers, B. A. Walker, A. van Hateren, J. Kaufman, N. Bumstead, S. J. Lamont, H. J. Zhou, P. M. Hocking, D. Morrice, D. J. de Koning, A. Law, N. Bartley, D. W. Burt, H. Hunt, H. H. Cheng, U. Gunnarsson, P. Wahlberg, L. Andersson, E. Kindlund, M. T. Tammi, B. Andersson, C. Webber, C. P. Ponting, I. M. Overton, P. E. Boardman, H. Z. Tang, S. J. Hubbard, S. A. Wilson, J. Yu, H. M. Yang, and C. Int Chicken Polymorphism Map. A genetic variation map for chicken with 2.8 million single-nucleotide polymorphisms. *Nature*. **2004**. 432, 717-722.
264. Wright, D., S. Kerje, K. Lundstrom, J. Babol, K. Schutz, P. Jensen, and L. Andersson. Quantitative trait loci analysis of egg and meat production traits in a red junglefowl x White Leghorn cross. *Animal Genetics*. **2006**. 37, 529-534.
265. Wright, S. Genetis of abnormal growth in the guinea pig. *Cold Spring Harbor Symposia Quantitative Biology*. **1934**. 2, 137-147.
266. Xu, S. A comment on the simple regression method for interval mapping. *Genetics*. **1995**. 141, 1657-1659.
267. Xu, S., and W. R. Atchley. Mapping quantitative trait loci for complex binary diseases using line crosses. *Genetics*. **1996**. 143, 1417-1424.
268. Zeng, F., L. Xie, X. Pang, W. Liu, Q. Nie, and X. Zhang. Complementary deoxyribonucleic acid cloning of avian G0/G1 switch gene 2, and its expression and association with production traits in chicken. *Poultry Science*. **2011**. 90, 1548-1554.
269. Zeng, Z. B. Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics*. **1994**. 136, 1457-1468.
270. Zeng, Z. B., C. H. Kao, and C. J. Basten. Estimating the genetic architecture of quantitative traits. *Genetical Research*. **1999**. 74, 279-289.
271. Zhang-Barber, L., A. K. Turner, and P. A. Barrow. Vaccination for control of *Salmonella* in poultry. *Vaccine*. **1999**. 17, 2538-2545.
272. Zhang, W., and S. E. Aggrey. Genetic variation on feed utilization efficiency of meat-type chickens. *World's Poultry Science Journal*. **2003**. 59, 328-339.

273. **Zhou, H., and S. Lamont.** Association of transforming growth factor beta genes with quantitative trait loci for antibody response kinetics in hens. *Animal Genetics*. **2003**. 34, 275-282.
274. Zongo, P., A.-F. Viet, P. Magal, and C. Beaumont. 2010a. A model of spatio-temporal propagation of *Salmonella* considering the animal immune response in European Poultry Conference, Tours, France.
275. **Zongo, P., A.-F. Viet, P. Magal, and C. Beaumont.** A spatio-temporal model to describe the spread of *Salmonella* within a laying flock. *Journal of Theoretical Biology*. **2010b**. 267, 595-604.

Annexes

Annexe 1 - Genetic variability of FCR with suboptimal food and prospects for selection

Mignon-Grasteau S.^{1,x}, Narcy A.¹, Tran S.T.¹, de Verdal H.², Bastianelli D.³, Juin H.⁴, Carré B.¹

XXIV World's Poultry Congress, Bahia, Brazil 5 -9 August 2012

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

² CIRAD, UMR INTREPID, Campus de Baillarguet, TA C-18/A, 34398 Montpellier cedex 05, France

³ CIRAD, UMR SELMET, Laboratoire d'alimentation Animale, Campus de Baillarguet, TA C-112/A, 34398 Montpellier cedex 05, France

⁴ INRA, UE EASM, Domaine du Magneraud, BP52, 17700 Surgères, France

^x Corresponding author : sgrasteau@tours.inra.fr

Abstract

Feed cost represents a high part of production cost in chickens. So, feed efficiency is a key factor of poultry production profitability. Genetic selection of standard broiler chickens has resulted in a huge decrease in feed conversion ratio. Nowadays, as high quality feedstuffs price and human population both increase, there is a growing interest in improving efficiency of birds on alternative diets, for economical and ethical reasons. These diets could include low cost feedstuffs or by products of agriculture that are not consumed by humans. However, these alternative diets often show low and variable quality. Moreover, this approach is a kind of challenge since selection is usually made on high quality diets in order to express the growth genetic potential of modern genotypes. This review aims at evaluating the potential interest in using alternative and lower quality diets in a selection for feed efficiency, keeping in mind that the diet quality may interact with the selection criteria used to reach this goal.

Introduction

Feed cost represents the highest part of the production cost of meat-type chickens, from 55 to 65 % depending on the production type (Riffard et al, 2011). Therefore, feed efficiency is a

key factor in the profitability of poultry rearing. The selection of rapid growing broilers for 3 decades resulted in a continuous decrease of feed conversion ratio in these birds, as shown in Figure 1. The “certified chickens” that result from a cross between a standard broiler sire and a slow-growing dam also show such a tendency (Figure 1). However, no decrease in feed conversion ratio is observed for slow growing “label rouge” chickens (Figure 1) (Riffard et al, 2011).

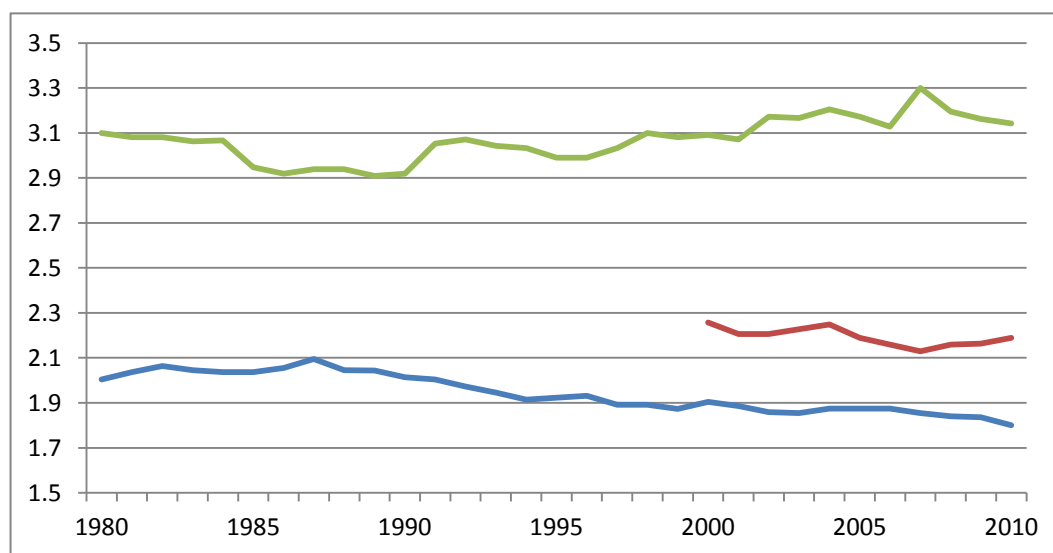


Figure 1. Evolution of feed conversion ratio of broilers (blue curve), certified chickens (red curve) and “label rouge” chickens (green curve) in France since 1980 (Riffard et al, 2011).

Nowadays, the importance of feed efficiency has been reinforced for economic and ethical reasons. Feed price, especially for the high quality diets required for modern genotypes, is still increasing. For example, in France in 2010, feed price was 9.1% and 30.9% than in 2009 and 2006, respectively (Riffard et al, 2011). These prices become limiting for the development of production in developing countries which have to import these feedstuffs and cannot achieve maximum performances due to environmental constraints as hot and humid climate (Farrell, 2005). Simultaneously, the increase of human population leads to an increased demand for poultry products, which in turn increases the demand for the high quality feedstuffs used in poultry diets. From an ethical point of view, it is important to be able to reduce the pressure of animals on cultivated surfaces, as 80% of cultivated surfaces are used to provide resources to animals and only 20% to humans (Steinfeld et al, 2006). To reach this goal, it would be interesting to replace part of the high quality feedstuffs used in poultry diets by other feedstuffs, especially those that cannot be consumed directly by humans. However, these products often show a poor and variable quality, and may not be adapted to modern

genotypes. Thus, it would be needed to select for chickens that would be adapted to such suboptimal diets.

A. Composition of feed efficiency traits

Feed conversion ratio (FCR) (feed intake / weight gain) is a composite trait depending on compositions of feed and body growth. It can be modeled as follows (Carré et al, 2008a; Carré and Mignon-Grasteau, 2009):

$$FCR = \frac{119 D \frac{MBW}{PW} + 9.36 C_L + 5.66 C_p}{0.8 AMEn} \quad [1]$$

where D is the duration of production, MBW the mean metabolic weight (i.e. mean body weight raised to the power 0.70), PW the production weight, C_L and C_p the lipid and protein concentrations of production, and AMEn the apparent metabolizable energy value of diet, corrected to zero nitrogen retention.

This equation illustrates why rapid growth and body composition have often been used as selection criteria to improve feed efficiency. Direct selection has also been performed but more scarcely, as it implies to measure individual feed intake, i.e. to place animals in individual cages. Fairfull and Chambers (1984) estimated that 65% of the differences in FCR originated from differences in weight, growth rate and body composition.

