

Intérêt du typage des embryons dans un programme de sélection assistée par marqueurs en bovins laitiers

COLLEAU J.J. (1), FRITZ S. (2), PONSART C. (3), LE BOURHIS D. (3), LACAZE S. (4), TISSIER M. (5), MERVANT G. (5), AMIGUES Y. (6), DRUET T. (7), MALAFOSSSE A. (2), BOICHARD D. (1), HUMBLLOT P. (3)

(1) INRA, DGA, SGQA - 78352 Jouy-en-Josas cedex, (2) UNCEIA - Dept Fédéral 5 - 149 Rue de Bercy - 75012 Paris, (3) UNCEIA - Dept R&D - 13 rue Jouët - 94704 Maisons-Alfort, (4) MIDATEST - Les Nauzes - 81580 Soual, (5) UMOTEST - Les Soudanières - BP2 - 01250 Ceyzeriat, (6) LABOGENA - Domaine de Vilvert - 78352 Jouy-en-Josas cedex, (7) Unité de Génomique Animale - Université de Liège - 1 Avenue de l'Hôpital - B-34 - 4000 Liège

RESUME - La sélection assistée par marqueurs (SAM) des jeunes mâles de race laitière à mettre en testage sur descendance peut varier suivant le moment du typage. Les variantes actuelles sont la SAM-s où le typage a lieu après l'entrée en station et la SAM-f où le typage a lieu en ferme. Une variante nouvelle possible est la SAM-e où les embryons sont sexés et les embryons mâles sont typés. L'intérêt relatif des trois types de SAM a été évalué par simulation rétrospective sur une série de trois cent soixante douze veaux Montbéliards, sélectionnés suivant la SAM-s, dont deux cent dix issus de transplantation embryonnaire. La contrainte majeure a été que les coûts globaux de la sélection soient identiques. Le critère d'efficacité a été le niveau moyen des cent dix meilleurs animaux à la sortie de la station, pour l'index de synthèse SAM (ISS). La mise en œuvre de la SAM-e a entraîné une réduction d'environ 20 % tant des effectifs à mettre en station que des embryons à poser. La mise en œuvre de la SAM-f n'a nécessité qu'une réduction de 4 % des effectifs mis en station. Il s'est avéré que les performances de la SAM-e et la SAM-f ont été supérieures à celles de la SAM-s, permettant d'augmenter, de 12 et 31 % respectivement, la différentielle de sélection entre la conception et la sortie de station à un an. Les résultats obtenus sur la SAM-f confortent le développement actuel du typage en ferme. La SAM-e, plus exigeante au point de vue technique, représente aussi un progrès. La méthodologie de l'évaluation assistée par marqueurs est elle-même en pleine évolution et susceptible d'améliorer la qualité des évaluations génétiques, notamment celles des embryons. Dans ce nouveau contexte, il sera néanmoins utile de comparer les performances relatives de SAM-e et de SAM-f, avec les contraintes économiques toujours en arrière-plan.

The value of embryo typing in a marker-assisted selection programme for dairy cattle

COLLEAU J.J. (1), FRITZ S. (2), PONSART C. (3), LE BOURHIS D. (3), LACAZE S. (4), TISSIER M. (5), MERVANT G. (5), AMIGUES Y. (6), DRUET T. (7), MALAFOSSSE A. (2), BOICHARD D. (1), HUMBLLOT P. (3)

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

SUMMARY - Marker-assisted selection (MAS) of young males of dairy cattle breeds to be progeny-tested can depend on when typing is carried out. Current versions are s-MAS where typing occurs after entering station and f-MAS where typing occurs earlier, on the farm. A new version might be e-MAS where embryos are sexed and where male embryos are typed. The relative values of these three implementations were assessed in retrospect on a batch of 372 s-MAS selected Montbéliard calves, including 210 born from embryo transfer. The main constraint was that the overall selection cost was the same for any method. Genetic efficiency was measured by the average overall estimated breeding value of the best 110 animals when leaving the station. Implementing e-MAS reduced by about 20% the number of calves entering the station and of embryos transferred. Implementing f-MAS reduced by only 4% the number of calves entering the station. e-MAS and f-MAS outperformed s-MAS, by 12% and 31% respectively, for the selection differential between conception and 1 year, when leaving the station. The results obtained for f-MAS supported its current development in practice. e-MAS would also be an improvement, if typing were feasible from field material. The methodology of marker-assisted evaluation itself is currently improving, which would be quite favourable to e-MAS. New simulations would be useful in this context.

