
Sélection génomique et anomalies responsables de mortalités embryonnaires en vaches laitières

Auteur : Garrignot, Pauline

Promoteur(s) : Georges, Michel

Faculté : Faculté de Médecine Vétérinaire

Diplôme : Master en médecine vétérinaire

Année académique : 2020-2021

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/11950>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

Sélection génomique et anomalies responsables de mortalités embryonnaires en vaches laitières

Genomic selection and abnormalities responsible for embryonic lethality in dairy cattle

GARRIGNOT Pauline

Travail de fin d'études
présenté en vue de l'obtention du grade de
Médecin Vétérinaire

ANNÉE ACADÉMIQUE 2020/2021

Le contenu de ce travail n'engage que son auteur

Sélection génomique et anomalies responsables de mortalités embryonnaires en vaches laitières

Genomic selection and abnormalities responsible for embryonic lethality in dairy cattle

GARRIGNOT Pauline

Michel Georges

Travail de fin d'études

présenté en vue de l'obtention du grade de
Médecin Vétérinaire

ANNÉE ACADÉMIQUE 2020/2021

Le contenu de ce travail n'engage que son auteur

Sélection génomique et anomalies responsables de mortalités embryonnaires en vaches laitières

OBJECTIF DU TRAVAIL

L'objectif de ce travail est de déterminer comment l'accessibilité grandissante de l'outil génomique peut-elle nous aider à réduire l'incidence de la mortalité embryonnaire d'origine génétique chez les principales races de vaches laitières ?

RESUME

Pour faire face aux nouvelles demandes en termes de production de denrées alimentaires, une forte pression de sélection a été mise en place pour les caractères de production chez nos animaux d'élevage. Ceci s'est accompagné, de manière inévitable, d'une augmentation de l'expression d'anomalies génétiques délétères chez les individus homozygotes récessifs de plus en plus nombreux au sein de la population. Ces anomalies concernent souvent des caractères fonctionnels comme la fertilité. Parmi ces anomalies, celles causant des mortalités à l'état embryonnaire sont à l'origine de surcoûts relatifs à la reproduction dans nos élevages. Malheureusement, avant l'arrivée de l'outil génomique, celles-ci étaient mal connues et peu ou mal gérées. Grâce aux pouvoirs du génotypage et à son implantation massive dans les processus de sélection, ces anomalies sont caractérisées de plus en plus rapidement. Leurs origines, leurs fonctionnements et leurs conséquences ont pu être identifiés. Tout cela a permis de faire avancer leur gestion au sein des élevages laitiers. Leur intégration de manière globale dans les schémas de sélection ainsi que le contrôle des accouplements à risque permettent de faire baisser la fréquence des mortalités embryonnaires liées à ces anomalies au sein de la population. Mais cette baisse de fréquence n'est pas le seul levier de lutte. En effet, la sélection génomique nous permet de mieux gérer le taux de consanguinité associé aux processus de sélection.

Genomic selection and abnormalities responsible for embryonic lethality in dairy cattle

AIM OF THE WORK

The aim of this work is to determine how the increasing accessibility of genomic can help us to reduce the incidence of embryonic lethality with a genetic origin in the main dairy cattle breeds?

SUMMARY

To face new requests in terms of food product production, a strong selection's pressure have been established regarding production traits in farm animals. This leads to an increase of genetic abnormalities' expression which have deleterious effect in more numerous recessive homozygote animals. These abnormalities mainly affect functional traits as fertility. Among these abnormalities, those who leads to embryonic lethality spearhead an extra cost concerning reproduction. Unfortunately, before the implementation of genomic selection, these abnormalities were poorly understood and poorly managed. Thanks to genomic's powers and its massive implementation inside selection process, these abnormalities are characterised more and more quickly. Their origin, their functioning and their consequences have been identified. All of this leads to a progression of their management in dairy farming. Their global integration in selection process and the at-risk mating plan studies lead to a reduction of their diffusion's frequency in the population. But this reduction results not only from the unique targeted management of these abnormalities. In fact, genomic selection also could help to better manage the inbreeding level which is associated with any selection process.

Remerciements

Sommaire

1.	La sélection génomique.....	7
1.1.	Principes généraux et utilisation	7
1.2.	Avantages associées au développement de la sélection génomique.....	12
1.3.	Effet sur le gain génétique et le taux de consanguinité.....	14
2.	La mortalité embryonnaire d'origine génétique.....	18
2.1.	Chute de la fertilité et détermination de son origine génétique	18
2.2.	Exemples illustrés d'anomalies létales récessives en race Montbéliarde et Holstein	22
3.	Les stratégies de gestion des anomalies responsables de mortalité embryonnaire en race laitière	27
3.1.	La détection précoce de l'émergence de ces anomalies	27
3.2.	Les différents outils de gestion de ces anomalies.....	28

Introduction

L'augmentation croissante de la population mondiale et de la demande de cette population en denrée d'origine animale met le secteur de l'élevage actuel face à un défi colossal. En effet, on estime cette augmentation à 70% d'ici 2050. Pour y répondre, l'industrie de l'élevage doit également faire face à de nombreuses autres contraintes : écologiques, éthiques, sociétales, économiques ...

C'est ainsi qu'à partir des années 50, les processus de sélection des populations d'élevage se sont intensifiés et ont connu un puissant gain d'intérêt de la part des acteurs de la filière. En effet, ils nous permettent d'avoir des animaux qui produisent beaucoup plus de denrées alimentaires en beaucoup moins de temps que leurs ancêtres. Depuis 1960, leur production globale a augmenté de 20 à 30%. On a observé que dans la plupart des pays développés, la production laitière des vaches augmentait de 50 à 100kg de lait par lactation ces dernières années (Brochard et al. 2013). Ces augmentations sont dues à la sélection génétique et toutes les avancées technologiques associées (insémination artificielle, transfert d'embryons, ...) mais pas que. C'est tout un nouveau système d'élevage qui a permis d'avoir des animaux avec de meilleurs rendements : évolution du logement, de l'alimentation, du management, des soins, ... (Georges et al. 2018).

Malheureusement, la sélection intensive des caractères de production a débouché sur une réponse négative d'autres caractères comme la fertilité, la résistance à certaines pathologies, la robustesse, la longévité... La principale explication à cette réponse négative est qu'il existe généralement une corrélation génétique négative entre la productivité et les caractères fonctionnels. Ceux-ci sont d'autant plus compliqués à sélectionner que leur héritabilité est faible bien que leur variabilité génétique est importante. Donc, lorsqu'une sélection est fortement orientée vers un ou plusieurs caractères d'intérêt pour la production, la variabilité génétique s'en trouve fortement réduite et ainsi, les caractères fonctionnels sont très vite détériorés. C'est ce qui s'est passé jusque dans les années 1990 (Brochard et al. 2013). Puis les différents acteurs de la filière se sont rendu compte de cette détérioration des caractères fonctionnels et depuis les années 2000-2010, les centres de sélection ont réorienté fortement les objectifs de sélection. En parallèle, le développement et l'accessibilité grandissante de la sélection génomique s'est avéré être un outil puissant dans cette gestion des caractères fonctionnels. Parmi ces caractères, nous pouvons nous intéresser à la baisse de la fertilité. Avec l'utilisation des précédents schémas de sélection, basés sur l'utilisation massive d'un petit nombre de reproducteurs améliorateurs pour des critères de production, le taux de consanguinité a fortement augmenté et a mené à l'apparition d'un plus grand nombre d'individus homozygotes récessifs porteur d'anomalies délétères dont certaines responsables de mortalités embryonnaires. Bien entendu, l'incidence grandissante de ces cas de mortalité embryonnaire ne suffit pas à expliquer la totalité de la baisse de la fertilité chez les vaches laitières mais celles-ci restent néanmoins préoccupante de part le surcoût de production qu'elles entraînent au sein des élevages.

1. La sélection génomique

1.1. Principes généraux et utilisation

La sélection génétique consiste à sélectionner les individus sur la base de leurs valeurs génétiques (globales ou centrées sur certains caractères) estimées à partir des données phénotypiques de l'individu, de ces ascendants, collatéraux et descendants. La valeur génétique est aussi dénommée index ou valeur d'élevage. Cet index peut être global, c'est-à-dire qu'il regroupe les index des différents caractères d'intérêt selon l'objectif de sélection de la race (aussi appelé index de synthèse ou ISU pour les races bovines laitières françaises) ou il peut être centré sur un caractère spécifique. Il a été, depuis les années 90 et avant la prise en compte des données de génotypages, généralement estimé par la méthode BLUP (Best Linear Unbiased Prediction, Henderson, 1973) qui tient compte, en plus des effets génétiques, des effets de l'environnement sur le phénotype de l'individu. En plus de la valeur des index, leur précision est une information importante. Cette précision est évaluée par le coefficient de détermination CD, valeur comprise entre 0 et 1. Plus le CD est élevé, plus l'index sera proche de la valeur génétique vraie donc plus la précision de l'index sera grande (Brochard et al. 2013).

Depuis les années 2000, la sélection génomique propose de préciser cette valeur à partir de l'analyse du génome de l'individu en plus ou à défaut de l'information phénotypique de lui-même ou de ses ascendants, collatéraux et descendants. Ceci est désormais possible grâce aux avancées technologiques considérables en matière de lecture du génome faites par les scientifiques. Concrètement, l'évaluation génétique à partir des données génomiques se base sur l'hypothèse que la majeure partie de l'expression phénotypique d'un génome est concentrée dans ce que l'on appelle les QTL (Quantitative Trait Loci). Ces QTL sont des régions du génome qui concentrent une très grande partie de la variabilité génétique d'une population. Ces régions sont très nombreuses et chacune n'exerce qu'un petit effet sur l'expression phénotypique. En connaissant donc l'information contenue dans ces QTL, il est possible de déterminer de manière précise la valeur génétique d'un individu. Au sein du génome, ces QTL peuvent être liés à des marqueurs. Les marqueurs sont des locus du génome pouvant exprimer plusieurs allèles différents pour lesquels l'information peut être facilement obtenue par génotypage ou séquençage (Georges et al. 2018). On définit ainsi un bon marqueur génétique comme étant polymorphe (permet le suivi des transmissions alléliques), codominant (avec une bonne distinction des différents allèles), facile à typer et en nombre suffisant pour avoir une densité et une répartition adéquate des marqueurs pour caractériser l'ensemble du génome (Duchesne et al. 2016). L'exemple le plus couramment utilisé à grande échelle aujourd'hui est le marqueur SNP (Single Nucleotide Polymorphisme). Les SNP sont des locus du génome où une mutation ne concernant qu'un seul nucléotide est apparue au cours de l'évolution. Ils sont le plus souvent bi-alléliques : c'est-à-dire qu'ils ne comprennent que deux versions de l'allèle (m, M). Les individus peuvent donc être homozygotes (MM ou mm) ou hétérozygotes (mM) au niveau du SNP concerné. Ces SNP apparaissent en général tout les 100 à 1000 paires de bases, ce qui nous permet de quadriller le génome de manière assez précise. Un autre type de marqueurs se présente sous la forme d'haplotype. Un haplotype est une combinaison d'allèles reçus d'un parent. Un haplotype est donc une région du génome comprenant quelques SNP (souvent 4 à 6) (Robert-Granié et al. 2011).

La liaison, plus ou moins forte, des marqueurs et des QTL est qualifiée à l'aide de ce qu'on appelle le

déséquilibre de liaison. Ce concept se base sur un principe génétique et statistique selon lequel deux loci A et B sont en équilibre de liaison si l'allèle A_i de fréquence $f(A_i)$ et l'allèle B_j de fréquence $f(B_j)$ ont une fréquence $f(A_i B_j) = f(A_i) * f(B_j)$. Cela représente leur indépendance statistique. S'ils sont dépendants, on parle de déséquilibre de liaison (Farnir, 2012). Plus le déséquilibre de liaison entre deux régions du génome est fort, plus ils sont liés et donc en connaissant l'information génétique de la première des deux régions, on peut en déduire celle de la seconde de manière très précise. Ainsi, en connaissant l'information sur les SNP, on peut estimer celle des QTL de manière précise si les deux sont en fort déséquilibre de liaison. Le niveau de déséquilibre de liaison qui existe entre un marqueur et un QTL peut être évalué avec la valeur r^2 . r^2 représente la proportion de la variation phénotypique causée par l'expression des allèles d'un QTL qui est expliquée par les marqueurs. Pour atteindre un coefficient de détermination (CD) de 0,85 sur la valeur génétique d'un individu il faudrait que le r^2 soit supérieur ou égal à 0,2. (Hayes et al. 2009).

Cette méthode d'estimation a permis le développement et l'utilisation à grande échelle de l'évaluation génomique valorisant le génotypage de plus en plus massif des candidats à la sélection sur puces SNP. Ces puces reposent sur le principe d'hybridation génomique comparative consistant à hybrider deux segments d'ADN : l'un venant de l'individu à génotyper, celui-ci étant marqué par un fluorochrome et l'autre étant un réseau de séquences d'ADN représentant l'entièreté du génome. L'analyse de l'intensité fluorescente des différentes régions permet de repérer les régions anormales (anomalies, pertes ou gains d'ADN). Les régions correspondantes aux SNP sont privilégiées dans les puces : ainsi on peut visualiser les anomalies présentes au niveau des SNP et en déduire le génotype aux différents SNP (Robert-Granié et al. 2011). Ensuite les méthodes d'évaluations génomiques permettent d'estimer les valeurs génétiques des individus en exploitant les liaisons aux QTL et/ou en estimant directement un effet à chaque SNP sans forcément identifier le QTL associé. Pour cela, il faut en amont génotyper et phénotyper un grand nombre d'individus afin d'établir une équation de prédiction entre les génotypes et le phénotype. Ceci peut s'apparenter à une sorte de courbe d'étalonnage : une fois que l'on a la relation entre les deux, en ayant l'information génotypique, on peut déduire l'information phénotypique (Robert-Granié et al. 2011).

