

## Bilan du programme national d'amélioration génétique pour la résistance à la tremblante du cheptel ovin français

LEYMARIE C. (1), BOUFFARTIGUE B. (2), ASTRUC J.M. (3), BALDEN M. (1), BARILLET F. (1), BIBÉ B. (1), BONNOT A. (4), BOSCHER M.Y. (5), BOUIX J. (1), BROCHARD M.(4), DION F. (2), FRANÇOIS D. (1), JOUHET E. (6), JULLIEN E. (4), ORLIANGES M. (2), MORENO C. (1), PALHIÈRE I. (1), PERRET G. (3), RAOUL J. (3), SIDANI C. (1), TIPHINE L. (4), RAYNAL A. (7), BOUCHEL D. (8), CATROU O. (8), CHIBON J. (8), TRIBON P. (8)

(1) INRA SAGA, BP 27, 31326 Castanet Tolosan, France (2) Races de France, 149 rue de Bercy, 75595 Paris cedex 12, France (3) Institut de l'Élevage, BP 42118, 31321 Castanet Tolosan cedex, France (4) Institut de l'Élevage, 149 rue de Bercy, 75595 Paris cedex 12, France (5) LABOGENA, Domaine de Vilvert, 78352 Jouy en Josas cedex, France (6) CORAM, Institut de l'Élevage, BP 42118, 31321 Castanet Tolosan cedex, France (7) MAP-DGAL, 251 rue de Vaugirard, 75732 Paris cedex15, France (8) MAP-DGPAAT, 3 rue Barbet de Jouy, 75349 Paris 07 SP, France

**RESUME** - Le programme national d'amélioration génétique pour la résistance à la tremblante (PNAGRT) constitue un exemple unique de sélection d'un gène majeur à grande échelle. Planifié pour une durée de huit ans (2002-2009), son financement est assuré par le ministère de l'Agriculture (DGPAAT) et, depuis 2004, en partie par l'Union Européenne. Sa coordination générale est placée sous la responsabilité d'un comité de pilotage regroupant l'administration, les organisations professionnelles et les instituts scientifiques et techniques. Ce programme s'appuie sur l'exploitation du polymorphisme du gène PrP, responsable d'une plus ou moins forte résistance à la tremblante. Le choix stratégique de ce programme fut de s'appuyer sur les élevages impliqués dans les schémas de sélection afin de bénéficier du savoir faire, de l'organisation et des outils existants ainsi que de la capacité de ces élevages en termes de capitalisation et de diffusion du progrès génétique. Depuis 2002, plus de 670000 génotypages ont été effectués dans le cadre du PNAGRT sur l'ensemble des races françaises, dont les races à petits effectifs, avec des objectifs adaptés à leurs contraintes liées à la gestion de la variabilité génétique. Les efforts réalisés ont porté leurs fruits puisque pour la campagne 2008, 93 % des béliers actifs sont de génotype ARR/ARR pour les races allaitantes (24 % en 2002) et 95 % des doses d'IA laitières sont issues de béliers ARR/ARR (31 % en 2002). Enfin, aucun bélier actif en 2008 n'est porteur de l'allèle VRQ (8 % en 2002). Grâce à ces résultats, les sélectionneurs sont en mesure de diffuser un grand nombre d'animaux résistants (IA ou reproducteurs) vers les élevages de production. Le PNAGRT a également permis le développement d'outils et d'un savoir faire en matière de gestion d'informations moléculaires qui prennent de plus en plus d'importance dans les schémas de sélection. Après la mise en œuvre d'une sélection rapide et efficace de l'allèle ARR pendant ces huit années, les réflexions en cours portent sur l'entretien du niveau de résistance dans les bases de sélection et une optimisation de la diffusion de la résistance.

