

## Les objectifs et les applications d'un réseau organisé de phénotypage pour les animaux d'élevage

HOCQUETTE J.F. (1), CAPEL C. (2), DAVID V. (2), GUEMENE D. (3), BIDANEL J. (4), BARBEZANT M. (5), GASTINEL P.L. (6), LE BAIL P.Y. (7), MONGET P. (8), MORMEDE P. (9), PEYRAUD J.L. (10), PONSART C. (11), GUILLOU F. (8)

(1) Inra, UR1213, URH, Centre de Clermont-Ferrand Theix, 63122 Saint Genès-Champanelle, France

(2) Institut de l'Elevage, 9 Allée Pierre de Fermat, 63110 Aubière, France et 149, rue de Bercy, 75595 Paris cedex 12, France

(3) Sysaaf, Inra, Recherches Avicoles, 37380 Nouzilly, France

(4) Ifip, (5) UNCEIA, (6) France Génétique Elevage, 149, rue de Bercy, 75595 Paris cedex 12, France

(7) Inra, UR UR1037, SCRIBE, 35042 Rennes, France

(8) Inra, UMR 6175, PRC, 37380 Nouzilly, France

(9) Inra, UMR 444, LGC, Chemin de Borde Rouge, Auzeville, 31326 Castanet-Tolosan cedex, France

(10) Inra-Agrocampus Ouest, UMR 1080 Production du Lait, Domaine de la Prise, 35590 Saint-Gilles, France

(11) UNCEIA, UNCEIA R&D. 13 rue Jouët, 94704 Maisons-Alfort cedex, France

**RESUME** – Dans un contexte d'évolution des demandes vis-à-vis de l'élevage, les projets de recherche-développement en sciences animales doivent être plus systémiques et prédictifs. La mise en place à l'échelle nationale d'un vaste programme de phénotypage a pour ambition d'établir des relations fonctionnelles de plus en plus fines entre le génotype des animaux et leurs phénotypes dans une perspective d'élevage durable au sein des différentes filières animales (ruminants, porcins, volailles, poissons). Ces nouvelles approches impliquent (i) la définition de phénotypes complexes obtenus à partir de l'intégration de données obtenues à différents niveaux (échelles moléculaires, tissulaires, de l'animal ou d'une de ses fonctions, des troupeaux), (ii) la mise en œuvre des dernières méthodes et technologies à haut débit pour caractériser à moindre coût et le plus précisément possible le plus grand nombre d'animaux avec une meilleure prise en compte de leur environnement, et (iii) le développement d'importantes bases de données nécessaire aux traitements des informations à des fins de modélisation. Dans ce contexte, l'obtention d'informations phénotypiques précises, fiables, répétables et comparables entre pays, laboratoires ou entreprises est critique pour acquérir une bonne compréhension de la relation entre les gènes et les phénotypes. Jusqu'à présent, il est en effet extrêmement difficile de combiner différentes sources de données phénotypiques elles-mêmes diverses et issues de bases de données d'origines multiples en raison notamment de la variabilité dans les méthodes de phénotypage et l'absence d'information concernant les conditions d'élevage. Ces programmes impliquent également la construction d'un réseau coordonné d'infrastructures de recherche (laboratoires, unités expérimentales) ou de développement (réseaux d'élevage, fermes expérimentales de la profession). Pour mener à bien ce programme de phénotypage à grande échelle, il faut pouvoir disposer d'un langage commun avec des définitions partagées et non équivoques des caractères et de leur mode de mesures. Pour cela, le programme de phénotypage s'appuiera sur le programme « Animal Trait Ontology of Livestock » (ATOL) développé à l'Inra en collaboration avec l'Université d'Etat d'Iowa (USA) dont l'objectif est de définir précisément les caractères phénotypiques d'intérêt. Ensuite, il sera nécessaire de prioriser les phénotypes d'intérêt en fonction de leur finalité (recherche de gènes candidats / développement d'itinéraires techniques et indexation génomique). Il sera également nécessaire d'associer des informations concernant l'environnement lié au système d'élevage des animaux phénotypés, ainsi que les méthodes de mesure pour interpréter de façon non équivoque les différences phénotypiques entre animaux.

## The objectives and applications of an organized network for phenotyping of livestock

(1) Inra, UR1213, URH, Centre de Clermont-Ferrand Theix, 63122 Saint Genès-Champanelle, France