Pour créer cette équation de prédiction, il faut donc le génotype. Nous venons de voir comment nous pouvons l'obtenir via les puces SNP et les relations entre les SNP et les QTL. Mais il nous faut aussi les informations phénotypiques. Celles-ci peuvent être mesurées sur l'individu lui-même (par exemple le gain moyen quotidien, la production laitière propre si on phénotype une femelle, ...) mais certaines ne sont pas mesurables. Ainsi, par exemple le phénotype laitier d'un taureau peut être évalué à partir des informations des performances laitières de sa mère, grand-mère maternelle et paternelle, de ses filles ... c'est ce que l'on appelle les pseudo-performances. Ces valeurs doivent quand même être corrigées, ajustées selon les conditions de vie des animaux car nous savons que le phénotype est le résultat de l'expression d'un génotype dans un environnement donné (Robert-Granié et al. 2011).

La précision de l'équation de prédiction et donc de la valeur estimée pour un individu est soumise à 4 paramètres : le niveau de déséquilibre de liaison entre les marqueurs et les QTL, les animaux qui constituent

la population de référence, l'héritabilité des traits étudiés et la distribution des effets des différents QTL qui permettent l'expression du phénotype étudié. Sur les deux derniers paramètres, nous n'avons malheureusement aucun contrôle, mais pour les deux premiers, il est possible d'agir pour obtenir une plus grande précision (Hayes et al. 2009). En effet, en matière de déséquilibre de liaison, en augmentant la densité des marqueurs (SNP ou haplotypes) au sein du génome, on augmente la valeur du r^2 et donc la précision de notre estimation. Pour ce qui est de la population de référence, elle correspond aux individus génotypés et phénotypés que nous avons choisis pour établir notre équation de prédiction. Tout d'abord, la taille (nombre d'individus) de la population de référence est importante : plus elle est grande, plus la précision sera augmentée. Ceci est illustré dans ce graphique :

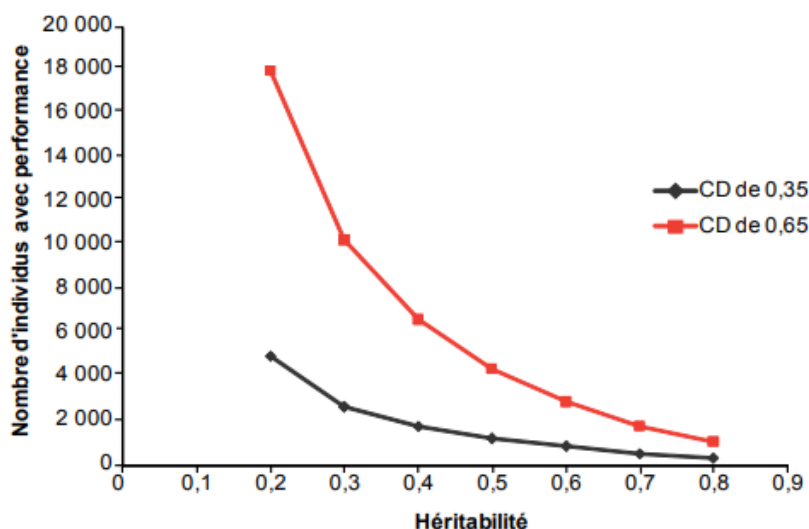


Figure 1 : Nombre d'individus présents dans la population de référence en fonction de l'héritabilité du caractère et selon le coefficient de détermination des index génomiques (Brochard et al. 2013 d'après Hayes et al. 2009).

On voit ici que pour des caractères faiblement héritables comme le sont ceux qui expriment la fertilité par exemple, pour augmenter le CD, il nous faut une taille de population de référence beaucoup plus grande.

Puis, en ce qui concerne la « qualité » de cette population, il est préférable d'utiliser des animaux contemporains de ceux sur lesquels on souhaitera appliquer l'équation (les candidats à la sélection), venant de séries de testages sur descendance déjà existantes par exemple. Cela nous permet d'avoir un panel large, non biaisé, qui représente autant les « bons » que les « mauvais » animaux pour le caractère étudié. De plus, les animaux de la population de référence doivent être le plus apparentés possible aux animaux cibles de l'évaluation génomique pour gagner en précision (CD). En effet, l'apparentement augmente le niveau de déséquilibre de liaison (r^2) entre les marqueurs et les QTL (Robert-Granié et al. 2011).

Il arrive parfois que dans une race, la population de référence soit trop petite pour avoir des CD acceptables ($CD > 0,5$ selon la réglementation européenne pour pouvoir utiliser un taureau pour l'insémination artificielle). Il a alors été envisagé d'utiliser une population de référence plus grande provenant d'une autre race pour déterminer les caractères phénotypiques dans les races où les populations étaient trop petites. Malheureusement, jusqu'à ce jour, cela s'est avéré inefficace car les déséquilibres de liaison, les effets des

QTL, les fréquences des différents allèles, etc... ne sont pas les mêmes entre les races.

Ceci peut cependant être nuancé. En effet, l'utilisation d'un grand nombre de marqueurs (via des puces à ADN d'environ 300 000 SNP) pourrait nous permettre de découvrir des liens entre marqueurs et QTL qui seraient partagés entre différentes races. Pour cela, la population de référence devrait comporter des individus de multiples races différentes afin d'augmenter la précision des prédictions. Ceci nécessite la coopération entre les différentes organisations de sélection afin de mettre en place un partage de données entre les différentes races. Bien sûr, toute la variabilité génétique d'une race ne pourra pas être prédite sur base de celle d'autres races car il existe des régions du génome contenant des allèles, des mutations qui affectent des traits de production différemment entre les races. De plus, l'action de l'environnement dans lequel évoluent les différentes races joue un rôle important et tend à diminuer la précision des prédictions interraciales (Hayes et al. 2009). Cette approche doit donc encore être étudiée afin de trouver le juste équilibre entre ce qui peut être transposé d'une race à l'autre et ce qui ne peut pas l'être.

Malheureusement, un autre problème se pose dans cette approche par équation de prédiction. Les déséquilibres de liaison entre les régions ne sont souvent pas complets : ils peuvent alors évoluer vers plus ou moins de précision. On peut voir, via la sélection, la fixation des marqueurs de manière durable dans le génome mais pas des QTL associés. Ainsi, au fur et à mesure des générations, la variabilité des QTL ne sera plus déterminée par la variabilité des marqueurs. De plus, on considère l'ensemble des QTL découverts dans le génome comme étant des régions qui ont toutes de petits effets sur un phénotype donné. Malheureusement, le phénotype complet ne peut être expliqué par ces QTL, certains présents à des fréquences très basses dans le génome n'ayant pas encore été découverts (Hayes et al. 2009). Il a également été démontré qu'au fil de la sélection, les fréquences alléliques de ces régions changent et ainsi leur effet sur le phénotype change également. La sélection de base ainsi mise en place peut, pour certains caractères, n'être que partielle car elle n'est pas basée sur l'ensemble des QTL responsables de l'expression phénotypique du caractère. Il est donc nécessaire d'entretenir la population de référence, de la renouveler. Il faudra aussi ré-évaluer régulièrement l'effet des SNP, des équations de prédiction entre les marqueurs et les QTL etc ... afin de s'assurer que le gain génétique sur le long terme ne soit pas mis en péril par ces variations de déséquilibre de liaison (Hayes et al. 2009, Daetwyler et al. 2008, Brochard et al. 2013).

Un autre défi pour la sélection génomique réside dans l'existence d'autres effets du génome sur le phénotype qui ne sont encore que partiellement compris. Les effets non-additifs comme la dominance, l'épistasie mais aussi les aléas de méiose, les recombinaisons, les effets du micro-environnement sont des effets qui ont encore besoin d'être plus étudiés afin de préciser leur rôle dans l'expression phénotypique d'un génome. Les effets polygéniques interviennent également ainsi que l'existence de relations, autres que les déséquilibres de liaison, entre les différentes régions du génome. Tout ceci joue un rôle important dans l'expression phénotypique d'un génome donné et doit être étudié afin d'augmenter la précision des prédictions qui sont faites (Hayes et al. 2009, Daetwyler et al. 2008, Howard et al. 2017).

Nous voyons donc que les effets phénotypiques des génomes ne sont pas constants entre les populations ni au

cours des générations, il faut donc constamment vérifier la puissance et la justesse des outils génomiques (Georges et al. 2018). De plus, ils ne sont pas encore compris dans leur ensemble, de nombreuses nuances dans l'expression du génome sont encore à découvrir. La génomique est une science en pleine évolution qui a donc encore beaucoup de secrets à nous livrer.

1.2. Avantages associées au développement de la sélection génomique

L'un des avantages de l'utilisation de la sélection génomique est qu'elle ne se base plus obligatoirement sur les données phénotypiques de l'individu, de ses ascendants, collatéraux ou descendants. Par ailleurs, les informations basées sur le pédigrée de l'animal sont moins précises que les informations génomiques relevées sur l'individu. En cause, nous ne pouvons pas deviner si l'individu a obtenu les versions alléliques maternelles ou paternelles des gènes d'intérêt. De plus, de nombreuses recombinaisons et mutations sont possibles lors de la reproduction sexuée. Ainsi, là où en sélection génétique, 2 frères recevaient la même valeur génétique au moment de leur naissance (car seulement basé sur le pédigrée avant de connaître leurs performances propres ou celles de leurs descendants), grâce à la sélection génomique, nous pouvons faire la différence entre ces 2 individus et permettre à l'un des 2 de se positionner comme étant « meilleur » que son frère sur certains critères et ce dès leur naissance. L'évaluation génomique est donc plus précise (Georges et al. 2018). De plus, un autre avantage de la sélection génomique est qu'elle nous permet de déterminer la valeur génétique d'un individu de manière relativement précise dès sa naissance voire alors qu'il n'est encore qu'un embryon. Cela représente une économie colossale de temps et d'argent.

Ceci est illustré dans ces schémas :

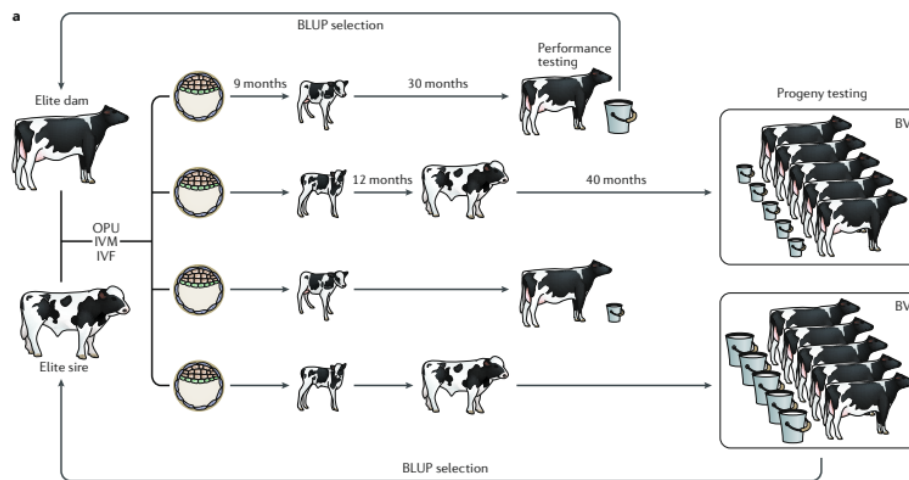


Figure 2 : Processus de sélection des reproducteurs « élites » en sélection classique (Georges et al. 2018)

En sélection génétique classique, le testage sur descendance constitue la majeure partie de l'information génétique nous permettant de donner une valeur génétique à l'individu. Ceci demande de tester plusieurs centaines d'individus ce qui est chronophage (en bovin lait, en moyenne 5 ans pour avoir un nombre suffisant de descendantes en âge de produire ou en tout cas d'être testées) et très cher (environ 50 000 dollars) (Georges et al. 2018).

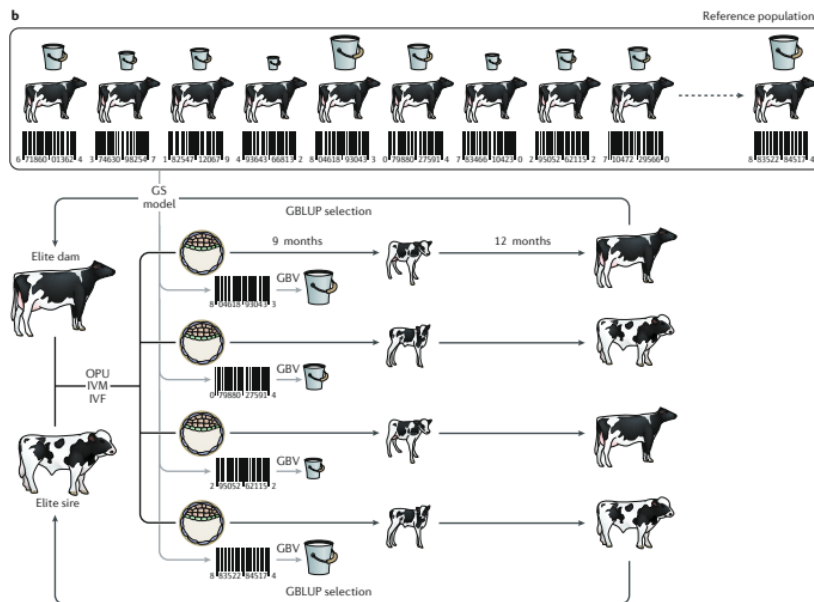


Figure 3 : Processus de sélection des reproducteurs « élites » via l'aide de la génomique (Georges et al. 2018)

La sélection génomique nous permet donc un gain de temps. Un reproducteur sélectionné ainsi peut, de manière plus précoce, être utilisé pour des accouplements avec d'autres individus sélectionnés pour faire progresser tel ou tel critère de sélection et permettre ainsi d'avoir des individus beaucoup plus performants en moins de temps (raccourcissement des intervalles de génération). Le gain d'argent est considérable également. Grâce à la génomique, nous réduisons les coûts de sélection associés à l'élevage et au testage des nombreux descendants nécessaires à la sélection génétique. Ceci n'est qu'une réduction des coûts de sélection car un testage régulier des individus doit demeurer pour évaluer le degré de précision de nos index génomiques et pour entretenir les populations de référence.

