

# APPORT DES MARQUEURS MOLECULAIRES A LA CARACTERISATION DES RACES ANCIENNES DE POULES

Rognon Xavier <sup>1</sup>, Berthouly Cécile <sup>2</sup>, Coquerelle Gérard <sup>1</sup>, Legros Hélène <sup>3</sup>,  
Tixier-Boichard Michèle <sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA/INA P-G, UMR 1236 Génétique et diversité animales, F-78352 Jouy-en-Josas

<sup>2</sup>CIRAD-EMVT, Hanoi, Vietnam

<sup>3</sup>LABOGENA, F-78352 Jouy-en-Josas

## RÉSUMÉ

L'objectif du travail présenté ici est d'approfondir la connaissance de la variabilité génétique et de l'originalité des races anciennes de poules à l'aide de marqueurs moléculaires. Pour cela un jeu de 22 marqueurs microsatellites issu du projet européen AvianDiv a été utilisé sur 14 races avec 26 à 30 animaux par race, choisis de façon à représenter les différents élevages recensés, ou bien les différentes familles connues dans le troupeau de sélection. Il s'agit des races : Barbezieux, Bourbonnaise, Bresse Blanche, Coucou de Rennes, Crèvecoeur, Gasconne, Gauloise dorée, Gauloise Grise, Gauloise Noire, Géline de Touraine, Gournay, Houdan, Marans, Noire de Challans. Sur le plan moléculaire, le taux d'hétérozygotie observé varie de 0,410 (Gauloise Dorée) à 0,583 (Coucou de Rennes). La contribution relative de chaque race à la diversité globale est assez équilibrée, de 5,45% (Noire de Challans) à 9,81% (Marans). Un test d'assignation a permis d'affecter 96% des 414 individus à leur race, cependant quelques races apparaissent fragmentées en sous-populations. L'analyse détaillée des génotypes aux marqueurs peut aussi permettre de reconstituer la structuration de la population entre élevages par exemple. De plus, l'exemple de la Bresse ou de la Géline de Touraine montre que ces races ont bien maintenu leur identité raciale tout en améliorant leurs performances.

Ces résultats peuvent être combinés avec les données généalogiques, zootechniques et socio-économiques pour proposer une stratégie de valorisation d'une race. Les outils moléculaires serviront en début de programme de relance, pour contribuer à définir la population de fondateurs. Ensuite, ils pourront être utilisés pour attester l'appartenance d'un individu, ou de son produit, à la race.

## ABSTRACT

The aim of this project was to use molecular markers in order to provide a better knowledge of the genetic variability and originality of old chicken breeds in France. A set of 22 microsatellite markers, previously defined for the European project AvianDiv, was used here to characterize the polymorphism of 14 breeds, each of them being represented by a sample of 26 to 30 individuals. The following breeds were considered : Barbezieux, Bourbonnaise, Bresse Blanche, Coucou de Rennes, Crèvecoeur, Gasconne, Gauloise dorée, Gauloise Grise, Gauloise Noire, Géline de Touraine, Gournay, Houdan, Marans, Noire de Challans. Animals were sampled either according to pedigree information, in the case of nucleus herds managed by a professional breeder for the breeders' association, or in a subset of farms being identified as representative herds by the breed's club. Observed heterozygosity varied from 0.410 (Gauloise Dorée) to 0.583 (Coucou de Rennes). The relative contribution of a given breed to the total diversity observed in this set of populations was rather balanced, in the range of 5.45% (Noire de Challans) to 9.81% (Marans). An assignment test was realised on the basis of molecular information only, and it could associate 96% of the 414 animals with their correct breed of origin. Nevertheless, some populations still appeared to be heterogeneous and fragmented in sub-populations. A few breeds that have been under a selection programme since several generations (such as Bresse blanche or Geline de Touraine) appeared to be both original and still variable, which shows that conservation and valuation of a traditional breed can be done at the same time.

These results may be combined with pedigree data, performance data and socio-economic factors to propose strategies adapted to the economic valuation of an old chicken breed. Molecular tools may contribute to define the founder population at the onset of a programme, and may later be used to check the breed's origin of an animal and contribute to the certification of its product.