## The national breeding programme for scrapie resistance in the French sheep population

LEYMARIE C. (1), BOUFFARTIGUE B. (2), ASTRUC J.M. (3), BALDEN M. (1), BARILLET F. (1), BIBÉ B. (1), BONNOT A. (4), BOSCHER M.Y. (5), BOUIX J. (1), BROCHARD M.(4), DION F. (2), FRANÇOIS D. (1), JOUHET E. (6), JULLIEN E. (4), ORLIANGES M. (2), MORENO C. (1), PALHIÈRE I. (1), PERRET G. (3), RAOUL J. (3), SIDANI C. (1), TIPHINE L. (4), RAYNAL A. (7), BOUCHEL D. (8), CATROU O. (8), CHIBON J. (8), TRIBON P. (8)

(1) INRA SAGA, BP 27, 31326 Castanet Tolosan, France

### SUMMARY

The French national breeding programme for scrapie resistance is the first example of generalised gene assisted selection at the population level. Planned for 8 years (2002-2008), it is funded by the French Ministry of Agriculture and, since 2004, partially by the European Union. It is ruled by a steering committee composed of the French Ministry of Agriculture, technical and scientific organisations and breeders associations. The plan is built on the PrP gene polymorphism which controls the susceptibility to classical scrapie. It is based on selected flocks, in order to take advantage of their know-how for selection and the existing organisational and genetic tools. This choice enables making durable the genetic progress on resistance and use the classical way of genetic progress diffusion. Since 2002, more than 670,000 genotyping results, from all sheep breeds, have been stored, even from rare breeds, with goals well fitted to their genetic variability constraints. Good results were obtained: in 2008, 93% of active rams were ARR/ARR in meat breeds (24% in 2002), and 95% of the semen used for AI in dairy breeds was produced by ARR/ARR rams (31% in 2002). Today, there are no more VRQ-carrier rams used for reproduction whereas there were 8% in 2002. Thanks to these good results, a lot of resistant rams, with good genetic merit, are available for use in commercial flocks. In the course of this programme, tools for molecular information management have been implemented. They will be very useful in the future since molecular information is becoming more and more important for genetic selection. Current studies deal with the future maintenance of the genetic progress for scrapie resistance and the enhancement of the sale of resistant rams to commercial flocks.

### INTRODUCTION

La tremblante du mouton est une maladie de la famille des ESST (encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles), comme la maladie de Creutzfeldt-Jakob chez l'homme ou l'ESB chez les bovins. Ces maladies sont sans traitement connu et leur issue est fatale. Mais chez les ovins, un gène confère une résistance plus ou moins

importante aux animaux : le gène PrP. Depuis octobre 2001, le ministère de l'Agriculture en collaboration avec les instituts techniques et les organisations professionnelles de la filière ovine a mis en place le programme national d'amélioration génétique pour la résistance à la tremblante (PNAGRT) dans le but d'améliorer la résistance génétique à la tremblante du cheptel ovin français. Ce programme de

sélection pour un gène majeur à grande échelle a nécessité la mise en place d'une logistique innovante basée sur le dispositif génétique existant.

## **1. GENETIQUE ET SENSIBILITE A LA TREMBLANTE CLASSIQUE**

### **1.1. SENSIBILITE A LA TREMBLANTE CLASSIQUE ET POLYMORPHISME AU GENE PRP**

En 1989, Hunter identifie le gène PrP dont le polymorphisme permet d'expliquer la résistance ou la sensibilité des animaux à la tremblante (Hunter *et al.*, 1989). Dans le cas de la tremblante classique, trois codons sont impliqués : 136, 151 et 171. Quatre allèles sont utilisés classiquement en sélection : ARR, ARQ, AHQ et VRQ. D'autres allèles, tels que ARH et ARK, se retrouvent dans les différentes populations ovines mais leurs fréquences étant très faibles, leur impact vis-à-vis de la résistance à la tremblante est assez mal connu. ARQ serait l'allèle ancestral et les différents allèles dériveraient de celui-ci par mutation ponctuelle. De nombreux auteurs ont montré que l'allèle ARR confère une forte résistance aux animaux vis-à-vis des ESST, tandis que l'allèle VRQ leur confère une forte sensibilité. La sensibilité à la tremblante est également induite par l'allèle ARQ tandis que l'allèle AHQ induirait plutôt une résistance.