On voit également se dessiner un autre avantage : en sélection génétique, il nous faut avoir accès au testage de nombreux descendants ce qui est relativement possible pour les mâles qui, par l'insémination artificielle, peuvent avoir de nombreux descendants en peu de temps. Ceci est beaucoup moins vrai pour les femelles qui n'auront en général et au mieux qu'une seule descendante sur l'année ou en tout cas un nombre plus limité que les mâles (pour celles auxquelles ont fait produire des embryons à transférer). La sélection génomique nous permet alors d'effectuer une sélection sur la voie femelle au même titre que sur la voie mâle. Ainsi la pression de sélection et le gain génétique annuel se verraient fortement augmentés.

Enfin, la génomique nous ouvre les portes de la sélection des caractères difficilement mesurables phénotypiquement, et faiblement héréditaires pour lesquels le système de testage sur descendance ne peut pas fonctionner de manière optimale. L'intégration de ces nouveaux caractères permet d'étoffer le schéma de sélection et d'augmenter le poids des caractères peu sélectionnés aujourd'hui mais qui sont d'une grande importance dans l'évolution de l'élevage comme par exemple les critères de fertilité, de robustesse, de longévité... Tout cela étant possible en ne pénalisant pas les progrès génétiques sur les caractères fortement sélectionnés comme la production laitière par exemple. La sélection génomique nous permet de pencher vers un plus grand équilibre en matière de critères de sélection. Attention quand même à un point critique qu'est

la difficulté de collecter des informations phénotypiques de plus en plus longues, complexes à mesurer et parfois coûteuses afin d'évaluer sans cesse la précision de la prédiction génomique (Brochard et al. 2013, Georges et al. 2018). C'est là que le concept de validation des évaluations génomiques intervient. Celle-ci se fait par des études rétrospectives qui permettent de croiser les informations provenant des évaluations génomiques passées avec les index sur descendance présentes via des études de corrélations ou des pentes de régression. On peut ainsi savoir à quel point notre évaluation génomique passée était juste. En général la corrélation n'est pas parfaite. Ceci est dû au fait que les déséquilibres de liaison entre les marqueurs et les QTL sont rarement totaux. On peut améliorer le modèle en considérant toujours qu'un effet polygénique résiduel, qui ne peut pas être vu via les SNP, persiste et peut être réduit en complétant les données génomiques par des données de parenté classique (Robert-Granié et al. 2011).

1.3. Effet sur le gain génétique et le taux de consanguinité

La sélection génétique a permis la mise en place de politiques de sélection intenses et souvent unidirectionnelles pour les caractères les plus recherchés en élevage à savoir ceux qui augmentent la productivité. Il a été remarqué que ceci a engendré une stabilisation de certains caractères. En effet, ce processus de sélection a permis à de multiples allèles d'être maintenus de manière active au sein du génome au cours des générations. Cela se remarque par le fait que leur fréquence observée au sein de la population est plus importante que celle attendue dans une population sans sélection. Cette fixation concerne majoritairement les variants avec des effets importants sur le phénotype des individus. Celle-ci entraîne également une réduction de la variabilité génétique additive ainsi que le niveau de réponse au processus de sélection (Howard et al. 2017, Georges et al. 2018). Cette réduction de la variabilité met le potentiel évolutif sur le moyen et le long terme en danger. Or il est essentiel de le préserver pour permettre à la population de s'adapter à un nouvel environnement ou à de nouveaux objectifs de sélection.

La perte de variabilité génétique peut être appréciée par l'évolution du taux de consanguinité au sein de la population. Le taux de consanguinité est représenté par la probabilité que, pour un locus donné, l'individu possède 2 allèles identiques par descendance (c'est-à-dire issus d'un ancêtre commun). Les relations d'apparentement ou coefficients d'ascendance commune entre les individus sont basées sur l'analyse du pedigree et représentent la proportion du génome qui est identique par descendance entre les 2 parents (Howard et al. 2017).

L'augmentation du taux de consanguinité est inévitable lorsqu'un processus de sélection est en cours, mais le risque d'augmentation rapide apparaît lorsque l'on utilise de manière largement répandue un faible nombre de reproducteurs (considérés comme améliorateurs de la race). Par exemple, en race Holstein on estime que la population effective dans différents pays (Australie, Nouvelle-Zélande, Pays-Bas...) descend d'environ seulement 100 individus alors que la population totale comprend plusieurs dizaines de millions d'animaux (De Roos et al. 2008, Charlier et al, 2016).

La consanguinité ne s'exprime que pour les traits qui sont sujet à une relation de dominance. Deux hypothèses

sont mises en avant pour expliquer la dépression causée par la consanguinité :

- la dominance partielle suppose que les problèmes liés à un fort taux de consanguinité apparaissent à cause de l'expression d'allèles récessifs chez les individus homozygotes récessifs.

- la sur-dominance suppose que lorsque l'on a à faire à des génotypes hétérozygotes génétiquement supérieurs, l'augmentation du taux de consanguinité peut mener à une diminution de la fréquence de ces hétérozygotes génétiquement supérieurs.

Ces différences impliquent une gestion de la sélection différente : pour les dominances partielles, nous allons chercher à éliminer les allèles délétères de la population alors que pour les sur-dominances, nous allons essayer de sauvegarder les individus hétérozygotes sur de multiples loci (Howard et al. 2017).

De manière naturelle, la gestion de la consanguinité et du progrès génétique dans le monde du vivant s'explique par le fait que les individus faiblement consanguins ou fortement consanguins mais avec de bonnes performances seront choisis pour devenir les parents de la prochaine génération alors que les individus consanguins avec de mauvaises performances ne survivront pas ou ne seront pas choisis pour la reproduction. De manière artificielle, les hommes, eux, sélectionnent ces individus consanguins qui ont de mauvaises performances pour tels caractères car ils en ont de bonnes pour d'autres. Ainsi, ils sélectionnent avec les caractères d'intérêt, des tares génétiques.

La sélection génomique n'est pas épargnée par ce phénomène d'augmentation du taux de consanguinité. En effet, dans les 3 principales races françaises laitières, le gain génétique annuel et la diversité génétique des différentes populations ont été étudiés sous un régime de sélection génétique classique par testage sur descendance et sous un régime de sélection génomique (Doublet et al. 2019). La diversité génétique a été évaluée via 3 critères : le taux de consanguinité basé sur le pédigrée, le taux de consanguinité basé sur les ROH (runs of homozygosity) et la longueur des ROH. Les ROH sont des régions du génome, homozygotes pour toute une série de loci, qui sont présents suite à une transmission d'haplotypes identiques de la part des 2 parents. Pour ce qui est de la diversité génétique, que ce soit basé sur le pédigrée ou basé sur les ROH et leurs longueurs, on observe une augmentation significative du taux de consanguinité sous le régime de sélection génomique par rapport au régime classique de sélection génétique. La diminution de l'intervalle de génération ainsi que l'augmentation du ratio animal utilisé/animal disponible pour la reproduction ont été observés comme attendu dans la partie 1.2. (Doublet et al. 2019).

Pour ce qui est du gain génétique, il a été remarqué que celui-ci pouvait augmenter de manière significative sous le régime de sélection génomique par rapport au régime classique de sélection génétique (de 5 à 9 points d'ISU selon Colleau et al. 2015 sachant que l'écart-type de l'ISU est d'environ 20 points).

De manière générale, l'augmentation plus importante du gain génétique annuel sous le régime de sélection génomique peut être expliqué en majeure partie par la réduction de l'intervalle de génération. Pour ce qui est de la variabilité génétique, on pourrait s'attendre à ce qu'elle soit fortement diminuée par cette réduction de l'intervalle de génération. Néanmoins, la génomique nous permet d'évaluer un plus grand nombre d'individus potentiellement intéressants pour la reproduction (autant pour la voie mâle que la voie femelle), comme nous

le montre l'augmentation du ratio animal utilisé/animal disponible.

Des variations de résultats inter-races permettent de nuancer quelques peu les observations. En effet, pour la race internationale (Holstein), l'augmentation de la consanguinité était plus importante (basée sur le pédigrée, les ROH et leurs longueurs) que dans les deux races nationales (Montbéliardes et Normandes). Dans le même temps, il a été observé que le gain génétique était plus faible pour la race Holstein malgré le fait que l'augmentation du ratio animal utilisé/animal disponible était proportionnelle dans les 3 races. Ceci peut être expliqué par le fait que la race Holstein a subi une plus grande sélection génétique avant la mise en place de cette expérience. Cette population part donc avec une variabilité génétique déjà plus réduite par rapport aux autres races. Ceci s'explique par l'utilisation intensive d'un petit nombre de reproducteurs dit « élite » en race Holstein qui a abouti à la formation de longs ROH de manière plus importante que dans les autres races. La sélection génomique peut donc nous permettre de réduire l'augmentation du taux de consanguinité via l'utilisation d'un plus grand nombre d'individus pour la reproduction. Mais il faut garder en tête que cela peut être nuancé par la variabilité génétique présente au départ au sein de la population à sélectionner et que la diminution de l'intervalle de génération jouera toujours en notre défaveur (Doublet et al. 2019).

Bien que cette croyance soit bien ancrée dans les mentalités, nous venons de voir que gain génétique et variabilité ne sont pas forcément toujours corrélés négativement. Il est possible d'avoir un bon gain génétique annuel tout en préservant la variabilité génétique et en ayant une bonne maîtrise de l'augmentation de la consanguinité. C'est ce que s'efforcent de faire les sélectionneurs via les nouvelles possibilités offertes par la sélection génomique.

Ceci peut être visualisé par une équation : $\Delta G = i * p * rA$. Le gain génétique ΔG est égal au produit de l'intensité de sélection i avec la précision des valeurs génétiques p et l'écart-type génétique additif rA . Pour augmenter le gain génétique, on peut donc augmenter l'intensité de sélection. La plupart du temps cela se fait en réduisant le nombre d'individus sélectionnés pour former la génération suivante. Le second moyen est d'augmenter la précision de notre évaluation, ce qui est permis par la sélection génomique (Daetwyler et al. 2008). Nous allons ainsi détailler et illustrer ces 2 points clés.

L'un des critères sur lequel la sélection génomique peut nous aider à diminuer le taux de consanguinité est le nombre d'individus que l'on va utiliser comme parents pour la génération suivante. Via des logiciels informatiques, 20 ans de sélection ont été simulés en 2015 par Colleau et al. Ils ont alors testé 5 programmes de sélection génomique différents faisant varier la taille et le mécanisme de sélection de la population dite « parent » (mère à taureaux, père à taureaux, taureaux de service). La sélection des pères à taureaux se faisait par sélection génomique à l'entrée en station et à l'âge d'un an puis suite à un testage sur descendance (correspondant à des taureaux relativement âgés) ou non (correspondant à de jeunes taureaux), les meilleurs ou tous sans distinction étaient utilisés comme taureaux de service pour une diffusion plus ou moins grande dans la population. Quant à la sélection des mères à taureaux, elle pouvait se faire simplement sur base de leurs valeurs génétiques classiques (menant à un petit nombre de candidates) ou sur base de leurs évaluations génomiques (menant à un plus grand nombre de candidates).

Les résultats de ces simulations nous montrent que le taux de consanguinité le plus bas se retrouve lorsque que la sélection des mères à taureaux se fait sur base de la génomique avec un grand nombre de candidates potentielles. Du côté des pères, le taux de consanguinité le plus bas est obtenu lorsque : le nombre total de père à taureaux augmente, les taureaux diffusés sont plus nombreux, jeunes, diffusés de manière moins large, sans distinction entre les pères à taureaux et les taureaux de service (c'est-à-dire que tous les taureaux sont utilisés en première diffusion sans réévaluation par testage sur descendance pour déterminer les meilleurs parmi les meilleurs). Ces simulations nous montrent également un gain génétique annuel plus que respectable y compris dans les schémas où le taux de consanguinité est le plus faible.

On voit donc qu'en nous permettant l'utilisation précoce de nombreux jeunes animaux de manière limitée dans le temps sur base de leur évaluation génomique, la sélection génomique nous permet d'obtenir un bon gain génétique, à moindre coût, tout en réduisant l'augmentation du taux de consanguinité au sein de la population. Ceci met en lumière le problème que pose la politique du « star system ». Cette politique consiste en l'utilisation massive d'une petite poignée de taureaux dits « exceptionnels » comme parents de la génération future. Cette politique était compréhensible au moment de la sélection génétique avec testage sur descendance car l'évaluation d'un grand nombre de taureaux aurait coûté trop cher. Ainsi les meilleurs étaient âgés (le temps de faire le testage sur descendance), peu nombreux et utilisés de manière ultra-abondante par inséminations artificielles pour rentabiliser l'investissement initial (Brochard et al. 2013, Colleau et al. 2015). Nous voyons ainsi se dessiner les préconisations majeures de l'utilisation de la sélection génomique dans l'optique de réduire l'augmentation du taux de consanguinité : augmenter le nombre de pères à taureaux (dans l'idéal égal au nombre de taureaux diffusés), favoriser l'utilisation des jeunes taureaux et pour un temps limité (turnover), éviter la réutilisation de taureaux confirmés par testage sur descendance, augmenter le nombre de mères à taureaux (Colleau et al. 2015).

