

GENANIMAL : ANR-GANI-015 (2006-2008),

Mesures phénotypiques et étude du polymorphisme de gènes candidats de QTL de fertilité femelle en race Prim'Holstein

Patrice HUMBLLOT 1, Yves AMIGUES 2, Claire PONSART 1, Julie GATIEN 1, Dorothee LEDOUX 3, André Eggen 4, Sebastien FRITZ 5

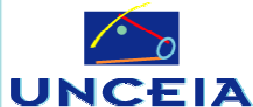
1 Union Nationale des coopératives agricoles d'Elevage et d'Insémination Animale (UNCEIA) ; Dépt R&D, 13 rue Jouet, 94704, Maisons Alfort.

2 Laboratoire d'analyses Génétiques pour les espèces animales (LABOGENA), 78350, Jouy-en-Josas.

3 UMR INRA-ENVA 1198, 7 Avenue du Général de Gaulle.

1 INRA Génétique Animale GABI, 78350 Jouy en Josas,

4 UNCEIA, Dépt Génétique, 78350 Jouy en Josas.



LABOGENA

GENIFER : Contexte

- Une liaison génétique négative entre performances de reproduction et aptitudes laitières a été mise en évidence mais peu d'informations existent sur l'impact des effets génétiques négatifs sur des événements de reproduction précis (Boichard et Humblot 2006).
- Dans le cadre du programme CARTOFINE, de nombreux QTL de fertilité ont été cartographiés en race Holstein, les QTL des chromosomes 2, 3, 14, 15 et 18 ayant les effets les plus importants dans cette race.
- Parmi ces QTL, le QTL de fertilité du chromosome 3 semble s'exprimer globalement lors des événements antérieurs à 90 jours post fécondation (à partir de données de TNR qui recouvrent un grand nombre de situations physiologiques (absence de fécondation : mortalité embryonnaire précoce / tardive ou fœtale).
- A partir des résultats de cartographie fine, études en cours
 - pour identifier des mutations candidates pour les principaux QTL de fertilité.
 - pour identifier les rôles du (des) gènes sous jacents à ces QTL (QTL du chromosome 3, programme Fertilité des Vaches Hautes Productrices en cours).

Objectifs

- i) Mettre en évidence le rôle du QTL du chromosome 3 mais aussi au vue des avancées récentes de QTL des chromosomes 2, 3, 14, 15 et 18 sur les différents évènements permettant d'expliquer les différences de fertilité 90 jours après insémination.
- ii) A partir des résultats de CARTOFINE , valider la pertinence des mutations candidates, en particulier celles du chromosome 3, et déterminer leur impact sur les différents évènements permettant d'expliquer les échecs ou le maintien d'une gestation après insémination.
- iii) affiner le caractère « fertilité » Effet de ce QTL intervenant entre 0 et 90 j après IA → identifier les périodes critiques avant ce stade sur la base de phénotypes précis.

Partenariat

PHENOTYPAGE / Gestion Données

Département R&D



Coopératives

Département fédéral

UMR 1198 (PHASE-ENVA)

CORRESPONDANCE PHENOTYPAGE- GENOTYPAGE

Génétique Animale

Département fédéral

GENOTYPAGE

Département R&D

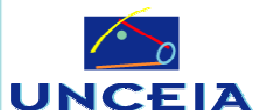
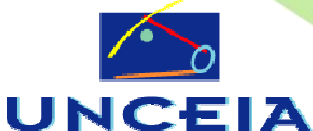


Coopératives

Département fédéral



LABOGENA



LABOGENA

DISPOSITIF

- Mini 5000 filles à génotyper, issues de 12 pères
 - 400 filles par père minimum, en 1^{ère} ou 2^{ème} lactation
 - Au moins 5 femelles suivies par élevage
- 12 taureaux choisis sur les résultats de la SAM (taureaux hétérozygotes) et le nombre de leurs filles
 - Latch, Lounge, Lucid, Lysias,
 - Mansart, Margriet, Meeting, Melkior BW, Monsol,
 - Negundo, Noulet GIB et Okendo
- 2 campagnes d'enquête sur le terrain réalisées
 - octobre 2006 à juin 2008
 - 11 coopératives déjà impliquées : ACTIS, AMELIS, CECNA, COOPELSO, CIA 55, CIA 63, ELIACOOP, GENOE, GROUPE ALTITUDE, SORELIS, URCEO

CHOIX DES FEMELLES ET DES ELEVAGES

- Variabilité du nombre de filles pouvant être incluses suivant les campagnes / orientation des priorités...