### **1.2. INTERET DU GENOTYPE ARR / ARR DANS LA LUTTE CONTRE LA TREMBLANTE**

Les animaux ARR / ARR sont donc fortement protégés vis-à-vis de la tremblante classique et de l'ESB. Aujourd'hui, sur les très nombreux tests réalisés, seuls trois animaux ARR / ARR ont développé une tremblante classique (Ikeda *et al.*, 1995. Groschup *et al.*, 2007). De plus, il a été montré que l'utilisation de béliers ARR / ARR permettait de diminuer la dissémination du prion dans le milieu (Andréoletti *et al.*, 2002). Les animaux homozygotes résistants transmettant l'allèle de résistance à tous leurs descendants, ceux-ci sont au moins hétérozygotes résistants et donc mieux protégés vis-à-vis de la tremblante classique. Cette résistance concerne également l'ESB (transmise aux ovins par voie expérimentale) et permet donc de sécuriser le consommateur vis-à-vis d'un éventuel risque lié à une présence de l'agent de l'ESB à l'état naturel.

## **2. LES PREMIERES ACTIONS DE SELECTION DU GENE PRP**

En France, les premières opérations ont concerné le génotypage des béliers d'IA des races laitières, à partir de 1995 pour la race Lacaune, 1997 pour les races Pyrénéennes et 1999 pour la race Corse. L'objectif était d'éliminer tous les béliers porteurs de l'allèle VRQ. En 1999, la race Lacaune a orienté sa sélection en faveur de l'allèle ARR. Pour les races allaitantes, le génotypage au gène PrP a concerné les agneaux entrés en stations de contrôle individuel ou en centres d'élevage en 1999-2000, dans le cadre d'un programme européen. Les résultats ont permis d'estimer les fréquences alléliques initiales de chaque race (Palhière *et al.*, 2002).

## **3. LA MISE EN PLACE DU PROGRAMME NATIONAL D'AMELIORATION GENETIQUE POUR LA RESISTANCE A LA TREMBLANTE (PNAGRT)**

### **3.1. UN FACTEUR ACCELERATEUR**

Le 19 octobre 2001, une équipe de chercheurs britanniques annonce, avant de le démentir par la suite, qu'ils ont isolé l'agent de l'ESB chez des ovins naturellement atteints de

tremblante classique (voir Palhière *et al.*, 2002). A ce jour, l'agent de l'ESB n'a toujours pas été mis en évidence chez des ovins naturellement atteints. Mais pour faire face à la situation de crise du moment et pour en anticiper de nouvelles, les représentants de la filière ovine (FNO, Coop de France, Races de France, FNGDS, ANIO, INTERBEV, Interprofession laitière,...), le Ministère de l'Agriculture (DGPAAT, DGAL), l'Institut de l'élevage et l'INRA décident la mise en place du PNAGRT afin de lutter contre la tremblante (et potentiellement l'ESB). Les modalités techniques de ce projet sont validées lors de la commission nationale d'amélioration génétique du 21 novembre 2001.

### **3.2. QUELS MOYENS ET QUELS OBJECTIFS POUR LE PNAGRT ?**

#### **3.2.1. Financement et encadrement du PNAGRT.**

Le PNAGRT, initialement prévu pour cinq ans (2002-2006), a été prolongé de trois ans (2007-2009) afin de consolider les acquis des cinq premières années. La stratégie principale de ce programme a été de s'appuyer sur les schémas de sélection afin de bénéficier de la technicité et du savoir-faire en matière de sélection des éleveurs engagés, mais aussi des outils déjà existants en matière de stockage de l'information (généalogies, performances...), disponibles via les systèmes nationaux d'information génétique (SNIG), afin de capitaliser le progrès génétique d'une génération à l'autre. Le financement est assuré par le ministère de l'Agriculture et comprend l'encadrement national du programme, assuré par deux ingénieurs, un encadrement local (financé jusqu'en 2007) qui a permis de dédommager les organismes de sélection (OS) du coût de mise en œuvre et enfin le remboursement des génotypages réalisés par ces OS dans le cadre du PNAGRT à hauteur de 20 €, avec un cofinancement de l'UE depuis 2004. Un comité de pilotage décide les orientations et les stratégies d'application du PNAGRT. Ce comité de pilotage est composé du ministère de l'Agriculture (DGPAAT et DGAL), des représentants professionnels de la filière ovine (races de France, FNO,...), des organismes technique et scientifique (IE et INRA), de France Agri Mer et du laboratoire de référence (LABOGENA). Le comité de pilotage s'appuie sur un comité de suivi qui suit la réalisation des actions du PNAGRT.