La taille théorique de la population utilisée pour la formation des générations futures et permettant une utilisation équilibrée des ancêtres est reprise sous le terme de N_e (nombre d'ancêtre efficace). Il a été démontré que pour éviter une dépression de consanguinité sur le court terme, N_e doit être au minimum de 50 individus. Alors que pour éviter une dépression de consanguinité sur le long terme, N_e doit être au minimum de 500 individus (Howard et al. 2017). Bien entendu, N_e peut varier selon les régions du génome étudié car les fréquences alléliques ne sont pas les mêmes pour tous les caractères. Il convient alors de se baser sur la valeur de N_e la plus grande associée aux caractères d'intérêt que l'on veut sélectionner (Howard et al. 2017).

Dans un second temps, il ne faut pas oublier que la sélection génomique nous permet d'avoir des informations plus précises sur le génome de l'individu car elle permet d'avoir l'information sur les résultats des aléas de méiose (recombinaison, mutation...) et ce dès la naissance. Comme expliqué précédemment, sans information génomique, on ne peut pas faire la différence en termes de valeurs génétiques entre 2 frères. Ces informations sont utiles lors des accouplements puisque la dépression de consanguinité peut venir de la présence d'individus homozygotes récessifs pour des allèles délétères ou de la perte d'individus hétérozygotes au sein de la population. Via la connaissance exacte du génome des futurs parents permise par la sélection génomique, nous

pouvons éviter d'accoupler des individus proches génotypiquement afin de diminuer la dépression de consanguinité (Daetwyler et al. 2008).

Ce principe est la base via laquelle a été construite des matrices représentant la diversité génétique de régions spécifiques du génome ou du génome tout entier, construites à partir de l'information généalogique (A) ou l'information génotypique (G). La corrélation entre (A) et (G) dépend de la taille du pedigree disponible pour la construction de (A) : plus elle est grande plus l'information sera précise et se rapprochera de celle contenue dans (G). La précision de (A) ne sera bien sûr jamais égale à (G) puisqu'elle ne prend pas en compte les aléas de méiose. La comparaison des matrices de 2 individus permet ainsi de déterminer leur degré d'apparentement pour certaines régions du génome ou pour le génome tout entier. Ceci permet de choisir parmi plusieurs individus ceux qui ont le moins de similitudes pour des allèles délétères par exemple. Comme vu précédemment, certaines régions du génome possèdent des fréquences plus élevées pour certains allèles, les rendant ainsi plus sensibles à une augmentation de leur taux de consanguinité. L'une des approches pour répondre à ce problème serait la construction d'une matrice où les valeurs génétiques des différents loci seraient pondérées de manière inversement proportionnelle à leur fréquence allélique. Ainsi, les allèles favorables qui ont une fréquence plus faible pourraient être conservés et les allèles défavorables qui ont une fréquence plus forte pourraient être éliminés. Mais cela demande encore de nombreuses recherches pour arriver à sélectionner de manière totalement indépendante des allèles présents au sein d'un seul et même génome (Howard et al. 2017).

2. La mortalité embryonnaire d'origine génétique

Parmi les avancées en matière de recherches d'anomalies génétiques, la sélection génomique nous a permis de découvrir l'existence de nombreuses mutations menant à des mortalités embryonnaires ou fœtales et induisant ainsi une perte de fertilité chez les vaches laitières.

2.1. Chute de la fertilité et détermination de son origine génétique

Une chute de la fertilité chez les vaches laitières françaises a été constatée vers la fin des années 90 et s'est poursuivie jusqu'à ce que la réorientation forte des objectifs de sélection des différentes races porte ses fruits et vienne redresser la situation. Cette baisse de la fertilité se caractérise par une augmentation du taux de non-retour en chaleur, une augmentation de l'intervalle vêlage-IA fécondante et donc de l'intervalle vêlage-vêlage, une baisse du taux de gestation... Cette baisse de la fertilité représente un coût non négligeable pour les éleveurs qui a été évalué à l'échelle des Etats-Unis à plusieurs centaines de millions de dollars (VanRaden et al. 2011, Georges et al. 2018). Il a été constaté au fil des études que la baisse de la fertilité des vaches était souvent corrélée positivement avec le rang de lactation et les performances laitières : les vaches les plus performantes en termes de quantité et de qualité du lait ayant une baisse de fertilité plus importante. Ceci peut s'expliquer par le fait qu'il existe une forte corrélation génétique négative entre les caractères de production et ceux de fertilité (Brochard et al. 2013) ainsi que par la compétition énergétique

naturelle entre les fonctions biologiques de production laitière et de reproduction au détriment de cette dernière. Une augmentation de la mortalité embryonnaire précoce et tardive a également été enregistrée chez ces vaches-là (Pinto et al. 2000). C'est ainsi que les chercheurs se sont intéressés au lien qui pouvait exister entre la sélection vers une augmentation de la production laitière, la baisse de fertilité et les données d'augmentation de la mortalité embryonnaire associées.

L'accessibilité grandissante au génotypage de masse et la création de bases de données importantes ont permis des études du génome plus poussées afin de déterminer les mutations à l'origine des changements de phénotype au sein de la population. La plupart de ces mutations ont été décrites comme partiellement dominantes. Celles-ci se caractérisent par le fait que les individus qui expriment un phénotype d'intérêt sont hétérozygotes pour certains loci mais les individus homozygotes récessifs pour ces loci sont, eux, victimes d'un phénotype problématique. L'augmentation de l'intensité de sélection et donc du taux de consanguinité a pour conséquence l'augmentation de la fréquence d'apparition de ces individus homozygotes récessifs. Leurs tares peuvent être exprimées par un phénotype anormal qui cause des pertes au sein de l'élevage.

Lorsque ces tares sont signalées aux organismes de sélection, les génomes des individus peuvent être récoltés, cartographiés et comparés aux génomes de la population de référence pour déterminer s'il s'agit de tares génétiques et essayer d'identifier la mutation à l'origine du phénotype anormal. La technique alors utilisée s'appelle la cartographie par homozygotie (Duchesne et al. 2016).

Celle-ci peut être illustré de manière schématique :

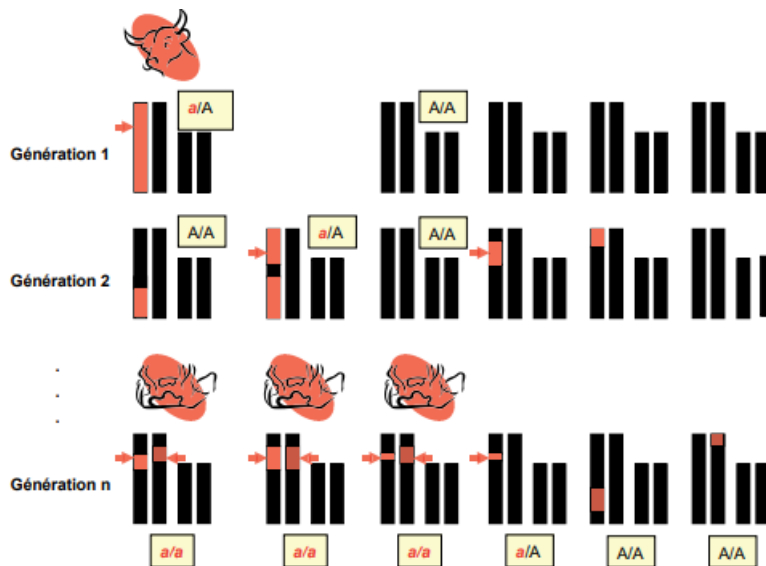


Figure 4 : Illustration de la cartographie par homozygotie (Duchesne et al. 2016).

Les individus atteints par ces mutations sont homozygotes récessifs pour la mutation mais aussi pour l'haplotype qui encadre ce fragment. Cet haplotype est plus ou moins grand selon si la mutation d'origine s'est produite il y a plus ou moins longtemps dans la généalogie de l'individu génotypé (car raccourci à chaque recombinaison).

Lors de ce processus, le génome de l'individu atteint est d'abord aligné sur le génome de la population de

référence, on observe alors des variations entre les deux. Ces variants sont ensuite filtrés à l'aide de différents critères. La présence d'individus homozygotes non atteints comme la présence d'individus hétérozygotes atteints pour certains variants en font des candidats à éliminer. Pour entraîner un phénotype anormal, les variants doivent principalement être présents dans des régions codantes du génome. Ainsi, tous ceux qui n'y sont pas peuvent également être éliminés. Puis, via l'étude plus approfondie des mutations, celles qui entraînent l'ajout ou la suppression d'un codon stop ou d'un codon d'initiation, ceux entraînant un décalage du cadre de lecture, ceux induisant un changement d'acides aminés avec des propriétés fortes différentes ou ceux qui sont présents dans une région fort conservée du génome entre espèces feront l'objet d'une étude prioritaire car ils sont plus à même d'entraîner l'expression d'un phénotype différent du phénotype normal (Duchesne et al. 2016).

Parmi tous les variants retenus, une analyse biostatistique permet d'effectuer de nouveau un tri. Celui-ci s'effectue en essayant d'estimer le niveau de concordance, pour les différents variants, entre les atteints, les sains et les porteurs, leurs relations de parenté, leurs fréquences au sein de la population etc ...

La validation fonctionnelle intervient ensuite pour confirmer que les quelques variants restants peuvent être à l'origine du phénotype observé. L'effet de causalité doit alors être prouvé expérimentalement à partir d'études menées sur les tissus biologiques disponibles. Ceci peut être fait par la vérification du niveau d'expression des gènes, d'expression des protéines, par étude du transcriptome ou du protéome. Cette validation peut aussi se faire par l'étude de cultures cellulaires provenant du porteur ou encore par la création d'une population de souris (ou autre animal de laboratoire) chez qui on va induire la mutation et la création d'individus homozygotes et chez laquelle on va ensuite étudier les effets de la mutation à différentes échelles (cellule, organe, individu) et à différents stades de vie. Cette dernière approche est relativement lourde et coûteuse à mettre en place et peut parfois ne pas aboutir : par exemple quand la mutation induit des modifications spécifiques à la race bovine (Duchesne et al. 2016, Georges et al. 2018).

Le principal frein à cette étude dite « du phénotype à la mutation causale » est le fait que parfois, les mutations ne sont pas observables phénotypiquement. Typiquement, des mutations qui entraînent des syndromes banales ou compatibles avec l'élevage ne seront pas signalés. De même, une mutation qui entraînera de la mortalité embryonnaire précoce ne sera pas détectée car elle n'induirait qu'une baisse de la fertilité très difficile à déceler. A ce stade, aucun échantillon biologique permettant de génotyper les individus atteints n'est disponible, ainsi l'approche que l'on vient de décrire n'est plus envisageable.

C'est alors que se développe une autre approche dite « top-down » qui va être mise en place avant qu'on ne détecte les effets des mutations sur le phénotype (Fritz et al. 2016). C'est cette méthode qui nous intéresse dans le cadre des mortalités embryonnaires. En effet, si l'on considère une mutation qui survient chez un individu. Si indépendamment, cet individu ou un de ses descendants porteur de la mutation devient un reproducteur élite, il va être largement utilisé et sa mutation se répand dans la population jusqu'à ce que l'on arrive à la formation d'individus homozygotes pour la mutation et l'haplotype qui l'entoure. Ceux-ci meurent pendant leur développement embryonnaire et donc avant de pouvoir être génotypés dans le cadre classique de

l'évaluation génomique (4 à 6 mois en moyenne pour les femelles en élevage, et vers un mois pour les candidats mâles). On va alors observer un déficit en homozygotes dans la population génotypée. Grâce au développement du génotypage de masse, on a eu accès à une base de données génomiques très importante de nombreux individus appartenant à certaines races de vaches laitières françaises. Via une analyse génomique de ceux-ci, l'information haplotypique, c'est-à-dire la distinction des allèles reçus du père et de la mère des individus a pu être déterminée. On utilise alors une fenêtre de lecture composée de 20 marqueurs que l'on va glisser tout le long du génome et à chaque position, la fréquence de chaque combinaison d'allèles va être calculée. Seules celles qui ont une fréquence supérieure à 1% seront conservées. Pour chaque combinaison d'allèles conservée, le nombre observé d'homozygotes va être comparé au nombre attendu que l'on calcule grâce aux fréquences calculées, aux lois de probabilité de transmission des haplotypes (selon l'équilibre de Hardy-Weinberg), aux nombres d'individus génotypés etc... On considère qu'un QTL est détecté lorsque l'on observe une différence significative entre la fréquence observée et la fréquence attendue d'homozygotes pour l'haplotype en question via un test χ^2 (Fritz et al. 2016).

Cette détection du déficit en homozygotes nécessite néanmoins quelques conditions : la fréquence de l'haplotype dit porteur doit être assez grande dans la population et donc la taille de la population analysée doit être assez importante. Il doit également y avoir un déséquilibre de liaison assez élevé entre l'haplotype dit porteur et le variant responsable de la mortalité embryonnaire pour que la détection du déficit d'homozygotes pour l'haplotype reflète bien le déficit en homozygotes pour le variant délétère (Fritz et al. 2016).

Il faut faire très attention à un point clé dans cette approche qui est la base de données. En effet, celle-ci provient du génotypage des individus dit « prometteurs » ou « améliorateurs de la race » et ne représente donc que cette fraction là de la population entière. Il faut donc s'assurer qu'un déficit en homozygotes que l'on voudrait associer à de la mortalité embryonnaire ne soit pas biaisé par ce génotypage sélectif. En effet, les individus porteurs d'une anomalie incompatible avec l'élevage ne seront pas génotypés. La mutation qui est responsable de leur état apparaîtra alors dans les mutations avec un déficit en homozygotes (Fritz et al. 2016). Or, cela ne viendra pas du fait qu'ils sont morts à l'état embryonnaire mais simplement qu'ils ne font pas partie de la base de données. Il est donc nécessaire de vérifier que les mutations en lien avec un déficit d'homozygotes sont bien responsables de mortalité embryonnaire. C'est là que l'analyse de la base de données des inséminations artificielles va nous aider. En effet, en caractérisant, à postériori, les accouplements comme étant à risque (entre un père porteur et une fille d'un père porteur) ou non, il est possible de déterminer si, pour les haplotypes étudiés, un accouplement à risque a donné une baisse du taux de conception. Cette baisse est de l'ordre de 5-6% maximum si on suppose une association complète entre la présence de l'haplotype dit porteur et la présence de la mutation et la mortalité embryonnaire systématique associée (Fritz et al. 2016).

