

# Utilité des biotechnologies de la reproduction pour la sélection des bovins laitiers

J.J. COLLEAU (1), S. FRITZ (2), T. DRUET(1), J. BECHU(3), Y.LAURENT(3), P. HUMBLLOT (4), J.P. RENARD(5), D. BOICHARD(1)

(1) INRA, DGA, SGQA, 78352 Jouy-en-Josas Cedex

(2) UNCEIA 149 rue de Bercy 75595 Paris Cedex 12

(3) GNA, Z.A. Le Gué Thibout, BP43, 61700 Domfront

(4) UNCEIA Département R&D, 94703 Maisons-Alfort

(5) INRA, BDR, DPHASE, 78352 Jouy-en-Josas Cedex

**RESUME** - Dans le cas des bovins laitiers, les possibilités des biotechnologies de la reproduction et de la sélection indirecte des gènes par le biais de marqueurs moléculaires sont décrites brièvement. L'utilisation combinée de la transplantation embryonnaire et de la sélection assistée par marqueurs permet de relever le défi actuel posé aux populations sélectionnées de bovins laitiers : promouvoir le progrès génétique sur des caractères plus difficiles que par le passé tout en contrôlant les coûts et la variabilité génétique.

## Value of reproductive biotechnologies for dairy cattle selection

J.J. COLLEAU (1), S. FRITZ (2), T. DRUET(1), J. BECHU(3), Y.LAURENT(3), P. HUMBLLOT (4), J.P. RENARD(5), D. BOICHARD(1)

(1) INRA, DGA, SGQA, 78352 Jouy en Josas Cedex

**SUMMARY** - The possibilities offered by reproductive biotechnologies and indirect gene selection through genetic markers in dairy cattle are briefly reviewed. It was shown that the combined use of embryo transfer and marker-assisted selection would allow one to overcome the current challenge that selected dairy cattle populations are facing, that is, the need to enhance genetic gains without increasing costs and reducing genetic variability.

## INTRODUCTION

Les 25 dernières années ont vu l'éclosion d'un nombre croissant de biotechnologies concernant la reproduction et le génome, qui toutes ont un coût financier et exigent un savoir-faire technique de plus en plus pointu. Pratiquement à la même époque, les systèmes laitiers productivistes et à forte marge économique ont connu leur apogée en se heurtant aux limitations de production (quotas) puis maintenant au découplage croissant entre les aides publiques et la production effective. Parallèlement aussi, et en raison des orientations prises, les productions par vache ont spectaculairement augmenté et les effectifs de vaches ont généralement diminué inexorablement, fragilisant ainsi l'assise financière des programmes de sélection, basée essentiellement sur les revenus de l'insémination artificielle (IA). En toile de fond figure également la nécessité croissante de prendre en considération les caractères fonctionnels (qui contrôlent les coûts de production mais qui sont difficiles à sélectionner) et de préserver la variabilité génétique.

En conséquence, la question pratique essentielle qui se pose est synthétique : *où et comment incorporer les nouvelles biotechnologies dans les programmes de sélection de manière à stimuler les progrès génétiques sans conduire à une explosion des coûts ?* Quel schéma type recommander pour succéder à celui des années 1980-1990, qui manifestement ne convient plus ? L'objet de cette communication est de tenter de faire, à l'intention d'un public de non généticiens, la liste des questions précises qui se posent dans un contexte infiniment plus exigeant que dans le passé, des éléments de réponse dont nous disposons et des recherches qui sont à effectuer pour les compléter. Les biotechnologies seront considérées dans leur état technique de 2004. Elles pourront évoluer bien entendu. La méthodologie utilisée en tentant de faire la synthèse dans leur état actuel permettrait une mise à jour éventuelle dans le futur.

## 1. BASES D'UN PROGRAMME DE SELECTION

Une partie essentielle des programmes de sélection des taureaux d'IA dans les races laitières concerne leur procréation. Des accouplements planifiés sont effectués entre les meilleurs (sur index) taureaux disponibles ("pères à taureaux") et les meilleures femelles ("mères à taureaux"). Les jeunes taureaux issus de ces accouplements sont alors placés en station puis sélectionnés à environ 10 mois pour être testés sur descendance. Après connaissance des résultats, seul les tout meilleurs (environ 10 %) sont retenus ("agréés") pour le service. Entre la naissance et 10 mois, l'index des parents peut évoluer considérablement suite à l'arrivée de nouvelles informations, notamment sur les jeunes mères, qui n'étaient connues que sur ascendance. Toutes ces étapes de sélection contribuent au progrès génétique, par le biais de pressions de sélection et de précisions d'index bien spécifiques. Bien entendu, elles contribuent aux coûts, là aussi de manière spécifique.