#### **3.2.2. Quatre objectifs principaux**

Les orientations validées par le comité de pilotage sont choisies afin de répondre le mieux possible aux quatre objectifs du PNAGRT, à savoir : 1) éliminer l'allèle de sensibilité (VRQ) ; 2) fournir des animaux ou de la semence d'animaux résistants aux élevages atteints par la maladie ; 3) augmenter la fréquence de l'allèle de résistance (ARR) tout en maintenant variabilité et niveau génétique ; 4) fournir des béliers ou de la semence de béliers résistants (ARR / ARR) aux élevages de production.

#### **3.2.3. Quelles stratégies mises en place ?**

Ces stratégies validées s'illustrent par le calcul d'un nombre de génotypages attribués par race et par catégorie d'animaux à partir d'un quota global fixé par le ministère de l'Agriculture pour chaque campagne. Dans ces attributions, la voie mâle est prioritaire car elle permet une diffusion plus large et plus rapide du progrès génétique. Ainsi, tous les candidats à l'entrée en station de contrôle individuel ou en centre d'élevage sont génotypés car ils correspondent aux futurs reproducteurs utilisés dans les noyaux de sélection. Au vu de l'objectif d'élimination de

l'allèle VRQ des bases de sélection, il a été choisi de génotyper les agnelles de renouvellement des races allaitantes, puisque la fréquence initiale de cet allèle est non négligeable (jusqu'à près de 20 % dans certains cas). Dans un premier temps, le quota disponible permettait simplement de génotyper les agnelles conservées, mais grâce à l'amélioration des structures génétiques et à la mise en place d'un système de prédiction de génotypes, le quota disponible a permis de génotyper les candidates au renouvellement. Pour les races laitières, le génotypage de femelles concerne les mères à béliers pour les races Pyrénéennes et Corse afin de mieux planifier les accouplements raisonnés. Dans un souci de répondre au dernier objectif, des mâles destinés à la diffusion pour les races allaitantes et des mâles de monte naturelle pour le noyau de sélection ainsi qu'une partie des mâles de diffusion pour les races laitières ont été génotypés.

### 3.2.4. Les découvertes relatives à la tremblante atypique remettent-elles en cause les choix stratégiques du PNAGRT ?

La tremblante atypique est une autre forme de tremblante qui semble peu ou pas contagieuse et qui affecte des animaux plus âgés que la tremblante classique. Cependant, cette forme de tremblante semble toucher tous les génotypes, y compris les animaux ARR / ARR, mais l'allèle ARR n'est pas l'allèle le plus sensible à la tremblante atypique. De plus, un nouveau codon (141) présentant un polymorphisme L ou F semble être impliqué dans la résistance à la tremblante atypique. L'allèle ancestral serait l'allèle ALRQ, ce qui expliquerait le fait qu'à l'heure actuelle, on ne rencontre que des allèles ALRR, ALHQ et VLRQ puisque les allèles dérivent de l'allèle sauvage par mutation ponctuelle. Les allèles les plus sensibles à la tremblante atypique sont les allèles AFRQ et ALHQ. Comme le PNAGRT vise à sélectionner l'allèle ARR, les fréquences des allèles AHQ et ARQ diminuent, ce qui limite également le risque d'apparition de la tremblante atypique (Moreno *et al.*, 2006).