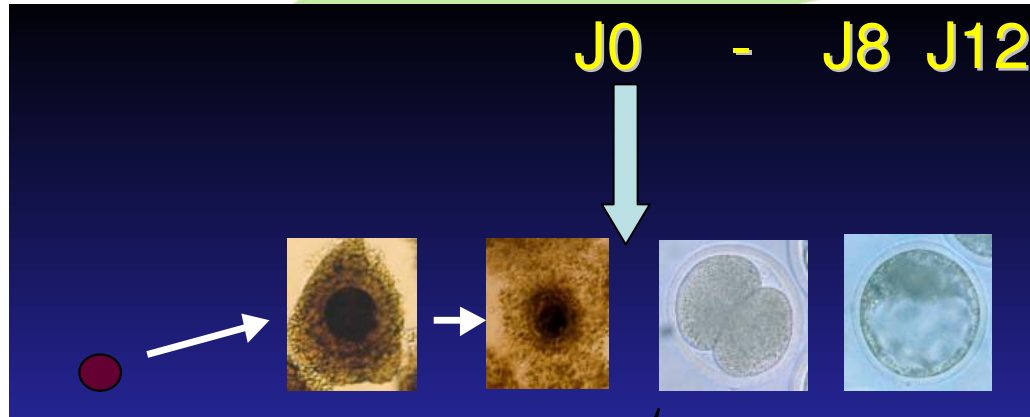
LUCID	608
LATCH	691
MONSOL	864
MANSART	1026
LYSIAS	1178
MELKIOR BW	1407
OKENDO	2481
NEGUNDO	3139
NOULET GIB	3198
MEETING	3701
MARGRIET	4768
LOUNGE	4996

LATCH	601
LUCID	708
MANSART	901
LYSIAS	1054
MONSOL	1725
MELKIOR BW	3132
MEETING	7131
NEGUNDO	8382
LOUNGE	9593
NOULET GIB	12695
MARGRIET	12916
OKENDO	15447

- Choix des élevages ayant le plus de filles à suivre (pour limiter le nombre d'élevages)

PHENOTYPES

(oestrus/ P4 / Pregnancy Prot. PSPB / RP / Vêlage)



J18

-

J45

II) Implantation

Mortalité Embryonnaire Tardive

20% échecs/ ovulation >24 J

III) Mortalité Foetale

(45 -80 jours) , < 10% échecs

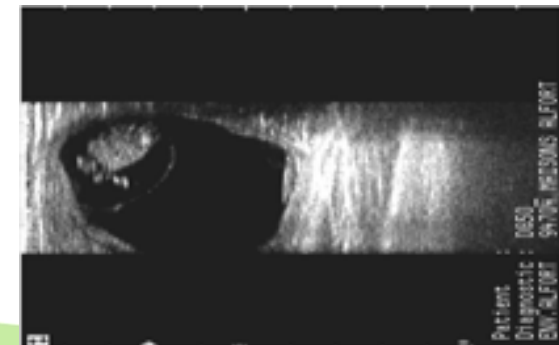
I) Pas de Fécondation / Mortalité Embryonnaire précoce 70-75% échecs