## 2. POTENTIALITES DES BIOTECHNOLOGIES DE LA REPRODUCTION

Une tentative de synthèse sur l'utilité potentielle des biotechnologies de la reproduction en sélection a déjà été donnée à l'intention d'un public non généticien et francophone (Colleau *et al.*, 1998). Les appréciations faites à cette date sur leurs possibilités peuvent être globalement maintenues.

*La transplantation embryonnaire (TE) à la suite de superovulation* permet d'augmenter la prolificité naturellement basse de la vache et donc d'augmenter les pressions de sélection possibles. Un autre impact positif pour la sélection est la possibilité de raccourcir l'intervalle de génération en pratiquant la superovulation avant la date habituelle du premier vêlage. La TE à partir de donneuses de 13-15 mois a constitué en France un axe majeur du modèle

caractéristique des années 1980-1990, qui s'est largement développé sur toutes les races laitières à grands effectifs (disposant de moyens financiers conséquents). Elle a contribué, à n'en pas douter, aux progrès génétiques spectaculaires effectués à cette période en matière de production laitière. La question qui se pose maintenant est de savoir si l'on n'a pas exagérément recouru à la TE, vu son impact négatif sur les coûts (un veau issu de TE coûte 10 fois plus cher qu'un veau d'IA) et sur le maintien de la variabilité génétique. De même, on peut se demander si l'on n'a pas recouru à des donneuses trop jeunes, à l'heure où les performances de longévité et de fécondité, qui demandent du temps à être connues, pèsent désormais beaucoup dans l'index synthétique de sélection (Colleau et Regaldo, 2001).

*Une version avancée de la TE est l'OPU-FIV associant le prélèvement répété d'ovocytes (Ovum Pick-Up) et la Fécondation In Vitro. Cette technique est potentiellement très intéressante dans les schémas de sélection, car elle permet d'obtenir environ 5 fois plus d'embryons transférables par unité de temps que la TE classique et de diversifier les origines génétiques de la descendance, car il est possible de féconder les ovocytes d'une même donneuse par des taureaux différents, évitant ainsi l'existence de familles de nombreux pleins frères. Cependant, le prix de revient du veau semble être encore plus élevé que dans le cas de la TE (de 20 à 30 % selon Tissier *et al.*, 2004) et il est clair qu'elle n'est alors concevable que dans des cas très particuliers, par exemple pour assurer la pérennité d'une lignée maternelle originale avec des aptitudes intéressantes (cf. le problème général de gestion de la variabilité génétique). En cas d'interdiction des techniques de superovulation qui font appel à des hormones, la ponction ovocytaire resterait le seul moyen de promouvoir la prolificité des femelles bovines. Par ailleurs, son utilisation combinée avec le sexage de la semence pourrait être plus facile que dans le cas de la TE. L'OPU-FIV garde donc un certain intérêt pour le futur.*

*Le sexage des embryons est techniquement au point depuis le début des années 1990 mais il a été très peu utilisé en raison de son surcoût (+10 %) et surtout du fait que les produits mâles ou femelles de la TE jouent tous un rôle important dans la création du progrès génétique. La demande augmente légèrement mais les applications aujourd'hui se font au niveau de l'éleveur individuel, en dehors des programmes de sélection.*

*Le sexage de la semence serait à l'évidence très utile pour la diffusion du progrès génétique dans la population femelle ou pour la pratique éclairée du croisement industriel. Cependant, il ne semble pas qu'on dispose encore de méthodes convaincantes *i.e.*, rapides, n'affectant pas la fertilité et peu coûteuses. Toutefois, il est probable que dans un avenir proche cette technique puisse être intéressante en association avec l'OPU-FIV (Ponsart *et al.*, 2004, cette session des 3R) ou que son évolution permette à l'avenir une utilisation en IA avec une efficacité accrue et un coût moindre.*

