



HAL
open science

Gestion durable de la variabilité génétique des ruminants domestiques : approches in situ et ex situ

Coralie Danchin-Burge

► To cite this version:

Coralie Danchin-Burge. Gestion durable de la variabilité génétique des ruminants domestiques : approches in situ et ex situ. Génétique animale. AgroParisTech, 2012. Français. NNT : 2012AGPT0063 . tel-03603329

HAL Id: tel-03603329

<https://pastel.hal.science/tel-03603329>

Submitted on 9 Mar 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Doctorat ParisTech

THÈSE

pour obtenir le grade de docteur délivré par

**L'Institut des Sciences et Industries
du Vivant et de l'Environnement**

(AgroParisTech)

Spécialité : Génétique animale

présentée et soutenue publiquement par

Coralie DANCHIN-BURGE

le 29 novembre 2012

Gestion durable de la variabilité génétique des ruminants domestiques : approches in situ et ex situ

Directeur de thèse : **Etienne VERRIER**

Jury

M. Philippe BARET	Professeur, Université Catholique de Louvain-la-Neuve
M. Gustavo GANDINI	Professeur, Università degli Studi di Milano
Mme Isabelle BONNIN	Chargée de Recherches, Fondation pour la Recherche sur la Biodiversité
M. Jean-François COURREAU	Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
M. Hervé JACOB	Professeur Associé, Bordeaux Sciences Agro
M. Etienne VERRIER	Professeur, UFR "GER", AgroParisTech

Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur
Directeur

A ma famille

Remerciements

Je tiens évidemment à remercier Etienne VERRIER en premier lieu : c'est lui qui m'a proposé l'aventure du détachement dans son équipe, puis qui a cru, avec moi, que la valorisation de mes travaux par une thèse - alors que j'étais de retour à l'Institut de l'Elevage - n'était pas une folle idée. Merci pour son implication, malgré son agenda chargé, à des moments cruciaux, et pour ses conseils avisés.

Mes remerciements aux autres membres de mon jury de thèse, qui ont accepté d'examiner cette thèse : les rapporteurs, Philippe BARET et Gustavo GANDINI ; et les examinateurs Isabelle BONNIN, Hervé JACOB et Jean François COURREAU.

Mes remerciements également aux membres de mon comité de thèse, même si les rencontres ont été limitées, à savoir Frédéric HOSPITAL, Florence PHOCAS, Sophie MOUREAUX et Isabelle PALHIÈRE, pour leur commentaires, remarques et ajustements appropriés.

Mes remerciements, évidemment, au reste de l'équipe encadrée par Etienne pour leur accueil pendant mon détachement : à Grégoire LEROY, qui, non seulement n'est jamais à court d'idées mais en plus toujours présent pour aider, à Thomas HEAMS qui a du/su partager mon bureau, mais aussi à Xavier ROGNON, Marie ST DIZIER et enfin Fabienne DEDOLE qui n'a jamais oublié de me faire remplir mon planning, et avec le sourire ! Je remercie également les autres membres de PSGEN à Jouy en Josas, qui ont su (bien) m'accueillir.

Merci également à mon encadrement à l'Institut de l'Elevage (en particulier Sophie MATTALIA et Pierre-Louis GASTINEL) pour avoir accepté mon projet et eu confiance sur le fait que je puisse le réaliser tout en accomplissant par ailleurs la charge de travail qui m'était dévolue !

Je tiens également à remercier mes correspondants étrangers qui m'ont fourni les informations sur leurs cryobanques, et plus particulièrement Harvey BLACKBURN (Etats-Unis d'Amérique) pour ses réponses et sa liste de contacts, ainsi que Sipke HIEMSTRA (Pays-Bas), Yves PLANTE (Canada), Arthur MARIANTE (Brésil) et Anna REHNBERG (Norvège).

J'ai également une pensée pour tous ceux qui m'ont accompagné dans la création puis le fonctionnement de la Cryobanque depuis 1999, à savoir les différents membres du conseil de groupement et de la commission scientifique, et plus particulièrement pour les « trois Bernard », Bernard BIBE, Bernard COUDURIER et Bernard GUERIN, et pour la Présidente actuelle de la Cryobanque, Michèle TIXIER-BOICHARD.

Enfin aussi mes remerciements à tous les éleveurs suivis et aux animateurs des races à petits effectifs ou conservatoires avec qui j'ai eu l'occasion d'échanger – et cela a pu être très animé – sur la gestion et la conservation des races à petits effectifs.

TABLE DES MATIERES

Introduction : Contexte, enjeux, et questions	1
Première partie : prise en compte de la gestion de la variabilité génétique dans les programmes de sélection et de conservation.....	7
A. <i>Pourquoi prendre en compte la variabilité génétique chez les races d'élevage</i>	9
B. <i>Gestion in situ de la variabilité génétique pour les races de ruminants en sélection en France.....</i>	14
C. <i>Gestion in situ de la variabilité génétique pour les races de ruminants à petits effectifs en France</i>	18
D. <i>Les collections patrimoniales ex situ in vitro : situations en France et à l'étranger.....</i>	22
1. La Cryobanque nationale	23
a) Les instances de fonctionnement	23
b) Objectifs de conservation.....	25
c) Les questions soulevées par le projet	26
2. Etat des collections de type cryobanque dans le monde.....	27
a) Données générales.....	28
b) Analyse des collections	31
Seconde partie : Bilans de variabilité génétique	39
A. <i>Réalisation de bilans de variabilité génétique in situ et ex situ</i>	42
1. Pour les races bovines en sélection – comparaison in situ et ex situ	42
a) Introduction	42
b) Article: « Evolution of the genetic variability of eight French dairy cattle breeds assessed by pedigree analysis”	42
c) Variabilité génétique <i>in situ</i> et <i>ex situ</i> des bovins allaitants, comparaison avec les bovins laitiers	55
2. Pour les races caprines.....	57
a) Introduction	57
b) Article : « Genetic variability and French breeding programs of three goat breeds under selection ».....	58
c) Diversité génétique des races caprines en conservation	68
3. Pour les races ovines allaitantes – comparaison in situ et ex situ	71
a) Introduction	71
b) Article: “Pedigree analysis of seven small French sheep populations and implications for the management of rare breeds”	71
c) Diversité <i>in situ</i> et <i>ex situ</i> des races ovines allaitantes en sélection	87

B.	<i>Discussion : analyse multi-espèces de la variabilité génétique des races de ruminants</i>	89
1.	Analyse des indicateurs de variabilité génétique par filière	90
2.	Critères prépondérants influençant la variabilité génétique des races de ruminants.....	96
Troisième partie : Analyse critique des pratiques d'échantillonnage pour la Cryobanque nationale		99
A.	<i>Evaluation des collections actuelles</i>	102
1.	Article : "Ex situ conservation of Holstein-Friesian cattle: Comparing the Dutch, French, and US germplasm collections"	102
2.	Evaluation de la valeur génétique des collections bovines laitières.....	112
B.	<i>Echantillonnage et analyse d'une cryobanque virtuelle</i>	116
1.	Procédure d'échantillonnage	117
2.	Résultats de l'échantillonnage de la collection « quotidienne »	118
a)	Index exceptionnels	118
b)	Père à taureaux sans descendance	119
c)	Type III.....	120
3.	Evaluation de la collection quotidienne.....	120
a)	Index exceptionnels	121
b)	Père à taureaux sans descendance	123
c)	Type III.....	124
4.	Echantillonnage d'une collection « a posteriori ».....	126
C.	<i>Simulation de la réintroduction in situ de matériel cryoconservé</i>	129
1.	Introduction	129
2.	Article : "Impact of the use of cryobank samples in a selected cattle breed: a simulation study" ..	129
D.	<i>Pistes d'amélioration des protocoles d'échantillonnage</i>	138
1.	Bilan de l'évaluation des collections du point de vue de la diversité génétique – cas des ruminants 138	
2.	Amélioration du protocole d'échantillonnage des bovins laitiers	140
a)	Premières conclusions.....	140
b)	Impact de la sélection génomique sur les protocoles d'échantillonnage	142
3.	Pour conclure sur les protocoles d'échantillonnage.....	144
Quatrième partie : Discussion générale et perspectives		145
A.	<i>Pertinence des indicateurs de variabilité génétique (calculés à partir des généalogies)</i>	147
1.	Avantages et inconvénients de l'analyse généalogique	147
2.	Quels indicateurs pour caractériser la variabilité d'une population ?.....	151
a)	Qualité des généalogies et indicateurs démographiques	153
b)	Critères issus de la probabilité d'origine des gènes et de la probabilité d'identité	154

3.	Vulgarisation des indicateurs de variabilité génétique.....	155
<i>B.</i>	<i>Bilans et perspectives.....</i>	<i>156</i>
1.	Projets et applications en cours.....	156
a)	Le projet VARUME.....	156
b)	Le projet CRB-Anim	157
2.	Perspectives scientifiques.....	159
a)	Les indicateurs de variabilité génétique.....	159
b)	Combinaison des démarches <i>in situ</i> et <i>ex situ</i>	161
c)	Recherches liées à la conservation <i>ex situ in vivo</i>	162
<i>C.</i>	<i>Conclusion.....</i>	<i>163</i>
	Références	165
	Formations suivies.....	173

Liste des tableaux

TABLEAU 1 : EFFET DE LA CONSANGUINITE (F) SUR LES CARACTERES DE REPRODUCTION EN BOVIN	12
TABLEAU 2 : CRISES MAJEURES DUES A DES ANOMALIES GENETIQUES EN RACE PRIM'HOLSTEIN, ET ANCETRE MAJEUR RESPONSABLE DE LA DIFFUSION DE LA MALADIE	13
TABLEAU 3 : RECAPITULATIF DES ENQUETES PAR PAYS	28
TABLEAU 4 : DETAIL DES PAYS AVEC CRYOBANQUE (COLONNE 1 DU TABLEAU PRECEDENT) ET PAR CONTINENT	28
TABLEAU 5 : FREQUENCE DE REPARTITION DES DIFFERENTES ESPECES DANS LES COLLECTIONS	31
TABLEAU 6 : NOMBRE TOTAL DE POPULATIONS DIFFERENTES STOCKEES PAR ESPECE	32
TABLEAU 7 : CONTENU DE DIFFERENTES CRYOBANQUES : NOMBRE D'ESPECES, DE POPULATIONS, DE DONNEURS ET DE DOSES. TYPE DE MATERIEL BIOLOGIQUE REPRODUCTIF EN COLLECTION	33
TABLEAU 8 : NOMBRE DE POPULATIONS COMMUNES PAR ESPECE	34
TABLEAU 9 : CARACTERISTIQUES DEMOGRAPHIQUES, CONNAISSANCE DES GENEALOGIES ET INTERVALLES DE GENERATIONS, (POUR DES PARENTS NES ENTRE 1998–2002) POUR LES TROIS RACES MAJEURES BOVINES ALLAITANTES FRANÇAISES	55
TABLEAU 10: ANALYSE DE LA PROBABILITE D'ORIGINE DES GENES POUR DEUX POPULATIONS DE REFERENCE AVEC DEUX PARENTS CONNUS : F_{REF} = FEMELLES NEES ENTRE 2004/2007, CBN= MALES DE LA CRYOBANQUE	55
TABLEAU 11: NIVEAU DE CONSANGUINITE MOYEN (F) DE LA POPULATION FEMELLE DE REFERENCE (F_{REF}). NIVEAU MOYEN DE PARENTE (Φ) INTRA POPULATION ET ENTRE LA F_{REF} ET LES TAUREAUX EN CRYOBANQUE (CBN). TOUTES LES VALEURS DE F ET Φ SONT DONNEES EN %.	56
TABLEAU 12 : TAILLE DES DIFFERENTES POPULATIONS DE REFERENCE (FEMELLE ACTIVE= F_{REF} , MALE ACTIF =ACT, MALE CRYOBANQUE=CBN) ET NOMBRE D'EQUIVALENT GENERATION MOYEN (EQG)	87
TABLEAU 13 : RESULTATS ISSUS DE LA PROBABILITE D'ORIGINE DES GENES POUR LES TROIS POPULATIONS ETUDIEES : FEMELLES DE REFERENCE (F_{REF}), MALES DE LA CRYOBANQUE (CBN) ET ACTIFS (ACT)	88
TABLEAU 14 : PARENTE (Φ) INTRA ET INTER-POPULATIONS	88
TABLEAU 15 : LISTE DES RACES PAR FILIERE	91
TABLEAU 16 : INDICATEURS DEMOGRAPHIQUES DES DIFFERENTES FILIERES ANALYSEES : NOMBRE TOTAL D'INDIVIDUS DANS LE FICHER, POPULATION DE REFERENCE, NOMBRE DE FONDATEURS ET INTERVALLE DE GENERATION (T)	92
TABLEAU 17 : INDICATEURS DE QUALITE DES GENEALOGIES DES DIFFERENTES FILIERES : NOMBRE D'EQUIVALENT GENERATION MOYEN (EQG) ET NOMBRE D'ANCETRES CONNUS	93
TABLEAU 18 : INDICATEURS DE PROBABILITE D'ORIGINE DES GENES DES DIFFERENTES FILIERES ANALYSEES : NOMBRE DE FONDATEURS EFFICACES (F_e), NOMBRE D'ANCETRES EFFICACES (A_f), NOMBRE D'ANCETRES EXPLIQUANT 50 % DES GENES (N_{50}), RATIO A_f/F_e (%) ET CONTRIBUTION DE L'ANCETRE PRINCIPALE C1 (%)	94
TABLEAU 19 : INDICATEURS DE PROBABILITE D'IDENTITE DES GENES DES DIFFERENTES FILIERES ANALYSEES : CONSANGUINITE (F , %), POURCENTAGE D'ANIMAUX AYANT PLUS DE 6,25% DE TAUX DE CONSANGUINITE (SUP, %) APPARENTEMENT (Φ , %) ET TAILLE EFFICACE DE POPULATION (N_e)	95
TABLEAU 20 : NOMBRE DE TAUREAUX STOCKES PAR TYPE ET PAR INDEX OU ORIGINE POUR LES ANIMAUX DE TYPE II	112

TABLEAU 21 : ECARTS D'INDEX MOYEN ENTRE TAUREAUX ACTIFS ET TAUREAUX EN CRYOBANQUE (TYPE III SEULEMENT), EXPRIMES EN UNITES D'ECART TYPE D'INDEX DES TAUREAUX ACTIFS	114
TABLEAU 22 : ECARTS D'INDEX MOYEN ENTRE TAUREAUX ACTIFS ET TAUREAUX EN CRYOBANQUE (TYPE II SEULEMENT), EXPRIMES EN UNITES D'ECART TYPE D'INDEX DES TAUREAUX ACTIFS	115
TABLEAU 23 : CRYOBANQUE « QUOTIDIENNE » : TAUREAUX EXCEPTIONNELS NON MIS SUR LE MARCHÉ PAR RACE ET PAR INDEX.	119
TABLEAU 24 : COLLECTION QUOTIDIENNE DES MEILLEURS FILS (INEL) DE PAT SANS FILS MIS SUR LE MARCHÉ	120
TABLEAU 25 : NOMBRE DE TAUREAUX ECHANTILLONNES (Nb TX) ET MOYENNE DE LEURS INDEX DE PRODUCTION POUR LA COLLECTION « QUOTIDIENNE »	120
TABLEAU 26 : COMPARAISON DES COLLECTIONS PAR CRITERE D'ECHANTILLONNAGE DE CARACTERES FONCTIONNELS AVEC LES TAUREAUX ACTUELS	121
TABLEAU 27 : COMPARAISON DES COLLECTIONS PAR CRITERE D'ECHANTILLONNAGE DE CARACTERES DE PRODUCTION (QUAND LA COLLECTION EST SUPERIEURE OU EGALE A 4 TAUREAUX), AVEC LES TAUREAUX ACTUELS	122
TABLEAU 28 : COMPARAISON DES COLLECTIONS PAR CRITERE D'ECHANTILLONNAGE DE CARACTERES MORPHOLOGIQUES, AVEC LES TAUREAUX ACTUELS	122
TABLEAU 29 : COMPARAISON PAR CRITERE ET RACE ENTRE LES INDEX DE LA COLLECTION PAT ET DES TAUREAUX CONTEMPORAINS, EN ECART TYPE D'INDEX	123
TABLEAU 30 : COMPARAISON PAR CRITERE ET RACE ENTRE LES INDEX DE LA COLLECTION TYPE III ET DES TAUREAUX CONTEMPORAINS, EN ECART TYPE D'INDEX	124
TABLEAU 31 : CRYOBANQUE « A POSTERIORI ». TAUREAUX EXCEPTIONNELS NON MIS SUR LE MARCHÉ PAR RACE ET PAR INDEX.	126
TABLEAU 32 : TAUREAUX ABSENTS DE LA COLLECTION « QUOTIDIENNE » ET REPERES DANS LA COLLECTION « A POSTERIORI »	127
TABLEAU 33 : TAUREAUX COMMUNS A LA COLLECTION « QUOTIDIENNE » ET « A POSTERIORI »	127
TABLEAU 34: CODIFICATION DES INDICATEURS CONSIDERES DANS L'ANALYSE DES CORRELATIONS.	151
TABLEAU 35 : CORRELATIONS ENTRE LES DIFFERENTS INDICATEURS DE DEMOGRAPHIE, DE PROBABILITE D'ORIGINE ET D'IDENTITE DES GENES. L'ANALYSE A PORTE SUR UN TOTAL DE 69 POPULATIONS DE RUMINANTS DOMESTIQUES (BOVINS, OVINS, CAPRINS). N.S. : CORRELATION NON SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTE DE ZERO. LES AUTRES VALEURS SONT TOUTES SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTES DE ZERO. SIGNIFICATION DES VARIABLES : VOIR TABLEAU 34.	152

Note : Les tableaux illustrant les articles ne sont pas intégrés au sein de cette liste

Liste des figures

FIGURE 1 : INSTANCE DE FONCTIONNEMENT DE LA CRYOBANQUE NATIONALE	24
FIGURE 2 : PERIODE DE CREATION DES CRYOBANQUES.....	30
FIGURE 3 : TAILLE DES COLLECTIONS EN NOMBRE DE DOSES PAR ORDRE DECROISSANT DE VOLUME.....	36
FIGURE 4 : NOMBRE D'EQUIVALENTS GENERATION, PAR ORDRE CROISSANT, DES RACES CAPRINES EN CONSERVATION	68
FIGURE 5 : TAILLE DE LA POPULATION DE REFERENCE (AXE DE DROITE) ET NOMBRE D'ANCETRES EFFICACES PAR ORDRE CROISSANT (AXE DE GAUCHE) POUR LES DIFFERENTES RACES LOCALES CAPRINES.....	69
FIGURE 6 : COEFFICIENT DE CONSANGUINITE MOYEN (F) ET POURCENTAGE D'ANIMAUX AYANT UN COEFFICIENT DE CONSANGUINITE SUPERIEUR A 6,25% - COMPARAISON AVEC LE NOMBRE D'EQUIVALENTS GENERATION MOYEN (EQG).....	70
FIGURE 7 : EXEMPLE DE DEUX PEDIGREES AVEC UN NIVEAU D'INFORMATION GENEALOGIQUE (EQG) EGAL A 2, L'UN EQUILIBRE (A GAUCHE, EQG= 2 EN REMONTANT SUR 2 GENERATIONS) ET L'UN DESEQUILIBRE (A DROITE : EQG=2 EN REMONTANT SUR 4 GENERATIONS)	149

Note : Les figures illustrant les articles ne sont pas intégrées au sein de cette liste

Liste des abréviations

ABO : Abondance

ACSEDIATE : Association pour le Contrôle Sanitaire, l'Etude et le Développement de l'Insémination Artificielle et du Transfert Embryonnaire

BLAD: Bovine Leucocyte Adhesion Deficiency

BLUP : Best Linear Unbiased Predictor

BMC : Blanc du Massif Central

BRG: Bureau des Ressources Génétiques

BRU : Brune

CBN : Cryobanque nationale

CDB : Convention sur la Diversité Biologique

CNAG : Commission Nationale d'Amélioration Génétique

CSAGAD : Cours Supérieur d'Amélioration Génétique des Animaux Domestiques

CRB : Centre de Ressources Biologiques

CVM: Complex Vertebral Malformation

ERFP : European Regional Focal Point for animal genetic resources

ES : Entreprise de Sélection

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations

FRB : Fondation pour la Recherche sur la Biodiversité

GENRES : GENetic RESources

GIS : Groupement d'Intérêt Scientifique

IA: Insémination Animale

IFCE : Institut Français du Cheval et de l'Equitation

IFIP : Institut du porc Recherche et Expertise pour la filière porcine

IFREMER : Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer

INEL : Index Economique Laitier

IPBES : Intergovernmental Platform on Biodiversity and Ecosystem Services

ISU: Index de Synthèse UPRA

ITAVI : Institut technique de l'Aviculture

MAT : mère à taureau

MTA : Material Transfert Agreement

MON: Montbéliarde

NOR: Normande

PAS: Populations Animales Sélectionnées

PAT : père à taureau

PE : Petits Effectifs

PHO: Prim'Holstein

PR : Petits Ruminants

RGAn : Ressources Génétiques Animales

SIG : Système d'Information Génétique

SHGC: Syndrome Hypoplasie Généralisée Capréoliforme

SNGTV : Société Nationale des Groupements Techniques Vétérinaires

SYSAAF : Syndicat des sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français

TB : Taux Butyreux

TP : Taux Protéique

UNCEIA : Union Nationale des Coopératives Agricoles d'Élevage et d'Insémination Animale

Union Montbéliarde de Testage : UMOTEST

Glossaire

Ancêtre : Un ancêtre est un animal avec descendance qui a un ou deux parents connus.

Consanguinité : la consanguinité est la résultante sur un produit de l'accouplement entre deux animaux apparentés. Le coefficient de consanguinité est la probabilité que, chez un animal, deux allèles en un locus donné soient *identiques par descendance*. Cette définition correspond à celle donnée par Malécot (1948), pour un marqueur neutre sans mutation (Voir également la définition de parenté).

Conservation *ex situ* : il existe deux moyens de conserver les ressources génétiques animales, *ex situ* ou *in situ* (voir définition ci-après). La conservation est dite *ex situ* quand elle pratiquée en dehors des lieux habituels de production d'élevage. Elle se décline elle-même en deux modes, la conservation *in vivo*, c'est à dire d'animaux vivants, dans des écomusées ou des zoos, ou *in vitro*, c'est à dire la conservation de matériel biologique reproductif (semence, embryons, cellules, ovocytes, cortex ovarien...) dans de l'azote liquide.

Conservation *in situ* : la conservation « sur site » regroupe tous les moyens développés pour conserver les ressources génétiques animales au sein de leurs lieux habituels de production, dans les élevages, et en opposition à la conservation dite *ex situ*.

Cryobanque : collection de matériel biologique reproductif cryoconservé dans l'azote liquide. Dans certains pays, ces collections sont couplées à des collections de matériel génomique.

Effectif génétique ou taille efficace des populations : il correspond au nombre d'individus pour lequel, en situation de panmixie (c'est à dire une répartition et participation homogène des individus à la reproduction), on obtiendrait un polymorphisme équivalent au polymorphisme observé. Un effectif génétique réalisé de 100 correspond, par exemple, à une population dont l'effectif femelle serait de taille infinie mais dont l'effectif mâle serait de 25 seulement. Il existe de nombreuses méthodes différentes permettant de calculer cet indicateur.

Fondateurs : On appelle fondateur un animal avec descendance qui n'a pas de parents connus. En analyse généalogique, on suppose que tous les fondateurs sont porteurs d'allèles uniques et différents.

Identité par descendance : se réfère à la probabilité d'identité. Considérant l'hypothèse précédente, un individu ne peut avoir deux allèles identiques que par descendance, c'est-à-dire hérité du même ancêtre.

Parenté : deux animaux sont dits parents ou apparentés s'ils possèdent au moins un ancêtre en commun. Le coefficient de parenté est la probabilité que deux allèles portés par un animal soient identiques par descendance (voir également la définition de consanguinité).

Population Animale Sélectionnée : Nous suivons dans notre document la définition de l'arrêté du 11 août 2006 fixant la liste des espèces, races ou variétés d'animaux domestiques. « On appelle population animale sélectionnée une population d'animaux qui se différencie des populations génétiquement les plus proches par un ensemble de caractéristiques identifiables et héréditaires qui sont la conséquence d'une politique de gestion spécifique et raisonnée des accouplements. » En cours du document, le terme abrégé « population » pourra être utilisé.

Population de référence : dans notre document, il est défini pour chaque race une population de référence à partir de laquelle les différents indicateurs de variabilité génétique sont calculés. Cette population est constituée de toutes les femelles (et dans certaines race particuliers, de mâles présents en Cryobanque) dont les **deux parents sont connus**, pour une période équivalente à un intervalle de génération moyen en ruminants (soit quatre ans). L'année de fin d'échantillonnage représentait la dernière année complète (au moment des travaux) de remontée des informations depuis les différents systèmes d'informations utilisés.

Race : Les races animales domestiques résultent de l'activité ancestrale de sélection des reproducteurs pour obtenir des populations visant à satisfaire les différents besoins de l'homme. Par construction, ces populations sont génétiquement différentes les unes des autres et se transforment en permanence sous l'influence combinée de nombreux facteurs techniques (sélection, mutation des gènes, migration) et socio-économiques. De ce point de vue, la France, par sa position géographique charnière en Europe de l'Ouest, par la diversité de ses conditions pédo-climatiques et de ses systèmes agraires se trouve être la terre d'une grande variété de matériel animal domestique. Dans notre étude, la définition des races suit celle de l'arrêté du 26 juillet 2007 « fixant la liste des races des espèces bovine, ovine, caprine et porcine reconnues et précisant les ressources zoogénétiques présentant un intérêt pour la conservation du patrimoine génétique du cheptel et l'aménagement du territoire ».

Races à petits effectifs : dans notre étude, elle suit la définition de l'arrêté du 26 juillet 2007 « fixant la liste des races des espèces bovine, ovine, caprine et porcine reconnues et précisant les ressources zoogénétiques présentant un intérêt pour la conservation du patrimoine génétique du cheptel et l'aménagement du territoire ». Une race est dite à petits effectifs, au sens de l'article D. 653-9 du code rural, si elle présente sur le territoire national un effectif de moins de 5 000 femelles reproductrices pour les bovins, de 8 000 pour les ovins et caprins et de 1 000 pour les porcins. Ces effectifs sont déterminés à partir des données du dernier recensement agricole et éventuellement complétés par ceux de l'institut technique en charge de l'espèce concernée.

Races menacées : dans ce document, elle suit la définition de l'arrêté du 26 juillet 2007 « fixant la liste des races des espèces bovine, ovine, caprine et porcine reconnues et précisant les ressources zoogénétiques présentant un intérêt pour la conservation du patrimoine génétique du cheptel et l'aménagement du territoire ». « Une race est dite menacée si elle répond à l'une des conditions suivantes :

- son effectif global ou celui de ses reproducteurs actifs est insuffisant ;
- le programme de conservation ou d'amélioration génétique mis en oeuvre met en danger la diversité génétique intraraciale ;
- un cas de force majeure met en péril sa gestion zootechnique.

Ces éléments sont notamment évalués au moyen d'indicateurs dont les valeurs sont issues des systèmes nationaux d'information génétique mentionnés à l'article D. 653-6. »

Ressources génétiques : Nous reprendrons ici la définition de la Charte Nationale des Ressources Génétiques du Bureau des Ressources Génétiques (BRG). En raison de leur nature héréditaire, on qualifie de ressources génétiques :

- « - les populations sauvages, les populations traditionnelles ou primaires, les races standardisées, les lignées ou les souches sélectionnées, pour les animaux ;
- les variétés anciennes ou modernes, les populations locales, les formes sauvages apparentées, pour les végétaux ;
- les souches, les isolats, les populations et les communautés, pour les micro-organismes.

Leur préservation se fait en conditions naturelles, en milieu traditionnel d'élevage ou de culture [NDLR : *in situ*] ou en conditions artificielles [NDLR : *ex situ*], selon ces catégories de ressources et l'objectif de conservation. »

Variabilité génétique : Dans les espèces d'élevage, le support de l'hérédité est la molécule d'ADN et la reproduction se fait de façon sexuée. Chaque individu se caractérise par sa séquence d'ADN, qui lui est unique. L'ensemble des individus d'une même race constitue donc un ensemble de variabilité génétique qui évolue au cours du temps, en fonction de

différents phénomènes liés au hasard (mutation, dérive génétique ...) et aux pratiques d'élevages (accouplements entre apparentés, sélection...). Dans ce rapport, nous utiliserons ce terme pour qualifier une variation intra race, et nous réserverons le terme diversité génétique pour les comparaisons inter race.

Introduction :

Contexte, enjeux, et questions

Le travail du sélectionneur est fondé sur l'exploitation de la variabilité génétique, que ce soit entre races (choix des meilleurs types génétiques, croisement, ...) ou intra-race (choix des meilleurs géniteurs au sein de la race). La présence d'un patrimoine génétique diversifié représente donc pour un pays une assurance pour le futur, dans la mesure où les objectifs de sélection peuvent évoluer dans le temps. Dans l'arrêté du 20 avril 2010 modifiant l'arrêté du 26 juillet 2007 «*fixant la liste des races des espèces bovine, ovine, caprine et porcine reconnues*», 126 races de ruminants et de porcs sont dénombrées, ce qui porte la France dans les tous premiers rangs européens, voire mondiaux, en nombre de races dans ces espèces. Toutes ces races constituent un potentiel pour la diversification de la production agricole, l'amélioration de la qualité des produits ou la protection de l'environnement.

En France, les programmes de sélection des espèces de ruminants se sont révélés très efficaces. Ils ont ainsi contribué de façon significative au développement des filières correspondantes et à la mise sur le marché de produits animaux à un coût raisonnable. Organisés localement ou à une échelle nationale, voire mondiale, ces programmes sont caractérisés par une concentration des efforts de sélection sur une élite réduite, sur le plan numérique, de reproducteurs. Cette situation est particulièrement accentuée dans les filières où l'Insémination Animale (IA) est utilisée majoritairement et dans les espèces où elle autorise une très large diffusion d'un reproducteur donné. Ainsi les populations animales sélectionnées (PAS) ont connu des pertes de variabilité génétique plus ou moins importantes et un accroissement concomitant de la consanguinité. Les conséquences peuvent en être des effets délétères (dépression de consanguinité) ainsi qu'une réduction du pool d'allèles que constituent ces populations, et donc des possibilités de répondre aux besoins futurs de sélection. La poursuite du progrès génétique, ainsi que la possibilité de réorientation des objectifs de sélection, nécessitent de maintenir un niveau minimum de variabilité génétique au sein de chaque race.

Parallèlement, la survie des races à petits effectifs requiert une surveillance accrue de l'évolution de leur variabilité génétique. Concrètement, la gestion et la conservation des ressources génétiques animales s'envisagent de trois façons (FAO, 2005 ; Verrier, 2006) :

- *In situ* – Les animaux sont détenus par des éleveurs qui développent une activité économique ou de loisir avec ces races.
- *Ex situ, in vivo* – Les animaux sont maintenus hors de leur contexte habituel d'élevage.
- *Ex situ, in vitro* – Du matériel biologique est prélevé et conservé dans de l'azote liquide : c'est le principe des cryobanques.

Dans les faits, la majorité des actions de conservation passe par des programmes *in situ*. Les programmes conduits en France reposent, d'une part, sur l'organisation des acteurs, pour l'essentiel les éleveurs et leurs structures, et, d'autre part, sur les acquis, teintés d'une bonne dose de pragmatisme, de travaux méthodologiques conduits à l'INRA, soit en vue d'une conservation sans sélection (Rochambeau *et al.*, 1985 ; Colleau *et al.*, 2002 ; Verrier *et al.*, 2005...), soit en vue de combiner sur le long terme progrès génétiques et préservation de la variabilité génétique (par exemple, Verrier *et al.*, 1993 ; Palhière *et al.*, 2000 ; Colleau *et al.*, 2004).

La conservation *ex situ in vivo* existe également mais, en dehors de troupeaux expérimentaux gérés par l'INRA, elle est en général à l'initiative d'opérateurs privés, souvent éphémère, et sans réflexion approfondie sur les races à conserver et la manière de le faire. Ce point ne sera donc pas abordé au cours de ce travail.

La cryoconservation est souvent considérée comme un moyen complémentaire et/ou comme une assurance, non seulement pour les races en conservation mais également pour les PAS. C'est dans cet esprit qu'en France, en 1999, le Ministère de l'Agriculture, en collaboration avec onze organismes techniques et professionnels, a créé une Cryobanque nationale, qui est chargée de gérer et de stocker, pour les espèces majeures d'élevage, des matériels patrimoniaux de la façon la plus sécurisée possible. Des protocoles de collecte ont été définis en fonction du potentiel usage futur des matériels, ces derniers étant répartis en trois types (Verrier *et al.*, 2003). Au 15 avril 2012, environ 262 000 doses de matériel reproductif sont dans les collections nationales, provenant de plus de 4 300 animaux reproducteurs issus de 138 PAS de 11 espèces différentes (<http://www.cryobanque.org>).

Il n'est pas exagéré d'affirmer que l'expérience française en matière de gestion des Ressources Génétiques Animales (RGAAn) est considérable, qu'il s'agisse de la conservation des races menacées ou de la gestion à long terme des PAS, des programmes *in situ* ou de la création d'une cryobanque. Force est de constater, cependant, que cette expérience est mal connue au-delà de nos frontières.

Par ailleurs, les bases méthodologiques de la constitution des stocks mis en cryobanque, en fonction des coûts et des objectifs d'emploi futur des matériels cryoconservés, ont déjà fait l'objet d'investigations (Ollivier et Renard, 1995 ; Verrier *et al.*, 2003 ; Boettcher *et al.*, 2005) mais mériteraient d'être étendues pour les cas autres que ceux des races menacées.

Dans un premier temps, nous rappellerons brièvement en quoi la préservation de la variabilité génétique est nécessaire pour une bonne gestion des races d'élevages. Nous décrirons de

façon succincte les principales méthodes de gestion *in situ* et *ex situ* des programmes de conservation et de sélection de nos races de ruminants. Pour la gestion *ex situ*, après avoir exposé comment des collections cryoconservées de matériel biologique reproductif ont été mises en place dans le cadre de la Cryobanque nationale, nous présenterons les résultats d'une enquête sur les collections de type Cryobanque dans le monde.

Dans un second temps, nous réaliserons un état de la variabilité génétique des races *in situ* et *ex situ* de ruminants, à partir du calcul d'indicateurs de diversité basé sur l'analyse des généalogies. Ces bilans détaillés seront réalisés :

- pour les races bovines laitières en sélection. Une comparaison sera également faite avec les indicateurs calculés pour la filière bovine allaitante.
- Pour les races caprines en sélection et en conservation :
- Pour les races ovines en sélection.

A partir de ces bilans, nous tenterons de faire émerger les facteurs prépondérants influençant la variabilité génétique des ruminants.

La troisième partie sera consacrée à une évaluation des dispositifs d'échantillonnage de la Cryobanque. Pour la filière bovine laitière, cette évaluation portera d'abord sur la variabilité génétique contenue dans les collections et dans les collections détenues à l'étranger (Pays-Bas et Etats Unis d'Amérique) dans le cas de la race Prim'Holstein. Un second dispositif a été mis en place afin de pouvoir estimer les niveaux d'évaluation génétique des taureaux de la collection, par rapport aux taureaux actifs. Dans ce cas, il s'agira de tester les procédures d'échantillonnage actuelles de la Cryobanque nationale, afin d'estimer l'intérêt de ce protocole à long terme. Enfin, à partir de simulations, il s'agira de tester l'efficacité de procédures de réintroduction de matériel cryoconservé dans des populations maintenues *in situ*. Ces analyses successives permettront *in fine* d'apporter des éléments de réponse pour améliorer les dispositifs d'échantillonnage des collections.

La discussion finale portera, au regard de notre expérience, sur la pertinence des différents indicateurs de variabilité issus de l'analyse des généalogies. Nous finirons par une perspective sur les projets qui viennent de démarrer en lien avec notre thématique de recherche et une approche plus prospective des sujets de recherche qui pourraient être mis en place en continuité de nos travaux.

Première partie :
prise en compte de la gestion de la
variabilité génétique dans les
programmes de sélection et de
conservation

Dans cette partie, nous rappellerons brièvement en quoi la préservation de la variabilité génétique est nécessaire pour une bonne gestion des races d'élevages. Nous décrirons de façon succincte les principales méthodes de gestion *in situ* et *ex situ* des programmes de conservation et de sélection de nos races de ruminants. Pour terminer, pour la gestion *ex situ*, après avoir exposé comment des collections cryoconservées de matériel biologique reproductif ont été mises en place dans le cadre de la Cryobanque nationale, nous présenterons les résultats d'une enquête sur les collections de type Cryobanque dans le monde.

A. Pourquoi prendre en compte la variabilité génétique chez les races d'élevage

Pour commencer, est ce que la variabilité génétique est bien nécessaire dans les populations d'élevage, et en particulier aux populations en sélection ? La réponse est clairement oui, pour les raisons exposées ci-après.

D'après la théorie de la génétique quantitative, pour un caractère donné, le progrès génétique (ΔG) attendu sous l'effet de la sélection est fonction des paramètres suivants :

$$E(\Delta G) = \frac{i\rho\sigma_A}{t}$$

Où i est l'intensité de sélection ;

ρ , la précision du critère de sélection ;

σ_A , l'écart-type génétique additif du caractère sélectionné ;

t , l'intervalle de génération

Le progrès génétique dépend donc strictement de la variabilité génétique du caractère sélectionné. Gérer la variabilité génétique d'une population en sélection, c'est préserver son potentiel de progrès génétiques (à la fois pour les caractères sélectionnés aujourd'hui et pour ceux que l'on souhaiterait sélectionner demain). Pour les races menacées, en dehors des aspects patrimoniaux, du point de vue génétique, il s'agit, d'une part, de maintenir le potentiel d'adaptation de ces populations et, d'autre part, de conserver des ressources génétiques pour d'éventuels besoins futurs.

La gestion par race des animaux d'élevage conduit à l'accouplement d'animaux semblables, en se référant en général à un standard, du moins en France et dans la plupart des pays industrialisés. Or, l'effectif de chaque race étant limité, on aboutit forcément à l'accouplement entre animaux apparentés, et donc à la procréation d'animaux dits consanguins dans la population. Ce phénomène est plus ou moins accentué en fonction du nombre de reproducteurs utilisés dans la race, du déséquilibre du sexe-ratio, et des choix réalisés pour les accouplements.

On rappelle que la consanguinité est le résultat de l'accouplement entre deux animaux apparentés, et correspond à la probabilité que les deux allèles qu'un individu porte à un locus donné soient identiques par descendance, c'est-à-dire proviennent par duplication mendélienne d'un même allèle ancestral (Malécot, 1948). Or, que ce soit pour les races en conservation ou les races à forte intensité de sélection, le nombre de reproducteurs utilisé est faible. Dans une population fermée, on assiste inéluctablement à une diminution de la variabilité génétique, sous les effets de la dérive génétique et de l'augmentation de la consanguinité, qui sont les deux facettes d'un même phénomène.

- La dérive génétique est due au fait que, d'une génération à l'autre le choix d'un nombre limité de reproducteurs représente un échantillonnage des gènes. Cela provoque des fluctuations aléatoires des fréquences alléliques, avec d'autant plus d'ampleur que le nombre de reproducteurs est faible. A plus ou moins long terme, en un locus donné, on aboutit à la fixation d'un allèle et à la perte de tous les autres. Du fait que les fréquences alléliques vont vers les extrêmes, la proportion d'animaux homozygotes augmente à un locus donné.
- L'augmentation de la consanguinité est due à l'instauration progressive d'une parenté entre reproducteurs au sein de la population. Cet accroissement de la consanguinité s'accompagne d'une augmentation de la proportion d'homozygotes. Soit p , la fréquence d'un allèle a , et F le coefficient de consanguinité moyen d'une population panmictique, l'espérance de la fréquence des homozygotes aa vaut alors :

$$E[f(aa)] = p^2 + Fp(1-p)$$

ce qui représente un excès [égal à $Fp(1-p)$] par rapport aux proportions de Hardy-Weinberg.

Dans une population panmictique, l'accroissement de la consanguinité et l'érosion de la variabilité génétique s'effectuent au même rythme. Ce rythme dépend de plusieurs paramètres, dont les effectifs de reproducteurs des deux sexes et la variabilité de leurs tailles de descendance. On voit là clairement pourquoi les races à petits effectifs sont particulièrement concernées par la nécessité de la prise en compte de la variabilité génétique dans leur gestion. Les races en sélection sont également concernées, à plusieurs titres. Le choix de l'IA comme moyen privilégié de diffusion, en particulier pour les filières laitières, et surtout chez les bovins, implique une forte diminution du nombre de reproducteurs mâles, une augmentation de la taille moyenne de descendance de ces derniers et la possibilité d'un accroissement substantiel de la variance des tailles de descendance entre mâles. Enfin, le choix du BLUP (Best Linear Unbiased Predictor) appliqué à un modèle animal comme méthode d'évaluation des caractères sélectionnés augmente la probabilité de sélection d'animaux apparentés (Verrier *et al.*, 1993).

On sait déjà depuis plusieurs siècles que la consanguinité a un effet délétère sur la viabilité d'une race, puisque Darwin déjà (1868) le décrivait. Ce phénomène appelé dépression de consanguinité peut être défini comme la réduction de la valeur moyenne d'un caractère due à la consanguinité. Il concerne les caractères quantitatifs de manière générale mais, d'après Falconer (1981), la dépression affecte principalement les caractères faiblement héréditaires (vigueur, adaptation, reproduction), ce qui est corroboré par les éléments que l'on retrouve dans la bibliographie. Les raisons de la dépression de consanguinité ont été analysées par exemple par Kristensen *et al.* (2010), qui les explique par deux mécanismes principaux mais dont il est difficile de déterminer les influences respectives :

- La surdominance, avec un avantage sélectif pour les hétérozygotes ;
- La dominance partielle, avec un désavantage sélectif pour les homozygotes à un allèle donné (pour un locus donné).

Enfin, certains caractères sont affectés par la dépression de consanguinité à la fois de manière directe (consanguinité de l'individu) et indirecte (consanguinité de la mère) : c'est le cas par exemple d'un caractère comme la fertilité, la taille de portée (pour les espèces concernées), le poids à la naissance ou des caractères de croissance dépendant de la valeur laitière de la mère. L'estimation des effets de la dépression de consanguinité est un thème de recherche qui est étudié depuis plusieurs décennies, mais qui reste à explorer. On trouve de nombreuses références à ce sujet. Un travail bibliographique réalisé par un étudiant d'AgroParisTech (A.

Watine) a permis de compiler les données des effets estimés de la dépression de consanguinité pour des caractères de reproduction. Les résultats sont présentés dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Effet de la consanguinité (F) sur les caractères de reproduction en bovin

	Alentajana (bovin allaitant)	Prim'Holstein	Jersiaise	Ayrshire, Guernesey, Brune
Age à la 1 ^{ère} insémination en jours /1% F	+0,22	+0,35	+0,59	NS
Intervalle vêlage -vêlage en jours /1% F	+0,26	+0,31	NS (+0,32)	NS
Taux de non retour génisse en % /1% F	-	-0,14	NS (+0,008)	NS
Taux de non retour vache en % /1% F	-	-0,04	NS (-0,126)	NS
Facilité de vêlage En % /1% F	-	-0,058	NS (+0,044)	NS

D'après Carolino & Gama 2008, Miglior et al. 1992

Un autre effet néfaste de la consanguinité est l'accroissement de la proportion d'animaux atteints par une anomalie génétique à déterminisme simple¹, sous le simple effet de l'augmentation du taux d'animaux homozygotes. En effet, tout individu est porteur de quelques mutations (récessives) délétères. On estime par exemple ce nombre à 4 ou 5 chez l'homme. L'incidence des anomalies génétiques est donc (très) faible en situation normale car il est très peu probable que deux individus porteurs de la même mutation s'unissent. Deux individus apparentés ayant de plus fortes probabilités que deux individus non apparentés d'être porteurs des mêmes allèles, le risque d'être homozygote muté s'accroît chez un produit consanguin, et donc le risque d'être atteint par une anomalie du type décrit plus haut. Un peu moins de 400 anomalies génétiques ont été décrites chez les bovins, ce qui est très loin des connaissances atteintes chez l'homme (environ 2°000). Le déterminisme génétique le plus fréquent chez l'espèce bovine est autosomique récessif (60% des cas), c'est à dire que les individus atteints sont homozygotes de la mutation. De façon pratique, cela signifie que les porteurs sains sont beaucoup plus nombreux que les animaux atteints. D'autres mécanismes

¹ On appellera ici anomalie génétique toute modification du patrimoine génétique se traduisant par modification notable valeur économique (des performances) individu, de sa descendance voire de ses conjoint(e)s (Ducos *et al.*, 2002)

héréditaires existent (comme une transmission autosomique dominante pour 20% des cas, ou une pénétrance incomplète etc.), que nous ne détaillerons pas ici. Depuis les années 1990, la filière bovine laitière est ponctuée par des crises dues à l'augmentation de la fréquence d'anomalies, principalement en race Prim'Holstein. L'ancêtre majeur porteur de la mutation a pu être identifié chaque fois (cf. Tableau 2).

Tableau 2 : crises majeures dues à des anomalies génétiques en race Prim'Holstein, et ancêtre majeur responsable de la diffusion de la maladie

Anomalie	Date de la crise	Ancêtre vecteur principal
Bovine Leucocyte Adhesion Deficiency (BLAD)	1992-1995	Osborndale Ivanhoe
Bulldog	1999-2001	Igale
Complex Vertebral Malformation (CVM)	2000-2003	Bell
Brachyspina	2006-actuellement	Sweet Haven Tradition

En France, la politique d'éradication de ces maladies a été similaire pour tous ces cas : recherche d'un test génétique permettant de détecter les animaux porteurs, puis test des taureaux d'IA, accouplements programmés pour limiter la procréation de taureaux porteurs, et interdiction progressive d'utiliser les taureaux porteurs dans le programme racial. Par exemple, pour l'anomalie Brachyspina, il a été décidé début 2012 de tester tous les taureaux Prim'Holstein et d'interdire l'utilisation des taureaux porteurs à partir de juin 2013.

Pour contrer les effets de la dérive et de la consanguinité, il est donc nécessaire, quelle que soit la taille de la population, de mettre en place des politiques de gestion de la variabilité génétique intra-race, ce que nous allons détailler par la suite. Une autre solution, sur laquelle nous ne reviendrons pas, est d'opter pour la migration de gènes extérieurs. Suivant les races, il est diversement apprécié par les éleveurs d'avoir recours à des reproducteurs de races extérieures, afin de faire progresser la race pour un caractère particulier (par exemple avec l'introduction de gènes Red Holstein en Montbéliarde dans les années 90 pour améliorer la production laitière), ou pour améliorer la diversité génétique de la race, dans le cas des races locales (par exemple, avec l'utilisation de la race Télémark chez la race bovine Vosgienne). En général, les gestionnaires de races de ruminants à petits effectifs refusent l'utilisation d'autres races pour améliorer leur diversité génétique. En revanche, pour beaucoup d'entre elles, au départ des programmes de conservation, la situation étant souvent très dégradée du point de vue démographique, les éleveurs ont pu avoir eu recours au croisement d'absorption ou à l'utilisation d'animaux croisés afin d'augmenter plus rapidement les effectifs. Par

exemple, pour une race comme la chèvre du Massif Central ou la chèvre Provençale, le faible nombre de chèvres pures au démarrage ne permettait pas d'installer de nouveaux éleveurs. Ces derniers se sont donc installés avec quelques chevrettes de races locales et le reste du troupeau en race Alpine, puis ont procédé à un croisement d'absorption à partir de boucs de races locales.

B. Gestion in situ de la variabilité génétique pour les races de ruminants en sélection en France

Pour les races ayant connu plusieurs décennies de sélection, le dilemme aujourd'hui est d'arriver à éviter une élévation trop rapide de la consanguinité tout en continuant à réaliser du progrès génétique. Dans cette partie, nous nous pencherons sur une analyse des méthodes de gestion utilisées concrètement au sein des programmes de sélection en France. Une telle approche nous est apparue adaptée ici : en effet, d'une part, le bilan des méthodes potentiellement disponibles a déjà été effectué par ailleurs (voir par exemple par Colleau et Moureaux, 2006) et, d'autre part, l'un des objectifs de notre étude est d'étudier l'impact des méthodes de gestion utilisées actuellement sur la variabilité génétique des races sélectionnées. En France, la nécessité d'une préservation de la variabilité génétique au sein des populations sélectionnées est mentionnée à partir de la fin des années 1980 (Verrier *et al.*, 1989), elle est affirmée dans les années 1990 (par exemple, Boichard *et al.*, 1996) et elle est inscrite dans charte nationale pour la gestion des ressources génétiques (Collectif, 1997).

Pour les acteurs de la sélection, dans les années 1970 et 1980, la priorité était de convaincre les éleveurs de la nécessité d'utiliser l'IA pour créer du progrès génétique. Les premières mesures visant à gérer à moyen terme la variabilité génétique ont été mises en œuvre dans les programmes de sélection des brebis laitières de race Lacaune. Nous nous pencherons donc d'abord sur ce cas précurseur pour ensuite voir comment la gestion de la variabilité a été prise en compte dans les programmes à orientation laitière.

Le système de gestion de la variabilité génétique au sein de la race ovine Lacaune a été décrit de façon détaillée par Rochambeau *et al.* (2003), nous illustrerons ici les points les plus marquants. Le démarrage du programme de sélection s'est fait en créant un goulet d'étranglement majeur : le noyau de sélection a été fondé en 1965 en se basant sur la

descendance de seulement deux mâles, dotés des meilleurs indices de leur génération, avec 100 brebis élites. Ce risque perçu fait que, dès 1966, une gestion de la variabilité a été mise en place par la création de « familles », soit le regroupement de la descendance de mâles à diffusion importante. Les gestionnaires n'ayant pas fait le choix d'une notion évolutive du groupe, il est devenu compliqué au bout d'une dizaine d'années d'affecter les animaux à un groupe particulier. De nouvelles règles ont alors été établies en 1975, consistant, pour un mâle donné, à équilibrer sa taille de descendance par rapport à ses contemporains et à éviter de l'accoupler avec toute brebis ayant au moins un ascendant commun à un de ces trois ancêtres : père et grands-pères. Par ailleurs, en 1972 la sélection de la Lacaune laitière s'est scindée avec la constitution de deux entreprises de sélection concurrentes. Pour la gestion de la variabilité, si les règles de base sont les mêmes, les choix réalisés pour le renouvellement des mâles diffèrent. Pour le rameau « Lacaune 1 », la sélection des béliers s'opère intra-groupe, un groupe étant défini par la descendance d'un grand-père paternel, avec, en fonction des années, entre 25 à 30 groupes constitués, chaque groupe étant représenté par les deux meilleurs béliers issus d'un même grand-père paternel. C'est donc un concept évolutif, les groupes changeant chaque année. Cette évolution est d'ailleurs poussée par la vitesse du progrès génétique réalisé par le programme : les béliers sont utilisés pour des périodes courtes (1,8 année d'après Rochambeau *et al.*, 2003) puisqu'on arrive à procréer rapidement des fils qui sont meilleurs qu'eux. La gestion en groupe, associée à un renouvellement rapide des pères à béliers, et l'effort consacré à équilibrer la descendance sont tous des facteurs qui contribuent à la bonne diversité de ce rameau Lacaune, dont l'effectif génétique était estimé à 278 par Rochambeau *et al.* (2003).

Le second rameau a choisi une gestion en se basant sur les origines disponibles à la création du programme dans les années 70. Cette gestion figée est plus difficile à maintenir et certaines souches ont disparu depuis, faute de descendants suffisamment performants, et l'on a vu également apparaître des disproportions entre les tailles de descendance par souche. Pour pallier partiellement ce problème, l'entreprise de sélection a créé des souches dites « éclatées » regroupant tous les descendants du même arrière grand père paternel. *In fine*, la diversité génétique du rameau Lacaune de cette entreprise est légèrement inférieure à celle de Lacaune 1 (taille efficace de population de 167 d'après Rochambeau *et al.* (2003).

Pour les bovins laitiers, l'adoption de mesures concrètes a été beaucoup plus tardive. Afin d'optimiser sélection et progrès génétique, une méthode appelée VARGEN a été développée par J.J. Colleau dès 2001 (cf. Colleau *et al.*, 2004), pour les programmes de sélection bovins laitiers. Les études par simulation montraient que, par rapport à la pratique usuelle, il était

possible d'atteindre le même progrès génétique tout en réduisant de 20% le rythme d'élévation de la consanguinité. Les étapes de VARGEN suivent la conclusion de Fernandez *et al.* (2011) : pour limiter l'accroissement de consanguinité dans un programme de sélection, le choix des accouplements est moins important que le mode de sélection des reproducteurs. Pour son fonctionnement en routine, l'objectif était de donner aux étapes significatives du programme de sélection une information (1) sur les reproducteurs(rices) qui devraient être sélectionnés, et sur (2) leurs taux d'utilisation optimaux. Dans des programmes où l'IA est le moyen de reproduction principal et où la diffusion d'un mâle n'est pas limitée par sa physiologie, ce qui est le cas en bovin, des goulets d'étranglement sont susceptibles d'être créés par le choix des pères à taureau (PAT) et mères à taureau (MAT). Avant l'avènement de la sélection génomique, quatre phases clés avaient été identifiées :

- la phase dite « amont », soit la procréation des jeunes taureaux ;
- le choix des taureaux mis à l'épreuve de la descendance, parmi les taureaux procréés ;
- l'agrément, puisque, avant la sélection génomique, un taureau ne pouvait être mis sur le marché après l'épreuve de descendance que s'il était agréé, c'est à dire s'il présentait un niveau génétique suffisant pour plusieurs caractères par rapport à ses contemporains ;
- la phase dite « aval », d'utilisation des taureaux de service. Dans un premier temps il s'agit de fixer les taux d'utilisation optimal des taureaux, puis de déterminer les accouplements avec les vaches de service.

La mise en place effective de VARGEN a eu lieu en 2005/2006 grâce à une collaboration INRA/Institut de l'Élevage soutenue financièrement par le Ministère de l'Agriculture (Colleau *et al.*, 2006). Toutes les étapes du programme n'ont pas eu le même succès, certaines nécessitant que les entreprises transmettent des informations pour pouvoir être mises en place et ces dernières n'ont pas toujours pris le temps de faire ce travail de compilation et de transfert de données. Deux étapes ont été mises en place pour l'ensemble des entreprises, et sont poursuivies aujourd'hui dans le cadre de la sélection génomique. Pour l'étape *agrément*, le « produit » de VARGEN a été de fournir aux Entreprises de Sélection une information :

- 1) sur la parenté moyenne de chaque candidat avec les autres candidats, dite **P1** ;
- 2) sur la parenté moyenne de chaque candidat avec le 'fond' génétique de la population (séries d'animaux encore en activité de reproduction), dite **P2** ;

Ces informations faisaient partie intégrante des comptes-rendus publiés par l'Institut de l'Élevage et fournis lors des sessions d'agrément des taureaux. Elles sont maintenant fournies

annuellement aux entreprises par l'Institut de l'Élevage, suite à des calculs réalisés par l'INRA.

Pour la phase *épreuve de la descendance*, à laquelle s'est substituée la phase de choix des taureaux à mettre sur le marché dans le cadre de la sélection génomique, une aide est apportée *via* la construction d'un indice appelé *ISUSAMP* qui est édité tous les mois. Cet indice combine, pour un taureau donné, sa valeur pour l'Index de Synthèse UPRA (ISU) et sa parenté avec ses contemporains, c'est à dire avec tous les jeunes taureaux disponibles à l'IA.

Le développement des étapes AMONT et AVAL a été beaucoup plus limité. Actuellement, seules deux entreprises de sélection, l'Union Montbéliarde de Testage (UMOTEST) et le CIA de l'Aigle (race Normande) ont demandé à bénéficier d'un programme AMONT. Afin de rester pragmatique, on demande aux entreprises de fixer une valeur de progrès génétique souhaité, ce qui est moins abstrait pour ces acteurs que de donner une valeur d'accroissement de consanguinité maximale. A l'usage, le seuil désiré a été fixé à 80% de la valeur maximale de l'ISU des futurs candidats. L'entreprise fournit les PAT et MAT disponibles, et elle reçoit comme résultat les accouplements optimaux à réaliser pour procréer les futurs taureaux. Pour la phase AVAL, seul le CIA de l'Aigle bénéficie d'une aide. L'entreprise fournit la liste des taureaux disponibles, indique les contraintes techniques éventuelles (nombre de doses limitées), le niveau d'ISU moyen souhaité ou le détail par index du niveau génétique minimum à obtenir, et la liste des vaches à accoupler. Comme pour la phase AMONT, le retour reçu est un plan d'accouplement. Ce programme appelé ACTIVIA (Accouplements Testés pour l'Intégration de la Variabilité en Insémination Animale) a été décrit en détail par Colleau *et al.* (2008). Pour faciliter l'acceptation des accouplements proposés aux éleveurs par ces derniers, ACTIVIA propose, par rapport au programme AVAL initial, que pour chaque vache soit défini trois caractères (au maximum) à améliorer.

Un premier bilan pour l'ensemble des étapes VARGEN montre que les recommandations ont permis de diminuer d'environ 20 % la parenté des candidats sélectionnés par rapport à une absence de sélection sur la variabilité génétique (Colleau *et al.*, 2006). On peut donc s'étonner du peu d'empressement des entreprises de sélection pour mettre en œuvre plus largement ces méthodes, qui ont démontré leur efficacité sur données simulées et de terrain. Le groupe de travail VARGEN - mis en place suite au financement du Ministère chargé de l'agriculture - avait identifié quelques point de blocage. Un des principaux semblait la concurrence avec le travail du technicien responsable des plannings d'accouplement et du repérage des mères à taureaux. Enfin, certaines entreprises ou organismes de sélection ont elles-mêmes mis au point leurs propres logiciels pour gérer la variabilité génétique au sein de leurs programmes.

Ce sont en général des programmes qui permettent d'aider la gestion des accouplements : citons par exemple le « PAM » (Plan d'Accouplement Micro) développé initialement par Gènes Diffusion et utilisé également par MIDATEST, pour gérer les accouplements, ou encore GENELIS, développé par l'OS Montbéliarde, qui propose pour chaque vache un choix entre 7 taureaux non consanguins. L'ES CREA VIA a, quant à elle, développée un outil plus élaboré, qui comprendrait également la phase « amont » du programme de sélection (soit le choix des reproducteurs), mais nous ne pouvons rentrer dans le détail car (à notre connaissance) il n'y a pas eu de publication détaillée sur ce logiciel.

Cette méthode a été appliquée également, à partir de 2006, chez les caprins Colleau *et al.* (2011) avec succès. Pour cette espèce, dans un premier temps ce sont les étapes AMONT (procréation des jeunes mâles : sélection des parents, contribution optimale et accouplements) et sélection des jeunes mâles de service (après contrôle sur descendance) qui ont été mises en place. La phase AVAL est en cours de développement, pour une utilisation optimale des mâles de service. VARGEN a en fait pris le relais d'un programme plus empirique qui existait depuis 2002 pour gérer la variabilité génétique des boucs d'IA, qui était une méthode de gestion des groupes similaire à celle employée pour la Lacaune lait.

C. Gestion in situ de la variabilité génétique pour les races de ruminants à petits effectifs en France

La conservation des races animales est devenue actuellement un enjeu majeur que ce soit au niveau national et mondial, mais les premières initiatives sont déjà anciennes. Dès 1967, la Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) s'inquiète de la perte génétique qui est occasionnée par la régression de races dites locales constatée dans presque tous les pays, dès l'arrivée d'une agriculture dite « moderne ».

En France, une année avant, la loi sur l'élevage tient compte d'idées de conservation et de protection. Les premiers programmes soutenus par le Ministère de l'Agriculture sont lancés en 1968 et 1969, pour les races bovines Aubrac et Bazadaise, ainsi que la race ovine Solognote. L'action est poursuivie grâce au cri d'alarme de la Société d'Ethnozootechnie lors de sa première journée « races menacées » (Société d'Ethnozootechnie, 1975). Cela aboutit en 1975

à une décision de la CNAG de financer des programmes de conservation. Les fonds débloqués par le Ministère de l'Agriculture sont à hauteur de 0,5 % des crédits consacrés à l'amélioration génétique (le « fameux » chapitre 44-50 du budget du Ministère de l'Agriculture). Deux types d'intervenants bénéficieront de ces financements : les instituts techniques et les associations d'éleveurs de race. C'est ainsi que progressivement se met en place une coordination des programmes de conservation, au niveau de l'ITEB pour les bovins à partir de 1977 – devenu l'Institut de l'Elevage dans les années 90 - et de l'ITP pour les porcs à partir de 1980 – devenu IFIP Institut du Porc dans les années 2000.

Le Bureau des Ressources Génétiques (BRG) est créé en 1983 et son rôle est renforcé suite à la signature par la France de la Convention sur la Diversité Biologique, CDB (Rio, 1992), ce qui permet d'aboutir à la rédaction d'une « Charte Nationale » (BRG, 1999). D'autres corollaires de la signature de la CDB est la création, en 1999, de la Cryobanque nationale (nous y reviendrons plus longuement par la suite), et un renforcement du poids de l'Institut de l'Elevage dans la gestion des programmes de conservation de ruminants puisque un mi-temps supplémentaire a été affecté la même année à la gestion des programmes de petits ruminants. Les dispositifs de conservation des races d'élevage et en particulier des ruminants ont été décrits à plusieurs occasions, dont par Audiot *et al.* (2005) pour l'ensemble des dispositifs, et Danchin-Burge et Duclos (2008) pour les caprins et Danchin-Burge (2012) pour les ovins. Nous nous bornerons à retracer les traits marquants relatifs à la gestion de la variabilité génétique.

Pour les ruminants, et plus particulièrement pour les bovins, dès le début des programmes de conservation la problématique de l'in situ et ex situ a été pensée de manière complémentaire :

- Tenue d'inventaire d'éleveurs et d'animaux si possible (dit « volet femelle » pour les bovins) ;
- Collecte de mâles pour l'insémination, à destination directement des éleveurs pour les espèces où c'est un outil facile de gestion (bovins, le « volet mâle » et dans une moindre mesure, caprins), ou plus pour préserver des gènes de familles variées ou d'intérêt spécifique (couleur de robe originale...) en ovins.

En bovins, pour les races à Très Petits Effectifs (moins de 1 000 animaux), l'interlocuteur technique principal a été l'Institut de l'Elevage, et même personnifié par Laurent Avon qui a initié quasiment tous les programmes de conservation hormis celui de la Bretonne Pie Noire (initié, lui, par Pierre Quéméré, Professeur à l'Institut Supérieur Agricole de Beauvais). Dans les programmes de l'Institut de l'Elevage, les efforts ont porté principalement sur le contrôle de la filière des mâles d'IA. Dans un premier temps, il s'agissait de collecter les derniers

taureaux purs disponibles (y compris des apparentés), pour constituer des lignées fondatrices et surtout permettre aux éleveurs de faire reproduire leurs vaches en race pure. Dans un second temps, la création des futurs taureaux d'IA a été planifiée avec des « mères à taureaux » choisies suivant plusieurs critères combinés (absence de gènes étrangers, originalité génétique, aptitudes traditionnelles et le type, caractères de reproduction). Les vaches choisies étaient généralement âgées car plus susceptibles de réunir toutes ces conditions. Elles étaient ensuite accouplées avec les taureaux collectés initialement, en tachant de maintenir les lignées mâles aussi distinctes que possible. L'objectif était donc de conserver la variabilité génétique *via* la constitution de stocks importants de semence de taureaux diversifiés plutôt que de se préserver d'une consanguinité immédiate. En effet, hors création des futurs taureaux d'IA, la gestion des accouplements a toujours été laissée libre aux éleveurs. L'avantage d'un tel programme est sa souplesse puisque il n'est pas demandé aux éleveurs un surcroît d'effort en leur imposant le choix des reproducteurs mâles. Quelques garde-fous sont néanmoins établis, par l'envoi annuel d'un inventaire aux éleveurs, avec une codification de l'ascendance mâle pour chaque animal, afin d'éviter une consanguinité rapprochée. A long terme, il était espéré qu'une utilisation raisonnée de toutes les lignées mâles soit faite. Enfin des tournées annuelles dans les élevages permettaient éventuellement de conseiller les éleveurs pour un accouplement. *In fine*, ce programme a donné de bons résultats tant du point de vue démographique que du point de vue de la diversité génétique (voir Danchin-Burge et Avon, 2000 ; Avon et Colleau, 2006 ; Colleau et Avon, 2008). A l'heure actuelle, dans la majorité de ces races, il n'y a plus de nouveaux taureaux collectés car les mâles actuels ne présentent pas de diversité particulière par rapport aux collections existantes. Néanmoins, l'idée sous jacente à la démarche de Colleau et Avon (2008), à savoir le fait qu'à terme, chaque population femelle sera une copie des collections mâles existantes, pose question : un programme de conservation est-il viable, à terme, s'il est préconisé d'utiliser toujours les mêmes reproducteurs mâles (même s'ils sont nombreux et peu apparentés), nés pour certains plus d'un demi-siècle auparavant ? Cet aspect « figé » du programme, où la population n'évolue qu'à partir d'un lot non renouvelé de reproducteurs mâles, risque de rebuter progressivement les éleveurs.