## INTRODUCTION

Dans le contexte récent de diversification des activités agricoles et de traçabilité, les démarches de qualification des produits impliquant des races anciennes se multiplient en France dans une perspective de développement local. La motivation initiale est d'associer la sauvegarde de la race avec l'offre d'un produit de qualité. Ces démarches s'appuient sur les populations conservées par des éleveurs amateurs, souvent membres de « clubs de race ». Ces populations sont d'abord caractérisées par leur standard phénotypique et leur origine géographique. L'objectif de cette étude est d'approfondir la connaissance de la variabilité génétique et de l'originalité de ces populations à l'aide de marqueurs moléculaires

## 1. MATERIELS ET METHODES

### 1.1. Echantillonnage

Quatorze races locales de poules ont été étudiées. Pour les races dont le noyau de sélection a été confié à un professionnel, comme le Centre de sélection de Béchanne (soit Bresse Blanche, Barbezieux, Bourbonnaise, Gauloise Grise, Gauloise Noire, Gélina de Touraine, Gournay et Houdan) ou la SASSO (Marans échantillonnée lors du projet AvianDiv), l'échantillonnage a été réalisé dans les différentes familles identifiées. Pour les autres races (Coucou de Rennes, Crèvecoeur, Gasconne, Gauloise dorée, Noire de Challans), l'échantillonnage a été réalisé avec l'aide des clubs de race ou à l'occasion d'enquêtes spécifiques, de façon à représenter les différents élevages recensés dans la race. Les échantillons sont de 26 à 30 animaux par race (Tableau 1).

### 1.2. Analyses moléculaires

Un jeu de 22 marqueurs microsatellites issu du projet européen AvianDiv (Rosenberg et al., 2001) a été utilisé pour le génotypage des animaux. Les génotypes ont été réalisés, après amplification par PCR avec amorces fluorescentes et migration sur séquenceur capillaire, par le GIE LABOGENA.

### 1.3. Analyses statistiques

Les fréquences alléliques aux locus microsatellites, l'hétérozygotie observée (Hobs) et l'hétérozygotie attendue (Hnb, calculée sous l'hypothèse d'Hardy-Weinberg avec les fréquences alléliques observées ; Nei, 1978), le nombre moyen d'allèles (A) par locus et le nombre moyen d'allèles efficaces (Ae) par locus (Crow et Kimura, 1970) ont été calculés à l'aide du logiciel GENETIX version 4.4 (Belkhir et al., 2000). Les distances génétiques entre races ont été estimées par la distance  $D_A$  (Nei et al., 1983). Les contributions de chacune des races à la

diversité ont été calculées selon la méthode de Weitzmann (Thaon d'Arnoldi et al., 1998) en utilisant  $D_A$ . L'appartenance d'un individu à sa race présumée a été appréciée de deux manières :

- un arbre de relations génétiques a été établi selon la méthode du 'neighbor-joining' (Saitou et Nei, 1987) à partir des distances  $D_A$  calculées entre les individus, à l'aide des logiciels POPULATION et TREEPLOT 0.7 (Langella, 2000).
- dans un deuxième temps, la probabilité d'affectation d'un individu à une race a été calculée selon l'algorithme proposé par Paetkau et al. (2004). Le principe est d'ignorer l'information sur l'origine raciale des animaux, de les classer en fonction de leur ressemblance sur la base des génotypes aux marqueurs, de calculer la fiabilité de ce classement sur un grand nombre de répétitions (10000) et de comparer ensuite ce classement avec leur origine raciale. Le logiciel utilisé est GENECLASS2 (Piry et al., 2004). Le critère retenu pour l'affectation est celui de Rannala et Mountain (1997) : un individu est classé dans la population pour laquelle la probabilité d'affectation est la plus élevée.

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

Le nombre moyen d'allèles présents par race est de 3,69 (Tableau 1). Le nombre moyen d'allèles efficaces est toujours nettement plus faible que le nombre d'allèles total, ce qui révèle une distribution hétérogène des fréquences alléliques. La Coucou de Rennes possède le nombre le plus élevé d'allèles par locus sur les deux critères (nombre total et nombre d'allèles efficaces). L'hétérozygotie observée varie de 0,41 à 0,583 et l'hétérozygotie attendue varie de 0,426 à 0,625 (Tableau 1). Les résultats préliminaires concernant le déséquilibre par rapport aux proportions attendues sous l'hypothèse de Hardy-Weinberg (tests exacts ; Raymond et Rousset, 1995) suggèrent un très fort déficit d'hétérozygotes dans la race Noire de Challans. On observe ici très probablement un effet Wahlund, lié à une fragmentation de la population en élevages de petite taille, ayant peu ou pas d'échanges de reproducteurs entre eux.