INTRODUCTION

En France, depuis 2001, la sélection assistée par marqueurs (SAM) des jeunes mâles des trois grandes races laitières (Holstein, Montbéliarde, Normande) s'effectue à partir du typage de candidats en vif soit après l'entrée en station entre trois et six mois (SAM-s), soit de plus en plus, en ferme avant l'entrée en station et avant deux mois (SAM-f). Les principes de la SAM et les résultats de son application sont décrits par Fritz *et al.* (2003, 2007, 2008). Il y a deux raisons qui pourraient justifier la réalisation d'un typage très précoce, dès le stade embryonnaire, ce qui donnerait naissance à la SAM sur embryons (SAM-e). D'une part, la proportion de candidats nés de transplantation embryonnaire (TE) est substantielle. D'autre part, des travaux récents effectués dans le cadre du programme TYPAGENAE (FRT-ANR GENANIMAL) par l'UNCEIA, l'INRA et LABOGENA ont montré que l'ADN extrait d'une biopsie de cinq à dix cellules permettait de typer l'embryon pour les quarante cinq marqueurs microsatellites de la SAM actuelle avec un faible

taux d'erreur (2 à 3 %), au moins en conditions de laboratoire. La sélection précoce des embryons pourrait stimuler les rythmes de progrès génétique et en même temps, ce qui présente aussi un intérêt, diminuer les besoins du programme de sélection en receveuses d'embryons. Ces potentialités doivent être testées quantitativement en tenant compte des coûts supplémentaires induits car l'objectif général de la SAM, depuis son début en 2001, est au contraire de réduire les coûts de la sélection pour un rythme désiré de progrès génétique.

La communication présente les résultats d'une simulation rétrospective considérant le programme SAM-s d'UMOTEST en race Montbéliarde (trois cent soixante-douze veaux typés SAM, dont deux cent dix issus de TE, et nés entre le 1/10/2006 et le 30/09/2007) et tenant compte des paramètres techniques et économiques afférant à cette unité de sélection. Les deux nouvelles SAM (SAM-e et SAM-f) exploitent la même population de *conceptus* (issus d'IA et de TE) que la SAM-s, qui constitue la référence, avec la contrainte majeure

que le coût global des trois SAM doit être identique. Le critère de jugement des trois SAM est alors le niveau moyen des cent dix meilleurs animaux (effectif annuel habituel des animaux mis ensuite au testage sur descendance) pour l'ISS (index synthétique SAM) à un an. La question traitée est donc de savoir dans quelle mesure ces deux SAM peuvent générer des progrès génétiques supplémentaires sans augmenter le coût global. Si c'est le cas, on peut envisager ensuite de réduire le coût de la SAM tout en conservant un progrès génétique équivalent à celui permis par la SAM-s, ce qui serait conforme à l'objectif général de la SAM.

1. APPROCHE GENERALE DE SIMULATION

On réalise cinq cents réplifications de tirages aléatoires de conceptus fictifs à partir des parents concernés. Pour chaque réplification, on conduit les trois types de SAM. Les conclusions s'établissent à partir des moyennes obtenues sur les cinq cents réplifications.

1.1. SIMULATION DES EFFECTIFS PAR ACCOUPLEMENT

Les veaux réels SAM-s sont issus d'une liste de vingt et un pères et de deux cent quatre-vingt-deux mères avec un certain protocole d'accouplements, qu'on considère comme une donnée et non un sujet de questionnement. Certains veaux ont été obtenus par IA et d'autres par TE. Dans chaque tirage, il y a alors exactement le même nombre de veaux IA que dans la série réelle avec le même pedigree. Autrement dit-on ne remet pas en cause le taux d'utilisation de l'IA. Cependant, les génotypes marqueurs de ces veaux varient suivant les tirages, en tenant compte des génotypes marqueurs du couple de parents. En ce qui concerne les veaux issus de TE, les effectifs de conceptus pour un accouplement donné varient suivant les tirages. La collecte correspondante en embryons congelables est simulée en tenant compte des effectifs de mâles observés. Pour cela on part de la distribution en race Montbéliarde des collectes donnant au moins un embryon congelable, de moyenne 6,3 et d'écart-type 4,5, du sex-ratio (0,5), du taux de survie des embryons (0,5) et l'on établit les distributions du nombre d'embryons congelables sachant le nombre de veaux mâles réels observés pour cet accouplement, qui varie de un à trois. Le résultat logique de ces distributions conditionnées est que la proportion moyenne des embryons mâles est un peu plus forte que 50 % (tableau 1). Les génotypes marqueurs des *conceptus* mâles pour un accouplement donné sont ensuite simulés. Par conséquent, pour les veaux TE, l'aléa influence non seulement les génotypes marqueurs mais aussi les effectifs de *conceptus* pour un accouplement donné.