Une gestion plus dynamique de ces races est maintenant proposée, avec le calcul de matrice d'apparentement entre les femelles actives et les mâles d'IA. Il est probable que les éleveurs demanderont à terme de pouvoir collecter de nouveaux taureaux afin de remplacer d'anciens animaux, certes apparentés, mais dont les descendants laissent à désirer du point de vue de la performance zootechnique. Même si ces races ne bénéficient pas de programme de sélection,

le nombre de descendants laissés par chaque taureau permet peu à peu d'apprécier leur valeur zootechnique.

La gestion génétique de la Bretonne Pie Noire est très différente puisque fondée sur des accouplements programmés, en suivant un programme dit « de rotation » (Colleau *et al.*, 2002). Plus contraignant pour les éleveurs, il aboutit également à de bons résultats du point de vue démographique et génétique (Colleau et Avon, 2008, Lauvie *et al.*, 2011).

Les dispositifs de conservation européens pour les bovins ont pu être analysés dans le cadre du projet² EURECA 2006-2010 (*vers des races auto maintenues durablement en Europe* ; <http://www.regionalcattlebreeds.eu/>) dont l'objectif était « *d'aider à la compréhension de la conservation, du développement et de l'usage durable des races bovines locales ou régionales en Europe* ». La France se situait dans un cas un peu particulier car c'était le seul pays parmi les participants qui pouvait disposer de données démographiques, généalogiques et sur les stocks de semence qui étaient fiables et actualisées, pour des populations bovines de très petite taille. L'efficacité d'un dispositif fondé sur un contact régulier avec le terrain a démontré toute son efficacité.

Pour les ovins et caprins, comme cela a été exposé par Danchin-Burge et Duclos (2008) et Danchin-Burge (2012), les programmes de conservation ont souvent démarré localement. Les actions de l'Institut de l'Élevage ont consisté dans un premier temps à tenter d'appliquer ce qui se faisait en bovin, mais la transposition s'est révélée trop compliquée chez les petits ruminants, principalement pour les inventaires femelles en raison de la faible longévité des animaux et de leurs effectifs potentiellement importants (en centaine parfois), et aussi parce que l'insémination est peut utilisée au quotidien pour la reproduction. La gestion de la variabilité génétique se fait au cas par cas, en fonction en général des demandes des acteurs de terrain. Actuellement, les programmes les plus aboutis reposent sur la gestion d'un centre d'élevage de jeunes béliers à destination des éleveurs. Afin d'aider ces derniers dans leurs choix, chaque jeune bélier est caractérisé par son coefficient de parenté moyen avec l'ensemble des brebis actives dans chaque élevage. Quant à la race Solognote, elle bénéficie toujours d'un programme dit « en horloge » (voir « *Pedigree analysis of seven small French sheep populations and implications for the management of rare breeds* ») Comme nous le verrons par la suite (seconde partie), l'efficacité des programmes de conservation est variable, les aspects structuraux (quelques élevages de grand taille ou beaucoup d'élevages de petite taille) représentant un facteur de variation primordial.

² Financé dans le cadre de l'appel d'offre GENRES (GENetic RESources) de l'Union Européenne

Pour les petits ruminants, la comparaison des dispositifs à l'échelle européenne n'a été faite que pour les races régionales dites « heritage », c'est à dire des races dont le berceau et la répartition reste limitée, mais avec des effectifs et un poids économique relativement importants au niveau local ou régional. C'est dans le cadre du projet HERITAGESHEEP (<http://www.heritagesheep.eu>), également financé par le programme GENRES, que cette analyse a été réalisée. Néanmoins les aspects génétiques ont été très peu abordés dans ce programme, en particulier faute de données, la majorité des races locales n'ayant pas de généalogies enregistrées. La France faisait, à nouveau, figure de « bon élève », même si, pour ces races rustiques régionales, la voie paternelle est souvent peu renseignée, faute de lutte en lot (c'est à dire d'attribution d'un unique bélier à un groupe de femelles pour la reproduction).

D. Les collections patrimoniales *ex situ in vitro* : situations en France et à l'étranger

Dès 1998, la FAO préconisait la constitution de collections de matériel biologique conservé *ex situ* afin de préserver la biodiversité des races animales, et éditait un guide (FAO, 1998) des conditions nécessaires au succès de la mise en place de telles collections. La plupart des pays occidentaux ont démarré de telles collections au fur et à mesure de la mise au point des techniques de cryoconservation par espèce et matériel biologique, et parfois de manière antérieure aux préconisations FAO comme en France où des collectes de semences de verrats et de taureaux de races à petits effectifs ont été entreprises dès le début des années 1980. Ces initiatives ponctuelles et parfois éphémères – par exemple en France les seules doses de taureaux Corses cryoconservées dans les années 1990 ont été détruites – ont comme inconvénient une certaine fragilité du dispositif, avec en général peu de visibilité sur la propriété du matériel, les possibilités d'utilisations (matériel en accès libre pour les éleveurs ou conservation patrimoniale etc.). Cela a donc poussé progressivement les pays à mettre en place un système plus global, en donnant un statut spécifique à des collections patrimoniales. Dans cette partie, nous présenterons la genèse, le fonctionnement, et les principaux objectifs et projets de la cryobanque française, appelée Cryobanque nationale. Puis nous présenterons les résultats de l'analyse d'enquêtes réalisées auprès des gestionnaires de collections dans le reste du monde.

1. *La Cryobanque nationale*

Le Comité Scientifique de la CNAG (Commission Nationale d'Amélioration Génétique) du Ministère chargé de l'Agriculture travaillait depuis 1993 à un projet de conservation par le froid (cryoconservation dans l'azote liquide) de matériel biologique les plus représentatifs des divers états de nos ressources génétiques patrimoniales. Ces travaux ont abouti à la création, en novembre 1999, d'un Groupement d'Intérêt Scientifique (GIS) appelé « Cryobanque Nationale ».

a) Les instances de fonctionnement

La Cryobanque nationale a été constitué sous l'égide du Ministère chargé de l'Agriculture et compte à l'heure actuelle onze autres partenaires :

- l'INRA ;
- les différents instituts techniques par espèces : Institut de l'Elevage, IFIP-Institut du Porc, Institut technique de l'Aviculture (ITAVI), Institut Français du cheval et de l'équitation (IFCE), Syndicat des sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français (SYSAAF) ;
- Races de France ;
- l'Union Nationale des Coopératives d'Elevage et d'Insémination Animale (UNCEIA) ;
- l'Association pour le Contrôle Sanitaire, l'Etude et le Développement de l'Insémination Artificielle et du Transfert Embryonnaire (ACSEDIATE) ;
- l'Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (IFREMER), qui a rejoint le GIS en 2004 ;
- Le BRG était également un membre du GIS jusqu'à sa dissolution ; depuis, il a été remplacé par la Fondation pour la Recherche sur la Biodiversité (FRB).

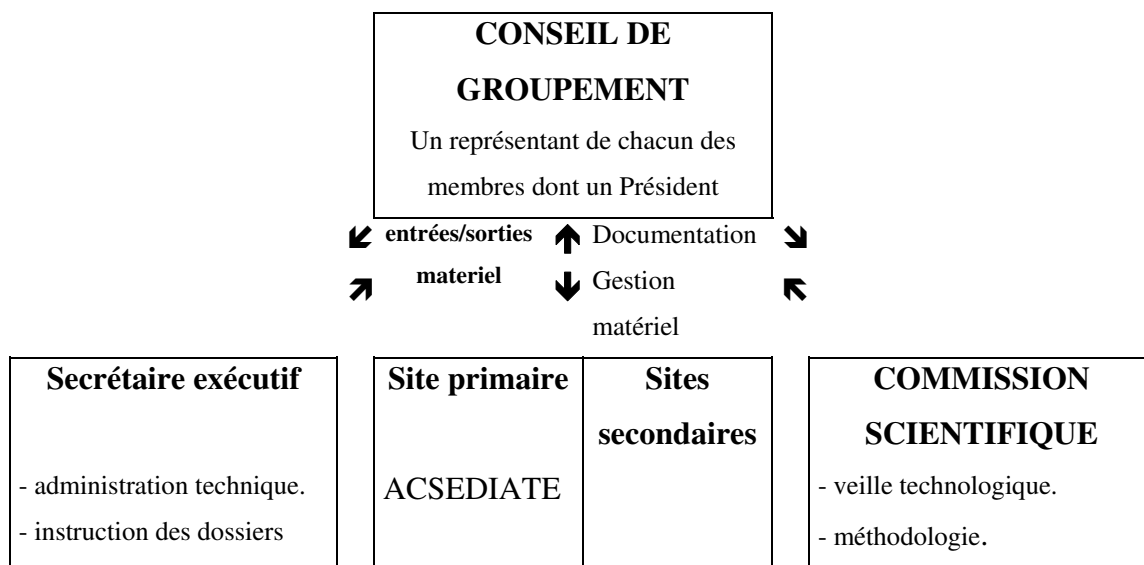
Tous les membres signataires du GIS font partie d'un Conseil de Groupement, et élisent un Président parmi ses membres. Au quotidien, la Cryobanque fonctionne grâce à un secrétariat exécutif, assuré par l'Institut de l'Elevage. La Commission Scientifique a un rôle consultatif quant aux orientations à prendre par la Cryobanque.

Concrètement, le conseil de groupement se réunit trois fois par an et la Commission Scientifique, une fois. Jusqu'à présent, la présidence du GIS a été assurée par la même personne par période de 4 ans, avec une plus grande alternance entre personnes (trois en tout) qu'entre organisme (INRA et SYSAAF). La difficulté principale est de trouver une personne

d'un organisme pouvant englober la majorité des thématiques voire des espèces abordées, et sans que ce ne soit l'Institut de l'Élevage auquel le secrétariat exécutif est adossé.

Les instances de coordination et de décision qui ont été organisées pour assurer cette gestion sont présentées dans la Figure 1.

Figure 1 : Instance de fonctionnement de la Cryobanque nationale



La volonté de constituer une banque patrimoniale impose la mise en place d'une sécurité maximale. A cet effet, la Cryobanque est organisée sous forme de collections doublées et utilise des cuves hautement sécurisées. Un site primaire national unique regroupe l'ensemble des collections. Des sites secondaires uniques ou multiples selon les espèces détiennent un double du matériel présent au site primaire pour l'espèce considérée. Quand la cryoconservation est une technique de reproduction largement utilisée, comme dans le cas des bovins laitiers, les centres professionnels concernés ont été retenus comme sites secondaires. Dans les autres cas, un site spécifique a été mis en place pour stocker les échantillons. Globalement, les sites secondaires sont uniques par espèce, avec même un regroupement des espèces ovine et porcine par exemple à l'INRA de Rouillé (86). Pour l'espèce bovine, à la demande des Entreprises de Sélection (ES), les doses dupliquées ont été laissées sur le site de leur propriétaire, sauf pour la race Normande où un regroupement a été réalisé au site de Réville (50).

La particularité de la Cryobanque nationale est d'être une collection patrimoniale collective. Actuellement, le matériel est géré par la collectivité, le propriétaire du matériel pouvant donner son avis quant à l'utilisation de celui-ci. Une convention est passée entre le président de la Cryobanque et le déposant, qui garde la propriété de ses échantillons, mais en confie la pleine gestion au Conseil de Groupement de la Cryobanque Nationale. Quand une organisation veut utiliser des échantillons de la collection nationale, elle doit soumettre sa demande au Conseil de Groupement, qui statuera. Le déposant du matériel demandé donnera son accord *in-fine* (droit de veto). Un demandeur ne peut donc accéder au matériel de la Cryobanque qu'après un double accord, celui du Conseil de Groupement et celui du déposant. Les sorties devront être compensées en volume par de nouvelles entrées, de façon à maintenir le stock au moins constant. Le délai de restitution varie suivant l'intervalle de génération de l'espèce considérée. Enfin, si le demandeur envisage une utilisation commerciale du matériel biologique utilisé et qu'il obtient un accord du Conseil de Groupement et du déposant, une convention financière tripartite définira les répercussions financières de l'utilisation du matériel. Pour des raisons faciles à comprendre, le traitement d'une demande faite par un déposant pour son matériel est plus rapide que celui d'une personne extérieure.

Un système de gestion est mis en place afin de documenter toute entrée ou sortie de matériel. Tout matériel biologique transféré dans la Cryobanque est assorti d'une fiche de renseignements, avec deux niveaux d'informations, l'un pour tous publics et l'autre confidentiel. Cette fiche comprend des informations sur le type du matériel entré mais aussi sur l'animal dont est issu le matériel biologique (identification de l'animal, généalogie etc.). La partie non confidentielle des fiches de renseignements est consultable sur une base de données en ligne (www.cryobanque.org).

Les moyens financiers de la Cryobanque Nationale sont limités à 54 000€ par an et majoritairement dévolus à l'entretien des stocks constitués principalement de semence en raison de son faible coût de production. Quand cela été possible, par exemple dans le cadre de l'appel d'offres "Centres de Ressources Biologiques" (CRB) du Ministère de la Recherche, la Cryobanque Nationale a soutenu des projets qui ont permis de financer la collecte de matériels biologiques à destination des collections nationales et de stocks actifs conservés hors Cryobanque.

b) Objectifs de conservation

L'objectif est de conserver dans le cadre de la Cryobanque un échantillon représentatif de la diversité génétique des espèces d'élevage sélectionnées en France. La semence est le principal

matériel biologique conservé dans la Cryobanque, pour des raisons essentiellement pratiques. La collecte et la congélation de la semence est une technique utilisée quotidiennement pour certaines espèces (bovins par exemple) et relativement bien maîtrisée dans la majorité des autres, même s'il existe toujours des points de blocage : par exemple, la semence d'âne issue de congélation est fertile sur une jument mais pas sur une ânesse. A noter que pour le lapin et les volailles, la mise en place de la Cryobanque Nationale a été un des facteurs incitatifs à l'amélioration et à la standardisation du processus de collecte et de congélation de la semence. De mise au point plus récente, la congélation des embryons est réalisable dans la plupart des espèces et, là encore, la Cryobanque Nationale a été un facteur mobilisateur largement associé à l'amélioration et au développement des techniques existantes. Aujourd'hui, la collection d'embryons est principalement représentée par l'espèce cunicole. Quelques lignées de fibroblastes en caprins ont été collectées dans le cadre d'un projet pilote financé par le BRG. Afin de préserver le patrimoine génétique de nos espèces d'élevage, trois types de matériel sont stockés dans la Cryobanque, en fonction des objectifs recherchés. Nous rappellerons ici très brièvement la description des types de matériel, les protocoles d'échantillonnage ayant été décrits *in extenso* par Verrier *et al.*, 2003 et analysés une première fois par Danchin-Burge *et al.*, 2006. Ils seront de nouveau analysés dans la troisième partie de ce manuscrit. Les trois types de matériel sont donc :

- le matériel de type I, issu des races à petits effectifs ;
- le matériel de type II, issu d'animaux ou de PAS exceptionnels pour certaines aptitudes mais non retenus aujourd'hui par le programme de sélection ;
- le matériel de type III, constitué par des échantillons représentatifs de l'état génétique à un instant donné d'une race ou population soumise à sélection.

c) Les questions soulevées par le projet

Il faut rappeler que la Cryobanque n'est pas l'unique structure de conservation du patrimoine génétique en France. Pour les races menacées, outre les divers élevages et structures contribuant à la conservation *in vivo* d'animaux, les initiatives de différents acteurs du monde agricole (associations d'éleveurs, centres d'insémination artificielle, instituts techniques, ...) ont permis la constitution de nombreuses collections de cryoconservation. La Cryobanque n'a pas pour mission d'être l'unique structure de conservation. Dans certains cas (petits ruminants, porcins, ...) une articulation entre collections déjà existantes et celles de la Cryobanque a été organisée. Dans d'autres cas (bovins à Petits Effectifs –PE- en particulier), il existe des

collections parallèles car toutes les structures ne souhaitent pas participer. Par ailleurs, la mise en place de la Cryobanque a soulevé la question de la propriété du matériel de ces collections, et pour certaines races (race bovine Bordelaise, race ovine Landaise...) il n'existe toujours pas d'accord entre les différents intervenants, ce qui complique la remise de matériel en Cryobanque. Pour le matériel génétique de type II et III, dans un premier temps, les mises en collection ont été limitées aux ES bovines et à l'INRA. Depuis, une relation de confiance s'est peu à peu établie et le panorama s'est élargi à d'autres ES (en particulier ovines), voire à des firmes commerciales (comme Grimaud, pour les lapins ; Gourmaud pour les canards ; Gène + ou ADN pour les porcs) qui ont maintenant le réflexe de contacter la Cryobanque afin de sécuriser leurs stocks.

Pour finir, le futur de la Cryobanque nationale paraît maintenant lié au succès du projet « CRB-Anim ». Ce projet a pour objectif de fédérer et d'améliorer les Centres de Ressources Biologiques (CRB) qui stockent du matériel reproductif et génomique pour les espèces d'élevage françaises. De nombreux changements sont attendus avec, en particulier, la disparition de la Commission Scientifique de la Cryobanque qui sera redimensionnée à l'ensemble des CRB partenaires, la mise en place d'une procédure qualité, qui nécessitera, *a minima*, un réaménagement du site primaire, la définition de règles communes aux CRB pour accéder aux collections, etc. Nous aurons l'occasion d'y revenir dans la partie discussion de ce manuscrit.

2. *Etat des collections de type cryobanque dans le monde*

Des résultats d'enquêtes ont été analysés pour mieux connaître la situation des cryobanques dans le monde. Le groupe « Cryoconservation » du point focal européen de la FAO (European Regional Focal Point, ERF), sous l'égide de Sipke Hiemstra (Centre for Genetic Resources, the Netherlands), a mis en place un questionnaire fin 2011/2012 soumis à l'ensemble des coordinateurs nationaux ressources génétiques pour la FAO. Nous nous sommes d'abord fondés sur les résultats de cette enquête, puis nous avons cherché à obtenir des réponses supplémentaires auprès de partenaires non européens supposés détenir des collections. Les noms de ces partenaires nous avaient été fournis par H. Blackburn, coordinateur national ressources génétiques pour les Etats-Unis et responsable de la cryobanque américaine. Pour certains pays nous avons pu obtenir les réponses en direct, pour d'autres, les correspondants n'ont pas répondu mais des informations étaient disponibles sur internet, plusieurs pays

(comme le Japon ou la Colombie) ayant mis en place par exemple un site spécifique pour leurs cryobanques. Au final, nous avons comparé nos résultats (pays ayant répondu et pays ayant déclaré avoir une cryobanque) avec l'enquête réalisée de Boetcher & Akin (2010) pour le compte de la FAO. Cette analyse portait principalement sur l'organisation des cryobanques, leurs objectifs de conservation, le type de matériel biologique collecté, les bases de données en lien avec ces cryobanques et enfin les aspects juridiques (transfert de propriété, existence de Material Transfert Agreement -MTA...). Nous avons restreint volontairement notre analyse aux bilans des collections fournis par pays puisqu'un tel travail n'avait jamais été réalisé jusqu'à présent. Une analyse des méthodes d'échantillonnage et des conditions de sortie de matériel aurait pu être également pertinente, malheureusement ces données se sont révélées trop parcellaires et hétérogènes pour obtenir des réponses satisfaisantes.

a) Données générales

Pour les collections, les données datent de 2011 et nous avons analysé uniquement les pays détenant des collections contenant du matériel biologique reproductif (semence ou embryon). Les données de cellules ont été intégrées à condition que la collection contienne également du matériel reproductif (Tableau 3).

Tableau 3 : récapitulatif des enquêtes par pays

<i>Données disponibles et pays avec Cryobanque</i>	<i>Données très partielles et pays avec Cryobanque</i>	<i>Données indisponibles et pays avec Cryobanque</i>	<i>Données disponibles et pays sans Cryobanque</i>
25 (voir détail Tableau 4)	4 (Argentine, Chine, Espagne, Japon)	2 (Tunisie, Vietnam)	8 (Croatie, Estonie, Géorgie, Grèce, Irlande, Islande, Serbie, Suisse)

Au final, nous disposons de données relativement complètes pour 25 pays, et des informations sur les espèces stockés dans trois autres pays (Argentine, Chine et Japon). Le cas de l'Espagne est singulier : une réponse détaillée a été produite pour l'enquête de l'ERFP, mais le bilan des collections n'est jamais mentionné, posant la question de leur existence physique réelle. En effet, nous savons par l'exemple d'un autre pays fédéral, l'Allemagne, qu'il est parfois très compliqué de mettre en place un projet à envergure nationale : le projet de création d'une collection allemande nationale a plus de 10 ans d'existence et n'a toujours pas débouché. Enfin, nous avons choisi de ne pas intégrer l'Albanie dans notre enquête, ce pays détenant une collection constituée uniquement de cellules d'animaux.

Tableau 4 : Détail des pays avec cryobanque (colonne 1 du tableau précédent) et par continent

Continent	Pays	Total
Amérique	Brésil ; Canada ; Colombie ; USA	4
Asie	Inde ; Philippines, Turquie	3
Europe	Autriche ; Belgique ; Bulgarie ; Danemark ; Finlande ; France ; Italie ; Lituanie ; Norvège ; Pays-Bas ; Pologne ; Portugal ; Royaume Unis ; Slovaquie ; Slovénie ; Suède ; Tchéquie ; Ukraine	18

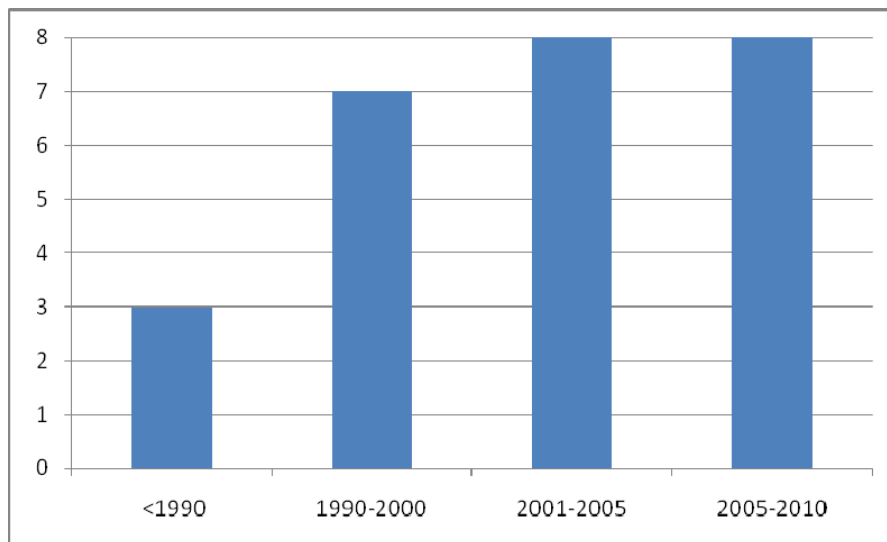
Notre enquête est évidemment biaisée par le réseau que nous avons pu mettre en œuvre, qui est principalement européen. Néanmoins si l'on compare avec l'enquête de Boetcher & Akin (2010), le Tableau 4 reflète également une réalité : il existe peu de cryobanques organisées en dehors de l'Europe. Dans l'enquête FAO, si l'on se restreint à la classification dans l'article en « banque nationale unique » ou « banques nationales multiples, dupliquées pour des raisons de sécurité », 36 collections de type cryobanque étaient recensées dont la répartition géographique est la suivante : 8 en Afrique, 1 en Asie et Pacifique, 22 en Europe, 3 en Amérique et 2 pour le Proche Orient. A noter que dans cette dernière catégorie, l'Égypte faisait partie des pays ayant répondu positivement, or depuis la révolution, une de leur cryobanque végétale a été pillée, posant la question de la pérennité de leurs collections animales (<http://agro.biodiver.se/2011/02/egyptian-genebank-looted/>).

Il se pose aussi la question de la compréhension de ce qu'est la notion de cryobanque. Certains pays continuent à confondre mise en place de centre de production de semence et collections nationales. Par exemple le Nigéria ou le Kenya ont répondu positivement à l'enquête de la FAO, néanmoins leurs rapports sur l'état des ressources génétiques animales : <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1250e/annexes/CountryReports/CountryReports.pdf> donnent à penser qu'il n'existe pas de cryobanques dans ces pays.

Le statut des collections est resté longtemps confus dans beaucoup de pays : en général le matériel était collecté en appui de la gestion des races à petits effectifs, avec un libre accès aux stocks. Ce n'est que récemment que, dans certaines collections (comme en Autriche), une séparation claire a été introduite entre stocks de travail et stocks patrimoniaux (sous la dénomination de « core collection » en anglais), dont l'accès est fortement restreint. Enfin, certains pays ont mis en place des fédérations de collections à objectif patrimonial plutôt qu'une entité nationale. L'inconvénient majeur de cette structuration est la difficulté à obtenir une remontée correcte des informations sur les stocks.

La répartition par période de création des cryobanques est illustrée dans la Figure 2.

Figure 2 : Période de création des cryobanques



Trois pays déclarent avoir démarré leur cryobanque avant les années 1990 : le Brésil (1983), la Finlande (1984) et le Danemark (1987). Pour ces deux derniers pays, les collections sont une fédération d’initiatives ponctuelles privées, et il n’existe pas réellement d’entité centrale de gestion. En revanche, pour le Brésil, il s’agit bien d’une initiative nationale. Les créations se sont accélérées dans les années 1990, avec la création en particulier des trois collections avec le plus de notoriété, à savoir les Pays-Bas (1993), la France et les Etats-Unis (1999). Depuis les années 2000, la création de cryobanque va en s’accroissant et de nombreux pays se sont engagés, dans leur rapport national sur les ressources zoogénétiques à destination de la FAO, à mettre en place de telles structures. C’est donc la signature de la CBD dans un premier temps puis la publication de l’état des ressources zoogénétiques pour l’alimentation et l’agriculture dans le monde (FAO, 2007) qui ont été les deux déclencheurs principaux à la création de collections patrimoniales.

En dehors des Pays-Bas, des pays scandinaves, de la France et des Etats-Unis, on note que dans la majorité des cas les cryobanques les plus anciennes avaient focalisé leurs objectifs sur la protection des races menacées. Le choix des animaux à entrer en collection, en dehors des aspects pratiques classiques (accessibilités des donneurs, etc.), se fait en essayant de maximiser la diversité génétique. L’intégration des races sélectionnées aux collections, quand elle existe, se fait en général de manière opportuniste : la méthode la plus courante est le transfert d’un nombre de doses de semence fixe par mâle mis à l’épreuve de la descendance.

D'après les données, seules la France et les Etats-Unis ont un travail d'échantillonnage spécifique pour les races en sélection, et la France est la seule à inclure les index de valeur génétique comme critère, les Etats-Unis se limitant à des critères de diversité génétique.

b) Analyse des collections

Nous connaissons les espèces stockées pour 28 pays ; leur fréquence par collection figure dans le Tableau 5. Le détail des espèces n'étant en général pas accessible, les espèces de poissons ont été réparties en deux catégories : poissons de mer et poissons d'eau douce.

Tableau 5 : Fréquence de répartition des différentes espèces dans les collections

Fréquence	Espèce(s) concernée(s)
Une seule collection	Abeille ; Cerf ; Chien ; Dromadaire ; Guanaco ; Lapin ; Poissons de mer ; Mollusques marins
2 collections	Ane ; Bison ; Canard ; Dinde ; Oie ; Ver à soie ; Wapiti ; Yak
Entre 3 et 9 collections	Buffle ³ (3) ; Poissons d'eau douce (4) ; Coq (6)
Entre 10 et 25 collections	Cheval (13) ; Porc (15) ; Caprin (17) ; Ovin (24)
Plus de 25 collections	Bovin (27)

Au total, 24 espèces ou groupe d'espèces sont conservées dans les collections. L'espèce prédominante est celle qui conjugue à la fois fort intérêt économique et facilité de collecte et de congélation, à savoir les bovins, mais les ovins suivent de près (24 collections). A l'inverse, 8 espèces ne sont présentes que dans un seul pays, comme le chien (Pays-Bas) ou le lapin (France) et 8 autres espèces dans seulement 2 collections. Dans ce groupe, on retrouve des espèces dont l'importance zootechnique est limitée en raison de sa petite zone d'élevage (bison, guanaco, wapiti, yak, dromadaire), celles où la maîtrise de la cryoconservation est récente ou problématique (âne, canard, oie) ou encore des espèces qui en général ne sont pas considérées comme des animaux d'élevage (cerf ; chien ; insectes ; le statut du lapin variant suivant les pays).

Si l'on regarde les collections par pays, et en considérant les poissons d'eau douce comme une « espèce », ce sont les Etats-Unis qui regroupent le plus d'espèces (11), suivis de près par le Canada et la France (10). En moyenne, un peu moins de 5 espèces sont conservées par collection. Sur les 28 collections, 20 d'entre elles ont au maximum 5 espèces en conservation.

Le Tableau 6 récapitule le nombre de populations animales sélectionnées différentes qui sont stockées dans les différents pays. Un travail de recherche a été réalisé pour identifier les

³ La distinction entre buffle de rivière (laitier) et le buffle des marais (traction) n'est pas précisée, faute d'informations à ce sujet

populations communes, mais des erreurs peuvent subsister : le détail par race n'était pas toujours accessible et ensuite la dénomination d'une même race peut varier fortement d'un pays à l'autre. Pour les espèces en cours de domestication (bison, cerf, wapiti), il a été considéré qu'il y avait une lignée différente par pays. Pour les mollusques et les poissons, le nombre indiqué est celui des espèces différentes. A partir des informations des collections de 25 pays différents on peut estimer qu'un maximum de 813 populations différentes ont du matériel biologique conservé en cryobanque. Le détail des collections par pays figure Tableau 7.

Tableau 6 : Nombre total de populations différentes stockées par espèce

Fréquence des populations	Espèce(s) concernée(s)
De 1 à 5 par espèce	Cerf, Dromadaire, Yak : 1 ; Bison, Chien, Oie, Wapiti :2 ; Ane, Mollusques marins : 3 ; Dinde : 5
De 6 à 25 par espèce	Poissons de mer : 6; Ver à soie : 10; Buffle : 14 ; Canards : 16 ; Poissons d'eau douce : 21
De 30 à 75 par espèce	Lapin: 34; Caprin 58; Coq 56; Cheval 64; Porc 74
Plus de 150 par espèce	Ovin 180; Bovin 257

Le poids des espèces suivant leur richesse en populations est différent de celui obtenu quand on réalise la fréquence de répartition des collections par pays. On retrouve l'effort très particulier réalisé par la France pour réaliser une collection exhaustive des lignées cunicoles.

Tableau 7 : Contenu de différentes cryobanques : nombre d'espèces, de populations, de donneurs et de doses. Type de matériel biologique reproductif en collection

Pays	Nombre d'espèces	Nombre de populations	Nombre de donneurs	Nombre de doses	Matériel biologique
Autriche	5	41	2 318	115 315	Semence, embryon
Belgique	1	3	33	6 324	Semence
Brésil	7	27	399	65 814	Semence, embryon
Bulgarie	4	39	?	344 927	Semence
Canada	10	31	3 102	262 327	Semence, embryon
Colombie	3	17	355	48 220	Semence, embryon
Danemark	5	13	170	?	Semence, embryon
Finlande	2	8	317	399 931	Semence, embryon
France	10	149	3 958	275 782	Semence, embryon, cellules
Inde	7	25	?	?	Semence
Italie	4	10	402	37 711	Semence
Lituanie	3	9	46	8 971	Semence
Norvège	4	26	4 496	599 830	Semence
Pays-Bas	9	94	5 721	278 246	Semence, embryon
Philippines	4	13	84	116 498	Semence, cellules
Pologne	2	10	230	53 203	Semence, embryon
Portugal	3	31	443	195 372	Semence, embryon, cellules
Royaume Unis	5	82	1 019	135 204	Semence
Slovaquie	2	3	?	3 904	Semence
Slovénie	3	12	709	87 117	Semence, cellules
Suède	1	7	256	75 744	Semence, embryon
Tchéquie	6	18	898	35 860	Semence, embryon, cellules
Turquie	4	29	1 673	51 577	Semence, embryon, cellules
Ukraine	4	31	209	131 505	Semence, embryon, cellules
USA	11	173	13 713	646 453	Semence, embryon

Pour la poule, quand la cryoconservation est maîtrisée, on remarque un effort important des pays pour collecter un grand nombre de populations. L'épisode de la grippe aviaire a probablement été un facteur fortement incitatif. Les bovins représentent presque un tiers des populations en collection, et en additionnant les ovins, à elles deux, ces espèces constituent 54% des effectifs de populations.

Si l'on regarde le nombre de populations conservées par pays (25 pays), c'est à nouveau les Etats-Unis qui sont dominants, avec 173 populations en sélection, suivi par la France (149 populations) puis les Pays-Bas (94 populations). A eux trois, ces pays conservent presque la moitié des populations en collection (46%). La moyenne est de 36 populations conservées par collection. Plus de la moitié des pays (13) ont moins de 20 populations. Ce n'est pas la date de création des collections qui peut expliquer la plus ou moins grande richesse des collections, car la date moyenne de création est égale à 2001 pour les deux groupes de pays (plus ou moins 20 populations en collection). Un facteur explicatif peut être la richesse de la diversité animale dans le pays : malgré des collections anciennes, la Finlande, le Danemark, la Lituanie ou la Norvège, dont la biodiversité des races d'élevage est limitée, ont peu de populations en collection.

Le pays qui fait exception à cette explication est les Etats-Unis. Une analyse des collections montre que seulement 38% des populations de la collection américaine sont natives des Etats-Unis. On y retrouve des races menacées étrangères, en particulier de nombreuses races britanniques, mais aussi des races sélectionnées d'autres pays, comme la Parthenaise (France), la Romagnola (Italie), le Wagyu (Japon) etc. En revanche les animaux collectés sont bien issus d'une sélection américaine récente.

On dénombre 56 populations communes à au moins deux collections. La répartition de ces PAS par espèce figure dans le Tableau 8.

Tableau 8 : Nombre de populations communes par espèce

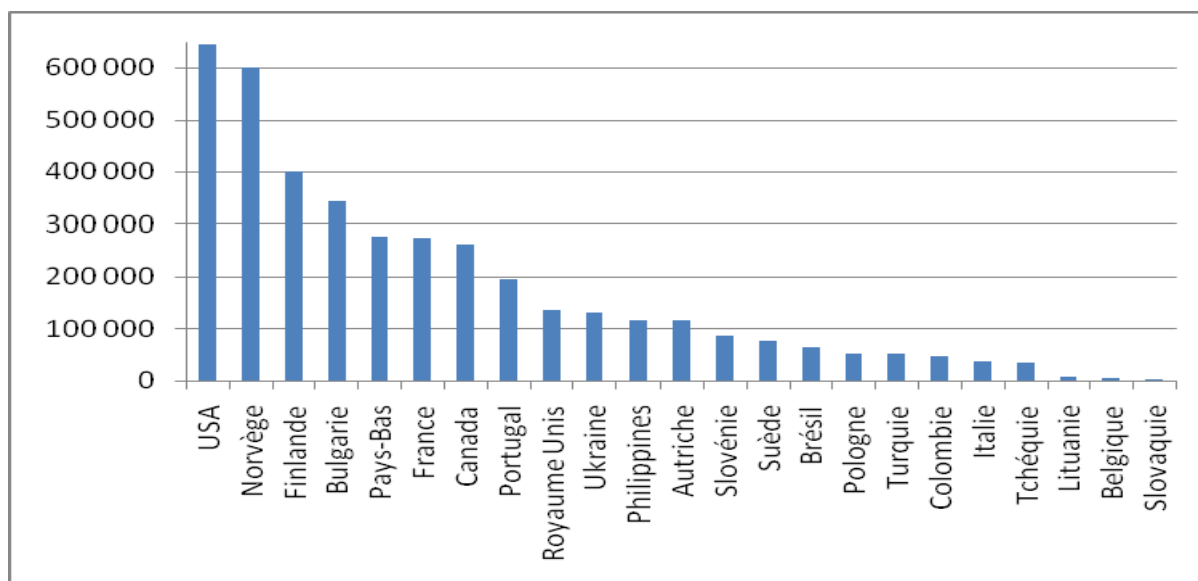
Espèce	Nb de populations communes	Nb de populations communes / nb de populations de l'espèce
Bovin	30	12%
Ovin	15	8%
Porcin	6	8%
Caprin	3	5%
Equin	2	3%

On retrouve par cette analyse le poids de la filière bovine et l'internationalisation de la sélection laitière, avec la race Prim'Holstein qui est la plus représentée (7 pays), puis 6 races bovines présentes dans 4 pays, dont trois races laitières (Brune, Jersey, Simmental), deux races allaitantes (Charolaise, Limousine) et une race locale transfrontalière (Pinzgauer). Les autres espèces ont au maximum trois collections communes. Dans ce cas, on retrouve deux races caprines laitières (Alpine et Saanen), deux races ovines allaitantes (Hampshire et Texel) et une prolifique (Romanov) et enfin trois races porcines (Duroc, Landrace et Yorkshire). 70 % des races communes sont présentes dans seulement deux collections, et les Etats-Unis figurent comme pays dénominateur commun pour 52 races sur 56.

Le nombre de donneurs et de doses est plus difficile à analyser car certaines collections agglomèrent dans leurs comptes différents matériels biologiques, et l'unité de compte utilisée (par donneur et par dose) n'est jamais détaillée. Aussi, pour la semence, l'unité de compte peut également différer d'une espèce à l'autre : une dose d'IA est égale à une paillette pour les bovins et les petits ruminants, mais il varie de 8 à 16 paillettes pour une dose d'IA en équin par exemple. D'après nos calculs, pour les équins, toutes les collections présentent un nombre de doses qui correspond bien à une dose d'IA, le rapport nombre de doses par donneur étant à peu près équivalent (45 doses par donneur en moyenne, pour un écart type de 29). En revanche, pour les porcins, le rapport est de 1 à 100 en fonction des races, ce qui donne à penser que l'unité de calcul est variable suivant les pays.

La taille moyenne des collections (23 pays) est de 172 862 doses, pour une moyenne de 1 843 donneurs (22 pays). A eux seuls, 4 pays (dans l'ordre décroissant de leur taille des collections : Etats-Unis, Norvège, Finlande, Bulgarie) constituent la moitié des effectifs, et à 7 (avec les Pays-Bas, la France et le Canada), 71% des effectifs (cf. Figure 3).

Figure 3 : Taille des collections en nombre de doses par ordre décroissant de volume



Il faut noter le poids de l'espèce bovine quand on analyse les collections par le critère du nombre de doses : 80% des collections, en nombre de doses, sont issues de l'espèce bovine. La suprématie de cette espèce est principalement assise sur le fait qu'on peut facilement collecter et congeler un grand nombre de doses par taureau, tandis que toutes les autres espèces de mammifères sont beaucoup plus limitées d'un point de vue physiologique. L'existence préalable aux collections de doses d'IA dans des centres de production de semence a été un moyen de pourvoir à moindre coût les cryobanques. On retrouve d'ailleurs parmi les collections les plus importantes les pays qui ont mis en place des politiques systématiques de transfert de doses en collection des taureaux mis sur le marché. A l'opposé seulement 3 pays (et hors Belgique, qui a démarré en 2011) ont moins de 50% de leurs doses provenant de l'espèce bovine : l'Italie (29%), les Philippines (33%) et la France (47%).

L'analyse par nombre d'animaux donneurs donne un groupe de tête légèrement différent : si les Etats-Unis sont toujours largement dominants (13 713 donneurs), ils sont suivis cette fois-ci des Pays-Bas, puis de la Norvège et de la France. A eux quatre, ces pays constituent 70% du nombre de donneurs entreposés. Le poids de l'espèce bovine est moins prégnant par ce comptage, puisqu'elle représente 63% du nombre de donneurs.

Au final, l'action de la FAO a permis à de nombreux pays de mieux fédérer et structurer les collections cryoconservées existantes, voire de démarrer de nouvelles initiatives. En Europe, la plupart des pays disposent de collections parfois imposantes. Les quelques pays majeurs (d'un poids de vue économique) qui manquent à l'appel, comme l'Allemagne et l'Espagne, disposent en réalité de matériel cryoconservé, mais pas sous la forme de collection nationale.

L'initiative de l'Italie, qui a démarré une cryobanque virtuelle sous la forme d'une mise en réseau des collections existantes, est certainement une solution à explorer pour tous les pays fortement régionalisés. Cette enquête permet également de mettre en lumière des collections importantes par leur volume (Bulgarie, Finlande, Norvège) mais dont le travail est moins mis en valeur que celui des Etats-Unis, de la France et des Pays-Bas.

Enfin, les enquêtes réalisées par la FAO (Boetcher et Akin, 2010), et la constitution de forum ou de colloques sur le sujet, toujours sous l'égide de la FAO, donnent à penser que ces initiatives vont continuer monter en puissance. Il paraît donc stratégique de promouvoir le programme français et surtout son inscription dans le cadre du projet CRB-Anim financé par l'appel d'offre Infrastructure, qui pourrait devenir un point d'accroche pour la construction d'un réseau européen des banques animales de matériel biologique. Nous aborderons à nouveau ce point en discussion finale.

Seconde partie :
Bilans de variabilité génétique

Plusieurs types d'information (phénotypique, généalogique et moléculaire) et différentes méthodes permettent d'apprécier la variabilité génétique au sein d'une population (Boichard *et al.*, 1997 ; Baumung *et al.*, 2003, Toro *et al.*, 2011). En France, les bilans de variabilité génétique des races de ruminants ont été réalisés principalement à partir des informations généalogiques (pour les bovins : Boichard *et al.*, 1996 ; Danchin-Burge et Avon, 2000 ; Moureaux *et al.*, 2001 ; Avon et Colleau, 2006 ; Mattalia *et al.*, 2006 ; pour les petits ruminants : Palhière *et al.*, 2000 ; Huby *et al.*, 2003 ; Piacère *et al.*, 2004...) car ces dernières offrent l'avantage d'être facilement disponibles, sans surcoût – car collectées à d'autres fins que la mesure de la diversité génétique - et raisonnablement fiables sur de longues durées. Plusieurs logiciels permettant d'effectuer différentes analyses généalogiques sont disponibles en libre accès. Parmi ceux-ci, citons PEDIG (Boichard, 2002)

<http://www4.jouy.inra.fr/gabi/les-Ressources/Developpement-d-outils/Pedig>

et ENDOG (Gutiérrez et Goyache, 2005)

http://www.ucm.es/info/prodanim/html/JP_Web.htm

Certains modules de PEDIG ont été repris par les concepteurs de ENDOG.

Après plusieurs essais comparatifs de ces deux logiciels, nous avons choisi d'employer PEDIG pour la réalisation de l'ensemble des travaux présentés dans le cadre de cette thèse. Par rapport à PEDIG, ENDOG présente une plus grande convivialité et fournit des sorties plus complètes. En revanche, ENDOG présente deux limites importantes. D'une part, il ne peut pas traiter de fichier comprenant plus que quelques dizaines de milliers de données. Dans nos études, nous sommes amenés à traiter des fichiers généalogiques de plusieurs millions d'individus (jusqu'à une vingtaine de millions en race bovine Charolaise et Prim'Holstein), hors de portée donc du logiciel ENDOG. D'autre part, ce logiciel ne fonctionne que si un certain nombre de règles sont strictement respectées, notamment celle qui veut qu'un reproducteur ait au minimum un an de plus que sa progéniture. Usuellement, dans les fichiers généalogiques, l'information relative à la date de naissance se limite à l'année. Or, dans plusieurs espèces domestiques, il est possible (petits ruminants) ou courant (chiens, porcs, volailles) qu'un reproducteur et son ou ses premier(s) descendant(s) naissent la même année ; dans ce cas, sauf à reconstituer une date de naissance plus précise, le logiciel est mis en défaut.

Le logiciel PEDIG a donc été utilisé pour l'ensemble des études présentées. L'objet de nos études est une **population de référence**, qui est toujours celle d'animaux :

- dont les **deux** parents sont connus ;

- femelles, sauf exceptions qui ont été précisées ;
- nés pendant l'équivalent d'un intervalle de génération pour l'espèce (soit 4 ou 5 ans) ;
- pour les dernières années de naissance disponibles où les cohortes sont complètes.

Ces analyses ne sont pertinentes qu'à condition qu'un minimum d'information généalogique soit disponible. Nous avons donc fixé un seuil à 2,5 générations connues en moyenne pour la population de référence, pour qu'une population soit étudiée.

Dans cette partie, dans un premier temps nous présenterons des résultats d'analyse de la variabilité génétique à partir de généalogies, de races bovines en sélection, de races caprines et de races ovines allaitantes. Des comparaisons seront effectuées avec les indicateurs de diversité calculés pour les animaux conservés *ex situ* (en Cryobanque) pour les bovins et les ovins allaitants. Pour conclure cette partie, nous réaliserons une analyse multi-espèces des indicateurs de variabilité génétique obtenus à partir de nos différentes études.

A. Réalisation de bilans de variabilité génétique *in situ* et *ex situ*

1. Pour les races bovines en sélection – comparaison in situ et ex situ

a) Introduction

Dans cette partie, nous actualiserons les bilans effectués précédemment pour les races bovines en sélection *in situ* (Boichard *et al.*, 1996 ; Moureaux *et al.*, 2001 ; Mattalia *et al.*, 2006) puis nous la comparerons avec la variabilité génétique disponible *ex situ* (dans les collections de la Cryobanque nationale) pour certaines des races. Une comparaison avec les collections à l'étranger (cryobanques néerlandaises et américaines pour la Prim'Holstein) sera réalisée dans la troisième partie de ce manuscrit.

b) Article: « Evolution of the genetic variability of eight French dairy cattle breeds assessed by pedigree analysis »

ORIGINAL ARTICLE

Evolution of the genetic variability of eight French dairy cattle breeds assessed by pedigree analysis

C. Danchin-Burge^{1,2,3}, G. Leroy^{1,2}, M. Brochard³, S. Moureaux³ & E. Verrier^{1,2}

1 AgroParisTech, UMR 1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, 16 rue Claude Bernard, Paris, France

2 INRA, UMR 1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, Jouy-en-Josas, France

3 Institut de l'Élevage, 149 rue de Bercy, Paris, France

Keywords

Cryobank; dairy cattle; French breeding schemes; genetic diversity; pedigree information.

Correspondence

C. Danchin-Burge, AgroParisTech, UMR 1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, 16 rue Claude Bernard 75231 Paris 05, France. Tel: +33 144087217; Fax: +33 144088622; E-mail: coralie.danchin@idele.fr

Received: 6 May 2011;
accepted: 13 September 2011

Summary

A pedigree analysis was performed on eight French dairy cattle breeds to assess their change in genetic variability since a first analysis completed in 1996. The Holstein, Normande and Montbéliarde breeds are selected internationally with over hundreds of thousands of cows registered in the performance recording system. Three breeds are internationally selected but with limited numbers of cows in France (Brown Swiss, French Simmental and French Red Pied). The last two remaining breeds (Abondance and Tarentaise) are raised at regional level. The effective numbers of ancestors of cows born between 2004 and 2007 varied between 15 (Abondance and Tarentaise) and 51 (French Red Pied). The effective population sizes (classical approach) varied between 53 (Abondance) and 197 (French Red Pied). This article also compares the genetic variability of the *ex situ* (collections of the French National Cryobank) and *in situ* populations. The results were commented in regard to the recent history of gene flows in the different breeds as well as the existence of more or less stringent bottlenecks. Our results showed that whatever the size of the breeds, their genetic diversity impoverished quite rapidly since 1996 and they all could be considered as quite poor from a genetic diversity point of view. It shows the need for setting up cryobanks as gene reservoirs as well as sustainable breeding programmes that include loss of genetic diversity as an integrated control parameter.

Introduction

During the last 40 years, breeding programmes in developed countries contributed to major changes in the mean values of the dairy cattle populations for a series of traits (e.g. Philipsson *et al.* 2009): spectacular increase in milk yield, increase in both fat and protein contents, increase in adult size, improvement in udder morphology, decrease in female fertility, etc. Several factors allowed the selection each year of a few bulls, each one having a very large number of offspring: a strong collective organization of

breeders, the development of on-farm dairy recording, procedures leading to the genetic evaluation of young bulls with a high accuracy (progeny testing and, now, genomic evaluation) and the efficiency and the vastly diffusion possibilities offered by artificial insemination (AI).

It is necessary to maintain a sufficient amount of within-population genetic variability, either to go on selecting the dairy traits or to improve functional traits, as well to preserve a 'core of genes' for traits we might need in the future, but that cannot be foreseen. For the Holstein breed, results obtained in

different countries, with various indicators, showed that managing the genetic variability of this worldwide breed deserves much attention (e.g. Van Doormaal *et al.* 2005; Koenig & Simianer 2006; Kim & Kirkpatrick 2009; Danchin-Burge *et al.* 2011). It is also needed to monitor the genetic variability within other dairy cattle breeds, as revealed by recent pedigree analyses (e.g. Baumung & Sölkner 2002; Sørensen *et al.* 2005; Mattalia *et al.* 2006; Mc Parland *et al.* 2007).

In the short term, the most effective way to preserve the genetic variability in a selected population is to implement a method intended to optimize the genetic gain on some traits under a restricted rate of inbreeding (Meuwissen 1997) or to minimize the rate of inbreeding under the condition of a given genetic gain (Colleau *et al.* 2004). The genetic variability of livestock breeds can also be preserved, thanks to the conservation of biological material (semen and embryos mostly) frozen in liquid nitrogen (Danchin-Burge *et al.* 2006). This is the main reason for the creation of national cryobanks for livestock species in some countries such as the Netherlands (1993), the USA (1999) and France (1999). For instance, six of the eight main French dairy cattle breeds are part of the collections of the French cryobank (for a permanent inventory update, see <http://www.cryobank.org>).

In the present article, the situation of the eight main French dairy cattle breeds will be analysed in detail. Emphasis will be put on (i) the evolution of the within-population genetic variability over time by comparison with previous studies on the same breeds and (ii) the comparison of the current populations with the *ex situ* collections that exist in the French cryobank. Indicators based on pedigree data will be used for this study. They allow the assessment of the within-population genetic variability in terms of probabilities of gene origin and of gene identity, the results being valid for any neutral locus without mutation (see, e.g. Boichard *et al.* 1997; Baumung & Sölkner 2003).

Material and methods

Populations studied and data available

Among the various dairy cattle breeds raised in France, eight of them benefit from a breeding programme, with progeny testing of young bulls issued of selective matings.

Some characteristics of these breeds are shown in Table 1, breeds being ranked by decreasing popula-

tion size. The Holstein breed (HOL) is the main French dairy cattle breed and is raised in almost all the territories. The Montbéliarde (MON) and Normande (NOR) breeds originate from two different French regions and show different figures: in the last decades, the population size of MON increased, whereas the NOR decreased. At present, MON is raised in a large majority of the territory whereas, NOR is mainly raised in Normandy. Three other breeds, namely the Brown Swiss (BSW), the Simmental (SIM) and the Red Pied (FRP) breeds, are the French nuclei of international breeds and are mainly raised in one or two French regions. The Abondance (ABO) and Tarentaise (TAR) breeds are hardy breeds mainly raised in the French Northern Alps, the farming system involving transhumance between valley and high-altitude pastures (see e.g. Verrier *et al.* 2005).

For all these breeds, there are a high number of cows with performance recording (see Table 1), and AI is the almost exclusive breeding way. Among these breeds, two of them are completely closed populations (NOR and TAR), the breeding programme of two of them has included the use of North American Red Holstein bulls for a brief period (in the 80s for the ABO and in the late 70s for the MON), and the programmes of the last four breeds (BSW, FRP, SIM and HOL) include the wide extent use of bulls born in several foreign countries.

For breeds benefiting from an organized selection programme (in contrast with rare breeds), the aim of the French cryobank is to preserve the future possibilities for a given population to change its breeding goals, by keeping available representative samples of the different populations at different periods (Danchin-Burge *et al.* 2006). By January 2009, the cattle species was represented in the cryobank by the semen doses of 750 bulls from a total of 23 different breeds, including six breeds among the eight studied here: HOL (152), MON (105), NOR (165), BSW (25), ABO (48) and TAR (53).

All the pedigree information came from the French national cattle database, called 'Système d'Information Génétique' (SIG), which is used for the national genetic evaluation. The total number of animals in the file is given in Table 1. The data available for this article are similar to the ones used in previous studies dealing with these eight French breeds, see for more details Maignel *et al.* 1996; Moureaux *et al.* 2000; and Mattalia *et al.* 2006.

To compare the *ex situ* and *in situ* genetic variability of the breeds under study, we extracted the list of all the cryobank dairy cattle bulls (CBN) in the

Table 1 Demographic characteristics, pedigree depth and generation intervals (for parents born in 1998–2002) for the eight dairy cattle breeds under study

Breed	Code	No. of milk-recorded cows (2009)	Total size of the pedigree file	Size of the reference population (females) and pedigree depth (2004/2007)	No. of CBN bulls, pedigree depth and age in 2007	No. of active bulls, pedigree depth and age in 2007	Generation interval
Holstein	HOL	1 758 394	20 109 663	2 099 307/7.9	152/9.1/8.5	303/7.2/6.6	5.6
Montbéliarde	MON	407 223	3 322 397	450 214/7.1	105/6.5/8.4	92/6.5/7.2	6.2
Normande	NOR	247 200	3 501 019	329 272/8.3	165/7.5/9.0	41/7.3/6.9	6.0
Abondance	ABO	22 031	182 230	18 910/5.5	48/5.3/8.0	13/5.3/7.8	7.0
Brown Swiss	BSW	17 606	156 533	19 266/5.8	25/5.3/7.6	9/5.6/7.8	6.5
French Simmental	SIM	15 308	170 565	18 383/5.3	–	20/4.6/7.1	5.7
French Red Pied	FRP	9915	144 565	11 271/5.9	–	8/5.0/7.9	6.5
Tarentaise	TAR	7284	73 937	6594/5.5	53/4.8/8.5	15/4.7/8.4	7.5

cryobank database till January 2009. To push further the genetic variability analysis, we sampled from the SIG database a population of active males (AM) with the following criteria: each bull had to be born in France; both parents of the bull were known; each bull had doses sold by a French breeding company during the 2005/2007 period. Some bulls can be part of both male populations, that is, CBN and AM. The average age in 2007 of the male reference populations (CBN and AM) was also calculated.

Analysis of genetic variability

Using the PEDIG software (Boichard 2002, http://dga.jouy.inra.fr/sgqa/article.php?id_article=110), we estimated the genetic variability of each reference population and its evolution over time.

Pedigree depth and indicators computed from the theory of the probabilities of gene origin were analysed for a female reference population of animals (F_{ref}), that is cows born from 2004 to 2007 with both parents known, and for two male populations (AM and CBN). The principles of the methods are described in detail in Boichard *et al.* (1997), and a detailed view on how they can be applied to animal populations is available in several publications (e.g. Baumung & Sölkner 2002; Danchin-Burge *et al.* 2010).

Pedigree depth is described by the equivalent generation number (EqG_i) determined for each animal (i). The EqG for each population was computed as the mean of the EqG_i .

The generation intervals on the four pathways were estimated as the average birth year difference between parents born in the period 1998–2002 and their reproducing offspring, that is, offspring having themselves at least one offspring known in the data-

base. The average generation interval for each population is defined as the average of the four pathways (Lacy 1989).

A strong assumption of the whole data analysis is that all founders (i.e. animals with offspring and unknown parents) are non-inbred and non-related. The effective number of founders (f_c) and ancestors (f_a) and number of ancestors contributing the most for a cumulated expected contribution of 50% of the genes (N_{50}) as defined by Boichard *et al.* (1997) were calculated for the three reference populations (F_{ref} , AM and CBN). The f_c/f_a ratio can be used to appreciate the impact of the bottlenecks that have occurred from the founders to the present population (Boichard *et al.* 1997): the higher the f_c/f_a ratio, the more stringent the bottlenecks. The effective number of ancestors calculated on our female reference population will be compared with results calculated on female reference populations born in the periods 1988–91 (Maignel *et al.* 1996), 1993–96 (Moureaux *et al.* 2000) and 2000–03 (Mattalia *et al.* 2006) respectively.

The evolution of the contributions of the different original gene pools in breeds in which gene introgressions have occurred during a long period (HOL, BSW, SIM and FRP) or on a short period only (MON and ABO) was assessed by using the probability of gene origin and attributing a country or breed of origin to each founder. The contributions were calculated for all the females with two known parents born between 1980 and 2007 included, and averaged by birth year.

The coefficient of inbreeding of each animal in the file was computed by the method of Meuwissen & Luo (1992). The rate of inbreeding per generation (ΔF) was estimated using two methods. First, ΔF was computed on the basis of the classical formula (see, e.g. Falconer & Mackay 1996):

$$\Delta F = \frac{F_{t+1} - F_t}{1 - F_t}, \quad (1)$$

where F_t is the average coefficient of inbreeding at generation t . The values of F_t and F_{t+1} were computed by simply multiplying the average generation interval and the annual rate of inbreeding estimated by linear regression over time. In our case, $t + 1$ was chosen as the last birth year of our female reference population, that is, 2007.

Second, ΔF was computed with the method by Gutiérrez *et al.* (2009). For each animal (i) from the reference cow population, the individual rate of inbreeding from its founders (ΔF_i) was computed as follows:

$$\Delta F_i = 1 - \frac{EqG_i^{-1}}{\sqrt{1 - F_i}}, \quad (2)$$

where F_i is the coefficient of inbreeding of i and EqG_i is its individual equivalent generations traced as computed with Equation (1). The global rate of inbreeding (ΔF) was simply computed as the average of all individual rates of inbreeding (ΔF_i) of animals in the reference population.

The effective population size (N_e) was then computed for each breed with the two estimations of ΔF according to the classical formula:

$$N_e = \frac{1}{2\Delta F}. \quad (3)$$

A third N_e was computed based on the increase in coancestry following the method by Cervantes *et al.* (2011). Considering the coancestry c_{ij} between two individuals i and j , their increase in coancestry Δc_{ij} was calculated as follows:

$$\Delta c_{ij} = 1 - \frac{EqG_i + EqG_j}{2} \sqrt{1 - c_{ij}}. \quad (4)$$

As population sizes were too large to compute average coancestry on overall population, increases in coancestry were averaged over 100 000 pairs randomly sampled within each female reference population. Realized effective population size based on coancestries N_{ec} was then computed as follows:

$$N_{ec} = \frac{1}{2\Delta c}. \quad (5)$$

The coancestry coefficients within and between the three reference populations (F_{ref} , AM and CBN)

were computed and compared with the average coefficient of inbreeding (F) of the F_{ref} population. In addition, Wright's F -statistics (F_{IS}) were estimated for the F_{ref} population by considering expected heterozygosity as 1-coancestry and observed heterozygosity as $1 - F$ respectively (Leroy & Baumung 2011). F_{IS} values were therefore calculated as:

$$F_{IS} = 1 - \frac{(1 - F)}{(1 - coancestry)}. \quad (6)$$

Results

Pedigree depth

Table 1 shows the number of equivalent generations traced that ranges from 5.3 (SIM) to 8.3 (NOR). Such values are close to other studies in dairy cattle, e.g. 7.2 for the Danish Holstein (Sørensen *et al.* 2005), and around 4.0 for the Irish Simmental (McParland *et al.* 2007). Among the eight breeds under study, the highest increase in EqG in comparison with the first study by Maignel *et al.* (1996) was observed in the FRP breed (+108%). The differences in EqG for this breed over the 1991/2007 period (equal to 3.1) are actually higher than the expected number of generations spent in the time period (equal to 2.5). This raise is undoubtedly because of the completion of pedigrees with information from other countries. For a given breed, the EqG found for the males are always lower than the ones for the female breed populations (Table 1) with the exception of the CBN males for the HOL breed. This result is mostly explained by the average birth date of the different populations, which is lower for the male populations. The generation lengths varies from 5.6 (HOL) to 7.5 (TAR). They are the highest for the two French regional breeds (ABO and TAR).

The CBN bulls are older than the AM bulls in the HOL, MON and NOR breeds (cf. Table 1). It is probably due to the fact that the dairy cattle collection was started as soon as 2001 with samples from these three breeds.

Probabilities of gene origin

Table 2 shows the results of different criteria derived from the theory of the probabilities of gene origin. For all the populations under study, the f_e , f_a and N_{50} can be considered as small and the contribution of the major ancestor as large when compared with other breeds under selection with similar pedigree depth such as sheep breeds (EqG between 4.6 and 8.1 in Danchin-Burge *et al.* 2010) or beef cattle

Table 2 Analysis of the probabilities of gene origin for three categories of reference populations with both parents known: F_{ref} = female born between 2004 and 2007, AM = active males and CBN = cryobank males

Breed	Total no. of founders	Effective no. of founders (f_e)	Effective no. of ancestors (f_a)	Ratio f_a/f_e (%)	Contribution of the top ancestor	No. of top contributing ancestors accounting for 50% of the genes (N_{50})
HOL F_{ref}	662 093	82	21	26	12.8	8
HOL AM	868	67	14	21	13.2	5
HOL CBN	1925	102	15	15	14.5	5
MON F_{ref}	132 874	65	19	29	15.1	7
MON AM	528	57	14	25	16.2	5
MON CBN	539	51	15	29	18.3	6
NOR F_{ref}	106 206	81	23	28	11.8	8
NOR AM	398	69	16	23	15.6	6
NOR CBN	608	71	20	28	12.6	7
ABO F_{ref}	9208	41	15	37	18.1	5
ABO AM	111	20	8	40	26.2	3
ABO CBN	215	26	10	38	23.5	4
BSW F_{ref}	7292	79	28	35	11.7	11
BSW M	132	43	11	26	16.7	3
BSW CBN	206	55	18	33	13.8	7
SIM F_{ref}	7623	117	39	33	8.4	14
FRP F_{ref}	5210	209	51	24	5.9	18
TAR F_{ref}	3246	41	15	37	15.7	5
TAR AM	140	29	11	38	18.1	4
TAR CBN	260	33	12	36	16.1	4

HOL, Holstein; MON, Montbéliarde; NOR, Normande; ABO, Abondance; BSW, Brown Swiss; SIM, French Simmental; FRP, French Red Pied; TAR, Tarentaise.

breeds (EqG equal to 5.5 for the Limousin breed in Mc Parland *et al.* 2007). They are of the same magnitude as results from other studies on dairy cattle breeds (Sørensen *et al.* 2005).

Table 2 shows that the highest value of N_{50} (18 for the FRP) is not found for the biggest reference population (which is the HOL breed), while the FRP is the second smallest breed according to Table 1. The male populations, both *in situ* and *ex situ*, have lower results in terms of probabilities of gene origins than the female reference populations. However, the ratio between the variability genetic indicators for the female and male populations is much smaller than the ratio between the female and male populations size.

These results clearly suggest that a demographic parameter as simple as the actual population size of a breed is not enough to explain or predict the amount of genetic variability. The comparison between the male and female populations strongly suggest that the impact of AI on these breeds is so high that in the long run, the genetic variability of the female population is almost a reflection of the genetic variability of a much smaller population, which is constituted by the AI bulls. In the case of the BSW breed, there is a bigger gap between the f_a

of the male and female populations than for the other breeds. It is probably due to the fact that farmers are also using AI bulls that are not selected in France, and therefore are not part of the CBN or the AM samples, which leads to more diversity in the female population. On the other hand, the extremely narrow basis of the male population of the ABO breed is noticeable and could lead to a reduction of the genetic variability of the female population.