B. Selection for improved FCR

B.1. Direct selection for FCR

Direct selection on FCR is possible as this trait present a moderate to high heritability (Pym, 1990). It has been confirmed by selection experiments on this trait. Leenstra and Pit (1987) and Sutedjo et al (2001) showed that direct selection on FCR was more efficient to reduce FCR than selection on fatness or growth and that this selection also led to leaner birds. However, all these experiments have been done using standard diets in order to allow birds to express their genetic potential for growth, and did not try to show adaptability to poorer quality diets.

B.2. Indirect selection on growth under suboptimal environment

Godfrey (1968), Neisheim (1975), Sorensen (1980) and Marks (1978) selected broilers or quails for growth under normal or 30% reduced protein rate, or low arginine or lysine content. Marks (1987) selected quails for growth under normal or high salt diet (0.4 vs 1.6%). Finally,

Leenstra and Pit (1987) selected chickens for growth under ad libitum or feed restricted conditions.

All these studies found that the response to selection for growth was lower in the suboptimal environment than in the normal environment. In the feed restricted environment, Leenstra and Pit (1987) had to apply a selection pressure twice as high as in the ad libitum environment to obtain similar responses in both environments. Without no difference in selection intensity, Sorensen (1980) found lower response to selection for body weight at 40 d in the line selected on low protein diet (LP) than in the line selected on normal protein diet (NP) after 7 generations of selection (+ 80 g vs +250 g). When both lines were fed the normal protein diet, the NP line was 75 g heavier than the LP line (Sorensen, 1985). At the opposite, when fed with reduced protein content, the LP line was 180 g heavier than the NP line. So, this strategy did not improve adaptability to suboptimal diets, but adaptation to a special diet. Moreover, when the protein rate decreased too much, the line selected on low protein content became extremely variable.

These results are consistent with the fact that heritability of growth traits is 0.05 to 0.10 points lower in the unfavorable environments than in the favorable environments (Godfrey, 1968; Marks, 1986, 1987).

Finally, this selection on growth in unfavorable environment had a negative effect on body composition and on efficiency. Indeed, as protein but not energy content was modified, birds increased their feed consumption to meet their protein requirements. For example, the quail line selected on growth with a low lysine diet consumed 11 to 13% more than the line selected on adequate lysine content when fed a diet with low lysine content (Godfrey, 1968), but the difference of feed intake vanished when they were both fed an adequate diet. The excess of energy consumption is deposited as fat, which could be deduced from equation [1] (Carré et al, 2008a). So, the LP line had 17% more total fat and 37% more abdominal fat than the NP line when both lines were fed a standard commercial diet, 25% more total fat and 60% more abdominal fat when they were fed a restricted protein diet (Sorensen, 1980). When fed a normal diet, the LP line had a higher FCR (+0.05), lower digestibility of dry matter (-1.3%) and a lower proportion of nitrogen retention (-6.4%, Sorensen et al, 1983).

B.3 Indirect selection on digestive efficiency

It has long been argued that digestive efficiency was not controlled by genetics as differences between breeds were low and as birds were already very efficient (Neishem, 1975; Pym, 1990). However, Carré et al (2002) compared different varieties of wheat used in poultry

diets, and observed that the variability of metabolizable energy of diets was much lower between wheat varieties (around 300 kcal.kg⁻¹ DM) than between animals within a variety (around 900 kcal.kg⁻¹ DM) (cf. Figure 2). More recently, Bandengan et al (2009) also stated that the variability of ileal digestibility of proteins and amino acids was much higher between animals than between diets, even when using highly variable feedstuffs such as DDGS. For instance, the proportion of total variability of amino acids digestibility explained by the diet was ranging between 4.9% for phenylalanine to 24.1% for lysine (9.2% for total crude proteins), whereas variability due to animals within a diet represented respectively 95.1%, 75.9%, and 90.8% for phenylalanine, lysine and total crude proteins.

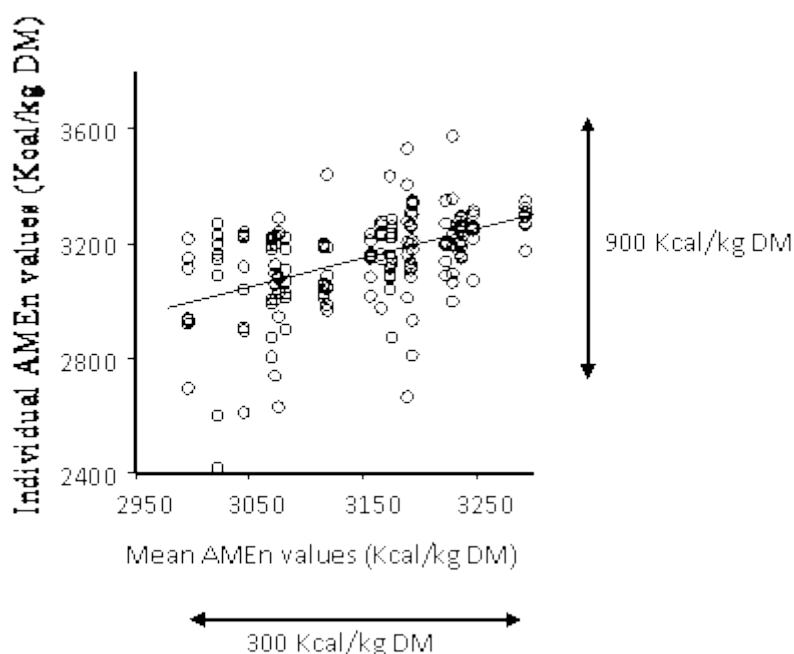


Figure 2. Variability of AMEn of wheat diets between wheat varieties and between animals within a wheat variety (after Carré et al, 2002).

Mignon-Grasteau et al (2004) showed that digestive efficiency of broilers was heritable when birds were fed a challenging diet containing 50% wheat from the Rialto variety, which is especially difficult to be digested because of its hardness and its high viscosity (Carré et al, 2002). The genetic basis of digestibility was confirmed by a divergent selection experiment on AMEn using this challenging diet. After 8 generations of selection, AMEn of the Rialto wheat diet differed by 35 to 40% between the high (D+) and low (D-) line (Mignon-Grasteau et al, 2010; de Verdal et al, 2010, 2011a). This AMEn divergence was associated with a much lower excretion of nitrogen and phosphorus in D+ than in D- birds (de Verdal et al, 2011b). On the 7th generation with the same diet, digestibilities of starch, proteins and lipids were also

42 %, 15 %, and 50 % higher in D+ than in D- line (Carré et al, 2008b). D+ birds also had 6.2 to 8.7 % higher AMEn and a 17.6% lower excretion rate of nitrogen and phosphorus when compared to commercial broiler genotypes on wheat (Carré et al, 2008a; de Verdal, 2011). When birds were fed diets easier to digest (i.e. based on corn and soybean), differences were still observed between D+ and either D- or commercial broiler birds, but were largely reduced, ranging between 2.5 and 5 % for AMEn (Carré et al, 2008a; Mignon-Grasteau et al, 2010). These differences in digestive efficiency were associated with a smaller intestine, a bigger gizzard (Garcia et al, 2007; Rougière et al, 2009; de Verdal et al, 2010, 2011a), and a longer gizzard retention time (Rougière and Carré, 2010) in D+ than in D- birds. So, gizzard physiology seems to be involved in the differences between D+ and D- lines, as reported by a study on gizzard motility showing a higher responsiveness of gizzard to environment variations in D+ than in D- birds (Rougière et al, 2012). In agreement with this statement, genetic correlations between AMEn and relative weights of gizzard and proventriculus were observed to be rather high (0.43 and 0.59, respectively) (de Verdal et al, 2011a).

Various studies performed on these birds indicated that performances of D+ birds depended less on characteristics of diets than D- birds (Carré et al, 2008a; Rougière et al, 2009) and that, in contrast with a selection on growth in suboptimal environment, selection on AMEn led to more adaptable birds. These results are consistent with the strong and positive genetic correlations obtained between digestibility traits on corn or on wheat diets, which ranged from 0.67 for digestibility of starch to 0.88 for digestibility of proteins. This implies that selection on digestive efficiency on one diet would also improve performances on the other diet. However, progress would be more efficient if selection was made on wheat, as, except for starch, heritability of digestibility is much higher with wheat than with corn diet: respectively 0.32 and 0.15 for AMEn, 0.28 and 0.26 for starch, 0.25 and 0.04 for lipids, 0.29 and 0.09 for proteins (Mignon-Grasteau et al, 2010). Again, at the opposite to selection on growth in suboptimal environment, the D+ and D- lines did not show significant differences in fatness at market age (de Verdal, 2011).