1.2. SIMULATION DES GENOTYPES MARQUEURS

Il est indispensable de simuler les génotypes marqueurs des conceptus mâles pour être en mesure de calculer les ISS aux trois âges critiques : conception, naissance (en toute rigueur entre un et deux mois) et un an. Toutes ces valeurs permettent en effet de prendre les décisions adéquates dans chaque modalité de SAM. L'ISS de la SAM actuelle prend huit caractères en considération avec un nombre de QTL par caractère allant de trois à cinq, suivis par quarante-cinq marqueurs. L'information détaillée fournie à chaque indexation mensuelle est très volumineuse puisque pour chaque individu du pedigree et chaque caractère, on a les génotypes marqueurs et probabilités correspondantes, l'index polygénique et les index concernant les QTLs paternels, les QTLs maternels. Dans le cadre de cette étude, ces données ont été recalculées et archivées dans les

conditions de l'époque tous les cinq mois environ sur la période qui nous intéresse (sept fois au total). Pour la simulation des marqueurs chez les *conceptus*, on a considéré la dernière archive connue en ce qui concerne les génotypes marqueurs des parents et leurs probabilités de phases, parce que s'approchant le plus de la réalité. Dans le cadre de ces probabilités, à chaque réplification parmi les cinq cents, on a simulé les génotypes 'vrais' des parents, puis à partir de ces génotypes et de la connaissance des taux de recombinaison entre marqueurs, on a généré des génotypes marqueurs 'vrais' pour les *conceptus*. In fine, compte tenu de ceux-ci et des phénotypes marqueurs correspondants, on a calculé les probabilités d'origine des QTLs. Ces probabilités ont été utilisées pour calculer les éléments détaillés nécessaires au calcul des ISS, en combinaison avec les index détaillés des parents archivés le plus près possible après la date réelle considérée : conception, naissance, un an.

2. LES ELEMENTS DE COÛT

Les coûts en euros fournis par UMOTEST sont de 2600 € par veau en station, de 80 € par embryon posé et de 150 € par veau refusé. Le coût de la biopsie et du sexage en ferme s'établit à 150 €, en se basant sur l'expérience de l'UNCEIA en la matière. Le coût actuel du typage SAM d'un veau est de 65 €. Le coût du typage d'un embryon est de 80 €, selon l'estimation de LABOGENA. Autrement dit, sexer deux cents embryons puis typer cent embryons mâles doit dans le cadre de l'étude se payer en réduisant de quinze l'effectif à mettre en station

3. LES MODALITES DE SAM

3.1. SAM-S

La SAM-s simulée a exactement la même structure familiale que la SAM-s observée de référence. Les veaux mâles nés de TE et excédentaires par rapport à cette structure sont éliminés au hasard, puisqu'on ne dispose pas d'information moléculaire permettant de faire un tri objectif. Pour chaque réplification, on calcule un coût de référence qui tient compte du nombre de veaux en station, du nombre d'embryons mâles posés, du nombre de veaux refusés à l'entrée en station. Le coût de la collecte embryonnaire et le coût de la pose des embryons femelles ne sont pas pris en considération puisqu'ils sont identiques dans les autres versions de SAM.

3.2. SAM-F

Tous les produits IA sont typés. Tous les embryons congelables sont posés et les produits survivants à la naissance sont typés. Le coût fait intervenir les nombres d'embryons mâles posés, de veaux typés et de veaux en station. On calcule le nombre de veaux en station compte tenu du coût de référence de la réplification considérée. Les veaux sont sélectionnés suivant l'ISS naissance, avec une contrainte familiale (deux au maximum par accouplement).