Since the 80s, the values of f_a and N_{50} have decreased – sometimes drastically – for all breeds save for the SIM and the BSW (Figure 1). Both parameters (N_{50} and f_a) are not exactly of the same nature and, comparisons should be done intracriteria. As an example, N_{50} is more sensitive to the size of the reference population (Boichard *et al.* 1997). From the 1988–91 to the 2004–07 period, the N_{50} was reduced by 53% in the NOR, 65% in MON and 72% in HOL. As for the f_a , it was reduced approximately by 40% in the ABO and NOR, 50% in the HOL and 70% for the MON. The TAR limited the loss of its already narrow genetic variability to 10%. The case of the FRP is somewhat different as the pedigree knowledge of the breed has risen considerably between the 1988–91 period and the following

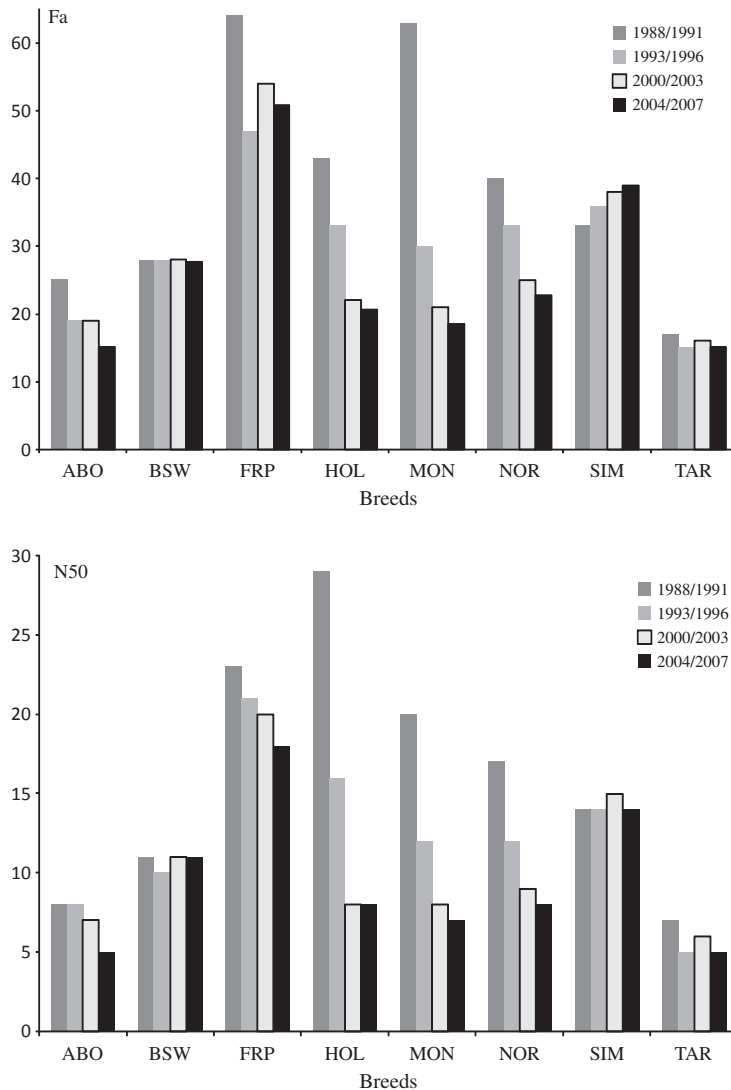


Figure 1 Effective number of ancestors (f_a) and number of top contributing ancestors accounting for 50% of the genes (N_{50}) over four different birth periods for the female reference population.

ones, thanks to the importation of new pedigrees for the breed in the SIG database. Results should be compared within the last three periods only.

The ABO, BSW, FRP and SIM breed have equivalent pedigree depth and current population size (Table 1) and therefore, the criteria we obtained based on their pedigree information is comparable without bias. The ABO appears (Table 2 and Figure 1) as the breed that suffered the worst loss of genetic variability and that has the narrowest base – along with the smallest dairy breed under study, the TAR. On the contrary, the results obtained in BSW, FRP and SIM show the highest values of the different indicators of genetic variability. When looking at

the influence of various countries or breeds of origins over time (Figure 2), we have some explanations on the differences found between these four breeds. The ABO shows a specific scenario with the introgression of Red Holstein genes in the late 80s and early 90s, with the proportion of Red Holstein genes reaching the maximum value of 6.7% in 1992, then a constant decrease in this value (2.2% in 2007). As for the MON, the maximum proportion of Red Holstein genes was reached in 1990 (5.8%) and is decreasing very slowly over the years since. Unlike what happened in the ABO breed, there is not a specific policy to eradicate the Red Holstein genes in the MON breed.

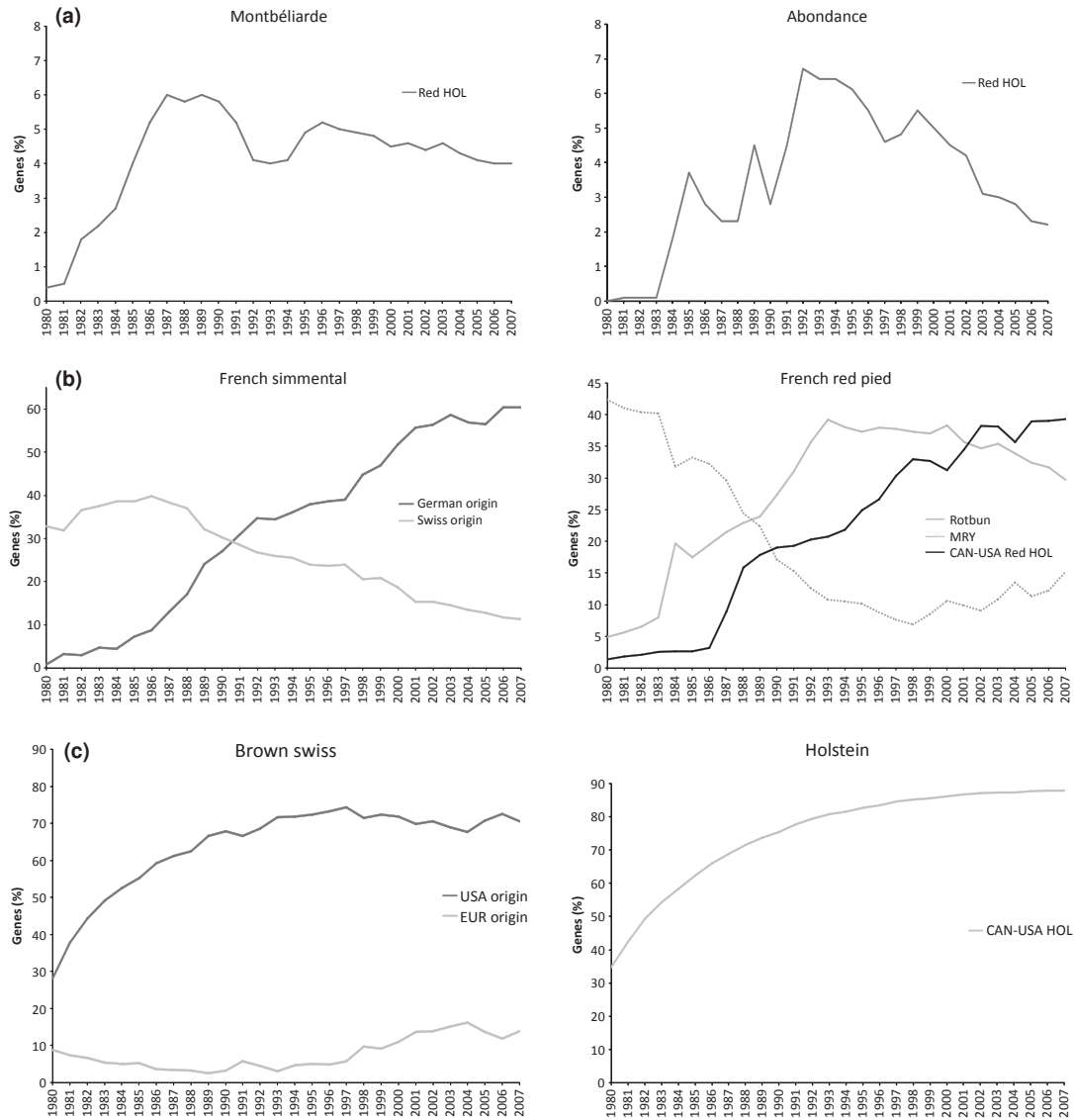


Figure 2 Change in the genes origin for the Abondance, Montbéliarde (a), French Red Pied, French Simmental (b), Holstein and Brown Swiss breeds (c) for the females born with two parents known.

The SIM, FRP breeds and to a lesser extent, the BSW breed alternated the stocks of origin of the introgressed genes along the years (Figure 2). Among the external origins that influenced the FRP breed, the Meuse-Rhine-Yssel breed (MRY) was the first used. Figure 2 clearly shows that the influence of the MRV went down as the influence of the Rotbun breed (from Germany) went up in the 90s, to be progressively replaced by the Red Holstein breed (from the United States). The FRP appears now as a composite breed with external genes originating from the US Red Holstein (40%), the Rotbun (30%) and the MRV (15%) breeds. As for the SIM, the first

influence was the Swiss strain, which was progressively replaced by the German strain. In the case of the BSW, it was thought in the 90s that the original European Brown Swiss genes were going to be replaced completely by US and Canadian genes. However, since 1997, the percentage of European genes is steadily growing while the North American genes are stabilizing.

As for the HOL, the percentage of North American genes in the French population is following an asymptotic curve, which is the typical profile of any population where the males used are 100% from another origin.

Inbreeding, effective population size and kinship

For all breeds, the effective population size calculated from the rate of inbreeding estimated by the Gutiérrez method is always higher than the one estimated by the classical approach (Figure 3). The discrepancy is growing as the pedigree depth increases, with the exception of the FRP that shows the smallest difference (+23%) after the SIM (+15%) while it is the 6th breed by the value of its pedigree depth. Our belief is that discrepancy is explained by the fact that this breed is the one that gained the most pedigree information since 1980 (+142% between 1980 and 2007, results not shown). On the other hand, the N_{ec} calculated by the Cervantes method is always smaller than the one calculated by the Gutiérrez method, with the exception of the HOL. The comparison between the N_e calculated by the Cervantes method and the classical method shows no tendency.

With the classical approach, five breeds have an effective population size around 50 or lower, which means that they can be considered to be at risk according to the FAO recommendations (FAO, 1998). The picture is not as dark when considering the N_e calculated with the Gutiérrez or the Cervantes method, and the breeds are not ranked the same except for the breeds with the more genetic diversity, that is, the FRP, SIM and BSW. With the classical approach, the ABO is the breed with the lowest N_e , followed by the TAR, then the MON, HOL and

NOR breeds (Figure 3). Differences between methods, as already observed in the case of two horse breeds by E. Verrier *et al.* (2011, Unpublished data), are because of the properties of each estimator. The classical method is calculated on a fixed period (with eventual biases because of the choice of the period) while the Gutiérrez approach takes into account the whole pedigree knowledge (with eventual biases because of the disequilibrium in the pedigree knowledge of the sire and dam pathways).

Table 3 shows the average coefficients of kinship computed between the different reference populations. The highest kinship value for the F_{ref} populations is found for the NOR (5.1%), MON (5.0%) and TAR (4.9%) breeds. The value calculated for this last breed is lower in comparison with the NOR and MON breeds, probably because of its lower EqG . The FRP and SIM breeds have the lowest F_{ref} kinship values (respectively 1.9 and 2.3%). As for the parameters of probability of gene origin, the results found from the female populations are quite close to the ones found for the male populations. Also, the kinship between AM is always higher than the kinship between CBN males. This result would lead us to believe that the Cryobank managed to preserve some of the male genetic variability of the dairy cattle breed, by sampling original bulls according to differences in their pedigrees or their extreme index values, despite of the small size of the collection in some breeds. Finally, as shown in Table 3, all the F_{IS} values are negative, which would imply that there is

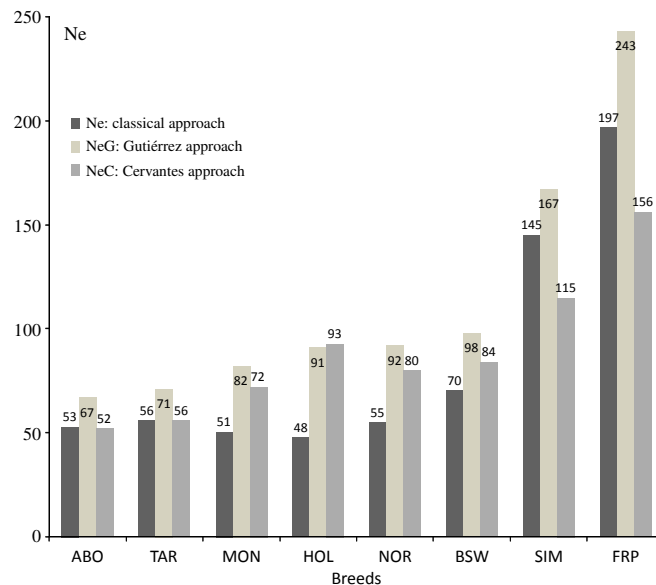


Figure 3 Values of N_e calculated with three different methods for eight French dairy cattle breeds, by growing N_e (Gutiérrez method).

Table 3 Average inbreeding level (F) and Wright's F -statistics (F_{IS}) in the female reference population

Breed	F	F_{IS}	K					
			$F_{ref}^*F_{ref}$	$F_{ref}^*C_{BN}$	F_{ref}^*AM	$C_{BN}^*C_{BN}$	AM^*AM	AM^*C_{BN}
Holstein	3.8	-0.003	4.1	4.7	5.0	6.4	6.6	5.8
Montbéliarde	3.8	-0.013	5.0	5.2	5.2	5.9	6.4	5.8
Normande	4.0	-0.012	5.1	5.3	5.6	5.6	6.4	5.9
Abondance	3.7	-0.010	4.7	6.4	6.6	7.5	9.3	9.0
Brown Swiss	2.6	-0.009	3.5	4.0	4.5	4.7	5.7	6.3
French Simmental	1.4	-0.009	2.3	-	2.3	-	2.8	-
French Red Pied	1.1	-0.008	1.9	-	2.2	-	2.0	-
Tarentaise	3.4	-0.016	4.9	5.1	5.3	5.3	5.9	6.4

Average coefficient of kinship (K) between and within the female reference populations (F_{ref}) and the male populations (C_{BN} and AM). All F and K values are given in %.

no substructure in the different breeds (no Wahlund effect).

Discussion

At a time where dairy selection is undergoing a revolution with the genomic selection, it was appropriate to assess the genetic variability of the main French cattle breeds. Since the first assessment of these breeds' genetic variability (Maignel *et al.* 1996), a French National Cryobank has been set up as a way to secure the genetic variability of our selected breeds. This article is also an opportunity to compare the genetic variability of the *ex situ* and *in situ* populations and see whether the sampling used for the Cryobank is a successful method to preserve the genetic diversity of these breeds.

Various studies were published on the genetic variability of livestock species (on sheep: Danchin-Burge *et al.* 2010; on beef cattle: Gutiérrez *et al.* 2003; *etc.*). Some studies are specifically dedicated to dairy cattle (Baumung & Sölkner 2003; Koenig & Simianer 2006; Mc Parland *et al.* 2007; Sørensen *et al.* 2005; *etc.*). However, most of them are restricted to the analysis of inbreeding. Yet Boichard *et al.* (1997) as well as Baumung & Sölkner (2003) warned about the sensitivity of this parameter to incomplete pedigrees. Boichard *et al.* (1997) estimated that 10% incomplete data were enough to strongly underestimate inbreeding. According to the same study, the advantage of the theory of the probability of gene origin to assess the genetic variability of a breed is its robustness in comparison with methods based on probability of identity computation (inbreeding). Another way to limit bias because of incomplete data is to compare breeds based on their inbreeding rates or, even better, their rate of coancestry. The results found by the Gutiérrez (inbreed-

ing rates) and Cervantes (coancestry rates) methods are showing some discrepancies. The smallest differences are found for the biggest breeds (HOL, MON and NOR) and could probably be explained by their larger size. Under the assumption of random mating with an infinite population size in equilibrium, inbreeding and coancestry are equal. In the case of smaller populations, in random mating conditions, the percentage of mating between related animals (such as full sibs) is increased. Therefore, any efforts from the farmers to avoid mating between related animals have an impact that can be traced by a growing difference (as the number of reproducers decreases) between average coancestry and inbreeding, such as what is recorded for the SIM and FRP mostly.

The first assessment of the genetic variability of these eight French-selected dairy cattle breeds was already stating the narrow basis of these breeds (Maignel *et al.* 1996). This statement is shared worldwide for dairy cattle breeds where AI is used as the main way of reproduction and where the amount of AI doses per bull reaches easily thousands, or even the tens of thousands for the HOL breed. On the basis of these preliminary results, implementations of procedures to minimize inbreeding in sire evaluation programmes (Meuwissen 1997; Colleau *et al.* 2004) were developed. As there is a global awareness of the dramatic loss of genetic variability of these breeds, it is usually assumed that the setting up of specific genetic programmes (such as 'VAR-GEN' *VARIabilité GENétique* – genetic variability – a French programme based on the Colleau *et al.* 2004 method) has slowed down the process. As we have just seen, in the light of our results, there is every reason to believe that the genetic variability of our main dairy cattle breeds is still quickly eroding, with the exception of three breeds (BSW, FRP, SIM).

One explanation of the loss of genetic variability monitored in the NOR, HOL, MON, ABO and TAR breeds is the simple fact that their pedigree information was built up over the years. However, it cannot be the only explanation as the loss monitored in the three remaining breeds (BSW, SIM, FRP) is not as stringent. Furthermore, Baumung & Sölkner (2003) showed that when the equivalent generation level reached a level of 5, an increase in the pedigree information has a small impact on inbreeding evaluation. A more likely explanation would be that the drastic bottlenecks created in the 90s, with the massive use of a single or a few AI bulls (e.g. BOISLEVIN in the MON breed who sired 46% of the progeny bulls born in 1993 and 1994 or DIAMETRE in the NOR breed who sired 45% of the progeny-tested bulls born in 1994 and 1995 – Le Mezeu 2010), are still having side effects, as these bulls are now the grandfathers or the great-grandfathers of most AI bulls used today. Also, it was expected that the VARGEN program would have long-term effects: the first generation of AI bulls created with this mating plan is only now being used, which means that their offspring were not included in the population under study.

The better results monitored for the BSW, FRP and SIM breeds are multifactorial. These breeds are using AI bulls from various origins and countries, and each breeding programme in the different country have their specificities, which is not the case anymore for the HOL breed for example. As an example, for the BSW, it was expected that following what was happening with the Dutch Friesian that got completely introgressed by the North American Holstein (Vollema & Groen 1996), the breed would become a North American Brown Swiss. Our results show that as today this is not the case. Also, all these breeds went through major change of orientations over the years, as we saw previously (Figure 2), which favoured their genetic variability. The important factor is to alternate gene origins without forcing the elimination of genes of a particular origin. As an example in the ABO breed, in the 90s, Red Holstein genes were introgressed to increase the production level and genetic variability of the breed (Figure 2). However, the presence of half-bred bulls was not well accepted by the farmers of the breed, which led a few years later to the riddance of all AI bulls with Red Holstein genes. By doing so, another bottleneck was created in a breed that already had a narrow genetic variability, leading to the low results described in this article.

Outcrossing with other breeds is often offered as way to solve inbreeding effects in a finite population (Blöttner *et al.* 2011). However, it will imply a very difficult organization, with a rotation on several breeds and finding ways to keep purebred nucleus flocks. Also, we just showed that all French-selected dairy breeds have quite a low genetic variability, and such results are probably identical in other dairy cattle breeds. The outcross population would be inbred quite rapidly (if no specific managements that include loss of genetic diversity as an integrated control parameter are implemented), all the more so since lot of dairy cattle breeds have used the Holstein breed to increase their dairy performance, as we showed in the FRP or ABO breed. Another way out is using the large array of existing tools to preserve genetic variability, which goes from following quite simple demographic rules all the way to quite sophisticated optimization methods (Colleau *et al.* 2004).

Finally, we showed that the sampling method used for the French National Cryobank is quite efficient despite the fact it is a fairly new tool, as all collections have a lower kinship with female than the AM * female kinship (Table 3). However, this kinship is quite higher than the kinship of the female population, which could be already considerate as high, so it seems crucial to protect the last straws from old AI bulls that might still exist as already stated in Danchin-Burge *et al.* (2011).

We have shown that the indicators of genetic variability of our eight main dairy cattle breeds have decreased drastically since the first study (1996) that was carried out on the subject, with the exception of three breeds that have recently stabilized their indicators. Given the clarity of these results, there is every reason to believe that the main bottlenecks that were created in the 90s still have a negative impact on the population of cows that was recently born (2004/2007). On the other hand, it appears likely that by varying the origins of their AI bulls, the Brown Swiss, the French Red Pied and the French Simmental breeds have slowed down the process. We are also presently convinced that the effects of the VARGEN management plan cannot yet be assessed, as the offspring of the first AI bulls created by this programme were born after the population under study.

With the classic selection schemes, the genetic values of the progeny-tested bulls were known very precisely, but this accuracy had a high financial cost. For these reasons, lots of doses were sold for a few bulls, the 'stars' of the progeny testing programmes.

With the arrival of genomic selection, farmers have now access to a wider panel of bulls, whose genetic values are not as accurate as for the classic schemes. In some cases, farmers are buying a 'pack' of sires for which the individual breeding values are not made available to farmers, which should therefore limit the popular sire effect and limit the creation of new bottlenecks.

Acknowledgements

The authors wish to thank the staff and the breeders of the different breed associations for their insight on the history and management of their breeds. We are also grateful to the editor and three anonymous referees for helpful comments on the manuscript.

References

- Baumung R., Sölkner H. (2002) Analysis of pedigrees of Tux-Zillertal, Carinthian Blond and Original Pinzgau cattle population in Austria. *J. Anim. Breed. Genet.*, **119**, 175–181.
- Baumung R., Sölkner J. (2003) Pedigree and marker information requirements to monitor genetic variability. *Genet. Sel. Evol.*, **35**, 369–383.
- Blöttner S., Heins B.J., Wensch-Dorendorf M., Hansen L.B., Swalve H.H. (2011) Brown Swiss × Holstein cross-breeds compared with pure Holsteins for calving traits, body weight, backfat thickness, fertility, and body measurements. *J. Dairy Sci.*, **94**, 1058–1068.
- Boichard D. (2002) PEDIG: a fortran package for pedigree analysis suited for large populations. In: Proceedings of the 7th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier (France), 19–23 August 2002, CD-Rom, comm. no 28–13, Montpellier, France.
- Boichard D., Maignel L., Verrier E. (1997) Value of using probabilities of gene origin to measure genetic variability in a population. *Genet. Sel. Evol.*, **29**, 5–23.
- Cervantes I., Goyache F., Molina A., Valera M., Gutiérrez J.P. (2011) Estimation of effective population size from the rate of coancestry in pedigreed populations. *J. Anim. Breed. Genet.*, **128**, 56–63.
- Colleau J.J., Moureaux S., Briend M., Béchu J. (2004) A method for the dynamic management of genetic variability in dairy cattle. *Genet. Sel. Evol.*, **36**, 373–394.
- Danchin-Burge C., Verrier E., Moureaux S., Tixier-Boichard M. (2006) Sampling protocols and review of the French national cryobank collections. In: Proceedings of the 8th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production, Belo Horizonte MG, (Brazil), 13–18 August 2006, CD-Rom, comm. no 33-3 Belo Horizonte MG, (Brazil).
- Danchin-Burge C., Palhière I., François D., Bibé B., Leroy G., Verrier E. (2010) Pedigree analysis of seven small French sheep populations and implications for the management of rare breeds. *J. Anim. Sci.*, **88**, 505–516.
- Danchin-Burge C., Hiemstra S.J., Blackburn H. (2011) Ex situ conservation of Holstein-Friesian cattle – comparing the Dutch, French and USA germplasm collections. *J. Dairy Sci.*, **94**, 4100–4108.
- Falconer D.S., Mackay T.F.C. (1996) Introduction to Quantitative Genetics, 4th edn. Longman's Green, Harlow, Essex, UK.
- FAO (1998) Secondary Guidelines for Development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans. FAO, Rome, Italy. pp. 63.
- Gutiérrez J.P., Altarriba J., Díaz C., Quintanilla R., Cañón J., Piedrafita J. (2003) Pedigree analysis of eight Spanish beef cattle breeds. *Genet. Sel. Evol.*, **35**, 43–63.
- Gutiérrez J.P., Cervantes I., Goyache F. (2009) Improving the estimation of realized effective population sizes in farm animals. *J. Anim. Breed. Genet.*, **126**, 327–332.
- Kim E.S., Kirkpatrick B.W. (2009) Linkage disequilibrium in the North American Holstein population. *Anim. Genet.*, **40**, 279–288.
- Koenig S., Simianer H. (2006) Approaches to the management of inbreeding and relationship in the German Holstein dairy cattle population. *Livest. Sci.*, **103**, 40–53.
- Lacy R.C. (1989) Analysis of founder representation in pedigrees: founder equivalents and founder genome equivalents. *Zoo Biol.*, **8**, 111–123.
- Le Mezec P. (2010) *Utilisation des ressources paternelles et maternelles dans les programmes de sélection des races montbéliarde, normande et prim'holstein*. Période 1996–2008. Institut de l'Élevage, Paris, France.
- Leroy G., Baumung R. (2011) Mating practices and the dissemination of genetic disorders in domestic animals, based on the example of dog breeding. *Anim. Genet.*, **42**, 66–74.
- Maignel L., Boichard D., Verrier E. (1996) Genetic variability of French dairy breeds estimated from pedigree information. *Interbull Bull.*, **14**, 49–54.
- Mattalia S., Barbat A., Danchin-Burge C., Brochard M., Le Mézec P., Minéry S., Jansen G., Van Doormaal B., Verrier E. (2006) La variabilité génétique des principales races bovines laitières françaises: quelles évolutions, quelles comparaisons internationales? *Renc. Rech. Rum.*, **13**, 239–246.
- Mc Parland S., Kearney J.F., Rath M., Berry D.P. (2007) Inbreeding trends and pedigree analysis of Irish dairy and beef cattle populations. *J. Anim. Sci.*, **85**, 322–331.
- Meuwissen T.H.E. (1997) Maximizing the response to selection with a predefined rate of inbreeding. *J. Anim. Sci.*, **75**, 934–940.

- Meuwissen T.H.E., Luo Z. (1992) Computing inbreeding coefficient in large populations. *Genet. Sel. Evol.*, **24**, 305–313.
- Moureaux S., Boichard D., Verrier E. (2000) Utilisation de l'information généalogique pour l'estimation de la variabilité génétique de huit races bovines françaises d'extension nationale ou régionale. *Renc. Rech. Rum.*, **7**, 149–152.
- Philipsson J., Forabosco F., Jakobsen J.H. (2009) Monitoring sustainability of international dairy breeds. *Interbull Bulletin*, **40**, 287–291.
- Sørensen A.C., Sørensen M.K., Berg P. (2005) Inbreeding in Danish dairy cattle breeds. *J. Dairy Sci.*, **88**, 1865–1872.
- Van Doormaal B., Miglior F., Kistemaker G., Brand P. (2005) Genetic diversification of the Holstein breed in Canada and internationally. *Interbull Bull.*, **33**, 93–97.
- Vollema A.R., Groen A.F. (1996) Genetic correlations between longevity and conformation traits in an upgrading dairy cattle population. *J. Dairy Sci.*, **80**, 3006–3014.

c) Variabilité génétique *in situ* et *ex situ* des bovins allaitants, comparaison avec les bovins laitiers

Un bilan équivalent à ce qui a été fait avec les races bovines laitières a été réalisé pour les races Blonde d'Aquitaine, Charolaise et Limousine, qui sont les trois principales races bovines allaitantes en France (FGE, 2011). Des indicateurs de variabilité génétique ont été calculés pour la population femelle *in situ* et pour les taureaux disponibles dans les collections de la Cryobanque. Ils sont ensuite comparés avec ceux des races bovines laitières.

Les critères démographiques des populations femelles des races Blonde d'Aquitaine, Charolaise et Limousine sont décrits dans le Tableau 9.

Tableau 9 : Caractéristiques démographiques, connaissance des généalogies et intervalles de générations, (pour des parents nés entre 1998–2002) pour les trois races majeures bovines allaitantes françaises

Race	Nombre de vaches contrôlées	Taille totale du fichier	Population de référence 2004/2007 et qualité des généalogies	Intervalle de génération
Blonde d'Aquitaine BLO	156 161	2 826 936	303 459 / 5,7	6,1
Charolaise CHAR	376 900	20 624 046	746 371 / 7,8	5,8
Limousine LIM	242 586	12 117 888	436 918 / 7,8	6,0

Les populations femelles de référence ont des tailles équivalentes à celles des races Montbéliarde et Normande, mais avec des généalogies un peu moins bien connues.

Nous avons calculé les indicateurs classiques liés à la théorie de la probabilité d'origine des gènes pour les femelles de référence et les taureaux en Cryobanque (Tableau 10).

Tableau 10: Analyse de la probabilité d'origine des gènes pour deux populations de référence avec deux parents connus : F_{ref}= femelles nées entre 2004/2007, CBN= mâles de la cryobanque

Race	Nbre total de fondateurs	Nbre effectif de fondateurs (f_e)	Nbre d'ancêtres efficaces (f_a)	Ratio f_a/f_e	Contribution de l'ancêtre principal	No. d'ancêtres contribuant pour 50% des gènes (N_{50})
BLO F _{ref}	104 632	194	78	40%	6,8	55
BLO CBN	510	95	34	36%	9,5	14
CHAR F _{ref}	219 760	581	249	43%	2,7	149
CHAR CBN	3 166	259	42	16%	8,6	18
LIM F _{ref}	114 728	696	185	27%	3,4	121
LIM CBN	1 039	312	42	13%	5,7	18

Pour les populations femelles, les indicateurs sont largement supérieurs à ceux calculés pour les races bovines laitières et cette différence ne peut pas être expliquée seulement par des généalogies moins bien connues. Importance des tailles de population et taux limité d'utilisation de l'IA (plafonné à 13%, FGE 2010) sont les facteurs explicatifs de cette diversité. A noter que la race Blonde d'Aquitaine présente des critères légèrement moins bons, dus à de forts goulets d'étranglement à l'époque de la création de la race (Bouquet *et al.*, 2009). En revanche, les taureaux des collections ont des valeurs d'indicateurs bien plus faibles et ils ne représentent qu'une mince fraction de la diversité présente *in situ*.

Tableau 11: Niveau de consanguinité moyen (F) de la population femelle de référence (F_{ref}). Niveau moyen de parenté (Φ) intra population et entre la F_{ref} et les taureaux en Cryobanque (CBN). Toutes les valeurs de F et Φ sont données en %.

Race	F		Φ		
	F _{ref}	CBN	F _{ref} *F _{ref}	F _{ref} * CBN	CBN*CBN
Blonde d'Aquitaine	1,29	2,15	1,20	2,02	3,67
Charolaise	0,49	0,64	0,50	0,32	1,53
Limousine	0,65	1,06	0,40	0,74	1,23

Pour les critères issus de la probabilité d'identité des gènes (Tableau 11), les races allaitantes montrent encore une variabilité de la population active femelle très élevée, en particulier en regard des bovins laitiers. De plus, et contrairement à la race Prim'Holstein (cf. Danchin-Burge *et al.*, 2011), les races Charolaise et Limousine disposent de réservoirs de diversité dans les différents pays où elles ont été exportées puis sélectionnées, ces pays ayant réalisé leur propre sélection à partir d'ancêtres majeurs différents de ceux des animaux élevés en France (Bouquet *et al.*, 2011).

En corollaire, les collections de la Cryobanque ne sont représentatives que d'une faible partie de la population active comme le montre aussi bien le nombre d'ancêtres efficaces, le niveau moyen de consanguinité ou encore la parenté des mâles en collection. De plus, alors que ces populations sont globalement peu apparentées, ce qui permet la procréation d'animaux peu consanguins, il semble que les mâles en collection soient assez apparentés entre eux. En race Limousine et Charolaise, le différentiel entre niveau de consanguinité et apparentement des taureaux est assez révélateur. Le noyau de sélection à partir duquel les taureaux d'IA (et donc les candidats potentiels pour la Cryobanque) sont sélectionnés est très restreint par rapport à la

population totale et a tendance à fonctionner sans s’approvisionner de souches déconnectées, comme ont pu le montrer Bouquet *et al.* (2009).

En conclusion, les races bovines allaitantes bénéficient d’un important réservoir de variabilité. Mais il semble bien que ce réservoir n’est pas mis à profit dans le cadre des programmes fournissant les taureaux d’insémination, dont la base de sélection demeure étroite. Il s’agit là d’une situation ancienne, qui a de multiples raisons, y compris sociales. Si le taux de pénétration de l’insémination venait à augmenter fortement dans cette filière, il est probable que ce problème se résoudrait de lui-même. Quoi qu’il en soit, une attention particulière devrait être apportée à l’élargissement de cette base de sélection, notamment si seuls des taureaux certifiés devaient être utilisés (comme demandé dans le sous-amendement dit « Simon ⁴ » de la Loi d’Orientation Agricole, et donc issus des noyaux de sélection).

2. *Pour les races caprines*

a) **Introduction**

On peut distinguer trois groupes démographiques parmi les races caprines élevées en France :

- les races laitières en sélection, l’Alpine et la Saanen, avec des effectifs en centaine de milliers (respectivement 450 000 et 350 000), qui représentent à elles seules 95 % du cheptel caprin national.
- Deux races locales insulaires : le Cabri Créole de Guadeloupe et la race Corse. Le cheptel caprin de Guadeloupe est estimé entre 23 000 et 60 000 têtes (tous types d’animaux confondus), dont une part importante mais difficile à estimer précisément en race Créole (Jaquot-Gunnia, 2012). Les effectifs de la race Corse, quant à eux, sont estimés à 25 000 femelles.
- Les races locales continentales et l’Angora, qui ont des effectifs limités. Aujourd’hui les races reconnues par le Ministère chargé de l’agriculture sont la Chèvre des Fossés, la Chèvre du Massif Central, la Chèvre Provençale, la Chèvre des Pyrénées, la Poitevine et la Rove. Les effectifs de chacune de ces races sont inférieurs à 10 000

⁴ Sous-amendement N° 1089 présenté par MM. Simon, Lepercq, Chamard, Cosyns, Morel-A-L’Huissier et Marleix : Art. L. 653-7-1 – « D’ici 2015, les éleveurs de ruminants doivent acquérir uniquement des semences mâles certifiées de monte naturelle et/ou d’insémination artificielle. Un décret détermine les conditions d’enregistrement et de contrôle de l’utilisation de la voie mâle ainsi que le calendrier et les modalités d’application du présent article. »

animaux et ne dépassent souvent pas le millier (la Rove étant la race aux effectifs les plus importants dans ce groupe).

En dehors des deux races insulaires et de la race Rove, toutes les races disposent d'information généalogique, provenant des bases nationales gérées dans le cadre des SIG (système d'information génétique) ou de bases locales. Pour cette espèce, les stocks présents en Cryobanque sont très limités, en particulier pour les races en sélection car la quasi totalité des stocks sont utilisés par les éleveurs. C'est pourquoi nous n'avons pas procédé à une comparaison entre diversité disponible *in situ* et *ex situ*.

Dans un premier temps, nous nous sommes focalisés sur l'étude du groupe des races caprines en sélection, à savoir l'Alpine, la Saanen et l'Angora, afin, après avoir brièvement exposé leurs programmes de sélection, de réaliser un bilan de leur diversité. Par la suite, nous avons calculé les mêmes indicateurs pour les races caprines en conservation.

b) Article : « Genetic variability and French breeding programs of three goat breeds under selection »



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Small Ruminant Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/smallrumres

Genetic variability and French breeding programs of three goat breeds under selection

C. Danchin-Burge^{a,b,*}, D. Allain^c, V. Clément^b, A. Piacère^b, P. Martin^d, I. Palhière^c^a INRA/AgroParisTech, UMR1313 GABI, 16 rue Claude Bernard, F-75231 Paris, France^b Institut de l'Elevage, 149 rue de Bercy, 75595 Paris 12, France^c INRA, UR631 Station d'amélioration génétique des animaux, BP 52627, 31326 Castanet-Tolosan, France^d CAPGENES, Agropole 2135 Route de Chauvigny, 86550 Mignaloux-Beauvoir, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 1 December 2011

Received in revised form 12 March 2012

Accepted 15 March 2012

Available online 14 April 2012

Keywords:

Genetic variability

Pedigree analysis

Dairy goat

Fiber goat

Selection

ABSTRACT

Pedigree analyses have been widely used to assess the genetic variability of livestock species, however, limited number of examples can be found for the goat species. France is one of the only countries in the world where collective goat selection is well implemented with successful breeding programs. This paper will briefly describe the French dairy goat and fiber goat selection schemes. It will present the results of a pedigree analysis, by using the PEDIG software, of two dairy goat breeds, the Alpine and Saanen, and a fiber goat breed, the Angora, in order to assess their genetic variability. The populations under study are large for the Saanen and Alpine (125,797 and 183,611 goats, respectively) and small (1271) for the Angora. The pedigree depth can be considered to be good (from 5.5 equivalent generations for the Angora to 7.8 for the Alpine). The effective number of ancestors is equal to 34, 46 and 51 for the Angora, Alpine and Saanen breeds respectively, while the effective population size varies between 76, 129 and 149 for the Angora, Saanen and Alpine breeds respectively. In the light of these results, in the case of the dairy breeds, there are reasons to believe that despite the fact that genetic variability has narrowed as an effect of 30 years of efficient selection, the specific management program implemented 10 years ago to maintain genetic diversity was successful. Meanwhile, for the Angora breed, the narrower genetic basis of the breed appears to be caused by its thin population basis as well as the small number of founders used at the start of the selection scheme. These results give us a good insight on the genetic variability of intensively selected populations as well as a direction on the programs that are efficient to keep a sustainable level of genetic variability.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

In the goat species, few selection programs are as organized as the ones that exist in the dairy cattle industry (Dubeuf and Boyazoglu, 2009). France is one of the leading

country for collective goat selection, with two distinctive programs: one fairly well known for the Alpine and Saanen breeds, which are selected for dairy production (Boichard et al., 1989; Belichon et al., 1999; Barillet, 2007) and another for the Angora breed which is selected for fiber production (Allain and Roguet, 2003, 2006). The French goat population of about 890,000 animals represents 7% of the European population while providing 23% of the European milk production (Institut de l'Elevage, 2010). The singularity of the French dairy goat industry is that the quasi totality of the production is transformed into high

* Corresponding author at: Institut de l'Elevage, 149 rue de Bercy 75595, Paris cedex 12, France. Tel.: +33 1 40 04 53 14; fax: +33 1 40 04 49 50.

E-mail address: coralie.danchin@idele.fr (C. Danchin-Burge).

quality cheeses, as that of protected designation of origin (PDO). Since the 1990s there has been a constant growth of the milk production (e.g. +25% between 2000 and 2009) and cheese consumption, even though consumption seems to have recently slowed down with a mere +5% growth between 2007 and 2009. A percentage of 38 of the goat milk production is coming from the Poitou-Charente region, however, almost all French regions have milk goat farmers. All these factors explain why the dairy goat selection is oriented firstly toward improvement of protein yield.

As for the Angora breed, the whole production is oriented toward a niche market for high quality products based on mohair wool. Producers control all the steps from the farm to the final consumer, as the entire French production is marketed directly by the farmers under a common trademark “Le Mohair des Fermes de France” (Allain and Roguet, 2003). In 2010, 16 tonnes of mohair are produced and sold – after being transformed by various artisans – by 140 farmers (<http://www.mohair-france.com/interpro-mohair-france/historique-filiere-mohair-france/>, 05/16/11).

Despite the success of these selection programs, there is little information available in the literature on how they are set up, as well as their impact on the genetic variability of the breeds under selection. The analysis of genetic variability of various species are easily available in the literature (for instance in French dairy cattle, Danchin-Burge et al., 2011, for sheep, Huby et al., 2003 and Danchin-Burge et al., 2010, for donkey, Rizzi et al., 2011 . . .), however, such indicators are scarce for dairy goats (Piacère et al., 2004) and null for the Angora breed.

The purpose of this article was (1) to briefly present the French dairy and fiber selection schemes, and (2) to perform an extended analysis of the genetic variability of the three breeds under selection, i.e. the Alpine, Saanen and Angora breeds, based on pedigree information, in order to make some recommendations on the orientation the selection schemes could take to preserve the breeds' diversity.

2. Material

2.1. Breeds under study

Only two breeds, namely the Alpine (ALP) and Saanen (SAA) breeds, represent 95% of the French dairy goat recorded population (Institut de l'Élevage, 2011). The history of these breeds is not clear and has not yet been fully documented. In France, the first attempts to standardize goat breeds are recent and quite poor in comparison with other species (Denis, 2009). An important factor that explains the current weight of the Alpine and Saanen breeds is the foot and mouth outbreak in the 1920s in the traditional dairy goat region, Poitou-Charentes, which almost wiped out the local breed, the Poitevine. The local farmers had an urgent need for lots of animals and those available in numbers were from the Alpine breed (French Alps) and, in somewhat lower numbers, from the Saanen breed (Swiss Alps). When the rationalization and intensification of the dairy goat industry started in the 1960s, the efforts from the dairy goat industry were put mostly on increasing the protein production by goat, whatever the dairy breed. At that time, the notions of pedigrees and standards were not as important as in other species. Apart from some nucleus herds well identified by the flock books as early as the 1950s, part of the dairy goat populations from the 1960s to 1970s were local breeds that were steadily introgressed by the Alpine and Saanen breeds (Danchin-Burge and Duclos, 2009). Today, the notion of purebred is carefully monitored in the nucleus herds, i.e. a purebred Alpine or Saanen goat must have less than 6.25% of its genes originating from a foreign breed.

The average herd size is around 145 goats (Institut de l'Élevage, 2010) for the two dairy breeds. There is a rough tendency for intensive housed production in the Poitou-Charentes region, where farmers sell their milk to the industry which transforms it into cheese, while in the other regions farmers are cheese transformers with a more extensive productions system. The number of goats under official milk recording in 2010 is equal to 386,121 goats in 2000 herds, with the Alpine breed representing 57% of the total numbers and the Saanen breed, 40% (Institut de l'Élevage, 2011). In 2009, 79,200 goats are inseminated, for a proportion of 59% for the Alpine breed versus 40% for the Saanen breed (Institut de l'Élevage, 2010). Whatever the breed, the AI rate in the overall population is quite low (9%), compared to the dairy cattle situation, but is higher in the recorded population (20%) and even higher in the selection tier (40%).

The Angora breed (ANG) was identified as early as the 15th century BC in the region of Ankara. The breed was selected for the quality of its long white fleece (Meyer et al., 1998). Some animals were imported in France as early as the 18th century but without success (<http://www.ansi.okstate.edu/breeds/goats/angora/>, Briggs, 1969). The story of the breed in France is quite contemporary and results from the importation that started in 1978 from various countries: USA (Texas more specifically), Canada, Australia, New Zealand and South Africa, which is the world leader in mohair production (Dubeuf et al., 2004). The first herds consisted of purebred animals or in some cases Alpine goats that were mated with Angora bucks. The first breeders decided to set up a collective organization which included a breeding scheme. It led to the creation of a small but successful French mohair industry. As of today, about 4000 animals are raised by 140 farms, and a group of 35 nucleus herds representing 2000 animals are part of the breeding program. Most nucleus farms are located in the Western and Southern parts of France. The average herd size is 50 goats; however, a large variation exists from 10 to 250 females per farm. Production systems are mostly semi-extensive or permanently housed production in order to increase the fiber quality of the fleece.

2.2. Breeding programs

The organization of the dairy goat industry can be traced back as early as the 1900s with the setting up of cooperatives mostly in the Poitou-Charentes region. Performance recording for milk production started as early as the 1960s. However, the selection scheme started to be efficient when AI became the main tool for creating genetic progress, which occurred in the 1980s when buck semen cryoconservation became fully operational. The first selection criterion implemented was protein yield. Protein and fat contents were introduced step by step up to the definition of a synthesis index for all milk production traits (Piacère et al., 2000). Since 1992, reproducers were evaluated using a BLUP animal model with repeatability (Boichard et al., 1992). In 2001, the model evolved to take into account heterogeneous variances.

As of today, conformation traits, and in particular udder traits, are appraised by classifiers on the basis of a linear scale with score from 1 to 9. A genetic evaluation, based on a multiple-trait animal model, provides estimated breeding values that have been used for over 10 years in the selection scheme. Some of these traits, in particular udder traits, have been included in a total merit index with production traits (Clément et al., 2006). The weighing of functional and production traits in this total merit index is different for the Alpine and Saanen breeds (Clément et al., 2006). Protein yield is the trait with the biggest weigh for both breeds.

The open selection nucleus counts 170,000 goats owned by about 800 breeders (for both breeds) who are members of Capgenes, the breeding organization responsible for the selection program. Around 5% of the goats are qualified as buck dams on the basis of their index and mated with the best AI sires. Each year, about 1200 planned matings are realized in order to obtain about 350 young bucks for both breeds. Among them, 200 males are selected to enter the AI station and after sanitary controls and semen production tests (Leboeuf et al., 2008), 70 bucks are progeny tested each year (40 for the Alpine breed, 30 for the Saanen breed). Their breeding values are estimated on the performances of at least 30 daughters (80–90 effectively). Finally, the best bucks according to their breeding value (between 30 and 40 for the ALP and SAA each year) will be made available to farmers through AI.

For the Angora breed, producers have their animals sheared twice a year and the fleece is sent to a cooperative to be processed and dyed, then returned to the farmer. Since the producer's contribution is evaluated according to the total weight of raw mohair adjusted for quality criteria such as scouring yield, fineness and kemp content, the setting-up

of a breeding program to improve the quality and quantity of the mohair is logical. The nucleus animals are evaluated at 18 months of age (male and female) for fleece weight, fiber diameter (ideally lower than 30 mm), absence of kemp and medullated fibers (Allain and Roguet, 2003) with an on-farm recording system where an expert appointed by Capgenes is responsible for the evaluation. Performance, pedigrees and reproduction data are all integrated in a national genetic database created in 1988. Breeding values are estimated on a national basis.

A buck testing station had been set up in 1995. About 30 bucks were tested on their individual fiber performances every two years. Their recruitment was based upon the breeding values of their parents and the males entered the station at one-year old. A six-month testing period was done, where each buck's fiber performances were evaluated. A culling rate about 20% was applied, and the selected bucks to be kept were sold to the nucleus farms. A total of 105 bucks were evaluated through the station. However the station was closed in the years 2000 because of new sanitary rules on scrapie. Angora breeders could not provide bucks that followed the new requirements.

Since 2002, a global breeding genetic evaluation within Capgenes Angora population is available. Each year Capgenes edits a list of all Angora bucks available for mating including their EBV values. This list is transmitted to all the nucleus farmers. Each farmer is then responsible for the creation of genetic progress of the breed since no specific mating is programmed by the association to create the next sire generation.

2.3. Management of the genetic variability

In the ALP and SAA breeds, planned matings between sires and dams (of future young bucks to be progeny tested) were traditionally determined on the basis of the relationships between reproducers, in order to minimize inbreeding. This was greatly facilitated by the possibility of using AI with frozen semen. In 2002, Capgenes asked help from INRA and Institut de l'Elevage to set up a specific plan to manage the genetic variability of the ALP and SAA breeds. As a consequence, a method based on genetic contributions was implemented from 2002 to 2005: AI bucks were selected within families (12 grand-sire families in each breed), the objective being to balance the contribution of each family at each selection step. From 2006 onwards, a more sophisticated method aiming at optimizing the rate of inbreeding under a given genetic gain (Colleau et al., 2004) was applied to the planned matings. The goal of this two-step procedure was to reduce the rate of inbreeding (compared to the previous management plan) without any loss of genetic gain.

In the Angora breed, there is no specific management of the genetic variability.

3. Methods

3.1. Populations under study

The study covers pedigrees obtained from the national milk recording database hosted by the INRA CTIG (Processing Centre of Genetic Information) for the ALP and SAA breeds, and the national database hosted by Capgenes for the Angora breed. The total datasets for the different breeds are described in Table 1.

Pedigree depth and estimation of genetic variability based on pedigree information are analyzed for a female reference population of animals (F_{ref}), i.e. goats born from 2006 to 2009 with both parents known, for the three breeds (Alpine, Saanen, Angora). Moreover, for the Alpine and Saanen breeds, the same estimators are calculated for a male reference population which consisted of the young bucks that entered the AI station and that were born from 2006 to 2009 (AI).

3.2. Demographic parameters

For the ALP and SAA breeds, we study the population of the young bucks that entered the AI station, whatever their final outcome: progeny tested or not, commercially sold or not. The evolution of the number of bucks, their sires and paternal grand sires is assessed between 1980 and 2009.

The generation intervals on the four pathways (sire–sire, sire–dam, dam–sire, dam–dam) are estimated as the average birth year difference between parents born in the period 1998–2002 and their reproducing offspring, that is, offspring having themselves at least one offspring recorded

in the database. The average generation interval for each population is defined as the average of the four pathways (Lacy, 1989).

3.3. Methods for estimating the genetic variability of the reference populations

By using the PEDIG software (Boichard, 2002), we estimate the genetic variability of each reference population and its evolution over time. The principles of the methods are described in detail in Boichard et al. (1997) and a detailed view on how they can be applied to animal populations is available in several publications (e.g. Danchin-Burge et al., 2010; Huby et al., 2003; Vosges and Distl, 2009).

Pedigree depth is described by the equivalent generation number EqG_i determined for each animal (i) as defined by Boichard et al. (1997). The EqG for each reference population is computed as the mean of the EqG_i .

A strong assumption of the whole data analysis is that all founders (i.e. animals with offspring and unknown parents) are non-inbred and non-related. The effective number of founders (f_e), ancestors (f_a), and number of the top contributing ancestors accounting for 50% of the genes (N_{50}) as defined by Boichard et al. (1997) are calculated for the F_{ref} and AI reference populations. The effective number of ancestors (f_a) is lower than the effective number of founders (f_e) and the comparison of both numbers can be used to appreciate the impact of the bottlenecks that have occurred from the founders to the present population (Boichard et al., 1997): the higher the f_e/f_a ratio, the more stringent the bottlenecks. Finally, the founder genome equivalents (N_g) are computed. f_e is always superior to f_a which is always superior to N_g .

For the Angora breed, the evolution of the contributions of the different original gene pools is assessed by using the probability of gene origin and attributing a country or breed of origin to each founder of the Angora breed. The founder animals are pure bred coming mainly from North America (Canada and USA, origin 1) and Australia (origin 2). A small proportion is coming from New Zealand and South Africa: their founder origins are pooled with the Australian animals for analysis purposes (origin 2). Since the number of pure bred animals was quite low, crossbred animals were created with the "alpine" (Alpine and Saanen) breeds (origin 3). Finally, some founders are from unknown origin (origin 4). The contributions are calculated for all the females with two parents known born between 1980 and 2009 included, and averaged by birth year.

The coefficient of inbreeding F_i of each animal in the file is computed by the method of Meuwissen and Luo (1992). The global inbreeding level (F) is simply computed as the average of all individual inbreeding (F_i) of animals in the reference populations. The rate of inbreeding (ΔF) is estimated by using the method by Gutiérrez et al. (2009). For each animal (i) from the reference population, the individual rate of inbreeding from its founders (ΔF_i) is computed as follows:

$$\Delta F_i = 1 - \sqrt[EqG_i]{1 - F_i} \quad (1)$$

where F_i is the coefficient of inbreeding of i and EqG_i is its individual equivalent generations traced as defined previously. The global rate of inbreeding (ΔF) is simply computed as the average of all individual rates of inbreeding (ΔF_i) of animals in the reference population. The effective population size (N_e) is then computed for each breed based on the female reference populations with the classical formula:

$$N_e = \frac{1}{2\Delta F} \quad (2)$$

A second N_e is computed based on the increase in coancestry following the method by Cervantes et al. (2011). Considering the coancestry c_{ij} between two individuals i and j , their increase in coancestry Δc_{ij} is calculated as follows:

$$\Delta c_{ij} = 1 - \sqrt[EqG_i + EqG_j]{1 - c_{ij}} \quad (3)$$

As population sizes are too large to compute average coancestry on overall population, increases in coancestry are averaged over 100,000 pairs randomly sampled within each female reference population. Realized effective population size based on coancestries N_{ec} is then computed as follows:

$$N_{ec} = \frac{1}{2\Delta c} \quad (4)$$

The kinship coefficients within and between the reference populations are computed and compared both to the average coefficient of inbreeding of the reference populations and the average coefficient of

Table 1

Demographic characteristics, pedigree depth and generation intervals (for the animals born in 1998–2002 and their reproducing offspring) for Alpine, Saanen and Angora breeds.

Breed	Code	Total size of the pedigree file	Size and pedigree depth of the female reference population	Size and pedigree depth of the AI male reference population	Generation interval
Alpine	ALP	1,827,363	183,611/7.8	465/8.3	4.1
Saanen	SAA	1,235,771	125,797/6.3	265/6.6	4.0
Angora	ANG	30,757	1271/5.8	/	4.2

kinship between their parents. Self-kinships are not included in the calculation of average kinships.

4. Results

4.1. Genetic progress

In dairy goat, genetic trends have been positive for all the production traits in both breeds (Belichon et al., 1999; Clément et al., 2003). For protein yield, genetic trend averages 0.4 kg/year for both breeds when estimated on the last 10 years (cf. Fig. 1). For this trait the gain is equivalent to 0.2 genetic standard deviation and the gain illustrates the efficiency of the selection scheme. Selection pressure applied to the selected animals contributes nearly 50% to the genetic trend. For milk, not included in the selection objective but highly correlated to protein yields (Belichon

et al., 1999), genetic progress is estimated to average 13 kg/year (Montaldo and Manfredi, 2002). Over the last 10 years, the genetic trend reaches nearly 13 kg/year for the Saanen breed, for a phenotypic trend of 14 kg.

The other traits have a moderate weight in the selection objective, therefore the genetic trend is lower. As an example, for fat content, genetic trend has been estimated to 0.05 g/kg/year (cf. Fig. 1) that corresponds to 0.03 genetic standard deviation.

For type traits, negatively correlated with yields, their introduction in the total merit index is very recent, leading only to a slight positive trend over the last three years.

For the Angora breed, genetic trend average is 0.1 µm for fineness, 0.02 kg for fleece weight and 0.1 pt for kemp medullation score when estimated on the last 10 years (Fig. 2). This gain is equivalent to 0.06, 0.04 and 0.06 genetic standard deviation for fineness, fleece weight and kemp

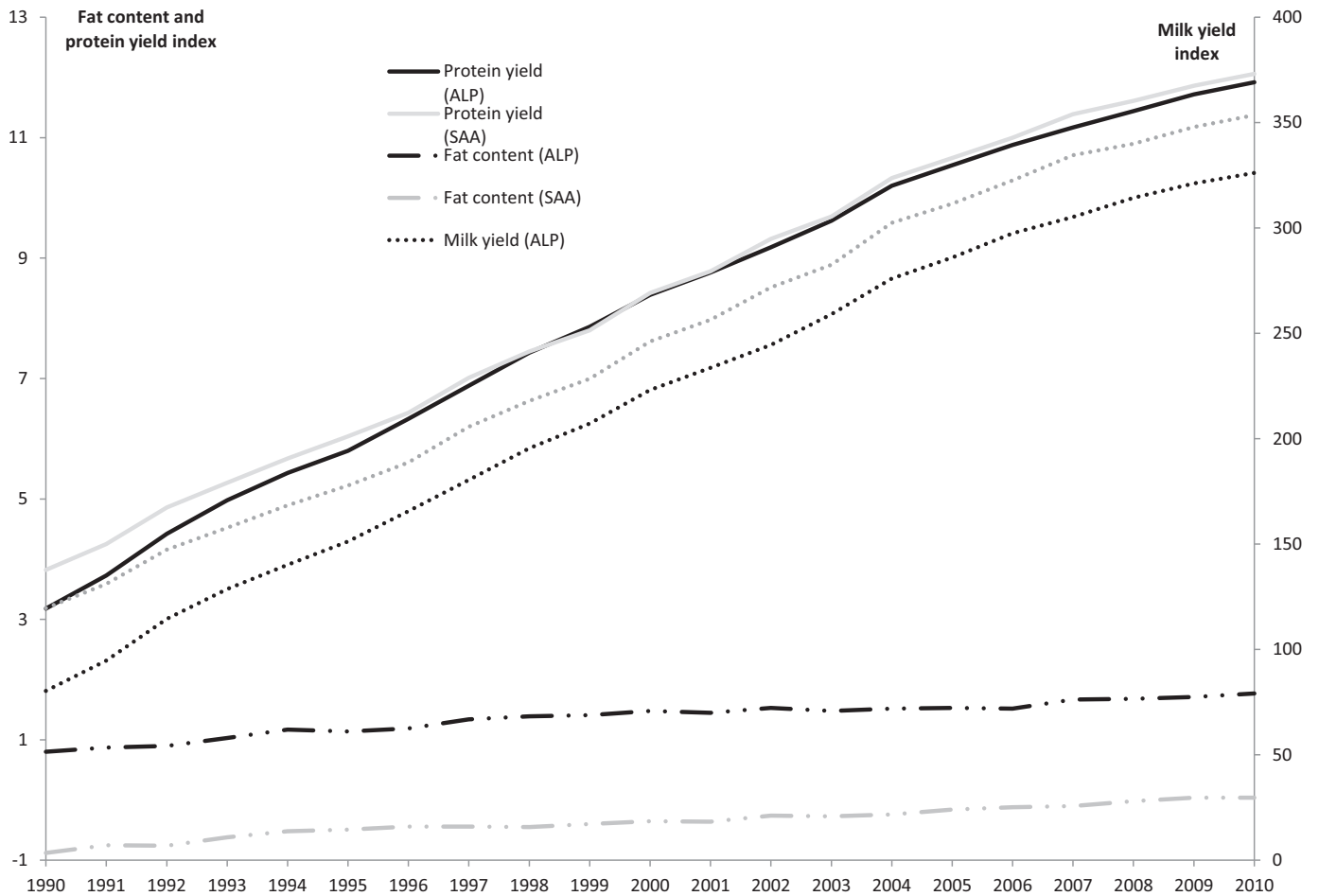


Fig. 1. Change in the index for milk yield, protein yield and fat contents for the Alpine (ALP) and Saanen (SAA) breeds between 1990 and 2010.

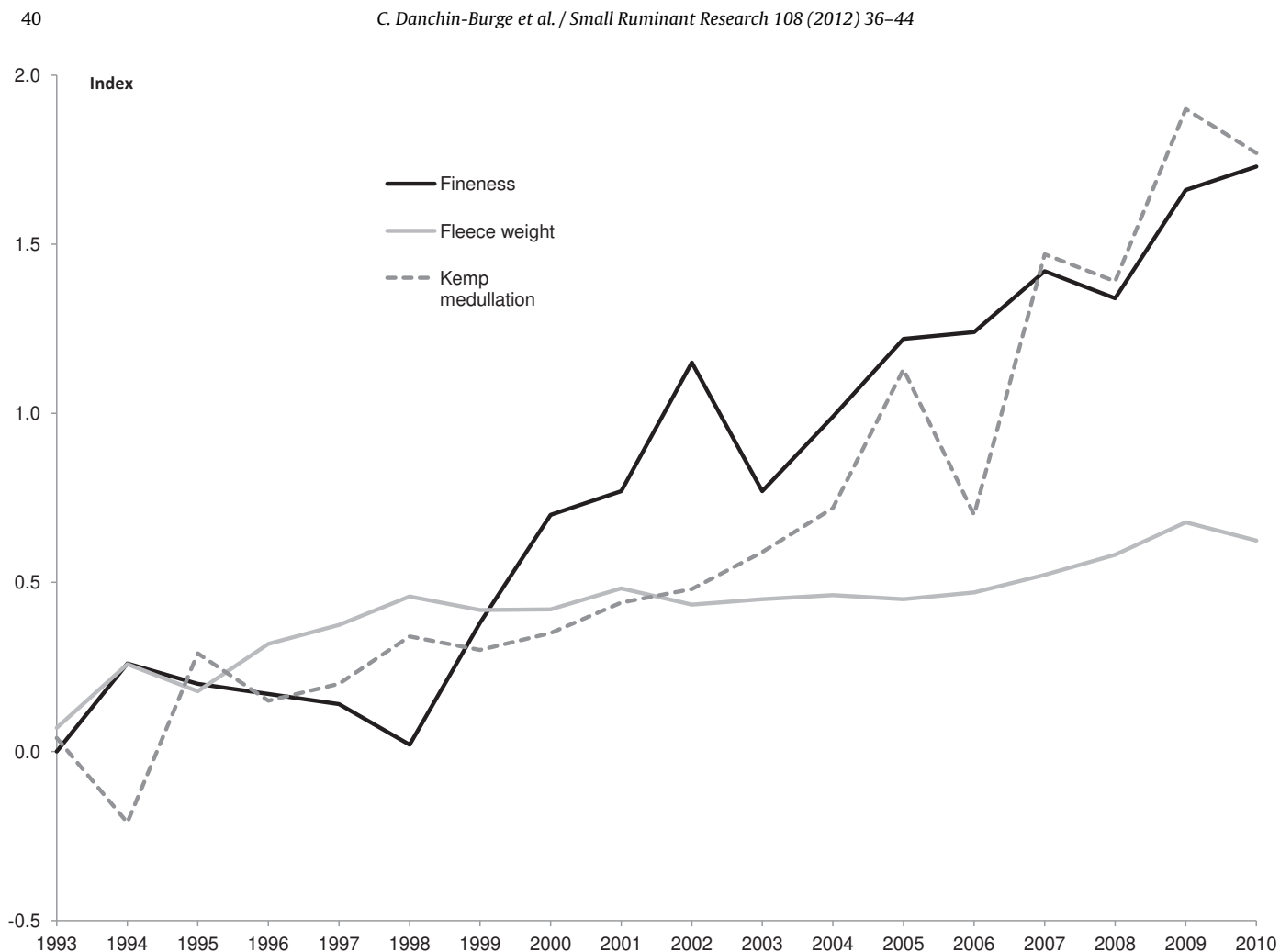


Fig. 2. Change in the index for fineness, fleece weight, and kemp medullation for the Angora breed between 1993 and 2010.

score respectively and a phenotypic trend of 3.8 μm , 0.2 kg, and 3.5 pts over the last 10 years for fineness, fleece weight and kemp medullation score, respectively.

4.2. Population parameters

Higher numbers of ALP bucks entered the AI station, however the SAA and ALP have equivalent numbers of sires and paternal great grand sires (Fig. 3). For an average number of young bucks of 66 (SAA) and 116 (ALP) over the 2006/2009 period, the average number of sires per breed is equal to 14 and 13, respectively and the average number of great grand sires is equal to 12 and 10, respectively. Over the 2006/2009 period, 37 sires and 251 dams were parents of the 265 SAA young bucks entered in AI station, while the 465 ALP bucks were born from 32 sires and 428 dams. The maximum number of males entered in AI station by sire is equal to 22 and the standard deviation is equal to 5.6 for the SAA, while these numbers are equal to 52 and 12.0, respectively for the ALP.

The number of young bucks jumped off 35% (SAA) and 38% (ALP) between 2002 and 2003 in order to increase the number of bucks progeny tested in the range of 60–70 males for both breeds. This increase was a result of a political choice made by Capgenes to manage better the genetic variability of the breeds. For the SAA, the number went

down in the following years to similar levels that the breed had previously, while this number stayed over 105 bucks for the ALP. However, this increase was done for a constant level of sires in the case of the SAA (but a slight increase of the numbers of paternal great grand sire, +20%), and a moderate increase of the number of sires (+20%) and paternal great grand sires (+25%) for the ALP.

The generation intervals are very similar for the ANG (4.2), ALP (4.1) and SAA (4.0).

4.3. Genetic variability

The pedigree depth for each breed varies between 5.8 (ANG) and 8.3 (ALP AI) for the different reference populations. The results of the analysis of gene origin probabilities are shown in Table 2. The ALP and SAA female reference populations have similar total number of founders (51,580 versus 45,058, cf. Table 2). Despite the fact that the f_e value is also higher for the ALP than for the SAA, the ALP has the smallest f_a (46). The small f_a/f_e ratio for the ALP (0.24) is also a reflection of what appears as important bottlenecks in the breed. However, the founder genome equivalent is similar for both breeds, due to the fact that the SAA has smaller population size than the ALP.