Une fois les haplotypes comprenant un déficit d'homozygotes détectés, la recherche de la mutation causale s'effectue de la même manière que décrit précédemment dans la technique du « phénotype à la mutation causale ». Néanmoins, l'usage de cette technique se corse lorsqu'arrive l'étape de la validation fonctionnelle car il nous est impossible d'obtenir des échantillons biologiques des porteurs homozygotes. On utilise alors le

génotypage à grande échelle : on insère les haplotypes candidats dans les puces SNP utilisées pour étudier le génome des candidats à la sélection. Ainsi, on peut vérifier sur un très grand nombre d'individus qu'aucun n'est homozygote pour la mutation candidate. Le déséquilibre de liaison entre la mutation et l'haplotype et la fréquence de la mutation au sein de la population peuvent aussi être déterminés par la même occasion (Fritz et al. 2016, Georges et al. 2018).

La technique que nous venons de décrire ne fonctionne que si le déséquilibre de liaison entre l'haplotype et la mutation causale est presque parfait. Or, ce n'est pas toujours le cas. Une autre approche qui permet de palier à ce problème a été décrite pour détecter les mutations responsables de mortalité embryonnaire. Celle-ci se base aussi sur le typage à grande échelle. Mais au lieu d'intégrer dans les puces à ADN les haplotypes qui présentent un déficit d'homozygotes, on intègre dans celles-ci des variants qui ont été détectés comme engendrant des pertes de fonction et des variants non synonymes délétères. Ceux-ci sont responsables de la formation de codons d'initiation ou de codons stop, de décalage du cadre de lecture, de changements d'acides aminés d'expression plus ou moins synonymes au sein de la protéine ... Ils sont donc plus à même de provoquer une anomalie au cours du développement embryonnaire entraînant la mort de l'embryon. Grâce à cette approche, 15% des variants entraînant une perte de fonction et 6% des variants non synonymes délétères ont été détectés comme entraînant de la mortalité embryonnaire. Parmi ceux-ci, 9 nouveaux variants ont été détectés n'ayant pas été mis en évidence par l'approche basée sur les haplotypes (Charlier et al. 2016, Georges et al. 2018).

En 2013, ce n'est pas moins de 17, 11 et 6 haplotypes avec un déficit d'homozygotes qui avaient été découverts en Holstein, Montbéliarde et Normande respectivement (Fritz et al. 2013). Depuis 2013, de nombreuses autres anomalies sont venues s'ajouter à cette liste. Les anomalies les plus fréquentes ont été étudiées, et pour 6 d'entre elles en Holstein et 2 en Montbéliarde, les mutations et leurs implications physiologiques dans la mortalité embryonnaire ont été découvertes. C'est à celles-ci que nous allons maintenant nous intéresser.

2.2. Exemples illustrés d'anomalies létales récessives en race Montbéliarde et Holstein

En race Montbéliarde, le système de génotypage de masse a permis d'identifier 11 haplotypes présentant un déficit d'homozygotes. Parmi eux, 2 haplotypes reviennent avec une fréquence élevée (9% et 7%). Ils sont appelés respectivement MH1 et MH2 (Michot et al. 2017).

En race Holstein, parmi les 17 haplotypes avec déficits d'homozygotes, 5 ont été étudiés de manière plus approfondie et on sait désormais qu'ils comprennent bien des mutations responsables de mortalités embryonnaires. Comme pour la race Montbéliarde, ces anomalies ont été nommées de la manière suivante : HH1, HH3, HH4, HH5, HH6. Cette dénomination est utilisée pour nommer les haplotypes affectants la fertilité chez les différentes races de vaches laitières, par exemple HH1 : Holstein Haplotype 1 etc ...

Intéressons-nous d'abord à MH1. Suite à l'étude du déficit en homozygotes, il a été découvert qu'une mutation

au niveau du chromosome 19 (SHBG) associée à l'haplotype MH1 pourrait être responsable de mortalité embryonnaire (Fritz et al. 2013). Comme expliqué précédemment, dans le but de confirmer cette hypothèse, cette mutation a été intégrée dans les puces à ADN pour une génotypage de masse. Malheureusement, il a été découvert une proportion non négligeable d'individus homozygotes pour la mutation au sein de la population (242 observés pour 650 attendus). Ceci provient du fait que l'haplotype qui lui ne présente aucun individu homozygote est en déséquilibre de liaison faible avec la mutation. Celle-ci a donc été rejetée (Michot et al. 2017). L'étude plus approfondie de l'haplotype MH1 a permis la précision de celui-ci. En effet, par l'étude des recombinaisons au sein de l'haplotype MH1, il a été découvert que de chaque côté de la région d'intérêt (c'est-à-dire celle qui contient la mutation), des recombinaisons ont eu lieu et des morceaux de l'haplotype MH1 ont été découvert comme étant homozygotes alors que les individus génotypés étaient par la force des choses, vivants. Ces morceaux d'haplotype ne pouvaient donc pas contenir la mutation responsable de la mortalité embryonnaire. Par suppression de ces régions, la taille de l'haplotype a été réduite de 27 marqueurs à seulement 12 marqueurs appelés haplotype MH1s. Parmi les fragments d'haplotype rejetés se trouvaient la mutation SHBG ce qui nous confirme que celle-ci ne pouvait pas être la mutation causant la mortalité embryonnaire. Par l'analyse de l'association entre l'haplotype MH1, l'haplotype MH1s et les cas de mortalités embryonnaires, il a été découvert que contrairement à l'haplotype MH1, des individus homozygotes pour l'haplotype MH1s étaient vivants dans la population (Michot et al. 2017). Ceci a poussé à des recherches plus précises sur cet haplotype réduit. Il a été découvert que 2 versions de cet haplotype circulent dans la population : un ancestral comportant la mutation (et faisant partie de l'haplotype MH1) et un recombinant ne le comportant pas. Via des données de pédigrées et des analyses de ces 2 versions de l'haplotype MH1s, il a été découvert que la version ancestrale proviendrait d'un seul et même individu : Boislevin, un taureau qui a été largement utilisé comme reproducteur au sein de la population Montbéliarde. De même, les versions recombinées de l'haplotype MH1s proviendraient de ses descendants Redon et Rapallo. L'analyse de l'haplotype MH1 convient donc mieux que celle de MH1s pour la détection de la mutation causale. C'est ainsi que le total des 27 variants présents dans l'haplotype MH1 et ne présentant pas le statut d'homozygote ont été étudiés via la méthode classique « top down ». C'est parmi ces variants que 2 nouvelles mutations candidates ont été identifiées. Une en particulier a retenu l'attention car celle-ci affecte une région très conservée du génome, cause un changement d'acides aminés délétère et est absente des autres races laitières. De plus, son intégration dans une puce à ADN, le génotypage de masse et l'étude des accouplements à risque a permis de montrer qu'elle était en déséquilibre de liaison quasiment parfait avec l'haplotype MH1 et associée de manière systématique à la mortalité embryonnaire. On peut se demander pourquoi cette mutation n'a pas été découverte en 2013. Ceci provient d'un manque d'information génomique concernant cette région de l'haplotype chez les 2 individus porteurs référentiels utilisés en 2013. Ceci souligne l'importance d'avoir un nombre suffisant d'individus dans notre population de référence et d'avoir une bonne précision dans le génotypage du segment d'intérêt (Michot et al. 2017). Cette mutation se situe sur le chromosome 19 et consiste en un changement d'allèle C vers T. L'expression de ce changement entraîne une substitution d'une arginine par une cystéine

dans un domaine codant pour une phosphoribosylformylglycinamide synthétase (PFAS). Cette synthétase intervient dans 4 étapes de la synthèse de novo des purines. Les purines sont essentielles au métabolisme cellulaire par leur fonction dans la synthèse de l'ADN, de l'ARN, des molécules de support de l'énergie. Par leur fonction, leur demande est plus importante au moment du développement embryonnaire et leur manque peut donc entraîner une mortalité précoce (Michot et al. 2017).

D'autres mutations entraînant le même dysfonctionnement dans cette cascade de synthèses ont été décrites comme entraînant de la mortalité embryonnaire chez d'autres espèces et d'autres races. En effet, en race Holstein, l'anomalie HH4 consiste en un changement de nucléotide de A vers C dans une région codante pour une protéine appelée GART qui joue un rôle dans la synthèse des purines. Ce changement de nucléotide entraîne une substitution d'asparagine par une thréonine dans la formation de cette protéine. L'asparagine est un acide aminé qui est très conservé chez les eucaryotes, ce qui en fait un candidat intéressant pour la mortalité embryonnaire. Une dernière confirmation pour cette mutation candidate provient d'une baisse significative de la fertilité parmi les accouplements à risque (Fritz et al. 2013).

La même méthodologie a été employée pour l'anomalie HH6 en race Holstein. Le taureau Mountain est le plus ancien taureau chez qui nous avons retrouvé l'haplotype HH6s ancestral et les recombinants proviendraient de ses descendants, Donor et Rouki. L'étude de l'haplotype HH6 a permis de mettre en évidence une anomalie au niveau du chromosome 16, sur la région codante pour la protéine SDE2. Un changement de nucléotide de A vers G induit la disparition d'un codon start. Ceci a pour effet de priver la protéine SDE2 de 83 acides aminés à l'intérieur desquels 8 régions sont fortement conservées chez les eucaryotes. Cette protéine tronquée ne peut donc plus remplir son rôle de stabilisateur du génome durant la réplication. Cette réplication étant très importante lors du développement embryonnaire, cela peut expliquer pourquoi la mort de l'embryon survient chez les individus homozygotes pour la mutation SDE2 (Fritz et al. 2018). L'effet des mutations PFAS et SDE2 a été étudié via la même méthode afin de déterminer quand celles-ci devenaient la source d'une mortalité au cours du développement embryonnaire. Pour cela, l'étude d'un non-retour en chaleur au jour 56 post première IA a été effectuée chez les accouplements à risque. Une baisse significative du taux de conception a été mise à jour autant chez les génisses que chez les vaches multiparts. Une diminution du taux non-retour en chaleur à 56 jours, indique que la mortalité embryonnaire a eu lieu avant le jour 35. En effet, l'augmentation du taux de retour en chaleur avant le jour 56 indique que la vache a repris son cycle de 21 jours après la mortalité embryonnaire, celle-ci a donc pu survenir entre le jour 0 et le jour 35. L'accouplement d'individus porteurs a permis l'analyse génotypique des embryons formés. Les embryons homozygotes récessifs pour ces mutations étant encore présents jusqu'au jour 7, on peut supposer que la mortalité embryonnaire due à la mutation PFAS intervient entre J7 et J35 (Michot et al. 2017, Fritz et al. 2018).

Parmi les haplotypes présentant un déficit en homozygotes, l'haplotype HH1 présent sur le chromosome 5 a été étudié en combinant la méthodologie que nous venons de voir pour MH1 et HH6 (étude des haplotypes recombinants et du pédigrée) avec la méthode classique « top-down ». En effet, il a été découvert que la

mutation associée à l'haplotype HH1 est apparu chez un taureau appelé Chief. Les génotypes de ce taureau et de ses descendants Mark et Ivanhoe Chief, considérés comme porteurs et Valiant, considéré comme non porteur, ont été étudiés dans le but de trier les variants comme étant potentiellement responsables de mortalité embryonnaire ou non (Adams et al. 2016). Ainsi, 3 variants ont été suspectés. Parmi ces 3 variants, 2 d'entre eux causent des substitutions sans conséquences car synonymes. Mais le dernier a retenu l'attention par le fait qu'il entraîne un changement de nucléotide de C vers T dans une région codante pour le facteur APAF1 responsable de l'activation des peptides causant l'apoptose. Cette mutation induit la formation d'un codon stop, privant ce facteur de 670 acides aminés terminaux. La non-régulation de l'apoptose ainsi induite par la mutation a été identifiée comme étant la cause de la mortalité embryonnaire chez les individus homozygotes. Une mutation semblable a été découverte chez des souris et cause également la mort embryonnaire entre le jour 0 et le jour 16 de gestation. De plus, le mode de confirmation développé dans la méthode « top-down » a été utilisé pour cette anomalie et aucun individu homozygote n'a été découvert. Tout ceci conforte l'idée que cette mutation du gène APAF1 est la responsable de la mortalité embryonnaire suspectée par le déficit d'homozygotes (Adams et al. 2016).

Chief est le taureau qui a été le plus utilisé en race Holstein. Par un calcul basé sur la fréquence de l'haplotype HH1, la contribution de Chief dans la population Holstein, et la taille actuelle de la population, il a été estimé être à l'origine de plus de 500 000 avortements à travers le monde. Ces avortements sont responsables d'une perte de 800 dollars chacun, élevant le coût du problème que représente cette mutation à plus de 420 millions de dollars. Ceci semble être un chiffre très préoccupant, mais lorsque l'on regarde le gain génétique en matière de production laitière dont Chief est à l'origine et si on chiffre ce gain de production, on voit qu'il est de plus de 30 milliards de dollars. On voit ici l'importance de la détection et de la prise en charge de ces anomalies au sein de la race Holstein afin d'éviter d'avoir des individus homozygotes qui vont mourir mais que celle-ci doit se faire en prenant également en compte les avantages que la transmission d'un tel génome apporte à la race (Adams et al. 2016).