3.3. SAM-E

Tous les embryons sont biopsiés et sexés. Les embryons mâles sont typés et évalués (ISS de conception). Les embryons mâles excédentaires par rapport à la limite de quatre par accouplement sont éliminés. Les mâles issus d'IA sont typés à la naissance. Puis les produits IA et les produits TE survivants sont sélectionnés conjointement sur l'ISS naissance en fonction de l'effectif permis par le coût de référence et dans la limite de deux par accouplement. Le coût fait intervenir les biopsies, le typage des embryons mâles, la pose des embryons mâles sélectionnés, le typage des produits IA, les nombres de veaux refusés et en station.

4. RESULTATS

4.1. EFFECTIFS MIS EN ŒUVRE

Le tableau 1 montre que la mise en œuvre de la SAM-e à budget constant oblige à réduire sensiblement le nombre de veaux mis en station (-22 %), ce qui affaiblit la pression de sélection possible à la sortie de station. En revanche, la SAM-f, moins coûteuse, ne conduit qu'à une réduction modique de cet effectif (-4 %). La SAM-e conduit à une diminution sensible (-16 %) du nombre d'embryons transférés, ce qui réduit d'autant les besoins en receveuses. Cette diminution tient à l'élimination de 29 % des embryons mâles, élimination qui précisément différencie la SAM-e des deux autres SAM.

Tableau 1 : effectifs moyens observés pendant les simulations

	SAM-s	SAM-f	SAM-e
Emb.	1188	1188	1188
Emb. sexés	0	0	1188
Emb. posés	1188	1188	1002
Emb. mâles typés	0	0	642
Veaux refusés	110	124	168
Veaux station	372	358 (-4%)	289 (-22%)

4.2. STATISTIQUES CONCERNANT LES INDEX SAM

Les cinq variables laitières indexées dans la SAM sont globalisées dans un index de synthèse laitière, l'INEL, avec les mêmes pondérations que pour l'INEL obtenu lors des évaluations classiques nationales. Il existe par ailleurs l'index cellules et l'index fertilité, d'interprétation immédiate. L'index 'développement' (de la mamelle) est propre à la race Montbéliarde. Il s'interprète approximativement comme l'opposé de l'index 'distance plancher-jarret'. Une évolution négative pour cet index est donc une évolution favorable. La synthèse générale SAM est l'ISS.

Pour pouvoir interpréter facilement les résultats finaux (à un an) des trois types de SAM, il est utile de connaître la gamme de variation des index observée sur les populations de *conceptus* simulés. Ces index sont les index SAM à un an, et non à la conception, parce qu'ils reflètent au mieux la valeur génétique vraie de ces *conceptus*. Les écarts-types moyens intra-réplication pour l'ISS, l'INEL, l'index cellules, l'index fertilité et l'index développement sont respectivement de 6,4 ; 7,7 ; 0,43 ; 0,54 ; 0,26.

Il est essentiel de se souvenir que l'index SAM obtenu avec la méthodologie actuelle (SAM de première génération) est encore très dépendant de l'apport des informations zootechniques, notamment concernant les mères. C'est la raison pour laquelle l'index ISS à la conception n'est que moyennement lié à l'index ISS à un an (tableau 2).

La corrélation observée pour l'index fertilité est encore plus faible, en raison des délais liés à la connaissance de la fertilité (gestation confirmée ou vêlage). A l'inverse, la corrélation observée pour l'INEL est plus forte.

Tableau 2 : corrélations entre les index SAM à différents âges suivant le type d'index

Index	Conception	Naissance	Conception
	Naissance	1 an	1 an
ISS	0,83	0,89	0,71
INEL	0,86	0,89	0,76
Fertilité	0,78	0,90	0,65

4.3. DIFFERENTIELLES DE SELECTION

A L'ENTREE EN STATION

Elles correspondent à l'écart entre l'index moyen des animaux en station et l'index moyen des *conceptus*. Ces index sont, rappelons-le, les index obtenus à un an et non les

index à la naissance ou les index à la conception. On constate dans le tableau 3, que la SAM-e permet d'accroître très sensiblement le niveau ISS (de 5,1, soit 0,9 écart-type d'index) alors que la SAM-f ne permet qu'un accroissement beaucoup plus modeste (1,6). On note que le progrès sur l'ISS est dû essentiellement au progrès constaté sur l'INEL.