C. Genomic data on FCR

C.1. QTL detection

Despite the importance of FCR for poultry production, very few QTLs have been detected on FCR. In pigs for example, Rotschild et al (2007) stated that on 1675 QTL that had been detected, only 8 were detected on feed efficiency, as compared to 16, 224, and 404 for feed

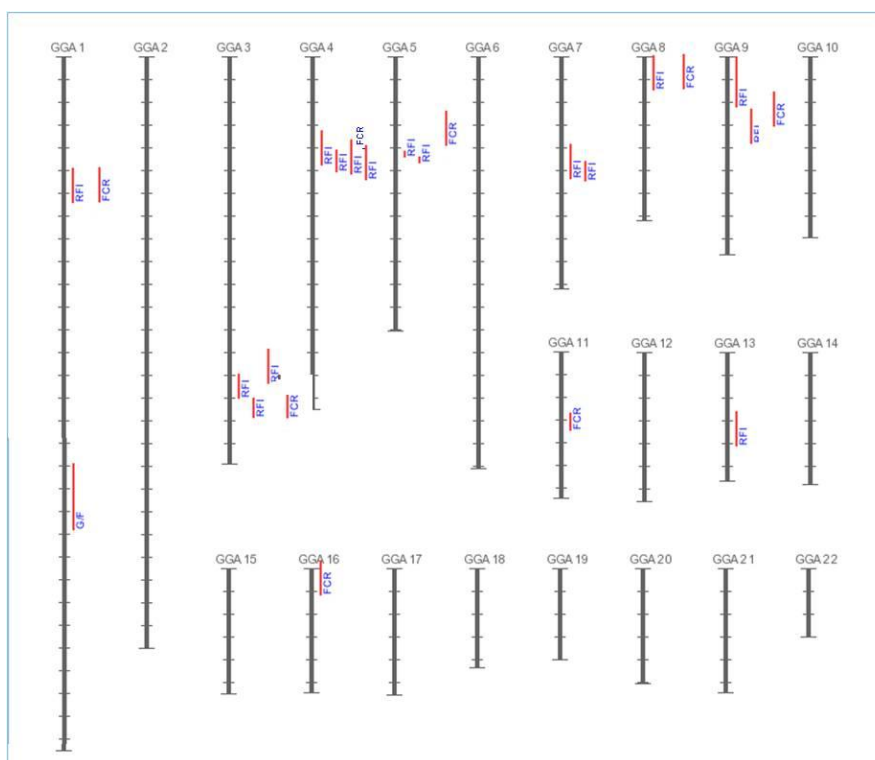


Figure 3. QTL detected on feed efficiency (FE), feed conversion ratio (FCR) and residual feed intake (RFI) in chickens and laying hens (www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb, 02/25/2012).

intake, growth and fatness. Similarly, on 2736 QTL detected until now in poultry (laying hens and growing chickens), only 25 are related to feed efficiency traits (cf. Figure 3), coming from 5 studies, among which none detailed the diet used in the experiment (de Koning et al, 2003, 2004; Parsanejad et al, 2004; Hansen et al, 2005; Ewald et al, 2007). Most studies that were looking for QTL on populations differing by their feed efficiency finally found QTL on components of feed efficiency, mainly feed intake and body composition (Hocking, 2005, Abasht et al, 2006). None of them were performed on a challenging diet.

Regarding performances on low quality diet, a QTL detection program has been initiated using a F2 cross between the D+ and D- lines fed a diet including 55% of Rialto wheat. A total of 945 animals have been genotyped on 6000 SNPs and the 864 F2 birds were measured for digestibility, performances and anatomy. The first analyses show the existence of several QTLs, which in most cases co-localized for AMEn, digestibility of dry matter, starch and proteins.

C.2. Candidates genes and expression data

Parsanejad et al (2002, 2004) proposed that PEPCK-C and ornithine decarboxylase 1 may be involved in residual feed intake of adult laying hens. The former is part of the process of glucose generation from non-sugar carbon substrates. The latter is implied on efficiency of

nutrient absorption including calcium. More recently, studies found in broilers that FCR was correlated with SNP variations in genes regulating metabolism and energy partitioning (growth hormone receptor or neuropeptide Y, Sherman et al, 2008), genes implied in thermogenesis and proton leak (avian uncoupling protein, Sharma et al, 2008, Bottje et al, 2009) or in energy homeostasis and feeding behaviour (melanocortin 3 receptor, Sharma et al, 2008). By comparing expression of genes between high and low FCR chickens, differences have been detected in genes implied in the regulation of mitochondrial energy metabolism (Ojano-Dirain et al, 2007), and in heat shock protein involved in oxidative stress (Kong et al, 2011).

D. Perspectives for selection with suboptimal diets

D.1. Variability of feedstuffs

Variability in the quality of feedstuffs may be a problem in estimating the potential of genetic improvement of feed efficiency on alternative diets as it does not allow a reproducible selection environment. It is especially the case of byproducts such as bran or DDGS, that highly depend on the raw material composition and technological process (drying, milling, addition of solubles). For instance, Ravindran and Blair (1991) highlighted that the machinery used for milling rice affects the proportion of hulls in the rice bran, which fiber and fat contents can vary respectively from 12.6% to 30.9% and from 6.6 to 31.6%. Bandegan et al (2009) also showed that depending on feedstuff sample, apparent ileal digestibility of essential amino acids as lysine and threonine varied from 24.4 to 45.7% and from 48.2 to 60.9%, respectively.

It is often claimed that selection efficiency is decreased when environment, including diet, is suboptimal, because variance due to the environment increases and heritability, and thus possibilities of selection, decreases. Indeed, if selection is done on maximum growth, the animal needs an optimized environment to fully express its genetic potential for growth. This is especially true for modern genotypes, since their rapid growth and high protein deposition rate require a high quality diet. However, if the criterion of interest is the robustness of animals in a difficult environment, it is precisely in a difficult environment that the capacity of animals to cope with difficulty will be expressed. The high positive genetic correlations found between capacities to digest wheat and corn diets (Mignon-Grasteau et al, 2010) show that improving performances in a difficult (wheat) environment would also improve performances in a more favorable (corn) environment. Sorensen (1980) found a much lower genetic correlation (0.30) between broiler growth obtained on a normal or a low protein diet,

but in their case, the low protein diet was really out of requirement, which could partly explain this very low correlation.

D.2. Criterion of selection

Criterion of selection has to be chosen carefully when selecting on improved feed efficiency on low quality diets. Results from Sorensen et al (1980, 1983) showed that selection for growth of birds fed diets with low protein contents would lead to increased feed consumption and fatness, whereas selection on digestive efficiency with a wheat diet does not increase neither feed consumption nor fatness in the high line (Mignon-Grasteau et al, 2004, 2010). Thus, when suboptimal diets are considered, selection criteria such as digestive efficiency (AMEn or digestibility of dry matter) seems to be more appropriate than the growth criteria. Attention has also to be given to age at selection. Indeed, the development of gastrointestinal tract is strong in the first weeks of age, which increases the chances of success when selecting at this age. Birds of D+ and D- lines were selected at 3 weeks of age. The differences between both lines for development of gastrointestinal tract and for digestive efficiency appear after one week, are maximal at 3 weeks and decrease or disappear at 8 weeks (de Verdal, 2011).

D.3. Homogeneity of results

When selection is performed in a difficult environment, attention has also to be given to homogeneity of performances in addition to the mean value. Data collected on several generations of D+ and D- lines showed that the coefficients of variation of AMEn, coefficients of digestibility of starch and proteins were diet dependent in D- line but not in D+ line. Coefficient of variation of lipid digestibility was diet dependent in both lines (cf. Table 1, Mignon-Grasteau et al, 2010).

However, it is worthy to note that, in most studies on digestibility or feed efficiency using suboptimal or alternative diets, only the global standard error of the mean is given in studies, which does not allow to see whether variance is modified in each treatment.

	Corn diets				Wheat diets			
	D+		D-		D+		D-	
	mean	CV (%)	mean	CV (%)	mean	CV (%)	mean	CV (%)
AMEn (kcal.kg ⁻¹ DM)	3298	6.6	3063	7.3	3247	8.6	2411	26.5
Digestibility of lipids (%)	90.9	3.1	84.6	11.2	83.0	12.0	68.6	26.2
Digestibility of starch (%)	97.9	0.9	96.8	2.0	96.1	3.6	87.4	14.2
Digestibility of proteins (%)	83.1	4.8	78.6	6.7	77.4	6.0	68.1	11.7

Table 1. Effect of the diet on mean value and on homogeneity of digestive performances in D+ and D- lines.

Conclusions

This review shows that selection for improved feed gain ratio using challenging or alternative diets is efficient, provided that conditions, age, and especially criterion of selection are appropriate. It is especially obvious that, in suboptimal conditions, a selection on growth is less suitable than a selection on digestive efficiency. Finally, in addition to an improved average value in selected populations, another goal that has to be reached for selection in such environments is homogeneity of population, which is a major factor of profitability of poultry breeding.