Ovulation / oestrus ? 21-24 Jours post AI

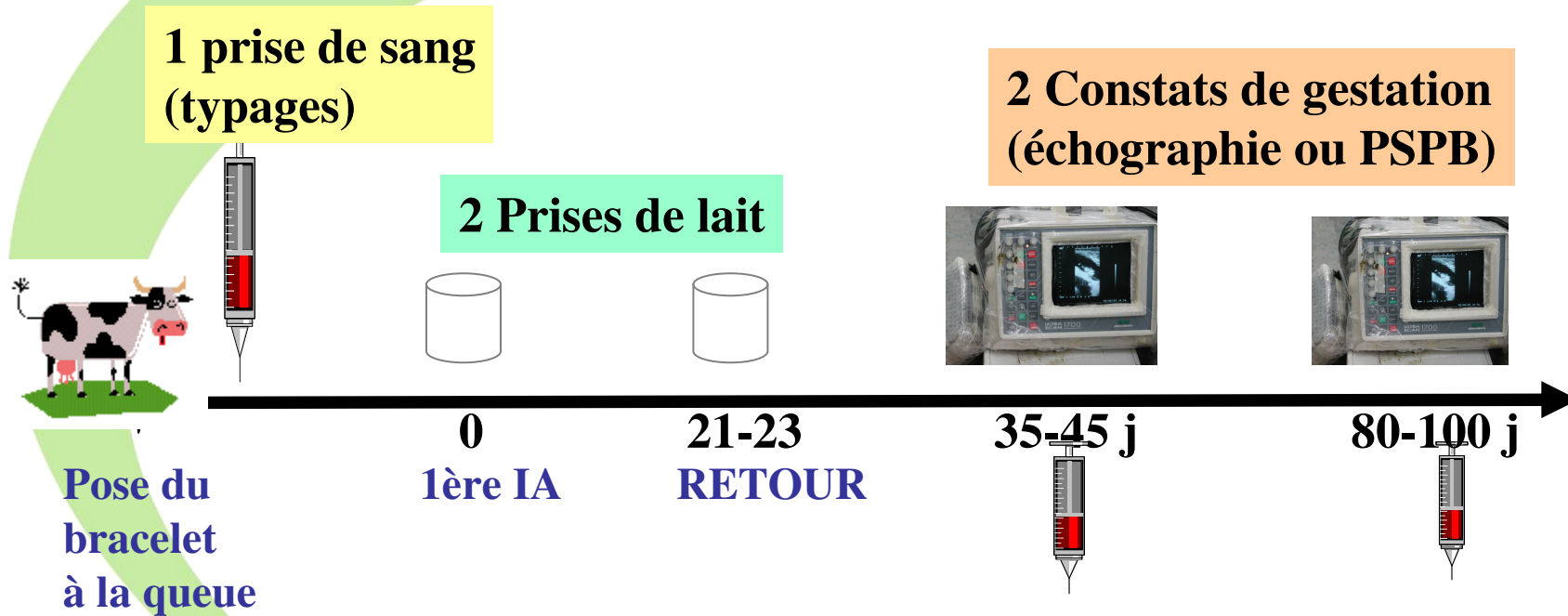
IV) Avortements > 80 jours

< 5% échecs / Oestrus >90 j

V) Gestantes



GENIFER - protocole



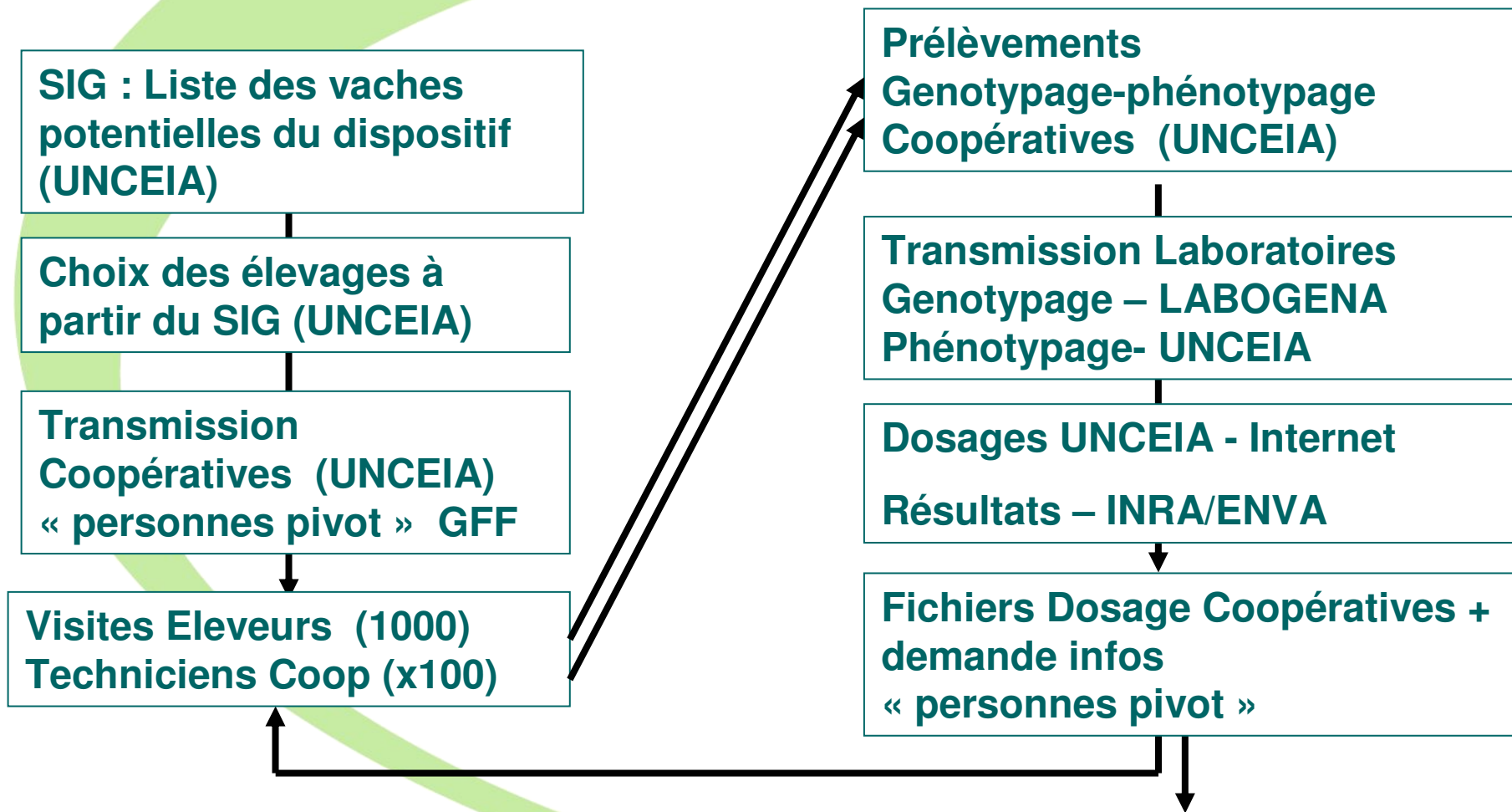
Détermination des Phénotypes

interprétation	dosage de progestérone dans le lait		retour	constat de gestation J35	constat de gestation J80
	J0 (IA)	J21-23			
IA au mauvais moment (en phase lutéale)	+				
Vaches Non Gestantes J21 = Non fécondation ou mortalité embryonnaire précoce (NF-MEP)	-	-	Régulier		
Mortalité embryonnaire tardive (MET) ou phase lutéale prolongée	-	+	Décalé	Non gestante	
Mortalité fœtale	-	+	Décalé	Gestante	Non gestante
Gestation J80	-	+	Absent	Gestante	Gestante

GENIFER - Organisation, préparation de l'enquête

- **Sélectionner les élevages « volontaires » de façon définitive.**
 - Être attentif aux élevages ayant les filles des taureaux « limitants » en terme d'effectifs
- **Réaliser une visite d'élevage en début de protocole pour présenter l'enquête aux éleveurs**
 - Présenter le protocole (séquence des prélèvements)
 - Compléter / présenter le tableau de bord (suivi de l'enquête)
- **Logistique Lourde**
 - Réseau de suivi phénotypique