*Le clonage des embryons ou le clonage des cellules somatiques représente potentiellement un très grand intérêt pour la diffusion du progrès génétique dans la population femelle et même pour la création du progrès génétique (amélioration du niveau génétique des taureaux d'IA). En effet, l'utilisation conjointe de vaches d'un même clone*

comme mères à taureaux revient à augmenter et la prolificité et la précision de l'index de ce clone. Les freins sont bien entendu le maintien de la variabilité génétique mais aussi et surtout, l'état actuel de la technique (avant même d'évoquer la question importante de l'acceptabilité sociale). Environ 10 % des embryons reconstitués par transfert nucléaire donnent lieu à des naissances avec une grande variabilité d'un clone à l'autre. De plus, dans le cas du clonage somatique, seulement 40 à 60 % des produits naissent normaux. Des recherches sont par ailleurs en cours pour vérifier que le génome de départ transmis aux embryons reconstitués ne subit pas des altérations notables au cours de la phase de développement *in vitro*. Des recherches intensives sont donc encore nécessaires avant qu'on puisse envisager l'utilisation du clonage dans les programmes de sélection.

### 3. POTENTIALITES DE LA SAM

La SAM est la Sélection Assistée par Marqueurs. Elle est en cours de mise en place en France depuis 2001 et vise à améliorer la valeur génétique des taureaux mis au testage en races Holstein, Montbéliarde et Normande (Fritz *et al.*, 2003). En France, environ 8000 animaux sont typés annuellement pour les marqueurs alors qu'environ 2000 jeunes taureaux sont candidats à la mise au testage. Seule environ la moitié de ces candidats est effectivement mise au testage.

L'origine de cette méthode de sélection remonte au début des années 1990 et consiste en la découverte dans le génome de régions neutres (pas d'effet sur les performances) très variables d'un individu à l'autre, parce que présentant un grand nombre de formes alléliques (variantes) : ce sont les marqueurs moléculaires (Eggen, 2003). De ce fait, il est relativement facile de tracer l'origine de ces marqueurs d'une génération à l'autre : par exemple, on peut savoir si à un endroit précis du génome, le marqueur correspondant hérité du père provient du grand-père paternel ou de la grand-mère paternelle. Bien entendu, de vrais gènes au sens de Mendel, ayant un effet sur les performances, peuvent être par hasard très proches de ces marqueurs sur les chromosomes. Dans ce cas, ils sont très souvent transmis en même temps que les marqueurs (très peu de recombinaisons) et le traçage des vrais gènes, qui agissent sur les performances. Donc, si à l'intérieur d'une même famille, les performances varient en fonction des allèles reçus au marqueur, c'est qu'il existe un vrai gène proche de ce marqueur. Ce gène dont on ne connaît pas les formes alléliques et dont la localisation est encore très imprécise, à l'échelle moléculaire, est appelé QTL (de *Quantitative Trait Locus*). Cette notion, qui en général intrigue beaucoup, est donc un produit de croisement entre la Génétique Moléculaire et la Statistique...

Pour chacun des principaux caractères économiquement intéressants, il a été trouvé à partir des données françaises que seulement 3 à 4 QTL contrôlent environ 50 % de la variabilité génétique (Boichard *et al.*, 2003), ce qui est considérable. De ce fait, il est potentiellement intéressant de sélectionner les taureaux à mettre au testage d'après un index qui tient compte des QTL reçus par ces taureaux et c'est l'objectif de la SAM en France. La méthode d'indexation est complexe car il faut tenir compte des

parentés exactes entre animaux au niveau de chaque QTL, qui ne sont pas du tout égales aux parentés classiques. L'information est apportée en typant les parents proches des candidats à la sélection. C'est pourquoi on est obligé de typer beaucoup plus d'animaux que de candidats à la sélection (Colleau, 1999 ; Fritz *et al.*, 2003). Le coefficient de détermination ( $R^2$  de la prédiction) des index sur ascendance passe alors de 0,35 à 0,45, ce qui est relativement substantiel : c'est la situation observée actuellement sur les candidats de 2004. Normalement, dans le futur, avec l'accumulation des connaissances sur la valeur des QTL transmis par les ancêtres majeurs, tracés sur beaucoup d'animaux typés et plusieurs générations, cette valeur pourrait monter encore jusqu'à 0,55-0,60. Des simulations sur la structure actuelle des populations soumises à la SAM montrent alors qu'on pourrait réduire la taille des séries de testage de 10 % sans réduire les progrès génétiques, car on serait mieux à même de repérer les mauvais candidats qui de toute façon seraient éliminés. Après prise en compte des coûts liés au typage (3 % du programme actuel), on pourrait pour le même progrès génétique avoir un coût global inférieur de 5 %, ce qui soulagerait sensiblement la trésorerie. La SAM est donc objectivement intéressante, même si l'on ne sait pas ce qui se cache sous les QTL "détectés" et utilisés (de nombreuses recherches y sont consacrées de par le monde, y compris en France). Les travaux de génomique fonctionnelle, tel que le projet français AGENAE, cofinancé par la profession, ont pour objet d'accélérer la recherche des gènes d'intérêt. L'objectif ultime est bien entendu de sélectionner sur les gènes eux-mêmes, ce qui serait à la fois plus simple au niveau de l'organisation et plus efficace en terme de progrès génétique.