As for the young bucks populations, despite a higher f_e for the ALP than the SAA (+59%), the f_a are almost

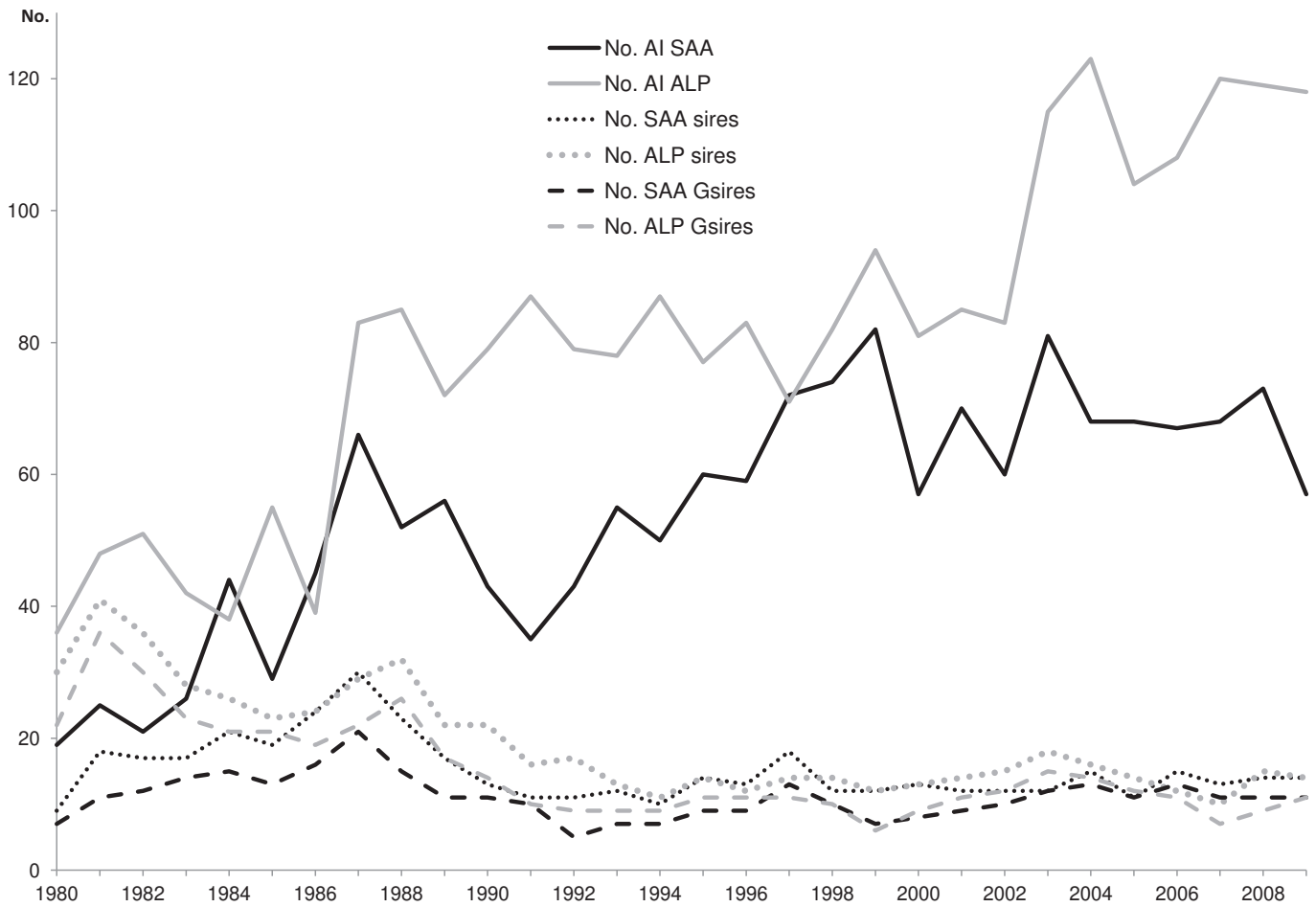


Fig. 3. Evolution between 1980 and 2009 of the number of young AI bucks entered in the AI station, their sires and their paternal grand sires.

Table 2
Analysis of the probabilities of gene origin for the Alpine (ALP), Saanen (SAA) and Angora (ANG) breeds.

Breed	Reference population	Total no. of founders	Effective no. of founders (f_e)	Effective no. of ancestors (f_a)	Ratio f_a/f_e	Contribution of the top ancestor	No. of top contributing ancestors accounting for 50% of the genes (N_{50})	Founder genome equivalents (N_g)
ALP	Female	51,580	191	46	0.24	9.81	21	25
	AI males	2582	129	29	0.22	12.10	11	14
SAA	Female	45,058	124	51	0.41	8.04	23	25
	AI males	2001	81	31	0.38	10.1	11	16
ANG	Female	514	80	34	0.41	8.68	13	17

Table 3
Average inbreeding level (F) in the reference populations, average coefficient of kinship (Φ) between and within the female reference populations (F_{ref}) and the IA male populations for the Alpine and Saanen breeds and effective population size (N_e) with the Gutiérrez and Cervantes method.

Breed	F		Φ				N_e Gutiérrez		N_e Cervantes
	F_{ref}	IA	$F_{ref} \times F_{ref}$	F_{ref} parents	IA \times IA	AI parents	F_{ref}	F_{ref}	
Alpine	2.37%	1.75%	2.00%	1.60%	3.50%	2.80%	149	203	
Saanen	2.21%	1.38%	2.00%	1.40%	3.20%	2.70%	129	169	
Angora	3.26%	/	2.92%	2.20%	/	/	76	99	

identical for the ALP (29) and SAA (31), keeping in mind the lower pedigree depth of the SAA. Bottlenecks (f_a/f_e ratio) are almost twice as much in the AI ALP (0.22) than the AI SAA (0.38). Both the N_{50} and N_g are identical for the two male populations (respectively equal to 11 and 15).

Table 3 shows that for the ALP and SAA, the average inbreeding levels of the AI male candidates are much lower than the ones of the female populations. The inbreeding levels of the AI males are always smaller than the AI kinships and the AI parents' kinships. Given the clarity of these results, there is now every reason to believe that the

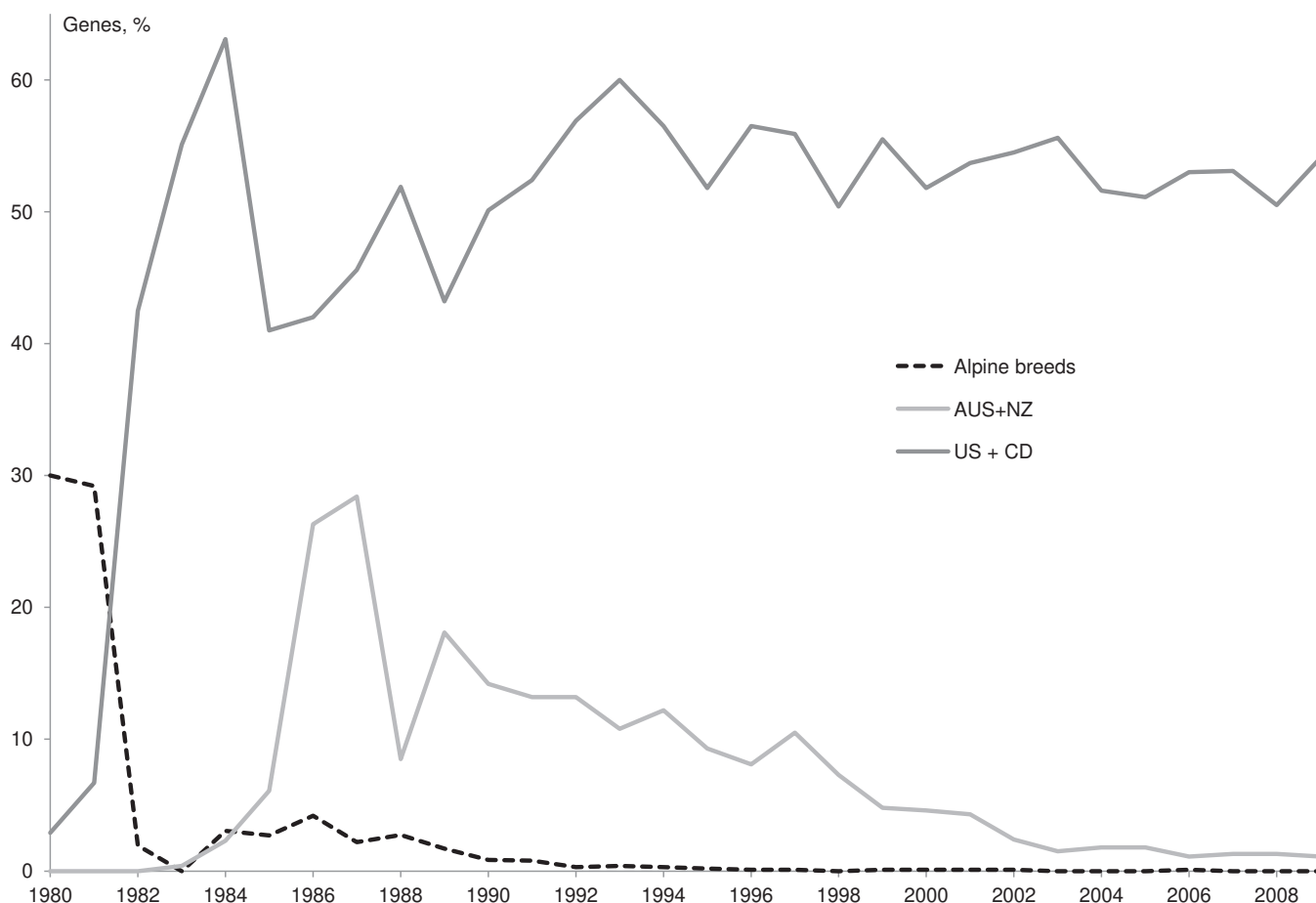


Fig. 4. Change in the genes origin for the Angora breed for the females born with two parents known.

management of the dairy populations is actually successful to create males as little inbred as possible.

The contrast is quite sharp with the female reference populations. The inbreeding level of the ALP F_{ref} is 19% higher than the F_{ref} kinship and 48% higher than the parents kinship of the reference population. These proportions are equal to 11% and 58% for the SAA F_{ref} . The percentage of animals with an inbreeding coefficient higher than 6.25% is respectively equal to 4.7 and 5.5 for the ALP and SAA, respectively.

The inbreeding level (as the average of the inbreeding coefficients) of the female reference population is equal to 2.21% (SAA) and 2.37% (ALP). The effective population sizes with the Gutiérrez method (cf. Table 3) are equal to 120 (SAA) and 143 (ALP), while it varies from 169 (SAA) to 203 (ALP) with the Cervantes method. These N_e are higher than the N_e with the Gutiérrez method by 31% and 36%, respectively.

The ANG has a very small number of founders (514), which is even lower than the number of founders of the young bucks entered in AI station populations in the ALP and SAA. The low estimated value of N_g (17) is a reflection of the combination of a narrow founder basis and small number of animals in the reference population. In the ANG the inbreeding level of the F_{ref} is 12% higher than the F_{ref} kinship and 48% higher than the parents kinship of the reference population. The percentage of animals with an

inbreeding coefficient higher than 6.25% is equal to 15.5%, which is high. This result leads us to believe that in the ANG, some farmers might be mating knowingly related animals and therefore producing highly inbred animals. The effective population sizes are equal to 66 (Gutiérrez method) and 99 (Cervantes method).

When looking at the influence of various countries or breeds of origins over time for the ANG breed, some tendencies could be seen (Fig. 4). It is striking to see that almost no Alpine genes are left in the current population and few of the “Austral” genes (i.e. Australia, New Zealand or South Africa) are leftover. The North American genes were positively selected and are now stabilized around 53%. However, it has to be stated that the country of origins were not known for 37% of the founders and these animals were included in an “unknown” origin category. As of today, the percentage of “unknown” origin can be estimated to 47% of the reference population gene composition.

5. Discussion

It is well known that in a small population, such as the French Angora breed, as well as for a breed intensively selected, such as any dairy program where AI is used, there is a high risk of loss of genetic variability unless a specific management plan is implemented. Therefore it seemed important to present the selection programs of our French

goat selected breeds and the impact of their management program (when existing) on their genetic variability.

The pedigree depth for each breed can be considered as good in comparison with other studies for various livestock species (see as an example for sheep, Huby et al., 2003; for dogs, Leroy et al., 2006; for dairy cattle breeds, Danchin-Burge et al., 2011). However, compared to the quality of genealogical information of all the females with performance recording, the pedigree depth of the reference population is overestimated since only females with both parents known are selected. In the ALP and SAA breeds, there is a constant decrease of the percentage of goats with both parents known, that went from 65% (SAA) to 70% (ALP) for the females born between 1989 and 1999 (Piacère et al., 2004) to 42% and 50%, respectively for the females born between 2006 and 2009 (however, overall the breeds pedigree depth is steadily growing over the years). There is a trend for bigger herd sizes for productivity reasons and in order to lower their work load, farmers have a tendency to leave their bucks breed freely instead of monitoring paternity by creating small groups bred by a single male. Obviously the lack of pedigrees will impact negatively the possibilities of setting up an efficient management program at the farm level based on coancestry and inbreeding coefficients as described by Colleau et al. (2011).

The ANG breed has a narrower genetic variability which is reflected by both type of indicators, probability of gene origin and probability of gene identity (inbreeding and kinship). It is likely that at least three different factors are explaining these results. First of all the breed is quite small, with a declining demography (both census and registered animals) since the nineties. The breed's numbers have been going down steadily since the 1990s (–74% of the number of recorded goats with two parents known between 1990 and 2009) which does not help to maintain a good genetic variability. Also the number of founders used to create the French Angora nucleus was quite limited, as indicated by the total number of founders in Table 2.

We also showed that it is possible to set up a successful selection program with a small population (such as the Angora breed) in a context where the selection is done on highly heritable trait. The breed has been efficiently selected for 30 years for fiber fineness, which led to the elimination of some of the original strains as shown in Fig. 4. It seems that all the genes coming from the Alpine breed as well as the New Zealander, Australian or South-African origins were almost eradicated. This study also clearly indicates that the breeders association would be quite limited in their choice of countries if they wanted to use new bloodlines. It is probable that the extensive conditions used to raise the South African, New Zealand and Australian animals are too rough to get high quality fibers, therefore such animals cannot be used in the French program.

The ALP and SAA breeds are showing indicators that are difficult to compare with other populations. First of all, as stated previously, the French dairy goat selection scheme is quite unique worldwide and there are no goat breeds with equivalent numbers and pedigree information to compare these breeds with. Within the French dairy ruminant breeds, the comparison is also difficult since the ALP and SAA represent an intermediate position in

numbers between very large cattle breeds, such as the Normande with a reference population superior to 245,000, or much smaller ones such as the Abondance with 22,000 cows (Danchin-Burge et al., 2011). The same problem of magnitude exists within the French dairy sheep breeds, the Lacaune breed having a reference population of 535,000 and the next one, by numbers, the Manech Tête Rousse has a reference population equal to 77,365 (Danchin-Burge, 2011). However, all things being compared, the genetic variability of the French dairy goat breeds is more similar to dairy sheep breeds than dairy cattle breeds. As an example, the f_a for eight French dairy cattle breeds varies between 15 (Abondance breed) and 51 (French Red Pied breed) according to Danchin-Burge et al., 2011, while for four French dairy sheep breeds (with equivalent pedigree depth as the ALP and SAA) the f_a fluctuates between 25 (Manech Tête Noire) and 77 for the Lacaune breed (Danchin-Burge, 2011).

Further analyses show that if only 38% (SAA) and 40% (ALP) of the female reference population are daughters of AI bucks, respectively 93% and 95% of the same F_{ref} have a paternal grand-sire which is an AI buck. In 1997, Piacère et al. (2004) also found that over 90% of the recorded goats had an AI paternal great-sire. These numbers illustrate that, despite a relatively moderate AI rate, AI bucks have all the same an important impact on the population, since most natural service bucks are actually sons of AI males. This impact is moved by one generation, compared with the dairy cattle situation. In this context, the management of the genetic variability of AI bucks, as it is currently done, is crucial. Also, given the ratio of goats born from natural mating bucks (about 60%), the choice of these bucks by the farmers needs to be optimized as proposed by Colleau et al. (2011).

It is obviously impossible to restore bottlenecks that were created mostly in the eighties as shown by the birth dates of the main contributors: in the Alpine breed, the five main contributors are all born in the late seventies or the eighties, while in the Saanen breed, two of the main ancestors are born in the nineties, two in the eighties and one in the seventies. We also showed that despite a higher number of bucks progeny tested in the Alpine breed, they have a similar number of great-sires as the Saanen. This reduced number of great-sires origin creates new bottlenecks. The recent introduction of udder traits in the total merit index should be favorable for improving the diversity of AI buck origins. The first cohort of sires selected on the total merit index including udder traits EBV was presented to the farmers in 2011. By this way, the impact of the few AI bucks which were overused in the eighties should be counterbalanced step by step.

When looking at the effective population size (Table 3), the genetic diversity of all the breeds seems quite good. The Cervantes method is always leading to better results whatever the breed, showing population subdivision. A possible explanation could be that individually farmers have a tendency to overuse their natural service males, leading to slightly inbred herds. Both the ALP and SAA are above the FAO recommendation (FAO, 1998) which is to maintain an effective population size of at least 50–100, and the ANG is within this bracket. Given the nature of these results, it appears likely that the recent set up of specific

management plans (Colleau et al., 2004) to maintain a decent level of genetic variability is working out in the dairy populations. In the end, our recommendations in the dairy breed would be to follow thoroughly the management plan and to push it to a further step by following the new recommendations from Colleau et al. (2011). It would be also appropriate to increase the number of AI great-sires and even out their number of offspring as AI males, mostly in the ALP breed.

6. Conclusion

The dairy goat selection is at the dawn of tremendous changes: embryo transfer is going to be used as a fairly wide scale in order to produce AI males, and, following dairy cattle selection, genomic selections is underway with the first goat chip being available by the end of 2011 (http://snp.toulouse.inra.fr/~sigenae/50K_goat_snp_chip/index.html, 11/09/15). These changes exacerbate the needs to monitor and manage adequately the genetic variability of the Alpine and Saanen breeds, even though, as of today, these breeds are not at risk from a genetic variability point of view. As for the Angora breed, several handicaps are limiting its genetic variability. Its genetic variability indicators are less satisfactory than the ones of the dairy breeds; however they remain at a good level for a small breed under selection. Last but not least, there is still the possibility for the breed of importing animals from other countries, such as Turkey or Canada, to start new bloodlines.

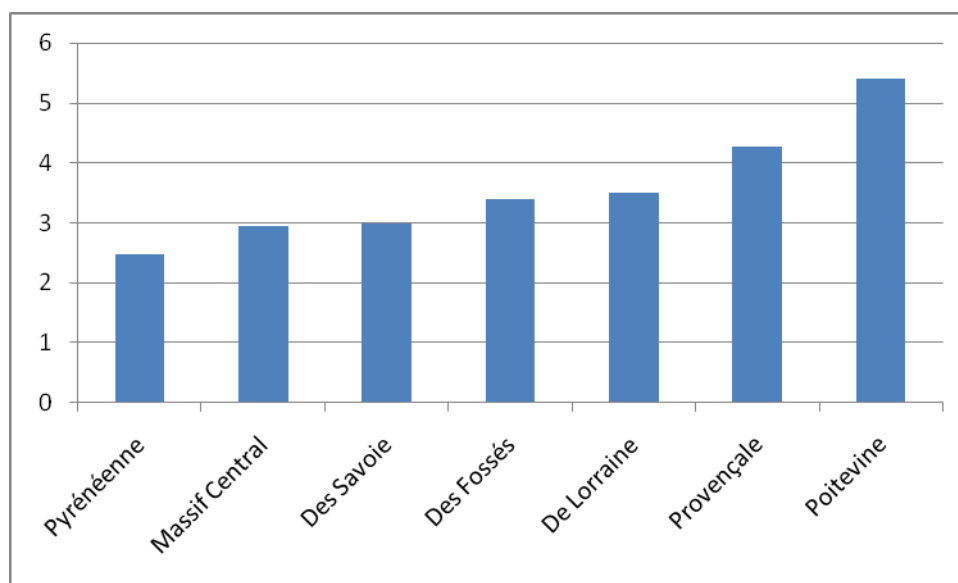
References

- Allain, D., Roguet, J.M., 2003. Genetic and non-genetic factors influencing mohair production traits within the national selection scheme of Angora goats in France. *Livest. Prod. Sci.* 82 (2–3), 129–137.
- Allain, D., Roguet, J.M., 2006. Genetic and non-genetic variability of OFDA-medullated fibre contents and other fleece traits in the French Angora goats. *Small Rumin. Res.* 65, 217–222.
- Barillet, F., 2007. Genetic improvement for dairy production in sheep and goats. *Small Rumin. Res.* 70, 60–75.
- Belichon, S., Manfredi, M., Piacère, A., 1999. Genetic parameters of dairy traits in the Alpine and Saanen goat breeds. *Genet. Sel. Evol.* 30, 529–534.
- Boichard, D., 2002. PEDIG: a Fortran package for pedigree analysis suited for large populations. In: *Proc. 7th WCGALP*, Montpellier, pp. 13–28.
- Boichard, D., Boulouc, N., Ricordeau, G., Piacere, A., Barillet, F., 1989. Genetic parameters for first lactation dairy traits in the Alpine and Saanen goat breeds. *Genet. Sel. Evol.* 21, 201–215.
- Boichard, D., Manfredi, E., Bonaiti, B., 1992. Amélioration génétique de l'espèce caprine. *Colloque Production Caprine*, Niort, France, pp. 1–10.
- Boichard, D., Maignel, L., Verrier, E., 1997. Value of using probabilities of gene origin to measure genetic variability in a population. *Genet. Sel. Evol.* 29, 5–23.
- Briggs, H.M., 1969. *Modern Breeds of Livestock*, 3rd ed. MacMillan Company.
- Cervantes, I., Goyache, F., Molina, A., Valera, M., Gutiérrez, J.P., 2011. Estimation of effective population size from the rate of coancestry in pedigreed populations. *J. Anim. Breed. Genet.* 128, 56–63.
- Clément, V., Piacère, A., Manfredi, E., Lamaix, B., Martin, P., Barbat, A., Boichard, D., 2003. L'amélioration génétique des caprins. Caractères laitiers et de morphologie. *Elevage et insémination* 313, 3–11.
- Clément, V., Martin, P., Barillet, F., 2006. Elaboration d'un index synthétique caprin combinant les caractères laitiers et des caractères de morphologie mammaire. In: *Proc. 13th Renc Rech Rum*, Paris, pp. 209–212.
- Colleau, J.J., Moureaux, S., Briend, M., Béchu, J., 2004. A method for the dynamic management of genetic variability in dairy cattle. *Genet. Sel. Evol.* 36, 373–394.
- Colleau, J.J., Clément, V., Martin, P., Palhière, I., 2011. Optimized diffusion of buck semen for saving genetic variability in selected dairy goat populations. *BMC Genet.* 12, 25.
- Danchin-Burge, C., 2011. Bilan de variabilité génétique de 9 races de petits ruminants laitiers et à toison. CR no. 001172004, Institut de l'Elevage, France.
- Danchin-Burge, C., Duclos, D., 2009. Situation et perspectives d'avenir des races caprines à petits effectifs. *Ethnozootecnie* 85, 10–16.
- Danchin-Burge, C., Palhière, I., François, D., Bibé, B., Leroy, G., Verrier, E., 2010. Pedigree analysis of seven small French sheep populations and implications for the management of rare breeds. *J. Anim. Sci.* 88, 505–516.
- Danchin-Burge, C., Leroy, G., Brochard, M., Moureaux, S., Verrier, E., 2011. Evolution of the genetic variability of 8 French dairy cattle breeds assessed by pedigree analysis. *J. Anim. Breed. Genet.*, doi:10.1111/j.1439-0388.2011.00967.x.
- Denis, B., 2009. L'espèce caprine est restée historiquement en marge du mouvement de création de races. *Revue Ethnozootecnie* 85, 5–12.
- Dubeuf, J.P., Morand-Fehr, P., Rubino, R., 2004. Situation, changes and future of goat industry around the world. *Small Rumin. Res.* 51, 165–173.
- Dubeuf, J.P., Boyazoglu, J., 2009. An international panorama of goat selection and breeds. *Livest. Sci.* 120 (3), 225–231.
- FAO, 1998. *Secondary Guidelines for Development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans*. FAO, Rome, Italy, p. 63.
- Gutiérrez, J.P., Cervantes, I., Goyache, F., 2009. Improving the estimation of realized effective population sizes in farm animals. *J. Anim. Breed. Genet.* 126, 327–332.
- Huby, M., Griffon, L., Moureaux, S., Rochambeau, H.de, Danchin-Burge, C., Verrier, E., 2003. Genetic variability of six French meat breeds in relation to their genetic management. *Genet. Sel. Evol.* 35, 637–655.
- Institut de l'Elevage, 2010. *Les chiffres clés 2010: Productions caprines lait & viande*. Institut de l'Elevage, Paris.
- Institut de l'Elevage, 2011. *Résultats de Contrôle Laitier des espèces bovine et caprine (campagne 2010)*. Institut de l'Elevage, Paris.
- Lacy, R.C., 1989. Analysis of founder representation in pedigrees: founder equivalents and founder genome equivalents. *Zoo Biol.* 8, 111–123.
- Leboeuf, B., Delgadillo, J.A., Manfredi, E., Piacère, A., Clément, V., Martin, P., Pellicer-Rubio, M.T., Boué, P., de Cremoux, R., 2008. Place de la maîtrise de la reproduction dans les schémas de sélection en chèvres laitières. *INRA Prod. Anim.* 21, 391–402.
- Leroy, G., Rognon, X., Varlet, A., Joffrin, C., Verrier, E., 2006. Genetic variability in French dog breeds assessed by pedigree data. *J. Anim. Breed. Genet.* 123, 1–9.
- Meuwissen, T.H.E., Luo, Z., 1992. Computing inbreeding coefficient in large populations. *Genet. Sel. Evol.* 24, 305–313.
- Meyer, W., Saglam, M., Schonfeld, C., Tanyolaç, A., 1998. History of the Turkish angora goat with remarks on the wild ancestor of the domestic coat. *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* 26 (1), 1–11.
- Montaldo, H.H., Manfredi, E., 2002. Organisation of selection programmes for dairy goats. In: *Proc. 7th WCGALP*, Montpellier, pp. 1–35.
- Piacère, A., Ricordeau, G., Manfredi, E., Sigwald, J.P., Lahaye, P., Bibé, B., Bouillon, J., 2000. From cooperative genetical research work to technological transfer into the selection schemes: the French example on genetic improvement of protein contents in milk goat. In: *7th International Conference on Goats*, vol. 1, pp. 18–22.
- Piacère, A., Palhière, I., de Rochambeau, H., Allain, D., 2004. Analysis of the genetic variability of the French Alpine and Saanen breeds using genealogical data. In: *Proc 8th International Goat Conference*, July 4–9, Pretoria.
- Rizzi, E., Tullio, A., Cito, M., Caroli, A., Pieragostini, E., 2011. Monitoring of genetic diversity in the endangered Martina Franca donkey population. *J. Anim. Sci.* 89, 1304–1311.
- Vosges, S., Distl, O., 2009. Inbreeding trends and pedigree analysis of Bavarian mountain hounds, Hanoverian hounds and Tyrolean hounds. *J. Anim. Breed. Genet.* 126, 357–365.

c) Diversité génétique des races caprines en conservation

Pour notre étude, nous avons à disposition les données de races en conservation, dont les cinq reconnues par le Ministère chargé de l'agriculture (Chèvre des Fossés, Chèvre du Massif Central, Chèvre Provençale, Chèvre des Pyrénées et Poitevine) et deux populations bénéficiant d'une association d'éleveurs mais sans statut officiel (chèvre Lorraine et chèvre des Savoie). Les répertoires des animaux sont constitués de données à dire d'éleveurs, ainsi que de données issues du contrôle laitier officiel, dans des proportions plus ou moins importantes suivant les races. La création de ces répertoires a démarré dans le milieu des années 90 pour les plus anciennes (Pyrénées, Poitevine) pour se poursuivre jusqu'au milieu des années 2000 (Lorraine). Un descriptif complet des programmes de conservation correspondants est donné par Danchin-Burge et Duclos, 2008.

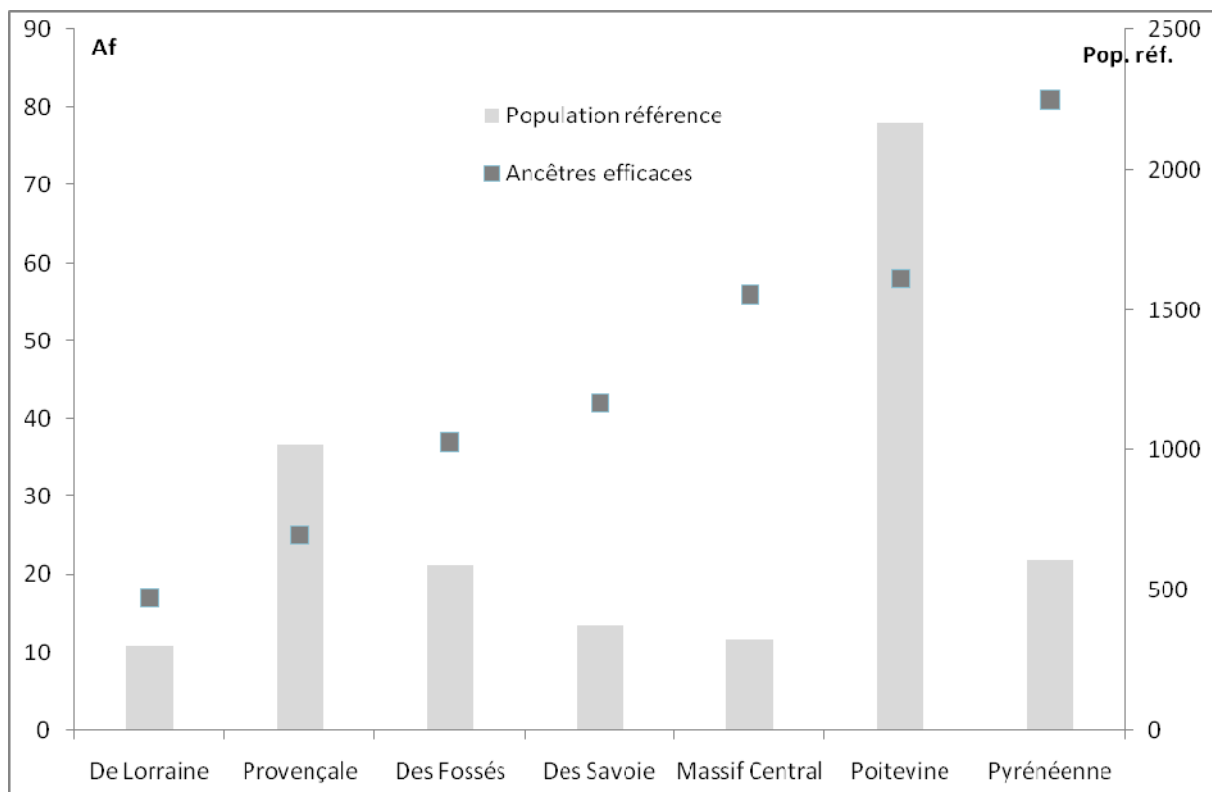
Figure 4 : Nombre d'équivalents génération, par ordre croissant, des races caprines en conservation



L'information généalogique des races caprines locales peut être considérée comme faible à moyenne (cf. Figure 4). Néanmoins, suivant les races, l'absence d'information a plus ou moins de conséquences. Par exemple, pour la race Poitevine, qui est pourtant la race locale la mieux renseignée, on constate une arrivée continue, dans le répertoire, d'animaux sans origines connues. Or il est certain que ces nouveaux animaux sont apparentés aux troupeaux déjà inventoriés car il n'existe plus de souches inexplorées en France. Il s'agit juste de perte

d'information due, en général, à la vente d'animaux sans que les généalogies soient fournies. Néanmoins, en l'absence d'information, les animaux sont considérés comme déconnectés des animaux du répertoire, ce qui augmente artificiellement la valeur des indicateurs de diversité. A l'inverse, pour la chèvre des Fossés, par exemple, jusqu'au milieu des années 2000 on pouvait considérer que les animaux sans origine étaient en général pas ou peu apparentés aux animaux déjà inventoriés, car il s'agissait souvent de nouveaux troupeaux qui étaient découverts.

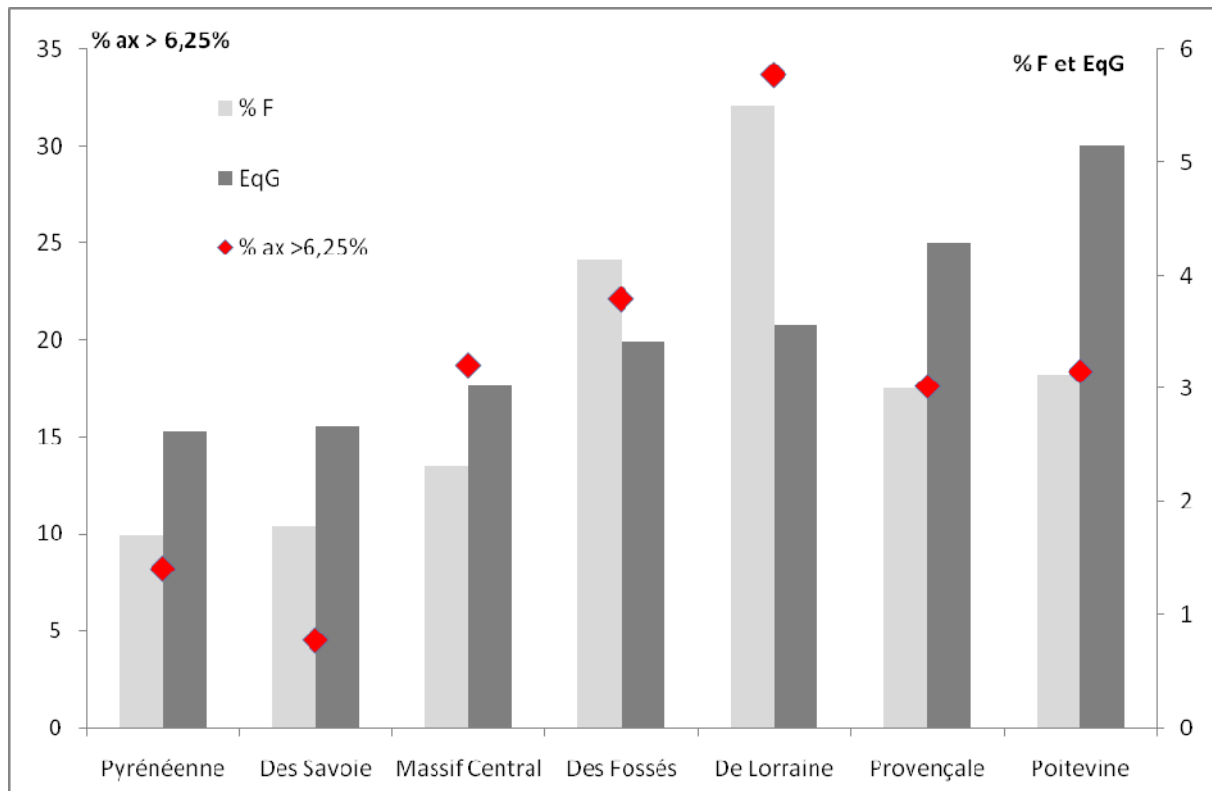
Figure 5 : Taille de la population de référence (axe de droite) et nombre d'ancêtres efficaces par ordre croissant (axe de gauche) pour les différentes races locales caprines



La taille importante – par rapport aux autres races – de la population de référence de la race Poitevine peut expliquer en partie un indicateur plus élevé que pour les autres races (Figure 5). Une analyse plus fine (résultats non présentés ici) montre aussi qu'une partie des ancêtres majeurs sont renouvelés d'une génération à l'autre : en l'absence de sélection et d'élevages prépondérants dans la vente de reproducteurs, peu de goulets d'étranglement sont créés dans la race. Le petit nombre d'ancêtres efficaces des races chèvre de Lorraine (17), Provençale (25), et chèvre des Fossés (37) est principalement dû au petit nombre d'animaux dont les races ont redémarré quand un programme de conservation a été mis en place. Les indicateurs

plus élevés obtenus dans les races Pyrénéenne, Massif Central et des Savoie sont à moduler par le fait que ce sont les races qui ont le plus faible niveau d'information généalogique.

Figure 6 : Coefficient de consanguinité moyen (F) et pourcentage d'animaux ayant un coefficient de consanguinité supérieur à 6,25% - comparaison avec le nombre d'équivalents génération moyen (EqG)



La Figure 6 illustre le fait que le coefficient de consanguinité moyen calculé n'est pas indépendant du niveau d'information généalogique. Il n'existe cependant un lien strict entre ces deux indicateurs. Par exemple, la chèvre du Massif Central, la chèvre des Fossés et surtout la chèvre de Lorraine, présentent des niveaux de consanguinité plus élevés que d'autres populations, y compris d'autres espèces, ayant un niveau similaire de connaissance des généalogies. La raison en est simple : c'est également dans ces deux races que l'on trouve la fréquence la plus élevée d'animaux avec un pourcentage de consanguinité supérieur à 6,25%, preuve d'une pratique courante d'accouplements entre apparentés. En chèvre de Lorraine, le manque de reproducteurs mâles purs est probablement à incriminer, tandis qu'en chèvre des Fossés on se retrouve plus face à une pratique voulue de la part d'éleveurs qui cherchent à obtenir un troupeau homogène sur des critères qui correspondent à leur standard idéal - à l'instar de ce que l'on peut retrouver dans l'élevage canin par exemple. Pour la chèvre du Massif-Central, les éleveurs ont parfois tendance à conserver trop longtemps leurs boucs.

Pour conclure sur nos deux études (races caprines en conservation et races en sélection), les valeurs prises par les indicateurs de variabilité, que ce soit ceux issus des probabilités d'origine des gènes ou d'identité des gènes, sont plutôt corrects au regard de la taille des populations (races menacées) ou de la pression de sélection que subissent ces races, et en comparaison avec d'autres espèces. En particulier, si l'on compare la situation des races caprines laitières par rapport aux bovins laitiers (cf. Danchin-Burge *et al.*, 2011) et les ovins laitiers (Institut de l'Élevage, 2011), les caprins se situent en situation intermédiaire : leur niveau de variabilité est inférieur à celui de la race ovine Lacaune laitière et supérieur à celui des races ovines laitières locales et plus encore à celui des races bovines laitières. Pour les races à petits effectifs, quelques races nécessitent une gestion appropriée car leur relance a été initiée à partir d'un nombre limité d'animaux (Lorraine, Fossés, Provençale). On note aussi dans certains cas des pratiques d'accouplements volontaires entre apparentés qui pourraient à terme impacter négativement la diversité de la race. Enfin, l'information généalogique reste limitée pour certaines races à petits effectifs, ce qui limite la portée de l'interprétation des résultats.

3. *Pour les races ovines allaitantes – comparaison in situ et ex situ*

a) Introduction

Pour la filière ovine allaitante, dans un premier temps, nous avons choisi un panel de races à petits effectifs afin (1) de mesurer l'impact de dispositifs de conservation sur la variabilité génétique, et (2) de comparer la diversité génétique des populations *in situ* avec celle disponible *ex situ*. Dans un second temps, nous comparerons cette situation avec celle des races ovines allaitantes en sélection, dont des stocks sont disponibles en Cryobanque.

b) Article: “Pedigree analysis of seven small French sheep populations and implications for the management of rare breeds”

Pedigree analysis of seven small French sheep populations and implications for the management of rare breeds¹

C. Danchin-Burge,*†‡² I. Palhière,§ D. François,§ B. Bibé,§ G. Leroy,*† and E. Verrier*†

*AgroParisTech, UMR 1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, 75231 Paris 05, France;

†INRA, UMR 1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative (GABI), 78350 Jouy-en-Josas, France;

‡Institut de l'Élevage, 75595 Paris 12, France; and §INRA, UR631 Station d'Amélioration Génétique des Animaux, 31326 Castanet-Tolosan, France

ABSTRACT: Pedigree information was analyzed in 7 small populations of sheep raised in France (Bleu du Maine, Charmoise, Cotentin, on-farm Romanov, Romanov ex situ in vivo, Roussin de la Hague, Solognote) to estimate their genetic variability. The pedigree information for each breed, estimated by the number of equivalent generations traced, ranged from rather poor (4.6) to very good (10.5) when compared with other studies. On the basis of probabilities of gene origin, the effective number of ancestors ranged from 17 (on-farm Romanov breed) to 59 (Bleu du Maine). On the basis of the rate of inbreeding, the realized effective size was found to range from 65 (Romanov breed ex situ) to 231 (Bleu du Maine). The average kinship coefficients between rams from which semen doses are available in the

French National Cryobank and the active ram and ewe populations were also computed. Results found in each breed were analyzed by taking into consideration the demographic evolution of the breeds, their management practices, and the use of cryopreservation as a way to preserve genetic variability. It appeared quite clear that, in populations in which AI with frozen semen is seldom used, factors that mainly affect the genetic variability are the female-to-male ratio, which should be as small as possible, and the number of reproducing female offspring by males, which should be as balanced as possible. Finally, our work showed that all populations under study have fairly good genetic variability in comparison with other species, despite their scarce numbers.

Key words: cryoconservation, genetic variability, management of small populations, pedigree analysis, sheep

©2010 American Society of Animal Science. All rights reserved.

J. Anim. Sci. 2010. 88:505–516
doi:10.2527/jas.2009-1961

INTRODUCTION

There has been increased awareness of the need to preserve rare livestock breeds since the Food and Agriculture Organization alerted the public to the increased extinction of farm animal biodiversity (Scherf, 2000; Food and Agriculture Organization, 2007). Approximately one-half of the 60 sheep breeds raised in France are considered rare, according to the European Union definition (population size less than 10,000 ewes, Council Decision No. 2004/817), yet French sheep production is of great importance for land management and biodiversity.

Rare breeds are faced with the risk of 1) rapid extinction because of their scarce numbers, 2) a loss of genetic variability and an increase in inbreeding because of their small effective population size (N_e), and 3) an effect of genetic drift on breed characteristics. Thus, developing or improving management methods for rare breeds is still an active research field (Goyache et al., 2003; Boettcher et al., 2005; Fernandez et al., 2005, 2008; Colleau and Avon, 2008).

However, managers of rare breeds are usually not aware of this research, and they generally do not wish to use elaborate processes; setting up these methods at the farm level is either too complicated or too constraining. There is a need to investigate the genetic consequences of the practices encountered in the field in addition to theoretical and simulation studies intended to assess the properties of some methods. The goal of such investigations is twofold: 1) to identify the main factors that affect the evolution of the genetic variability of real populations, and 2) to highlight the most efficient rules for management of rare breeds. The purpose of this paper was to conduct such an analysis

¹The authors thank the staff and breeders of the different breed associations for their insight into the history and management of their breeds, 2 anonymous referees for their useful suggestions, and Wendy Brand-Williams (INRA GABI) for linguistic revision.

²Corresponding author: coralie.danchin@inst-elevage.asso.fr

Received March 13, 2009.

Accepted October 6, 2009.

for 7 small sheep populations raised in France. Pedigree information was used to assess the evolution of the within-population genetic variability. Results are discussed in view of the demographic evolution of each breed, management practices, and use of cryopreservation as a complementary tool to manage and preserve within-breed genetic variability.

MATERIALS AND METHODS

Animal Care and Use Committee approval was not obtained for this study because data were obtained from an existing database (French national performance recording system, INRA CTIG, France).

Populations Studied

The choice of populations to be studied was quite restricted because of the lack of pedigree information in most rare breeds. A total of 7 populations with sufficient genealogical data were chosen, including 6 breeds raised on the farm plus 1 experimental population. The 6 breeds, chosen to represent a varied panel of situations, were the following: the Bleu du Maine (**BDM**), Charmoise (**CHM**), Cotentin (**COT**), Romanov (**ROM**), Roussin de la Hague (**RLH**), and Solognote (**SOL**) breeds.

Unlike the other breeds under study, the ROM breed does not originate from France (it originated in Russia), but a selection program has been run in France without external influence for more than 30 yr. The last population under study was a ROM nucleus flock (**RIN**), fully disconnected from the selection program described above, that has been raised on an INRA experimental farm since the breed was imported and that has been managed with substantially different rules from the ROM breed on farm (Ricordeau et al., 1990). All these populations are used for meat production.

The main demographic characteristics of the 7 populations under study are shown in Table 1, and the evolution over time of the number of ewes (with both parents known) recorded per birth year is shown in Figure 1. The COT breed and the RIN nucleus always had a small population size, with decreases of -36 and -93% , respectively, over the period considered in Figure 1. The SOL breed also had a small population size, but with a substantial increase of $+263\%$ since 1993. The RLH breed recently changed its status from a rare to a selected breed, with a $+57\%$ increase in its population size since 1984. Both the BDM and ROM breeds, which used to be considered selected breeds, have had a severe downfall (approximately -80% since 1984), which is why they have been considered rare breeds since the 1990s (BDM) and 2000 (ROM). Finally, the CHM has the largest population among the breeds under study, with a large selection nucleus compared with other meat breeds (Institut de l'Élevage, 2008). Approximately 100 CHM rams are evaluated for their

individual performance each year, and the best ones become available for AI.

Some analyses were performed for the ewes born between 2004 and 2007 with both parents known; this group was called the reference female population (Table 1). Reference populations were defined on a 4-yr time path because 4 yr represented approximately a generation interval (see Huby et al., 2003, and the present study).

Population Management

The different methods by which the breeders from the nucleus flocks that are part of the breeding association purchase and use the breeding rams are summarized in Table 2. A ram breeding center has been implemented recently for all the breeds studied. The breeder associations are responsible for the definition and establishment of the breeding programs, which means that only rams from nucleus flocks are bought for the breeding centers, according to the criteria for each breeder association. In rare breeds, the goal of such a center is mainly to raise future natural-service rams under the same environmental and sanitary conditions. Their genetic evaluation, on the basis of individual performance, is therefore more accurate; however, in most cases, performance is not assessed by calculation of EBV, but rather by visual evaluation. Only 2 breeds select their rams according to their EBV, mostly based on maternal (CHM, ROM) and conformation traits (CHM; Table 3). Once the rams have been raised together for 3 to 4 mo, breeders, including those that are not part of the breeding program, are invited to the sale. Rams are dispatched, depending on the breed. The methods used for management of genetic variability vary greatly, from no organization at all in the BDM breed to the rather sophisticated mating system of the SOL breed (see below). The management of the SOL breed is generally considered exemplary. Since 1976, a genetic program has been implemented to avoid genetic drift. The breed is partitioned into 12 groups and the exchange of rams follows a rotational scheme, as described by Chevalet and Rochambeau (1985). It was interesting to study this breed to see the "in situ" effect of a management plan of a small population, because few examples exist of the actual use of these rules by breeder associations. A rotational mating scheme was also implemented within the RIN.

A successful selection program beginning in 2002 within the framework of a national program has been implemented to increase the frequency of the alleles of the *PrP* gene, which enhance resistance to scrapie (Brochard et al., 2006). This selection program is not mentioned in Table 2 because it is systematic.

Data Available

All data came from the French national performance recording system. For each sheep, the file contains the

identification of the animal, sire and dam when known, birth date, sex, and breed. All the animals born from 1960 until 2007 were retrieved from the national system for all the breeds studied. The total number of animals in the file is given in Table 3.

Demographic Variables

For each population, the evolution of the number of reproducing animals was assessed by comparing 3 different birth year periods: 1981 to 1984, 1991 to 1994, and 2001 to 2004. The simple variables calculated were the following: number of dam sires (for a sire born in the period considered), which is referred to in the text as “sires”; average number of ewe offspring per sire; number of paternal grand-sires (of sires born during the period considered); and average number of reproducing ewe by paternal grand-sire.

The generation lengths of the 4 pathways (sire-sire, and so on) were estimated as the average birth year difference between parents born in the period from 1999 to 2003 and their reproducing offspring (i.e., offspring having at least 1 known offspring). The average generation length for each population was defined as the average of the 4 pathways.

Ex Situ Conservation

In France, a national cryobank for the long-term storage of animal genetic resources was created in 1999 (<http://www.cryobanque.org/>). In January 2009, the sheep species was represented in the cryobank by the semen doses of rams from a total of 23 different breeds, including the 6 breeds under study (see below). For rare breeds, the material stored represents long-term insurance. For selected populations, the aim of the cryobank is to preserve future possibilities for a given population to change its breeding goals by making available representative samples of the different populations at different periods (Verrier et al., 2003). In each breed, for the rams and ewes, respectively, we defined as active populations the animals used for the reproductive season beginning in July 2007. The average coefficient of kinship of each active population with the cryobank rams was computed.

Analysis of Genetic Variability

The genetic variability of each population and its evolution over time were assessed through indicators derived from pedigree data. The PEDIG software (http://dga.jouy.inra.fr/sgqa/article.php3?id_article=110; Boichard, 2002) was used for that purpose. The principles of the methods and the corresponding equations are described in detail in Boichard et al. (1997), and a detailed overview of their application to animal populations is available in several publications (e.g., Baumung and Sölkner, 2002; Huby et al., 2003; Leroy et al., 2006).

Table 1. General variables for the populations studied

Item	Bleu du Maine (BDM)	Charmoise (CHM)	Cotentin (COT)	Romanov (ROM)	Romanov-INRA (RIN)	Roussin de la Hague (RLH)	Solognote (SOL)
Main characteristics							
Main color pattern	Blue faced	White	White	Black spotted	Black spotted	Brown faced	Red
Typical trait(s)	Prolific and maternal	Precocity, muscular development	Large size, grazing	Highly prolific	Highly prolific	Maternal	Hardy
General 2000 census, total No. of ewes	14,300	23,900	6,000	9,100	132	21,500	3,100
On-farm performance recording 2007							
No. of ewes	846	3,771	166	769	118	2,145	953
No. of flocks	24	34	13	8	1	44	18
Avg No. of ewes per flock	35	111	13	96	118	49	53
Female reference populations, No. of recorded ewes born from 2004 to 2007 with both parents known	2,482	6,556	533	1,105	138	5,095	1,891

Table 2. Management of the breeding rams from the nucleus flocks by the population studied

Population ¹	Supply and purchase from the breeding center	Selection on breeding value
BDM	No indicators of genetic variability provided. No rules for purchases (“whoever pays the most”).	None
CHM	Rams from the breeding center attributed to grand-sire families; all families have to be represented by at least 1 ram (when possible). No rules for purchases (“whoever pays the most”), but the buyers are invited to choose rams least related to their flocks.	Yes
COT	Existing breeding center is recent (2006). At the sale, a table presenting the average kinship between each ram and all the ewes from potential buyers is provided. No rules for purchases (“whoever pays the most”), but buyers are invited to choose rams least related to their flocks.	None
ROM	Rams from the breeding center attributed to grand-sire families. Since 2006, breeders have chosen rams least related to their flocks.	Yes
RIN	Strict following of a rotational mating system, in which all ewes from a given group (n) are bred to a ram born in the previous group ($n - 1$).	None
RLH	Existing breeding center is quite recent (2003). Rams from the breeding center attributed to grand-sire families; all families have to be represented by at least 1 ram (when possible). At the sale, a table presenting the average kinship between each ram and all the ewes from potential buyers is provided. No rules for purchases (“whoever pays the most”), but buyers are invited to choose rams least related to their flocks.	None
SOL	Rotational mating, breeding circle. All families have to be represented by at least 1 ram. Breeders can buy a ram only from the previous group in the rotational scheme.	None

¹BDM = Bleu du Maine; CHM = Charmoise; COT = Cotentin; ROM = Romanov; RIN = Romanov (INRA); RLH = Roussin de la Hague; SOL = Solognote.

Pedigree completeness was assessed for the 2004 to 2007 reference ewe population by computing for each animal (i) from this population its equivalent generations (EqG_i), traced as follows:

$$EqG_i = \sum \left(\frac{1}{2}\right)^n, \quad [1]$$

with n being the generation rank of a given ancestor (1 = parents, 2 = grandparents, and so on), and the sum being computed across all known ancestors of i . The EqG for the whole population was computed as the mean of the EqG_i .

The average number of ancestors per ewe was computed by summing across all generations the percent-

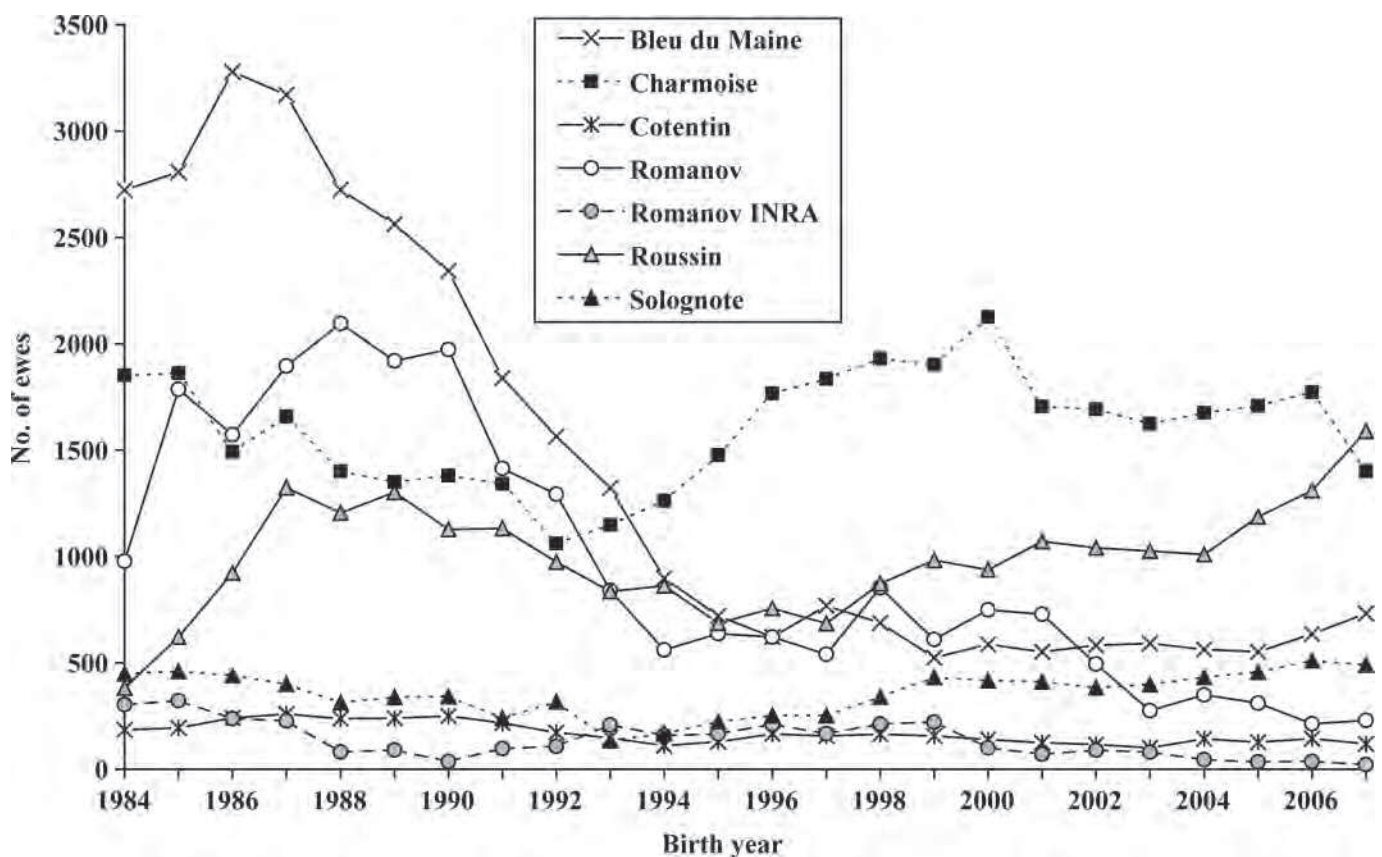


Figure 1. Evolution per birth year of the number of ewes recorded with both parents known for the 7 populations under study.

Table 3. Total number of animals in the data file and completeness of the pedigrees¹

Item	BDM	CHM	COT	ROM	RIN	RLH	SOL
Whole file							
Total No. of animals	107,580	106,589	10,967	52,305	12,609	53,899	25,262
Proportion of animals with both parents known, %	88	85	90	83	98	86	88
Reference female cohort (born from 2004 to 2007)							
Equivalent generations traced	8.1	6.8	4.6	6.2	10.5	5.8	5.5
Avg No. of ancestors per ewe	6,732	784	1,581	853	9,528	448	820

¹BDM = Bleu du Maine; CHM = Charmoise; COT = Cotentin; ROM = Romanov; RIN = Romanov (INRA); RLH = Roussin de la Hague; SOL = Solognote.

age of ancestors known for a total potential of ancestors (T) of a given generation n , where $T = 2n$. The founders (j) of the reference population (i.e., the ancestors of animals from this population with unknown parents) were detected by tracing the pedigrees up to the base population, and their expected contribution to the gene pool of the population (p_j ; $\sum_j p_j = 1$) was computed (James, 1972). The effective number of founders (f_e) of the population, defined as the reciprocal of the probability that 2 genes drawn at random in the population originate from the same founder, was computed as

$$f_e = 1 / \sum_j p_j^2. \quad [2]$$

The notion of major ancestor, founder or not, as defined by Boichard et al. (1997), was used in the present study. The major ancestors of the reference population were detected and their marginal expected contributions to the gene pool (q_k ; $\sum_k q_k = 1$) were computed according to the iterative method of Boichard et al. (1997). The effective number of ancestors was defined and computed in a similar way as the effective number of founders:

$$f_a = 1 / \sum_k q_k^2. \quad [3]$$

The effective number of ancestors (f_a) is less than the f_e and the comparison of both numbers can be used to find the bottlenecks that have occurred from the founders to the present population (Boichard et al., 1997): the greater the f_e/f_a ratio, the more stringent the bottlenecks.

The founder genome equivalents (N_g), defined by Lacy (1989), were computed as one-half the effective number of founder genes:

$$N_g = 1 / 2 \sum_{m=1}^{2f} r_m^2, \quad [4]$$

where f is the total number of founders (see above) and r_m is the probability of founder gene m , at a given neutral locus, to still be present in the population under study. Probabilities r_m were estimated by gene-dropping simulation, as first proposed by MacCluer et al. (1986).

For a given replicate, $2f$ founder genes were generated and labeled, segregations were simulated throughout the complete pedigree, and probabilities were determined by gene counting in the reference population. In the present study, for each population, a total of 100 replicates were run.

The coefficient of inbreeding of each animal in the file was computed using the method of Meuwissen and Luo (1992). The kinship coefficients of sires and dams of the reference population were computed. The average coefficient of kinship between both parental groups was compared with the average coefficient of inbreeding of their offspring (i.e., the reference population). Specific routines were developed to estimate the rate of inbreeding (ΔF) with the method first proposed by Gutiérrez et al. (2008) and modified by Gutiérrez et al. (2009). For each animal (i) from the reference ewe population, the individual ΔF from its founders (ΔF_i) was computed as follows:

$$\Delta F_i = 1 - EqG_i^{-1} \sqrt{1 - F_i}, \quad [5]$$

where F_i is the coefficient of inbreeding of i and EqG_i is its individual equivalent generations traced as computed with Eq. 1. The global ΔF was simply computed as the average of all individual ΔF (ΔF_i) of animals in the reference population. The realized effective population size (N_{e_r}) was then computed according to the classical formula:

$$N_{e_r} = \frac{1}{2\Delta F}. \quad [6]$$

RESULTS

Pedigree Completeness

Table 3 shows the value of some indicators of pedigree completeness, for the whole population and for the reference ewe population. The COT breed showed the least EqG value because of the frequent use of rams provided by breeders not in the selection scheme and somewhat disconnected from the selection nucleus. The EqG of the ROM, RLH, and SOL breeds was between approximately 5 and 6. This smaller value, in compari-

Table 4. Generation lengths (years) by population for the animals born from 1999 to 2003 and their reproducing offspring

Population ¹	Sire-son	Sire-daughter	Dam-son	Dam-daughter	Avg.
BDM	2.9	4.0	3.0	3.6	3.4
CHM	3.6	4.5	3.4	4.2	3.9
COT	2.8	3.8	2.7	4.0	3.3
ROM	2.9	5.1	3.5	5.0	4.1
RIN	1.9	4.0	2.0	3.8	2.9
RLH	3.2	3.9	3.0	3.9	3.5
SOL	3.1	4.2	3.1	4.0	3.6

¹BDM = Bleu du Maine; CHM = Charmoise; COT = Cotentin; ROM = Romanov; RIN = Romanov (INRA); RLH = Roussin de la Hague; SOL = Solognote.

son with the CHM and BDM breeds, was partly due to the registration in the flock book of a fairly large number of animals without pedigree data (SOL, RLH) from breeders who eventually decided to join the program or because of the lack of paternity control in some flocks (ROM). The value of EqG was greater in the CHM and BDM breeds because of a long tradition of selection and pedigree recording. The experimental RIN showed the greatest EqG value because it was raised in a single flock (“ex situ in vivo”), with a specific management plan and no external contributions for almost 40 yr.

The average number of known ancestors per ewe from the reference population ranged from less than 500 (RLH) to more than 9,000 (RIN). This number of known ancestors was not strictly linked to the EqG . For instance, the population with the least EqG , the COT breed, showed a substantially greater number of ancestors known per ewe than the other populations, except for the BDM breed and the RIN. In fact, when 2 populations with similar EqG values show 2 different values of ancestors known, the pedigree knowledge of the population with the greatest number of ancestors known is the most unbalanced; some pathways are informed on a large number of generations, whereas others show information after only 1 or 2 generations from the reference population.

Demographic Variables

Regarding the number of parents and their use, for reasons of conciseness, only significant facts and facts relative to the genetic analysis are indicated in the text; others are available in an online-only supplemental table (<http://jas.fass.org/content/vol88/issue2>). During the period from 1981 to 1984, the number of sires used to produce newborn ewes ranged from 28 (RIN) to 383 (BDM). The number of paternal grand-sires of these newborn ewes ranged from approximately 25 (RIN and RLH breed) to 154 (BDM). In the period from 1991 to 1994, in all populations except the RIN and the RLH, the numbers of sires and grand-sires were substantially fewer than in the previous period; the decrease in the number of sires ranged from -30 (CHM) to -70% (BDM, ROM, and SOL) and the decrease in the number of grand-sires ranged from approximately -35 (CHM)

to -65% (BDM and SOL breeds). From 2001 to 2004, these numbers were greater than from 1991 to 1994 in the following populations: COT (+25 and +19%, respectively), RLH (+78% for both numbers), and SOL (+156 and +107%, respectively). In the other populations, the numbers of sires or grand-sires changed little (CHM and RIN) or decreased again, by approximately -40 (BDM) or -70% (on-farm ROM).

The generation lengths are shown in Table 4. In all populations, the generation lengths were shorter on the male offspring pathways than on the female offspring pathways. The shortest average generation length was found in the RIN, whereas the longest was found in the ROM breed on farm.

Probabilities of Gene Origin

Results of the analysis of gene origin probabilities are shown in Table 5. Not surprisingly, the populations with the largest reference populations, namely, the CHM, BHM, and RLH breeds, showed the greatest values for the total number of founders. On the contrary, the RIN combined both the smallest reference populations and total number of founders. When comparing the ratio between the total and effective number of founders, the expected contributions of the founders appeared particularly unbalanced in the CHM, ROM, and RLH breeds, whereas the RIN showed the most balanced contributions.

The smallest values of the f_a , and consistently the greatest values of the expected contribution of the main ancestor, were found in the 2 ROM populations and the RLH, with the on-farm ROM population showing even worse values than the RIN. Ranking the major ancestors by decreasing expected contribution, the number of ancestors required to reach a cumulative expected contribution of 50% of the gene pool ranged from 6 (on-farm ROM population) to 21 (BDM and SOL breeds). The difference between the f_e and the f_a allows an evaluation of the extent that the genetic variability available in the founders has been reduced because of bottlenecks between the base population and the reference population (Boichard et al., 1997). The greatest values for the f_e/f_a ratio were found in the CHM, SOL, and ROM breeds, indicating more stringent bottlenecks in these 3

Table 5. Criteria calculated from the probabilities of gene origin

Population ¹	Total No. of founders (f)	Effective No. of founders (f_e)	Effective No. of ancestors (f_a)	Contribution of the main ancestor, %	Founder genome equivalents (N_g)	f/f_e ratio	f_e/f_a ratio	f/N_g ratio
BDM	698	120	59	4.9	22	5.8	2.0	31.6
CHM	1,347	134	50	6.1	23	10.1	2.7	58.1
COT	272	80	46	6.5	23	3.4	1.7	11.5
ROM	385	40	17	15.9	6	9.6	2.4	60.2
RIN	59	31	24	10.9	19	1.9	1.3	3.1
RLH	681	58	39	7.6	8	11.7	1.5	82.0
SOL	568	133	55	6.0	26	4.3	2.4	21.8

¹BDM = Bleu du Maine; CHM = Charmoise; COT = Cotentin; ROM = Romanov; RIN = Romanov (INRA); RLH = Roussin de la Hague; SOL = Solognote.

breeds, whereas the least value of this ratio was found in the RIN, and then the RLH.