References

- Abasht B., Dekkers J.C.M., Lamont S., 2006. Review of Quantitative Trait Loci Identified in the Chicken. *Poultry Science*, 85, 2079–2096.
- Bandegan A., Guenter W., Hoehler D., Crow G.H., Nyachoti* C.M., 2009. Standardized ileal amino acid digestibility in wheat distillers dried grains with solubles for broilers. *Poultry Science*, 88, 2592-2599.
- Bottje W., Brand M.D., Ojano-Dirain C., Lassiter K., Toyomizu M., Wing T., 2009. Mitochondrial proton leak kinetics and relationship with feed efficiency within a single genetic line of male broilers. *Poultry Science*, 88, 1683-1693.
- Carré B., Mignon-Grasteau S., 2009. Understanding and breeding for improved poultry feed efficiency. *Proc. 58th Annual Breeders Roundtable, St Louis, 7-8/05/2009*.
- Carré, B., A. Idi, S. Maisonnier, J. P. Melcion, F. X. Oury, J. Gomez, and P. Pluchard. 2002. Relationships between digestibilities of feed components and characteristics of wheat (*Triticum aestivum*) introduced as the only cereal source in a broiler chicken diet. *British Poultry Science* 43, 404–415.
- Carré B., Mignon-Grasteau S., Juin H., 2008a. Breeding for feed efficiency and adaptation to feed in poultry. *World's Poultry Science Journal*, 64: 377-390.
- Carré B., Mignon-Grasteau S., Besnard J., Rougière N., Juin H., Bastianelli D., 2008b. The D+ and D- “Digestion” chicken lines selected for divergent digestion efficiency on a wheat-based diet. In : 23th World's Poultry Congress; Brisbane (Australia); 2008/06/30-07/04, CD : 8 pages. WPSA, Brisbane (Australia).
- Cozannet P., Lessire M., Gady C., Metayer J.P., Primot Y., Skiba F., Noblet J., 2010. Energy value of wheat dried distillers grains with solubles in roosters, broilers, layers, and turkeys. *Poultry Science*, 89, 2230-2241.
- de Koning, D J; Windsor, D; Hocking, P M; Burt, D W; Law, A; Haley, C S; Morris, A; Vincent, J; Griffin, H, 2003. Quantitative trait locus detection in commercial broiler lines using candidate regions. *Journal of Animal Science*, 81, 1158-1165.
- de Koning, D J; Haley, C S; Windsor, D; Hocking, P M; Griffin, H; Morris, A; Vincent, J; Burt, D W., 2004. Segregation of QTL for production traits in commercial meat-type chickens. *Genetical Research*, 83, 211-220.
- de Verdal H., Mignon-Grasteau S., Jeulin C., le Bihan-Duval E., Leconte M., Mallet S., Martin A., Narcy A., 2010. Digestive tract measurements and histological adaptation in broiler lines selected for digestive efficiency. *Poultry Science*, 89, 1955-1961.

- de Verdal H., 2011. Possibility of reduction of excretion in chicken by genetic selection. PhD, University of Tours, 327 pp.
- de Verdal, H., A. Narcy, D. Bastianelli, H. Chapuis, N. Mème, S. Urvoix, E. Le Bihan-Duval and S. Mignon-Grasteau 2011a. Improving the efficiency of feed utilization in poultry by selection. 1. Genetic parameters of anatomy of the gastro-intestinal tract and digestive efficiency. *BMC Genetics* 12, 59.
- de Verdal, H., A. Narcy, D. Bastianelli, H. Chapuis, N. Mème, S. Urvoix, E. Le Bihan-Duval and S. Mignon-Grasteau 2011b. Improving the efficiency of feed utilization in poultry by selection. 2. Genetic parameters of excretion traits and correlations with anatomy of the gastro-intestinal tract and digestive efficiency. *BMC Genetics* 12, 71.
- Ewald SJ, Ye X, Avendano S, McLeod S, Lamont SJ, Dekkers JC, 2007. Association of BF2 alleles with antibody titres and production traits in commercial pure line broiler chickens. *Anim Genet*, 38, 174-176.
- Fairfull R.W., Chambers J.R., 1984. Breeding for feed-efficiency – poultry. *Canadian Journal Of Animal Science*, 64, 513-527.
- Farrell, D.J., 2005. Matching poultry production with available feed resources: issues and constraints. *World's Poultry Science Journal*, 61, 298-307.
- García V., Gomez J., Mignon-Grasteau S., Sellier N., Carré B., 2007. Effects of xylanase and antibiotic supplementations on the nutritional utilization of a wheat diet in growing chicks from genetic D+ and D- lines selected for divergent digestion efficiency. *Animal* 1: 1435-1442.
- Godfrey E.F., 1968. Ten generations of selection for lysine utilization in Japanese quail. *Poultry Science*, 47, 1559-1565.
- Hansen C, Yi N, Zhang YM, Xu S, Gavora J, Cheng HH., 2005. Identification of QTL for production traits in chickens. *Animal Biotechnology* 16, 67-79.
- Hocking P., 2005. Review of QTL mapping results in chickens. *Worlds Poultry Science Journal*, 61, 215-226.
- Kong B.W., Song J.J., Lee J.Y., Hargis B.M., Wing T., Lassiter K., Bottje W., 2011. Gene expression in breast muscle associated with the efficiency in a single male broiler line using a 44K oligo microarray. I. Top differentially expressed genes. *Poultry Science*, 90, 2535-2547.
- Leenstra F., Pit R., 1987. Fat deposition in a broiler sire strain. 2. Comparisons among lines selected for less abdominal fat, lower feed conversion ratio, and higher body weight after restricted or ad libitum feeding. *Poultry Science*, 66, 193-202.
- Marks H.L., 1978. Long term selection for four week body weight in Japanese quail under different nutritional environments. *Theoretical and Applied Genetics*, 52, 105-111.
- Marks H.L., 1987. Selection for 8-week body weight in normal and dwarf chickens under different water/feed environments. *Poultry Science*, 66, 1252-1257.
- Mignon-Grasteau S., Muley N., Bastianelli D., Gomez J., Péron A., Sellier N., Millet N., Besnard J., Hallouis J.M., Carré B., 2004. Heritability of digestibilities and divergent selection for digestion ability in growing chicks fed a wheat diet. *Poultry Science*, 83, 860-867.
- Mignon-Grasteau S., Juin H., Sellier N., Bastianelli D., Gomez J., Carré B., 2010. Genetic Parameters of Digestibility of Wheat- or Corn-Based Diets in Chickens. *Proceedings of the 9th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production, Leipzig, 01-06/08/2010.*
- Neisheim M.C., 1975. Genetic Variation in Nutritional Requirements of Poultry. In : *The Effect of Genetic Variance on Nutritional Requirements of Animals*, National Academy of Sciences, Washington, D.C., 47-87.

- Ojano-Dirain C., Toyomizu M., Wing T., Cooper M., Bottje W.G., 2007. Gene expression in breast muscle and duodenum from low and high feed efficient broilers. *Poult. Sci.*, 86, 372-381.
- Parsanejad R., Zadworny D., Kuhnlein D., 2002. Genetic variability of the cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase gene in white leghorn chickens. *Poultry Science*, 81, 1668-1670.
- Parsanejad, R; Praslickova, D; Zadworny, D; Kuhnlein, U, 2004. Ornithine decarboxylase: haplotype structure and trait associations in White Leghorn chickens. *Poultry Science*, 83, 1518-1523.
- Pym R.A.E., 1990, Nutritional genetics. In poultry breeding and genetics, R. D. Crawford (ed.), Elsevier, Amsterdam, 847,876.
- Ravindran V., Blair R., 1991. Feed resources for poultry production in Asia and the Pacific region. I. Energy sources. *World's Poultry Science Journal*, 47, 213-231.
- Riffard C., Gallot S., Magdelaine P., 2011. Performances techniques et coûts de production en volailles de chair, poulettes et pondeuses. Résultats 2010. Technical Report, ITAVI, 57 pp.
- Rotshchild M.F., Hu Z.L., Jiang Z., 2007. Advances in QTL mapping in pigs. *Int. J. Biol.Sci.*, 3, 192-196.
- Rougière N., Carré B., 2010. Comparison of gastrointestinal transit times between chickens from D+ and D- genetic lines selected for divergent digestion efficiency. *Animal* 4: 1861-1872.
- Rougière N., Gomez J., Mignon-Grasteau S., Carré B., 2009. Effects of diet particle size on digestive parameters in D+ and D- genetic chicken lines selected for divergent digestion efficiency. *Poultry Science*, 88, 1206-1215.
- Rougière N., Malbert C.-H., Rideau N., Cognié J., Carré B. 2012. Comparison of gizzard activity between chickens from genetic D+ and D- lines selected for divergent digestion efficiency. *Poultry Science*, 91, 460-467.
- Sharma P., Bottje W., Okimoto R., 2008. Polymorphisms in uncoupling protein, melanocortin 3 receptor, melanocortin 4 receptor, and pro-opiomelanocortin genes and association with production traits in a commercial broiler line. *Poultry Science*, 87, 2073-2086.
- Sherman E.L., Nkrumah J.D., Murdoch B.M., Moore S.S., 2008. Identification of polymorphisms influencing feed intake and efficiency in beef cattle. *Anim. Genet.*, 39, 225-231
- Sorensen P., 1980. Selection for growth rate in broilers fed on diets with different protein levels. *Proceedings of the 6th European Poultry Conference, Hamburg*, 2, 64-71.
- Sorensen P., Chwalibog A., Eggum B.O., 1983. Protein and energy metabolism in two lines of chickens selected for growth on high or low protein diets. *British Poultry Science* 24, 237-250.
- Sorensen, P. (1985) Influence of diet on response to selection for growth and efficiency. In: Hill, W.G., Manson, J.M. and Hewitt, D. (Eds) *Poultry genetics and breeding. Proceedings of the 18th Poultry Science Symposium*, pp. 85-95, Harlow, Roslin (UK): Longman group Ltd, British Poultry Science Ltd.
- Steinfeld H., Gerber P., Wassenaar T., Castel V., Rosales M., de Haan C., 2006 *Livestock's Long Shadow: environmental issues and options*. FAO, Rome, 390 pp.
- Sutedjo H., Knott L., Pym R.A.E., 2001. Selection for the components of lean tissue growth in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Proceedings of the Australian Poultry Science Symposium*, 13, 175-178.