Concernant l'haplotype MH2, l'approche a été plus classique. En effet, par l'étude du déficit en haplotypes (« top-down ») et la confirmation par le génotypage à grande échelle, aucun individu homozygote pour la mutation candidate lié à l'haplotype MH2 n'a été détecté. Ce qui confirme que cette mutation peut être à l'origine de mortalité embryonnaire (Fritz et al. 2013). Celle-ci consiste en l'introduction d'un codon stop au début de la formation de la protéine SLC37A2. Cette protéine est une protéine de transport transmembranaire qui permet de passage de nombreux solutés. D'autres mutations entraînant un problème de transport de soluté ont été mises en évidence chez les hommes, les souris et d'autres animaux de production. Celles-ci sont également connues pour entraîner des mortalités embryonnaires, ce qui renforce le poids de cette mutation candidate. Cette protéine SLC37A2 est un antiport du glucose-6-phosphate lui-même connu pour être une molécule clé dans le métabolisme énergétique et celui de nombreuses enzymes essentielles au développement embryonnaire. Ainsi, un déséquilibre en glucose-6-phosphate dû à un problème de transport transmembranaire peut tout à fait être à l'origine de mortalité embryonnaire (Fritz et al. 2013). Cette mutation est donc considérée

comme étant, de manière très probable, une autre mutation à l'origine de mortalité embryonnaire en race Montbéliarde.

Les reproducteurs améliorateurs de la race Montbéliarde n'ont pas été utilisés que dans cette race. En effet, des sélectionneurs de la race allemande Vorderwald ont utilisé de la semence de 5 taureaux Montbéliards dans un souci d'augmentation de la productivité laitière de leur animaux. L'étude de la mortalité embryonnaire et du pédigrée plus restreint de cette race a permis l'identification ou la confirmation des individus à l'origine des mutations responsables de mortalité embryonnaire (Reinartz and Disti, 2019). Ainsi, parmi les individus génotypés en race Vorderwald, 313 individus n'ont pas été concernés par la mutation PFAS (étant homozygotes sauvages) et 41 individus étaient hétérozygotes pour cette mutation. Comme en race Montbéliarde, aucun individu homozygote muté n'a été observé. Par l'analyse de la généalogie des animaux hétérozygotes, un ancêtre commun, supposé comme étant à l'origine de la mutation, a été découvert. Il s'agit du taureau Montbéliard E. Celui-ci a pour mère une fille de Debout. Ce taureau est le grand père de Boislevin qui avait été considéré comme étant à l'origine de la mutation par des études en race Montbéliarde. Les analyses en race Vorderwald nous précisent alors que l'origine de cette mutation remonte un peu plus loin dans le pédigrée de Boislevin et du taureau E à savoir le taureau Debout.

Via la même technique de recherche que pour la mutation PFAS (MH1), pour la mutation SLC37A2 (MH2), un ancêtre commun à tous les individus hétérozygotes a été identifié. Il s'agit du taureau Montbéliard F. La généalogie de ce taureaux parmi la race Montbéliarde n'a pas été renseignée.

On voit donc que l'étude du pédigrée et le génotypage de nombreux individus au sein de 2 populations distinctes mais où plusieurs mêmes taureaux ont été largement diffusés permet l'amélioration de la détection de l'origine d'une anomalie génétique provenant de ces taureaux (Reinartz and Disti, 2019).

L'étude du déficit en homozygotes ne mène pas toujours à la découverte de mutations totalement pénétrantes. C'est-à-dire que pour certaines mutations, la totalité des individus homozygotes récessifs ne vont pas automatiquement mourir au stade embryonnaire. C'est le cas par exemple pour l'anomalie associée au gène FANCI en race Holstein. Celle-ci va entraîner de la mortalité embryonnaire chez certains individus homozygotes récessifs, les autres vont naître avec des anomalies plus ou moins importantes. C'est l'étude de l'anomalie Brachyspina qui va permettre de mettre en évidence cette mortalité embryonnaire (Charlier et al. 2012). Le syndrome Brachyspina est un syndrome présent chez des individus Holstein caractérisé par une perte de poids, un retard de croissance, des malformations vertébrales, du brachygnatisme et d'autres malformations d'organes internes. La méthode du « phénotype à la mutation causale » a permis l'identification d'un haplotype commun sur le chromosome 21 présent à l'état homozygote récessif chez les individus touchés et homozygote dominant ou hétérozygote chez les individus sains composants la population de référence. Le séquençage de cet haplotype a permis la mise en évidence d'une délétion de 3.3kb entraînant la disparition de 3 exons (25, 26, 27) codants pour la formation de la protéine FANCI. Celle-ci est une protéine clé dans la réparation de l'ADN. Une anomalie semblable a été découverte en humaine causant également des problèmes de retards de croissance, d'anomalies du squelette et d'organes internes. Ceci renforce l'hypothèse que cette

délétion est responsable de l'état phénotypique anormal des individus atteints. De plus, le génotypage de masse a permis de confirmer que chez tous les individus Brachyspina la délétion était présente alors qu'elle était absente chez les individus sains. Cette délétion est présente à la fréquence de 7.4% dans la population Holstein. Or, avec cette fréquence, les Brachyspina devraient représenter 1 cas sur 730, ce qui est loin d'être le nombre de cas reporté qui est beaucoup plus faible ($1/10^5$ cas). L'hypothèse de la mort embryonnaire de certains individus homozygotes récessifs pour la délétion a donc été testée par l'étude du taux de retour en chaleur lors d'accouplements à risque. Il a été démontré que ce taux de retour en chaleur augmentait de plus de 7% entre les accouplements non à risques et ceux à risque. Ceci suggère que parmi les 13.4% d'homozygotes récessifs potentiellement formés lors de l'accouplement à risque, 52% meurent pendant la gestation (Charlier et al. 2012).

Cette longue liste, bien que non exhaustive, d'anomalies génétiques entraînant de la mortalité embryonnaire a permis de comprendre les différentes méthodes par lesquelles elles ont été mises en lumière chez les 2 principales races de vaches laitières françaises. Bien entendu, d'autres exemples de ce type d'anomalies ont également été découverts en race Normande, Brune Suisse, Jersey etc ...

Au fil des années, l'accessibilité grandissante des données génomiques chez les vaches laitières va induire la multiplication des études génétiques relatives aux caractères fonctionnels. Cela va aboutir de manière inévitable à la découverte de plus en plus d'anomalies responsables de mortalité embryonnaire. Ces anomalies, du fait d'une utilisation importante de quelques reproducteurs et d'autant plus que l'élévation de la consanguinité dans la race sera importante, induise des pertes économiques en élevage et à l'échelle de la population tout à fait conséquentes.

Il paraît alors indispensable de mettre en place des programmes de surveillance et de gestion efficaces de ces anomalies. C'est ce qui va être développé dans la troisième partie de ce travail.

3. Les stratégies de gestion des anomalies responsables de mortalité embryonnaire en race laitière

3.1. La détection précoce de l'émergence de ces anomalies

Certaines dérives dans l'utilisation des taureaux (« star system ») a conduit à la diffusion massive d'individus parfois porteurs d'anomalies génétiques faisant apparaître quelques années plus tard une hausse de la fréquence d'individus homozygotes récessifs anormaux au sein de la population ou d'embryons homozygotes non viables. Pendant longtemps, l'apparition de ces individus était vécue comme une source d'ennuis voire même une honte par les éleveurs et les sélectionneurs. Ceux-ci étaient donc retissant à l'idée de faire remonter les informations concernant l'émergence de ces anomalies (Grohs et al. 2016).

En France, il a fallu que les éleveurs soient confrontés à 2 grosses crises génétiques (anomalie BLAD et CVM) pour voir la formation de l'Observatoire National des Anomalies Bovines (ONAB) en 2002. Cette organisation regroupe de nombreux acteurs de la filière bovine dont les éleveurs, les inséminateurs, les vétérinaires, les

agents de contrôle des performances et de très nombreux organismes comme l'INRAE, l'Institut de l'élevage, ALLICE, GDS France, France Conseil Elevage ... mais aussi le ministère de l'Agriculture. L'objectif d'un tel organisme est de permettre la remonté d'information par l'action des déclarants d'anomalies afin de pouvoir les gérer avant qu'elles ne soient trop répandues (Grohs et al. 2016). Un énorme travail de communication est également mené par l'ONAB pour faire comprendre aux éleveurs et à leurs organismes qu'il n'existe pas d'individus exempts d'anomalies génétiques et que leur découverte est un enjeu important. De plus, la création d'une fiche de déclaration simple a davantage motivé les éleveurs, inséminateurs et vétérinaires dans la déclaration précoce des anomalies phénotypiques observées au sein des élevages bien que celles-ci soient encore loin d'être rapportées de manière systématique. Cette déclaration s'accompagne de l'envoi de matériel biologique afin d'aboutir à des études génétiques sur l'ADN des individus touchés. Une base de données reprenant l'ensemble des déclarations a pu être créée. Ainsi, lorsque plusieurs déclarations d'anomalies similaires apparaissent au sein de la population, au sein d'un même élevage ou dans des élevages différents, il convient alors d'étudier de manière plus approfondie ces anomalies par la précision du phénotype observé et l'étude de celui-ci pour savoir s'il est d'origine génétique ou non. Si son origine est suspectée comme étant génétique, l'étude génotypique de l'ADN contenu dans les prélèvements et de la généalogie des individus touchés permet de détecter l'haplotype ou de manière encore plus précise la mutation associée au phénotype, de remonter jusqu'au taureau d'origine de l'anomalie mais aussi de développer des tests génétiques pour déterminer le statut des reproducteurs utilisés sur le marché (Grohs et al. 2016). Ce type d'organisation, comme nous venons de le voir, se base sur les déclarations des anomalies par les différents acteurs de la filière. Pour cela, il faut que les mutations soient à l'origine de phénotypes remarquables par ceux-ci. Les mutations qui nous intéressent en termes de mortalité embryonnaire ne sont pas facilement remarquables, il faut qu'une baisse de la fertilité soit observée et que celle-ci ne puisse pas être expliquée par des effets non-génétiques comme le management, le logement, l'alimentation ... (ce qui en général représente déjà 50% des causes de baisse de la fertilité dans un élevage). Le défi pour l'ONAB est de détecter également ces anomalies peu spécifiques, en particulier par les techniques basées notamment sur l'analyse des déficits en homozygotes, dans le but d'améliorer leur gestion.

3.2. Les différents outils de gestion de ces anomalies

En dehors de quelques initiatives récentes, la gestion des anomalies se fait encore indépendamment de celle des objectifs de sélection. Les index sont donc basés sur la somme des valeurs génétiques additives de l'individu pour les caractères d'intérêt. Celles-ci sont elles-mêmes pondérées par le poids économique qu'il leur était associé. Le poids économique associé à un caractère représente la variation de revenu associée à une petite variation du caractère d'intérêt. Pour les caractères pour lesquels une valeur économique ne peut être estimée, ils sont pondérés par l'importance du progrès souhaité par l'organisme de sélection. Jusqu'au début des années 2010, lorsqu'une anomalie était détectée, la gestion consistait généralement en l'éradication des taureaux porteurs de la liste des reproducteurs potentiels. Cette approche pouvait être envisagée tant que les

anomalies connues étaient peu nombreuses, de fréquence faible dans la population et n'apparaissaient pas trop rapprochées les unes des autres dans le temps. Or, via les progrès de détection permis par l'outil génomique, le nombre de ces anomalies ne fait qu'augmenter. Cette politique de gestion n'est donc plus envisageable car elle engendrerait l'utilisation massive du peu d'individus non porteurs d'anomalies identifiées (mais certainement porteurs d'anomalies non encore identifiées). Or, nous avons vu que c'est précisément cette réduction drastique des reproducteurs potentiels qui a permis l'émergence de nombreuses anomalies par la réduction de la variabilité génétique et donc l'augmentation du taux de consanguinité (Fritz et al. 2013). De plus, comme nous l'avons vu avec le cas de l'haplotype HH1, le taureau responsable Chief engendrait une perte économique liée à l'anomalie du gène APAF1 bien inférieur comparé au gain génétique et donc économique qu'il apportait en termes de production laitière (Adams et al. 2016). Ainsi, l'éradication des taureaux porteurs d'allèles favorables mènerait à une chute importante du progrès génétique annuel pour les caractères sélectionnés à la base.

Une première solution à ce problème serait d'envisager une gestion des accouplements à risque sur base du statut porteur ou non porteur des parents voire grands parents, anomalie par anomalie. L'identification des accouplements à risque se base sur le caractère porteur ou non des parents via un test génétique sur eux-mêmes ou à défaut sur leurs ascendants voire via un calcul basé sur les fréquences raciales si aucune information n'est disponible. Cette approche a été permise par la démocratisation de l'outil génomique dans les races laitières. En effet, la quasi-totalité des mâles et de plus en plus de femelles sont génotypés dans le cadre des processus de sélection, rendant accessible l'information génotypique concernant les anomalies génétiques. Malheureusement, par le nombre grandissant d'anomalies génétiques, l'interdiction de former des accouplements à risque entre 2 porteurs d'une ou plusieurs anomalies mène à une réduction significative des accouplements possibles. C'est dans ce contexte qu'a été développé pANO. pANO permet de quantifier le risque de formation d'un individu homozygote, pour au moins une des anomalies connues (Brochard et al. 2018). Dans le cadre des anomalies responsables de mortalité embryonnaire, il faut donc calculer la probabilité de former un individu homozygote récessif pour chaque anomalie connue. Ceci revient à calculer, pour toutes les combinaisons possibles d'accouplement entre les mâles et les femelles disponibles, en valorisant les résultats de tests génétiques des animaux à accouplés ou à défaut de leurs ascendants (voire descendants) présents dans la base de données génotypiques, la probabilité de formation d'un homozygote atteint pour une anomalie donnée. pANO résulte ensuite de la combinaison de toutes ces probabilités pour obtenir le risque total d'être atteint d'au moins une anomalie connue (en considérant que les anomalies sont indépendantes entre elles). Cette approche évite la sous-estimation du risque inhérente à la méthode classique des filtres indépendants sur chaque anomalie connue, et ne valorisant en général, que partiellement l'information des ascendants. Ce type de calcul permet également l'intégration à n'importe quel moment d'autres anomalies au fur et à mesure de leurs découvertes sans avoir à ajouter ou changer de critère de filtre.

pANO s'exprime sous forme d'un pourcentage traduisant le risque de former un individu atteint d'au moins une anomalie connue. Ainsi pour un pANO de 0, le risque est nul (aux erreurs de typage ou de généalogie

près), pour un pANO compris entre 0 et 1%, le risque est très faible, pour un pANO compris entre 1 et 5%, le risque est faible mais pour un pANO supérieur à 5%, l'accouplement peut être considéré comme étant à risque. La plateforme développée par UMOTEST pour le calcul de pANO permet de ne pas proposer ou de déconseiller aux éleveurs les accouplements considérés comme à risque.