The average estimated value of the N_g ranged from 6 to 26, with an SE ranging from 1 to 4. The greatest estimated value of N_g was found in the SOL. This breed was followed by a group of 3 breeds, namely, the CHM, COT, and BDM breeds, and was followed next by the RIN. The other 2 populations, the RLH and on-farm ROM populations, showed substantially reduced values of N_g .

Finally, the f/N_g ratio accounts for all sources of loss of variability from the base population to the reference population: unbalanced contributions of founders, bottlenecks, and losses during segregations (Lacy, 1989; Boichard et al., 1997). The RIN showed a very small value for the f/N_g ratio (Table 5), highlighting the effectiveness of the management rules applied, despite a very narrow base population. Three other populations showed a relatively small value for the f/N_g ratio, namely, the COT, SOL, and BDM breeds. The other 3 populations (CHM, ROM, and RLH breeds) showed relatively large values for this ratio.

Inbreeding and Relationship

Figure 2 shows the evolution of the average coefficient of inbreeding of ewes per birth year. In the SOL breeds, inbreeding decreased by 1.4% between 1994 and 1995 with the massive arrival in the performance recording system of animals without pedigree information. However, it is probable that these animals were indeed related to the animals recorded previously. In the last 5 yr, 2 breeds (the ROM and CHM breeds) showed a regular increase in their inbreeding level. The slope of the first breed is much steeper than that of the CHM, confirming some tendencies foreseen. To the contrary, since 2003, the level of inbreeding has declined, and has remained stable for the RLH. This reduction coincided with establishing selection for scrapie resistance and creating the breeding center.

The least values of the average coefficient of the reference population were found in the BLD, CHM, and SOL breeds (Table 6). However, it should be noted that, among these 3 breeds, the last one had the poorest pedigree information (see Table 3). To the contrary,

the 2 ROM populations were found to have the greatest average coefficients of inbreeding, with the RIN nucleus showing a value equal to almost twice the value of the breed raised on farm, but its pedigree knowledge was greater (see above). In general, the greater the average inbreeding value, the less the proportion of animals with a null individual value and the greater the proportion of animals with a large individual value, but there were some exceptions. For instance, in the COT breed, the proportion of inbred animals within the reference population was the least, but the proportion of high individual coefficients of inbreeding (i.e., $F_i > 6.25\%$) was one of the greatest, as was the proportion of inbred animals with a coefficient greater than 6.25% (45%). On the contrary, among the breeds with an average inbreeding value of approximately 2%, the CHM breed showed the smallest proportion of null values, as well as the smallest proportion of large values.

In all populations except one (the COT), the ratio of the average coefficient of inbreeding of the reference population to the average coefficient of kinship between all ram parents and ewe parents of this population was close to one (Table 6). Among these 6 populations, the SOL breed and the RIN showed values slightly greater than the other populations, and the BDM breed showed a value even less than one. In the COT breed, the average inbreeding of offspring was equal to almost twice the average parental kinship.

As shown in Figure 2, in most populations the evolution of inbreeding over the years was not regular. Under such conditions, estimation of the realized effective size from both the annual rate of inbreeding and the generation length (e.g., Huby et al., 2003; Leroy et al., 2006) would have led to negative values. Therefore, the method proposed by Gutiérrez et al. (2008, 2009) appeared to be an appealing method to estimate the realized Ne_r . The results are presented in Table 6. The 2 smallest values of Ne_r were found in the 2 ROM populations, with the value observed in the RIN being slightly less than the one observed in the on-farm population (ROM). For the other populations, the value of Ne_r was slightly (COT) or much (other breeds) greater than 100, which exceeds the minimum effective population sizes defined by the Food and Agriculture Organization and discussed by Meuwissen and Wooliams (1994).

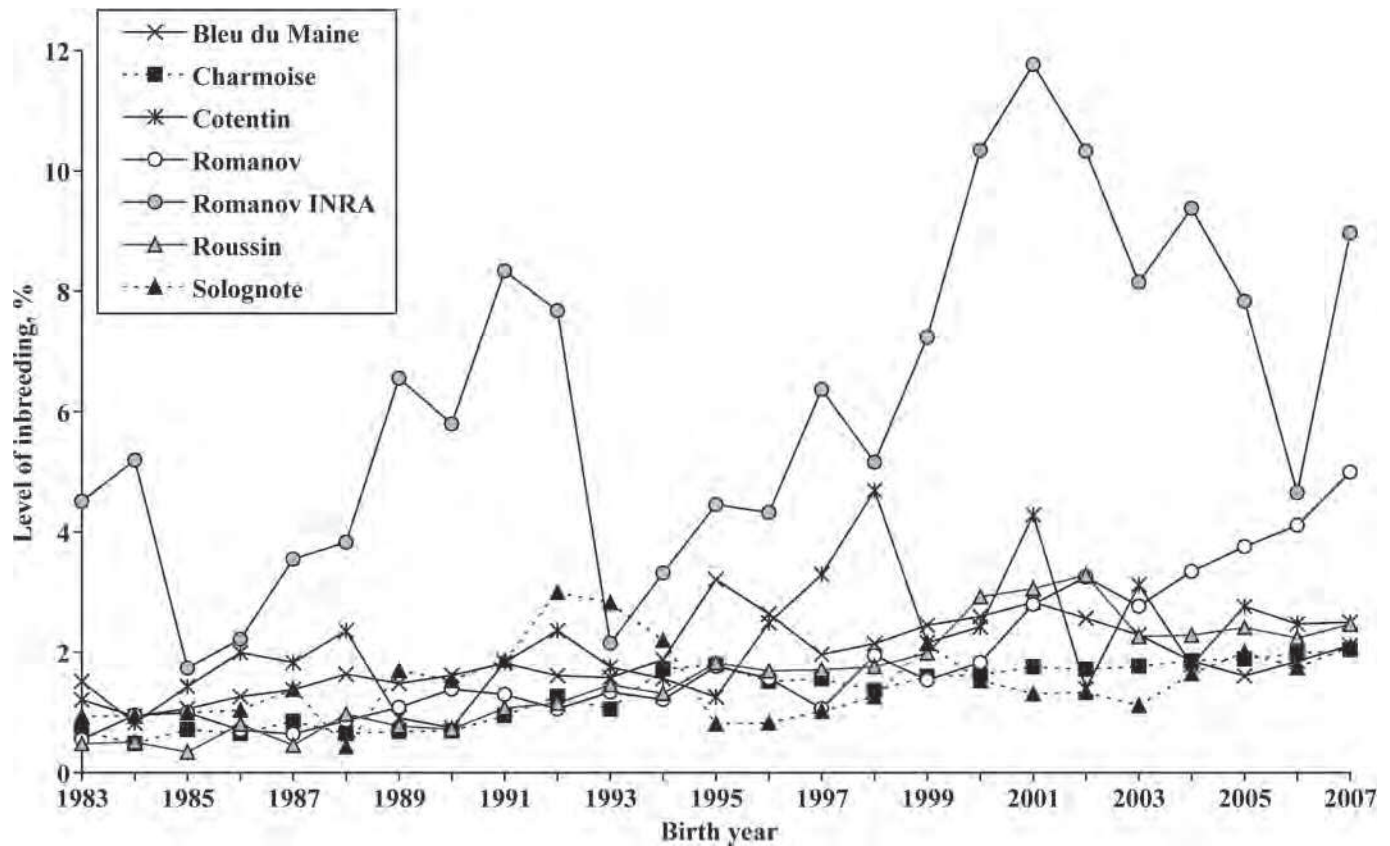


Figure 2. Evolution per birth year of the average inbreeding coefficient of ewes for the 7 populations under study.

Ex Situ Conservation

We compared the average kinship of each ram cryopreserved (circles and triangles in Figure 3) with the active ram population (x-axis; Table 7), active ewe population (y-axis), and the average kinship of the active rams with themselves and the ewe population (cross on Figure 3). The populations under study can be categorized into 2 profiles. In the first category, the cryopreserved rams were found to be distributed between poorly and closely related to the active rams; this was the case for the CHM and SOL breeds (Figure

3a). In the second category, almost all the rams in the cryobank were found to be poorly related to the active population; this was the case for the RLH, COT, and ROM breeds (Figure 3b).

DISCUSSION

When comparing the results presented in this paper with recent results obtained in other livestock species, the indicators of the genetic variability of the sheep populations under study and of their evolution over time seemed rather good. For instance, in comparison

Table 6. Inbreeding in the reference female population (born from 2004 to 2007), kinship between parents of these females, and realized effective population size

Population ¹	Coefficients of inbreeding (F_i) in the reference population			Average coefficient of kinship (Φ) between parents of the reference population, %	$(F - \Phi)/\Phi$, %	Realized effective population size
	Proportion of animals with $F_i = 0$, %	Proportion of animals with $F_i > 6.25$, %	Average value (F), %			
BDM	20	5	1.9	2.2	-15	231
CHM	10	4	1.9	1.8	+8	182
COT	45	12	2.4	1.3	+82	108
ROM	9	13	4.0	4.1	-4	78
RIN	0	45	7.7	6.2	+24	65
RLH	15	7	2.4	2.1	+12	172
SOL	21	5	1.9	1.5	+24	154

¹BDM = Bleu du Maine; CHM = Charmoise; COT = Cotentin; ROM = Romanov; RIN = Romanov (INRA); RLH = Roussin de la Hague; SOL = Solognote.

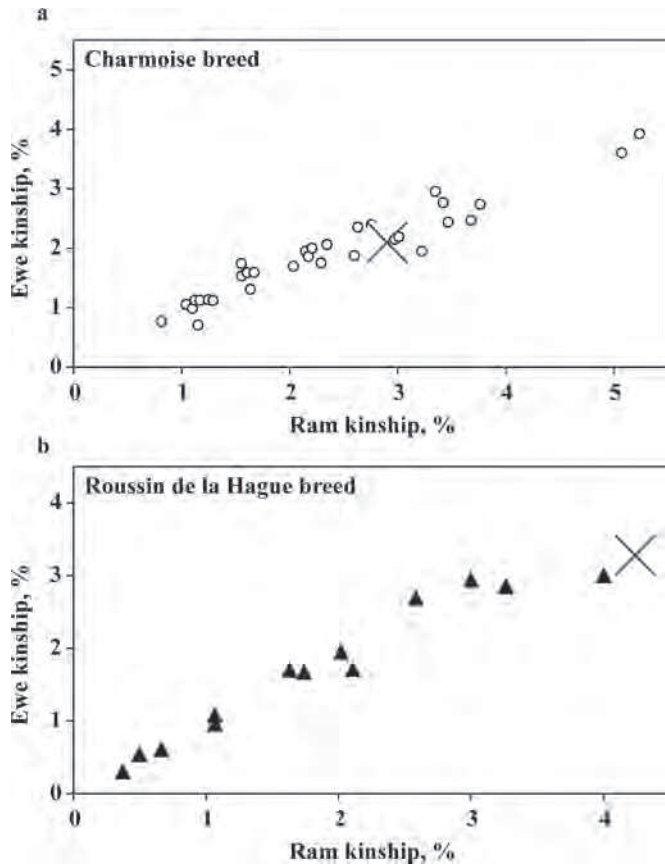


Figure 3. Average kinship of the rams cryopreserved in the French National Cryobank with the active ram population (x-axis) and ewe population (y-axis) for the Charmoise (a) and the Roussin de la Hague (b) breeds. The cross represents the average kinship of the active ram population with itself and the ewe population.

with populations with similar pedigree completeness, the values obtained here for the effective number of ancestors or for the effective population size were generally greater than in French (Verrier et al., 2005) or Swiss (Poncet et al., 2006) draft horse breeds; Austrian (Baumung and Sölkner, 2002), Spanish (Gutiérrez et al., 2003), Italian (Bozzi et al., 2006), or Irish (Mc Parland et al., 2007) beef cattle breeds; and Danish (Sørensen et al., 2005) or Irish (Mc Parland et al., 2007) dairy cattle breeds. It is especially noted that, except for the 2 ROM populations considered, the indicators were better for the rare or almost rare sheep breeds studied in this paper than for dairy cattle breeds with very large populations. In fact, the situation of many dairy cattle breeds has already been described by several authors (see above) and can be explained by the

severe bottlenecks these populations have suffered during the last 5 decades. The favorable situation of meat sheep breeds (Huby et al., 2003; the current report), from a genetic variability point of view, may be partly explained by the low potential to induce differences in male progeny sizes, despite the fact that little or no use of AI in these species could lead to a clear population subdivision with a negative impact on the evolution of genetic variability, as shown by Gutiérrez et al. (2003) in beef cattle.

A synthetic view of the variability across populations of the results obtained in the present study is given in Figure 4, for 4 indicators of genetic variability and their evolution over time, namely the f_e , the effective f_a , the N_g , and the realized Ne_r . According to Figure 4, three groups of populations may be distinguished. First, the BDH, CHM, and SOL breeds showed the greatest values for almost all indicators. They do not have genetic diversity issues compared with other livestock populations. Second, the COT and RLH breeds showed more variable positions from one indicator to the other, generally in the middle part of the distribution, but sometimes on the left or on the right part of the distribution (see the N_g variable). Finally, the 2 ROM populations generally showed the least values for all indicators, with the exception of the N_g variable, for which the RIN was found to be at a central value. These results have to be interpreted in light of the recent history of the population, the differences in their pedigree completeness, and, in some cases, their demographics.

For the BDM, the results could be explained by the fact that, at the beginning of the 1980s, it was by far the breed with the greatest population numbers among all of the breeds studied. However, despite its tremendous demographic loss, almost no collective selection existed and the average number of animals per flock was always small, leading to a greater percentage of rams kept in comparison with other breeds. Last, its breeders were always attentive to inbreeding. The situation with the CHM is mainly due to ewe numbers, which remained quite large and stable over the years. However, its situation was not as good as that of the BDM because it suffered a genetic bottleneck during the 1994 to 1997 period because of a peak in selection pressure. In the following period (2004 to 2007), 2 actions restrained the pressure: the rather massive arrival of new ewes in the selection program because per-head payments were granted to the CHM (based on its being a rare breed), and the national scrapie breeding

Table 7. Number of rams in the French National Cryobank and in the active ram population¹

Item	BDM	CHM	COT	ROM	RIN	RLH
No. of cryobank rams	3	32	11	6	13	14
No. of active rams	46	110	19	12	105	52

¹BDM = Bleu du Maine; CHM = Charmoise; COT = Cotentin; ROM = Romanov; RIN = Romanov (INRA); RLH = Roussin de la Hague; SOL = Solognote.

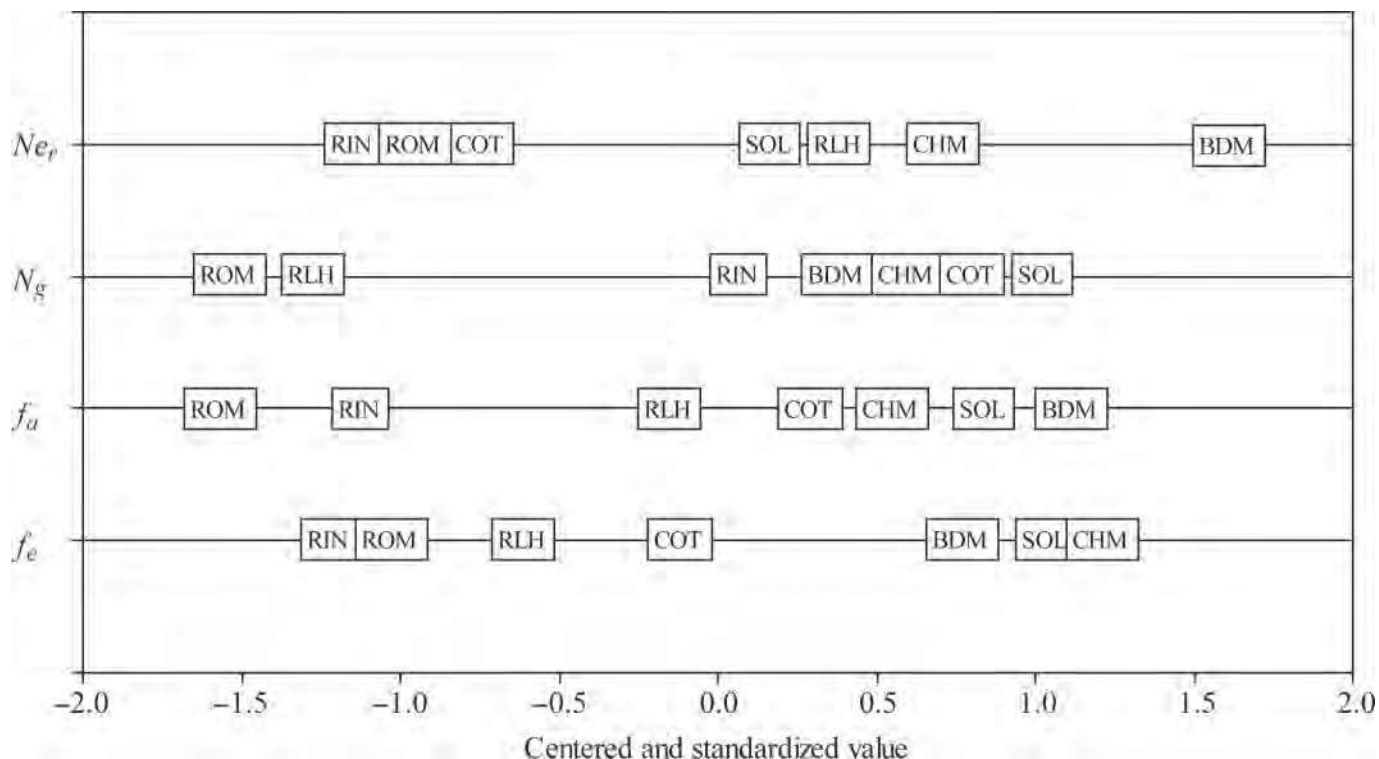


Figure 4. Comparison of the 7 populations under study for their value for 3 indicators of genetic variability: effective number of founders (f_e), effective number of ancestors (f_a), founder genome equivalents (N_g), and realized effective size (N_{e_e}). For a given indicator and a given population, the value is centered and standardized according to the mean and SD across the 7 populations. BDM = Bleu du Maine; CHM = Charmoise; COT = Cotentin; ROM = Romanov; RIN = Romanov (INRA); RLH = Roussin de la Hague; SOL = Solognote.

program, whose impact was, somewhat curiously, to diversify the origin of the rams, as also observed in other breeds (Palhière et al., 2008). As for the SOL, its good results, despite rather small numbers, may be explained by a rather wide genetic basis when the program began, as indicated by the f_e value and by a strict management program intended to restrict the loss of genetic variability, as indicated by the small f/N_g ratio. However, the results of this breed were not as good as expected because of a bottleneck during the 1990s. Huby et al. (2003) reported the overuse of a single ram in the largest flock of the breed. Since this study, the situation seems to have improved because the contribution of the main ancestor decreased from 8.1 to 6.0%.

The results for the COT breed were remarkable because, despite being the smallest in situ breed in our study, its f_a and N_g values were large. The frequent importation of rams from small flocks disconnected from the nucleus flocks was probably the main explanation. However, the COT breed showed the largest discrepancy between inbreeding and kinship. The likely explanation was a lack of thoroughness by some farmers who had a tendency to keep rams related to their ewes. As for the RLH, it was the breed with the greatest f/N_g ratio and whose main ancestor had one of the greatest contributions of all of the breeds studied (7.6). Until 2002, 3 farmers were the main providers of the rams (Huby et al., 2003). With the implementation of the French national scrapie breeding program, the RLH was in an unfavorable situation, with a greater frequen-

cy of the most sensitive allele to scrapie, VRQ (Parot et al., 2004). Because the main providers of young rams for replacement also had a greater frequency of VRQ in their flocks, a breeding center was created to diversify the ram origins. Meanwhile, the breed numbers had been growing significantly since 2005. All this favorably affected the genetic variability of the breed. The inbreeding level and 2 criteria calculated from the probability of gene origin (f_e and f_a) were very similar to those found by Huby et al. (2003) for a reference population (1996 to 2000) born almost 2 generation intervals before the sheep in the current study.

As for the results for the ROM, most of the indicators could be explained by its selection scheme. Only 25% of the purebred ewes were used for replacement; the rest were bred to create F_1 crosses with a meat breed, which considerably restricted the genetic basis of a breed whose numbers were simultaneously dropping at a rapid speed. For the ex situ population, the rather narrow genetic basis of the breed, as well as its small numbers, would explain the situation. However, the case of this population and its result for the f/N_g ratio highlight the effectiveness of management rules, such as rotational mating, when they are rigorously applied in experimental conditions. A difference of almost +25% was observed between the reference population average coefficient of inbreeding and the average kinship coefficient between all the ram and ewe parents of this population. The same difference was found for the SOL breed. This illustrates the fact that, for popula-

tions under a rotational mating scheme, the average kinship between all parents is not the most relevant variable to describe their genetic variability. As shown by Rochambeau and Chevalet (1991), such a difference is expected if the group of origin of the rams to be mated with the ewes of a given group remains constant over time, which was the case for both populations considered here.

The results of the present study have several implications for the management of rare breeds. Vu Tien Khang and Rochambeau (1995) gave some simple rules that are necessary to maintain genetic variability: 1) use as many males and females as possible; 2) even the number of offspring per mate and replace each breeding animal swiftly; and 3) for each breeder, sell and buy animals to and from other farms. When comparing these rules with our analysis, it seems that for species in which AI is not commonly used, the most important factors are to keep as many males as possible, and to distribute the number of female offspring per male evenly. The sire-dam pathway is the one that needs the most attention.

From our results, both the creation of bottlenecks (as revealed by the evolution of some demographic variables and the fe/fa ratio) and gene losses during segregations largely affect the genetic variability of a breed. As has been widely assessed (e.g., Food and Agriculture Organization, 1998; Blackburn, 2004), an easy way to preserve breeds from such effects is the cryopreservation of biological material at regular time intervals. In our case, the current sheep collections allow preservation of either a mirror population (e.g., CHM) or a population related little to the current one (e.g., RLH). Rational rules have been defined to progressively establish collections that will allow preservation of both types of genetic variability (mirror and little related).

The results of both the SOL breed and the RIN show the efficiency of more complicated ways to manage a population, such as dividing it into groups and managing the exchange of reproducers between groups. However, as shown by the results in the SOL breed, human factors and practical constraints met on the farm will interfere with the necessary application of the very strict rules of rotational mating. Thus, such a mating plan should be recommended only in very specific situations (i.e., a rare breed raised in a limited number of flocks; 5 is probably a maximum).

For all these reasons, our recommendations are to place the most importance on helping the farmers 1) to keep a large number of males in their flock and 2) to keep changing them regularly. Additionally, use of cryopreservation is highly recommended, as our results showed. Emphasis should be placed on the choice of rams collected.

A pedigree analysis was performed using the pedigrees of 7 small sheep breed populations. Our work showed that, except in the case of the ROM breed raised on farm, all populations under study have good genetic variability, despite their scarce numbers.

Our goal was to determine which field factors have the greatest impact on the genetic variability of a breed. Our recommendations are validated only with species in which AI is not commonly used, and in which matings are managed at the flock level instead of individually. For these reasons, in France they are more suited to the case of the small ruminant species, but can be extrapolated to any species in which free-range farming is commonly used. However, although this advice is exactly the opposite of a selection scheme, it is not always easy to convince farmers to do so. This message is usually heard more easily in hardy or dairy breeds than in meat breeds because the male breeding value (when progeny testing is impossible to implement) is usually known with weak precision.

In the end, there still is an acute need to find a scientific and practical way to manage the genetic variability of breeds with poor pedigree information and in which several rams are used at the same time to service a large number of ewes, which is often the case in small ruminants under extensive farming systems. The implementation of the software SAUVAGE (Raoul et al., 2004) is currently under way, and it is anticipated that it will achieve both targets, simple management and scientific thoroughness.

LITERATURE CITED

- Baumung, R., and H. Sölkner. 2002. Analysis of pedigrees of Tux-Zillertal, Carinthian Blond and Original Pinzgau cattle population in Austria. *J. Anim. Breed. Genet.* 119:175–181.
- Blackburn, H. D. 2004. Development of national animal genetic resource programs. *Reprod. Fertil. Dev.* 16:27–32.
- Boettcher, P. J., A. Stella, F. Pizzi, and G. Gandini. 2005. The combined use of embryos and semen for cryogenic conservation of mammalian livestock genetic resources. *Genet. Sel. Evol.* 37:657–675.
- Boichard, D. 2002. PEDIG: A Fortran package for pedigree analysis suited for large populations. In *Proc. 7th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod.*, Montpellier, France. Commun. No. 28-13. Y. van der Honing, ed. INRA, Castanet-Tolosan France. (CD-ROM)
- Boichard, D., L. Maignel, and E. Verrier. 1997. The value of using probabilities of gene origin to measure genetic variability in a population. *Genet. Sel. Evol.* 29:5–23.
- Bozzi, R., O. Franci, F. Forabosco, C. Pugliese, A. Crovetto, and F. Filippini. 2006. Genetic variability in three Italian beef cattle breeds derived from pedigree information. *Ital. J. Anim. Sci.* 5:129–137.
- Brochard, M., I. Palhière, J. M. Astruc, F. Barillet, J. Bouix, B. Bibé, F. Dion, J. M. Elsen, D. François, L. Griffon, E. Julien, C. Leymarie, M. Orlianges, T. Pantano, G. Perret, L. Tiphine, and P. Tribon. 2006. Use of the *PrP* major gene to select for scrapie resistance: Example of the 5-year intensive French breeding plan. In *Proc. 8th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod.*, Belo Horizonte, Brazil. Comm. No. 22–32. [CD-ROM] Instituto Prociencia, Belo Horizonte, Brazil.
- Chevalet, C., and H. Rochambeau. 1985. Predicting the genetic drift in small populations. *Livest. Prod. Sci.* 13:207–218.
- Colleau, J. J., and L. Avon. 2008. Sustainable long-term conservation of rare cattle breeds using rotational AI sires. *Genet. Sel. Evol.* 40:415–432.
- Fernandez, J., M. A. Toro, and A. Caballero. 2008. Management of subdivided populations in conservation programs: Development of a novel dynamic system. *Genetics* 179:683–692.

- Fernandez, J., B. Villanueva, R. Pong-Wong, and M. A. Toro. 2005. Efficiency of the use of pedigree and molecular information in conservation programs. *Genetics* 170:1313–1321.
- Food and Agriculture Organization. 1998. Secondary guidelines for development of national farm animal genetic resources management plans. Page 63 in *Management of Small Populations at Risk*. Food Agric. Org. United Nations, Rome, Italy.
- Food and Agriculture Organization. 2007. *The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture*. B. Rischkowsky and D. Pilling, ed. Food Agric. Org. United Nations, Rome, Italy.
- Goyache, F., J. P. Gutiérrez, I. Fernandez, E. Gomez, I. Alvarez, J. Diez, and L. J. Royo. 2003. Using pedigree information to monitor genetic variability of endangered populations: The Xalda sheep breed of Asturias as an example. *J. Anim. Breed. Genet.* 120:95–105.
- Gutiérrez, J. P., J. Altarriba, C. Díaz, R. Quintanilla, J. Cañón, and J. Piedrafito. 2003. Pedigree analysis of eight Spanish beef cattle breeds. *Genet. Sel. Evol.* 35:43–63.
- Gutiérrez, J. P., I. Cervantes, and F. Goyache. 2009. Improving the estimation of realized effective population sizes in farm animals. *J. Anim. Breed. Genet.* 126:327–332.
- Gutiérrez, J. P., I. Cervantes, A. Molina, M. Valera, and F. Goyache. 2008. Individual increase in inbreeding allows estimating effective sizes from pedigrees. *Genet. Sel. Evol.* 40:359–378.
- Huby, M., L. Griffon, S. Moureaux, H. de Rochambeau, C. Danchin-Burge, and E. Verrier. 2003. Genetic variability of six French meat breeds in relation to their genetic management. *Genet. Sel. Evol.* 35:637–655.
- Institut de l'Élevage. 2008. *Bilan du Contrôle de Performances ovins allaitants (campagne 2007)*. Institut de l'Élevage, Paris, France.
- James, J. W. 1972. Computation of genetic contributions from pedigrees. *Theor. Appl. Genet.* 42:272–273.
- Lacy, R. C. 1989. Analysis of founder representation in pedigrees: Founder equivalents and founder genome equivalents. *Zoo Biol.* 8:111–123.
- Leroy, G., X. Rognon, A. Varlet, C. Joffrin, and E. Verrier. 2006. Genetic variability in French dog breeds assessed by pedigree data. *J. Anim. Breed. Genet.* 123:1–9.
- MacCluer, J. W., J. L. VandeBerg, B. Read, and O. A. Ryder. 1986. Pedigree analysis by computer simulation. *Zoo Biol.* 5:147–160.
- Mc Parland, S., J. F. Kearney, M. Rath, and D. P. Berry. 2007. Inbreeding trends and pedigree analysis of Irish dairy and beef cattle populations. *J. Anim. Sci.* 85:322–331.
- Meuwissen, T. H. E., and Z. Luo. 1992. Computing inbreeding coefficient in large populations. *Genet. Sel. Evol.* 24:305–313.
- Meuwissen, T. H. E., and J. A. Wooliams. 1994. Effective sizes of livestock populations to prevent a decline in fitness. *Genetics* 89:1019–1026.
- Palhière, I., M. Brochard, K. Moazami-Goudarzi, D. Laloë, Y. Amigues, B. Bed'Hom, E. Neuts, C. Leymarie, T. Pantano, E. P. Crihiu, B. Bibé, and E. Verrier. 2008. Impact of the strong selection for the *PrP* major gene on the genetic variability of four French sheep breeds. *Genet. Sel. Evol.* 40:663–680.
- Parot, E., I. Palhière, C. Guintard, O. Delaval, T. Pouille, and C. Danchin-Burge. 2004. Sélection pour la résistance à la tremblante dans une race ovine à petit effectif: Le Roussin de la Hague. Page 339 in *11eme Renc. Rech. Rum.*, Paris, France. INRA/Institut de l'Élevage, Paris, France.
- Poncet, P. A., W. Pfister, J. Muntwyler, M. L. Glowatzki-Mullis, and C. Gaillard. 2006. Analysis of pedigree and conformation data to explain genetic variability of the horse breed Franches-Montagnes. *J. Anim. Breed. Genet.* 123:114–121.
- Raoul, J., C. Danchin-Burge, H. de Rochambeau, and E. Verrier. 2004. SAUVAGE, a software to manage a population with few pedigrees. 55th EAAP Annu. Meet., Bled, Slovenia. EAAP, Rome, Italy.
- Ricordeau, G., J. Thimonier, J. P. Poivey, M. A. Driancourt, M. T. Hocheau de Reviers, and L. Tchamitchian. 1990. INRA research on the Romanov sheep in France: A review. *Livest. Prod. Sci.* 24:305–332.
- Rochambeau, H., and C. Chevalet. 1990. Genetic principles of conservation. *Proc. 4th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod.* (Edinburgh) 13:434–442.
- Scherf, B. D. 2000. *World Watch List for Domestic Animal Diversity*. 3rd ed. Food Agric. Org. United Nations, Rome, Italy.
- Sørensen, A. C., M. K. Sørensen, and P. Berg. 2005. Inbreeding in Danish dairy cattle breeds. *J. Dairy Sci.* 88:1865–1872.
- Verrier, E., C. Danchin-Burge, S. Moureaux, L. Ollivier, M. Tixier-Boichard, M. J. Maignel, J. P. Bidanel, and F. Clement. 2003. What should be preserved: Genetic goals and collection protocols for the French National Cryobank. Pages 79–89 in *Workshop on Cryopreservation of AnGR in Europe*, Paris, France. D. Planchenault, Paris, France.
- Verrier, E., V. Loywyck, J. Donvez, C. Blouin, C. Joffrin, G. Heyman, and J. F. Cottrant. 2005. Gestion génétique des races à petits effectifs: Principes et application aux cas du cheval de trait Boulonnais et de l'âne Grand Noir du Berry. *J. Rech. Equine* 31:161–171.
- Vu Tien Khang, J., and H. Rochambeau. 1995. *Gestion de la variabilité génétique dans les petites populations d'animaux domestiques: Principales recommandations*. Institut de l'Élevage, Paris, France.

Supplementary Material

Supplementary material can be found at:
<http://jas.fass.org/cgi/content/full/jas.2009-1961/DC1>

References

This article cites 27 articles, 4 of which you can access for free at:
<http://jas.fass.org/cgi/content/full/88/2/505#BIBL>

Supplemental Table 1. Number of sires, grand-sires, and offspring left by sires and grand-sires per breed and per period

Breed ¹	Period	No. of dam sires	Average no. of ewe offspring per sire	No. of paternal grand-sires	Average No. of reproducing ewe by paternal grand-sire
BDM	1981/1984	383	30.0	154	68.0
	1991/1994	107	27.9	52	52.0
	2001/2004	66	31.3	34	47.4
CHM	1981/1984	216	30.8	116	49.9
	1991/1994	149	40.4	74	77.9
	2001/2004	197	33.9	101	66.0
COT	1981/1984	56	12.2	40	16.8
	1991/1994	32	16.9	21	25.0
	2001/2004	40	12.6	25	17.8
ROM	1981/1984	194	31.2	72	54.9
	1991/1994	66	33.9	41	45.9
	2001/2004	32	38.3	13	89.8
RIN	1981/1984	28	23.3	25	26.1
	1991/1994	47	15.1	28	6.4
	2001/2004	32	6.9	26	8.5
RLH	1981/1984	103	23.7	26	68.1
	1991/1994	95	35.4	38	83.9
	2001/2004	169	24.8	68	59.5
SOL	1981/1984	87	19.3	40	35.1
	1991/1994	25	33.0	14	57.0
	2001/2004	64	28.6	29	59.7

¹BDM = Bleu du Maine; CHM = Charmoise; COT = Cotentin; ROM = Romanov; RIN = Romanov (INRA); RLH = Roussin de la Hague; SOL = Solognote.

c) Diversité *in situ* et *ex situ* des races ovines allaitantes en sélection

En 2011, la collection nationale avoisinait les 240 000 doses provenant de 11 espèces différentes (www.cryobanque.org). C'est en bovin laitier (cf. Danchin-Burge, 2011) et en ovin allaitant avec 7 races (Blanc du Massif Central - BMC, Charmoise, Mouton Charollais, Mouton Vendéen, Rouge de l'Ouest, Suffolk et Texel, pour plus de 260 donneurs) que les collections étaient les plus riches. Dans cette partie, nous nous proposons d'étudier la diversité *in situ* et *ex situ* des races ovines allaitantes dont les collections sont les plus importantes.

Tableau 12 : Taille des différentes populations de référence (femelle active= F_{ref} , mâle actif =Act, mâle Cryobanque=CBN) et nombre d'équivalent génération moyen (EqG)

Race	F_{ref}	Act	CBN	<i>Dont Type II</i>	<i>Dont Type III</i>	EqG F_{ref}	EqG Act	EqG CBN
BMC	29 333	311	28	28	0	5,3	4,9	4,2
Charmoise	6 556	110	32	0	32	6,8	3,8	3,9
M. Charollais	33 066	714	41	10	31	9,5	9,1	7,4
M. Vendéen	26 461	370	49	30	19	10,2	9,5	8,6
Rouge de l'Ouest	19 125	270	27	2	25	9,1	8,7	6,2
Suffolk	10 643	250	36	1	35	6,7	6,4	5,6
Texel	28 066	315	63	0	63	8,8	8,9	6,6

La taille des populations de béliers actifs est généralement élevée en comparaison de celle des populations femelles, en raison de l'importance de la monte naturelle dans cette filière. Le nombre de béliers en collection (Tableau 12) varie de 27 (Rouge de l'Ouest) à 63 (Texel). Dans cette filière, certains animaux ont été classés à la fois en type II et en type III. Par exemple, un bélier Texel améliorateur des années 1990 qui s'est révélé *a posteriori* porteur d'un allèle de sensibilité à la tremblante est classé à la fois en type III (représentatif) et en type II (originalité, au titre du gène PrP).

La connaissance des généalogies de toutes les populations étudiées peut être qualifiée comme bonne, l'indicateur « Equivalent Générations remontées » (EqGen) variant entre 3,8 (Act Charmois) et 10,2 (Fref Mouton Vendéen). En race Charmoise, la qualité des généalogies des populations mâles est très inférieure à celle de la population femelle. Ceci peut être expliqué par le fait que les animaux en collection sont nés dans les années 1990, soit plusieurs générations avant les femelles actives. En race Texel, 3 béliers des collections sont nés dans

les années 1970 ce qui limite également le niveau d'information généalogique des animaux conservés *ex situ*.

Tableau 13 : résultats issus de la probabilité d'origine des gènes pour les trois populations étudiées : femelles de référence (F_{ref}), mâles de la Cryobanque (CBN) et actifs (Act)

Race	Nbre de fondateurs			Nbre de fondateurs efficace (Fe)			Nbre d'ancêtres efficace (Af)		
	F_{ref}	Act	CBN	F_{ref}	Act	CBN	F_{ref}	Act	CBN
BMC	17 525	1 707	321	294	212	107	138	102	39
Charmoise	1 347	443	807	134	107	129	50	35	47
M. Charollais	3 415	1 472	692	209	237	203	71	99	62
M. Vendéen	3 107	1 075	531	115	117	108	55	54	38
Rouge Ouest	3 258	1 093	568	183	191	145	77	80	50
Suffolk	2 374	956	817	203	172	185	87	75	63
Texel	4 424	1 230	1 925	201	180	160	110	89	83

D'après le Tableau 13, le nombre d'ancêtre efficace est toujours le plus élevé pour la population femelle de référence, à l'exception des mâles actifs Rouge de l'Ouest (mais dont les généalogies sont bien moins connues que pour les femelles). L'écart est faible entre nombre d'ancêtres efficace des femelles et des mâles en collection pour la Charmoise et le mouton Charollais. Pour la Charmoise, l'écart important de connaissance des généalogies permet sans doute d'expliquer partiellement la situation. A l'inverse, l'écart entre nombre d'ancêtres efficace des populations femelles *versus* mâles en Cryobanque est particulièrement important pour la race BMC, et en faveur des femelles. Enfin, à la comparaison entre mâles actifs et mâles en collection, la diversité est encore du côté de la population *in situ* - hors race Charmoise. Le ratio Af/Fe est plus faible pour les mâles CBN que pour les mâles actifs. Les mâles en Cryobanque sont tous des béliers d'IA, issus du programme de sélection, tandis que les mâles actifs sont à la fois des béliers d'IA et des béliers de monte naturelle, incluant des élevages hors noyau de sélection, d'où leur plus grande diversité.

Tableau 14 : Parenté (Φ) intra et inter-populations

Race	ΦF_{ref}	ΦAct	ΦCBN	$\Phi CBN * Act$	$\Phi CBN * F_{ref}$
BMC	1,6%	1,8%	1,3%	1,4%	1,3%
Charmoise	0,7%	0,9%	1,1%	0,9%	0,5%
Mouton Charollais	1,1%	1,7%	1,1%	1,3%	1,0%
Mouton Vendéen	2,1%	2,4%	2,7%	2,4%	2,2%
Rouge de l'Ouest	1,7%	2,0%	1,3%	1,9%	1,7%
Suffolk	1,1%	1,5%	1,1%	1,4%	1,2%
Texel	2,1%	2,9%	2,2%	2,4%	1,9%

A l'exception de deux collections (Charmoise et Mouton Vendéen), l'apparement moyen entre mâles de la collection de la Cryobanque est toujours inférieur à l'apparement entre mâles actifs (Tableau 14).

En conclusion des études réalisées pour la filière ovine allaitante, au regard des indicateurs, la variabilité génétique des différentes races ovines allaitantes peut être qualifiée comme plutôt correcte. Comme pour les caprins, quelques cas posent question, soit du fait de pratiques de gestion préjudiciables à la diversité génétique (accouplement entre apparentés proches...), soit du fait d'une utilisation de l'IA pour créer les mâles du noyau de sélection largement supérieure à la moyenne (Charmoise). D'une manière générale, peu d'Organismes de Sélection ont mis en place des pratiques de gestion de la variabilité génétique. Le cas de la Charmoise montre que la marge de manœuvre est, somme toute, assez étroite, beaucoup de ces populations ayant un noyau de sélection de taille limitée. Il serait donc intéressant de sensibiliser les gestionnaires à l'importance de mettre en place des programmes de gestion adaptés. De plus, pour les races ovines sélectionnées, les collections en Cryobanque restent limitées du point de vue de la diversité, ce qui fait qu'elles ne pourront servir qu'à la marge pour réinjecter de la variabilité génétique dans ces populations en cas de besoin.

B. Discussion : analyse multi-espèces de la variabilité génétique des races de ruminants

Le calcul d'indicateurs de variabilité génétique intra-population à partir des généalogies a été réalisé pour 69 races différentes, dont les résultats par race sont consultables dans trois publications de l'Institut de l'élevage (2009, 2010, 2011). C'est à partir de cet ensemble de données que nous avons réalisé une analyse multi-espèce des indicateurs de variabilité génétique des races de ruminants élevés en France. Nous discuterons ensemble des critères prépondérants influençant la variabilité génétique des ruminants.

1. Analyse des indicateurs de variabilité génétique par filière

Pour réaliser cette analyse, nous avons essayé de procéder à un regroupement permettant d'obtenir des tailles de groupe suffisantes pour un traitement statistique, tout en respectant une certaine cohérence intra groupe, d'un point de vue de la gestion de la reproduction. Un premier essai a été réalisé en regroupant toutes les races par filière (petits ruminants allaitants, petits ruminants laitiers, bovins allaitants, bovins laitiers) mais le modèle (voir plus loin) s'est révélé plus discriminant quand les races ont été classées en 5 groupes (1) en séparant les races à petits effectifs des races en sélection, puis (2) dans le groupe des races en sélection, en séparant en 4 groupes : petits ruminants laitiers, petits ruminants allaitants, bovins allaitants et bovins laitiers.

Nous avons inclus dans le groupe des races à petits effectifs celles qui sont caractérisées en tant que telles par l'arrêté du 26 juillet 2007 «*fixant la liste des races des espèces bovine, ovine, caprine et porcine reconnues et précisant les ressources zoogénétiques présentant un intérêt pour la conservation du patrimoine génétique du cheptel et l'aménagement du territoire*». Néanmoins deux races ovines ont posé question : la Hampshire et la Roussin. Elles sont considérées par l'arrêté comme des races en sélection, mais leurs tailles de population de référence et leurs nombre de fondateurs les classent parmi les races à petits effectifs. Pour ces raisons, ici, elles ont été incluses dans le groupe des races à PE.

Pour les races en sélection, les caprins et ovins laitiers ont été regroupés en raison d'une utilisation similaire de l'IA pour diffuser le progrès génétique, avec, schématiquement, un noyau de sélection fort utilisateur de l'IA, au moins pour le renouvellement des reproducteurs, et une diffusion de l'IA hors noyau *via* les mâles de monte naturelle, majoritairement issus de l'IA. Pour les ruminants allaitants, il se posait la question de grouper toutes les races ou des les séparer par espèce. La taille de population étant en moyenne largement plus élevée en bovins viande, le taux de pénétration de l'IA étant trois fois supérieurs en bovins allaitants (13%) qu'en ovins allaitants (4%) (France Génétique Elevage, 2011), et les intervalles de génération étant plus courts en petits ruminants, deux groupes ont finalement été constitués : ovins allaitants et bovins allaitants. Ces groupes sont appelés «*filières*» dans la suite du document. Au total, ce sont 8 races bovines laitières, 7 races de petits ruminants laitiers, 21

rares ovines allaitantes, 8 races bovines allaitantes, et 25 races à petits effectifs qui ont été analysées (voir Tableau 15).

Tableau 15 : Liste des races par filière

Bovins viande	Aubrac ; Blonde d'Aquitaine ; Charolaise ; Gasconne ; Limousine ; Parthenaise ; Rouge des Prés ; Salers
Bovins lait	Abondance ; Brune ; Montbéliarde ; Normande ; Pie Rouge des Plaines ; Prim'Holstein ; Simmental Française ; Tarentaise
Ovins allaitants	Berrichon du Cher ; Bizet ; BMC ; Causse du Lot ; Charmoise ; Est à Laine Mérinos ; Grivette ; Lacaune Viande ; Limousine ; Mérinos d'Arles ; Mouton Charollais ; Mouton Vendéen ; Noire du Velay ; OIF ; Préalpes ; Rava ; Romane ; Rouge de l'Ouest ; Suffolk ; Tarasconnaise ; Texel
Petits ruminants laitiers	Alpine ; Basco-Béarnaise ; Corse ; Lacaune ; Manech Tête Noire ; Manech Tête Rousse ; Saanen
Petits effectifs	Angora ; Avranchin ; Bazadaise ; Berrichon de l'Indre ; Bleu du Maine ; Boulonnais ; Chèvre des Fossés ; Chèvre des Pyrénées ; Chèvre des Savoie ; Chèvre du Massif Central ; Chèvre Lorraine ; Clun Forest ; Cotentin ; Dorset Down ; Finnoise ; Hampshire ; Mérinos de Rambouillet ; Poitevine ; Provencale ; Romanov ; Rouge Flamande ; Roussin ; Solognote ; Southdown ; Vosgienne

A partir des résultats propres à chaque race, une analyse de variance a été réalisée en utilisant la procédure de SAS PROC MIXED (v 9.1.3; SAS Inst. Inc., Cary NC). Nous nous sommes limités ici à un objectif relativement simple, à savoir tester s'il existe un effet « filière » pour les différents indicateurs calculés. Les indicateurs considérés ont été :

- Paramètres démographiques : nombre total d'individus dans le fichier, taille de la population de référence, nombre de fondateurs, intervalle de génération (T),
- Indicateurs de la qualité de l'information généalogique : nombre de générations remontées, nombre d'ancêtres connus,
- Indicateurs issus des probabilités d'origine des gènes : nombre de fondateurs efficaces F_e , nombre d'ancêtres efficaces A_f , nombre d'ancêtres contribuant pour 50 % des gènes - N_{50} , ratio A_f/F_e , contribution de l'ancêtre principal – C_1
- Indicateurs issus de l'identité des gènes : consanguinité F , apparentement Φ , pourcentage d'animaux ayant plus de 6,25% de taux de consanguinité -sup, taille efficace de population - N_e .

Pour chaque indicateur (X), le modèle était le suivant :

$$X_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

où l'effet de la filière (α_i) est considéré comme fixé, et ε_{ij} l'erreur résiduelle suivant une distribution $N(0, \sigma_{ij}^2)$. Un modèle a été testé en ajoutant un effet race traité comme aléatoire

(simple échantillonnage intra filière). Cet effet s'étant révélé non significatif, il n'a pas été retenu dans le modèle.

Les tableaux présentent quelques résultats simples (moyenne, écart type, minimum et maximum) pour certains des indicateurs démographiques et de qualité de généalogies (Tableau 16 et Tableau 17), de probabilité d'origine des gènes (Tableau 18) et d'identité (Tableau 19). Le terme PR signifie petits ruminants.

Tableau 16 : Indicateurs démographiques des différentes filières analysées : nombre total d'individus dans le fichier, population de référence, nombre de fondateurs et intervalle de génération (T)

		Nbre total d'individus dans le fichier	Population de référence	Nbre de fondateurs	T*
Bovins allaitants	Moyenne	4 778 869	214 350	62 021	5,2^a
	Ecart type	7 553 428	263 346	77 805	0,5
	Maximum	20 624 046	746 371	219 760	6,1
	Minimum	223 944	17 154	6 317	4,6
Bovins laitiers	Moyenne	3 457 613	369 152	116 719	5,0^{a,c}
	Ecart type	6 888 566	720 045	226 321	0,7
	Maximum	20 109 663	2 099 307	662 093	5,9
	Minimum	73 937	6 594	3 246	4,0
Ovins allaitants	Moyenne	507 704	16 744	5 529	3,6^b
	Ecart type	383 652	12 669	3 863	0,3
	Maximum	1 426 725	45 002	17 525	4,1
	Minimum	84 672	3 593	1 347	2,9
PR laitiers	Moyenne	928 318	136 368	51 126	3,5^{b,c}
	Ecart type	1 074 458	188 162	72 161	0,3
	Maximum	2 811 234	535 417	209 414	4,1
	Minimum	35 851	6 324	6 295	3,2
Races à PE	Moyenne	22 578	1 405	457	3,8^{b,c}
	Ecart type	23 657	1 263	307	1,0
	Maximum	108 285	5 095	1 075	7,0
	Minimum	783	178	50	2,8

* Effet filière significatif à $P < 0,0001$, Lettres différentes : moyennes significativement différentes

Les critères démographiques calculés montrent le plus d'homogénéité pour les petits ruminants allaitants, où l'écart-type entre races intra-filière est toujours le plus faible quel que soit le paramètre considéré. Dans les autres filières, on se trouve confronté à des contrastes forts entre quelques races majeures sur le plan de la taille du cheptel (Prim'Holstein, Normande, Montbéliarde en bovins laitiers, Lacaune, Alpine et Saanen pour les petits ruminants laitiers, Charolaise, Limousine et Blonde d'Aquitaine pour les races bovines allaitantes) et des populations aux effectifs moindres.

Pour ces différents paramètres démographiques, le seul critère où la filière ait un effet significatif significative ($P < 0,0001$) (T test) est l'intervalle de génération. L'intervalle de génération des petits ruminants est en moyenne plus court d'une année que celui des bovins pour une simple raison physiologique : les caprins et les ovins peuvent se reproduire dès leur

première année, tandis que pour les bovins il faut attendre la seconde ou troisième année suivant les races.

Tableau 17 : Indicateurs de qualité des généalogies des différentes filières : nombre d'équivalent génération moyen (EqG) et nombre d'ancêtres connus

		EqG	Nbre d'ancêtres connus
Bovins allaitants	Moyenne	6,4	2 063
	Ecart type	1,6	2 187
	Maximum	8,0	6 185
	Minimum	3,6	48
Bovins laitiers	Moyenne	6,4	817
	Ecart type	1,2	1 027
	Maximum	8,3	3 171
	Minimum	5,3	170
Ovins allaitants	Moyenne	6,4	2 344
	Ecart type	2,2	3 267
	Maximum	10,2	11 071
	Minimum	3,3	52
PR laitiers	Moyenne	6,7	3755
	Ecart type	2,1	7227
	Maximum	9,9	20 030
	Minimum	3,3	37
Races à PE	Moyenne	4,9	717
	Ecart type	1,6	1 426
	Maximum	8,1	7 215
	Minimum	2,5	25

Les qualités des généalogies présentent des résultats homogènes entre filières, avec en moyenne un peu plus de 6 générations remontées par femelle issue de la population de référence pour les races en sélection. Elle est la plus faible pour les races à petits effectifs (4,8 en moyenne). La variabilité la plus forte se trouve pour les petits ruminants allaitants (contraste entre races ovines à viande très bien renseignées et races rustiques avec peu de filiations paternelles) et petits ruminants laitiers (Lacaune *versus* Corse, où le travail d'enregistrement des généalogies est récent). En revanche le nombre d'ancêtres connus par femelle de la population de référence présente une hétérogénéité assez importante par filière. Un même nombre d'équivalents génération peut être obtenu à partir de généalogies homogènes, bien connues sur un nombre de générations limité mais aussi à partir de généalogies très déséquilibrées, avec quelques animaux pour qui les informations peuvent être remontées sur un très grand nombre de générations : jusqu'à 28 par exemple pour la race Lacaune lait. Le calcul du nombre d'ancêtres permet de repérer ces déséquilibres. Enfin, la filière n'a pas d'effet significatif pour les paramètres de qualité des généalogies.

Tableau 18 : Indicateurs de probabilité d'origine des gènes des différentes filières analysées : nombre de fondateurs efficaces (Fe), nombre d'ancêtres efficaces (Af), nombre d'ancêtres expliquant 50 % des gènes (N50), ratio Af/Fe (%) et contribution de l'ancêtre principale C1 (%)

		Fe*	Af*	N50*	Ratio*	C1*
Bovins allaitants	Moyenne	346 ^a	139 ^a	80 ^a	43% ^{a,b}	5% ^{a,d}
	Ecart type	194	63	47	12%	1%
	Maximum	696	249	149	57%	7%
	Minimum	175	78	34	27%	3%
Bovins laitiers	Moyenne	89 ^{b,c,d}	26 ^b	10 ^b	31% ^a	12% ^{b,c,d}
	Ecart type	54	13	5	5%	4%
	Maximum	209	51	18	37%	18%
	Minimum	41	15	5	24%	6%
Ovins allaitants	Moyenne	246 ^{a,c}	88 ^{a,c}	37 ^b	39% ^a	5% ^a
	Ecart type	138	40	18	9%	2%
	Maximum	655	215	89	55%	10%
	Minimum	74	27	10	22%	2%
PR laitiers	Moyenne	148 ^{a,c,d}	55 ^{b,c}	26 ^b	37% ^{a,b}	9% ^{a,c,d}
	Ecart type	64	31	18	8%	3%
	Maximum	252	114	62	45%	14%
	Minimum	73	25	11	24%	4%
Races à PE	Moyenne	70 ^{b,d}	37 ^b	15 ^b	56% ^b	10% ^d
	Ecart type	37	18	8	15%	4%
	Maximum	143	81	35	94%	19%
	Minimum	18	12	5	34%	4%

* Effet filière significatif à $P < 0,0001$, Lettres différentes : moyennes significativement différentes

Tous les indicateurs issus de la probabilité d'origine des gènes (Tableau 18) présentent des valeurs avec un gradient croissant de diversité depuis les bovins laitiers suivi des petits ruminants laitiers, des petits ruminants allaitants et enfin des bovins viande. Pour les races à petits effectifs, le positionnement par rapport aux bovins laitiers change en fonction des indicateurs. En moyenne, le nombre de fondateurs efficaces est plus élevé pour les bovins laitiers que pour les races à PE, mais leur nombre d'ancêtre efficace est plus faible. Corollaire d'une sélection intense, les goulets d'étranglement présents en bovins laitiers pénalisent leur variabilité génétique, tandis que c'est pour les races à petits effectifs que l'on retrouve le ratio Af/Fe le plus élevé (56% en moyenne contre 31% pour les bovins laitiers), ces races n'ayant pas de programmes de sélection. La filière a un effet significatif ($P < 0,0001$) pour tous les critères issus de la probabilité d'origine des gènes. Pour le nombre d'ancêtres efficaces, on retrouve une dichotomie claire entre, d'une part, les filières allaitantes avec des valeurs élevées du nombre d'ancêtres efficaces et, d'autre part, les filières laitières ainsi que les races à petits effectifs.

Tableau 19 : Indicateurs de probabilité d'identité des gènes des différentes filières analysées : consanguinité (F, %), pourcentage d'animaux ayant plus de 6,25% de taux de consanguinité (sup, %) apparentement (Φ , %) et taille efficace de population (N_e)

		F*	Sup*	Φ *	N_e *
Bovins allaitants	Moyenne	1,1 ^{a,b}	3,4	0,8 ^a	297 ^a
	Ecart type	0,7	3,40	0,4	168
	Maximum	2,7	11,7	1,3	646
	Minimum	0,5	1,2	0,3	136
Bovins laitiers	Moyenne	2,9 ^{a,b}	3,4	3,9 ^{b,c}	113 ^{a,b}
	Ecart type	1,1	3,4	1,3	59
	Maximum	4,0	11,7	5,2	238
	Minimum	1,0	1,2	1,8	68
Ovins allaitants	Moyenne	1,5 ^a	3,8	1,4 ^a	240 ^a
	Ecart type	0,9	3,0	0,9	111
	Maximum	4,3	13,1	4,6	536
	Minimum	0,3	0,9	0,4	89
PR laitiers	Moyenne	1,9 ^{a,b}	2,6	2,1 ^{a,c,d}	224 ^{a,b}
	Ecart type	0,9	2,0	1,0	206
	Maximum	2,8	5,5	3,7	675
	Minimum	0,2	0,1	0,7	83
Races à PE	Moyenne	2,9 ^b	8,8	3,5 ^{b,d}	80 ^b
	Ecart type	1,5	8,5	1,8	45
	Maximum	7,0	33,7	8,4	202
	Minimum	0,8	0	0,5	25

* Effet filière significatif à $P < 0,0001$, Lettres différentes : moyennes significativement différentes

D'après Boichard *et al.* (1997), l'estimation du coefficient de consanguinité moyen est plus sensible au niveau d'information généalogique que le calcul des paramètres déduits des origines des gènes. C'est pour cette raison que la taille efficace des races a été calculée en suivant la formule Gutiérrez *et al.* (2009), qui prend en compte la connaissance des généalogies, pour obtenir un rendu vraisemblablement plus juste de la situation.

On trouve des résultats pour les indicateurs de diversité qui suivent ceux issus de la probabilité d'identité, à savoir un gradient croissant de diversité allant des bovins laitiers aux bovins viande, les petits ruminants laitiers et allaitants se trouvant en position intermédiaire (Tableau 19). En revanche, ces indicateurs sont moins favorables aux races à petits effectifs, qui se trouvent souvent avec les indicateurs les plus faibles de tous les groupes, et ce malgré des généalogies en moyenne moins bien connues (Tableau 16). C'est probablement leur plus petite taille de population qui fait que les races à petits effectifs subissent un accroissement important de leur consanguinité au cours du temps. Enfin, il faut noter, toujours pour ce groupe, que de façon générale, il semble qu'il existe plus de pratiques d'accouplements entre apparentés que pour les races en sélection. En effet, le niveau de consanguinité moyen des races à PE est égal à celui des bovins laitiers (2,9%), mais le pourcentage d'animaux ayant un taux de consanguinité supérieur à 6,25% est beaucoup plus élevé pour les races à PE que pour les races bovines laitières (8,8% *versus* 3,4%). Ces pratiques peuvent s'expliquer par plusieurs

facteurs : difficulté à changer de reproducteurs, en particulier pour des espèces où l'IA (en congelé) est difficile à mettre en place (ovins allaitants) ou parfois mal perçu par les éleveurs (caprins), attachement affectif aux animaux (surtout en caprins) qui fait que les mâles ne sont pas assez renouvelés et aussi dans certains cas des désaccords entre éleveurs entre ce qu'est un animal « de la race », aboutissant à la création de petits groupes qui ne s'échangent des mâles qu'entre eux, voire à l'éleveur sectaire qui pense être le seul détenteur de la « vraie » race et qui n'utilise plus que des animaux lui appartenant...

On remarque que le niveau de consanguinité moyen est inférieur à celui de l'apparentement pour les bovins laitiers, petits ruminants laitiers et races à petits effectifs tandis qu'il est supérieur ou égal dans les filières allaitantes. Pour les filières laitières, l'explication est probablement liée à une gestion des accouplements pour éviter de faire reproduire des apparentés proches et à la taille importante des populations, tandis que pour les races à faible effectifs, la taille limitée des populations est probablement le facteur explicatif. Néanmoins, parmi les races à petits effectifs, on trouve certaines populations avec une consanguinité supérieure à la parenté (Chèvre Poitevine, des Fossés, race ovine Cotentin etc., voir les rapports *ad hoc*) : ce sont en général des races où les éleveurs pratiquent fréquemment des accouplements entre apparentés. Comme pour les indicateurs issus de la probabilité d'origine des gènes, la filière a un effet significatif ($P < 0,0001$) pour tous les indicateurs issus de la probabilité d'identité des gènes.

2. Critères prépondérants influençant la variabilité génétique des races de ruminants

Pour les indicateurs de variabilité, on se trouve dans un continuum avec, du côté le plus avantage, les races bovines allaitantes, puis les petits ruminants laitiers et les petits ruminants allaitants, et enfin les races bovines laitières. Les races à petits effectifs présentent des résultats plus hétérogènes. De façon globale, les valeurs plus ou moins élevées des indicateurs de variabilité génétique par filière sont le reflet de plusieurs facteurs :

- Le taux de pénétration de l'IA pour renouveler les reproducteurs ;
- L'effectif des reproducteurs femelles ;
- L'existence ou non de systèmes de gestion de la diversité ;
- L'introggression régulière ou non de gènes étrangers.

Nous pouvons illustrer cela dans le cas des filières laitières où l'intensité de sélection est très importante. Nous avons montré que les indicateurs de variabilité génétique sont inversement proportionnels au pouvoir de diffusion de l'IA. Ces indicateurs sont :

- les plus faibles pour les bovins, où l'on peut collecter des dizaines de milliers de doses pour un seul taureau. C'est aussi dans cette filière que le taux de pénétration de l'IA est le plus élevé ;
- Meilleurs pour les caprins, où le nombre de doses d'IA est limité à quelques centaines par mâle, mais où l'utilisation de la semence congelée est possible (ce qui signifie que l'on peut constituer des stocks : on augmente ainsi le pouvoir de diffusion d'un mâle dans le temps et dans l'espace, la semence pouvant être distribuée sur l'ensemble du territoire français, voire à l'étranger) ;
- Les plus élevés pour la Lacaune, une race ovine. C'est une espèce où le pouvoir de diffusion est limité à la fois par le nombre de doses que l'on peut collecter par mâle (similaire à celui des caprins) et par une utilisation en semence fraîche. La cryoconservation de la semence congelée est possible mais cette technique n'est pas utilisée au quotidien car elle nécessite, au moment de l'insémination, une opération chirurgicale, la laparoscopie, pour obtenir une fécondité suffisante.

Dans notre panorama de l'état de la variabilité des filières laitières, les races ovines laitières locales se situent entre les bovins et les caprins. Pour ces races, la taille des populations entre en compte : leurs effectifs de reproducteurs sont très inférieurs à ceux de la race Lacaune ou des races caprines laitières. Les derniers facteurs explicatifs de la variation des indicateurs sont l'existence d'une gestion de la diversité génétique dans la race et de flux de gènes étrangers (éventuellement au sens premier du terme, c'est à dire provenant d'animaux sélectionnés en dehors de la France). Par exemple pour la race Lacaune, nous avons vu au chapitre « *Gestion in situ de la variabilité génétique pour les races de ruminants en sélection* » qu'avec des effectifs comparables, le rameau avec les indicateurs les plus favorables est celui pour qui la gestion de la variabilité génétique est la plus rigoureuse. Enfin nous avons vu (Danchin-Burge *et al.*, 2011) qu'au sein des races bovines laitières, celles qui montrent les indicateurs de variabilité les plus élevés sont celles qui ont fait varier l'origine des reproducteurs d'insémination au cours du temps. Il est clair néanmoins que ces infusions ont été réalisées dans un but de changement d'objectifs de sélection et non pas pour améliorer la diversité des races : c'était un corollaire du programme de sélection non forcément réfléchi par les gestionnaires.

Pour les races allaitantes, les indicateurs élevés de variabilité des races bovines sont liés à la conjugaison entre effectifs importants et diffusion limitée des mâles du noyau de sélection dû, entre autres, à une faible utilisation de l'IA. Les petits ruminants présentent un « mélange » de situation entre effectifs et poids du noyau de sélection dans la diffusion des reproducteurs. Ainsi une race comme le mouton Vendéen, où l'utilisation de l'IA par rapport à la base au contrôle de performance est élevée, présente des indicateurs de variabilité équivalents à ceux d'autres populations dont les effectifs sont beaucoup plus faibles comme les races ovines Solognote ou Bleue du Maine.

Pour les races à petits effectifs, les situations favorables sont dues à une absence de sélection, l'existence éventuelle de programme de gestion de la diversité et un ratio élevé entre nombre de reproducteurs mâles et nombre de reproducteurs femelles (Danchin-Burge *et al.*, 2010). Parmi ces races, les situations à problèmes conjuguent en général effectifs limités, pratiques d'accouplement entre apparentés proches et/ou nombre de fondateurs limités à la relance du programme de conservation. Par ailleurs, la cryoconservation s'est révélée constituer un outil intéressant pour conserver la variabilité génétique de ces races à petits effectifs. La sélection ou la simple dérive est suffisante pour qu'en un espace de temps relativement modéré les origines des béliers en cryobanque soient assez déconnectées de celles des animaux actifs, que ce soit pour l'ensemble de la collection (cas du Roussin, Danchin-Burge *et al.*, 2010) ou pour quelques animaux particuliers (exemple de la Charmoise, *idem*). Ces béliers en cryobanque sont donc une source intéressante de gènes et, à ce titre, plusieurs associations de race ont mis en place des opérations de déstockage pour réinjecter de la diversité. Cela a été le cas en Roussin et en Lourdaise (2003) puis, beaucoup plus récemment, en Berrichon de l'Indre (2011), où une opération cofinancée par la Cryobanque nationale a pour objectif la création de béliers issus de pères dont l'impact génétique a disparu de la race actuelle. Certains de ces béliers seront collectés pour créer de nouveaux stocks dans les collections nationales. De façon plus générale, la conservation de gènes dans le cadre, par exemple, d'une Cryobanque est particulièrement intéressante pour toutes les races où le progrès génétique reste limité. Les animaux en collection se situent à des niveaux génétiques qui restent corrects par rapport aux animaux actifs, et peuvent donc être facilement utilisés pour procréer de nouveaux reproducteurs, qui constitueront une source de diversité génétique.