Annexe 2 - Détection de QTLs contrôlant l'efficacité digestive dans un croisement de lignées de poulets sélectionnées de façon divergente pour ce caractère

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

Dixièmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, La Rochelle, du 26 au 28 mars 2013

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

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

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

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

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

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

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

^x Corresponding author: sgrasteau@tours.inra.fr

RESUME

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

En utilisant le logiciel QTLMap (développé à l'INRA) pour des analyses de liaison en cartographie d'intervalle, 9 QTL (locus de caractère quantitatif) ont été détectés. Sur le chromosome 20, deux QTL significatifs au niveau du génome ont été observés à la même position pour CUDAmidon et CUDMS, deux caractères fortement corrélés. De même, des QTLs significatifs au niveau du chromosome pour EMAn, CUDAmidon, CUDMS, CUDProtéines sont localisés dans la même région du chromosome 16. Sur les chromosomes 23 et 26, des QTLs significatifs au niveau du chromosome ont été identifiés pour CUDAmidon, celui porté par le chromosome 26

étant situé à 1 cM d'un QTL contrôlant le rapport de la longueur de l'intestin au poids vif détecté sur ce même dispositif. Sur le chromosome 27, un QTL significatif au niveau du chromosome est détecté pour CUDMS.

Mots clés: poulet, digestibilité, QTL, efficacité alimentaire.

SUMMARY

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

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

Keywords: chicken, digestibility, QTL, feed efficiency

INTRODUCTION

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

Afin de réduire le coût d'alimentation et d'améliorer l'efficacité alimentaire, poules pondeuses et poulets de chair ont été sélectionnés sur des caractères tels que l'indice de consommation ou la consommation alimentaire résiduelle (Pym, 1990; Bordas et Mérat, 1984; Katle et Koldstadt, 1991; Schulman *et al*, 1994). Plus récemment, il a été montré que sélectionner sur l'efficacité digestive permettait d'améliorer l'efficacité alimentaire (Mignon-Grasteau *et al*, 2004). Contrairement aux travaux

précédemment cités, cette dernière était réalisée avec un régime alimentaire difficile à digérer, à base de blé de variété Rialto. La digestibilité de l'énergie, des protéines, des lipides et des glucides (amidon) ont des héritabilités estimées entre 0.33 et 0.47. Suite à cette étude, une sélection génétique sur l'efficacité digestive a été effectuée à l'Unité de Recherches Avicoles de l'INRA. Le critère de sélection était la mesure, à 3 semaines, de l'énergie métabolisable apparente corrigée pour un bilan azoté nul (EMAn) d'un régime contenant 55% de blé de mauvaise qualité (variété Rialto). L'EMAn diffère de 30 à 40% entre les deux lignées divergentes de poulets bons digesteurs (D+) et mauvais digesteurs (D-) selon les expériences (Carré *et al*, 2008; de Verdal *et al*, 2010). Cette différence d'efficacité digestive est également observée pour l'amidon, les lipides et les protéines, dont les coefficients d'utilisation digestive sont plus élevés chez les D+ de 10%, 20% et 13%, respectivement (Mignon-Grasteau *et al*, 2010). Quand les animaux sont nourris avec un régime facile à digérer à base de maïs, ces différences sont plus faibles mais toujours

significatives pour l'EMAn et les coefficients d'utilisation digestive des lipides, 5 à 7% plus élevés chez les D+ que chez les D-. Au contraire, les deux lignées présentent des coefficients d'utilisation digestive de l'amidon similaires sur régime maïs (Mignon-Grasteau *et al*, 2010).

La mesure de l'efficacité digestive reste lourde et implique d'élever les animaux en cage, dans des conditions très différentes des conditions d'élevage réelles. Disposer de marqueurs génétiques impliqués dans la variabilité de ce caractère serait donc un outil précieux pour la sélection assistée par marqueurs. Or, malgré l'importance de l'efficacité alimentaire pour la production de volailles, très peu de QTL ont été détectés sur ce type de caractères. En effet, parmi les 2736 QTL publiés jusqu'à présent chez la poule, seulement 25 QTL sont liés aux caractères de l'efficacité alimentaire (www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb, 02/25/2012). Ces QTLs concernent l'indice de consommation (IC), la consommation résiduelle (CR) et l'efficacité alimentaire, mais aucun ne porte sur l'efficacité digestive. De plus, aucune de ces études ne mentionne la composition du régime (de Koning *et al*, 2003, 2004; Parsanejad *et al*, 2004; Hansen *et al*, 2005; Rowe *et al*, 2006; Ewald *et al*, 2007).

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

MATERIELS ET METHODES

Animaux et caractères mesuré

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

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

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

Marqueurs et génotypage

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

Analyses statistiques

La détection de QTLs a été réalisée avec le logiciel QTLMap (Gilbert *et al*, 2008), en utilisant un modèle demi-frères (Elsen *et al*, 1999; Le Roy *et al*, 1998). Les différents caractères ont été analysés séparément. Le rapport de la vraisemblance estimée sous l'hypothèse de présence d'un QTL (H1) à celle calculée sous l'hypothèse d'absence de QTL (H0) a été calculé pour conclure quant à la présence d'un QTL sur chaque chromosome. Les seuils de significativité au niveau du chromosome et du génome ont été estimés en réalisant respectivement 1000 et 20000 simulations par chromosome. Le niveau de significativité à l'échelle du génome (P_{génomique}) a été établi en utilisant la correction de Bonferroni et en prenant en compte les différences importantes de longueur entre les chromosomes chez le poulet :

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

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

RESULTATS

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

DISCUSSION ET CONCLUSION

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

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

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

Dans notre étude, nous ne retrouvons aucun des QTLs d'efficacité alimentaire précédemment identifiés (de Koning *et al*, 2003, 2004; Rowe *et al*, 2006; Parsanejad *et al*, 2004; Hansen *et al*, 2005; Ewald *et al*, 2007). Cela vient probablement en partie du fait que l'indice de consommation (IC) dépend de la vitesse de croissance, de l'engraissement et de l'efficacité digestive des animaux ; le lien entre efficacité alimentaire et digestive n'est donc que très partiel. De plus, ces travaux sont faits sur des animaux nourris avec des régimes alimentaires favorables, ne

sollicitant pas les capacités digestives des animaux. L'importance relative de l'efficacité digestive par rapport aux autres composants de l'indice (extra-chaleur, croissance et composition corporelle) est donc vraisemblablement plus faible avec ces régimes qu'avec le nôtre. Enfin, les populations étudiées dans ces autres dispositifs sont des souches à croissance rapide alors que nous avons étudié une souche à croissance intermédiaire. On peut cependant relever que cette différence de base génétique ne peut suffire pour expliquer la totale déconnexion entre QTL d'efficacité alimentaire et digestive puisque, même sur notre dispositif, il n'y a pas de co-localisation entre QTL d'efficacité alimentaire et QTL d'efficacité digestive (résultats non présentés ici).

La forte proximité, sur le chromosome 26, d'un QTL contrôlant le CUD de l'amidon et d'un QTL contrôlant la longueur relative de l'intestin détecté sur ce même dispositif rejoint le résultat de plusieurs études ayant montré que de fortes différences de morphologie du tractus gastro-intestinal accompagnaient ces différences d'efficacité digestive, avec un fort développement de la partie supérieure du tractus, et à l'inverse, un développement inférieur de l'intestin grêle chez les D+ par rapport aux D- (Garcia *et al*, 2007; Rougière *et al*, 2009; Rougière et Carré, 2010). Dans le même sens, de Verdal *et al* (2011) ont mis en évidence des corrélations génétiques fortes entre anatomie et efficacité digestive, notamment avec le poids de l'intestin.

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

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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

Tableau 2: Liste des QTLs détectés sur les caractères d'efficacité digestive.

Chromosome	Caractère	Position (cM)	I.C. ¹ (cM)	L.R.T. ²	Seuil de significativité ³	Effet du QTL ⁵	Marqueurs ⁶
16	EMAn	0	0-0	15,43	13,80	0,17	3
	CUDMS	0	0-0	16,57	14,00	0,18	
	CUDAmidon	0	0-0	15,01	13,92	0,16	
	CUDProtéines	0	0-0	18,53	14,42	0,20	
20	CUDMS	9	8-10	31,45	28,46 ⁴	0,40	76
	CUDAmidon	9	8-10	41,60	19,29 ⁴	0,57	
23	CUDAmidon	30	8-35	19,45	19,30	0,22	42
26	CUDAmidon	36	31-45	20,05	18,19	0,20	60
27	CUDMS	12	9-17	18,10	17,63	0,20	19

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

Annexe 3 - Variabilité génétique de l'efficacité alimentaire en régime suboptimal : perspectives pour la sélection

Sandrine Mignon-Grasteau^{1,x}, Agnès Narcy¹, Thanh-Son Tran¹, Hugues de Verdal², Denis Bastianelli³, Hervé Juin⁴, Bernard Carré¹

**Dixièmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, La Rochelle, du
26 au 28 mars 2013**

¹ INRA, UR83 Recherches Avicoles, F-37380 NOUZILLY

² CIRAD, UMR INTREPID, Campus de Baillarguet, TA C-18/A, F- 34398 MONTPELLIER
cedex 05

³ CIRAD, UMR SELMET, Laboratoire d'alimentation Animale, Campus de Baillarguet, TA
C-112/A, F- 34398 MONTPELLIER cedex 05

⁴ INRA, UE EASM, Domaine du Magneraud, BP52, F-17700 SURGERES

^x Corresponding author: sgrasteau@tours.inra.fr

RESUME

Le coût de l'aliment représente une part prépondérante des coûts de production du poulet. L'efficacité alimentaire est donc un élément clé de la rentabilité de la production avicole. La sélection génétique des poulets de chair a résulté en une amélioration considérable de l'indice de consommation, en utilisant des régimes de bonne qualité. De nos jours, alors que le prix des matières premières de bonne qualité et que la population humaine augmentent, l'intérêt d'une sélection d'animaux efficaces sur des régimes suboptimaux est renforcée, à la fois pour des raisons économiques et éthiques. Ces régimes pourraient inclure des matières premières moins chères ou des co-produits de l'agriculture qui ne sont pas consommés par l'homme. Cependant, ces matières premières alternatives sont souvent de qualité moindre et variable. Ce type d'approche représente un challenge pour la sélection qui repose d'ordinaire sur l'utilisation de régimes optimisés afin d'exprimer le potentiel génétique de croissance des animaux et pour minimiser les effets de l'environnement. Cette revue vise à évaluer l'intérêt potentiel de l'utilisation de régimes de moindre qualité pour la sélection de l'efficacité alimentaire.