Réseau pour le suivi phénotypique ; « du traitement d'information à haut débit »

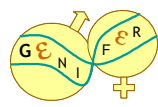


LABOGENA

Phénotypes

GENIFER - 2 dosages de progestérone par vache (IAP)

- ENVOI des flacons identifiés
 - avec FICHE DE RESULTAT
 - pré-identifiée avec n° EDE
 - indiquer date de prélèvement
 - type de prélèvement (J0 ou retour/J21)
 - au labo d'hormonologie de Maisons-Alfort
 - enveloppes pré-affranchies
 - une fois / semaine = lundi matin
 - si pas possible, mardi



Prise de lait pour dosage de la progestérone
Fiche à joindre aux flacons de lait

ELEVAGE, N° EDE									
-----------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--

NOM :	Adresse :
PRENOM :
RAISON SOCIALE :	Code postal :
TEL :	Commune :
CORRESPONDANT :

Instructions pour chaque vache :

- J0 = Prélèvement de lait, lors de la traite du matin suivant la détection des chaleurs.
- J21/R = Prélèvement de lait, lors de la traite du matin, 21 à 23 jours après insémination ou le jour de l'IA de retour si le retour est régulier (entre 18 et 24 jours).

Mode d'emploi :

- En début de traite du matin, éliminer les premiers jets et mettre un peu de lait des 4 quartiers de la vache dans le flacon, contenant une pastille de bronopol (conservateur) : remplir le tube aux 3/4 et bien fermer le flacon.
- Identifier chaque flacon (n° à 10 chiffres de la vache, date de prise de lait, type = J0 ou J21/retour).
- Compléter la fiche (n° de la vache, date de prise de lait, cocher J0 ou J21/retour).
- Mettre au réfrigérateur (+ 4°C) aussitôt après prélèvement, en attendant l'expédition au laboratoire.
- NE PAS CONGELER
- Envoyer les prélèvements avec la(les) fiche(s) complétée(s).

INDIQUER POUR CHAQUE PRISE DE LAIT :

N° VACHE	DATE PRISE DE LAIT	TYPE PRISE DE LAIT	RESULTAT (laboratoire)
		<input type="radio"/> J0 <input type="radio"/> J21/R	
		<input type="radio"/> J0 <input type="radio"/> J21/R	
		<input type="radio"/> J0 <input type="radio"/> J21/R	
		<input type="radio"/> J0 <input type="radio"/> J21/R	
		<input type="radio"/> J0 <input type="radio"/> J21/R	
		<input type="radio"/> J0 <input type="radio"/> J21/R	
		<input type="radio"/> J0 <input type="radio"/> J21/R	
		<input type="radio"/> J0 <input type="radio"/> J21/R	
		<input type="radio"/> J0 <input type="radio"/> J21/R	
		<input type="radio"/> J0 <input type="radio"/> J21/R	

Laboratoire de Dosages Hormonaux
UNCEIA Département R & D,
13 rue Jouet 94704 MAISONS ALFORT