Une étude rétrospective sur l'efficacité du pANO a été réalisée (Brochard et al. 2018). Pour plus de 99% des accouplements réalisés entre juillet 2017 et avril 2018, l'information concernant le pANO des accouplements était disponible. Cette étude a permis la création de ce graphique :

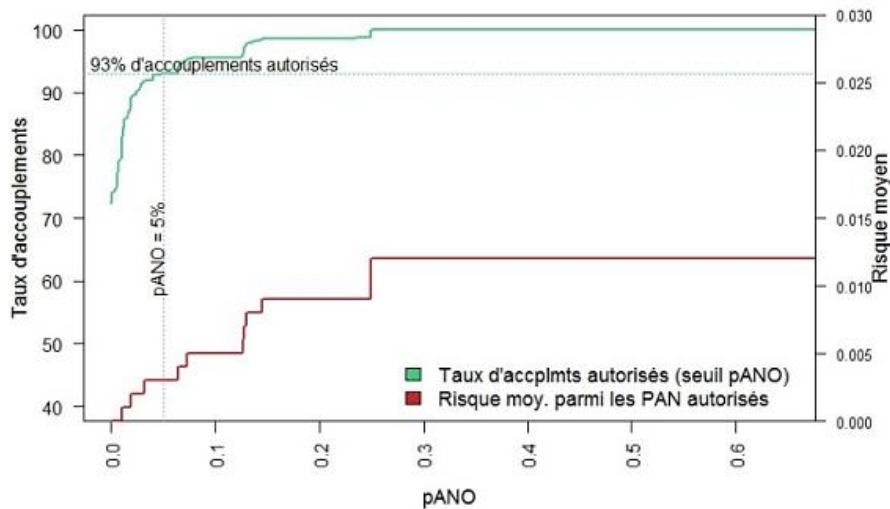


Figure 5 : Risque moyen de former des individus atteints et taux d'accouplements autorisés en fonction du seuil de pANO fixé (Brochard et al. 2018).

On voit ici, que 93% des accouplements possibles possédaient un pANO inférieur à 5% et étaient donc autorisés. En interdisant les 7% restants, on peut diviser le risque global d'avoir un individu atteint par au moins une anomalie par 4 car il passe de 1,2% à 0,3%. Sans l'utilisation du pANO, le risque moyen de 1,2% est calculé selon le principe de panmixie, ce qui n'est pas une situation classique puisqu'une sélection des individus sur les caractères d'intérêt est en jeu. Prenant cela en compte, certains taureaux ont donc été plus demandés que les autres. Ainsi, ce risque moyen monte à 1,38%. Le risque moyen pour tous les accouplements programmés via l'utilisation du pANO était de 1,04%, soit une baisse de 25% du risque. Cette baisse aurait pu être encore plus spectaculaire si aucun accouplement à risque n'avait été programmé. Or, dans les faits, 5,3% des accouplements considérés comme à risque ont quand même été programmés. Cette analyse de la baisse du risque peut également se faire anomalie par anomalie. Comme attendue, cette baisse est la plus importante pour les anomalies dont les fréquences alléliques sont plus élevées au sein de la population (Brochard et al. 2018). Nous avons donc vu via cette étude que le pANO est un bon outil pour réduire le risque de voir apparaître des individus homozygotes atteints d'anomalies tout en préservant des individus porteurs dans la liste des reproducteurs potentiels.

Ce nouvel outil doit encore être correctement expliqué aux conseillers et aux éleveurs afin de leur faire comprendre que la persistance d'individus porteurs d'anomalies dans la liste des reproducteurs potentiels est indispensable et ne pose pas de problème si on assure une bonne gestion des accouplements. De plus, le

pANO doit être intégré au sein des interfaces auxquels les éleveurs ont accès afin de leur permettre de choisir les accouplements en toute connaissance de cause. Un travail d'information et de formation des techniciens d'élevage et des éleveurs est donc nécessaire au bon fonctionnement de cet outil.

Il existe néanmoins une limite. En effet, l'utilisation du pANO est une stratégie de gestion et non pas de sélection. Parmi les accouplements non à risque, le pANO ne permet pas de diminuer la circulation des allèles délétères. Il doit s'accompagner d'une méthode de sélection des individus non-porteurs de l'anomalie, surtout sur la voie mâle, sans tomber dans l'éradication brutale des individus porteurs (Brochard et al. 2018). Cette méthode présente également une deuxième limite : elle propose un filtre sans prendre en compte l'impact économique des différentes anomalies, y compris relativement à la supériorité génétique sur les caractères sélectionnés. Pour passer au-delà de ces limites, il nous faudrait envisager une stratégie de sélection au niveau du schéma global et proposer une méthode combinant le risque que représente l'anomalie et le potentiel génétique classique relativement à leur impact économique.

Ainsi, une méthode de sélection qui peut être envisagée est celle développée en 2018 par Hoze et al. Celle-ci consiste à donner à un animal non porteur une valeur génétique positive qui représente l'intérêt de sélectionner un animal ne portant pas la mutation et à contrario à donner à un animal porteur une valeur génétique négative. Ces valeurs peuvent être estimées à partir du risque économique parmi la descendance de l'individu accouplé avec une population aux fréquences raciales. Celles-ci peuvent ainsi être calculées de la manière suivante : un homozygote non porteur aura une valeur génétique de $2f^2c$, un hétérozygote porteur de $-f(1-2f)c$ et un homozygote porteur de $-2f(1-f)c$ où f est la fréquence de l'allèle délétère et c le coût que représente un animal atteint (en élevage). On voit donc que les valeurs génétiques des animaux sont d'autant plus positives ou négatives, selon s'ils sont porteurs ou non, lorsque la fréquence de l'allèle augmente et que le coût qui y est associé est important. Ces valeurs génétiques peuvent être intégrées à l'index de synthèse (ISU) de chaque individu, celui-ci devient alors l'ISUg. La sélection sur base de l'ISUg plutôt que sur base de l'ISU simple permettrait en race Holstein et Montbéliarde de diminuer la fréquence des anomalies au sein de la population (Hoze et al. 2018).

L'intégration des anomalies aux objectifs de sélection classique, c'est-à-dire aux index de synthèse paraît donc être un bon outil pour favoriser la sélection des individus non-porteurs d'anomalies de manière proportionnelle au risque économique de chaque anomalie.

Pour savoir quels efforts doivent être fournis en termes de gestion des anomalies, il faut tout d'abord pouvoir en estimer les impacts économiques. Ceci se fait via le calcul du coût, par individu né (ou à naître) touché, imputable à l'anomalie. En ce qui nous concerne en matière de mortalité embryonnaire, les individus touchés sont les homozygotes récessifs. Ce coût correspond à la chute de fertilité. Ainsi, le coût total C dans une population de l'anomalie est la fréquence des homozygotes, (f^2 avec f la fréquence de l'allèle délétère) multipliée par le coût unitaire c (ou $C = f^2 * c$) (Boichard et al. 2016).

Le coût total d'une anomalie récessive augmente lorsque sa fréquence allélique augmente et lorsque le coût par individu augmente. Ce coût par individu est influencé par la gravité de l'anomalie, sa pénétrance, l'âge à

laquelle elle s'exprime, l'impact sur la valeur du produit... Dans le cadre des mortalités embryonnaires, leurs fréquences alléliques se situent aux alentours de 1-9% ce qui peut s'avérer relativement fréquent pour certaines mutations. Pour le calcul du coût individuel, la pénétrance est souvent totale (sauf pour FANCI et CVM), sa gravité est extrême puisqu'elle entraîne la mort et l'âge dépend de l'anomalie concernée mais de manière générale celle-ci se situe en début de gestation. Ainsi, le coût individuel peut être estimé par l'augmentation de l'intervalle vêlage-vêlage et le coût des inséminations supplémentaires nécessaires pour avoir la vache pleine. Celui-ci a été estimé entre 40 et 150€ par vache en race Holstein selon les anomalies étudiées (Hoze et al. 2018). En plus des pertes directes que ces anomalies représentent, des coûts indirects peuvent se rajouter. A savoir que les reproducteurs porteurs perdent de la valeur, voire même sont réformés alors qu'un investissement plus ou moins important a été entrepris pour son évaluation et sa dissémination. Un autre coût indirect peut provenir d'une dégradation de l'image de la race, des processus de sélection ou de la filière au regard des éleveurs ou de la société. Pour finir, les coûts de gestion et de contre-sélection sont également à prendre en compte dans le calcul du coût total imputable à l'émergence d'une anomalie génétique (Boichard et al. 2016).

L'intégration de la gestion des anomalies au sein du processus de sélection résulte en une modification de l'index de synthèse des individus qui devient ainsi la somme des valeurs génétiques de caractères d'intérêt pondérées par leur poids économiques à laquelle on ajoute la somme des valeurs génotypiques des anomalies elles aussi pondérées par leurs coûts c.

L'index peut alors être représenté par la formule suivante (Boichard et al. 2016) :

$$H = \sum_{\text{caractères } i} w_i \hat{g}_i + \sum_{\text{anomalies } j} \hat{v}_j$$

Ici, g correspond à la valeur génétique d'un caractère pondéré par w sa valeur économique et v représente la valeur génotypique d'une anomalie déjà exprimée en fonction de son poids économique.

Cette méthode de gestion combinée et intégrant la consanguinité du produit à naître proportionnellement au coût économique de la consanguinité a été appliquée pour conseiller des accouplements et comparée avec les anciennes méthodes de gestion des accouplements (sur index classique et avec filtres sur les anomalies et la consanguinité du produit à naître). Ceci a été réalisé en comparant le gain économique, le gain génétique, le taux de consanguinité et le risque de former un individu homozygote récessif à la suite d'accouplements formés en utilisant les informations génotypiques ou phénotypiques concernant les anomalies génétiques. Il en ressort qu'un gain économique et génétique plus élevé ainsi qu'un taux de consanguinité et un risque de former des individus homozygotes récessifs plus faible est obtenu en utilisant les données génotypiques plutôt que phénotypiques mais également lorsque ces données génotypiques concernant les anomalies sont intégrées de façon globale plutôt que traitées de manière séparées des objectifs de sélection (Berodier et al. 2020).

Cette étude met également en lumière le fait qu'une stratégie encore plus efficace serait la combinaison des différents niveaux de gestion des anomalies. De manière idéale, la méthode de conseil des accouplements qui intègre à la fois le niveau génétique additif attendu et le risque d'anomalies et de consanguinité (Berodier et al. 2020) devrait se systématiser en parallèle d'une intégration du risque économique des anomalies chez les futurs reproducteurs (particulièrement les taureaux mis aux catalogues) (Boichard et al. (2016), Hoze et al.

(2018)). En effet, l'utilisation du nouvel index de synthèse (ISUg) pour la sélection des reproducteurs, bien que permettant une contre-sélection des allèles délétères, conduit néanmoins à conserver des animaux porteurs d'anomalies dans la liste des reproducteurs potentiels. Il est donc nécessaire de surveiller les plans d'accouplement afin d'éviter le plus possible la formation d'accouplements à risques entre 2 individus potentiellement porteurs (Hoze et al. 2018). Cette méthode déconseillera parfois aux éleveurs d'utiliser les meilleurs individus au profit d'individus légèrement moins bons mais qui représenteront un risque moindre dans la formation d'individus homozygotes atteints et qui en conséquence présentent une espérance de gain économique global supérieur pour l'éleveur. On doit également continuer de proposer des méthodes type pANO aux éleveurs car, même si elles ne sont pas optimisées d'un point de vue économique, elles apportent une réponse aux éleveurs ayant une aversion forte au risque ou qui pour des raisons éthiques considèrent qu'il faut à tout prix éviter de générer des produits atteints.

L'abandon du « star system » pourrait également résulter de l'étude du génome respectif du père et de la mère dans le but de créer un descendant le meilleur possible sans pour autant que ses parents soient, eux, les meilleurs du marché, par un jeu de complémentarité des caractères entre les 2 parents (Georges et al. 2018).

De manière plus globale, la gestion de la consanguinité au sein de la population permise par le développement de la sélection génomique doit nous aider à réduire l'incidence des individus homozygotes atteints d'anomalies. Ceci tout d'abord grâce à l'augmentation du nombre de reproducteurs potentiels et la précision de leurs évaluations génétiques que nous avons développé dans la partie 1.3 mais également grâce à la possibilité d'intégrer la parenté moyenne négativement (éventuellement proportionnellement aux coûts de la dépression de consanguinité attendue parmi la descendance) dans les objectifs de sélection à l'image de ce que Berodier et al. (2020) a proposé à l'échelle du couple. Ce projet d'objectif de sélection complété de la parenté est en cours de développement en race Holstein en France.