La diversité spécifique attachée à chaque race est présentée dans le Tableau 1 et varie de 5,45 à 9,81%. Les trois races ayant la contribution la plus élevée sont la Marans, la Houdan et la Bresse, qui ont pourtant des profils de diversité très différents : la Bresse présente un taux d'hétérozygotie beaucoup plus élevé que celui de la Houdan, la Marans ayant un niveau intermédiaire. On observe qu'une valeur élevée de l'indice de Weitzmann ne garantit pas une variabilité génétique élevée, et que la répartition des contributions est assez équilibrée.

Dans l'ensemble, les animaux sont correctement affectés à leur race (Tableau 2), avec un taux de bonne affectation de l'ordre de 96%. Il y a de 1 à 3 animaux non classés par race. La possibilité d'affectation à une autre race n'est pas écartée dans un grand nombre de situations (cas (n) chiffres entre parenthèses dans le tableau), mais reste moins probable que l'affectation à la race d'origine. Les animaux mal classés sont affectés le plus souvent soit à la race Noire de Challans soit à la race Coucou de Rennes, ce qui est cohérent avec la plus grande diversité allélique de ces deux races (valeurs A et Ae les plus élevées de cette étude). Les cas de type n et u sont moins nombreux mais posent plus de difficultés quant à l'originalité et l'unicité génétique d'une race. Il y a 4 animaux dans ce cas sur 414 testés, ils sont répartis sur 3 races. Les animaux originaires de la race Gauloise Dorée ont le plus de difficultés à être classés, et deux d'entre eux sont classés dans une autre race (Coucou de Rennes), voire même dans plusieurs (Coucou de Rennes, Géline de Touraine et Noire de Challans). Enfin, un arbre de classification des individus en fonction de leur génotype aux marqueurs (Figure 1) permet de visualiser le niveau d'homogénéité des populations. Ainsi, certaines races apparaissent très fortement homogènes, avec tous ou presque tous les individus regroupés (Houdan, Gauloise Noire, Gauloise Dorée, Bourbonnaise, Crèvecoeur, Géline de Touraine, Gournay, Bresse ou Gasconne). D'autres populations paraissent plus hétérogènes, avec des groupes d'individus, plus ou moins indépendants entre eux (Noire de Challans, Coucou de Rennes, Gauloise Grise, Barbezieux). On remarquera, notamment, que la race Noire de Challans est subdivisée en 3 groupes, groupes qui correspondent aux trois principales origines d'élevages. Dans le cas des races constituées d'un groupe majoritaire, on pourrait proposer d'utiliser les typages moléculaires pour attester l'appartenance à la race d'un individu pris au hasard. Pour les races constituées de plusieurs groupes, il est possible soit de n'utiliser qu'un des groupes comme troupeau fondateur, soit d'organiser un échange entre les groupes, afin de brasser tous les allèles présents et constituer une population de base homogène.

### 3. CONCLUSION

Le souci des producteurs de races anciennes est de communiquer sur l'authenticité de la race sans avoir d'autres outils que le standard et le périmètre géographique pour attester cette authenticité. Ceci renvoie à la double question de la définition même de la race et de sa propriété. Les données moléculaires montrent que les races anciennes sélectionnées depuis plus longtemps, comme la Bresse et la Géline de Touraine, se différencient très bien entre elles et des autres races. Elles ont

gardé leur identité raciale tout en ayant amélioré leurs performances de croissance. Ainsi la Bresse a conservé à la fois un profil homogène sur le plan moléculaire et un niveau de variabilité génétique compatible avec une gestion durable. Il est utile de combiner différents indicateurs de diversité pour évaluer l'originalité d'une race.

La relance d'une race ancienne suppose un accord entre les éleveurs amateurs et les producteurs sur des critères qui satisfassent à la fois les exigences de conservation et de valorisation. Les outils moléculaires peuvent servir en début de programme de relance, pour contribuer à définir la population de fondateurs. Ensuite, ces outils pourront servir à attester l'appartenance d'un individu, ou de son produit, à la race. Ces résultats peuvent être combinés avec les données généalogiques, zootechniques et socio-économiques pour proposer une stratégie de valorisation d'une race.

### REMERCIEMENTS

Ce travail a été financé par le MEDD, dans le cadre de l'appel à projets du Bureau des Ressources Génétiques, 2003-2005. Cécile Berthouly bénéficie d'une bourse doctorale du CIRAD.

### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Belkhir, K., Borsa, P., Goudet, J., Chiki, L., Bonhomme, F., 2000. GENETIX, <http://www.genetix.univ-montp2.fr/genetix/genetix.htm>
- Crow, J.F., Kimura, M., 1970. An introduction to population genetics theory, Harper & Row, New York.
- Langella, 2000. POPULATIONS et TREEPLOT, <http://www.pge.cnrs-gif.fr/bioinfo/populations/>
- Nei, M., 1978. Genetics, (23) 341-369.
- Nei, M., Tajima, F., Tatenno, Y., 1983. J. Mol. Evol., (19) 153-170.
- Paetkau, D., Slade, R., Burden, M., Estoup, A., 2004. Mol. Biol. Ecol., (13), 55-65.
- Piry, S., Alapetite, A., Cornuet, J.-M., Paetkau, D., Baudouin, L., Estoup, A., 2004. J. Hered., (95,) 536-539.
- Rannala B, Mountain J.L., 1997. P.N.A.S. (94), 9197-9201.
- Raymond, M., Rousset, F., 1995. Evolution, (49), 1280-1283.
- Rosenberg, N.A., Burke, T., Elo, K., Feldman, M.W., Freidlin, P.J., Groenen, M.A.M., Hillel, J., Maki-Tanila, A., Tixier-Boichard, M., Vignal, A., Wimmers, K., Weigend, S., 2001. Genetics, (159), 699-713.
- Saitou, N., Nei, M., 1987. Mol. Biol. Evol., (4), 406-425.
- Thaon d'Arnoldi C., Foulley, J.L., Ollivier, L., 1998. Genet. Sel. Evol., (30), 149-161.

**Tableau 1.** Mesure de la diversité intra-race et de la contribution spécifique de chaque race à la diversité totale. N : effectif de l'échantillon ; Hnb : hétérozygotie attendue ; Hobs : hétérozygotie observée ; A : nombre moyen d'allèles observés par locus ; Ae : nombre moyen d'allèles efficaces ; diversité : proportion (%) de la diversité spécifique attribuée à une race donnée.

Race	code	N	Hnb	Hobs	A	Ae	diversité
Barbezieux	BAZ	30	0,517	0,526	4	2,07	5,80
Bourbonnaise	BNA	30	0,472	0,487	3,23	1,89	8,10
Bresse blanche	B99	30	0,553	0,556	3,64	2,34	8,80
Coucou de Rennes	COU	30	0,625	0,583	4,73	2,67	5,87
Crèvecoeur	CRC	26	0,510	0,528	3,32	2,04	7,01
Gasconne	GAS	30	0,539	0,539	3,64	2,17	7,38
Gauloise Dorée	GLD	28	0,435	0,410	3,36	1,77	5,79
Gauloise Grise	GLG	30	0,519	0,479	3,41	2,08	6,80
Gauloise Noire	GLN	30	0,514	0,473	3,77	2,06	6,71
Géline de Touraine	GLT	30	0,600	0,581	3,91	2,5	6,46
Gournay	GOU	30	0,529	0,542	3,59	2,13	6,58
Houdan	HOU	30	0,426	0,425	2,82	1,74	9,69
Marans	MR	30	0,529	0,493	3,59	2,12	9,81
Noire de Challans	NC	30	0,609	0,445	4,68	2,56	5,45

**Tableau 2.** Affectation des animaux à une race sur la base de leurs génotypes. En ligne figure la race d'origine et en colonne la race à laquelle les individus sont affectés. La colonne *na* montre les animaux non affectés.

Race	BAZ	BNA	B99	COU	CRC	GAS	GLD	GLG	GLN	GLT	GOU	HOU	MR	NC	na
<b>BAZ</b>	29			(4)-1						(1)				(5)-1	1
<b>BNA</b>		27											(1)		3
<b>B99</b>			28	(2)											2
<b>COU</b>				26											4
<b>CRC</b>					25										1
<b>GAS</b>				(2)		29								(10)	1
<b>GLD</b>				(5)-2			23		(2)	1				(4)-1	3
<b>GLG</b>				(4)				28						(2)	2
<b>GLN</b>							(1)		27						3
<b>GLT</b>				(2)						28					2
<b>GOU</b>				(3)							27			(3)	3
<b>HOU</b>	(7)											30		(2)	
<b>MR</b>											(1)		30		
<b>NC</b>				1										28	2

(n) il existe une autre race pour laquelle la probabilité est supérieure à 5% mais reste inférieure à la probabilité d'affectation à la population d'origine ; n : la probabilité d'affectation à la population d'origine est supérieure à 5% mais il existe une valeur supérieure pour l'affectation à une autre population ; n : la seule affectation probable (P>5%) concerne une autre population que la population d'origine (P<5%).

**Figure 1.** Arbre de classification des individus. Le code des races est donné dans le tableau 1. Chaque race est représentée par une couleur différente. Certains individus isolés correspondent bien au code couleur de la race, mais n'ont pas pu être désignés par une étiquette, faute de place.