#### 4. COUPLAGE SAM-TE

Il est tout à fait naturel de penser à ce couplage. Colleau (1999) a trouvé par simulation des gains génétiques substantiels (+ 10 à 15 % de gain génétique annuel) si l'on allie le choix des donneuses d'embryons par SAM et les choix de leurs veaux par SAM en vue du testage sur descendance. C'est ce schéma qui est en train de se mettre en place en France, la dernière phase ayant été l'utilisation de la SAM en vue du choix des donneuses.

La sélection SAM sur la descendance mâle se fait pour l'instant à 10 mois. Mais on peut envisager de la faire à un âge beaucoup plus précoce, par exemple 3 mois. Cela éviterait les frais correspondants aux animaux éliminés (moins d'animaux en station). Cependant, l'information SAM devrait être suffisamment précise : on peut donc penser que cette version conviendrait mieux aux fils de vaches ayant fait déjà une lactation. Contribueraient également à l'information les nombreuses demi-sœurs paternelles de ces vaches, nées à la même époque qu'elles. On n'a pas cette information sur les jeunes mères, quand le veau a deux-trois mois (âge où s'effectuerait l'indexation SAM). L'économie réalisée est en réalité tempérée par la nécessité de dédommager le propriétaire du veau qui l'entretient en attendant la décision finale. Un calcul économique est donc nécessaire pour trancher.

Pour les mêmes raisons, la sélection SAM sur embryon est envisageable sur le même type de vache que pour la SAM à 3 mois. L'obstacle principal est technique : avec les

méthodes actuelles et le grand nombre de marqueurs requis (plus de 40 en France), le prélèvement de cellules pour le typage serait trop massif et serait rédhibitoire pour la viabilité de l'embryon. Des recherches sont en cours pour tester des solutions alternatives (culture de cellules par exemple). Une fois cet obstacle contourné, il faudra bien sûr faire le bilan sur la faisabilité économique de cette voie.

Il faut noter toutefois *le très grand intérêt* qu'aurait l'élimination dès le stade embryonnaire des individus porteurs d'anomalies génétiques (elles existent bel et bien, on en a eu l'expérience), détectés par un seul ou un très petit nombre de marqueurs, dans les familles à risque. La faible taille de la biopsie ne compromettrait pas alors la survie de l'embryon.

#### 5. CHOIX OPERATIONNELS

Face à la nécessité de prendre en compte le coût de la sélection, son impact sur la variabilité génétique et la difficulté de sélectionner sur les caractères fonctionnels (longévité, fertilité et résistance aux maladies), peu héréditaires, il est souhaitable de se doter d'une méthodologie de décision.

Colleau *et al.*, (2003, 2004) proposent une méthode analytique d'optimisation pour prendre en compte simultanément les coûts de reproduction et la variabilité génétique lors de la phase de procréation des jeunes taureaux. Les sélectionneurs déclarent en entrée les différents profils de reproduction des mères à taureaux qu'ils sont techniquement capables de réaliser : par exemple une IA simple, une superovulation et collecte suivies d'une IA, deux superovulations et collectes suivies d'une seule IA (bien entendu, l'OPU-FIV peut figurer aussi avec plusieurs nombres de "sessions"). Ils déclarent aussi le nombre de veaux et le coût correspondant à chaque profil, ainsi que le coût global souhaité. L'optimisation désigne ensuite le nombre et l'identité des vaches à affecter aux différents profils, ainsi que les accouplements correspondants. Les résultats obtenus sur populations réelles confirment que la place de la TE est largement justifiée, mais qu'une importante minorité (produisant 1/3 de la descendance) de vaches ne "méritent" que l'IA. Par ailleurs, on constate que même avec les objectifs de sélection réactualisés en 2001 pour donner une place convenable aux caractères fonctionnels, les jeunes donneuses méritent encore d'être considérées, puisqu'elles constituent à peu près la moitié des mères à taureaux sélectionnées.