Grâce à la description des méthodes de gestion des anomalies que l'on vient de faire, un autre point d'importance est soulevé. Il s'agit de la communication entre les différents acteurs de la filière. En effet, le premier maillon de cette chaîne de détection et de gestion sont les éleveurs. Il convient de les sensibiliser de manière adéquate aux enjeux que représente la signalisation de l'émergence des anomalies à l'ONAB ou aux organismes de sélection. Ceux-ci doivent alors avoir de bonnes relations avec les différents organismes de recherche au niveau national et international afin de les aider à avoir accès aux compétences et aux bases de données suffisantes pour la mise en place des méthodes de détection des mutations responsables du phénotype observé et de confirmation de causalité par l'étude d'une partie la plus grande possible de la population concernée. Enfin, lorsqu'une anomalie est détectée, un effort de communication doit être opéré vers les éleveurs afin d'expliquer l'origine, le fonctionnement et les conséquences associées à la nouvelle mutation, ainsi que le plan de lutte mis en place et les outils qu'ils ont à disposition pour y faire face.

Les vétérinaires ont aussi un rôle à jouer à ce niveau. Bien qu'en France, une majeure partie du processus de gestion de la reproduction en élevage bovin soit gérée par les centres de sélection et leurs inséminateurs ou conseillés sur le terrain, les vétérinaires sont souvent en première ligne face au déclin de la fertilité dans un

élevage. En effet, les vétérinaires peuvent rapidement écarter les causes non génétiques classiquement rencontrées en élevage et proposer d'investiguer le développement d'anomalies génétiques. Les vétérinaires ont pour cela un outil efficace : les fiches de signalement détaillées de l'ONAB.

Ainsi, eux aussi doivent être intégrés dans cette toile de communication afin d'avoir tous accès à toutes les informations et les outils les plus récents possibles pour gérer au mieux les troubles de la fertilité. Cette communication implique bien entendu une confiance et un respect mutuel entre tous les acteurs.

Conclusion

Au cours de ce travail, nous avons pu voir les possibilités nouvelles que l'outil génomique nous offre en matière d'augmentation du gain génétique annuel mais aussi paradoxalement en matière de contrôle de l'augmentation du taux de consanguinité au sein des élevages laitiers. Ce nouvel outil et sa démocratisation nous offre également différentes possibilités en termes de gestion des anomalies génétiques, que celles-ci concernent les caractères fonctionnels évoluant à basse fréquence dans la population ou les caractères de production déjà bien implantés au sein de nos troupeaux. Ainsi, les caractères fonctionnels tels que la fertilité qui auparavant étaient détériorés car laissés de côté au profit des caractères de production pourront être intégrés de manière plus efficace aux objectifs de sélection globaux.

La sélection génomique nous offre la possibilité d'allier le gain de production nécessaire pour répondre aux besoins alimentaires grandissants de la population terrestre aux enjeux économiques et sociétaux auxquels nous devons faire face. Tout ceci en permettant la réduction de la fréquence des anomalies génétiques associées au processus de sélection. Ceci pourra peut-être permettre d'améliorer l'image du monde de la sélection génétique/génomique aux yeux de la population.

La sélection génomique n'a pas fini de nous aider à mieux gérer le profil génétique de nos bovins laitiers. Par sa démocratisation, on peut anticiper que celle-ci fasse l'objet d'améliorations, de modifications et que nos animaux domestiques puissent devenir une source de données génomiques exceptionnelles permettant de toujours enrichir nos connaissances scientifiques sur le génome, son fonctionnement, ses anomalies et cela pas uniquement pour nos animaux mais également pour l'être humain.

Références bibliographiques

Adams HA, Sonstegard TS, VanRaden PM, Null DJ, Van Tassell CP, Larkin DM, Lewin HA. Identification of a nonsense mutation in APAF1 that is likely causal for a decrease in reproductive efficiency in Holstein dairy cattle. *J Dairy Sci.* 2016 Aug;99(8):6693-6701. doi: 10.3168/jds.2015-10517. Epub 2016 Jun 8. PMID: 27289157.

Bérodier M, Berg P, Meuwissen T, Boichard D, Brochard M, Ducrocq V. Improved dairy cattle mating plans at herd level using genomic information. *Animal.* 2020 Dec 17;15(1):100016. doi: 10.1016/j.animal.2020.100016. Epub ahead of print. PMID: 33516018.

Boichard D, Grohs C, Michot P, Danchin-Burge C, Capitan A, et al.. Prise en compte des anomalies génétiques en sélection : le cas des bovins. *INRA Productions Animales*, Paris: INRA, 2016, 29 (5), pp.351-358.

Brochard M, Boichard D, Ducrocq V, Fritz S. La sélection pour des vaches et une production laitière plus durables : acquis de la génétique et opportunités offertes par la sélection génomique. *Productions Animales*, 2013, 26 (2), pp.145-156.

Brochard M, Boichard D, Capitan A, Guillaume G, Fritz S, et al.. pANO, le risque d'anomalie létale pour les produits d'accouplements : principe et utilisation en race Montbéliarde sur la zone Gen'IA Test. 24. *Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants (3R)*, Dec 2018, Paris, France.

Charlier C, Agerholm JS, Coppieters W, Karlskov-Mortensen P, Li W, de Jong G, Fasquelle C, Karim L, Cirera S, Cambisano N, Ahariz N, Mullaart E, Georges M, Fredholm M. A deletion in the bovine FANCI gene compromises fertility by causing fetal death and brachyspina. *PLoS One.* 2012;7(8):e43085. doi: 10.1371/journal.pone.0043085. Epub 2012 Aug 29. PMID: 22952632; PMCID: PMC3430679.

Charlier C, Li W, Harland C, Littlejohn M, Coppieters W, Creagh F, Davis S, Druet T, Faux P, Guillaume F, Karim L, Keehan M, Kadri NK, Tamma N, Spelman R, Georges M. NGS-based reverse genetic screen for common embryonic lethal mutations compromising fertility in livestock. *Genome Res.* 2016 Oct;26(10):1333-1341. doi: 10.1101/gr.207076.116. Epub 2016 Sep 19. PMID: 27646536; PMCID: PMC5052051.

Cole JB. A simple strategy for managing many recessive disorders in a dairy cattle breeding program. *Genet Sel Evol.* 2015 Nov 30;47:94. doi: 10.1186/s12711-015-0174-9. PMID: 26620491; PMCID: PMC4666089.

Colleau J.J, Fritz S, Guillaume F, Baur A, Dupassieux D, et al.. Simulation des potentialités de la sélection génomique chez les bovins laitiers.. 16èmes Rencontres Recherches Ruminants, Dec 2009, Paris, France.

Daetwyler HD, Villanueva B, Bijma P, Woolliams JA. Inbreeding in genome-wide selection. *J Anim Breed Genet.* 2007 Dec;124(6):369-76. doi: 10.1111/j.1439-0388.2007.00693.x. PMID: 18076474.

De Roos AP, Hayes BJ, Spelman RJ, Goddard ME. Linkage disequilibrium and persistence of phase in Holstein-Friesian, Jersey and Angus cattle. *Genetics.* 2008;179(3):1503-1512. doi:10.1534/genetics.107.084301

- Doublet AC, Croiseau P, Fritz S, Michenet A, Hozé C, Danchin-Burge C, Laloë D, Restoux G. The impact of genomic selection on genetic diversity and genetic gain in three French dairy cattle breeds. *Genet Sel Evol.* 2019 Sep 23;51(1):52. doi: 10.1186/s12711-019-0495-1. PMID: 31547802; PMCID: PMC6757367.
- Duchesne A, Grohs C, Michot P, Bertaud M, Boichard D, Floriot S, & Capitan A. (2016). Du phénotype à la mutation causale : le cas des anomalies récessives bovines. *INRAE Productions Animales*, 29(5), 319–328. doi : 10.20870/productions-animales.2016.29.5.3000.
- Fritz S, Capitan A, Djari A, Rodriguez SC, Barbat A, Baur A, Grohs C, Weiss B, Boussaha M, Esquerré D, Klopp C, Rocha D, Boichard D. Detection of haplotypes associated with prenatal death in dairy cattle and identification of deleterious mutations in GART, SHBG and SLC37A2. *PLoS One.* 2013 Jun 7;8(6):e65550. doi: 10.1371/journal.pone.0065550. PMID: 23762392; PMCID: PMC3676330.
- Fritz S, Capitan A, Djari A, Grohs C, Boussaha M, et al.. Identification de QTL associés à de la mortalité embryonnaire chez les bovins laitiers. 20. Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants, Dec 2013, Paris, France. pp.145-148.
- Fritz S, Michot P, Hoze C, Grohs C, Barbat A, et al.. Anticiper l'émergence d'anomalies génétiques grâce aux données génomiques. *INRA Productions Animales*, Paris: INRA, 2016, 29 (5), pp.339-350. fahal-01602234f
- Fritz S, Hoze C, Rebours E, Barbat A, Bizard M, Chamberlain A, Escouflaire C, Vander Jagt C, Boussaha M, Grohs C, Allais-Bonnet A, Philippe M, Vallée A, Amigues Y, Hayes BJ, Boichard D, Capitan A. An initiator codon mutation in SDE2 causes recessive embryonic lethality in Holstein cattle. *J Dairy Sci.* 2018 Jul;101(7):6220-6231. doi: 10.3168/jds.2017-14119. Epub 2018 Apr 19. PMID: 29680649.
- Georges M, Charlier C & Hayes B. Harnessing genomic information for livestock improvement. *Nat Rev Genet* 20, 135–156 (2019). doi: 10.1038/s41576-018-0082-2.
- Grohs C, Duchesne A, Floriot S, Deloche M-C, Boichard D, et al.. L'Observatoire National des Anomalies Bovines, son action et ses résultats pour une aide efficace à la gestion des anomalies génétiques. *INRA Productions Animales*, Paris: INRA, 2016, 29 (5), pp.307-318.
- Hayes BJ, Bowman PJ, Chamberlain AJ, Goddard ME. Invited review: Genomic selection in dairy cattle: progress and challenges. *J Dairy Sci.* 2009 Feb;92(2):433-43. doi: 10.3168/jds.2008-1646. Erratum in: *J Dairy Sci.* 2009 Mar;92(3):1313. PMID: 19164653.
- Henderson C.R., 1973. Sire evaluation and genetic trends. in *Proceedings of the Animal Breeding and Genetics symposium in honor of Dr J.L. Lush*, Blacksburg, Virginia. August 1972, pp.10-41. American Society of Animal Science, Champaign, Illinois.
- Howard JT, Pryce JE, Baes C, Maltecca C. Invited review: Inbreeding in the genomics era: Inbreeding, inbreeding depression, and management of genomic variability. *J Dairy Sci.* 2017 Aug;100(8):6009-6024. doi: 10.3168/jds.2017-12787. Epub 2017 Jun 7. PMID: 28601448.
- Hoze C, Fritz S, Baur A, Grohs C, Danchin-Burge C, et al.. Prise en compte des gènes d'intérêt dans les objectifs de sélection en bovins laitiers. 24. Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants (3R), Dec 2018, Paris, France.

McClure MC, Bickhart D, Null D, Vanraden P, Xu L, Wiggans G, Liu G, Schroeder S, Glasscock J, Armstrong J, Cole JB, Van Tassell CP, Sonstegard TS. Bovine exome sequence analysis and targeted SNP genotyping of recessive fertility defects BH1, HH2, and HH3 reveal a putative causative mutation in SMC2 for HH3. PLoS One. 2014 Mar 25;9(3):e92769. doi: 10.1371/journal.pone.0092769. PMID: 24667746; PMCID: PMC3965462.

Michot P, Fritz S, Barbat A, Boussaha M, Deloche MC, Grohs C, Hoze C, Le Berre L, Le Bourhis D, Desnoes O, Salvetti P, Schibler L, Boichard D, Capitan A. A missense mutation in PFAS (phosphoribosylformylglycinamide synthase) is likely causal for embryonic lethality associated with the MH1 haplotype in Montbéliarde dairy cattle. J Dairy Sci. 2017 Oct;100(10):8176-8187. doi: 10.3168/jds.2017-12579. Epub 2017 Aug 10. PMID: 28803020.

Pinto A, Bouca P, Chevallier A, Fréret S, Grimard B, Humblot P. 2000. Sources de variation de la fertilité et des fréquences de mortalité embryonnaire chez la vache laitière. Proc : Rencontres, Recherches, Ruminants 7, 213-216

Pryce JE, Hayes BJ, Goddard ME. Novel strategies to minimize progeny inbreeding while maximizing genetic gain using genomic information. J Dairy Sci. 2012 Jan;95(1):377-88. doi: 10.3168/jds.2011-4254. PMID: 22192217.

Reinartz S, Distl O. Short communication: Lethal mutations in Vorderwald cattle through Montbéliarde incrossings. J Dairy Sci. 2020 Jan;103(1):613-618. doi: 10.3168/jds.2019-17213. Epub 2019 Nov 14. PMID: 31733870.

Robert-Granié C, Legarra A, Ducrocq V. Principes de base de la sélection génomique. Productions Animales, 2011, 24 (4), pp.331-340.

Schütz E, Wehrhahn C, Wanjek M, Bortfeld R, Wemheuer WE, Beck J, et al. (2016) The Holstein Friesian Lethal Haplotype 5 (HH5) Results from a Complete Deletion of TBF1M and Cholesterol Deficiency (CDH) from an ERV-(LTR) Insertion into the Coding Region of APOB. PLoS ONE 11(4): e0154602. doi: 10.1371/journal.pone.0154602.

VanRaden PM, Olson KM, Null DJ, Hutchison JL. Harmful recessive effects on fertility detected by absence of homozygous haplotypes. J Dairy Sci. 2011 Dec;94(12):6153-61. doi: 10.3168/jds.2011-4624. PMID: 22118103.