## 4. LA LOGISTIQUE MISE EN PLACE DANS LE CADRE DU PNAGRT

### 4.1. LE STOCKAGE DE L'INFORMATION MOLECULAIRE

Les génotypages sont réalisés dans dix neuf laboratoires agréés par le ministère de l'Agriculture (NS DGAL du 06/07/09), à partir de prélèvements sanguins effectués sur les animaux en élevage. Les résultats d'analyse sont envoyés, suivant une procédure bien définie, dans la base de données nationale (INMOLE) créée pour stocker les résultats de génotypages. Cette base est hébergée au CTIG. Chaque résultat est clairement identifié par le numéro officiel de l'animal, la date de l'analyse, le code du gène ou marqueur analysé, l'allèle 1 et l'allèle 2 et le code du laboratoire apporteur. Ainsi, même si un animal possède plusieurs analyses, il est possible de les distinguer. Actuellement, INMOLE contient plus de 670000 résultats, concernant le gène PrP, mais elle permettrait de stocker les résultats d'analyses d'autres gènes que PrP.

### 4.2. COMMUNICATION ENTRE INMOLE ET SNIG.

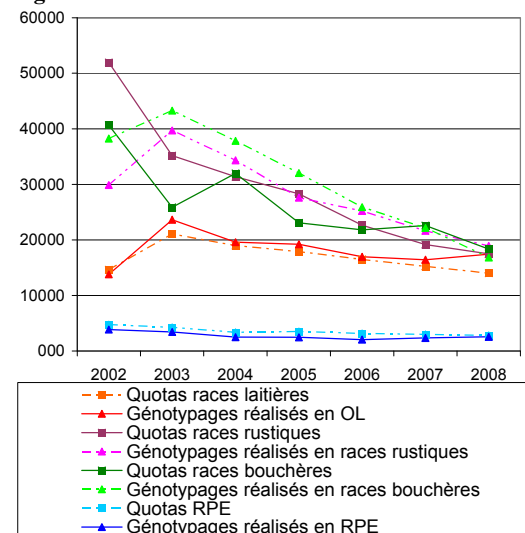
Pour que les informations au gène PrP soient utilisées par les maîtres d'œuvre des schémas de sélection, il était nécessaire de faire communiquer INMOLE et les SNIG (OVALL pour les ovins allaitants et SIEOL pour les ovins laitiers). Des interfaces ont donc été mises en place : OATREMOV pour les ovins allaitants et TREMOL pour les ovins laitiers. Afin que ces interfaces soient alimentées,

l'animal doit être connu dans INMOLE et dans SIEOL ou OVALL, le lien se faisant grâce au numéro officiel de l'animal. Cette table est mise à jour hebdomadairement grâce à un programme permettant de synthétiser l'information moléculaire à diffuser. Si un animal possède plusieurs génotypes, ce programme analyse la compatibilité des résultats, ce qui permet de diffuser une information synthétique fiable. Il prend également en compte les résultats de prédiction de génotype (voir 4.3). Dans ces interfaces, chaque animal est identifié par son numéro officiel, puis différentes variables permettent de connaître l'information moléculaire et son origine : génotypage ou prédiction, date d'analyse ou date de prédiction. D'autres variables permettent de connaître l'origine d'une éventuelle incompatibilité entre prédiction et typage et les anomalies de typage. Une évolution en cours de ce système d'interface et de prédiction permettra l'utilisation en sélection de nouveaux gènes d'intérêt zootechnique.

### 4.3. VALORISATION DES GENEALOGIES ET DES GEOTYPAGES.

Grâce à la connaissance des génotypes d'une partie des reproducteurs (♂ et ♀), un programme de prédiction du génotype des agneaux a été développé à partir de 2004. Cette innovation permet d'obtenir une information précoce sur le génotype de l'animal et ainsi d'optimiser le choix des animaux à génotyper. La prédiction peut être complète si les deux parents sont génotypés ou incomplète si l'un des deux ne possède pas d'information moléculaire complète ou si l'un des parents est hétérozygote. Les prédictions de génotype apportent une information relativement fiable puisque seulement 0,6 % des animaux possédant à la fois une prédiction et un génotypage (276000) présentent une incompatibilité. Les prédictions de génotype ainsi que l'amélioration de la structure génétique des populations ont permis de réduire de façon non négligeable les besoins en génotypage pour les races allaitantes comme le montre la figure 1.