Tableau 3 : différentielles de sélection à l'entrée en station pour l'ISS à un an (niveau conception = 0)

	SAM-s	SAM-f	SAM-e
ISS	-0,2	1,4	4,9
INEL	-0,7	0,9	5,7
Cellules	0,02	0,07	0,09
Fertilité	0,04	0,11	0,14
Développement	-0,02	-0,11	0,02

La différentielle de sélection pour la SAM-s est voisine de 0 parce qu'on prend comme référence le niveau moyen des pères et des mères concernés et qu'il n'est pas possible de faire une sélection efficace intrafamiliale. Dans l'absolu, le niveau moyen des parents varie bien entendu en fonction de l'effort de sélection avant station.

4.4. DIFFERENTIELLES DE SELECTION

A LA SORTIE DE STATION

Elles correspondent à l'écart entre l'index moyen des cent dix meilleurs animaux sortis de station et l'index moyen des *conceptus*. Ces index sont rappelons-le les index obtenus à un an. Les différentielles de sélection ISS sont conséquentes pour les trois SAM (tableau 4) On constate que l'avantage de la SAM-f sur la SAM-s est à peu près le même qu'à l'entrée en station, ce qui est cohérent avec le fait que les effectifs en station sont très voisins. L'avantage de la SAM-e existe toujours mais il est fortement érodé, en raison de la réduction de l'effectif en station correspondant. *In fine*, le remplacement de la SAM-s par la SAM-e conduit à une augmentation de 2,1 points d'ISS (0,33 écart-type d'index), ce qui est appréciable. On notera une fois encore que cette supériorité est due essentiellement à une supériorité sur l'INEL, ce qui est logique : vu les corrélations indiquées tableau 2, l'effort de sélection effectué à la conception a beaucoup plus d'impact sur l'INEL que sur les autres index.

Tableau 4 : différentielles de sélection des cent dix sortis de station pour l'ISS à 1 an (niveau conception = 0)

	SAM-s	SAM-f	SAM-e
ISS	6,7	7,5	8,8
INEL	7,7	8,8	10,8
Cellules	0,13	0,13	0,11
Fertilité	0,16	0,16	0,16
Développement	-0,01	-0,01	0,00

5. DISCUSSION

Il y a un certain nombre d'approximations dans cette étude. Nous n'avons pas pu par exemple disposer de l'information détaillée relative aux récoltes embryonnaires d'où provenaient les veaux. Et surtout, nous avons procédé comme si l'information, moléculaire notamment, relative à une série annuelle de veaux était disponible simultanément. En fait, elle est séquentielle et de ce fait, la précision du calcul des probabilités d'origine des QTL a été sans doute surestimée. Cependant, fragmenter la série en sous-séries aurait notablement complexifié les calculs et obligé à fragmenter les décisions de sélection suivant certaines règles qui, elles aussi, auraient pu paraître discutables.

L'hypothèse centrale est qu'il n'y a pas d'erreur de typage sur les embryons. Or en condition de laboratoire, il existe déjà en faible proportion (2 à 3 %) des phénomènes de *drop-*

out allélique (hétérozygotes vus comme homozygotes pour l'un ou l'autre des deux allèles). De plus, les premiers essais de typages d'embryons biopsiés en ferme indiquent une proportion non négligeable de marqueurs non typés (Le Bourhis *et al.*, 2008). Une nette amélioration du protocole technique correspondant et la prise en considération d'un nombre substantiel de biopsies (plusieurs centaines) seraient nécessaires pour avoir une idée précise de la statistique des erreurs de tous ordres, en vue de son intégration dans une simulation plus réaliste. A contrario, les résultats positifs de cette étude (qui n'étaient pas évidents au début, vu la sévère contrainte financière posée) peuvent être considérés comme une incitation à poursuivre les recherches techniques sur le typage des biopsies d'embryons.