Sur un plan très global, il faudrait avoir une idée de la structure détaillée des programmes de sélection qui pour une enveloppe financière donnée, génèreraient un progrès génétique maximal. Une contrainte raisonnable supplémentaire est que le nombre de taureaux agréés ne diminue pas, ceci pour respecter au mieux le maintien de la variabilité génétique. Des études de modélisation correspondante sont en cours. Les premières applications numériques concernent le schéma de sélection de la race Normande, en s'appuyant sur les données techniques et économiques transmises par le GNA.

En ne modifiant pas du tout le coût total du programme, il ressort qu'il serait souhaitable de mettre au testage moins de taureaux (20 % en moins) mais qu'il faudrait les tester sur beaucoup plus de filles (120 au lieu de 70). Le progrès génétique annuel augmenterait alors de 4 %. En se

cantonnant à une seule classe d'âge des mères (pour la simplicité), il apparaît aussi que le recours aux jeunes donneuses est préférable, ce qui n'était du tout évident au départ. Les calculs doivent être étendus pour permettre le mélange des âges. On peut déjà anticiper que les jeunes donneuses seront majoritaires parmi les mères à taureaux sélectionnées.

Avec les mêmes contraintes, notamment de coût total fixé, on a comparé 3 versions de la SAM

A Jeune donneuse sélectionnée SAM

Veau sélectionné SAM à 10 mois

B Donneuse première lactation sélectionnée SAM

Veau sélectionné SAM à 10 mois

C Donneuse première lactation sélectionnée SAM

Veau sélectionné SAM à 3 mois en ferme

La précision de la SAM est considérée comme étant égale à celle de 2004, bien que l'accumulation de l'information familiale permette d'escompter encore une certaine augmentation dans le futur.

Les résultats obtenus indiquent que C est équivalent à A et est supérieur à B. L'augmentation de progrès génétique en A ou C est de 9-10 %, en B de 6 % par rapport au schéma actuel sans la SAM. On avait vu auparavant que la SAM permettait de faire le même progrès génétique à un moindre coût. Logiquement, on trouve bien qu'au même coût, elle permette de faire un progrès génétique supérieur. En considérant plusieurs classes d'âge des mères, on peut penser (à confirmer évidemment) que la configuration optimale sera un mélange de jeunes donneuses avec SAM des fils à 10 mois et de donneuses plus âgées avec SAM des fils à 3 mois. Bien entendu, la question du devenir de la variabilité génétique en situation de SAM ne peut être éludée. Des travaux sont en cours pour faire ressortir les approches les plus intéressantes.

Ces indications restent encore à valider sur les populations Holstein et Montbéliarde, avant d'être éventuellement recommandées.

## CONCLUSION

L'examen des différentes possibilités offertes par les biotechnologies de la reproduction, notamment le transfert d'embryon et de certaines biotechnologies "naturelles" du génome telle que le marquage moléculaire, notamment en synergie, montre que sous réserve d'une organisation encore plus rigoureuse que dans le passé, il devrait être possible de relever le défi actuel : promouvoir le progrès génétique sans augmenter le coût global de la sélection.

**Boichard D., Grohs C., Bourgeois F., Cerqueira F., Faugeras R., Neau A., Rupp R., Amigues Y., Boscher M.Y., Levéziel H., 2003.** Genet. Sel. Evol. , 35, 77-101

**Colleau J.J., 1999.** Renc. Rech. Rum, 6, 231-233.

**Colleau J.J., Heyman Y., Renard J.P., 1998.** INRA Prod. Anim., 11, 41-56

**Colleau J.J., Regaldo D., 2001.** Renc. Rech. Rum., 8, 329-332

**Colleau J.J., Moureaux S., Briend M., Béchu J., 2003.** Renc. Rech. Rum., 10, 181-184

**Colleau J.J., Moureaux S., Briend M., Béchu J., 2004.** Genet. Sel. Evol. , 36, 373-394

**Eggen A., 2003.** Renc. Rech. Rum., 10, 19-24

**Fritz S., Colleau J.J., Druet T., Boscher M.Y., Rossignol M.N., Malafosse A., Boichard D., 2003.** Renc. Rech. Rum. 10, 53-56.

**Fritz S., Colleau J.J., Druet T., Boscher M.Y., Rossignol M.N., Ponsart C., Leguienne B., Humblot P., 2004.** Renc. Rech. Rum. 11,

**Tissier M., Ponsart C., Regaldo D., Mervant G., Humblot P., 2004.** 20<sup>ème</sup> réunion de l'AETE , Lyon, 79-85