ABSTRACT

Feed cost represents the highest part of production cost in broiler. Feed efficiency is thus a key factor of profitability in poultry production. Selection of broilers has resulted in a sharp decrease of feed conversion ratio, using good quality diets. Nowadays, as the cost of high quality feedstuffs used in poultry diets is continuously increasing and that human population increases, the interest of selection for more efficient birds even when using low quality feedstuffs is reinforced both for economic and ethical reasons. These diets could include less costly feedstuffs of by-products of agriculture that would not be in concurrency with human food. However, these feedstuffs are often of lower and more variable quality. This type of diet represents a challenge for genetic selection, which usually relies on optimal diets in order to allow birds to express their genetic potential for growth and to minimize the effects of environment. This review aims at evaluating the potential interest of selection under non-optimal diet to improve feed efficiency.

Mots clés: poulet, efficacité alimentaire, digestibilité, nutrition.

INTRODUCTION

L'aliment représente de 55 à 65% du coût de production selon le type de production (Riffard *et al*,

2011). L'efficacité alimentaire est donc un élément clé de la rentabilité de la filière avicole. La sélection d'animaux à croissance rapide a conduit à une diminution continue de l'indice de consommation des poulets standards. Les poulets certifiés montrent une tendance similaire, quoique moins marquée. En revanche, chez le poulet label, cette tendance n'est pas présente (Riffard *et al*, 2011).

L'importance de l'efficacité alimentaire est aujourd'hui renforcée pour des raisons économiques, mais également éthiques. Le coût de l'aliment, spécialement pour les régimes de haute qualité dont ont besoin les animaux à haut potentiel génétique augmente continuellement. Entre 2006 et 2010, ce coût a ainsi augmenté de 30.9% (Riffard *et al*, 2011). Ces prix peuvent devenir des facteurs limitants pour les pays en voie de développement qui doivent importer ces matières premières et ne peuvent parvenir à des performances maximales en raison de contraintes environnementales. Dans le même temps, l'augmentation de la population humaine conduit à une augmentation de la demande de viande de volailles, et donc des matières premières utilisées dans les régimes. D'un point de vue éthique, il est important de réduire la pression de l'élevage sur les surfaces cultivées, actuellement dédiées à 80% à l'alimentation animale contre seulement 20% pour l'alimentation humaine (Steinfeld *et al*, 2006). Pour atteindre cet objectif, il faudrait remplacer partiellement ces matières premières de haute qualité, notamment par celles qui ne sont pas utilisées pour l'alimentation humaine. Cependant, celles-ci sont fréquemment de qualité médiocre et variable, ce qui limite leur utilisation pour les génotypes modernes. Il serait donc opportun de sélectionner des animaux capables de s'adapter à ces régimes suboptimaux.

COMPOSITION DES CARACTERES D'EFFICACITE ALIMENTAIRE

L'indice de consommation (IC) est un caractère composite qui dépend de la composition de l'aliment et de la croissance. Il peut être modélisé ainsi (Carré *et al*, 2008a):

$$IC = \frac{119 D \frac{MBW}{PW} + 9.36 C_L + 5.66 C_P}{0.8 EMAn} \quad [1]$$

où D est la durée de production, MBW le poids métabolique, PW le gain de poids, CL et CP les concentrations en lipides et protéines du gain de poids et EMAn l'énergie métabolisable corrigée pour un bilan azoté nul.

Cette équation illustre pourquoi la croissance rapide et la composition corporelle ont été utilisées comme critères indirects d'amélioration de l'indice. La sélection directe a également été mise en œuvre, mais elle est plus complexe, car la mesure de l'IC implique l'enregistrement de la consommation alimentaire individuelle, et donc l'élevage en cage. Fairfull et Chambers (1984) ont estimé que 65% des différences

d'IC sont dues à des différences de poids, de croissance et de composition corporelle.

SELECTION SUR L'INDICE DE CONSOMMATION

Sélection directe de l'indice de consommation

La sélection directe de l'IC est possible du fait de son héritabilité modérée (Pym, 1990). Cela a été confirmé par des expériences de sélection sur ce caractère, qui ont en outre montré que la sélection directe était plus efficace qu'une sélection indirecte sur la croissance ou l'engraissement (Leenstra et Pit, 1987 ; Sutedjo *et al*, 2001). Cependant, toutes ces expériences ont été réalisées en utilisant des régimes de bonne qualité, permettant aux animaux d'exprimer leur potentiel génétique de croissance.

Sélection indirecte sur la croissance en environnement suboptimal

Godfrey (1968), Neisheim (1975), Sorensen (1980) et Marks (1978) ont sélectionné des poulets de chair et des cailles sur la croissance en utilisant soit des régimes classiques (NP) soit des régimes pauvres en protéines ou en lysine (LP, -30% par rapport au régime classique). Enfin, Leenstra et Pit (1987) ont sélectionné des poulets sur la croissance en les nourrissant *ad libitum* ou avec une restriction alimentaire.

Toutes ces études ont montré que la réponse à la sélection de la croissance était plus faible en environnement suboptimal qu'en environnement optimal, ce qui est cohérent avec les héritabilités, en général plus faibles de 0.05 à 0.10 en environnement défavorable (Godfrey, 1968; Marks, 1986, 1987). Ainsi, Leenstra et Pit (1987) ont dû appliquer une pression de sélection 2 fois plus importante pour les LP que pour les NP. En appliquant une pression similaire pendant 7 générations, la réponse à la sélection sur la croissance a été 3 fois plus importante chez les animaux NP par rapport aux LP (Sorensen, 1980). Lorsque les 2 souches sont nourries avec un régime normal, les NP sont 75 g plus lourds que les LP (Sorensen, 1985). En revanche, lorsqu'ils sont nourris avec un taux protéique réduit, les LP sont 180 g plus lourds que les NP. Cette stratégie n'a donc pas amélioré l'adaptation des animaux aux régimes suboptimaux, mais à un régime particulier. De plus, lorsque le taux protéique est trop réduit, les performances des LP deviennent extrêmement variables.

Enfin, cette sélection a eu un effet défavorable sur la composition corporelle et sur l'efficacité. En effet, comme seul le taux protéique a été modifié dans le régime (et pas l'énergie), les oiseaux augmentent leur consommation alimentaire pour atteindre leurs besoins protéiques. Ainsi, la lignée de cailles sélectionnée sur la croissance avec un régime à taux réduit de lysine consomme 11 à 13% de plus que celle sélectionnée en régime normal lorsque le régime à un taux réduit de lysine, mais les différences disparaissent avec un régime normal (Godfrey, 1968).

Cet excès de consommation est déposé sous forme de gras, ce que l'on peut déduire de l'équation [1]. Ainsi, les LP ont un engraissement total et abdominal plus élevé que les NP de respectivement 17 et 37% lorsqu'ils sont nourris avec un régime commercial, mais ces écarts montent à 25 et 60% lorsqu'ils sont nourris avec un régime carencé (Sorensen, 1980). Les LP ont un IC plus élevé de 0.05 points, une digestibilité de la matière sèche et une rétention azotée plus faibles (-1.3 et -6.4% respectivement, Sorensen *et al*, 1983).

Sélection indirecte sur l'efficacité digestive

On a longtemps pensé que l'efficacité digestive n'était pas héritable et que les différences entre souches étaient faibles chez des animaux déjà très efficaces (Neisheim, 1975; Pym, 1990). Cependant, Carré *et al* (2002) ont montré que la variabilité entre animaux nourris avec des régimes à base de blé était plus forte que la variabilité entre variétés de blé (environ 900 et 300 kcal.kg⁻¹ MS). Plus récemment, Bandengan *et al* (2009) ont également constaté que la variabilité de digestibilité iléale des protéines et des acides aminés variait plus fortement entre animaux qu'entre régimes, même en utilisant des matières premières aussi variables que les drèches. Ainsi dans cette étude, la variabilité de la digestibilité des acides aminés est due pour 4.9 à 24.1% au régime, et pour 75.9 à 95.1% aux animaux intra-régime.