L'ensemble de ces résultats présente également une base intéressante pour analyser l'intérêt des différents indicateurs de la variabilité génétique d'une population. Nous reviendrons sur ce point dans la discussion finale de ce manuscrit.

Troisième partie :
Analyse critique des
pratiques d'échantillonnage
pour la Cryobanque
nationale

Après 10 ans d'existence, la collection la plus importante de la Cryobanque est celle des bovins, et plus particulièrement des bovins laitiers, suivie à distance par celle des ovins (www.cryobanque.org). La quasi totalité de la collection bovine laitière est issue d'un protocole d'échantillonnage bien défini (Verrier *et al.*, 2003), tandis que pour les ovins l'enrichissement des collections a été surtout le fait d'opportunités. C'est pour cette raison que cette partie sera quasi exclusivement consacrée à l'évaluation de l'échantillonnage réalisé pour les bovins laitiers. L'objectif est d'adapter nos méthodes d'échantillonnage en fonction des résultats de cette évaluation, en prenant en compte, entre autres, les possibilités réelles d'utilisation du matériel de la Cryobanque.

Dans un premier temps, nous compléterons (cf. l'article « *Evolution of the genetic variability of eight French dairy cattlebreeds assessed by pedigree analysis* ») l'évaluation des collections bovines laitières via une analyse de leur diversité génétique présentée dans avec le cas particulier de la collection de la race Prim'Holstein. Pour la France, cette collection est la seconde numériquement (après celle de la race Normande). Surtout, compte tenu de la mondialisation de la sélection de la race Prim'Holstein, c'est la seule collection qui puisse être comparée avec des stocks suffisamment importants dans deux autres pays ayant mis en place une cryobanque, à savoir les Etats-Unis et les Pays-Bas (cf. analyse réalisée en première partie).

Dans un second temps, il nous est apparu intéressant d'évaluer ces collections laitières en les caractérisant cette fois ci en fonction de leurs valeurs génétiques. En effet, une des caractéristiques des collections françaises est la recherche systématique d'animaux originaux par leur index, il paraissait donc important de voir si cette approche transparaisait dans les index des taureaux des collections. Cette approche a été déclinée en deux étapes. Nous avons d'abord évalué la valeur génétique de la collection nationale « bovins laitiers ». Cette collection est néanmoins assez limitée du point de vue numérique. Par ailleurs, les taureaux intéressant la Cryobanque ne sont pas tous transférés dans les collections, l'effort des coopératives d'IA pour participer à la Cryobanque étant variable en fonction des coopératives et des années. Une autre approche a consisté à simuler comment les collections de la Cryobanque auraient été constituées si elles avaient été démarrées en même temps que les programmes de sélection, puis à caractériser les taureaux de ces collections par rapport aux mâles actifs.

L'objectif final de ces collections est bien évidemment leur utilisation potentielle. Un travail réalisé majoritairement par Grégoire Leroy (AgroParisTech) a consisté à simuler la collecte

de matériel en cryobanque puis son utilisation sur une population en sélection. Cette étude a été finalisée par la publication d'un article scientifique que nous présentons ici.

Enfin, à partir de ces différentes analyses, nous proposerons des pistes de modifications des protocoles d'échantillonnage, principalement pour le cas des bovins laitiers.

A. Evaluation des collections actuelles

Dans cette partie, nous réalisons une évaluation des dispositifs d'échantillonnage de la Cryobanque et plus particulièrement pour les races bovines laitières. Pour cette filière, l'évaluation de la variabilité génétique contenue dans les collections présentée dans l'article « *Evolution of the genetic variability of eight French dairy cattle breeds assessed by pedigree analysis* » est complétée par une analyse de la variabilité génétique contenue dans trois collections de pays différents (France, Pays-Bas, Etats Unis d'Amérique) pour la race Prim'Holstein. L'évaluation des méthodes d'échantillonnage des collections bovines laitières est ensuite complétée grâce à une étude estimant les niveaux d'évaluation génétique des taureaux de la collection, par rapport aux taureaux actifs

1. Article : “Ex situ conservation of Holstein-Friesian cattle: Comparing the Dutch, French, and US germplasm collections”



Ex situ conservation of Holstein-Friesian cattle: Comparing the Dutch, French, and US germplasm collections

C. Danchin-Burge,*††¹ S. J. Hiemstra,§ and H. Blackburn#

*AgroParisTech, UMR 1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, 75231 Paris 05, France

†INRA, UMR 1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, 78350 Jouy-en-Josas, France

‡Institut de l'Elevage, 75595 Paris 12, France

§Centre for Genetic Resources, the Netherlands (CGN), Wageningen University and Research Centre, PO Box 65, 8200 AB Lelystad, the Netherlands

#National Animal Germplasm Program, National Center for Genetic Resources Preservation-Agricultural Research Service-USDA, Ft. Collins, CO 80521

ABSTRACT

Holstein-Friesian (HF) gene bank collections were established in France, the Netherlands, and the United States to conserve genetic diversity for this breed. Genetic diversity of HF collections within and between countries was assessed and compared with active male HF populations in each country by using pedigree data. Measures of genetic diversity such as probability of gene origin inbreeding and kinship were calculated. The cryobanks have captured substantial amounts of genetic diversity for the HF compared with the current populations. A substantial part of the US, French, and Dutch collections seems to be genetically similar. On the other hand, the US collection in particular represents an interesting reservoir of HF genes of the past. Gene banks can play an important role in conserving genetic diversity within livestock breeds over time, and may support industry in the future when needed.

Key words: gene bank, genetic diversity, Holstein-Friesian

INTRODUCTION

Global action has been initiated to conserve animal genetic resources (FAO, 2007a). A country-driven response has been developed and includes the formation and operation of gene banks (FAO, 2007a). The establishment of gene banks using cryopreservation to secure the genetic diversity of livestock breeds has been assessed (Blackburn, 2004; FAO, 2007b). France, the Netherlands, and the United States were among the first countries to organize national cryobanks (Blackburn, 2004, 2009; Danchin-Burge et al., 2006; Woelders et al., 2006), which have been operational for more than 10 yr.

The contraction in Holstein-Friesian (HF) genetic diversity has been documented (Boichard et al., 1997; Sørensen et al., 2005; Mc Parland et al., 2007; Kim and Kirkpatrick, 2009) and as a result, all 3 countries have started HF collections. To better understand the diversity captured in HF gene bank collections, the genetic variability of germplasm collections was assessed within and between countries, and genetic variability of germplasm collections were compared with active male (AM) populations in each country. The objective of this study was to evaluate the HF collections developed by the 3 national gene banks and determine how well they have conserved genetic diversity of the respective HF populations over time.

MATERIALS AND METHODS

Populations Studied and Data

National HF germplasm collections were established at the beginning of the 1990s in the Netherlands (NLD), the United States (USA), and France (FRA). For the Dutch collection, managed by the Centre for Genetic Resources, the Netherlands, the majority of the HF bulls are from progeny testing programs operated by 2 commercial companies, Holland Genetics (Arnhem, the Netherlands) and Alta Genetics (Feerwerd, the Netherlands). The US collection consists of bulls sampled from the sire evaluation programs of 3 major AI companies: ABS Global (DeForest WI), Select Sires (Plain City, OH), and Accelerated Genetics (Baraboo, WI), in addition to sample donations by the industry and university experimental populations. In France, the 2 primary selection objectives for a bull to enter into the cryobank have been (1) to preserve genetic gains and (2) to preserve selected and neutral genetic variability (Verrier et al., 2003). The bulls from all 3 national cryobanks will be referred as cryobank bulls (CBN) in this article. The total number of CBN in the 3 countries was 8,892 (Table 1).

Received October 22, 2010.

Accepted April 21, 2011.

¹Corresponding author: coralie.danchin@inst-elevage.asso.fr

Table 1. Number of cryobank bulls (CBN) and active males (AM), pedigree depth expressed as equivalent number of generations (EqG), number of top contributing ancestors accounting for 50% of the genes, and effective population size (N_e) for CBN and AM by country

Item	Overall		France		The Netherlands		United States	
	CBN	AM	CBN	AM	CBN	AM	CBN	AM
Number of bulls	8,892	12,932	144	3,286	3,735	2,257	5,013	7,389
EqG	8.2	9.6	9.4	10.1	9.4	9.6	7.3	9.4
Total no. of founders	10,302	8,568	1,990	4,702	5,532	3,921	7,948	5,562
Effective no. of founders	1,234	113	100	105	115	115	784	115
Effective no. of ancestors	84	17	14	15	17	17	77	17
No. of top contributing ancestors accounting for 50% of the genes	43	6	5	6	6	7	53	6
N_e (SD)	84 (0.6)	85 (0.3)	77 (2.6)	83 (0.5)	87 (0.6)	89 (0.8)	83 (0.9)	85 (0.4)

To compare ex situ and in situ genetic variability, a population of active bulls in each country was sampled from the Interbull database (www.interbull.org) with the following criteria: each bull had to be born in the country where it was used; both parents of the bull were known; and birth years ranged from 2002 to 2006 (equivalent to 1 generation interval). In total, 12,932 active bulls were selected for this study (Table 1).

The pedigrees of the HF bulls stored in all 3 collections (by January 2009) were provided by each country's breed association [Holstein Association USA (Brattleboro, VT) for the US collection, CRV (Arnhem, the Netherlands) for the Dutch collection, and INRA-CTIG (Jouy-en-Josas, France) for the French collection] and merged. For each animal, the file contained the animal's identification, sire and dam registration numbers, birth date, and sex. Including pedigreed ancestors, the file contained 92,256 individuals. All CBN bulls were classified by the decade in which they were born.

Analysis of Genetic Variability

Pedigrees were used to evaluate genetic variability of in situ and ex situ populations using the PEDIG software (Boichard, 2002, 2007). The principles, methods, and the corresponding equations are described in detail by Boichard et al. (1997); Baumung and Sölkner (2002), Leroy et al. (2006), and Danchin-Burge et al. (2010) have illustrated the software's use.

The equivalent generation number (**EqG**) was determined for each animal (i) by

$$EqG_i = \sum \left(\frac{1}{2}\right)^n, \quad [1]$$

with n being the generation number of a given ancestor (e.g., 1 = parents, 2 = grandparents), and the sum being computed across all known ancestors of i . The EqG for the whole collection (across the 3 countries) or within population was computed as the mean of EqG_i .

Ancestors without known parents were considered as noninbred and nonrelated founder animals. The effec-

tive number of founders (f_e) of a country's population was defined as the reciprocal of the probability q_j (or expected contribution) that 2 genes drawn at random in the population originate from the same founder j and was computed as

$$f_e = 1 / \sum_{k=1}^f q_j^2. \quad [2]$$

The concept of a major ancestor, founder or not, as defined by Boichard et al. (1997) was used in the analysis. The major ancestors of the AM and CBN populations were detected, and their marginal expected contributions to the gene pool (q_k ; $\sum_k q_k = 1$, where k is k th ancestor) were computed using the method of Boichard et al. (1997). The effective number of ancestors (f_a) was defined and computed in a similar way as the effective number of founders:

$$f_a = 1 / \sum_{k=1}^f q_k^2. \quad [3]$$

The coefficient of inbreeding of each bull was computed using the method of Meuwissen and Luo (1992). The kinship coefficients (Malécot, 1948) among CBN from the different countries were computed, as were the kinship coefficient between CBN and AM, and the kinship coefficient Φ for each CBN or AM bull with the rest of the male population.

Rate of inbreeding (ΔF) was calculated by the method proposed by Gutiérrez et al. (2008, 2009). For each animal (i) from the AM and CBN populations, the individual rate of inbreeding from its founders (ΔF_i) was computed as follows:

$$\Delta F_i = 1 - EqG_i^{-1} \sqrt{1 - F_i}, \quad [4]$$

where F_i is the coefficient of inbreeding of i and EqG_i is its individual EqG computed with equation [1]. The global rate of inbreeding (ΔF) was simply computed as the average of all individual rates of inbreeding (ΔF_i) of

animals in the CBN and AM populations. The effective population size (N_e) was computed according to the classical formula (Wright, 1969):

$$N_e = \frac{1}{2\Delta F}. \quad [5]$$

Statistical Analyses

Statistical analyses were performed to check if the EqG and ΔF could be used to set apart the populations and better characterize the collections. Each bull was categorized by country (FRA, NLD, or USA), category of population (AM or CBN), and birth period (4 class levels: 1979 and below, 1980–1989, 1990–1999, and 2000–2007), which defined a total of 12 sub-populations. An ANOVA was carried out for EqG with a model that included country, category of population within country, and birth period within category within country.

For ΔF , 66 tests were run for simultaneous pairwise comparisons to check if the average ΔF was significantly different from one sub-population to another (as an example, the average ΔF of the AM French bulls born between 1990 and 1999 was tested versus the average ΔF of the CBN Dutch bulls born between 1980 and 1989). The initial $\alpha = 0.05$ significance level was adjusted for simultaneous pairwise comparisons using the sequential Bonferroni correction approach.

Analyses were completed by using several procedures in SAS (v 9.1.3; SAS Inst. Inc., Cary NC). The PROC GLM procedure was used for the parametric statistics (EqG). The procedure used for nonparametric statistics for categorical and nonnormal data (ΔF) was the Wilcoxon rank sum in PROC NPAR1WAY. The kinship coefficient matrix between and within the 12 different sub-populations (CBN by birth period and AM) was used to perform a cluster analysis and a principal component analysis (PCA).

To determine if distinct differences existed within and between the populations, the average method from the PROC CLUSTER routine in SAS was also used. The average method was selected because of its assumption that all individuals are members of the same group versus, for example, the Ward method, which assumes that all animals belong to their own cluster. The average kinship between one sub-population and another was used to compute the distance between the groups evaluated. The pseudo-*t*-test was used to determine the number of clusters present among the pre-specified groups. The results from the cluster analysis were presented as a dendrogram, with each horizontal line representing 1 of the 12 sub-populations.

A PCA was also performed on the kinship coefficient matrix between and within the 12 sub-populations as an additional exercise to confirm the cluster analysis results. The PCA was performed by using the PROC PRINCOMP routine in SAS.

RESULTS

The number of bulls present in each collection and their pedigree size is described in Table 1. No bull was stored in more than one national collection, and no active bull was used in more than one country. The US and Dutch collections were larger than the French collection. Furthermore, the composition of the 3 cryobanks by birth year of the bulls was different. The majority of the Dutch bulls were born in the 1990s and 2000s, whereas approximately two-thirds of the US bulls were born in the 1980s and 1990s, the last third being divided between bulls born in the 1970s and after 2000. The French bulls were born in the 1990s through 2000s. The average birth year was 1989, 1998, and 2000 for the US, French, and Dutch collections, respectively.

Pedigree Depth

Pedigree depth was determined for all bulls by computing their traceable equivalent number of generations (Table 1). The EqG was identical for the French and the Dutch collections (9.4), but significantly lower ($P < 0.0001$) for the US collection (7.3). The lower EqG of the American collection is explainable by the birth year distribution of the bulls: on average, fewer ancestors were known for bulls born in the 1960s or the 1970s than for bulls born in the 1990s. The highest EqG was found for the French AM bulls (10.1) and differed significantly ($P < 0.0001$) from all other populations. We believe that these results are significantly different because the full pedigrees (including all ancestors) from the French AM bulls were added to the initial Interbull pedigree files, unlike the pedigrees of other AM bulls. All EqG were higher compared with other dairy cattle studies, where they ranged from 4 to 7 EqG (Sørensen et al., 2005; Mc Parland et al., 2007).

Probabilities of Gene Origin

Among national collections (Table 1), the Dutch and French collections were similar in genetic variability. For example, the number of the top contributing ancestors accounting for 50% of the genes (**N50**) in a population was equal to 5 and 6 animals for the French and Dutch cryobanks, respectively, and these main ancestors were the same for both countries. The genetic variability

represented in the US collection was higher ($N_{50} = 53$) compared with the other gene banks. Although the ex situ N_{50} were variable, the AM N_{50} were, in essence, equal at 6, 7, and 6 for the French, Dutch and US populations, respectively. These numbers are low compared with the N_{50} from the US CBN, suggesting that the US collection contains more diversity than the in situ (AM) populations.

Values of f_e and f_a (Figure 1) decreased by 5 and 53%, respectively, between the oldest bulls (born before 1970) and the bulls born in the 1970s, and by 18 and 69% compared with bulls born in the 2000s. Because most old bulls belonged to the US collection, these animals most likely contributed to the higher genetic variability of the US collection compared with both the AM and ex situ (CBN) populations.

Table 2 lists the 5 main ancestors, by marginal contribution, for each CBN. Three of the 5 top bulls for the French and Dutch collections are the same, and neither country shares top 5 sires with the US collection. However, all 3 CBN had a high degree of genetic relationship for the top 5 ancestors. For example, Elevation and Bell have Ivanhoe as a grandsire, whereas Chief is Mark's sire and Chief and Elevation are Blackstar's great grandsires.

Number of founders, f_e , and f_a calculated by period for all CBN bulls are shown in Table 3. A substantial loss of genetic variability occurred between the 1970s and the 1990s. This result suggested that a bottleneck in the HF population was created in the 1970s with the massive use of Elevation and Chief, followed by Bell in the 1980s, as shown by their marginal contributions to the ex situ populations (Table 3). It appears that by 2000 the downward trend in genetic diversity had

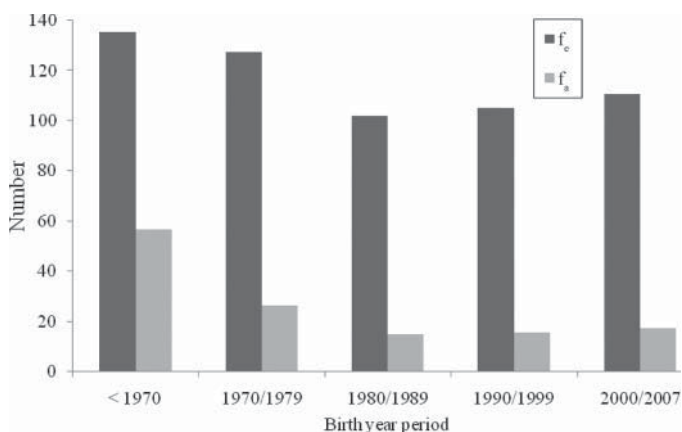


Figure 1. Change in the effective number of founders (f_e) and effective number of ancestors (f_a) by birth period of the cryobank bulls (all collections).

Table 2. Five main ancestors of the Dutch, French, and US collections; animals in bold are common ancestors to the French and Dutch collections

Rank	France			The Netherlands			United States		
	Interbull ID and short name	Birth year	Marginal contribution, %	Interbull ID and short name	Birth year	Marginal contribution, %	Interbull ID and short name	Birth year	Marginal contribution, %
1	USA000001427381 Chief	1962	14.68	USA000001667366 Bell	1974	13.59	USA000001773417 Mark	1978	5.30
2	USA000001491007 Elevation	1965	13.30	USA000001491007 Elevation	1965	11.69	USA000001929410 Blackstar	1983	5.25
3	USA000001667366 Bell	1974	11.02	USA000001427381 Chief	1962	11.51	USA000001556373 Glendell	1968	4.42
4	USA000002020049 Mascof-ET	1986	8.77	USA000001879085 Cleitus	1981	4.99	USA000001682485 Tradition	1974	3.68
5	USA000002103297 Bellwood	1962	14.68	USA000001806201 Ned-Boy	1979	4.30	USA000001189870 Ivanhoe SH	1956	3.49

Table 3. Changes in genetic variability criteria by decade for bulls' birth from all 3 collections

Decade	No. of bulls	Total no. of founders	No. of effective founders	No. of effective ancestors	Contribution of the main ancestor, %	Three main ancestors	No. of ancestors contributing 50% of the genes
<1970	78	354	135.5	56.8	7.0	Kol, Ivanhoe, Abc Reflec	29
1970–1979	409	1,941	127.3	26.4	11.7	Chief, Elevation, Ivanhoe	11
1980–1989	1,990	5,074	101.9	14.7	17.8	Chief, Elevation, Bell	6
1990–1999	3,570	6,225	105.1	15.6	14.8	Chief, Elevation, Bell	6
2000–2007	2,849	6,068	110.6	17.1	12.8	Elevation, Chief, Bell	7

been stabilized, potentially in part due to the industry's awareness of inbreeding and implementation of procedures to minimize inbreeding in sire evaluation programs (Meuwissen, 1997; Colleau et al., 2009).

Inbreeding

As expected with all closed populations, the percentage of inbred animals was high (>95%) for HF, and bulls' inbreeding in all the collections mirrors the level of the in situ populations (Table 4). Among cryobanks, the US collection had the highest percentage of highly inbred animals (20.1%), with an average inbreeding level that exceeded 6.25%. In that collection, very highly inbred animals, such as Aggravation Cavalier Image-Red (26.1%), and Betsey Golden-Genes Bolero-ET (25.2%), were found to be present.

Table 5 illustrates how N_e decreased substantially between the 1970s and 1980s. For the US and Dutch collections, N_e was reduced from 242 (1970s) to 71 (1990s) and from 127 (1980s) to 83 (1990s), respectively. Selection intensity became much higher during this period, with the establishment of selection programs that used BLUP and led to more related animals being selected as sires and dams. However, our N_e estimates are higher than what is usually found in the literature (e.g., 49 for Sørensen et al., 2005). We believe these results are due to the formula of ΔF used for calculations in the present study, which takes into consideration pedigree depth, whereas the classic calculation for inbreeding rate formula was applied in other studies.

Average Kinship Within and Between Populations

Average kinship within each population (Table 6) shows that the French collection had the most and the US collection the least closely related bulls. Fifty bulls represented in the US collection are from a randomly mated population developed by the University of Minnesota (Starkenburger et al., 1997), which contributes to the lower average kinship of the collection. The French collection was slightly more related to the Dutch than to the American collection. French bulls were as related to the Dutch collection as Dutch bulls were among themselves.

The average kinship of the least related French CBN bulls with the AM animals was >4%. This value is superior to the kinship value between 2 animals that have a great-grandparent in common (3.125%). The highest kinship values in all collections were between bulls that had, on average, a common grandparent within the respective AM. However, some Dutch and US CBN bulls were completely unrelated from the AM. Apart from the bulls from the University of Minnesota, some US bulls came from lineages that are extinct from the pedigrees of the current population. The Dutch collection holds HF bulls with original Dutch Friesian genes, thereby expanding the genetic diversity of their collection.

The country of origin of the sires of the bulls in cryobanks varied by country: 91, 59, and 35% (USA, NLD, and FRA, respectively) of the CBN bull sires were born in the country in which the cryobank was maintained.

Table 4. Inbreeding (F) in the cryobank (CBN) and active (AM) bull populations

Population	Average rate of inbreeding, ¹ %	Proportion (%) of inbred animals	Proportion (%) of animals with $F > 6.25\%$	Maximum F , %
French CBN	0.65	100	19.4	16.3
French AM	0.60	97.3	25.0	13.3
The Netherlands CBN	0.58	99.6	18.7	15.0
The Netherlands AM	0.56	96.7	19.0	26.9
US CBN	0.60	95.1	20.1	26.1
US AM	0.59	97.2	23.9	16.0

¹Following the definition stated in equation [4].

Table 5. Change of the effective population size N_e (SD) by decade and collection

Birth decade	France	The Netherlands	United States
<1970			107 (29.4)
1970–1979			242 (24.0)
1980–1989		127 (63.3)	90 (2.1)
1990–1999	78 (3.6)	83 (1.2)	71 (0.8)
2000–2007	75 (3.1)	88 (0.7)	72 (1.1)

The low percentage of bulls sires born in France reflects the fact that French breeders actively sought bulls from other Europe countries and North America for use in their production system. In general, these percentages indicate a vibrant international exchange of genetic resources conducted by the private sector.

Statistical Analyses

The model effects for the variance analyses on EqG, ranked from largest to smallest, were category of population (within a country), country, and birth period (within category within country). All effects were significant ($P < 0.0001$) with a model r^2 equal to 59%. Levels of significance within the category of population effect were described when presented with pedigree depth results.

Among the 66 statistical tests realized to compare the average ΔF values between sub-populations, 15 were found not significant after sequential Bonferroni correction. Significance of the results and average ΔF value per category are presented in Table 7. The 1980s sub-population of US CBN bulls was found to be statistically different ($P < 0.05$) from all the other sub-populations. On the other hand, 7 out of the 11 tests realized for the FRA CBN bulls from the 1990s sub-population were found not different ($P > 0.05$) from those of the other sub-populations.

To further elaborate on the uniqueness of the in situ and ex situ (including the subdivisions by decade) populations, cluster analysis was performed assuming 12 sub-populations defined by country, type of bulls (CBN or AM), and period of bull birth (Figure 2).

Significance of the pseudo- t -test was found with 6 clusters. Figure 2 suggests that older bulls that are members of the US and Dutch CBN collections (USA CBN bulls from the 1970s and Dutch CBN bulls from the 1980s) are genetically distinct from the other 4 groups. Otherwise, the populations tended to be clustered by country. The Dutch groups (AM and CBN bulls from the 1990s and CBN bulls from the 2000s) formed a single cluster, suggesting that the Dutch CBN has captured existing levels of genetic diversity in the AM population. The USA CBN bulls from the 1980s joined with the Dutch groups, perhaps indicating a point in time when closer associations between the countries HF existed. The FRA CBN bulls from the 2000s sub-population were found to be distinct due to the addition of French bulls that were not typically used in the commercial dairy sector. The remaining 5 sub-populations were placed in the same cluster, suggesting that the USA CBN bulls from the 2000s, the USA CBN bulls from the 1990s, the FRA CBN bulls from the 1990s, the AM FRA, and AM USA were genetically similar, and therefore the CBN for both countries have sufficiently sampled the AM populations.

The PCA results supported results from the cluster analysis. The PCA first component explained 88% of the variation. On the first PCA axis, the older bulls in the US and Dutch collections (USA CBN bulls from the 1970s and NLD CBN bulls from the 1980s) were distinct from each other and the other sub-populations. Otherwise, the populations tended to be grouped by country. The PCA second and third components explained minor levels of variation (6 and 3%, respectively). Because the analysis was performed on an individual breed, these components would be expected to be numerically small.

DISCUSSION

Our primary question was to determine how well the gene banks have captured the genetic diversity of the HF breed. Based upon f_e , f_a , and the similarity of major bulls in the active bull list and collections, the data sug-

Table 6. Within- (diagonal) and between-population average kinship (%) for the active males (AM) and cryobank bulls (CBN) by country¹

	AM FRA	AM NLD	AM USA	CBN FRA	CBN NLD	CBN USA
AM FRA	6.25					
AM NLD	5.27	5.27				
AM USA	5.55	4.81	5.72			
CBN FRA	6.00	5.15	5.13	6.77		
CBN NLD	4.98	5.02	4.41	5.16	5.14	
CBN USA	4.94	4.38	4.77	5.00	4.26	4.87

¹FRA = France; NLD = the Netherlands, USA = United States.

Table 7. Average rate of inbreeding (ΔF , diagonal) and P -values of 2×2 comparisons of the average ΔF by sub-population. Sub-populations consider cryobank (CBN) or active (AMF) bulls, 3 countries [France (FRA), the Netherlands (NLD), and the United States (USA)], and 4 periods for the CBN bulls [1970s (70), 1980s (80), 1990s (90), and 2000s (00)]¹

	FRAAM	FRACBN90	FRACBN00	NLDAM	NLDCBN80	NLDCBN90	NLDCBN00	USAAM	USACBN70	USACBN80	USACBN90	USACBN00
FRAAM	0.60											
FRACBN90	0.720	0.64										
FRACBN00	0.013	0.051	0.69									
NLDAM	0.000	0.014	0.000	0.55								
NLDCBN80	0.000	0.000	0.000	0.000	0.29							
NLDCBN90	0.000	0.182	0.002	0.003	0.000	0.60						
NLDCBN00	0.000	0.044	0.000	0.027	0.000	0.252	0.57					
USAAM	0.000	0.415	0.002	0.000	0.000	0.201	0.000	0.59				
USACBN70	0.000	0.000	0.000	0.000	0.086	0.000	0.000	0.000	0.25			
USACBN80	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.56		
USACBN90	0.000	0.021	0.757	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.70	
USACBN00	0.000	0.001	0.886	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.177	0.69

¹Significant values ($P < 0.05$ after sequential Bonferroni correction) are highlighted in bold.

gest that the 3 gene bank acquisitions are equivalent to the AM in genetic diversity. Within the United States, the germplasm collected has a greater level of genetic variation than the current active population. This is further supported by the determination that the collection contains samples from bulls whose lineages are not present in the current population. For the Netherlands, the genetic variability of the active population and the collections seemed to mirror each other (Figure 2). In addition, the recent Dutch male populations (born after 1990) were slightly less related between themselves and the other populations in the study (Figure 2). The French collection was slightly less variable than the active population, probably due to the collection's small size compared with the AM population.

The global connectedness of HF genetics was also reflected in the results. The present analysis (results not shown) showed that 3 main ancestors (Chief, Elevation, and Bell) of the AM, based on their marginal expected contributions, were the same in all 3 AM populations. The importance of these bulls to the breed is also reflected in the collections, because they were found to be major ancestors in all 3 collections. The use of only bulls in this study may have introduced some bias, but within the dairy breeding industry, the genetic relationships among bulls are the principal driver of genetic diversity due to the substantial use of AI.

The current collections contain samples that span more than 50 yr of genetic change based upon bull year of birth. As a result, they offer the industry and research communities a resource for future experimentation and the introduction of genetic variability that may become lost. Collection utilization has already occurred within the US collection, where more than 700 animals have been used in a variety of genomic studies (McGinnis et al., 2010). To further expand a country's respective collection, the following activities are suggested. In France, additional collection efforts are needed to effectively capture the genetic variability of the current in situ population. In France (and the Netherlands), the proportion of non-AI bulls is close to zero; this percentage is higher in the United States. Further investigation via the approach described by Blackburn (2009) is needed to include non-AI bulls present in the United States in situ population. Such a study would determine whether these herds have genetic variability not represented in the US cryobank; if this is the case, they could be potential candidates for germplasm donation.

An interesting question this study raises is whether the 3 gene banks should be considered independent when further developing their HF collections. Specifically, because overlap exists in the collections, should efforts be made to reduce the redundancy? Our posi-

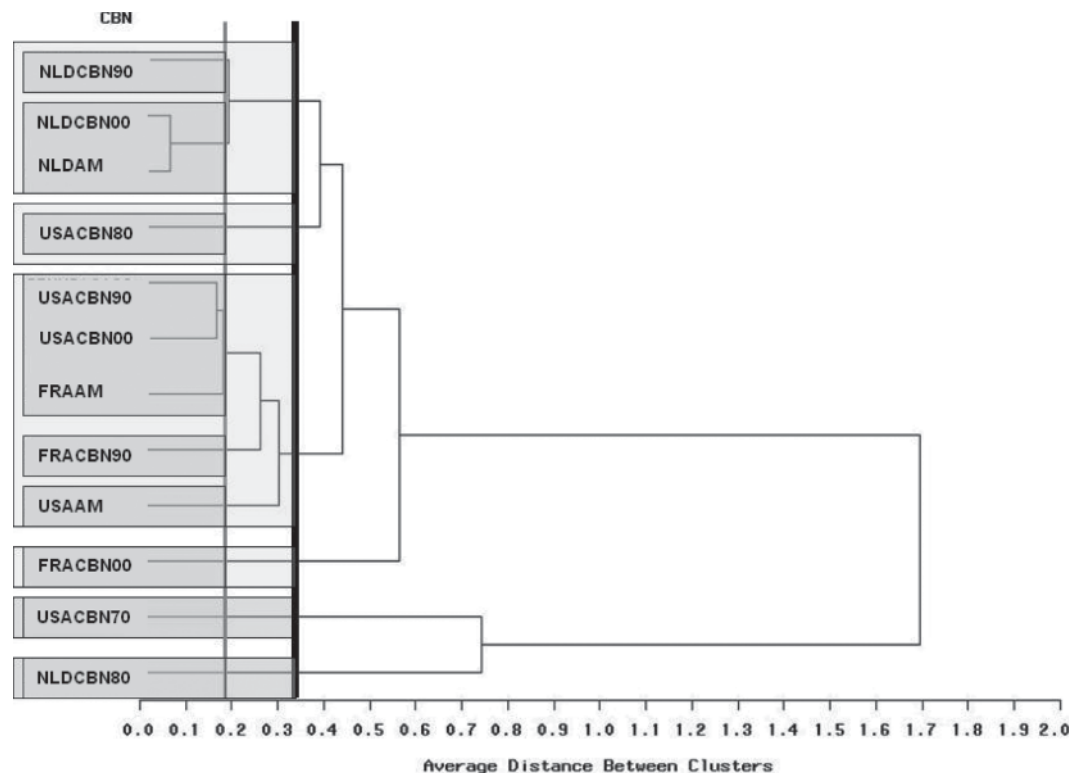


Figure 2. Average kinship between the 12 populations shown in a 2-dimensional scaling plot calculated from the kinship matrix: sub-populations consider cryobank (CBN) or active (AM) bulls, 3 countries [France (FRA), the Netherlands (NLD), and the United States (USA)], and 4 periods for the CBN bulls [1970s (70), 1980s (80), 1990s (90), and 2000s (00)].

tion would be that each gene bank becomes aware, to the appropriate level based upon industry and governmental interest, of each other's collection status and efforts. However, the collections should be viewed as independent entities and any redundancy for such a globally important breed brings international benefits. Furthermore, such an approach addresses several issues. From a policy perspective, it fulfills each nation's commitment to managing its own genetic resources, as agreed upon in the Interlaken Declaration (FAO, 2007a). From a practical standpoint, the germplasm is more readily available for within-country use, which eliminates the need to acquire importing and exporting permits, and minimizes the need for any further types of agreement in monitoring the exchange of genetic resources between countries. Moreover, costs of acquiring or transfer semen of AI bulls to national gene bank collections are relatively low.

CONCLUSIONS

Data used in the present study suggest that the 3 national cryobanks have captured substantial amounts of genetic diversity for the HF breed compared with the current active bull population. A significant por-

tion of the US, French, and Dutch collections appear to be genetically similar. The US collection represents an interesting reservoir of HF genetics from the past. The Dutch collection preserves animals that are representative of the ancestor of the HF (i.e., the Dutch Friesian), illustrating how gene banks can support the conservation of genetic diversity and serve as a DNA resource for research purposes. Although the French collection is small, it seems to capture current genetic variation as much as the other populations. A corollary from this cryobank comparison study is that it emphasized again that the genetic variability of the HF breed is relatively low and similar in different countries. As a result, countries with substantial HF populations may wish to acquire germplasm samples from older bulls that may exist in AI centers and that may be less related to the total population, and store them in their national gene bank. More specifically, special efforts could be made to find founders and, in Europe, to place emphasis on conservation of breeds that were developed before the HF populations, such as the Dutch Friesian, a founder breed of the HF. We suggest further exploration of the genetic diversity of HF at the molecular level. As these results are obtained, new insights (e.g., differences in allele frequencies) will become more apparent and enable

gene banks to make additional assessments concerning collection development and maintenance of the genetic diversity within the HF populations.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to the editor and two anonymous referees for helpful comments on the manuscript, and Grégoire Leroy (UMR 1313 INRA/AgroParisTech) for his help in designing the nonparametric statistics.

REFERENCES

- Baumung, R., and J. Sölkner. 2002. Analysis of pedigrees of Tux-Zillertal, Carinthian Blond and Original Pinzgau cattle population in Austria. *J. Anim. Breed. Genet.* 119:175–181.
- Blackburn, H. 2009. Genebank development for the conservation of livestock genetic resources in the United States of America. *Livest. Sci.* 120:196–203.
- Blackburn, H. D. 2004. Development of national animal genetic resource programs. *Reprod. Fertil. Dev.* 16:27–32.
- Boichard, D. 2002. PEDIG: A Fortran package for pedigree analysis suited for large populations. Commun. 28–13 in Proc. 7th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod., Montpellier, France. INRA, Montpellier, France.
- Boichard, D. 2007. http://dga.jouy.inra.fr/sgqa/article.php?id_article=110.
- Boichard, D., L. Maignel, and E. Verrier. 1997. The value of using probabilities of gene origin to measure genetic variability in a population. *Genet. Sel. Evol.* 29:5–23.
- Colleau, J. J., K. Tual, H. de Preumont, and D. Regaldo. 2009. A mating method accounting for inbreeding and multi-trait selection in dairy cattle populations. *Genet. Sel. Evol.* 41:7. doi:10.1186/1297-9686-41-7.
- Danchin-Burge, C., I. Palhière, D. François, B. Bibé, G. Leroy, and E. Verrier. 2010. Pedigree analysis of seven small French sheep populations and implications for the management of rare breeds. *J. Anim. Sci.* 88:505–516.
- Danchin-Burge, C., E. Verrier, S. Moureaux, and M. Tixier-Boichard. 2006. Sampling protocols and review of the French National Cryobank collections. Commun. 33–3 in Proc. 8th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod., Belo Horizonte MG, Brazil. EMBRAPA, Belo Horizonte, Brazil.
- FAO. 2007a. Global Plan of Action for Animal Genetic Resources and the Interlaken Declaration. FAO, Rome, Italy.
- FAO. 2007b. The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture. FAO, Rome, Italy.
- Gutiérrez, J. P., I. Cervantes, and F. Goyache. 2009. Improving the estimation of realized effective population sizes in farm animals. *J. Anim. Breed. Genet.* 126:327–332.
- Gutiérrez, J. P., I. Cervantes, A. Molina, M. Valera, and F. Goyache. 2008. Individual increase in inbreeding allows estimating effective sizes from pedigrees. *Genet. Sel. Evol.* 40:359–378.
- Kim, E. S., and B. W. Kirkpatrick. 2009. Linkage disequilibrium in the North American Holstein population. *Anim. Genet.* 40:279–288.
- Leroy, G., X. Rognon, A. Varlet, C. Joffrin, and E. Verrier. 2006. Genetic variability in French dog breeds assessed by pedigree data. *J. Anim. Breed. Genet.* 123:1–9.
- Malécot, G. 1948. *Les Mathématiques de L'Hérédité*. Masson, Paris, France.
- Mc Ginnis, L., S. Durham, and A. Perry. 2010. Animal gene collections support U.S. research. *Agric. Res.* 58:12–14.
- Mc Parland, S., J. F. Kearney, M. Rath, and D. P. Berry. 2007. Inbreeding trends and pedigree analysis of Irish dairy and beef cattle populations. *J. Anim. Sci.* 85:322–331.
- Meuwissen, T. H. E. 1997. Maximizing the response to selection with a predefined rate of inbreeding. *J. Anim. Sci.* 75:934–940.
- Meuwissen, T. H. E., and Z. Luo. 1992. Computing inbreeding coefficient in large populations. *Genet. Sel. Evol.* 24:305–313.
- Sørensen, A. C., M. K. Sørensen, and P. Berg. 2005. Inbreeding in Danish dairy cattle breeds. *J. Dairy Sci.* 88:1865–1872.
- Starkenburg, R. J., L. B. Hansen, M. E. Kehrl Jr., and H. Chester-Jones. 1997. Frequencies and effects of alternative DRB3.2 alleles of bovine lymphocyte antigen for Holsteins in milk selection and control lines. *J. Dairy Sci.* 80:3411–3419.
- Verrier, E., C. Danchin-Burge, S. Moureaux, L. Ollivier, M. Tixier-Boichard, M. J. Maignel, J. P. Bidanel, and F. Clement. 2003. What should be preserved: Genetic goals and collection protocols for the French National Cryobank. Pages 79–89 in Workshop on Cryopreservation of AnGR in Europe, Paris, France. D. Planchenaults, Paris, France.
- Woelders, H., C. A. Zuidberg, and S. J. Hiemstra. 2006. Animal genetic resources conservation in the Netherlands and Europe: Poultry perspective. *Poult. Sci.* 85:216–222.
- Wright, S. 1969. *Evolution and the Genetics of Populations: The Theory of Gene Frequencies*, Vol. 2. University of Chicago Press, Chicago, IL.

Cet article et l'article "*Evolution of the genetic variability of eight French dairy cattle breeds assessed by pedigree analysis*" mettent en lumière des résultats de même nature : du point de vue de la diversité génétique, les taureaux des collections bovines laitières ont un des indicateurs de diversité égaux voire supérieurs à ceux des taureaux actifs. Par ailleurs, si l'on souhaitait récupérer une originalité génétique du point de vue des origines, il faudrait voir si les coopératives d'IA détiennent toujours des stocks anciens, en particulier datant des années 1970 et 1980, lorsque les goulets d'étranglement les plus importants ont été créés. Nous commenterons plus en avant ces résultats dans la partie « *Amélioration du protocole d'échantillonnage des bovins laitiers* ».

2. *Evaluation de la valeur génétique des collections bovines laitières*

L'objectif de cette étude était d'évaluer la valeur génétique moyenne des taureaux bovins laitiers présents en collection rapport aux taureaux dits « actifs » à l'époque des calculs (septembre 2008), c'est à dire aux taureaux mis en service entre 2004 et 2007.

Tous les taureaux ont été échantillonnés en suivant le protocole décrit par Verrier *et al.* (2003), c'est à dire qu'ils sont en cryobanque (1) soit parce qu'ils sont représentatifs de leur race pour une période donnée (Type III) ou (2) parce qu'ils sont exceptionnels pour un caractère donné, mais non utilisés dans le cadre du programme de sélection (Type II).

Le Tableau 20 présente la répartition par race des taureaux bovins laitiers par grand type (II ou III), et au sein des taureaux de type II, leur répartition par type de caractère d'évaluation ou s'ils ont été collectés car issus d'un père à taureau sans fils agréé.

Tableau 20 : Nombre de taureaux stockés par type et par index ou origine pour les animaux de type II

Race	Type		Intra type II : raison d'échantillonnage*				Origine
	II	III	Mamelle			Production	
			Fonctionnels* ¹	/vit. traite	Morphologie		
Abondance	8	25	3	0	5	0	3
Brune	3	12	1	0	1	1	0
Montbeliarde	53	27	18	11	20	3	9
Normande	101	54	51	8	43	3	18
Prim' Holstein	107	33	43	28	34	14	7
Tarentaise	9	29	0	1	1	0	7

* La somme des taureaux représentés intra-type II peut être supérieure au nombre de taureaux stockés en cryobanque pour la race, puisque un animal peut être intéressant pour plusieurs critères à la fois.

*¹ fertilité, comptages cellulaires, longévité fonctionnelle

De façon plus détaillée, toutes races confondues, c'est pour les comptages cellulaires et la morphologie que l'on retrouve le plus de taureaux échantillonnés (32 taureaux pour chaque caractère), suivis de la vitesse de traite (27 taureaux), du volume de la mamelle (26 taureaux), de la longévité fonctionnelle (18 taureaux), de la musculature (18 taureaux), de la fertilité (16 taureaux) et du Taux Protéique du lait (13 taureaux). Les autres caractères sont représentés par moins de 10 taureaux.

Les races régionales ont une proportion de taureaux de type II inférieure à celle des races nationales, la proportion d'animaux exceptionnels étant plus faible dans ces populations par simple effet de probabilité. Par ailleurs, pour les races Prim'Holstein et Brune, qui sont des races internationales, le nombre de taureaux échantillonnés pour leurs origines est faible ou nul car les origines non françaises ne sont pas prises en considération pour l'échantillonnage. Toutes races confondues, le nombre de mâles échantillonnés pour les critères de production est faible, les taureaux exceptionnels pour ces aptitudes étant en général agréés.

Afin d'évaluer les collections, pour chaque caractère, nous avons rapporté la différence entre la moyenne d'index des taureaux actifs (MI_{ta}) et celle des taureaux en cryobanque (MI_{cb}) à l'écart-type d'index des taureaux actifs (SI_{ta}) :

$$\Delta = (MI_{ta} - MI_{cb}) / SI_{ta}$$

Dans la suite de la rédaction les acronymes suivants pourront être utilisés : ABO pour Abondance, BRU pour Brune, MON pour Montbéliarde, NOR pour Normande et PHO pour Prim'Holstein. Le TB est le Taux Butyreux du lait, le TP, le Taux Protéique du lait, l'INEL, l'Index Economique Laitier, et l'ISU, l'Index de Synthèse UPRA.

Dans un premier temps, nous avons comparé les écarts-types d'index entre les taureaux de type III de la collection et les mâles actifs, par caractère et par race (Tableau 21).

Tableau 21 : Ecart d'index moyen entre taureaux actifs et taureaux en cryobanque (Type III seulement), exprimés en unités d'écart type d'index des taureaux actifs

Poste	Index	ABO	BRU	TAR	MON	NOR	PHO	Moyenne par index toutes races confondues
Fonctionnel	Fertilité	0,05	0,50	0,42	0,10	-0,31	0,39	0,19
Fonctionnel	Cellules	-0,16	0,16	0,07	-0,05	-0,31	-0,14	-0,07
Fonctionnel	Longévité	0,01	-0,22	-0,02	-0,24	-0,23	0,02	-0,11
Morphologie	Hauteur sacrum	-0,37	-0,40	0,23	0,26	-0,38	-0,11	-0,13
Morphologie	Morphologie	-0,17	-0,49	-0,02	0,01	-0,14	-0,44	-0,21
Morphologie	Musculature	0,08		0	-0,18	0,25		0,04
Morphologie	Mamelle	-0,07	0,01	0,06	0,12	-0,31	-0,40	-0,10
Morphologie	Vitesse traite	-0,07	0,21	-0,05	-0,04	0,03	0,01	0,01
Production	INEL	-0,26	-0,59	-0,25	0,18	-0,36	0,14	-0,19
Production	TB	-0,02	-0,38	-0,05	0,39	0,04	0,33	0,05
Production	TP	0,23	-0,14	0,18	0,70	-0,18	0,11	0,15
Synthèse	ISU	-0,17	-0,64	-0,15	0,23	-0,73	0,09	-0,23
Moyenne par race tous index confondus		-0,08	-0,18	0,04	0,12	-0,22	0	

Pour des critères peu sélectionnés voire contre sélectionnés comme la fertilité, la musculature ou, dans une moindre mesure, le Taux Butyreux, les anciens taureaux agréés se révèlent équivalents ou supérieurs aux taureaux actifs. Pour les caractères de production, les taureaux de type III ont des index plutôt détériorateurs, néanmoins ils restent à des niveaux corrects par rapport aux collections de type II (voir Tableau 22).

Ces taureaux sont les animaux qui ont été les plus influents dans la race les années précédentes, ils sont donc moins bons que les taureaux actifs en raison du progrès génétique réalisé sur les critères de production, mais ils restent à des niveaux génétiques corrects voire améliorateurs comme en Montbéliarde ou en Prim'Holstein.

Nous avons réalisé les mêmes calculs en prenant en compte cette fois ci les taureaux déviants (type II) comparés aux taureaux actifs (Tableau 22).

Tableau 22 : Ecarts d'index moyen entre taureaux actifs et taureaux en cryobanque (Type II seulement), exprimés en unités d'écart type d'index des taureaux actifs

Poste	Index	ABO	BRU	TAR	MON	NOR	PHO	Moyenne par index toutes races confondues
Fonctionnel	Fertilité	0,54	0,16	0,85	0,41	0,23	0,31	0,42
Fonctionnel	Cellules	-0,67	0,52	-0,45	-0,07	-0,10	-0,07	-0,14
Fonctionnel	Longévité	-0,68	0,19	-0,51	-0,92	-0,69	-0,40	-0,50
Morphologie	Hauteur sacrum	0,48	0,10	-0,23	-0,24	-0,98	-0,67	-0,25
Morphologie	Morphologie	-0,52	0,28	-1,18	-0,52	-0,02	-0,85	-0,47
Morphologie	Musculature	0,06	/	0,21	0,47	0,97	/	0,43
Morphologie	Mamelle	-0,10	2,16	0,17	0,12	-0,11	-0,30	0,27
Morphologie	Vitesse traite	-0,35	-0,26	-0,14	-0,60	-0,19	-0,08	-0,27
Production	INEL	-1,86	-1,45	-1,52	-3,08	-3,02	-2,14	-2,18
Production	TB	-0,45	1,75	0,29	0,07	0,05	0,29	0,33
Production	TP	0,05	0,84	0,90	-0,35	-0,46	-0,30	0,11
Synthèse	ISU	-1,34	-1,19	-2,41	-3,01	-3,67	-2,28	-2,32
Moyenne par race tous index confondus		-0,40	0,28	-0,34	-0,64	-0,67	-0,59	

Tant que la sélection génomique n'était pas mise en place, les taureaux testés mais écartés du marché étaient refusés, en général, pour des critères de production insuffisants. Cela se vérifie par l'écart important entre taureaux de type II et taureaux actifs pour les caractères de production ainsi que pour l'index synthétique, à une époque où le poids des caractères de production dans ce dernier restait prépondérant. On trouve une forte supériorité des taureaux de la collection pour les caractères de fertilité, de musculature, et dans une moindre mesure, en mamelle, TB et TP. En revanche, pour les caractères fortement sélectionnés, comme les cellules ou la morphologie (hors cas particulier de la Brune), les taureaux de type II sont inférieurs aux taureaux actuels, malgré les efforts d'échantillonnage. Sur ces caractères, l'intensité de sélection est telle que les taureaux supérieurs à leurs contemporains à un instant t ne le restent pas sur la durée, par rapport aux taureaux actifs.

On peut argumenter sur le fait que dans cette comparaison, nous comparons la moyenne des taureaux de type II dans leur ensemble, indépendamment du caractère pour lequel ils ont été échantillonnés. Nous avons donc voulu effectuer cette comparaison intra caractère mais le nombre de collections où il existe au moins quatre taureaux par race conservés pour un caractère donné est très limité. Une analyse (résultats non présentés ici) montre que, sur cet échantillon restreint, et pour un pas de temps réduit (à peu près équivalent à un intervalle de génération, les premiers taureaux étant arrivés en Cryobanque en 2001) les taureaux échantillonnés pour un caractère particulier sont supérieurs aux taureaux actifs, y compris

pour des caractères fortement sélectionnés comme la vitesse de traite, la morphologie ou les cellules.

La limite de cette évaluation est qu'elle porte sur une dizaine d'années, ce qui représente un très faible nombre de générations bovines (entre une et deux). C'est pourquoi nous avons réalisé une simulation de l'échantillonnage d'une cryobanque sur une période importante, afin d'étayer nos conclusions.

B. Echantillonnage et analyse d'une cryobanque virtuelle

Dans cette partie du projet, l'objectif est de simuler la collecte de matériel au sein des huit principales races bovines laitières françaises, à des dates antérieures à la création de la Cryobanque nationale, et en suivant les règles d'échantillonnage en vigueur aujourd'hui. Il s'agit de répondre à la question : « à quoi ressembleraient les collections de la cryobanque si l'échantillonnage avait commencé au départ des programmes de sélection ? ».

Les collections fictives sont constituées à la fois d'animaux dits de « Type II », atypiques par leurs index ou leurs origines, et d'animaux dits de « Type III », à savoir des animaux mis sur le marché et représentatifs de leur race pour une année donnée. La première partie détaille les résultats de ces échantillonnages. Dans un second temps, les moyennes d'index génétiques pour différents caractères de ces collections fictives sont comparées avec celles des taureaux mis en service entre 2004 et 2007.

Quelques remarques préliminaires

Abréviations utilisées pour les index :

CEL= comptages cellulaires, FER= Fertilité, LGF= longévité, HSmoi= hauteur au sacrum à – 2 écarts types, Hssup = hauteur au sacrum à +2 écarts types, MU = musculature ou aptitude bouchère, PJ = hauteur plancher jarret ou volume de mamelle, VT= vitesse de traite, LAI = production laitière, TB = taux butyreux, TP = taux protéique.

A propos du critère « **PJ** » (plancher jarret) pour les races **Tarentaise** et **Abondance** :

Contrairement aux autres races, pour ce poste plus la note est basse meilleure elle est. Ce qui est estimé est le volume de la mamelle et non pas la distance plancher jarret.

Toutes les valeurs d'index utilisées datent du premier calcul d'index réalisé en 2008.

1. Procédure d'échantillonnage

Les critères pour la mise en cryobanque de la semence des taureaux de type II ont été les suivants :

- Lait, TB et TP : taureaux se situant à plus **de 3 écarts types génétiques** au-dessus ou en dessous de la moyenne.
- Caractères fonctionnels (longévité fonctionnelle, fertilité, comptages cellulaires) : taureaux se situant à plus **de 2 écarts types génétiques** au-dessus de la moyenne (il est admis qu'il n'y a pas d'utilité à retenir des animaux détériorateurs pour les caractères fonctionnels).
- Morphologie : pour les postes musculature/ valeur bouchère (quand il existe pour la race), plancher jarret (avec repérage des animaux produisant une petite mamelle ou une mamelle haute, en fonction de la note choisie dans la race) et vitesse de traite => animaux se situant à plus **de 2 écarts types génétiques**. Hauteur au sacrum : pour ce dernier poste, les animaux très grands (**+2 écarts types génétiques**) mais également les animaux très petits (donc **-2 écarts types**) ont été sélectionnés, une réduction de la taille des animaux pouvant éventuellement devenir un objectif de sélection.

Dans les règles d'échantillonnage de la Cryobanque nationale en vigueur jusqu'à l'arrivée des taureaux issus de la sélection génomique, les taureaux exceptionnels sont repérés en comparant leur valeur d'index avec celle de la moyenne de leurs contemporains, établie sur 5 ans pour les trois races nationales (PHO, MON et NOR) et sur 9 ans pour les autres.

Pour notre étude, et pour les index sauf celui de la production laitière, la première année d'échantillonnage est celle où au moins deux taureaux étaient indexés une année donnée ou en cumul sur deux ans. Pour l'index lait, en raison du grand nombre d'animaux indexés sur ce caractère dès le départ des programmes, la première moyenne de référence correspond à celle des animaux nés avant 1966. La date de démarrage des échantillonnages est donc variable en fonction des races et des index considérés. De plus, le nombre d'années permettant le calcul de la moyenne de la population de référence est différent que ce qui est en vigueur actuellement à chaque début de programme, c'est à dire tant que l'on n'a pas respectivement 5 ans (races nationales) ou 9 ans (races régionales) d'échantillonnage cumulés. Par ailleurs, les années de référence considérées sont les années de naissance des taureaux et non pas les années d'agrément, comme il est fait actuellement.

2. Résultats de l'échantillonnage de la collection « quotidienne »

a) Index exceptionnels

A partir de ces règles, le Tableau 23 présente un récapitulatif des taureaux repérés comme exceptionnels pour la cryobanque virtuelle, qui sera appelée par la suite la collection « quotidienne ». Il faut noter que le nombre d'animaux échantillonnés (1 431 taureaux) est inférieur à la somme des totaux par poste (1 621), puisque certains animaux ont pu être échantillonnés pour plusieurs index.

Tableau 23 : Cryobanque « quotidienne » : taureaux exceptionnels non mis sur le marché par race et par index.

Poste	Index	ABO	BRU	PRP	SIM	TAR	MON	NOR	PHO	Total par poste	% par poste / total collection
Fonctionnel	CEL	/	/	1	1	/	21	27	122	172	11%
Fonctionnel	FER	/	/	1	/	/	14	39	94	148	9%
Fonctionnel	LGF	4	/	/	/	2	15	35	172	228	14%
Morphologie	HSmoi	1	/	/	2	/	64	53	150	270	17%
Morphologie	HSsup	1		1	/	1	27	45	197	272	17%
Morphologie	MU	1	/		1	1	41	53	/	97	6%
Morphologie	PJ	1	1	2	/	/	45	22	118	189	12%
Morphologie	VT	/	/	1	/	/	17	28	135	181	11%
Production	LAI	/	/	/	/	/	/	2	12	14	1%
Production	TB	/	/	/	/	/	7	6	16	29	2%
Production	TP	/	/	/	1	/	1	6	13	21	1%
Total par race		8	6	1	4	5	252	316	1 029	1 621	
% par race / total collection		0,5%	0,4%	0,1%	0,2%	0,3%	15,5%	19,5%	63,5%	0,5%	

Quand on applique les règles de l'échantillonnage a posteriori, les résultats sont les suivants :

1. peu de taureaux sont repérés pour les races régionales ;
2. peu de taureaux sont exceptionnellement améliorateurs pour les index de production ;
3. pour les autres postes, la variabilité est forte suivant la race considérée (MON, NOR, PHO).

b) Père à taureaux sans descendance

Pour cet échantillonnage, un fils de chaque père à taureau (PAT) qui n'a pas eu de mâle mis sur le marché est conservé, à condition qu'il soit né en France : cela explique dans le Tableau 24 l'écart constaté entre nombre de PAT testés et le nombre de taureaux conservés en collection pour les races Pie Rouge des Plaines, Brune, Prim'Holstein et Simmental Française, les programmes de ces quatre races faisant largement appel à des taureaux étrangers. Si plusieurs fils non mis sur le marché étaient disponibles, le mâle doté du meilleur INEL (en 2008) est conservé.

Tableau 24 : Collection quotidienne des meilleurs fils (INEL) de PAT sans fils mis sur le marché

Race	ABO	PRP	BRU	TAR	SIM	MON	NOR	PHO
Total taureaux échantillonnés	13	2	5	14	11	59	71	107
Nb de PAT testés pendant la période	54	95	57	54	108	230	244	867
Rapport Echantillon /nb PAT testés	24%	2%	9%	26%	10%	26%	29%	12%

Le nombre de taureaux conservés est, pour les races françaises, équivalent d'une race à l'autre, et se situe aux alentours d'un quart des PAT testés.

c) Type III

Les règles actuelles d'échantillonnage imposent de conserver chaque année tous les taureaux mis sur le marché par race si ce nombre est inférieur ou égal à 10 : c'est le cas pour les 5 races à plus petits effectifs. Pour les races nationales, 10 taureaux sont échantillonnés parmi tous les taureaux mis sur le marché en prenant les meilleurs animaux par l'INEL, et en respectant les poids respectifs des entreprises de sélection dans le programme pour une année *N*. Le bilan du nombre de taureaux échantillonnés pour cette collection et la moyenne de leurs différents index sont présentés au Tableau 25.

Tableau 25 : Nombre de taureaux échantillonnés (Nb tx) et moyenne de leurs index de production pour la collection « quotidienne »

Race	Nb tx	LAIT	TP	TB	INEL
ABO	96	-255	-0,10	0,37	-11
BRU	86	-910	-0,87	-1,07	-47
PRP	55	-1 039	-0,77	-1,91	-51
SIM	109	-707	-0,70	-0,40	-34
TAR	96	-407	-0,09	0,40	-17
MON	318	-861	0,00	0,13	-31
NOR	326	-795	-0,74	0,48	-39
PHO	332	-1 580	0,21	3,07	-46

3. *Evaluation de la collection quotidienne*

Ici, nous nous pencherons sur la comparaison de la moyenne des index des taureaux mis sur le marché entre 2005 et 2007, et les taureaux de nos différentes collections virtuelles.

Les résultats des différentes collections seront comparés aux taureaux actuels, en faisant la même opération que pour évaluer la collection réelle de la Cryobanque, à savoir :

$$\Delta = (MI_{ta} - MI_{cb}) / SI_{ta}$$

où MI_{ta} est la moyenne d'index des taureaux actifs, MI_{cb} celle des taureaux en cryobanque et SI_{ta} l'écart-type d'index des taureaux actifs.

a) Index exceptionnels

Ce comparatif a été réalisé par série, en prenant comme référence pour les taureaux cryobanque les taureaux qui ont été sélectionnés pour ce caractère : par exemple il a été calculé la valeur moyenne de la fertilité de tous les taureaux normands qui ont été échantillonnés pour ce caractère. Ensuite, la valeur moyenne de l'INEL et de l'ISU de ces taureaux a été également calculée pour la comparer avec celle des taureaux actuels. Ce calcul a été réalisé à partir du moment où au moins 4 taureaux avaient été échantillonnés pour une race et un critère donné. Les résultats sont présentés dans le Tableau 26 pour les caractères fonctionnels, Tableau 27 pour les caractères de production et Tableau 28 pour les caractères morphologiques.

Tableau 26 : Comparaison des collections par critère d'échantillonnage de caractères fonctionnels avec les taureaux actuels

Caractère fonctionnel	Race	Ecart avec les index fonctionnels	Ecart avec les INEL	Ecart avec les ISU
Cellules	MON	+ 2,32	-5,47	-4,23
	NOR	+ 1,72	-5,19	-5,39
	PHO	+ 2,26	-4,42	-3,53
Fertilité	MON	+ 2,52	-4,48	-3,42
	NOR	+ 2,26	-5,90	-6,85
	PHO	+ 2,95	-4,50	-3,93
Longévité	MON	+ 1,86	-2,27	/
	NOR	+ 1,84	-5,62	-4,43
	PHO	+ 1,09	-5,23	-5,85
	MON	+ 2,05	-5,09	-4,08

D'après les résultats du Tableau 26, les taureaux en collection sont clairement supérieurs aux taureaux actuels pour tous les caractères fonctionnels. Cela veut dire que l'objectif des échantillonnages pour ces caractères est atteint. En revanche, on peut d'ores et déjà préfigurer qu'il y aurait des difficultés à utiliser ces animaux à l'heure actuelle, car ils sont très inférieurs aux taureaux contemporains que ce soit pour l'INEL ou pour l'ISU.

Tableau 27 : Comparaison des collections par critère d'échantillonnage de caractères de production (quand la collection est supérieure ou égale à 4 taureaux), avec les taureaux actuels

Caractère de production	Race	Ecart avec les index production	Ecart avec les INEL	Ecart avec les ISU
LAI	MON	-0,56	-3,63	-3,52
TP	NOR	+ 2,55	-6,43	-8,86
TP	PHO	+ 3,00	-3,82	-4,29
TB	MON	+ 4,44	-4,01	-4,25
TB	NOR	+ 3,88	-7,09	-9,11
TB	PHO	+ 5,19	-5,10	-4,32

Nous constatons tout d'abord que des taureaux échantillonnés comme supérieurs à la moyenne avec plus de trois écarts-type pour le lait sont devenus détériorateurs aujourd'hui (Tableau 27). On rappelle à ce propos que notre échantillonnage a été réalisé sur une période de plus de quarante ans. La pression de sélection est telle sur ce caractère qu'il est finalement peut-être inutile de repérer ces animaux. En revanche il est intéressant de voir que le progrès n'est pas aussi fort pour le TP. Pour le TB, les taureaux collections s'avèrent en moyenne très supérieurs aux taureaux actuels. Néanmoins, comme pour les index fonctionnels, la réutilisation pratique de ces taureaux sera sûrement très problématique en raison d'ISU ou d'INEL très inférieurs au niveau des taureaux actuels.

Tableau 28 : Comparaison des collections par critère d'échantillonnage de caractères morphologiques, avec les taureaux actuels

Caractère de morphologie	Race	Ecart avec les index morphologie	Ecart avec les INEL	Ecart avec les ISU
Musculature	MON	+ 2,49	-5,40	-5,20
	NOR	+ 3,14	-7,51	-9,35
Mamelle	MON	+ 1,03	-5,11	-4,89
	NOR	+ 1,34	-5,83	-6,74
	PHO	+ 1,76	-5,06	-4,29
Vitesse traite	MON	+ 1,35	-5,14	-4,93
	NOR	+ 1,33	-6,00	-7,95
	PHO	+ 1,97	-4,70	-5,18
Hauteur au sacrum positive	MON	+ 2,14	-6,08	-4,89
	NOR	+ 0,73	-6,96	-9,01
	PHO	+ 0,59	-4,87	-4,80

Les taureaux échantillonnés pour leur taille arrivent à être supérieurs aux taureaux actuels, malgré la forte pression de sélection exercée sur ce caractère (Tableau 28). Cet écart est moins important que pour d'autres caractères, en particulier la musculature. Tous index confondus, ce sont les taureaux améliorateurs pour la musculature qui s'avèrent les plus mauvais en INEL et l'ISU, probablement en raison de la corrélation négative entre ces deux caractères.