**SUMMARY:** In a context with new expectations for animal breeding, research and development in animal sciences are becoming increasingly important with the ambition of becoming more systemic and predictive. The objective of a national phenotyping programme is to establish more numerous and more precise functional relationships between genotypes and phenotypes of animals within the perspective of sustainable farming in the various animal sectors (ruminants, pigs, poultry, fish). These new approaches involve (i) the definition of complex phenotypes obtained from data integration at different levels (molecules, tissues, animals or one of their biological functions, herds), (ii) the implementation of the latest methods and technologies to characterise at high speed and low cost, and as accurately as possible, the greatest number of animals in a more and more well characterised environment, and (iii) the development of large databases for treatment information and then modelling. In this context, obtaining phenotypic information which is accurate, reliable, repeatable and comparable across countries, laboratories or companies is critical to gain a better understanding of the relationship between genes and phenotypes. So far, it is indeed extremely difficult to combine different sources of phenotypic data from various databases of multiple origins partly because of the variability in the methods of phenotyping and the lack of information on environmental conditions. These programs also involve the construction of a coordinated network of research (laboratories, experimental units) and professional (farms, farming systems) facilities. To carry out this program of large-scale

phenotyping, it is necessary to have a common language with shared definition of unambiguous animal traits and methods to assess them. To this end, the phenotyping programme will build an "Animal Trait Ontology of Livestock" (ATOL) project developed at Inra in collaboration with Iowa State University with the objective of precisely defining the phenotypic characteristics of interest for farm animals. Then, it will be necessary to prioritise the phenotypes of interest according to their purpose (search for candidate genes / animal management and development of genomic indexing). It will also be necessary to combine an environmental information system related to animal husbandry and associated methods to better describe the phenotypic differences between animals.

## INTRODUCTION

L'organisation et la mise à disposition d'outils performants pour permettre la détermination des phénotypes des animaux, ainsi que l'acquisition et le partage des données ainsi acquises sont des enjeux majeurs qui apparaissent aujourd'hui comme des verrous importants à la progression des connaissances, que ce soit pour la sélection génomique ou l'élevage de précision. Le phénotype porte sur un ou plusieurs caractères observables d'un individu. Le phénotype dépend du génotype de l'individu, c'est-à-dire de l'expression de ses gènes, mais également des effets du milieu.

Le phénotypage fin et à haut débit a ainsi été identifié comme l'un des principaux défis du document d'orientation de l'Inra (Herpin, 2009). Il figure dans les priorités des départements travaillant sur les animaux d'élevage de l'institut au titre de leurs objectifs stratégiques. Le phénotypage fin et à haut débit est aussi à juste titre mis en avant par les instituts techniques et les organisations professionnelles des filières animales (Hocquette *et al.*, 2011).

Le développement de l'élevage de précision, l'accès à des techniques d'exploration fonctionnelle toujours plus performantes, les innovations en cours de déploiement (sélection génomique) ou à venir (nutrigénomique) dans le domaine de la génomique, la diversification des caractères de sélection à prendre en compte pour répondre aux attentes des producteurs, des industriels de la transformation, des distributeurs, des consommateurs et des citoyens (critères environnementaux, bien-être animal, etc.) sont autant d'éléments qui justifient un programme d'envergure concernant le phénotypage fin et à haut débit des animaux d'élevage. La nécessité de ce programme a été bien identifiée par les Groupements d'Intérêts Scientifiques (GIS) « Elevage Demain » et « AGENAE » (Analyse du génome des Animaux d'Elevage) pour répondre aux nouveaux enjeux de l'élevage.

Après avoir rappelé les nouveaux enjeux autour de l'élevage et sur le plan scientifique, nous développerons le concept de phénotypage à haut débit et ses conséquences en termes de standardisation et de partage des données mais aussi en termes d'organisation du monde de la recherche.

## 1. LES NOUVEAUX ENJEUX DE L'ELEVAGE

Les enjeux de développement durable de nos sociétés sont de plus en plus liés à la protection de notre environnement, à la prise en compte des aspects éthiques, en particulier ceux portant sur le bien-être animal, et à la production des ressources nécessaires aux conséquences de l'accroissement important de la population humaine. Dans ce contexte, les recherches en élevage s'orientent vers la sélection d'animaux (i) efficaces pour la transformation des ressources alimentaires, (ii) robustes et adaptables face au changement climatique et à la grande diversité des modes d'élevage et (iii) générant avec un rendement élevé des produits de qualité pour satisfaire les besoins nutritionnels et la santé des consommateurs. Dans sa vision stratégique des animaux d'élevage du futur, la plate-forme technologique européenne FABRE a effectivement décrit

l'animal de demain comme robuste, adaptable et en bonne santé (FABRE, 2006).