Mignon-Grasteau *et al* (2004) ont montré que l'efficacité digestive était héritable lorsque les animaux étaient nourris avec un régime contenant 50% de blé Rialto, difficile à digérer en raison de sa dureté et de sa viscosité élevées (Carré *et al*, 2002). Après 8 générations de sélection divergente, l'efficacité digestive (EMAn) diffère de 35 à 40% entre les lignées haute (D+) et basse (D-, Mignon-Grasteau *et al*, 2010; de Verdal *et al*, 2010, 2011a). Après 7 générations, les digestibilités de l'amidon, des protéines et des lipides sont plus élevées chez les D+ que chez les D- (42%, 15% et 50%, resp., Carré *et al*, 2008b). Sur régime blé, les D+ présentent une EMAn de 6.2 à 8.7 % plus élevée et un taux d'excrétion d'azote de 17.6% plus faible par rapport à un génotype commercial (Carré *et al*, 2008a; de Verdal *et al*, 2012). Sur régime maïs, les différences entre D+ et D- persistent mais sont très réduites, de 2.5 à 5% pour l'EMAn (Carré *et al*, 2008a; Mignon-Grasteau *et al*, 2010). Ces différences sont associées à un intestin grêle plus petit et à un gésier plus gros chez les D+ (Garcia *et al*, 2007; Rougière *et al*, 2009; de Verdal *et al*, 2010, 2011a), ces derniers présentant également un temps de rétention dans le gésier beaucoup plus élevé (Rougière et Carré, 2010). La physiologie du gésier semble donc être impliquée dans les différences entre D+ et D-, celui-ci étant plus sensible aux variations de l'environnement chez les D+ (Rougière *et al*, 2012).

Les différentes études menées sur ces souches montrent que les performances des D+ dépendent moins des caractéristiques de l'aliment que les D- (Carré *et al*, 2008a; Rougière *et al*, 2009) et que, par

opposition aux expériences de sélection sur la croissance en environnement suboptimal, la sélection sur l'EMAn a conduit à des animaux plus adaptables sans affecter l'engraissement (de Verdal *et al*, 2012). Enfin, les fortes corrélations génétiques entre caractères d'efficacité digestive mesurés sur blé ou sur maïs montrent que sélectionner dans un milieu améliorerait les performances dans les 2 milieux, mais que la sélection serait plus efficace sur régime blé, ou l'hérabilité est plus élevée que sur régime maïs (Mignon-Grasteau *et al*, 2010).

DONNEES GENOMIQUES DE L'EFFICACITE ALIMENTAIRE

Détection de QTL

Malgré l'importance de l'efficacité alimentaire pour la production de volailles, très peu de QTL ont été reportés pour ces caractères. Chez le porc par exemple, Rotschild *et al* (2007) ont constaté que sur 1675 QTL détectés, seuls 8 l'étaient pour l'IC, contre 16, 224, et 404 pour la consommation, la croissance et l'engraissement. De même chez les volailles, seuls 25 des 2736 QTL détectés se réfèrent à l'efficacité alimentaire (de Koning *et al*, 2003, 2004; Parsanejad *et al*, 2004; Hansen *et al*, 2005; Ewald *et al*, 2007). La plupart des études recherchant des QTLs d'IC ont ainsi trouvé des QTLs se référant aux composants de cet IC (Hocking, 2005, Abasht *et al*, 2006). Aucune de ces études n'a été réalisée sur régime difficile. A l'opposé, l'étude de Tran *et al* (2013) a montré l'existence de QTL d'efficacité digestive sur un régime difficile, mais de même que pour l'IC, ce sont principalement des QTLs des composants de l'efficacité digestive qui ont été détectés.

Gènes candidats et données d'expression

Parsanejad *et al* (2002, 2004) ont suggéré que les gènes PEPCK-C et l'ornithine décarboxylase 1 seraient impliqués dans la consommation résiduelle chez les poules pondeuses. Le premier fait partie du cycle de libération du glucose à partir de substrats carbonés et le second est impliqué dans l'efficacité de l'absorption des nutriments, notamment du calcium. Des études chez le poulet de chair ont également trouvé une association entre IC et des variations de SNP dans des gènes de régulation du métabolisme et la répartition de l'énergie (récepteur à l'hormone de croissance et neuropeptide Y, Sherman *et al*, 2008), de la thermogénèse et le transport des protons (UCP aviaire, Sharma *et al*, 2008, Bottje *et al*, 2009), l'homéostasie énergétique et le comportement alimentaire (récepteur à la mélanocortine 3, Sharma *et al*, 2008).

La comparaison d'expression de gènes entre animaux à forte ou faible IC a mis en évidence des gènes impliqués dans la régulation du métabolisme énergétique mitochondrial (Ojano-Dirain *et al*, 2007),

et dans les HSP impliqués dans la réponse au stress oxydatif (Kong *et al*, 2011).

PERSPECTIVES POUR LA SÉLECTION EN RÉGIME SUBOPTIMAL

Variabilité des matières premières

La variabilité de qualité des matières premières est un problème pour la sélection de l'efficacité alimentaire sur régimes alternatifs, car elle ne permet pas d'avoir un environnement de sélection reproductible. C'est tout particulièrement le cas en ce qui concerne des matières premières telles que les drèches ou le son dont la qualité dépend fortement de la composition du matériau de base, et des procédés technologiques (séchage, broyage, addition de solvants). Par exemple, Ravindran et Blair (1991) ont montré que selon le procédé utilisé, les proportions de fibres et de lipides dans le son de riz variaient respectivement de 12.6% à 30.9% et de 6.6 à 31.6%. Selon l'échantillon d'une même drèche, la digestibilité apparente des acides aminés essentiels tels que la lysine ou la thréonine varie de 24.4 à 45.7% et de 48.2 à 60.9%, respectivement (Bandegan *et al*, 2009).

Il est admis que l'efficacité de la sélection décroît lorsque l'environnement de sélection est défavorable car la variance due à l'environnement augmente et l'héritabilité, et donc les possibilités de sélection, diminue. De fait, si le critère de sélection est la croissance, l'animal a besoin de cet environnement optimal pour exprimer son potentiel de croissance, particulièrement pour les génotypes modernes, dont la croissance rapide et le taux élevé de dépôt de protéines requiert un régime de haute qualité. Cependant, si le critère d'intérêt est la robustesse des animaux face à un environnement difficile, c'est précisément dans cet environnement difficile que la capacité de l'animal à faire face à un environnement difficile pourra s'exprimer. Les fortes corrélations génétiques trouvées entre capacités à digérer le blé et le maïs montrent qu'améliorer les performances de digestion dans un environnement difficile amélioreront également les performances en environnement plus favorable (Mignon-Grasteau *et al*, 2010).

Critères de sélection

Une attention particulière doit être portée au choix du critère de sélection pour améliorer l'efficacité alimentaire sur régime difficile. Les résultats de Sorensen *et al* (1980, 1983) montrent que la sélection sur la croissance d'animaux restreints en protéines conduirait à une augmentation de la consommation alimentaire et de l'engraissement, alors que la sélection sur l'efficacité digestive sur régime blé ne modifie ni la consommation ni l'engraissement dans la lignée haute (Mignon-Grasteau *et al*, 2004, 2010). Pour la sélection en environnement non optimal, des

critères de sélection tels que l'EMAN ou le coefficient d'utilisation digestive de la matière sèche sont des critères plus appropriés que la croissance. L'âge auquel la sélection est pratiquée est également important, en liaison avec la vitesse de développement du tractus digestif, forte dans les premières semaines de vie, ce qui augmente les chances de succès à cet âge. Ainsi, les animaux des lignées D+ et D- sont sélectionnés à 3 semaines, âge auquel la différence sur le tractus digestif, qui apparaît à 1 semaine est maximale. Cette différence tend à disparaître à 8 semaines (Rougière et Carré, 2010 ; de Verdal *et al*, 2012).

Homogénéité des résultats

Lorsque la sélection est pratiquée en environnement difficile, une attention particulière doit également être portée aux conséquences sur l'homogénéité des performances, en plus des conséquences sur la moyenne des performances. Les données collectées sur plusieurs générations de D+ et de D- montrent ainsi que les coefficients de variation de l'EMAN et des coefficients d'utilisation digestive des aliments sont très sensibles au régime chez les D-, mais pas chez les D+ (cf. Table 1, Mignon-Grasteau *et al*, 2010). Il est toutefois à noter que dans la plupart des études, seuls un écart type global est mentionné ce qui ne permet pas de vérifier si la variance change en fonction de l'environnement.