Au final, la comparaison entre les valeurs d'index des taureaux de la collection sélectionnés pour le critère utilisé (quand le nombre de taureaux par race et par critère est supérieur ou égal 4) montre que la moyenne des taureaux en collection est toujours supérieure à celle des taureaux actuels, à l'exception près du lait :

- Cette supériorité est majeure en TB ;
- Elle est forte en musculature, TP, Fertilité et Cellules ;
- Elle reste élevée en Longévité, Vitesse de Traite et Mamelle ;
- Elle est passable pour la taille.

b) Père à taureaux sans descendance

En raison d'effectifs trop restreints, les races Brune et Pie Rouge des Plaines sont exclues de l'étude, ainsi que l'ensemble des 5 races à plus petits effectifs pour les index de morphologie et fonctionnels.

On retrouve dans le Tableau 29 que ce sont pour les critères les plus sélectionnés comme le lait que l'infériorité des taureaux de la collection est la plus flagrante.

Tableau 29 : Comparaison par critère et race entre les index de la collection PAT et des taureaux contemporains, en écart type d'index

Poste	Index	ABO	SIM	TAR	MON	NOR	PHO
Fonctionnel	CEL				-0,20	-0,58	-0,39
	FER				-0,09	-0,51	0,30
	LGF				-0,81	-1,58	-0,88
Morphologie	HS				-0,36	-1,61	-1,93
	MU				0,19	0,92	/
	PJ				-0,96	-1,11	-0,55
	VT				-1,12	-1,03	-0,27
Production	LAI	-8,17	-3,77	-5,13	-5,54	-5,51	-5,98
	TB	0,19	-1,06	-0,21	-0,31	-0,39	1,03
	TP	0,25	-0,75	-0,27	-0,97	-1,52	-0,54

Même si le nombre de résultats est limité, il est intéressant de voir que pour **la musculature** les taureaux sont en moyenne supérieurs aux animaux actuels. Pour le TB, deux races ont des collections avec des évaluations supérieures à la moyenne actuelle, l'Abondance et la Prim'Holstein. A noter que l'Abondance tranche avec les autres races, en étant la seule avec une collection de PAT d'index moyen supérieur aux taureaux actuels pour le TP. La faible

taille de l'échantillon en est peut-être une des causes, avec en particulier la valeur atypique d'un taureau indexé à +2,3 (contre une moyenne actuelle de 0,18).

On retiendra donc que les taureaux conservés en collection pour des raisons de diversité génétique sont détériorateurs en moyenne, sauf pour la musculature.

c) Type III

Le même exercice de comparaison a été effectué pour les taureaux échantillonnés au titre du type III. La valeur comparée de leurs index est présentée dans le Tableau 30.

Tableau 30 : Comparaison par critère et race entre les index de la collection Type III et des taureaux contemporains, en écart type d'index

Poste	Index	ABO	BRU	PRP	SIM	TAR	MON	NOR	PHO	Moyenne
Fonctionnel	CEL	-0,65	0,60	-0,26	-0,12	-0,21	-0,02	-0,48	-0,37	-0,19
Fonctionnel	FER	0,16	1,25	0,82	-0,03	0,55	0,02	-0,31	0,21	+0,33
Fonctionnel	LGF	-0,86	-0,42	-0,80	-0,27	-0,82	-0,77	-1,39	-0,99	-0,79
Morphologie	HS	-0,11	-0,79	-1,87	-0,45	0,26	-0,26	-1,47	-1,67	-0,80
Morphologie	MU	0,21	/	/	-0,48	0,24	0,23	0,39	/	+0,12
Morphologie	PJ	-0,10	1,44	-1,13	0,19	-0,08	-0,99	-0,87	-0,75	-0,29
Morphologie	VT	-0,39	0,23	-0,40	-0,61	-0,24	-0,96	-0,58	-0,19	-0,39
Production	LAI	-3,70	-2,33	-3,18	-1,98	-2,64	-3,75	-4,15	-4,58	-3,29
Production	TB	0,23	-0,51	-0,61	-0,60	0,13	0,07	0,18	1,40	+0,04
Production	TP	0,03	-0,92	-1,11	-0,45	0,13	-1,00	-0,97	0,07	-0,53
Moyenne par race		-0,52	-0,85	-0,15	-0,27	-0,48	-0,74	-0,97	-0,69	

Les grandes tendances constatées au paragraphe précédent sont retrouvées : globalement, hors fertilité, TB et musculature, les taureaux en collection sont inférieurs aux taureaux contemporains. Néanmoins il existe beaucoup de cas particuliers et de plus l'évolution est contrastée dans le temps.

- **Caractères fonctionnels :**

Pour la fertilité, les taureaux de type III sont améliorateurs pour toutes les races, sauf en en Normandie. En revanche, pour cette dernière, l'évaluation par période est variable : les taureaux nés entre 1971 et 1975 sont améliorateurs (+0,15), tandis que ceux de la période 1986/1990 sont fortement détériorateurs. Pour cette période, sur 51 taureaux indexés, 33 le sont défavorablement. La supériorité des taureaux actuels est probablement due au taureau Diamètre, qui est un père à taureaux majeur, très bien indexé sur ce caractère (+0,90).

Pour les comptages cellulaires, les taureaux des collections sont en général détériorateurs.

Pour la longévité fonctionnelle, toutes les collections sont inférieures aux animaux actuels. La collection Normande est celle qui présente les animaux les plus détériorateurs avec, en particulier, des animaux très faiblement indexés dans la période 1981/1990. A l'inverse les plus vieux taureaux (1966/1970) ont des index similaires aux taureaux actuels.

- **Caractères de production :**

Pour le TP, seuls les taureaux de race Tarentaise sont améliorateurs.

Pour le TB, les collections sont inférieures pour les races Brune, la Pie Rouge des Plaines et Simmental Française. En revanche la collection est supérieure pour la Prim'Holstein, la moyenne par quinquennat ayant tendance à décroître à chaque nouvelle période, depuis les années 1966/1970, avec une moyenne d'index de +4,2, pour décliner à +1,6 dans les années 1991/1995. Les taureaux actuels ont une moyenne de -0,6.

Pour le lait, c'est évidemment avec ce caractère que les collections se révèlent les moins bien indexées en moyenne. L'écart est le plus important en Prim'Holstein et le moins important en Simmental Française : cette race a mis en place une sélection équilibrée pour tous les caractères, ce qui limite forcément les progrès sur chacun d'entre eux.

- **Caractères de morphologie :**

Pour la vitesse de traite, les taureaux de type III sont inférieurs pour toutes les races, sauf la Brune : pour cette dernière, la présence de taureaux très améliorateurs dans la période étudiée 1991/1995 explique ce résultat.

Pour la musculature, c'est l'inverse, les vieux taureaux sont plutôt améliorateurs par rapport aux mâles actuels, sauf en Simmental Française.

Pour le volume de la mamelle, si globalement les taureaux en collection sont en moyenne moins bons, voire très mauvais (Pie Rouge des Plaines, Montbéliarde), il est surprenant de constater que dans deux races, la Brune et la Simmental Française, les taureaux en collection sont meilleurs. Pour la race Brune ce résultat est à mettre sur le compte de quelques très bons taureaux nés dans la dernière période évaluée (1991/1995). Pour la Simmental Française, on observe une dégradation au fil des ans, la moyenne la plus élevée étant constatée pour la période 1981/1985 (+1,00).

Pour la hauteur au sacrum, les taureaux actuels sont toujours supérieurs à ceux des collections, sauf en Tarentaise. C'est dans les deux races à forte prépondérance de gènes Holstein Nord-Américains, la Pie Rouge des Plaines et la Prim'Holstein, que les écarts sont les plus importants avec la collection en Cryobanque, suivies par la Normande.

Pour conclure sur l'évaluation des collections de Type III, il faut retenir que les taureaux en collection sont plutôt inférieurs aux taureaux actuels, quel que soit le caractère considéré ; néanmoins il existe beaucoup de cas particuliers et une évolution contrastée dans le temps. Un corollaire de cette étude est que les choix réalisés dans chaque programme de sélection apparaissent nettement quand on trace l'évolution dans le temps des index de chaque caractère. Pour une race comme la Prim'Holstein, on voit que les gestionnaires ont misé principalement sur l'amélioration de caractères comme la production laitière et la taille des animaux, tandis qu'à l'opposé, la Simmental Française a été sélectionnée en prenant en compte à peu près tous les caractères à des niveaux équivalents.

4. *Echantillonnage d'une collection « a posteriori »*

Dans cette partie, nous avons procédé à l'échantillonnage des taureaux anciens en comparant leurs index avec la moyenne des taureaux actuels (c'est à dire des taureaux mis en service entre 2004 et 2007). Il s'agissait de repérer des animaux anciens qui sont toujours exceptionnels aujourd'hui. L'idée sous-jacente était de voir si les règles d'échantillonnage appliquées aujourd'hui nous font passer à côté d'animaux intéressants. Les résultats issus de cette analyse sont présentés au Tableau 31.

Tableau 31 : Cryobanque « a posteriori ». Taureaux exceptionnels non mis sur le marché par race et par index.

Poste	Index	ABO	BRU	PRP	SIM	TAR	MON	NOR	PHO	Total par poste
Fonctionnel	CEL	/	/	/	/	/	31	10	144	185
Fonctionnel	FER	/	3	1	/	/	25	33	288	350
Fonctionnel	LGF	2	/	3	/	1	19	10	139	174
Morphologie	Hsmoi	2	/	1	3	/	48	134	816	1 004
Morphologie	Hssup	1	/	/	/	1	19	4	11	36
Morphologie	MU	1	/	1	/	1	43	87		133
Morphologie	PJ	/	1	4	1	/	1	4	102	113
Morphologie	VT	/	/	1	/	/	2	2	45	50
Production	LAI	/	/	/	/	/	/	/	/	0
Production	TB	1	/	/	/	/	12	38	407	458
Production	TP	/	1	/	/	/	4	4	5	14
Total par race	7	11	3	5	204	4	326	1 957	2 517	

La comparaison entre cette collection et la collection « quotidienne » (définie au paragraphe II.B.2.a.) permet de repérer les animaux qui nous intéressent pourtant aujourd’hui mais qui auraient été « manqués » avec les règles d’échantillonnage que l’on utilise actuellement. Le bilan de ces taureaux absents de la collection quotidienne est présenté Tableau 32.

Tableau 32 : Taureaux absents de la collection « quotidienne » et repérés dans la collection « a posteriori »

Poste	Index	ABO	BRU	PRP	SIM	TAR	MON	NOR	PHO	Total
Fonctionnel	CEL	/	/	/	/	/	10	/	22	32
Fonctionnel	FER	/	3	/	/	/	11	5	194	213
Fonctionnel	LGF	/	/	3	/	/	8	/	8	19
Morphologie	Hsmoi	1	/	1	1	/	6	81	666	756
Morphologie	MU	/	/	1		/	5	35	/	41
Morphologie	PJ	/	/	2	1	/	/	/	8	11
Production	TB	1	/	/	/	/	5	32	391	429
Production	TP	/	1	/	/	/	3	/	/	4
Total par race		2	4	7	2	0	48	153	1 289	

Les taureaux « manqués » varient en fonction des postes et des races. Néanmoins, on constate que pour certains postes les erreurs sont plus fréquentes : c’est le cas en particulier pour le taux butyreux, la hauteur au sacrum négative, la fertilité et la musculature. A l’inverse il n’y a pas de taureaux manqués pour la hauteur au sacrum positive et la vitesse de traite. A noter les cas particuliers de la Montbéliarde où beaucoup de taureaux améliorateurs en taux protéiques et en fonctionnels n’ont pas été repérés, et de la Prim’Holstein, où des taureaux déviants en fertilité n’ont pas été détectés par la procédure d’échantillonnage actuelle.

Dans le Tableau 33 nous présentons un décompte des taureaux communs aux deux collections.

Tableau 33 : Taureaux communs à la collection « quotidienne » et « a posteriori »

	Index	ABO	BRU	PRP	SIM	TAR	MON	NOR	PHO	Total	% Quotidienne
Fonctionnel	CEL	/	/	/	/	/	21	10	122	153	89%
Fonctionnel	FER	1	/	/	/	/	14	28	94	137	93%
Fonctionnel	LGF	/	2	1	/	/	11	10	131	155	68%
Morphologie	Hsmoi	/	1	/	/	2	42	53	150	248	92%
Morphologie	Hssup	/	1	1	/	/	19	4	11	36	13%
Morphologie	MU	/	1	1	/	/	38	53		93	96%
Morphologie	PJ	2	/	/	1	/	1	4	94	102	54%
Morphologie	VT	1	/	/	/	/	2	2	45	50	28%
Production	Lait	/	/	/	/	/	/	/	/	0	0%
Production	TB	/	/	/	/	/	7	6	16	29	100%
Production	TP	/	/	/	/	/	1	4	5	10	48%
Total		4	5	3	1	2	156	174	668		
% Quotidienne		63%	100%	67%	40%	75%	62%	55%	65%		

Pour cette comparaison, il faut se rappeler que, par construction, quand un taureau de la collection quotidienne est absent de la collection a posteriori, cela signifie que son index n'est pas exceptionnel par rapport aux taureaux actuels. Au final, c'est en race Simmental Française puis en race Normande que l'on trouve, en pourcentage de la collection quotidienne, le moins de taureaux communs entre les deux collections. Dans ces deux races, les taureaux en collection, jadis exceptionnels, ne sont finalement plus différents des animaux actuels. Pour les index, ce sont logiquement pour les critères où la pression de sélection est la plus importante que l'on trouve le moins d'animaux communs, à savoir le lait, puis la hauteur au sacrum positive, la vitesse de traite (moins attendue) puis le taux protéique. A l'inverse l'intégralité des taureaux détectés pour les TB dans la collection quotidienne sont présents dans la collection a posteriori, ce qui signifie que tous les animaux repérés pour ce caractère dans la collection quotidienne sont toujours exceptionnels aujourd'hui. Les autres collections où une très grande majorité des animaux sont toujours d'actualité sont la musculature, la fertilité et la hauteur au sacrum négative.

Pour conclure sur cette étude d'une cryobanque virtuelle, l'analyse d'une cryobanque dont l'échantillonnage a été réalisé pour certains caractères (production laitière) sur une période de plus de 40 ans montre que les méthodes actuelles d'échantillonnage permettent de sélectionner des taureaux qui resteront déviants sur la durée uniquement pour les **caractères peu sélectionnés** (fertilité, musculature...). Par ailleurs, ces mêmes taureaux s'avèrent très détériorateurs pour des caractères de production, en particulier pour le lait, ce qui risque de compliquer leur utilisation potentielle. A la vue de ces résultats, et à la suite des études de simulation que nous présentons au paragraphe suivant, nous proposerons des pistes d'amélioration des protocoles d'échantillonnage de la Cryobanque en discussion de cette troisième partie.

C. Simulation de la réintroduction in situ de matériel cryoconservé

1. Introduction

Les collections de la cryobanque contiennent donc du matériel varié, avec, pour certains taureaux, des animaux fortement améliorateurs par rapport aux taureaux actuels pour des caractères contre-sélectionnés comme la fertilité. Il est donc utile de s'interroger sur les conditions d'utilisation de ce type de matériel, sur une population soumise à une forte intensité de sélection, ce qui est l'objet du présent volet. Nous analyserons deux situations correspondant à deux objectifs possibles d'une telle utilisation : (i) une réorientation de la sélection ou (ii) la limitation de la perte de variabilité génétique. L'approche retenue consiste à simuler des données de populations sélectionnées ayant un fonctionnement démographique simplifié. Deux caractères seront simulés, l'un étant l'objectif de sélection pendant les premières générations, l'autre étant un caractère négativement corrélé au premier. L'impact de la réintroduction de semence congelée sera testé en jouant sur certains paramètres : critères de choix des reproducteurs issus de la cryobanque, taux respectifs d'utilisation de semence issue de la population active et de la cryobanque, utilisation de la semence issue de la cryobanque pour procréer des femelles ou bien de futurs taureaux d'insémination, etc. Les variables retenues pour apprécier l'impact de la réintroduction de matériel cryoconservé seront les moyennes et variances génétiques des deux caractères considérés ainsi que divers indicateurs de la variabilité génétique neutre issus de l'analyse des pedigrees (parenté, consanguinité, probabilités d'origine des gènes). Les résultats sont présentés dans l'article ci-après (Leroy *et al.*, 2011).

2. Article : “Impact of the use of cryobank samples in a selected cattle breed: a simulation study”

RESEARCH

Open Access

Impact of the use of cryobank samples in a selected cattle breed: a simulation study

Grégoire Leroy^{1,2*}, Coralie Danchin-Burge^{2,3} and Etienne Verrier^{1,2}

Abstract

Background: High selection pressure on domestic cattle has led to an undesirable increase in inbreeding, as well as to the deterioration of some functional traits which are indirectly selected. Semen stored in a cryobank may be a useful way to redirect selection or limit the loss of genetic diversity in a selected breed. The purpose of this study was to analyse the efficiency of current cryobank sampling methods, by investigating the benefits of using cryopreserved semen in a selection scheme several generations after the semen was collected.

Methods: The theoretical impact of using cryopreserved semen in a selection scheme of a dairy cattle breed was investigated by simulating various scenarios involving two negatively correlated traits and a change in genetic variability of the breed.

Results: Our results indicate that using cryopreserved semen to redirect selection will have an impact on negatively selected traits only if it is combined with major changes in selection objectives or practices. If the purpose is to increase genetic diversity in the breed, it can be a viable option.

Conclusions: Using cryopreserved semen to redirect selection or to improve genetic diversity should be carried out with caution, by considering the pros and cons of prospective changes in genetic diversity and the value of the selected traits. However, the use of genomic information should lead to more interesting perspectives to choose which animals to store in a cryobank and to increase the value of cryobank collections for selected breeds.

Background

Within the context of farm animal biotechnologies, cryopreservation is one of the most useful tools for selection improvement, dissemination of genetic progress and *ex situ* conservation. In its Global Plan of Action, the FAO [1] recommended the implementation of *ex situ* programmes to complement *in situ* conservation of animal genetic resources. It was also suggested that cryopreserved bio-specimens could be used as a backup material to redirect the selection scheme of a given breed, if needed [2,3]. Consequently, several gene banks have been created with different strategies and policies that vary with the breed, species, and country concerned [4,5] and methods have been proposed to use *ex situ* genetic resources to optimise the management of genetic diversity in endangered breeds [6]. Breeds with large populations are subject to high selection pressures

and have rates of inbreeding greater than the desired values [7]. In these cases, the use of stored semen from male ancestors has seldom been investigated, although breeding organisations could be interested in doing so. For instance, in the dairy cattle breed Abondance (a local selected breed in the French Northern Alps), the semen of a bull born in 1977 (called Naif), which was rarely used in the 1980's, was used from 2004 to 2007, to produce 20 young bulls in order to reintroduce some genetic variability in the breed.

Depending on the country, different strategies have been implemented to sample individuals for national collections. In the Netherlands, most of the tested bulls are sampled for preservation in the gene bank [8], while in the USA, the selection of animals for cryopreservation is aimed at optimizing genetic diversity within the collection, by sampling animals from clusters determined through computed genealogical relationships [9]. In France, based on the idea that individuals sampled for a cryobank should be as diverse as possible and carry special genotypes [10], regulations have been implemented

* Correspondence: gregoire.leroy@agroparistech.fr

¹AgroParisTech, UMR 1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, 16 rue Claude Bernard, 75231 Paris 05, France

Full list of author information is available at the end of the article

to conserve frozen sperm from three main origins: (I) animals from endangered breeds, (II) original animals from non-endangered breeds (with either extreme positive or negative Estimated Breeding Values (EBV), carrying rare alleles or representing rare pedigree lines), and (III) representative animals from non-endangered breeds [2].

The purpose of this study was to analyse the efficiency of current cryobank sampling methods by investigating the benefits of using cryopreserved semen in a selection scheme several generations after the semen was collected. Based on simulations, we examined two situations in which cryopreserved sperm was used (1) to redirect the selection goal, by including a trait which, in the past, had shown a negative correlated selection response (e.g. fertility in dairy cattle), and (2) to limit the loss of genetic diversity in the breed. The impact of using cryopreserved sperm was measured by estimating the evolution of two negatively correlated traits and the evolution of the breed's genetic diversity, assessed through pedigree information.

Methods

Simulated breed

A simplified cattle breed was simulated with 13 discrete generations, each consisting of 100 males and 10000 females. In each generation, 10 bulls and 50 cows were chosen as parents of the male progeny, and 20 bulls and 10000 cows were chosen as parents of the female progeny (with no selection on the dam to dam path). Mating was random resulting in random variation of progeny size among parents, i.e. the sire and dam of a given newborn were randomly chosen in the corresponding lists of parents.

Simulation of genetic values and EBV

We considered two traits A and B. Trait A corresponded to a production trait which had been recently and intensively selected and improved (such as milk production in dairy cattle). Trait B corresponded to a functional trait which had deteriorated because of a negative correlation with trait A (e.g. fertility or longevity). The genetic standard deviation of each trait (σ_A and σ_B , respectively) was set to 1 and the correlation between traits (ρ) was set to -0.3.

For each trait, an additive polygenic model was assumed and the simulation of correlated genetic values was based on the bivariate normal distribution (see, e.g. [11]). At generation 0 (base population), genetic values for trait A were randomly and independently drawn from a $N(0, 1)$ distribution. For a given individual (i), the genetic value for trait B (B_i) was generated from its value for trait A (A_i):

$$B_i = \rho A_i + \sqrt{(1 - \rho^2)}\beta_i \quad (1)$$

where β_i is a $N(0, 1)$ random number independent of A_i .

In the following generations, genetic values of individual i were simulated from the genetic values of its sire (A_p and B_p) and its dam (A_m and B_m), taking into account the parent's coefficients of inbreeding (F_p and F_m , resp.) [12,13]:

$$A_i = 1/2(A_p + A_m) + \gamma_i\sqrt{1/2}[1 - (F_p + F_m)/2] \quad (2.a)$$

$$B_i = 1/2(B_p + B_m) + \delta_i\sqrt{1/2}[1 - (F_p + F_m)/2] \quad (2.b)$$

In these equations, γ_i and δ_i are two numbers randomly drawn from a $N(0, 1)$ bivariate normal distribution with a correlation equal to ρ .

EBV were directly simulated from genetic values, assuming an evaluation procedure leading to an accuracy (CD = square of the correlation between the EBV and the true genetic value) equal to 0.6 for bulls and 0.4 for cows, whatever the trait and the generation considered. Therefore, the EBV of a given individual for trait A ($EBVA_i$) and for trait B ($EBVB_i$) were computed as follows:

$$EBVA_i = CD_i A_i + \varepsilon_i\sqrt{CD_i(1 - CD_i)} \quad (3.a)$$

$$EBVB_i = CD_i B_i + \phi_i\sqrt{CD_i(1 - CD_i)} \quad (3.b)$$

where ε_i and ϕ_i are two independent numbers drawn from a $N(0, 1)$ distribution. Finally, a Total Merit Index (TMI_i) was computed, weighting the two EBV by w_A and $w_B = 1 - w_A$, respectively:

$$TMI_i = w_A EBVA_i + w_B EBVB_i \quad (3.c)$$

Sampling and use of cryopreserved semen

Simulations comprised two stages. During stage 1 (generations 0 to 8), the lists of parents were selected based on their EBV for trait A only, without considering the evolution of the genetic mean for trait B or the average coefficient of inbreeding. During stage 2 (generations 9 to 12), the bulls were also used to improve trait B or to introduce genetic diversity in the breed.

During stage 1, the semen of some bulls was sampled and cryopreserved if the animals fulfilled one of the three following conditions, which correspond to the current sampling rules of the French National Cryobank for type "II" (original bulls) [2]:

- (i) $EBVA$ is three standard deviations above or below the mean of the generation,

- (ii) *EBVB* is two standard deviations above the mean of the generation (trait B is considered as a functional trait and for functional traits, only animals above the average are considered),
- (iii) the bull is a sire of sires with no male offspring selected after the evaluation process (these bulls were actually selected with one generation lag).

To check the validity of this elaborate sampling method, we tested a simpler sampling method (similar to the one used in the Netherlands), where the semen of all young bulls is stored in the cryobank.

In the simulations performed here, we investigated the impact of a one-time use (i.e. during a single generation) of cryopreserved semen.

At generation 9, four bulls with cryopreserved semen were selected (hereafter referred to as ‘cryobank bulls’), these bulls fulfilling one of the following conditions either (i) they are the best cryobank bulls for the TMI_i or (ii) they have the lowest average kinship with the existing population (males and females taken together). We studied the impact of various selection orientations (use of cryopreserved semen, conservation of male lines, etc.) only on the male path, because applying the above conditions on the female path would be much more restrictive, less effective, and would require a larger amount of semen, all the more since the number of doses is generally limited in cryobanks (200, in France) [2].

For these reasons, we considered that cryobank bulls were used only to procreate young bulls for progeny testing. The 9th generation of young bulls was then generated using either the bulls from the cryobank or the group of 10 sires selected as described in previous sections. Depending on the scenario (see following section), 0, 40 or 80 individuals (among the 100 newborn bull calves) were sired randomly by one of the four selected cryobank bulls.

Simulation scenarios and results

Six simulation scenarios were completed with two main options (Table 1).

Firstly, in scenario “b”, emphasis was put on the selection of both traits B and A. To achieve this goal, three methods were compared:

- b1: at generation 9, the four bulls with the highest *TMI* ($w_B = 0.5$) were used to sire 40% of the young bulls, while the selection criterion during stage 2 remained unchanged (improving *EBVA*). The other young bulls were sired by bulls randomly sampled within the group of 10 sires;
- b2: at generation 9, no cryobank bull was used, and during stage 2, *TMI* ($w_B = 0.5$) was used as the selection criterion instead of *EBVA*;
- b3: at generation 9, the four cryobank bulls with the highest *TMI* were used to sire 40% of the young bulls, and during stage 2, *TMI* was used as the selection criterion instead of *EBVA*. To test more or less drastic selection changes, scenario b3 was tested with an increasing weight given to trait B (w_B increasing from 0.5 to 1).

Secondly, in scenarios “d”, emphasis was put on genetic variability while trait A remained the breeding goal. Three methods were also compared:

- d1: at generation 9, the four cryobank bulls having the lowest kinship with the existing population (scenario b1) were used to sire 40% of the young bulls;
- d2: at generation 9, no cryobank bull was used, while during stage 2, the progenies on the sire to sire path were given the same size i.e. for each sire of sires, 10 male offspring were created among which those with the two best *EBVA* became the sires of dams and that with the best *EBVA* became a sire of sires;

Table 1 Description of simulation scenarios

Scenarios		Use of cryobank bulls in generation 9		Selection scheme during stage 2 (generations 9-12)	
Objective	Code	Selection of cryobank bulls	% of male offspring	Selection criterion	Use of sire of bulls
Improving trait B	b1	Higher <i>TMI</i> value	40	<i>EBVA</i>	No change
	b2	Not used	0	<i>TMI</i>	No change
	b3	Higher <i>TMI</i> value	40	<i>TMI</i>	No change
Maintaining genetic diversity	d1	Minimizing kinship with current population	40	<i>EBVA</i>	No change
	d2	Not used	0	<i>EBVA</i>	Conservation of male lines
	d3	Minimizing kinship with current population	40	<i>EBVA</i>	Conservation of male lines

EBVA: estimated breeding value for trait A; *EBVB*: estimated breeding value for trait B; *TMI*: total merit index computed as the weighted sum of *EBVA* and *EBVB*

- d3: at generation 9, the four cryobank bulls having the lowest kinship with the existing population (scenario b1) were used to sire 40% of the young bulls, while during stage 2, selection was used to equalise progeny sizes on the sire to sire path.

Simulations were performed with 1000 runs for each scenario. For each generation, individual inbreeding coefficients and genetic values were computed and averaged for the entire male and female populations. The individual coefficients of kinship were also computed and averaged over males only and over the entire populations. The proportion of genes originating from cryobank bulls was computed on the basis of the gene dropping procedure (one locus averaged over the 1000 runs).

Results

Stage 1: evolution of selected traits, diversity loss, and sampling of cryobank bulls

As expected, the results of the different scenarios did not differ significantly for generations 0 to 8 given that in stage 1, the conditions were the same whatever the option chosen, (here we present results averaged over the 1000 runs of one scenario only). With the parameters chosen for the simulation, each sire of sires had on average 10 male offspring (across sires standard deviation s.d. = 2.9) and each sire of dams had on average 500 female offspring (across sires s.d. = 21.6). As expected (see Figure 1), selection on trait A during stage 1 led to a major increase in the mean of this trait (+ 6.7 initial genetic standard deviation) from generation 0 to 8, while at the same time, the mean of B decreased to a lesser extent (-2 initial genetic standard deviation). The average coefficient of inbreeding increased simultaneously. Young bulls were slightly more inbred than

cows, as they originated from a smaller number of sires and dams. In parallel (generation 0 to 8), the average coefficient of kinship among the young bulls and among the entire population increased to 8.1% and 6.9%, respectively.

An average of 31 cryobank bulls was sampled per replicate, 58% being sampled because of outstanding *EBVB* (see Table 2). Table 2 shows that cryobank bulls chosen for their genetic diversity were generally born earlier than others, which can be explained by the fact that they were chosen with one generation lag compared to other sampling procedures.

Stage 2 in scenarios b: change in breeding goals

As shown in Figure 1, introducing cryobank bulls with exceptional *TMI* without changing the selection criterion during stage 2 (scenario b1) had a temporary impact on traits A and B as well as on the diversity indicators of the young bulls. At the whole population level, the impact was negligible, since young bulls sired by cryobank bulls were rarely subsequently selected as sires: three generations after introduction (generation 12), the cryobank contribution to genetic diversity was less than 3% (Table 3).

When *TMI* was used as a selection criterion (considering $w_B = 0.5$), without using cryobank bulls (scenario b2), there was a per generation increase in the mean of trait B from generation 9 on (b1: -0.3 vs b2: +0.4), while the genetic gain for trait A decreased (b1: +1.0 vs b2: +0.4, see additional file 1). The change in breeding goals had no impact on diversity indicators.

Combining the use of cryobank bulls and *TMI* as a selection criterion (scenario b3 for $w_B = 0.5$) resulted in a slight but significant ($P < 0.001$) reduction in average kinship (-0.3% between scenario b2 and b3, with 40% of the males from generation 9 sired by cryobank bulls, see additional file 2). Concerning the selected traits, the

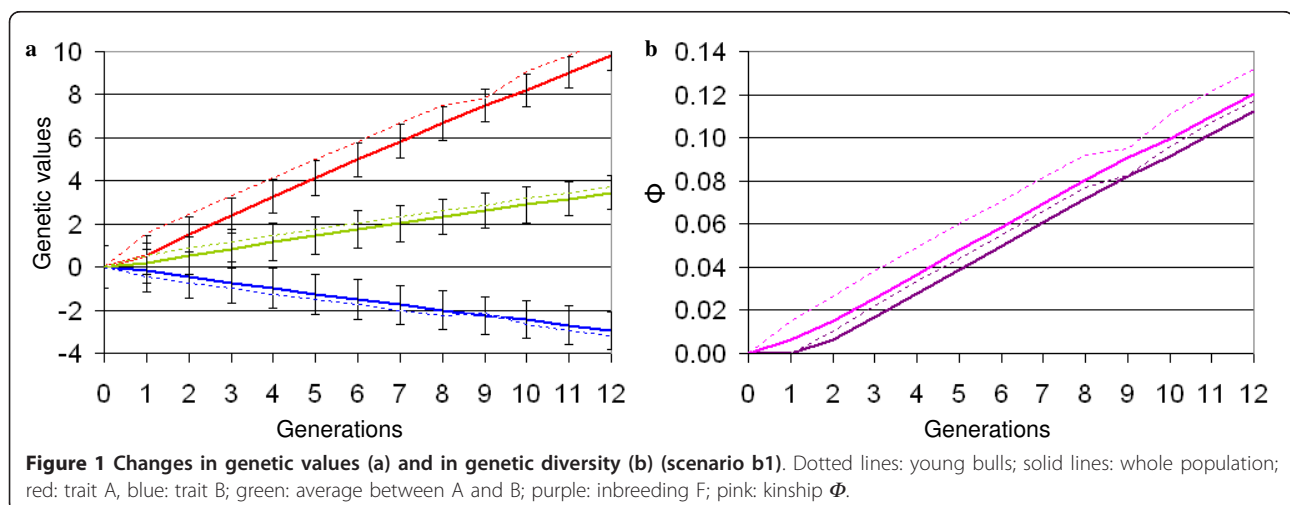


Table 2 Average number and birth generation of bulls selected for conservation

Cryobank sampling criterion	Number of bulls per replicate	% of all cryobank bulls	Birth generation of cryobank bulls
> + 3 s.d. EBVA	0.92 [0.96]	3%	3.52 [1.96]
< - 3 s.d. EBVA	0.95 [0.94]	3%	3.56 [2.03]
> + 2 s.d. EBVB	18 [3.22]	58%	3.5 [0.45]
Sire of sires with no male offspring selected	11.2 [2.48]	36%	2.96 [0.48]
Total	30.9	–	3.3

In brackets, are given the standard deviations (s.d.) between replicates; note that the sum of the cryobank bulls sampled in each category is larger than the total number of cryobank bulls because some bulls were chosen for several criteria at the same time

genetic gain for trait A decreased slightly when cryobank bulls were used (-0.12 between scenarios b2 and b3, $P < 0.001$), while the genetic gain for trait B increased slightly (+0.06 between scenarios b2 and b3, $P = 0.02$). These tendencies increased slightly when 80% of the males from generation 9 were sired by cryobank bulls (see additional file 2). According to the results from Table 3, cryobank bulls contributed to 6.5% of the diversity three generations after their introduction. It should be noted that the cryobank bulls used were generally sampled in recent generations, their average birth generation being 6.6 (Table 3).

As a result of the increased weight of trait B within *TMI* (see Figure 2), there was a per generation increase in genetic gain for trait B, while there was a slightly lower increase or even a decrease in genetic gain for trait A, as well as in average kinship, when trait B accounted for more than 80% of EBV. When only trait B was taken into account for *TMI*, the genetic value of traits A and B reached 4.7 and 1.37, respectively at generation 12 (versus 8.4 and -0.41 respectively when $w_B = 0.5$), while average kinship reached 8.9% at generation 12 (versus 11.9% when $w_B = 0.5$).

Stage 2 in scenarios d: improvement in genetic diversity

As shown in Figure 3, the use of cryobank bulls with a minimised kinship with the current generation

(scenario d1), had no impact if the selection policy was not modified, since none of the offspring of the cryobank bulls were selected as sires. Equalising progeny sizes on the sire to sire path alone (scenario d2) decreased diversity a little less (in generation 12, $\Phi = 12\%$ for scenario d1 and $\Phi = 11\%$ for scenario d2), with an almost negligible impact on genetic progress. Combining this option with the introgression of cryobank bulls (scenario d3) resulted in a significant reduction in average kinship (-2% in comparison to d1). Under such a scenario, the genetic mean of trait B also increased slightly (+0.3 between scenario d1 and d3, $P < 0.001$), while that of trait A and the average of both traits decreased slightly (-0.08 and -0.02 respectively, between scenarios d1 and d3, $P < 0.001$). It should be noted that most of the cryobank bulls used originated from the founder population, their average birth generation being 0.3 (Table 3).

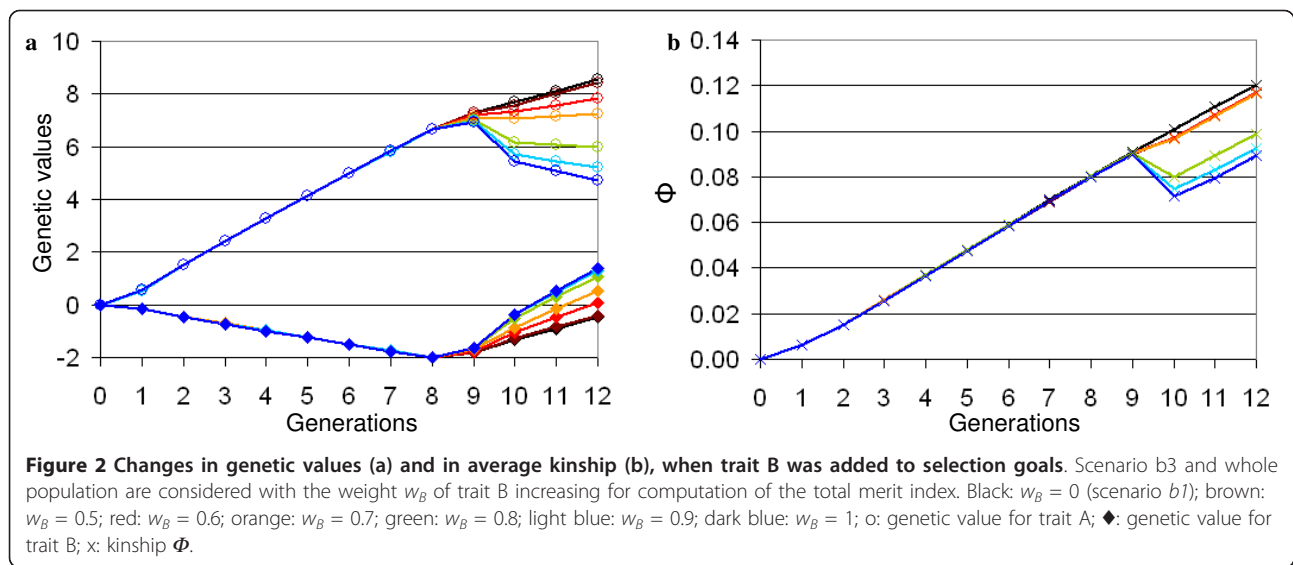
Modifying which bulls entered the cryobank by preserving semen for all the young bulls did not significantly alter the results of scenarios b3 and d3, either for the selected traits or for kinship evolution (data not shown). It should be noted that in this case, the average birth generation of the cryobank bulls used was 7, in scenario b3 (instead of 6.6, in the first cryobank sampling method), and 0, in scenario d3 (instead of 0.3, in the first cryobank sampling method).

Table 3 Origin and impact of cryobank bulls used in the different scenarios

		Scenario*			
		b1	b3	d1	d3
Proportion of bulls used according to the sampling criterion (%)	> +3 s.d. EBVA	3.3 [8.7]	3 [8.8]	1 [1.8]	1 [1.6]
	< -3 s.d. EBVA	3.1 [8.8]	3 [8.2]	4 [1.0]	4 [1.0]
	> +2 s.d. EBVB	67.8 [21.2]	67 [21.6]	72 [21.7]	71 [20.6]
	Sire of sires with no male offspring selected	26.3 [21.2]	27 [21.6]	24 [20.7]	25 [20.2]
Birth generation of cryobank bulls used		6.6 [0.3]	6.6 [0.3]	0.3 [0.3]	0.3 [0.3]
Proportion of genes originating from cryobank bulls (%)	Generation 10	3.6 [2.3]	7.3 [2.8]	0 [0.1]	8.8 [0.9]
	Generation 12	2.8 [2.9]	6.5 [4.2]	0 [0.0]	6.8 [2.3]

In this case, trait B accounts for 50% of the total merit index

*in scenarios b2 and d2, no cryobank bull was used; in brackets are given the standard deviations (s.d.) between replicates

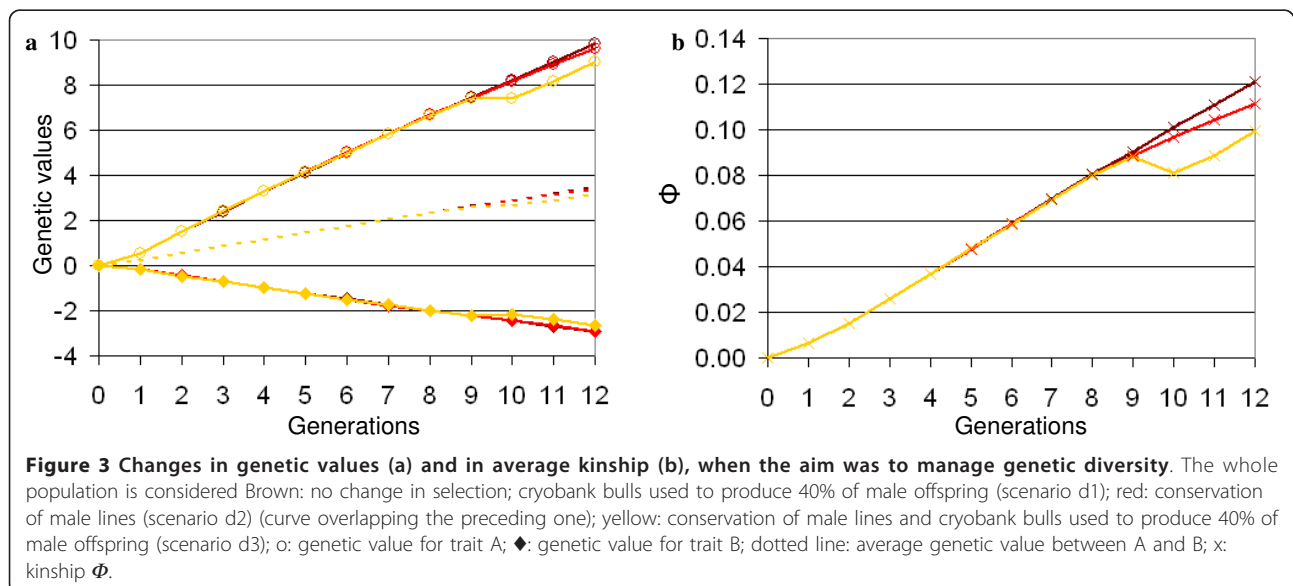


Discussion

In this study, we assessed the impacts of using cryopreserved bull semen either to redirect selection or to improve the genetic variability of a selected cattle breed. Simulation parameters were chosen as a compromise between realism in the scenarios, their applicability, and the simplicity of the model. For instance, with respect to the choice of population size, a breed with 20 breeding males and 10000 potential dams could be considered quite small, especially with reference to the FAO endangerment status [14]. In our simulation, sires and dams were randomly chosen from lists of reproducers. This differs significantly from what occurs in real breeds, in which an unbalanced use of reproducers is frequently the case, leading to a reduced size of the effective

population. In terms of effective size, our breed would correspond to a much larger population with a similar inbreeding rate per generation (1.07%) to that found in real dairy cattle breeds e.g. [15].

Concerning sampling conditions in the simulations, as mentioned above, the procedure chosen to select bulls for cryopreservation is similar to that currently applied in France. This choice was made to test if bulls selected this way could be effectively used in a selected breed. Compared to the case in which all young bulls are sampled for cryopreservation (which corresponds more or less to the current procedure in the Netherlands), the results were basically the same. This shows that the French sampling procedure is reasonably efficient to select useful bulls, and could be applied in situations



when only a limited number of semen samples can be stored in a cryobank (for financial reasons, for instance).

One of the main conclusions of this study is that using cryopreserved semen is relevant for a breed for which major changes in selection objectives or practices are considered. Since genetic progress is rapid in dairy cattle breeds (e.g. [16]), a bull for which semen has been stored for a few generations, is likely to have a lower genetic value than current bulls, if the selection goals remain the same. Thus the latter's offspring may not be used, as illustrated by scenarios b1 and d1, and using cryobank bulls is then meaningless. The results of scenario b3 demonstrate that using cryobank bulls has a significant impact on the selected traits and on genetic diversity only if a relatively large change is implemented in the selection programme (i.e. introducing a new trait formerly negatively selected but subsequently accounting for more than 50% of EBV). Under that scenario, when trait B accounted for less than 70% of EBV, the cryobank bulls selected were those more recently collected, since they generally had a higher value for trait A than older cryobank bulls, which compensated for a slightly lower value for trait B. When trait B accounted for 80% or more of EBV, most of the cryobank bulls finally used, originated from generation 0 (data not shown), which explains the sudden decrease in average kinship after introgression of the cryobank bulls (see Figure 2). Therefore if managers of a selection scheme want to redirect breeding goals, using cryobank bulls is viable only if the breeding goals are subjected to a major modification (i.e. if the weight of the new trait accounts for more than 50% of EBV). Our results also indicate that cryobank bulls that have been sampled for functional traits with high EBV will tend to be used more frequently than other cryobank bulls, independently of the aim.

If the objective is to introduce genetic diversity into the breed, using cryobank bulls appears to be a valid choice. However, it is imperative that other measures are also taken to guaranty that genes are spread within the breed i.e. either conserving male lines (scenario d3), when their use is promoted among breeders, or setting up more restrictive and effective breeding schemes. Several methods of varying complexity have been proposed to minimise kinship [6], or to maximise breeding values for a predefined inbreeding rate [17], or to minimise average kinship for a desired average EBV [18], usually by optimising the contribution of reproducers.

On the one hand, decreasing inbreeding in a selected breed may improve selected traits; for instance, it has been shown that in Holstein cattle, milk production (over 305 days) can decrease by about 20 litres per 1% inbreeding increase [19]. On the other hand, using semen from cryobank bulls has a negative impact on previously selected traits, as illustrated by our

simulations. In the case of local breeds, in which genetic progress is not as effective as in breeds with a larger population size, the difference in EBV between current bulls and bulls from earlier generations should be minimised. This could lead to an effective use of cryobank bulls to reintroduce diversity without overly affecting selected traits. As an illustration in the Abundance breed, one of the male offspring of the bull born in 1977 was found to have quite a high EBV (Vaccin, born in 2003, [20]), and was therefore recently confirmed as a sire of dams. Among all the sires of dams, this bull shared the lowest average kinship with the 2004-2007 female cohorts (4.6% vs. 6.5% on average, personal communication). The impact of using this bull on the genetic variability of the breed remains to be assessed.

Conclusions

Based on our results, using semen from cryobank bulls should be useful either to introduce drastic changes in selection goals or to reintroduce genetic diversity within a given population. However, it is important to carefully assess the pros and cons of the potential changes in genetic diversity and values of the selected traits.

Our simulations were based on a classic quantitative selection scheme. Recent progress in genomic tools should make it possible to identify semen from cryobank bulls that share specific alleles or QTL of interest for selection. This could then be taken into account when choosing cryobank bulls as well as how they will be used. Using such reproducers should be investigated in further studies, which opens exciting perspectives for an improved exploitation of cryobank collections.

Additional material

Additional file 1: Changes in genetic values (a) and in genetic diversity (b) (scenario b2). The data represent the simulation results for scenario b2. Dotted lines: young bulls; solid lines: whole population; red: trait A; blue: trait B; green: average between A and B; purple: inbreeding F ; pink: kinship Φ .

Additional file 2: Changes in genetic values (a) and in average kinship (b) when trait B was added to selection goals. The data represent the simulation results when selection is redirected with a new trait accounting for 50% of the total merit index and when the use of semen from cryobank bulls is increased. Scenario b3 and whole population are considered with the weight w_B given to trait B accounting for 50% of the total merit index and an increased use of the semen from cryobank bulls. Brown: no cryobank bull is used (scenario b2); red: cryobank bulls are used to produce 40% of sons (scenario b3); yellow: cryobank bulls are used to produce 80% of sons; o: genetic value for trait A; \blacklozenge : genetic value for trait B; dotted line: average genetic value between A and B; x: kinship Φ .

Acknowledgements

This study was funded by the *Bureau des Ressources Génétiques* (BRG) (Contract 2007-14 "CryoSitu"). The authors wish to thank Emilie Setlakwe, Daphne Goodfellow and Hélène Hayes for linguistic revision.

Author details

¹AgroParisTech, UMR 1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, 16 rue Claude Bernard, 75231 Paris 05, France. ²INRA, UMR 1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, 78350 Jouy-en-Josas, France. ³Institut de l'Élevage, 149 rue de Bercy, 75012 Paris, France.

Authors' contributions

EV, CDB and GL jointly conceived the design of the study and discussed the results. GL wrote and checked the simulation program. GL wrote the first draft of the manuscript, which was then modified by CDB and EV. All authors read and approved the final manuscript.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Received: 5 May 2011 Accepted: 2 November 2011

Published: 2 November 2011

References

1. FAO: **Global plan of action for animal genetic resources and the Interlaken declaration**. 2007.
2. Verrier E, Danchin-Burge C, Moureaux S, Ollivier L, Tixier-Boichard M, Boichard D, Maignel MJ, Bidanel JP, Clement F: **What should be preserved: genetic goals and collection protocols for the French National Cryobank**. In *Proceedings of the Workshop on Cryopreservation of Animal Genetic Resources in Europe: 23 February 2003; Paris*. Edited by: Planchenault D. Bureau des Ressources Génétiques; 2003:79-89.
3. Gandini G, Oldenbroek K: **Strategies for moving from conservation to utilisation**. In *Utilisation and conservation of farm animal genetic resources*. Edited by: Oldenbroek K. Wageningen: Wageningen Academic Publishers; 2007:29-54.
4. Woelders H, Zuidberg CA, Hiemstra SJ: **Animal genetic resources conservation in The Netherlands and Europe: poultry perspective**. *Poultry Sci* 2006, **85**:216-222.
5. Danchin-Burge C, Hiemstra SJ, Blackburn HD: **Ex situ conservation of Holstein-Friesian cattle - Comparing the Dutch, French and USA germplasm collections**. *J Dairy Sci* 2011, **94**:4100-4108.
6. Sonesson AK, Goddard ME, Meuwissen THE: **The use of frozen semen to minimize inbreeding in small populations**. *Genet Res* 2002, **80**:27-30.
7. FAO: **FAO Guidelines for the Cryoconservation of Animal Genetic Resources (Draft)**. 2010.
8. Danchin-Burge C, Hiemstra SJ: **Cryo-preservation of domestic animal species in France and the Netherlands: Experience, similarities and differences**. In *Proceedings of the Workshop on Cryopreservation of Animal Genetic Resources in Europe: 23 February 2003; Paris*. Edited by: Planchenault D. Bureau des Ressources Génétiques; 2003:15-28.
9. Blackburn HD: **Genebank development for the conservation of livestock genetic resources in the United States of America**. *Livest Sci* 2009, **120**:196-203.
10. Smith C: **Genetic aspects of conservation in farm livestock**. *Livest Prod Sci* 1984, **11**:37-48.
11. Verrier E: **Marker-assisted selection for the improvement of two antagonistic traits under mixed inheritance**. *Genet Sel Evol* 2001, **33**:17-38.
12. Foulley JL, Chevalet C: **Méthode de prise en compte de la consanguinité dans un modèle simple de simulation des performances**. *Ann Génét Sél Anim* 1981, **12**:189-196.
13. Verrier E, Colleau JJ, Foulley JL: **Effect of mass selection on the within-family genetic variance**. *Theor Appl Genet* 1989, **77**:142-148.
14. Scherf BD, Ed: **World Watch List for Domestic Animal Diversity**. Edited by: FAO. Rome; 3 2000.
15. Sorensen AC, Sorensen MK, Berg P: **Inbreeding in Danish dairy cattle breeds**. *J Dairy Sci* 2005, **88**:1865-1872.
16. Philipsson J, Forabosco F, Jakobsen JH: **Monitoring sustainability of international dairy breeds**. *Interbull Bull* 2009, **40**:288-291 [<http://www-interbull.slu.se/bulletins/bulletin40/Philipsson.pdf>].
17. Meuwissen TH, Sonesson AK: **Maximizing the response of selection with a predefined rate of inbreeding: overlapping generations**. *J Anim Sci* 1998, **76**:2575-2583.
18. Colleau JJ, Tual K, de Preumont H, Regaldo D: **A mating method accounting for inbreeding and multi-trait selection in dairy cattle populations**. *Genet Sel Evol* 2009, **41**:7.

19. Croquet C, Mayeres P, Gillon A, Vanderick S, Gengler N: **Inbreeding depression for global and partial economic indexes, production, type, and functional traits**. *J Dairy Sci* 2006, **89**:2257-2267.
20. **Coopérative d'élevage et d'insémination animale de Haute-Savoie**. [<http://www.ceia74.fr/Index/GenetiqueLait.php?Race=12>].

doi:10.1186/1297-9686-43-36

Cite this article as: Leroy *et al.*: Impact of the use of cryobank samples in a selected cattle breed: a simulation study. *Genetics Selection Evolution* 2011 **43**:36.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



En résumé de ces premiers résultats, l'utilisation de la semence des taureaux de la cryobanque a des effets limités si elle n'intervient pas dans le cadre de changements drastiques des objectifs de sélection. En revanche, les résultats montrent que le recours à ce type de semence peut être recommandé pour réintroduire de la variabilité au sein de races locales, aux effectifs et à la pression de sélection moindres que dans les races (inter)nationales, comme ce fut concrètement le cas en race Abondance ces dernières années (Vocoret, 2004).

D. Pistes d'amélioration des protocoles d'échantillonnage

1. Bilan de l'évaluation des collections du point de vue de la diversité génétique – cas des ruminants

La création de la Cryobanque a permis de sécuriser le stockage de doses de matériel biologique issues de populations animales considérées comme des ressources génétiques, quel que soit leur statut, leur effectif ou l'intensité de la sélection à laquelle elle sont soumises. Les collections les plus importantes par le nombre de doses se trouvent chez les races sélectionnées en ovins allaitants et bovins laitiers. L'analyse des données généalogiques de ces races montre que la diversité génétique des collections est le reflet à la fois de la situation de la variabilité génétique des populations et de comment les collections ont été échantillonnées.

Pour les bovins laitiers, chaque année les Entreprises de Sélection (ES) reçoivent une liste des taureaux intéressant la Cryobanque, et envoient leurs doses suivant une démarche volontaire : les collections les plus importantes se trouvent logiquement pour les races avec le plus de taureaux, mais le ratio entre le nombre de taureaux conservés et nombre de taureaux actifs varie par race. En effet, les envois des doses en collection dépendent de la motivation des ES pour la démarche. Pour les races Abondance, Brune et Tarentaise, dont l'approvisionnement ne dépend que d'une ES (BGS qui est également OS pour la Brune, l'UCEAR pour les 2 autres), la quasi-totalité des taureaux qui ont été échantillonnés sont en collection. Par ailleurs, en raison du pouvoir de diffusion de l'IA en bovins laitiers, la quasi totalité des mâles utilisés pour la reproduction sont des mâles d'IA. Il est donc facile d'avoir un reflet exact de la diversité génétique de ces races, du moins des mâles, par un seul échantillonnage des taureaux

d'IA. Aussi, l'intensité de sélection est telle que très rapidement les taureaux stockés au démarrage de la Cryobanque (soit 2001 pour les premiers) peuvent représenter des origines différentes des taureaux actuels, d'autant plus s'ils ont été échantillonnés au titre du type II (animaux « déviants »). Bien que l'ensemble des mâles échantillonnés n'aient pas été transférés en collection, dans la plupart des races la variabilité génétique des mâles Cryobanque est déjà supérieure à celle des mâles actifs. Des efforts ne seront nécessaires qu'à la marge pour compléter ces collections. Enfin, nos analyses (Danchin-Burge *et al.*, 2011) ont montré que le plus efficace pour conserver la diversité serait en fait de récupérer des doses de taureaux nés dans les années 80, voire avant s'il en existe encore. Enfin, il reste le cas des races Simmental Française et Pie Rouge des Plaines, qui ne participent toujours pas à la constitution de collections, sans doute faute d'intérêt pour la démarche de la part des ES concernées.

Pour les bovins allaitants, en revanche le bilan est plus mitigé. Nous nous heurtons d'abord à l'approvisionnement très irrégulier par les entreprises de sélection qui ont transféré des doses principalement dans le cadre du programme QUALVIGENE (Payet *et al.*, 2006) ce qui limite d'office la représentativité des collections. D'autre part, chez les bovins en France, d'après nos indicateurs (cf. seconde partie) la diversité des races allaitantes est bien plus élevée que celle des bovins laitiers, ce qui implique la constitution *ipso facto* de collections plus importantes pour pouvoir représenter toute la variabilité. Or dans ces races, en particulier en Limousine et surtout en Charolaise, il existe des élevages complètement déconnectés de l'insémination, représentant des origines uniques. Comment accéder à cette diversité ? En dehors du problème de l'accès même à ces animaux – leurs éleveurs voient en général défavorablement toute ingérence d'un programme national chez eux, voire sont complètement opposés à l'insémination, quel qu'en soit l'objectif – se pose également la question du financement de la collecte qui ne peut être prise en charge par les entreprises de sélection comme pour les taureaux d'insémination classiques.

Pour les ovins allaitants, outre que les races concernées sont encore plus nombreuses que chez les bovins allaitants, il existe aussi plus d'obstacles que pour les bovins laitiers pour créer une collection représentative de la variabilité génétique des races. Les stocks en collection ont été fournis par les centres suivant des opérations de déstockage des cuves. Un tel échantillonnage, de type opportuniste, ne permet pas de cibler précisément les animaux nécessaires pour bien représenter la variabilité génétique d'une population. Par ailleurs, le taux de pénétration de l'IA en ovins allaitant est très faible (4% en 2010 ; France Génétique Elevage, 2010), et l'on sait que certains noyaux d'éleveurs ont des origines déconnectées de celles des mâles d'IA. Il

est donc logique que la diversité génétique des mâles actifs soit supérieure à celle des mâles en Cryobanque. Une race fait figure d'exception, la Charmoise. Dans cette race à effectifs réduits, l'impact de la sélection par l'IA est très élevé, ce qui se traduit par une diversité plus faible que pour les autres races ovines allaitantes. La présence de béliers en collection patrimoniale est alors particulièrement indiquée dans ce cas : leur diversité génétique est déjà supérieure à celle des mâles actifs (cf. Tableau 13). A l'opposé, des efforts devront être consentis pour certaines races, particulièrement en BMC, afin d'accéder aux noyaux déconnectés de l'insémination. Néanmoins cela ne pourra se faire qu'à la condition de financements spécifiques, et de l'adhésion des éleveurs de ces béliers à la démarche de la Cryobanque nationale. Au final, l'analyse démographique simple du nombre de pères et grands-pères des mâles en Cryobanque montre que pour ces béliers, la redondance des pères voire des grands-pères, est quasi nulle. Cela donnerait à penser que pour le nombre de béliers présents en collection, la diversité est maximale. La seule façon de développer la diversité pour avoir une image représentative des races serait d'augmenter le nombre de mâles.

La comparaison avec les collections des autres cryobanques étrangères principales (cf. première partie) montre que les collections bovines françaises sont de faible volume. En revanche les collections ovines de la Cryobanque ont, en moyenne, un nombre de béliers par race plus élevé que dans les autres pays. Or nous avons justement vu que pour les bovins laitiers, la diversité des races est plutôt bien représentée par nos collections, principalement parce que dans cette filière, les taureaux d'IA représentent bien la variabilité génétique des populations. Il semble donc que la stratégie d'échantillonnage de la France est adaptée car, en bovins, elle limite les stocks tout en étant représentative. A l'inverse, en ovins, il est important d'avoir un nombre de donneurs relativement important par rapport à la taille des populations puisque les béliers d'insémination représentent une très faible part de la diversité des races et parce qu'en général la variabilité génétique de ces races est élevée (cf. seconde partie).

2. Amélioration du protocole d'échantillonnage des bovins laitiers

a) Premières conclusions

L'étude de simulation d'échantillonnage d'une collection sur une période longue, et plus particulièrement la comparaison entre l'échantillonnage « quotidien » et « *a posteriori* » montre que nous aurions intérêt à sélectionner les animaux de façon différenciée en fonction

de la pression de sélection exercée sur les différents caractères. Nous avons également vu que les collections n'ont pas les mêmes caractéristiques selon les races, ce qui nous permet d'affirmer qu'il faudrait également différencier la démarche en fonction des objectifs de chaque programme. A partir des résultats de cette étude, quelques propositions d'aménagement du protocole d'échantillonnage ont été faites au conseil de groupement de la Cryobanque :

- Il est inutile d'échantillonner des animaux particulièrement améliorateurs en lait, le progrès génétique étant tellement rapide sur ce poste que les taureaux exceptionnels à un instant donné sont très rapidement dépassés par de plus jeunes. En revanche, la recherche d'animaux très déteriorateurs sur ce poste est peut-être toujours d'actualité, car ils sont probablement associés à d'autres caractères qui pourraient être recherchés.
- Pour la fertilité, la hauteur au sacrum négative et le TB, il convient de réduire le seuil de l'échantillonnage, ces caractères étant peu sélectionnés, voire contre-sélectionnés.
- A l'inverse, on peut relever le seuil des critères de sélection des taureaux exceptionnels pour la longévité et la hauteur au sacrum positive.
- Globalement, quand on peut choisir parmi plusieurs animaux pour un critère donné, il faut impérativement sélectionner le taureau avec le meilleur INEL possible

Ce qu'il faut surtout retenir, c'est que les règles d'échantillonnage doivent être évolutives : elles doivent tenir compte de l'évolution génétique en cours et, par exemple, rabaisser les seuils pour des caractères en dégradation.

Enfin nous avons vu précédemment que la diversité génétique est détenue en général par les taureaux d'IA datant des prémices des programmes de sélection, c'est à dire ceux qui sont nés avant les années 1980. Une enquête a été réalisée pour le compte de la Cryobanque nationale fin 2009 afin d'inventorier les derniers stocks existants. Les retours ont été peu fructueux, seulement 4 coopératives ayant répondu positivement. Des stocks ont été retrouvés pour 9 races au total, avec un nombre de donneurs et de doses limités (moins de 10 donneurs en moyenne et pour des stocks par taureau en général inférieur à 50), et pour la Prim'Holstein, aucun taureau Frison n'a été retrouvé, les stocks les plus anciens (remontant pour certains à des animaux nés au début des années 1970) appartenant déjà à des taureaux Nord-américains.

b) Impact de la sélection génomique sur les protocoles d'échantillonnage

Avec l'évaluation génomique fondée sur le génotypage des animaux, la valeur des index peut être calculée dès la naissance de l'animal. Ainsi, les jeunes veaux mâles susceptibles d'entrer en centre de prélèvement de semences sont indexés dès leur plus jeune âge et seuls ceux ayant des index conformes à une autorisation de mise sur le marché sont achetés par les entreprises de sélection aux éleveurs pour être prélevés et diffusés *via* l'IA. L'étape de l'épreuve de la descendance (testage) avec une diffusion limitée des jeunes taureaux étant inutile, tous les taureaux collectés sont diffusés. Les implications de ce fonctionnement sur le protocole historique d'échantillonnage sont donc multiples :

- Pour le type II, la base d'échantillonnage ne peut plus être les taureaux non mis sur le marché ;
- Le nombre total de taureaux mis sur le marché par an est pour le moment très supérieur à ce qui se faisait avant l'évaluation génomique ;
- Parmi les taureaux mis sur le marché, il est difficile de pouvoir estimer a priori quels seront les taureaux les plus utilisés.

Les deux derniers points ont surtout une incidence pour la collecte de matériel de type III.

Dans un premier temps, il a été envisagé de faire entrer 100 doses (50 x 2) en Cryobanque de tous les taureaux diffusés à l'IA, au titre du type III, afin de permettre de garder un maximum de variabilité génétique, puis de réaliser un bilan de l'utilisation effective des taureaux issus d'évaluation génomique (tous ont-ils réellement diffusés dans la population femelle ? Certains ont-ils des index extrêmes après calcul de leur index polygéniques ?). L'objectif aurait été de réaliser un nouveau tri et de retirer certains taureaux de la Cryobanque s'ils s'avéraient inutiles.

Cette solution n'a pas été retenue en raison du nombre trop élevé de taureaux mis sur le marché annuellement (entre 40 et 60 pour la Normandie et la Montbéliarde, aux alentours de 250 pour la Prim'Holstein). D'un point de vue logistique, il paraissait trop compliqué de gérer une arrivée massive de stocks en Cryobanque, par rapport aux collections existantes, et la nécessité dans un second temps de détruire des stocks, sachant que le nombre de doses stockés est très faible par taureau : pour un même volume de paillettes, il est beaucoup plus facile de gérer un nombre élevé de paillettes pour un taureau que beaucoup de taureaux avec un nombre limité de paillettes.

Une nouvelle proposition a été envoyée courant 2012 aux entreprises de sélection.

Pour le type II, on proposait d'appliquer les règles d'échantillonnage historiques pour l'ensemble de la population mise sur le marché pour une année N (une période allant du 01/11/ N au 01/11/ $N+1$). Pour suivre les recommandations des travaux issus de cette thèse, il était proposé de mettre l'accent pour les caractères qui ont le moins progressé au cours de la dernière décennie (fertilité en particulier), et à l'inverse de collecter seulement des animaux vraiment hors du commun pour des caractères du type vitesse de traite ou capacité corporelle (soit +2,5 ou + 3 écart-type à la moyenne). Plus aucun échantillonnage n'est fait pour la valeur laitière, le TP ou le TB.

Par ailleurs, pour les premiers protocoles, la recherche des animaux de type II se faisait en calculant la moyenne des index de tous les taureaux sur un intervalle de génération (5 ans environ). Les progrès espérés avec la sélection dans un contexte génomique étant bien plus rapides, la détection des taureaux exceptionnels a été faite en 2011 en prenant en considération uniquement les taureaux issus de la sélection dans un contexte génomique.