TEL : 01 43 53 51 00
FAX : 01 43 53 51 01
MAIL : nadine.jeanguyot@unceia.fr

GENIFER - Documents

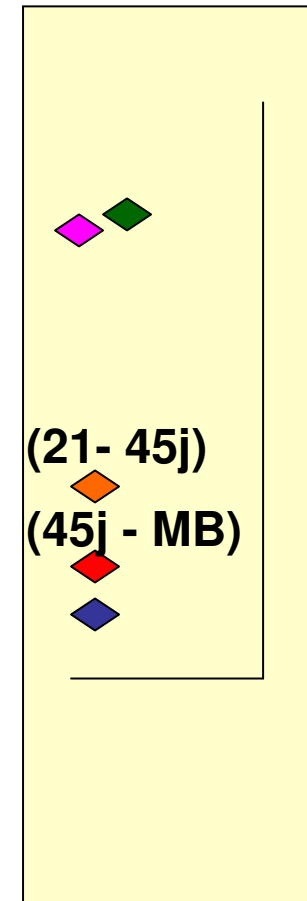
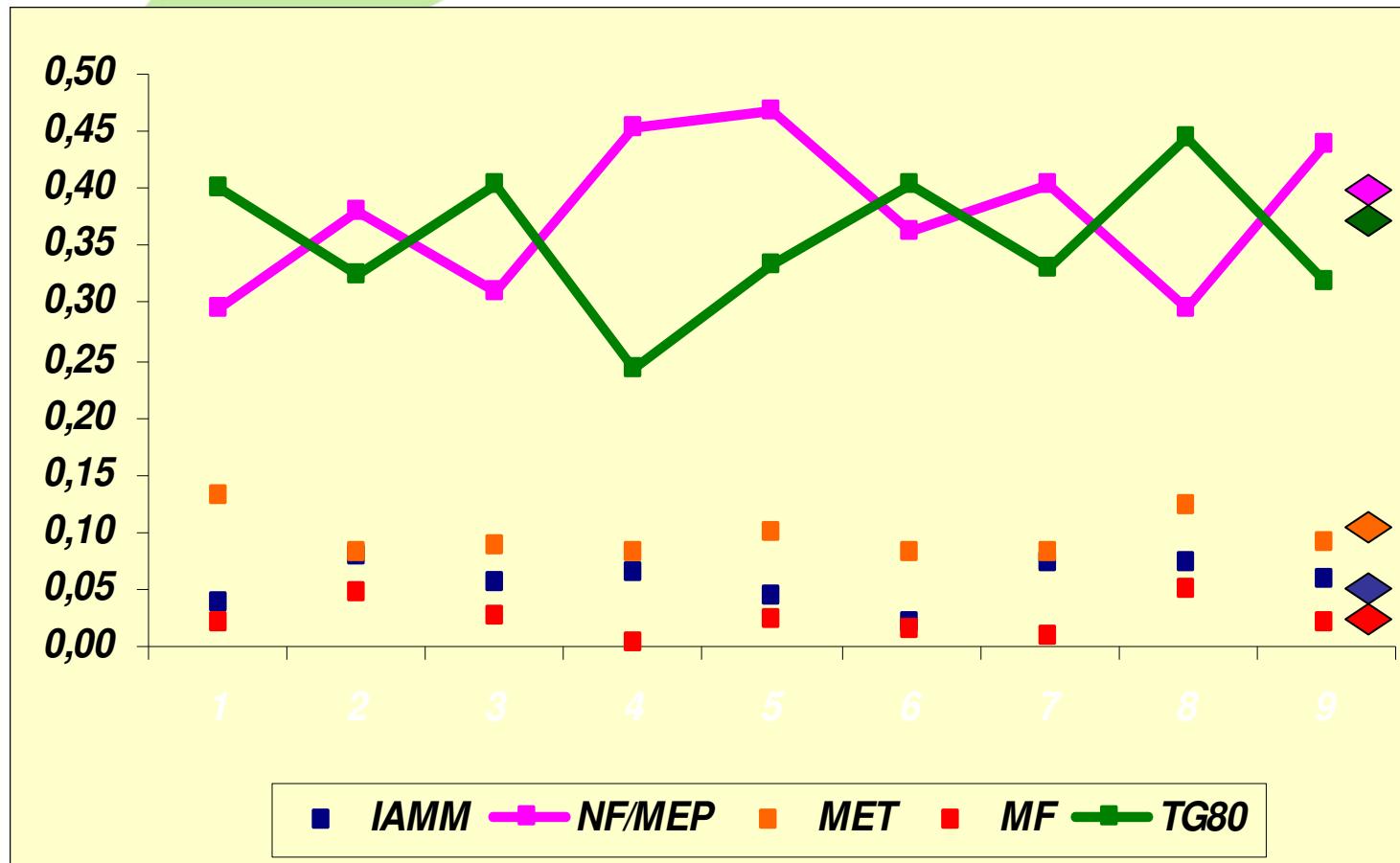
- *Fiche élevage = Tableau de bord (annexe 2), permettant de noter pour chaque vache*
 - *la date de vêlage,*
 - *chaleur de l'IAP (naturelle ou induite),*
 - *dates d'IAP,*
 - *date et résultat du prélèvement de lait à J0,*
 - *date prévue du J21 (à compléter le jour de l'IAP pour programmer le jour du 2nd prélèvement),*
 - *date réalisée du J21, date de l'IA2,*
 - *dates et résultats des constats de gestation si les femelles ne sont pas revues en chaleurs (inséminateur et éleveur).*
- *Pour faciliter le suivi, le tableau de bord sera régulièrement mis à jour avec les résultats des PL par l'ENVA et adressé aux coopératives*