Figure 1 :



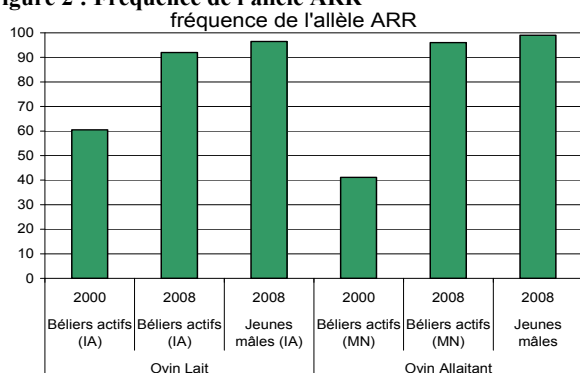
## 5. PRINCIPAUX RESULTATS APRES SEPT ANNEES DE SELECTION.

### 5.1. REPOSE A LA SELECTION POUR L'ALLELE ARR SUR LES REPRODUCTEURS MALES.

La figure 2 présente l'évolution de la fréquence de l'allèle ARR chez les deux vecteurs principaux de diffusion du

progrès génétique dans les noyaux de sélection : les béliers d'IA pour les ovins laitiers (OL) et les béliers de monte naturelle pour les ovins viande (OV).

Figure 2 : Fréquence de l'allèle ARR

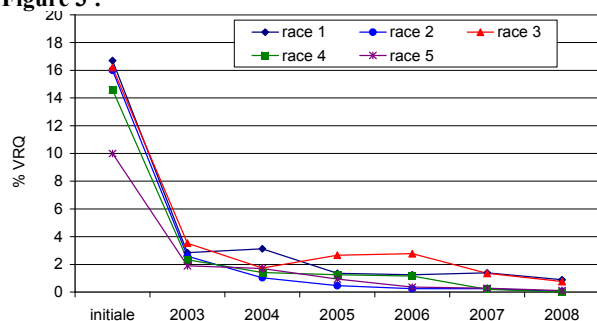


Chez les mâles actifs, l'augmentation de la fréquence de l'allèle ARR est conséquente : + 30 % pour les OL et + 45 % en OV. Autour de ces moyennes se cachent des différences entre les races. Ainsi, les races qui présentaient des fréquences alléliques favorables en début de programme possèdent désormais des haras de béliers homozygotes tous résistants. Pour les races « défavorisées » en début de programme (fréquence ARR faible) ou qui devaient composer avec d'autres facteurs extérieurs, ce seuil n'est pas encore atteint. Mais il faut noter que les efforts de sélection se poursuivent comme le montrent les histogrammes relatifs aux jeunes béliers nés en 2008. La structure génétique des haras de béliers continuera donc d'évoluer favorablement.

### 5.2. L'ALLELE VRQ EST-IL TOUJOURS PRESENT DANS LES BASES DE SELECTION ?

L'allèle VRQ était principalement présent chez les races allaitantes, avec moins de 2 % pour les races laitières (Palhière *et al.*, 2002). La figure 3 présente la fréquence de l'allèle VRQ chez les agnelles de renouvellement par campagne de naissance pour les grandes races allaitantes possédant une forte fréquence initiale de l'allèle VRQ.

Figure 3 :



Ce graphique démontre l'effort fourni par les OS concernés pour éliminer au maximum les animaux porteurs de l'allèle VRQ. Dès 2003, moins de 4 % des agnelles conservées pour le renouvellement étaient porteuses de l'allèle VRQ et ceci pour les races les plus « défavorisées ». Les résultats pour l'année 2008 montrent que l'élimination de l'allèle VRQ sera effective dans un avenir proche en maintenant la pression de sélection contre cet allèle. En 2008, aucun mâle actif n'est porteur de l'allèle VRQ alors qu'il y en avait 8 % en 2002.