Enfin, un travail particulier a été fait pour conserver au moins un fils de père à taureau issu de la sélection française, à condition que le père à taureau lui-même ne soit pas déjà présent dans les collections nationales. Quand un seul fils était disponible par père, l'animal était qualifié de « Type II », autrement il était qualifié de « Type III ».

In fine, la frontière entre Type II et Type III est beaucoup moins stricte qu'elle ne l'a été avec le protocole précédent, où seuls des animaux refusés pouvaient intégrer le type II.

Ce protocole a été proposé après discussion avec le conseil de groupement de la Cryobanque, dont l'UNCEIA est membre. Néanmoins, quelques mois après les propositions, nous avons constaté l'absence d'envoi de doses pour les races bénéficiant de la sélection génomique. Il est donc nécessaire d'aller directement à la rencontre des ES afin d'identifier les points bloquants, qui sont probablement d'ordre logistique. Un obstacle majeur a déjà été perçu, qui est le changement drastique de la logistique des centres de production depuis la mise en place de la sélection génomique. Les demandes de la Cryobanque sont alors perçues comme une charge de travail non prioritaire. Par ailleurs la gestion des doses a radicalement changé : les taureaux actifs sont gérés en flux tendu, avec des stocks immédiatement consommés sur le terrain. La constitution de stocks importants ne se fait que lorsque le taureau est enlevé du circuit. C'est probablement à ce moment là que le transfert dans les collections serait le plus simple.

Un autre impact de la mise en place de la sélection génomique est l'existence de milliers de génotypes, en particulier pour les races laitières les plus importantes numériquement, en

bovins et ovins. Ces génotypages représentent une source d'information importante qui pourrait permettre à la fois de caractériser la diversité des races, nous y reviendrons dans la dernière partie, et de repérer des animaux originaux par leur génome. L'un des objectifs du projet CASDAR VARUME (Observatoire de la VAriabilité génétique des RUMinants et des Equidés, www.idele.fr, onglet Améliorer le troupeau/Choix des reproducteurs) démarré en 2012 est donc de mettre au point un protocole d'échantillonnage des taureaux en se fondant sur ces génotypages.

3. *Pour conclure sur les protocoles d'échantillonnage*

Au final, les bilans des collections a permis de mieux caractériser la variabilité génétique actuellement disponible au sein de la Cryobanque nationale et, notamment, de la situer par rapport aux populations maintenues *in situ*. La simulation rétrospective de collections a permis de proposer une modulation des actuels protocoles de collecte de matériel pour la cryobanque. La simulation de réintroduction de matériel cryoconservé a enfin permis de préciser les conditions de l'efficacité, sur le plan génétique, d'une telle réintroduction. Les échanges avec les responsables des entreprises de sélection révèlent que ces derniers perçoivent de tels résultats comme une confirmation de leurs craintes initiales au sujet de la Cryobanque, dont ils ne voient pas bien la justification pour les races à forte intensité de sélection. Toutefois, l'ensemble de ces travaux souligne bien la nécessaire complémentarité entre la cryoconservation, d'une part, et le maintien *in situ* des populations animales, d'autre part. Or, comme nous l'avons précisé dans la première partie, les efforts pour gérer *in situ* la variabilité génétique des grandes races laitières restent modérés. Il est donc indispensable de continuer à sensibiliser ces acteurs à la nécessité de gérer la variabilité génétique et à rappeler que les collections de la Cryobanque ont également d'autres intérêts que de conserver des allèles disparus, comme nous le développerons par la suite dans les perspectives.

Quatrième partie :

Discussion générale et perspectives

Au cours de notre travail nous avons calculé des indicateurs de variabilité génétique pour 69 races de ruminants de 5 filières différentes (bovins allaitants, bovins laitiers, petits ruminants laitiers, ovins allaitants, races à petits effectifs), pour des populations *in situ* ou des groupes d'animaux conservés *ex situ* dans la Cryobanque nationale. Cela nous a permis d'identifier les principales pratiques qui influencent la variabilité génétique des populations. Au regard de notre expérience, il est temps de se pencher maintenant sur la pertinence de ces indicateurs, revenir en particulier sur les avantages et inconvénients d'utiliser des indicateurs fondés sur les généalogies, puis de mieux analyser les corrélations entre ces différents indicateurs.

Nous nous pencherons pour finir sur les perspectives de ce travail avec, d'une part, la présentation de projets en cours de démarrage et, d'autre part, des réflexions plus prospectives sur les besoins de recherche pour aller plus loin dans la connaissance des thématiques abordées dans ce manuscrit.

A. Pertinence des indicateurs de variabilité génétique (calculés à partir des généalogies)

1. Avantages et inconvénients de l'analyse généalogique

L'ensemble des études réalisées dans le cadre de ce travail est fondé sur l'analyse des généalogies. Les avantages et inconvénients de ces données par rapport à d'autres comme les données phénotypiques ou moléculaires ont été l'occasion de plusieurs publications scientifiques (voir par exemple Baumung & Sölkner, 2003, Fernandez *et al.*, 2005 ou encore Toro *et al.*, 2011). Il s'agit ici de simplement rappeler les points principaux de ces discussions et d'apporter un éclairage dû à l'expérience acquise pendant cette thèse.

Un des postulats des analyses généalogiques est que tout animal sans ancêtre connu est non apparenté au reste de la population. On voit immédiatement le risque inhérent à ce postulat, qui est la surestimation de la variabilité génétique de la population. Par exemple, en race Lacaune, dans les années 2000, l'ensemble des animaux du contrôle simplifié ont été intégrés au Système d'Information Génétique. En volume, ces animaux représentaient, après intégration, les deux tiers des données généalogiques. Or, pour ces animaux, seuls les pères et les mères ont été renseignés, ce qui fait que leur niveau d'information généalogique était

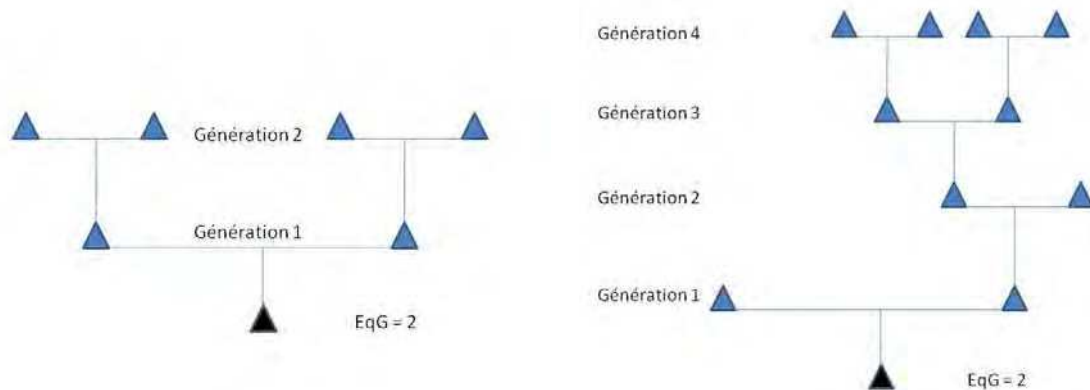
beaucoup faible que celui des animaux au contrôle officiel. L'évaluation de la consanguinité de la race Lacaune au cours des décennies 1990/2000 montre une chute importante à partir de 1998, qui est en fait un artefact lié à cette arrivée massive dans le fichier d'animaux supposés non apparentés aux autres (Institut de l'Élevage, 2011). Ceci montre bien que, pour interpréter les indicateurs de variabilité génétique, il est indispensable d'avoir une connaissance de l'histoire de la population et de la manière dont les informations ont été constituées.

Nous avons également constaté qu'il peut être compliqué de poser un diagnostic clair de l'état de variabilité génétique d'une population. Par exemple, pour les races à niveau d'information généalogique limitée, on s'attend à des valeurs élevées des indicateurs de variabilité génétique. Or, pour certaines races, malgré un niveau d'information généalogique faible, la variabilité génétique paraît limitée au regard des indicateurs (par exemple race ovine Berrichon de l'Indre ou race bovine Rouge des Près). Dans ces deux exemples, l'information maternelle est prépondérante et la paternelle quasi absente. Les goulets repérés sont ceux qui apparaissent dans la voie maternelle, mais on ne peut pas savoir si ces ancêtres principaux sont également présents dans les voies paternelles. Si c'est le cas, cela signifierait que la diversité est très limitée. À l'inverse, l'état de la population serait bien meilleur que ce qui apparaît à la vue des indicateurs, puisque l'apparentement serait faible entre la voie femelle et la voie mâle. Pour la Rouge des Près, l'accroissement subi de l'incidence de l'anomalie génétique, dite du « veau tourneur » (Timsit *et al.*, 2011), nous donnerait à penser que l'état de variabilité réel de la race est probablement plus limité que celui indiqué par nos indicateurs. Cela illustre une nouvelle fois la nécessité de confronter indicateurs et vision de terrain pour poser un diagnostic.

Un autre facteur qui peut poser problème pour interpréter les indicateurs, est celui des déséquilibres des généalogies : les informations de certaines branches peuvent remonter pour une dizaine de générations tandis que dans d'autres, l'information s'arrête très vite. Ces déséquilibres sont souvent rencontrés dans les races où la monte naturelle est majoritaire et la lutte en lot peu pratiquée. On retrouve cela principalement en ovins allaitants, plutôt pour les races rustiques, ainsi qu'en bovins allaitants (en race Gasconne principalement, et de façon plus limitée, en race Rouge des Près). Deux races peuvent avoir le même niveau d'information généalogique, mais avec des constructions de pedigrees radicalement différentes (cf. Figure 7). Des travaux sont actuellement en cours afin d'estimer l'impact du

déséquilibre des généalogies sur la fiabilité de construction d'indicateurs comme la taille efficace d'une population : nous en discuterons plus loin.

Figure 7 : Exemple de deux pedigrees avec un niveau d'information généalogique (EqG) égal à 2, l'un équilibré (à gauche, EqG= 2 en remontant sur 2 générations) et l'un déséquilibré (à droite : EqG=2 en remontant sur 4 générations)



Les indicateurs de variabilité génétique calculés à partir des généalogies sont évidemment dépendants de la fiabilité de ces dernières. Il est donc indispensable, avant d'entreprendre ces analyses, d'avoir une idée générale des taux d'erreur de filiation de la race ou, par défaut, pour la filière, et de commenter les résultats de ces indicateurs si ces taux sont élevés. Pour les ruminants, Leroy *et al.* (2011), par exemple, montraient pour 4 races ovines que le taux d'erreur de filiation (quel que soit le parent) variait entre 1 et 10 % et qu'il était égal à 4 % pour la Prim'Holstein. Quand ces taux d'erreur ne sont pas disponibles, on peut raisonner dans certains cas de façon pragmatique. Par exemple, pour les populations où le progrès génétique est estimé à partir d'évaluations de type BLUP (prenant donc en compte les relations entre animaux apparentés), on peut considérer qu'en cas de progrès génétique avéré, il est probable que le taux d'erreur de filiations reste marginal. En effet, si le pourcentage de filiation fautive était élevé, la sélection ne pourrait être efficace. Dans la pratique, pour les races analysées, on a considéré que le taux d'erreur était suffisamment pour considérer que les analyses étaient pertinentes.

Une autre hypothèse de ces analyses est la non prise en compte des phénomènes de mutation, ce qui peut conduire à une sous estimation de la diversité. Cependant, il faut rappeler que les mutations sont un phénomène rare (l'occurrence d'une mutation ponctuelle est de 10^{-8} à 10^{-9}

par paire de base selon Kumar & Subramanian, 2002) et pour les races animales que nous analysons, le nombre de générations remontées reste très modéré (10 au maximum, pour la race Mouton Vendéen). Nous considérons donc que, pour les races animales d'élevage, et pour les pas de temps que nous prenons en compte, ce biais peut être tenu pour minime.

Un dernier inconvénient des analyses généalogiques est que l'on est en général limité à la construction d'indicateurs de diversité intra-raciaux. Les données sont en général trop partielles pour pouvoir étudier les flux de gènes et l'histoire des races, ce que permettent en revanche les données moléculaires, voire les données phénotypiques (comme l'analyse des populations bovines en fonction de leur morphométrie et de leur couleur de robes, voir par exemple, Denis, 2010).

A l'inverse, comme déjà dit en introduction de la deuxième partie, l'avantage majeur des analyses généalogiques, pour des races organisées, est sa facilité de mise en place et pour des coûts marginaux, à partir du moment où les données sont disponibles car collectées pour d'autres besoins (suivi zootechnique, prophylaxie, traçabilité des produits, sélection, etc.). Elles permettent d'étudier des populations entières et de se soustraire aux biais liés à l'échantillonnage, au moins pour les populations de taille importante et/ou pour qui une partie importante du noyau de sélection disposent de généalogies. Par ailleurs, il y a moins de contraintes à l'utilisation de ces données qu'à celle des données moléculaires. Le principal frein à l'utilisation de ces dernières est le nombre limité de marqueurs moléculaires à disposition. Néanmoins l'essor des techniques de génotypage à haute densité devrait permettre de lever cette contrainte, surtout pour les races commercialement importantes. Les autres contraintes sont les coûts et le temps nécessaire pour réaliser le séquençage d'un grand nombre d'individus, et la réalisation d'un plan d'échantillonnage permettant de caractériser de façon fiable l'ensemble d'une population.

Enfin, pour les données généalogiques, il est assez facile de vulgariser auprès d'un public d'éleveurs ou de techniciens la façon dont sont calculés les indicateurs, avec, dans la plupart des cas, une approche probabiliste qui reste assez intuitive. Aussi, le concept de consanguinité est en général bien connu du monde de l'élevage, même s'il reste en général nécessaire d'en rappeler la définition et sa liaison avec la parenté – avec qui il est souvent confondu.

2. *Quels indicateurs pour caractériser la variabilité d'une population ?*

Le calcul d'indicateurs de diversité génétique à partir des généalogies pour un large panel de filières de ruminants (5 espèces/filières, cf. Discussion) et de races nous permet d'estimer les corrélations qui existent entre les différents indicateurs et de proposer quelques orientations quant à ceux qui paraissent le plus pertinent pour apprécier la variabilité génétique d'une race.

Les corrélations ont été estimées entre un grand nombre d'indicateurs : facteurs démographiques simples, indicateurs de qualité des généalogies, indicateurs issus de la probabilité d'origine des gènes et probabilité d'identité des gènes (Tableau 34). L'analyse a porté sur l'ensemble des populations étudiées dans cette présente thèse, toutes espèces/filières confondues, soit 69 populations différentes. La procédure de SAS PROC CORR (v 9.1.3; SAS Inst. Inc., Cary NC), a été employée à cet effet. Les valeurs estimées des corrélations sont présentés dans le Tableau 35.

Tableau 34: Codification des indicateurs considérés dans l'analyse des corrélations.

Catégorie	Indicateur	Code
Démographie	Taille totale de fichier	Tot
	Taille de la population de référence	Ref
Qualité des généalogies	Nombre d'équivalents générations	EqG
	Nombre moyen d'ancêtres remontés par généalogie	A
Origine des gènes	Nombre total de fondateurs	Fon
	Nombre de fondateurs efficaces	Fe
	Nombre d'ancêtres efficaces	Af
	Rapport Af/Fe	Ratio
	Nombre d'ancêtres contribuant pour 50% des gènes	N50
	Contribution de l'ancêtre majeur	C1
Identité des gènes	Coefficient de consanguinité moyen	F
	Proportion d'animaux avec $F_i > 6,25\%$	Sup
	Coefficient de parenté moyen	Φ
	Taille efficace de la population (Guttièrez)	Ne

Tableau 35 : Corrélations entre les différents indicateurs de démographie, de probabilité d'origine et d'identité des gènes. L'analyse a porté sur un total de 69 populations de ruminants domestiques (bovins, ovins, caprins). n.s. : corrélation non significativement différente de zéro. Les autres valeurs sont toutes significativement différentes de zéro. Signification des variables : voir Tableau 34.

	Ref	EqG	A	Fon	Fe	Af	Ratio	N50	C1	F	Sup	Φ	Ne
Tot	0,87***	0,27*	n.s.	0,85***	0,39**	0,37**	n.s.	0,44**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,34**
Ref		0,29*	n.s.	0,99***	n.s.	n.s.	-0,25*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
EqG			0,70***	0,28*	n.s.	n.s.	-0,36**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
A				n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Fon					n.s.	n.s.	-0,25*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Fe						0,91***	-0,41**	0,85***	-0,67***	-0,62***	-0,39**	-0,67***	0,81***
Af							n.s.	0,96***	-0,74***	-0,63***	-0,35**	-0,73***	0,80***
Ratio								n.s.	n.s.	0,28*	0,49***	n.s.	-0,33**
N50									-0,63***	-0,57***	-0,32**	-0,64***	0,72***
C1										0,58***	0,33**	0,80***	-0,62***
F											0,58***	0,77***	-0,68***
Sup												0,46***	-0,48***
Φ													-0,62***

* : $P < 0,05$

** : $P < 0,01$

*** : $P < 0,001$

a) Qualité des généalogies et indicateurs démographiques

Toutes filières confondues, le nombre d'équivalent génération (EqG) et le nombre d'ancêtres remontés par animaux (A) sont hautement corrélés. Néanmoins, comme nous l'avons déjà signalé au paragraphe précédent, deux races avec le même nombre d'équivalent génération peuvent avoir des nombres d'ancêtres remontés très différents : c'est le cas par exemple de la Causse du Lot et du Cotentin, avec un nombre équivalent génération égal à 4,6 et un nombre d'ancêtre moyen égal à 264 et 1 610 respectivement. Il est de notre avis de préconiser la publication systématique du nombre d'ancêtres moyens par race, alors qu'il est souvent omis des publications, car les critères de variabilité n'ont pas la même fiabilité suivant les deux cas de figure évoqués comme nous le reverrons par la suite.

La qualité des généalogies n'est, en revanche, corrélée à aucun autre facteur pour $P < 0,001$. Nous avons signalé à plusieurs reprises la nécessité de comparer les populations à niveau d'information génétique équivalente puisque, *a priori*, moins une race est connue plus les indicateurs de variabilité devraient être favorables. Mais il s'agit seulement d'une possibilité: l'absence de corrélation significative montre que les processus de calculs sont suffisamment performants pour détecter des goulets d'étranglement même si les généalogies sont mal connues (cas du Berrichon de l'Indre), et nous avons vu également que le taille de population ne prémunit pas d'avoir des indicateurs de variabilité génétique de faible niveau (Prim'Holstein, Normande, Montbéliarde). Un niveau d'information généalogique ne permet pas de prédire un résultat de variabilité génétique.

Une corrélation élevée existe entre deux facteurs démographiques, la taille totale du fichier (Tot) et taille de la population de référence (Ref). Quand nous calculons cette corrélation par filière (résultats non présentés), elle est la plus élevée pour les bovins laitiers (0,99) et la plus faible pour les ovins allaitants (0,84). L'explication probable à cette différence est que, par rapport à d'autres filières, les effectifs de certaines races ovines allaitantes ont considérablement évolué dans le temps - comme en race Bleue du Maine (Danchin-Burge *et al.*, 2010) où l'on constate une chute de 80% des effectifs par rapport au début des années 1980. Dans ce cas, les fichiers historiques sont très volumineux par rapport aux populations de référence actuelles.

Entre indicateurs démographiques et issus des probabilités d'origine des gènes, la plus haute corrélation est obtenue entre population de référence (Ref) et nombre total de fondateurs

(Fon). Le nombre de fondateurs est calculé en remontant simplement les généalogies de la population de référence jusqu'à aboutir aux animaux sans parents connus. Les goulets d'étranglement ne sont pas pris en compte à ce niveau. A noter également que si on différencie les résultats par filière c'est à nouveau en ovins allaitants que cette corrélation est toujours significative mais avec la plus faible valeur (0,67). C'est probablement dû à une forte variance inter race, avec des races dont le nombre de fondateur est à peine supérieur à la population de référence (exemple du Mérinos d'Arles, avec 8 690 fondateurs pour une population de référence de 5 210 femelles), tandis qu'à l'inverse, une race comme le Mouton Charollais a quasiment dix fois moins de fondateurs que de femelles dans la population de référence. De façon logique, la taille totale et du fichier et le nombre de fondateurs sont également hautement corrélés.

Classiquement, dans les publications, on retrouve en général le nombre de fondateurs parmi les résultats issus de la probabilité d'origine des gènes. En réalité, il s'agit principalement d'un facteur démographique et notre préconisation, pour une présentation des indicateurs de variabilité génétique d'une race, est ou de l'omettre, ou de l'inclure avec les résultats de taille de population de référence et taille totale du fichier.

b) Critères issus de la probabilité d'origine des gènes et de la probabilité d'identité

Au sein des indicateurs issus de la probabilité d'origine et d'identité des gènes, il existe une corrélation significative deux à deux entre nombre de fondateurs efficaces (F_e), nombre d'ancêtres efficaces (A_f), N_{50} , la contribution de l'ancêtre majeur (C_1), la consanguinité (F), la parenté (Φ) et la taille efficace des populations (N_e). Le pourcentage d'animaux avec plus de 6,25% des gènes (sup) est corrélé uniquement avec les indicateurs issus de la probabilité d'identité des gènes (soit F , Φ et N_e) et le ratio A_f/F_e n'est corrélé à aucun autre indicateur en dehors du dernier cité (sup) pour $P < 0,001$.

Les indicateurs issus de la probabilité d'origine des gènes sont assez fortement corrélés entre eux, comme, par ordre décroissant, A_f et N_{50} , A_f et F_e puis F_e et N_{50} . La corrélation entre parenté (Φ) et consanguinité (F) moyennes se situe à des niveaux légèrement inférieurs. La corrélation entre contribution de l'ancêtre majeur (C_1) et parenté se trouve à un niveau légèrement supérieur, ce qui n'était pas attendu. En effet parenté et consanguinité sont calculés tous les deux à partir des probabilités d'identité tandis que la contribution de

l'ancêtre majeur dépend des probabilités d'origine des gènes. De même, on est surpris de voir que l'effectif génétique (N_e) est corrélé avec des valeurs (absolues) supérieures pour les indicateurs issus de la probabilité d'origine des gènes (Fe, Af, N50) plutôt que pour la parenté et la consanguinité. En effet, le calcul du N_e est basé sur l'accroissement de la consanguinité, corrigé par la profondeur des généalogies. Une analyse par filière (résultats non présentés) donne des résultats plus intuitifs, les corrélations, quand elles sont significatives, se retrouvant dans presque tous les cas entre Fe, Af et N50, d'une part, et entre consanguinité et parenté, d'autre part, quoi que plus rarement. En revanche, quand l'effectif génétique est corrélé significativement avec un indicateur (pour les filières bovins lait et ovins allaitants), c'est uniquement avec Fe et Af et pas avec la parenté ou la consanguinité. De ces résultats, et à l'usage, il est de notre avis que l'ensemble des indicateurs présents dans le Tableau 35 devraient figurer dans un bilan de caractérisation de la variabilité génétique, car chacun apporte une information spécifique. L'indicateur qui semble le moins caractéristique serait le N50, mais on a pu voir à l'usage qu'il est particulièrement parlant auprès des gestionnaires de population. Par ailleurs, bien que Af et Fe soient hautement corrélés, le ratio de ces deux valeurs n'est corrélé ni avec Af et ni avec Fe. On ne peut pas prédire le niveau de sévérité d'un goulet d'étranglement à partir de la seule valeur du Af ou du Fe.

Si les critères issus de la probabilité d'origine et d'identité apparaissent hautement corrélés, en revanche il n'y a aucune corrélation significative entre indicateurs démographiques et indicateurs de diversité génétique, que ce soit ceux issus de la probabilité d'origine des gènes ou d'identité des gènes.

3. *Vulgarisation des indicateurs de variabilité génétique*

De façon générale, il paraît indispensable que toute publication d'indicateurs soit accompagnée d'explications sur la façon dont ils sont calculés, et cela indépendamment des corrélations qui viennent d'être présentées. Il est d'abord nécessaire de bien préciser aux gestionnaires que les indicateurs dépendent du niveau d'information généalogique. La présentation de la liste des ancêtres majeurs est toujours sujet de discussion, car cela correspond rarement à la vision que les gestionnaires ont de la race. En effet, ils oublient en général les parentés qui existent entre les animaux qu'ils pensaient être les ancêtres principaux et sont surpris de trouver des ancêtres parfois lointains de taureaux d'IA influents par exemple. Enfin, à l'usage, l'indicateur qui nécessite le plus d'explication est, paradoxalement,

un de ceux qui est le plus familier aux éleveurs et aux responsables de leurs organisations, à savoir la consanguinité. Il est toujours nécessaire de définir la consanguinité en lien avec la parenté, tout en insistant sur les différences entre ces deux concepts : la consanguinité concerne un animal seul, la parenté concerne des paires d'individus ; la parenté se transmet à la descendance, pas la consanguinité ; etc. Il apparaît également utile d'insister sur le fait que c'est plus le rythme d'accroissement de la consanguinité (par exemple traduit par un effectif génétique) que son niveau absolu qui a du sens en matière de suivi de variabilité génétique. Quand un niveau de consanguinité est calculé, il est recommandé de faire figurer en parallèle la parenté de la population, ce qui permet éventuellement de détecter des structurations particulières, comme la pratique courante de croisements « consanguins » ou l'existence de sous populations (dans ces deux cas, $\Phi < F$).

Ce besoin de vulgarisation a été bien perçu par l'UMR AgroParisTech /INRA GABI et l'Institut de l'Élevage, et c'est pour cela que deux sessions de formation au logiciel PEDIG ont déjà été organisées en 2011 et 2012 dans le cadre du Cours Supérieur d'Amélioration Génétique des Animaux Domestiques (CSAGAD). Cette formation sera renouvelée dans un contexte différent, dans le cadre du projet VARUME qui est présenté au paragraphe suivant.

B. Bilans et perspectives

1. Projets et applications en cours

a) Le projet VARUME

Les bilans de variabilité génétique réalisés dans le cadre de nos travaux (Institut de l'Élevage 2009, 2010, 2011) ont été diffusés et commentés aux différents gestionnaires d'Organismes et d'Entreprises de Sélection. Ces échanges nous ont montré la nécessité pour ces gestionnaires de pouvoir disposer en routine d'indicateurs de variabilité génétique de leur population. Une réflexion menée par l'Institut de l'Élevage, avec la participation de l'INRA, l'UNCEIA, Races de France et l'IFCE a permis de bâtir un projet⁵ intitulé VARUME: Observatoire de la Variabilité génétique des RUMinants et des Equidés. Ce projet a été un des lauréats d'un financement du CASDAR « innovation et partenariat » (financement du Ministère chargé de l'Agriculture), pour la période 2012-2014.

⁵ Dont le chef de projet est l'auteur de cette thèse.

La première partie du projet, qui est en cours, est de déterminer une liste d'indicateurs d'évaluation de la variabilité génétique (à partir des généalogies) à publier par population. Bien évidemment, les résultats de nos travaux ont servi de base pour choisir les indicateurs. Des critères démographiques simples (nombre de pères et de grands pères, évolution des effectifs...) font également partie des indicateurs retenus car ils ont l'avantage d'être très parlants pour les gestionnaires. Dans un second temps, il s'agira de créer une chaîne de traitement permettant de créer, en routine, des bilans raciaux de variabilité génétique, à destination principalement des organismes et entreprises de sélection.

Par ailleurs, même si ce n'était pas l'objet de cette thèse, il reste que l'utilisation de marqueurs moléculaires est un outil intéressant pour caractériser la variabilité génétique des populations. En effet, jusqu'à maintenant, le principal frein à l'utilisation des données moléculaires pour caractériser la variabilité génétique d'une population était le nombre limité de marqueurs moléculaires à disposition. Or, avec le développement des technologies de génotypage à haute densité, par exemple avec la création de la puce à ADN dite « 54K » utilisée notamment en sélection génomique, les données moléculaires peuvent maintenant apporter suffisamment d'information pour obtenir des indicateurs fiables. Un second volet de VARUME a donc pour objectif de valoriser les génotypages réalisés pour la sélection dans le cadre de la génomique en indicateurs de diversité génétique. Après de premières études sur quelques cas types (Prim'Holstein, Normande, Montbéliarde pour les races bovines, Lacaune et Manech Tête Rousse pour les races ovines), les indicateurs les plus pertinents seront choisis et une étude de faisabilité sera réalisée afin de déterminer la possibilité de mettre en place un observatoire de la diversité à partir de données moléculaires en routine. Une comparaison des résultats obtenus pour les races communes aux deux observatoires (moléculaires et généalogiques) sera également réalisée.

Enfin, toujours dans le cadre de VARUME, nous avons pour objectif de définir un protocole permettant de repérer les animaux originaux par leur génome, pour une éventuelle intégration en Cryobanque nationale.

b) Le projet CRB-Anim

Une autre opportunité de développement des thématiques abordées dans ce manuscrit est le projet CRB-Anim, financé par l'ANR dans le cadre de l'appel d'offre Infrastructure d'avenir. Le réseau CRB-Anim associe 6 plateformes de type CRB :

- La Cryobanque nationale, et le CERREC (espèce canine), deux CRB reproductifs ;

- GADIE (espèces d'élevage) et CaniDNA (espèce canine), deux CRB génomiques ;
- Et enfin deux plateformes privées, le GIE LABOGENA et l'entreprise ANTAGENE, qui hébergent des collections génomiques pour les éleveurs.

Au total, ce sont près de 530 000 échantillons biologiques (semence, embryons, cellules, tissus, ADN, ARN) qui sont conservés par ces CRB Animaux. La collection de la Cryobanque représente quasiment la moitié de ces échantillons. La feuille de route de ce projet de 8 ans est large, nous allons donc développer les points en lien direct avec nos sujets.

Parmi les avancées attendues, on s'attend à un enrichissement des collections de la Cryobanque grâce à :

- La cryoconservation de nouveaux types de matériel biologique comme les cellules germinales et de tissus gonadiques pour les poissons et les espèces avicoles ;
- La mise au point de nouvelles techniques de cryoconservation de semence pour la coquille Saint-Jacques, de larves de différentes espèces de mollusques, et de semence et d'embryons pour les équins et les ânes ;
- La collecte de nouveaux donneurs pour des populations peu représentées en Cryobanque, pour les espèces aquacoles (poissons d'eau douce et marins), avicoles, porcine et de petits ruminants.

Un des objectifs majeur du projet est une meilleure valorisation des collections des différents CRB participants. Dans un premier temps, il s'agira d'opérer un simple couplage entre les collections génomiques et les donneurs présents en Cryobanque. Nous avons pu ainsi voir que le taux de recouvrement entre les collections de la Cryobanque et celles de LABOGENA était de 97,7% pour les bovins, 66,4% pour les ovins, 67,2% pour les caprins, 99% chez les équins et 38,7% chez les porcs. Ce couplage facilitera la mise en place d'un portail commun aux différents CRB, où un formulaire unique de demande de matériel sera créé pour accéder aux différentes collections. Il est espéré que la meilleure visibilité obtenue et les couplages entre différents types de matériel augmenteront les demandes d'utilisation des collections.

Dans un second temps, des opérations de génotypage spécifiques devraient être réalisées pour mieux caractériser et valoriser les collections. Il est déjà prévu que les nouvelles collections aquacoles, équines et avicoles acquises grâce aux financements de l'ANR devront être caractérisées à partir de données moléculaires. Une autre façon de participer à la caractérisation de ces collections se fera via le biais d'appels d'offre, où une des conditions de financement des projets sera qu'ils devront se baser sur l'utilisation du matériel disponible dans les CRB partenaires du projet.

2. Perspectives scientifiques

a) Les indicateurs de variabilité génétique

(1) Effectif génétique

L'effectif génétique (N_e) est considéré dans la littérature comme un indicateur clé pour apprécier l'évolution de la variabilité génétique au sein d'une population et les risques correspondants. La FAO, par exemple, l'utilise comme un de ses indicateurs pour classer les populations animales par niveau de menace d'extinction (FAO, 2007). Cet indicateur paraît tout particulièrement pertinent quand il est calculé à partir de l'accroissement de la consanguinité ou de la parenté car il permet de traduire une dynamique contemporaine de l'évolution d'une population. De plus, les gestionnaires de populations le comprennent généralement bien puisqu'il est équivalent à un nombre de reproducteurs, ce qui est parlant.

Cependant, un des inconvénients majeurs de cet indicateur est la variabilité des résultats obtenus pour une même population en fonction des méthodes utilisées pour le calculer (voir par exemple, Verrier *et al.*, 2010 ; Leroy *et al.*, 2012). Par exemple, estimer l'effectif génétique à partir de l'accroissement de la consanguinité peut se révéler particulièrement délicat pour des populations (1) où l'accroissement est très faible – par exemple pour des races comme la race bovine Charolaise ou (2) pour qui l'accroissement se fait en dents de scie – comme pour la plupart des races à petits effectifs. Dans ce dernier cas, il arrive notamment que l'effectif génétique calculé soit négatif.

L'estimation de l'effectif génétique d'une population est un domaine actif de recherche. Parmi les études visant à comparer les méthodes d'estimation les unes aux autres, celle de Leroy *et al.* (2012) porte sur un nombre particulièrement important de populations, à savoir 140 de quatre espèces différentes (bovins, canins, équins et ovins). Six méthodes ont été comparées, toutes à partir d'informations généalogiques. Quatre de ces méthodes étaient fondées sur l'accroissement de consanguinité ou de parenté (effectif génétique dit « de consanguinité ») :

- La méthode d'usage très courant, fondée sur l'accroissement de la consanguinité entre deux périodes de temps (ΔF), où $N_e = 1/2\Delta F$;
- Une méthode fondée sur l'accroissement de la parenté entre deux périodes de temps ($\Delta \Phi$), avec $N_e = 1/2\Delta \Phi$;

- La méthode de Gutiérrez *et al.* (2009), fondée sur l'accroissement de la consanguinité corrigé par le niveau d'information généalogique ;
- La méthode Cervantes *et al.* (2011), fondée sur l'accroissement de la parenté corrigé par le niveau d'information généalogique ;

Deux autres méthodes étaient fondées sur de simples paramètres démographiques :

- La méthode Hill (1972) fondée sur les effectifs de reproducteurs et leur variance et covariance de taille de descendance ;
- La méthode définie pour des populations « idéales » (Wright, 1931) fondée sur les seuls effectifs de reproducteurs : $1/N_e = 1/4Nm + 1/4Nf$.

Les premières conclusions donnent à penser que, quand on dispose de généalogies, la méthode de Cervantes est la plus fiable. Par ailleurs, la méthode de Hill produit des résultats satisfaisants dans le cas des populations où le déséquilibre du sexe ratio n'est pas trop fort (donc lorsque l'IA n'est pas l'outil majeur de reproduction).

Il reste à évaluer, à partir de données simulées, quelle est la méthode qui permet d'obtenir la meilleure estimation d'un effectif génétique. Une piste consiste à calculer, à partir de données généalogiques complètes, l'effectif génétique de la population avec des différentes méthodes, puis de dégrader progressivement les généalogies et d'observer leur impact sur l'estimation de l'effectif génétique. Des études préliminaires (G. Leroy, communication personnelle) indiquent que la méthode de Cervantes semble la plus sûre, mais aussi qu'aucune méthode ne permet de calculer des indicateurs très fiables quand les généalogies sont très déséquilibrées, c'est à dire quand certaines branches sont très bien connues tandis que l'information s'arrête rapidement pour d'autres. On est donc toujours dans la recherche de nouvelles méthodes qui seraient moins sensibles à ce paramètre. Une autre façon d'aborder le problème serait de voir si les résultats obtenus ne seraient finalement pas meilleurs en ne prenant en compte qu'une partie des généalogies, pour les générations les plus complètes.

Enfin, pour l'effectif génétique, nous avons évoqué uniquement la piste de son estimation à partir de données généalogiques ou démographiques. Il reste à confronter ces méthodes avec celles basées sur les marqueurs moléculaires : c'est l'objet de la thèse en cours de B. Jimenez, « Comparative analysis of estimators of the effective population size » au sein de notre équipe. C'est également un projet mené actuellement par D. Laloë (INRA GABI) dont l'objectif est d'utiliser les informations des déséquilibres de liaison des génotypages réalisés à partir de puces pour différentes races bovines française, afin d'estimer leur taille efficace et les comparer avec les résultats déjà existants.

(2) Autres recherches sur les indicateurs de variabilité

Pour les indicateurs fondés sur les généalogies, une méta-analyse approfondie des différents indicateurs reste à construire. Par exemple, il est intéressant de constater que nous n'avons pas trouvé de corrélation significative entre qualité de l'information généalogique et niveau de consanguinité, alors qu'il est d'usage de penser que la consanguinité est l'indicateur de variabilité génétique le plus sensible à la qualité des généalogies. L'intégration par exemple de données équines ou de chiens serait sans doute possible afin de voir les variations et similarités qui existent suivant les filières.

D'autres recherches seraient nécessaires sur l'impact de la qualité des généalogies, et surtout de leur déséquilibre, sur les estimations des indicateurs de variabilité génétique, au delà de l'effectif génétique. Par exemple, l'influence des généalogies déséquilibrées sur les indicateurs liés à la probabilité d'origine des gènes n'a pas été explorée à notre connaissance. Dans les pistes d'exploration, il faudra différencier le cas de populations où l'absence de généalogies est due à une perte d'information, mais les animaux sans origine sont apparentés étroitement au reste de la population (exemple de la race caprine Poitevine) de celles où les animaux d'origine inconnu sont plutôt déconnectés de la population connue (exemple des races Cotentin ou chèvre des Fossés).

Une autre situation à laquelle on se trouve confronté fréquemment est celle d'élevages où un lot de mâles est utilisé sans distinction pour la lutte. Que vaut-il mieux pour évaluer la variabilité génétique de la population ; indiquer que le père est inconnu ou au contraire en choisir un au hasard parmi la liste des pères potentiels ? Quelle solution donne l'indicateur le plus juste ?

Enfin, un autre point qui pourrait être abordé est le seuil d'information généalogique à partir duquel les indicateurs de variabilité génétique donnent des résultats pertinents. Par exemple, pour le projet VARUME, il a été fixé à 2,5 équivalents générations mais il n'y a pas de réelle base scientifique à ce choix.

b) Combinaison des démarches *in situ* et *ex situ*

Dans nos travaux, nous nous sommes penchés sur les conditions d'utilisation de matériel cryoconservé dans une population soumise à forte sélection. Il serait intéressant d'approfondir ce volet de recherche en se fondant sur des cas concrets. Nous pouvons prendre l'exemple de

la race bovine Abondance. Pour faire face à une variabilité limitée de la race, les gestionnaires avaient fait procréer de nouveaux taureaux à partir d'une lignée paternelle moins commune. Le résultat final semble cependant mitigé, un seul fils ayant obtenu des évaluations laitières suffisantes pour être diffusé par insémination. Encore ce dernier a-t-il un index de morphologie de mamelle détériorateur qui rend les éleveurs réfractaires à son utilisation. Une opération similaire pourrait être relancée mais elle nécessiterait d'être mieux cadrée. Il faudrait définir clairement les objectifs, recenser l'ensemble des taureaux anciens encore disponible, évaluer leur apparenté avec le reste de la population ainsi que bien estimer leurs évaluations génétiques actuelles, afin de réaliser les accouplements les plus pertinents possibles.

Un autre volet qui reste à explorer serait de proposer des protocoles d'évaluation expérimentale de l'utilisation de matériel cryoconservé dans des troupeaux expérimentaux, pour des espèces avec des intervalles de génération courts (lapin, poule, caille japonaise, par exemple, voire espèces de laboratoire comme la souris). A partir de ces résultats, il serait plus facile de généraliser des propositions de méthodes de gestion combinant des actions *in situ* et *ex situ*, en fonction des paramètres biologiques des espèces et de l'organisation de leurs éleveurs.

Enfin, les modèles simulés sont fondés sur des hypothèses de génétique quantitative, sans avoir connaissance du génome. Il reste maintenant à développer les conditions de la réintroduction de matériel cryoconservé dans un contexte de sélection génomique, en considérant le cas de l'introgession de gènes de zones d'intérêt ou bien de zones variables.

c) Recherches liées à la conservation *ex situ in vivo*

Comme nous l'avions annoncé dès l'introduction, la conservation *ex situ in vivo* n'a pas été abordée ici. Il convient cependant de rappeler qu'il existe de nombreux troupeaux conservés ainsi : outre les domaines expérimentaux de l'INRA (dont le nombre et la capacité d'élevage ont tendance à diminuer), il existe de nombreux troupeaux conservés par des collectivités (écomusées, parcs naturels régionaux, conservatoires littoraux, lycées agricoles...) ou par le secteur privé (fermes musées, fermes pédagogiques...). A noter malgré tout qu'en général, les initiatives privées, en particulier les fermes musées, font rapidement long feu, faute de public. Les inventaires annuels des éleveurs de races bovines à petits effectifs réalisés pour le compte de l'Institut de l'Élevage montrent par exemple que ces structures perdurent rarement au delà d'une dizaine d'années.

Un premier recensement de ces initiatives a été effectué dans le cadre du projet ELBARN, financé par le programme européen GENRES entre 2007 et 2010, dont les résultats sont consultables sur le site <http://www.arca-net.info>.

Pour la France, cet inventaire reste très partiel – en particulier les troupeaux des domaines expérimentaux n’y figurent pas. Un état des lieux exhaustif reste à faire. Dans cette enquête, d’autres éléments seraient à explorer comme les méthodes de gestion utilisées pour renouveler les reproducteurs, les connexions éventuelles avec les élevages *in situ*, ainsi que la diversité génétique détenue par ces centres et la comparaison avec celle des élevages *in situ*. Par exemple, pour la race ovine Romanov, face à la fonte drastique des effectifs de la race, les éleveurs ont fait appel aux gestionnaires de l’INRA de Bourges, car le troupeau expérimental possédait des origines déconnectées de celles de leurs élevages depuis plusieurs générations et a été géré depuis sa création avec des méthodes visant à préserver sur le long terme la variabilité génétique (Danchin-Burge *et al.*, 2010).

C. Conclusion

Grâce au travail réalisé, nous avons maintenant une meilleure connaissance de la variabilité génétique *in situ* et *ex situ* des populations de ruminants ainsi que des mécanismes sous-jacents à leur état. Le projet VARUME permettra de mettre à jour régulièrement ces indicateurs, et ils devraient être complétés avec d’autres projets comme le projet ANR GeMBAL (Génomique MultiRace en Bovins. Allaitants et Laitiers = GeMBAL) par exemple, avec des indicateurs basés sur les géotypages.

Il semble que le travail réalisé dans le cadre de la Cryobanque nationale, bien que perfectible, remplit bien son but de conservation de gènes d’intérêt et permet de restaurer facilement de la variabilité dans les populations à petits effectifs. Des questions persistent néanmoins quant aux possibilités réelles d’utilisation de ces collections pour les races à forte intensité de sélection, même si les développements potentiels de la sélection génomique devraient permettre de faciliter le procédé.

Les gestionnaires des races disposeront maintenant en routine de toute une batterie d’indicateurs de variabilité génétique de leur population. Il leur restera à décider des méthodes de gestion à mettre en place pour conserver voire augmenter ce réservoir. Les solutions, nous

l'avons vu partiellement au chapitre II, sont nombreuses, et beaucoup de considérations différentes (conservation ou sélection, connaissance des généalogies, paramètres démographiques, systèmes d'élevage, type d'organisation collective...) doivent être prises en compte pour choisir la gestion la plus adéquate. Il est donc à prévoir que les différents gestionnaires auront besoin d'accompagnements personnalisés ou collectifs (formations...) à cet effet. Les organismes qui pourraient les accompagner (Institut de l'Élevage et INRA en particulier) doivent donc poursuivre leurs efforts de recherche et développement sur ces sujets, pour pouvoir apporter les solutions appropriées aux gestionnaires des races.

Références

- Audiot A., Bougler, B., Danchin-Burge, C., Lauvie, A. (2005). Races domestiques en péril : 30 ans de sauvegarde - Bilan rétrospectif français. *Revue de la Société d'Ethnozootechnie* N° 76.
- Avon L., Colleau J.J. (2006). Conservation in situ de 11 races bovines françaises à très faibles effectifs : bilan génétique et perspectives. *Renc. Rech. Rum.*, 13, 247-250.
- Baumung R., Sölkner J. (2003). Pedigree and marker information requirements to monitor genetic variability. *Genet. Sel. Evol.* 35: 369-383.
- Boettcher P.J., Stella A., Pizzi F., Gandini G. (2005) The combined use of embryos and semen for cryogenic conservation of mammalian livestock genetic resources. *Genet. Sel. Evol.* 37, 657-675.
- Boettcher, P. & Akin, O. (2010). Current arrangements for national and regional conservation of animal genetics resources. *Animal Genetics Resources*, 47, 73–83.
- Boichard D. (2002) PEDIG: a fortran package for pedigree analysis suited for large populations. *Proc. 7th World Congr. Genet.Appl. Livest. Prod.*, Montpellier, France. Commun. No. 28-13.
- Boichard D., Maignel L., Verrier E. (1996) Analyse généalogique des races bovines laitières françaises. *INRA-Productions Animales* 9, 323-335.
- Boichard D., Maignel L., Verrier E. (1997) Value of using probabilities of gene origin to measure genetic variability in a population. *Genet. Sel. Evol.* 29, 5-23.
- Bouquet A., Renand G., Phocas F. (2009) Evolution de la diversité génétique des populations françaises de bovins allaitants spécialisés de 1979 à 2008. *Inra Prod.Anim.*, 22 (4), 317-330.
- Bouquet A., Venot E., Laloë D., Forabosco F., Fogh A., Pabiou T., Moore K., Eriksson J.Å., Renand G., Phocas F. (2011) Genetic structure of the European Charolais and Limousin cattle metapopulations using pedigree analyses. *J. Anim. Sci.* 89(6):1719-30.
- Bureau des Ressources Génétiques (1999). *Charte Nationale pour la gestion des ressources génétiques*, 99 p.
- Carolino, N., and L. T. Gama. 2008. Inbreeding depression on beef cattle traits: Estimates, linearity of effects and heterogeneity among sire-families. *Genet. Sel. Evol.* 40:511–527.

- Cervantes, I., F. Goyache, A. Molina, M. Valera, and J. P. Gutiérrez. 2011. Estimation of effective population size from the rate of coancestry in pedigreed populations. *J Anim Breed Genet.* 128:56-63.
- Collectif (1997) Charte nationale pour la gestion des ressources génétiques. BRG, 75 p.
- Colleau J.J., Quemeré P., Larroque H., Sergent J., Wagner C. (2002) Gestion génétique de la race bovine Bretonne Pie-Noire : bilan et perspectives. *Inra Prod. Anim.*, 15 (3), 221-230.
- Colleau J.J., Regaldo D., Moureaux S., Barbat A., Fritz S., de Preaumont H., Tual K., Mattalia S., 2006. – Mise en place de la gestion optimisée de la variabilité génétique dans les populations sélectionnées de bovins laitiers. *Renc. Rech. Rum.*, 13, 235-238.
- Colleau J.J., Mocquot J.C., Barillet F., Astruc J.M., Manfredi E., Piacère A. (1997). Evolution de la sélection des espèces laitières en France (bovins, ovins, caprins). *Renc. Rech. Ruminants* 4, 163 – 170.
- Colleau J.J., Moureaux S., Briend M., Béchu J. (2004). A method for the dynamic management of genetic variability in dairy cattle. *Genet. Sel. Evol.*, 36, 373-394.
- Colleau J.J., Moureaux S. (2006) Gestion optimisée de la parenté et de la consanguinité dans les programmes de sélection des bovins laitiers. *INRA Prod. Anim.*, 19 (1), 3-14
- Colleau J.J., Avon L. (2008). Sustainable long-term conservation of rare cattle breeds using rotational AI sires. *Genet. Sel. Evol.*, 40, 415-432.
- Colleau, J.J., Tual K., de Preaumont H., Regaldo D. (2008). ACTIVIA : une méthode d'accouplement à objectifs multiples pour bovins laitiers. *Renc. Rech. Rum.*, 15, 411.
- Colleau, J.J., Clément, V., Martin, P., Palhière, I. (2011). Optimized diffusion of buck semen for saving genetic variability in selected dairy goat populations. *BMC Genet.* 12, 25.
- Danchin-Burge C. (2012) Reconnaissance et conservation des races ovines françaises. *Ethnozootecnie* 91, 105-110.
- Danchin-Burge C., Avon L. (2000) Analyse de la variabilité génétique de races bovines à Très Petits Effectifs après 20 ans d'actions de conservation. *Renc. Rech. Rum.*, 7, 145-148.
- Danchin-Burge, C., Verrier, E., Moureaux, S., Tixier-Boichard M. (2006) Sampling protocols and review of the French National Cryobank collections In: *Proc. of the 8th WCGALP*, Belo Horizonte, Brazil, comm. n° 33-3.

- Danchin-Burge C., Duclos D. (2008) Situation et perspectives d'avenir des races caprines à petits effectifs. *Ethnozootechnie* 85, 17-32.
- Danchin-Burge C., Palhière I., François D., Bibé B., Leroy G., Verrier E. (2010). Pedigree analysis of seven small French sheep populations and implications for the management of rare breeds. *J. Anim. Sci.* 88, 505–516.
- Danchin-Burge C., Leroy G., Brochard M., Moureaux S. & Verrier E. (2011) Evolution of the genetic variability of eight French dairy cattle breeds assessed by pedigree analysis. *J Anim Breed Genet.* 129, 206–217.
- Darwin C. (1868) *The variation of animals and plants under domestication*. John Murray Ed., Londres. Vol 1: 411 p + Vol 2: 486 p.
- Denis B. (2010) *Races bovines : histoire, aptitudes, situation actuelle*. Edition Castor & Pollux 323 p.
- Ducos A., Eggen A., Darré R., Boichard D. (2002) Les anomalies génétiques dans l'espèce bovine. *Renc. Rech. Rum.*, 9, 85-91.
- Falconer D.S. (1981) *Introduction à la génétique quantitative*. Masson, Paris.
- FAO (1998) *Secondary Guidelines: Management of Small Populations at Risk*. Rome, Italie. 219 p.
- FAO (2005) *Options and strategies for the conservation of farm animal genetic resources*, International workshop, Montpellier, November 7-10, 2005.
- FAO (2007) *The state of the world's animal genetic resources for food and agriculture*. Rome, Italie.
- Fernandez J., Villanueva B., Pong-Wong R., Toro M.A. (2005) Efficiency of the Use of Pedigree and Molecular Marker Information in Conservation Programs. *Genetics* 170, 1313-1321.
- Fernandez J., Meuwissen T.H.E., Toro M.A., Mäki-Tanila A. (2011) Management of genetic diversity in small farm animal populations. *Animal* 5 :11 1684-1698
- France Génétique Elevage (2010). *Dispositif génétique: chiffres clés ruminants 2010*. 8 pp.
- Gutiérrez J.P., Goyache F. (2005). ENDOG: a computer program for monitoring genetic variability of populations using pedigree information. *J. Anim. Breed. Genet.* 357-360.

- Gutiérrez, J.P., Cervantes I., Goyache F. (2009) Improving the estimation of realized effective population sizes in farm animals. *J. Anim. Breed. Genet.* 126, 327–332.
- Hill, W.G. (1972) Effective size of populations with overlapping generations. *Theoretical Population Biology* 3:278-289.
- Huby, M., Griffon L., Moureaux S., de Rochambeau H., Danchin-Burge C., and Verrier E. (2003). Genetic variability of six French meat breeds in relation to their genetic management. *Genet. Sel. Evol.* 35:637–655.
- Institut de l'Élevage, compte rendu d'étude final n° 0009 72 125 (2009). Estimation de la variabilité génétique de 19 races bovines à partir de leurs généalogies. 75 p.
- Institut de l'Élevage, compte rendu d'étude final n°0010 72 045. (2010) Bilan de variabilité génétique de 35 races ovines. 117 p.
- Institut de l'Élevage, compte rendu d'étude final n° 001172004 (2011). Bilan de la variabilité génétique des races laitières de petits ruminants. 36 p.
- Jaquot-Gunnia M. (2012) Conception et optimisation d'un programme de sélection de petits ruminants en milieu tropical : cas du caprin Créole en Guadeloupe. Thèse de Doctorat, AgroParisTech.
- Kristensen TN, Pedersen KS, Vermeulen CJ, Loeschcke V. (2010) Research on inbreeding in the 'omic' era. *Trends Ecol Evol.* (1):44-52.
- Kumar S., and Subramanian S. (2002). Mutation rates in mammalian genomes. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 99, 803--808.
- Lauvie A., Audiot A., Couix N., Casabianca F., Brives H., Verrier E. (2011) Diversity of rare breed management programs: Between conservation and development. *Liv. Sci.* 140 (1); 161-170.
- Leroy G., Danchin-Burge C., Palhière I., Baumung R., Fritz S., Meriaux J.C., Gautier M. (2011) An ABC estimate of pedigree error rate: application in dog, sheep and cattle breeds. *Anim Genet* 43(3):309-314.
- Leroy G., Mary-Huard T., Verrier E., Danvy S., Charvolin E., Danchin-Burge C. (2012) Estimating the effective population size using pedigree data: what method in practice? Examples in Dog, Sheep, Cattle and Horses. *Genet. Sel. Evol.* (soumis).
- Malécot G. (1948) *Les mathématiques de l'hérédité*. Masson, Paris.

- Ollivier L., Renard J.P. (1995) The costs of cryopreservation of animal genetic resources. 46th EAAP annual meeting, Prague, September 4-7, 1995, 7 p.
- Malécot G. (1948) Les mathématiques de l'hérédité. Masson, Paris.
- Mattalia S., Barbat A., Danchin-Burge C., Brochard M., Le Mezec P., Minery S., Jansen G., Van Doormaal B., Verrier E. (2006) La variabilité génétique dans huit principales races bovines laitières françaises : quelles évolutions, quelles comparaisons internationales ? Renc. Rech. Rum., 13, 239-246.
- Miglior F., Szkotnick B., Burnside E.B. (1992) Analysis of levels of inbreeding and inbreeding depression in Jersey Cattle. J. Dairy Sci 75, 1112-1118.
- Moureaux S., Boichard D., Verrier E. (2001). Bilan démographique et analyse de la variabilité génétique des principales races bovines laitières françaises. Elevage et Insémination, 301, 10-21.
- Palhière I, Barillet F, Astruc JM, Aguerre X, Belloc JP, Briois M, Fregeat G, Bibe B, Rochambeau H de, Boichard D. (2000) Analyse de la variabilité génétique des races ovines laitières Basco-Béarnaise, Lacaune et Manech à partir des informations généalogiques. Renc. Rech. Ruminants, 7, 153–156.
- Payet N., Malafosse A., Renand G., Menissier F., Hocquette J.F., Lepetit J., Rousset S., Denoyelle C., Journaux L., Dodelin V., Leveziel H. (2006) Le projet Qualvigène : mise en évidence du polymorphisme des gènes impliqués dans les qualités de la viande en races Charolaise, Limousine et Blonde d'Aquitaine. Renc. Rech. Ruminants, 13, 264.
- Piacère A., Palhière I., de Rochambeau H., Allain D. (2004). Analysis of the genetic variability of the French Alpine and Saanen breeds using genealogical data. Conference on Goats 4-9 July 2004, Pretoria, South Africa.
- Rochambeau H. de, Chevalet C. (1985) Minimisation des coefficients de consanguinité moyens dans les petites populations d'animaux domestiques. Genet. Sel. Evol. 17, 459-480.
- Rochambeau H. de, Verrier E., Bidanel J.P., Maignel L., Labroue F., Tribout T., Palhière I., Astruc J.M., Barillet F., Chapuis H. (2003) Mise en place de procédures de suivi de la variabilité génétique des populations animales domestiques sélectionnées et établissement de guides de gestion : applications aux ovins laitiers et aux porcs. Les Actes du BRG, vol. 4, 2003, p. 17-34.

- Société d'Ethnozootechnie (1975). Races domestiques en péril. Ethnozootechnie numéro spécial, N°1. 104 p.
- Timsit E., Albaric O., Colle M.A., Costiou P., Cesbron N., Bareille N., Assié S. (2011) Clinical and Histopathologic Characterization of a Central and Peripheral Axonopathy in Rouge-des-prés (Maine Anjou) Calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25, 386-392.
- Toro M.A., Meuwissen T.H.E, Fernandez J., Shaat I., Mäki-Tanila A. (2011) Assessing the genetic diversity in small farm animal populations, *Animal* 5 :11 1669-1683
- UNEP (1992) Convention sur la diversité biologique. Rio. 32 pp.
- Verrier E., Colleau J.J., Foulley J.L. (1989) Perspectives d'évolution de la variabilité génétique et possibilités de progrès à long terme dans les populations animales sélectionnées. In : M Molénat & E Verrier (Eds), *La gestion des ressources génétiques des espèces animales domestiques*, Lavoisier, 62-70.
- Verrier E., Colleau J.J., Foulley J.L. (1993) Long term effects of selection based on the animal model BLUP in a finite population. *Theor. Appl. Genet.* 87, 446-454.
- Verrier E., Danchin-Burge C., Moureaux S., Ollivier L., Tixier-Boichard M., Mercat M.J., Maignel L., Bidanel J.P., Clément F (2003) What should be preserved : genetic goals and collection protocols for the French National Cryobank. *Colloque sur la cryoconservation des Ressources Génétiques Animales en Europe*, Paris, 23 février 2003, 79-89.
- Verrier E., Loywyck V., Donvez J., Blouin C., Joffrin C., Heyman G., Cottrant J.F. (2005) Gestion génétique des races à petits effectifs : principes et application aux cas du cheval de trait Boulonnais et de l'âne Grand Noir du Berry. *Journée de la Recherche Equine* 31, 161-171.
- Verrier E (2006) In : BRG (Ed.), *Les ressources génétiques à l'orée de temps nouveaux*, 22-25.
- Verrier E., Leroy G., Blouin C., Mériaux J.C., Rognon X., Hospital F. (2010) Estimating the effective size of farm animals populations from Pedigree or molecular data: a case study on two French draught horse breeds. *9th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production*, Leipzig, August 1-6, 2010.
- Vocoret J.M. (2004) Variabilité génétique: l'Abondance sort des sentiers battus. *La Revue de l'Eleveur laitier*. 113 : 32-33.
- Wright S. (1931) Evolution in mendelian populations. *Genetics* 16:97-159.

Sites internet consultés

Site du projet GENRES ELBARN : <http://www.arca-net.info/>

Cryobanque américaine : <http://www.ars.usda.gov/Main/docs.htm?docid=16979>

Cryobanque néerlandaise : <http://www.cgn.wur.nl>

Cryobanque colombienne : <http://www.corpoica.org.co>

Cryobanque française : <http://www.cryobanque.org>

Site du projet GENRES HERITAGESHEEP : <http://www.heritagesheep.eu/>

Cryobanque italienne : <http://www.genrescryonet.unimi.it>

Site du projet GENRES EURECA : <http://www.regionalcattlebreeds.eu/>

Point focal européen : <http://www.rfp-europe.org/>

Cryobanque turque : <http://www.turkhygen.gov.tr>

Formations suivies

Diplôme initial

Ingénieur agronome, Institut National Agronomique Paris-Grignon (1996)

Enseignements suivis au cours de la thèse

- Write Right Niveau 1- Rédaction et structuration de l'article scientifique – ABIES, Paris (janvier 2011)
- Cours Supérieur d'Amélioration Génétique des Animaux Domestiques - journée sélection génomique – AgroParisTech, Paris (mai 2011)
- Utilisation de l'infocentre du SIG 2011 - Institut de l'Élevage (septembre 2011)

Participations à des conférences

- 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production - WCGALP, Leipzig, Allemagne (août 2010)
- 4ème Journée de rencontres du GEC - AgroParisTech, Paris (octobre 2010)
- 17^{ème} Rencontre Recherche Ruminants – La Villette, Paris (décembre 2010)
- 62^{ème} rencontre de la Fédération Européenne de Zootechnie – Stavanger, Norvège (août-septembre 2011)
- Colloque FRB : Les Ressources Génétiques face aux nouveaux enjeux environnementaux, économiques et sociétaux 2011 - 2012 FRB - Montpellier
- Journée de la société d'ethnozootecnie et de l'Association L'Homme et l'Animal - "Le mouton, de la domestication à l'élevage" - Maison du Lait, Paris (novembre 2011)
- 18^{ème} Rencontre Recherche Ruminants – La Villette, Paris (décembre 2011)
- 63^{ème} rencontre de la Fédération Européenne de Zootechnie – Bratislava, Slovaquie (août 2012)

RESUME

En France, la conservation et la gestion de la variabilité génétique des populations de ruminants est un champ important de recherche et d'activité. L'expérience française combine des actions de terrain efficaces ; la préservation des populations *ex situ* grâce à la Cryobanque nationale ; des recherches méthodologiques débouchant sur des recommandations pratiques ; le développement d'indicateurs de la variabilité génétique des populations et de logiciels correspondants. Cette étude propose d'élaborer un bilan des actions de gestion et conservation de la variabilité génétique réalisées *in situ* via le calcul d'indicateurs, et l'évaluation des collections de la Cryobanque nationale à partir de différents critères.

A partir de bilans de variabilité génétique, réalisés à partir des généalogies de 69 populations de ruminants sélectionnés en France, quatre facteurs majeurs expliquent la variation des valeurs des indicateurs de variabilité. Ce sont : le taux de pénétration de l'IA ; l'effectif des reproducteurs ; les systèmes de gestion de la diversité ; l'existence ou non d'introgession de gènes étrangers. Ces facteurs varient fortement suivant les filières considérées : bovins laitiers, petits ruminants laitiers, bovins allaitants, ovins allaitants et races à petits effectifs.

Une évaluation des dispositifs d'échantillonnage de la Cryobanque montre, pour les bovins laitiers, l'efficacité du dispositif, mais qu'il pourrait être amélioré en échantillonnant les candidats à la Cryobanque principalement pour les caractères les moins sélectionnés. Pour les races allaitantes, le bilan est plus mitigé. Les candidats aux collections sont limités aux mâles prélevés en centre d'IA or ils restent une minorité des reproducteurs. Quant à la réintroduction de matériel cryoconservé dans des populations fortement sélectionnées, une simulation montre qu'elle ne peut être efficace qu'accompagnée d'un changement des objectifs de sélection. Pour les races menacées ou faiblement sélectionnées, la conservation de gènes *ex situ* pour préserver la variabilité génétique s'avère en revanche très efficace.

Les travaux réalisés permettent de mieux utiliser les indicateurs de variabilité génétique. Une suite à cette étude est le projet VARUME. Il est proposé d'automatiser la mise à jour de ces indicateurs de variabilité génétique pour toutes les populations de ruminants avec des pedigrees. Pour la Cryobanque, une meilleure valorisation et optimisation des collections est envisagée à travers différents projets, dont VARUME et CRB-Anim.

MOTS CLES

Variabilité génétique, cryobanque, généalogies, ruminants, gestion *in situ*, gestion *ex situ*.

SUSTAINABLE MANAGEMENT OF THE DOMESTIC RUMINANTS' GENETIC VARIABILITY: IN SITU AND EX SITU APPROACHES

ABSTRACT

In France, the preservation and the management of the genetic variability of ruminants' breeds is an important field of research and activity. The French experience combines effective field actions; *ex situ* conservation thanks to the French national Cryobank; methodological researches resulting in practical recommendations; development of genetic variability indicators and corresponding software. This study is an assessment of the *in situ* actions of conservation and management of genetic variability via the estimation of indicators, and an evaluation of the collections of the national Cryobanque with various criteria.

Thanks to an assessment of the genetic variability based on the pedigrees of 69 ruminants breeds selected in France, we found four major factors explaining variation of the values of the indicators of genetic variability. They are: the rate of IA; the number of reproducing females; the genetic variability management systems; the existence of the introgression of foreign genes. These factors vary strongly depend on the industry considered: dairy cattle, dairy small ruminants, beef cattle, sheep and rare breeds.

An evaluation of the Cryobank sampling strategies shows that, for dairy cattle, the sampling is efficient, but it could be improved by selecting the Cryobank candidates mostly on the least selected traits. For meat breeds, the sampling is less successful. The Cryobank candidates are restricted to AI males, which remain a minority of the breeding males. As for the reintroduction of cryoconserved material in selected populations, a simulation shows that it is effective only if carried on with a change in the selection objectives. For rare or less selected breeds, *ex situ* conservation turn out to be effective to preserve the breeds' genetic variability.

Genetic variability indicators can be used more appropriately, thanks to our study. A follow up will be the VARUME project. The main goal of this project is to automate the genetic variability indicators, for all ruminant breeds with pedigrees. As for the French Cryobank, various projects, including VARUME and CRB-Anim, will allow a better valuation and optimization of its collections.

KEYWORDS

Genetic variability, cryobank, pedigrees, ruminants, *in situ* management, *ex situ* management