Distribution des phénotypes Vaches enquêtées au 30/09/2008

	n	IAMM	NF/MEP	MET	MF	Gest. 80j	Phénotypes doubles NG AV 35 NG 21-80	Phénotypes En cours + à confirmer
avec génotype	2417	101	686	177	47	678	181 133 48	547
sans génotype	621	26	151	40	8	118	43 37 6	235
Total	3038	127	837	217	55	796	224	782

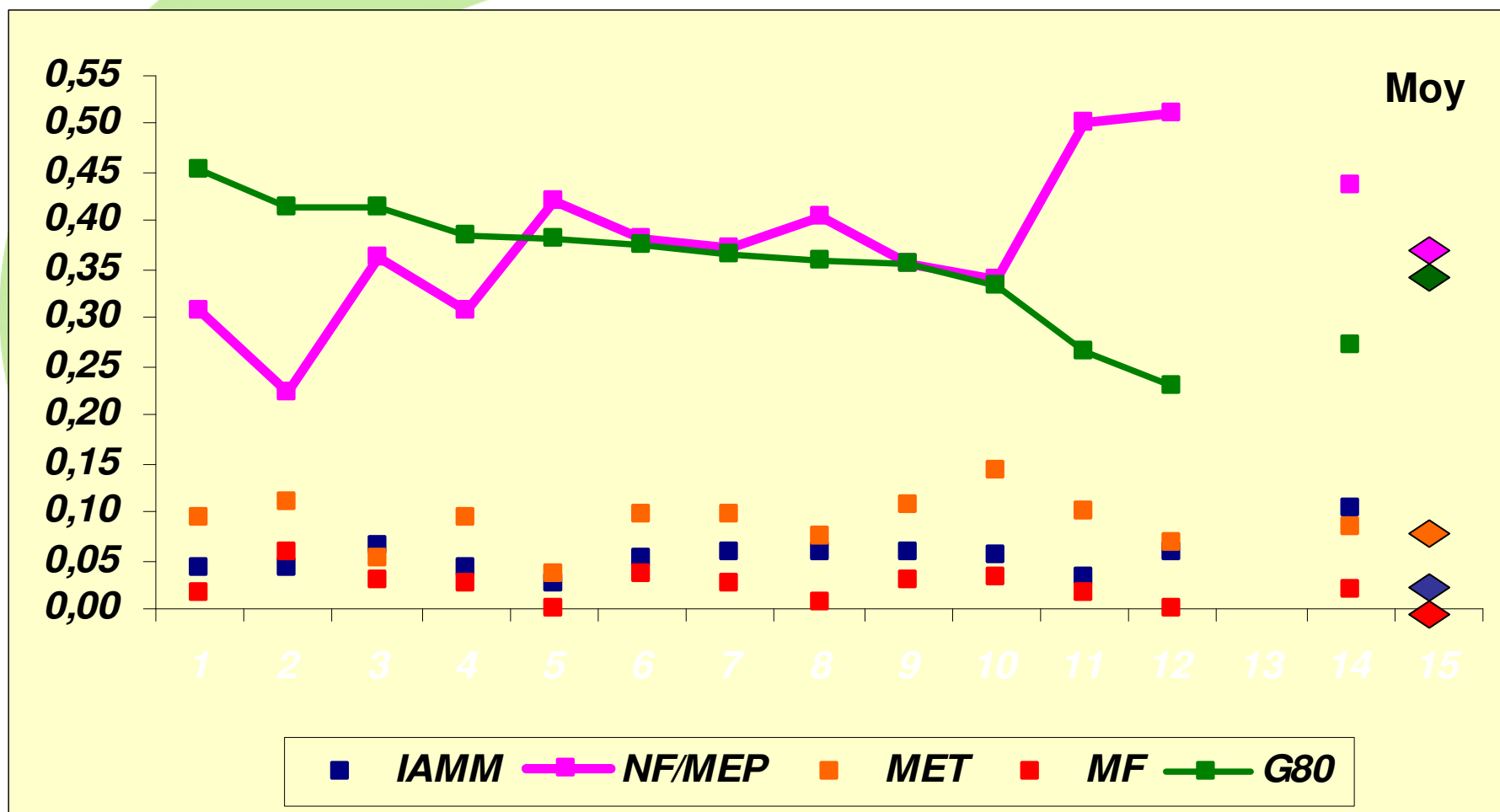
Répartition des phénotypes par Coopérative (n=3038)