L'évolution actuelle concernant l'évaluation génétique assistée par marqueurs (Fritz *et al.*, 2008) amène également à considérer que le sujet est plus que jamais digne d'intérêt. En effet, la méthode actuelle (utilisée sur les données de cette étude) consiste à construire l'évaluation génétique à un QTL donné, à partir d'une somme d'aléas de méiose, d'une génération à l'autre, conditionnés par la transmission des marqueurs (un nombre limité de marqueurs assez éloignés du QTL). Il s'agit donc d'une méthode lourde qui repose beaucoup sur la succession des performances dans le temps et sur le typage des apparentés proches. La méthode suivante (qui sera utilisée dès fin 2008) évaluera directement les valeurs d'haplotypes à des marqueurs très proches du QTL, ce qui sera à la fois plus simple et plus précis. Par ailleurs, les valeurs génétiques d'un haplotype donné varieront peu dans le temps, et en particulier seront moins dépendantes de l'apport de données zootechniques nouvelles. Dans ces conditions, toujours dans l'hypothèse d'un typage parfait des embryons, il est à prévoir que l'écart entre SAM-e et SAM-f serait bien plus important que dans la présente étude. En tout état de cause, cette dernière devrait être effectuée de nouveau, en considérant les nouveaux index SAM. Cependant, le nouveau marquage implique des milliers et même des dizaines de milliers de marqueurs de type SNP. Dans l'état actuel de la technique, la quantité d'ADN fournie par une biopsie est notoirement insuffisante pour un tel typage. Par conséquent, la nouvelle étude pourrait s'effectuer en double : d'abord, sur la totalité des marqueurs à des fins incitatives comme ici (scénario optimiste) puis sur une sélection de marqueurs concernant les QTLs des caractères les plus importants en nombre compatible avec l'ADN fourni par les biopsies (scénario pessimiste).

En raisonnant sur le long terme, on peut penser que la connaissance du génome correspondant aux caractères d'intérêt aura tellement progressé qu'on sera capable de génotyper les individus pour les loci / gènes impliqués et de donner avec une très grande précision une estimation de la valeur génétique associée. On en sera alors à la sélection génomique (Bidanel *et al.*, 2008). Dès lors, le testage des mâles sur descendance ne sera plus nécessaire, ce qui libérera

des ressources financières considérables. Cependant, il faudra tenir compte d'un facteur sociologique bien ancré chez les sélectionneurs et éleveurs bovins (et même d'autres espèces) : le niveau de leurs exigences. Ils demandent en effet non seulement que les reproducteurs utilisés aient une valeur génétique globale minimale très élevée mais aussi qu'ils ne présentent aucune faiblesse pour chacune des composantes associées aux caractères particuliers. D'où une cascade d'éliminations qui est très difficile à gérer dans le contexte actuel. La voie privilégiée pour le futur sera donc de génotyper un très grand nombre d'individus de manière à pouvoir obtenir les rares individus à profil désiré. Il est alors très vraisemblable (à vérifier par la suite) que l'approche la plus efficace en terme de coût sera de produire de très nombreux embryons, plutôt que de faire naître de très nombreux individus, de les typer et de les sélectionner. Seule une très petite proportion d'embryons mâles serait effectivement transférée et les produits correspondants pourraient être utilisés directement en insémination artificielle. Le présent travail ouvre la voie à cette nouvelle vision des programmes de sélection en bovins laitiers.

CONCLUSION

Les résultats obtenus justifient l'évolution actuellement constatée, notamment en race Holstein, de la SAM-s vers la SAM-f. Par rapport à cette dernière, la SAM-e permettrait une augmentation de l'ordre de 20 % pour la différentielle de sélection entre la conception et la mise au testage sur descendance après l'âge d'un an, avec une économie de l'ordre de 20 % des receveuses nécessaires. Ceci n'était pas du tout évident a priori vu la contrainte financière posée. Cependant, on manque encore de recul pour apprécier l'incidence défavorable d'erreurs éventuelles de typages pour les marqueurs.

L'arrivée annoncée de nouvelles méthodes d'évaluation assistée par marqueurs renforce l'intérêt potentiel de la SAM-e mais pose de manière encore plus aiguë le problème de la qualité et même de l'exhaustivité des typages. Si celui-ci était maîtrisé à long terme, la sélection génomique en bovins laitiers pourrait s'appuyer largement sur une vaste population d'embryons typés.

Bidanel J.P., Boichard D., Chevalet C., 2008. Bull. Prod. Anim. INRA 21 15-32

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., Druet T., Guillaume F., Malafosse A., Boscher M.Y., Eggen A., Gautier M., Colleau J.J., Boichard D., 2007. Renc. Rech. Rum., 14, 129-132

Fritz S., Guillaume F., Tarres J., Baur A., Boussaha M., Boscher M.Y., Journaux L., Gautier M., Colleau J.J., Eggen A., Boichard D., 2008. Renc. Rech. Rum., 15, 423-426

Le Bourhis D., Amigues Y., Tissier M., Moulin B., Lacaze S., Charreaux F., Fritz S., Gonzalez C., Ponsart C., Heyman Y., Humblot P., 2008. Renc. Rech. Rum., 15, 387-390