### 5.3. QUEL EST L'IMPACT DU PNAGRT SUR LES NIVEAUX GENETIQUES ET LA VARIABILITE GENETIQUE ?

Dans le cadre de l'action innovante VAROVI menée à partir de 2004 sur trois races allaitantes et une race laitière, aucune dégradation des niveaux génétiques due au PNAGRT n'a été montrée (Brochard *et al.*, 2006). L'étude menée dans le cadre de ce bilan du PNAGRT révèle les mêmes conclusions, même si une légère stagnation du progrès génétique a été observée lors des 2-3 premières années. Les quelques cas où une légère perte de niveau génétique est constatée, s'expliquent par des décisions radicales des OS. En ce qui concerne la variabilité génétique, les résultats obtenus confirment que les mesures de gestion mises en place ont permis de maintenir le niveau de variabilité génétique (Palhière *et al.*, 2008)

### 5.4. LES BASES DE SELECTION PEUVENT-ELLES REpondre A LA DEMANDE EN BELIERS OU SEMENCE DE BELIERS ARR / ARR ?

La diffusion de béliers ou de semence de béliers ARR / ARR était un objectif du PNAGRT afin que l'ensemble de la population ovine française bénéficie du progrès génétique réalisé dans les noyaux de sélection. Pour l'année 2008, 96 % des doses d'IA diffusées en races laitières sont issues de béliers ARR / ARR et 4 % sont issues de béliers hétérozygotes résistants. Pour les races allaitantes, la structure génétique des jeunes béliers diffusés est également satisfaisante : 89 % d'homozygotes résistants et 6 % d'hétérozygotes résistants. Pour l'année 2008, 7800 béliers ont été diffusés, mais il faut souligner que ce chiffre correspond à la demande actuelle et que les bases de sélection sont aujourd'hui en mesure de produire bien plus de béliers résistants et de bon niveau génétique. Ainsi, pour l'année 2008, les noyaux de sélection des races bouchères auraient pu diffuser 10300 béliers ARR / ARR dont 5300 de génotype connu par prédiction, donc sans surcoût de typage (considérant qu'un tiers des agneaux nés sont candidats à la diffusion). En plus de ces jeunes béliers disponibles, il faut également noter que les béliers d'IA (tous ARR / ARR) sont sous utilisés. Les noyaux de sélection sont donc en mesure de fournir un grand nombre de béliers ou de doses de béliers ARR / ARR et sont capables de répondre à l'objectif qui leur avait été fixé en début de programme.

### CONCLUSION

Après huit années de sélection, les résultats du PNAGRT sont satisfaisants. En effet, l'allèle ARR a vu sa fréquence fortement augmenter dans les noyaux de sélection et peut faire l'objet d'une diffusion plus large. L'allèle VRQ, qui n'est plus présent chez les mâles actifs, n'est pas encore totalement éliminé dans le cheptel femelle dans toutes les races, mais est en voie de l'être. Non seulement, les résultats en termes de résistance à la tremblante sont bons, mais ce programme a permis la mise en place d'une logistique novatrice, qui permettra à l'avenir de prendre en compte d'autres gènes d'intérêt zootechnique. Il reste désormais à maintenir la pression de sélection au sein des schémas de sélection ovine, mais aussi à étendre la diffusion de la résistance à la tremblante à l'ensemble du cheptel français.

Andréoletti O, *et al.*, 2002. *J. Gen. Virol.*, 83, 2607-2614.

Brochard M, *et al.*, 2006. *Renc. Rech. Rum.*, 13, 231-234.

Groschup M-H, *et al.*, 2007. *Emerg. Infect. Dis.*, 13, 1201-1207.

Hunter N, *et al.*, 1989. *Vet Rec.* 124, 364-366.

Ikeda T, *et al.*, 1995. *J. Gen. Virol.*, 76, 2577-2581

Moreno C, *et al.*, 2006. *Pâtre*, 539, 32-34.

Palhière I, *et al.*, 2002. *Renc. Rech. Rum.*, 9, 3-9.

Palhière I, *et al.*, 2008. *Genet. Sel. Evol.*, 40., 663-680.