Fertilia (2005-07)



(21- 45j)
(45j - MB)

Répartition des Phénotypes par Origine Paternelle (n=2417)



Résultats

- Le nombre de phénotypage par groupe de filles varie de 68 à 380 suivant les pères et le nombre de génotypages associés de 112 à 570.
- Une troisième campagne de prélèvements (génotypage et phénotypage) est mise en route pour compléter le dispositif.
- Les résultats des phénotypes connus (Tableau 1) confirment la fréquence et l'importance relative majeure des échecs de gestation les plus précoces par rapport à l'ensemble des échecs (65% du total des échecs).
- Variabilité entre groupes de filles (NF/MEP et Taux de Gestation 80 jours) à confirmer...

Suites

- Données de vêlage à récupérer à partir du SIG.
- Pour les données de phénotypage incomplètes (manque d'un prélèvement ou d'un constat de gestation) cet ensemble de phénotypes sera complété par l'enregistrement manuel des mises bas correspondantes et des évènements (IA, autres...) permettant de les préciser.
- Fin du phénotypage juillet 2008
- Génotypage Eté / automne 2008
- Correspondance phénotypage / génotypage automne 2008

Difficultés

- Taille du dispositif (x 1000 individus)
- Peu de vaches dans chaque élevage réparties dans beaucoup d'élevages
- Eleveurs « sélectionnés » et non « volontaires » (FERTILIA)
- X structures coopératives (taille différente / logistique différente)
- Beaucoup intervenants (motivation des techniciens)
- Besoin d'une 3^{ème} campagne de phénotypage

Atouts

- Accès SIG
- Aide Réseau appréciée des personnes « pivot »
- Personnel supplémentaire / stagiaires / renforcement 3^{ème} année

Perspectives

- L'analyse des résultats de génotypage et de phénotypage devrait permettre de définir les périodes critiques pour les effets de plusieurs QTL de fertilité étudiés.
- Orienter le choix des périodes de reproduction et les tissus à étudier préférentiellement dans les études de génomique expressionnelle (en cours/ futurs....) (3+)
- Cette étude devrait contribuer à augmenter l'efficacité de la SAM pour cette race, voire permettre la sélection pour ces QTL dans d'autres races bovines, (races à faible effectif) ou la mise en place de protocole de cartographie de QTL est impossible. (à étudier)
- A moyen terme, le développement de la Sélection Génomique en France pourrait s'appuyer sur ce protocole pour mettre en place une évaluation génétique en routine de caractères fins liés à la reproduction (à étudier)
- La base phénotypique et de génotypes constituée pourra servir à l'étude des relations génotypes - phénotypes pour de nombreux autres caractères (3+).