Conclusions

Cette revue illustre que la sélection pour une amélioration de l'efficacité alimentaire en utilisant des régimes difficiles peut être efficace pour peu que les conditions d'âge et plus particulièrement les critères de sélection soient appropriés. Il est ainsi manifeste qu'il est préférable de sélectionner sur l'efficacité digestive que sur la croissance. Enfin, en plus de l'amélioration de la valeur moyenne de la population, le maintien de l'homogénéité de la population est un objectif supplémentaire, celle-ci étant un facteur important de rentabilité de l'élevage.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abasht B., Dekkers J.C.M., Lamont S., 2006. *Poult. Sci.*, (85), 2079–2096.
- Bandegan A., Guenter W., Hoehler D., Crow G.H., Nyachoti C.M., 2009. *Poult. Sci.*, (88), 2592-2599.
- Bottje W., Brand M.D., Ojano-Dirain C., Lassiter K., Toyomizu M., Wing T., 2009. *Poult. Sci.*, (88), 1683-1693.
- Carré B., Mignon-Grasteau S., 2009. Proc. 58th Ann. Breed. Roundtable, St Louis, 7-8/05/2009.
- Carré B., Idi A., Maisonnier S., Melcion J. P., Oury F. X., Gomez J., Pluchard P., 2002. *Br. Poult. Sci.*, (43), 404–415.
- Carré B., Mignon-Grasteau S., Juin H., 2008a. *W. Poult. Sci. J.*, (64), 377-390.
- Carré B., Mignon-Grasteau S., Besnard J., Rougière N., Juin H., Bastianelli D., 2008b. Proc. 23th W. Poult. Cong., Brisbane (Australia), 30/06-04/07/2008.
- Cozannet P., Lessire M., Gady C., Metayer J.P., Primot Y., Skiba F., Noblet J., 2010. *Poult. Sci.*, (89), 2230-2241.
- de Koning D.J., Windsor D., Hocking P.M., Burt D.W., Law A., Haley C.S., Morris A., Vincent J., Griffin H., 2003. *J. Anim. Sci.*, (81), 1158-1165.
- de Koning D.J., Haley C.S., Windsor D., Hocking P.M., Griffin H., Morris A., Vincent J., Burt D., 2003. *Genet. Res.*, (83), 211-220.
- de Verdal H., Mignon-Grasteau S., Jeulin C., le Bihan-Duval E., Leconte M., Mallet S., Martin A., Narcy A., 2010. *Poult. Sci.*, 89, 1955-1961.
- de Verdal H., Narcy A., Bastianelli D., Chapuis H., Mème N., Urvoix S., Le Bihan-Duval E., Mignon-Grasteau S., 2011a. *BMC Genet.*, (12), 59.
- de Verdal H., Narcy A., Bastianelli D., Chapuis H., Mème N., Urvoix S., Le Bihan-Duval E., Mignon-Grasteau S., 2011b. *BMC Genet.* (12), 71.
- de Verdal H., Mignon-Grasteau S., Bastianelli D., Mème N., Le Bihan-Duval E., Narcy A., 2012. *J. Anim. Sci.* (sous presse).
- Ewald S.J., Ye X., Avendano S., McLeod S., Lamont S.J., Dekkers J.C., 2007. *Anim. Genet.*, (38), 174-176.
- Fairfull R.W., Chambers J.R., 1984. *Can. J. Anim. Sci.*, (64), 513-527.
- Farrell, D.J., 2005. *W. Poult. Sci. J.*, (61), 298-307.
- García V., Gomez J., Mignon-Grasteau S., Sellier N., Carré B., 2007. *Anim. 1*: 1435-1442.
- Godfrey E.F., 1968. *Poult. Sci.*, 47, 1559-1565.
- Hansen C., Yi N., Zhang Y.M., Xu S., Gavora J., Cheng H.H., 2005. *Anim. Biotechnol.*, 16, 67-79.
- Hocking P., 2005. *W. Poult. Sci. J.*, 61, 215-226.
- Kong B.W., Song J.J., Lee J.Y., Hargis B.M., Wing T., Lassiter K., Bottje W., 2011. *Poult. Sci.*, 90, 2535-2547.
- Leenstra F., Pit R., 1987. *Poult. Sci.*, 66, 193-202.
- Marks H.L., 1978. *Theor. Appl. Genet.*, 52, 105-111.
- Marks H.L., 1987. *Poult. Sci.*, 66, 1252-1257.
- Mignon-Grasteau S., Muley N., Bastianelli D., Gomez J., Péron A., Sellier N., Millet N., Besnard J., Hallouis J.M., Carré B., 2004. *Poult. Sci.*, (83), 860- 867.
- Mignon-Grasteau S., Juin H., Sellier N., Bastianelli D., Gomez J., Carré B., 2010. Proc. 9th W. Cong. Genet. Appl. Livest. Prod., Leipzig, 01-06/08/2010.
- Neisheim M.C., 1975. In: *The Effect of Genetic Variance on Nutritional Requirements of Animals*, Nat. Acad. Sci., Washington, D.C., 47-87.
- Ojano-Dirain C., Toyomizu M., Wing T., Cooper M., Bottje W.G., 2007. *Poult. Sci.*, (86), 372-381.
- Parsanejad R., Zadworny D., Kuhnlein D., 2002. *Poult. Sci.*, (81), 1668-1670.
- Parsanejad, R., Praslickova D., Zadworny D., Kuhnlein U., 2004. *Poult. Sci.*, (83), 1518-1523.
- Pym R.A.E., 1990, In: *Poultry breeding and genetics*, R. D. Crawford (ed.), Elsevier, Amsterdam, 847-876.
- Ravindran V., Blair R., 1991. *W. Poult. Sci. J.*, (47), 213-231.
- Riffard C., Gallot S., Magdelaine P., 2011. Rapport technique, ITAVI, 57 pp.
- Rotshchild M.F., Hu Z.L., Jiang Z., 2007. *Int. J. Biol.Sci.*, (3), 192-196.
- Rougière N., Carré B., 2010. *Animal*, (4), 1861-1872.
- Rougière N., Gomez J., Mignon-Grasteau S., Carré B., 2009. *Poult. Sci.*, (88), 1206-1215.
- Rougière N., Malbert C.H., Rideau N., Cognié J., Carré B. 2012. *Poult. Sci.*, (91), 460–467.
- Sharma P., Bottje W., Okimoto R., 2008. *Poult. Sci.*, (87), 2073-2086.
- Sherman E.L., Nkrumah J.D., Murdoch B.M., Moore S.S., 2008. *Anim. Genet.*, 39, 225-231
- Sorensen P., 1980. Proceedings of the 6th European Poult. Conference, Hamburg, 2, 64-71.
- Sorensen P., Chwalibog A., Eggum B.O., 1983. *Br. Poult. Sci.*, (24), 237-250.
- Sorensen P., 1985. Proc. 18th Poult. Sci. Symp., Harlow, Roslin, UK, 85-95.
- Steinfeld H., Gerber P., Wassenaar T., Castel V., Rosales M., de Haan C., 2006. FAO, Rome, 390 pp.

Sutedjo H., Knott L., Pym R.A.E., 2001. Proc. Austr. Poult. Sci. Symp., (13), 175-178.
 Tran S.T., Narcy A., Carré B., Gilbert H., Demeure O., Bed'Hom B., Chantry-Darmon C., Boscher M.Y., Bastianelli D., Sellier N., Chabault M., Calenge F., Le Bihan-Duval E., Beaumont C., Mignon-Grasteau S., 10èmes J. Rech. Avic. Palm. Foie Gras, La Rochelle, 2013.

Table 1. Effet du régime sur la valeur moyenne et sur la variabilité des performances digestives des lignées D+ et D-.

	Régime "Maïs"				Régime "Blé"			
	D+		D-		D+		D-	
	μ	CV (%)	μ	CV (%)	μ	CV (%)	μ	CV (%)
EMAn (kcal.kg ⁻¹ MS)	3298	6.6	3063	7.3	3247	8.6	2411	26.5
Digestibilité des lipides (%)	90.9	3.1	84.6	11.2	83.0	12.0	68.6	26.2
Digestibilité de l'amidon (%)	97.9	0.9	96.8	2.0	96.1	3.6	87.4	14.2
Digestibilité des protéines (%)	83.1	4.8	78.6	6.7	77.4	6.0	68.1	11.7



Thanh-Son TRAN
Études génomiques chez la
Poule: Applications à la
résistance au portage de
salmonelles et la digestibilité



Résumé

Les protocoles de détection de QTL varient selon le modèle étudié, car ils dépendent de nombreux paramètres. Cette thèse s'est intéressée à la façon d'adapter ces protocoles à travers deux exemples de recherches de QTL chez la Poule, en utilisant deux méthodes statistiques différentes : maximum de vraisemblance (MV) et régression linéaire (RL), qui ont été comparées. Dans un premier temps, des QTLs de résistance au portage de salmonelles ont été identifiés, d'effets faibles et dont les positions varient selon la méthode utilisée. Dans un deuxième temps, des QTLs de caractères de digestibilité et d'anatomie du tube digestif ont été identifiés, avec des résultats semblables avec les deux méthodes. De nombreux QTLs d'effets faibles à modérés ont été identifiés. Les résultats de cette thèse montrent que la comparaison des deux méthodes est toujours utile et car dans certaines conditions les résultats obtenus diffèrent entre les deux méthodes.

Mots-clés: poulet, génétique, quantitative trait loci, QTL, résistance au portage de salmonelles, digestibilité, EMAn

Résumé en anglais

The QTL detection protocols vary depending on the model studied, because they depend on many parameters. This thesis has focused on how to adapt these protocols through two examples of QTL detection in Chicken, using two different statistical methods: maximum likelihood (ML) and linear regression (LR), which results were compared on two examples. Initially, QTLs controlling resistance to *Salmonella* carrier-state have been identified, of small effects and whose positions vary according to the method. In a second step, QTLs controlling digestibility and anatomy of the gastro-intestinal tract were identified with similar results for both methods. Many QTLs of small to moderate effects were identified. The results of this thesis show that the comparison of the two methods is always helpful as under certain conditions the results may vary with the method.

Keywords: chicken, genetics, quantitative trait loci, QTL, resistance to *Salmonella* carrier-state, digestibility, AMEn