La maîtrise de la conversion métabolique des aliments en viande, œufs ou lait par les animaux est importante à la fois pour réduire les rejets induits par l'élevage (azote, méthane, etc) et pour diminuer les coûts de l'alimentation animale (qui représentent plus de la moitié des charges opérationnelles de l'élevage, surtout dans les filières avicole et porcine) tout en valorisant au mieux les ressources fourragères dans le cas des ruminants ou de nouvelles ressources telles que les sous-produits issues des filières de production végétale (biocarburants, ...). La robustesse est la propriété permettant à un animal de s'adapter ou de résister aux perturbations de son environnement notamment climatiques qui sont de plus en plus récurrentes ; la résistance aux agents pathogènes est une autre forme de robustesse, avec la nécessité de limiter l'utilisation des antibiotiques dans les différentes filières animales. La réponse de l'animal suite à des variations de l'environnement (et donc l'appréciation de sa robustesse) requiert une haute fréquence de mesure de caractères spécifiques, d'où l'intérêt du phénotypage à haut débit (Friggens *et al.*, 2010). L'appréciation de la robustesse porte sur l'ensemble des fonctions physiologiques d'intérêt et implique la mesure des caractéristiques de santé, de reproduction, de comportement et de longévité des animaux, ainsi que leur capacité à répondre au stress (Mormède *et al.*, 2010). Par ailleurs, les activités d'élevage sont aujourd'hui au cœur de plusieurs débats sociétaux qui rejoignent en partie les enjeux précédemment décrits et qui sont fondamentaux pour l'avenir des filières de productions animales: (i) les interactions entre l'élevage et l'environnement., (ii) l'aménagement des territoires afin de maintenir un tissu rural important via les activités d'élevage, (iii) l'impact de la consommation de produits d'origine animale sur la santé humaine, notamment en ce qui concerne les viandes rouges souvent critiquées par le corps médical pour leur richesse en acides gras saturés. Nos concitoyens attendent donc de la recherche et des professionnels des réponses à ces questions, et notamment une meilleure maîtrise de la contribution des animaux d'élevage aux émissions de gaz à effet de serre tout en tenant compte de la contribution des exploitations d'élevage au stockage du carbone (notamment à travers la prairie).

Différentes réflexions ont conclu que, malgré les apparences, il n'y avait pas nécessairement contradiction entre ces différents objectifs. Il est notamment possible de produire en quantité et en qualité des produits animaux pour contribuer à nourrir l'humanité avec une alimentation équilibrée sans pour autant dégrader l'environnement (Scollan *et al.*, 2011). Ainsi, par exemple, des animaux plus efficaces sur le plan métabolique produiront plus de lait et de la viande et avec des rejets par kg de produit plus faibles (Reynolds *et al.*, 2011). La sélection génomique, qui permet de progresser rapidement sur des critères difficilement améliorables par la sélection classique et le développement de l'élevage de précision sont des pistes prometteuses pour réduire les intrants qui est un levier majeur de la maîtrise des coûts de production et aussi de la réduction des émissions d'azote, de phosphore, de méthane et de résidus médicamenteux. La recherche

d'animaux plus robustes et l'apparition dans les élevages d'équipements capables de saisir en continu de grandes quantités d'information captée sur les animaux (température, comportement, consommation alimentaire...) ou sur les produits (analyses en ligne faites sur le lait en salle de traite.....) doivent aussi contribuer à l'amélioration des conditions de travail en élevage et du bien-être des animaux.

## 2. LES ENJEUX SCIENTIFIQUES

Parallèlement à ces enjeux de société, les projets de recherche-développement en sciences biologiques prennent de plus en plus d'ampleur avec l'ambition d'être plus systémiques et prédictifs que ce soit en génétique ou en biologie. Le phénotypage est aujourd'hui le parent pauvre de la biologie intégrative que ce soit pour les végétaux, les animaux ou l'homme.

### 2.1. LES ENJEUX EN GÉNÉTIQUE

La révolution génomique déclinée en France à travers le programme AGenae (Analyse du GENome des Animaux d'Élevage) entre l'Inra et les professionnels des filières animales a permis une meilleure connaissance des génomes des espèces animales grâce à des développements technologiques à haut débit pour l'étude de l'ADN et de ses produits (ARN, protéines, métabolites). Aujourd'hui, l'un des objectifs consiste à établir des relations fonctionnelles de plus en plus fines entre le génotype des animaux et leurs phénotypes dans une perspective d'élevage de précision et durable. Dans ce contexte, la standardisation et la précision des mesures des phénotypes deviennent des facteurs limitants majeurs (Monget et Le Bail, 2009). En effet, Barendse (2011) a montré que les résultats d'analyse du génome entier par association (Genome Wide Association Studies - GWAS) diffèrent en fonction du jeu de données phénotypiques utilisé. Cet auteur avait travaillé à partir de deux jeux de valeurs d'épaisseur de gras sous-cutané (avec la même définition) qui étaient assez étroitement corrélés ( $r = 0,72$ ) mais étaient issues de deux groupes de travail indépendants. Il est donc recommandé que les valeurs phénotypiques lors d'expérimentations GWAS soient étudiées pour leur répétabilité avant toute analyse. Pour les caractères dont la répétabilité de la mesure est faible ( $r < 0,95$ ), deux ou trois mesures indépendantes du même caractère devraient être obtenues sur les mêmes échantillons, et les individus génotypés seulement pour les caractères fortement corrélés pour les mesures indépendantes (Barendse, 2011).

Suite aux développements spectaculaires en génétique et génomique, il y a un manque évident de connaissances sur les caractères en regard des informations très détaillées et précises qui sont disponibles sur les génotypes et leurs expressions tissulaires (transcrits, protéines, et dans une moindre mesure les flux métaboliques).

### 2.2. LES ENJEUX EN BIOLOGIE

D'une façon générale, les recherches ont souvent utilisé des caractères plus faciles à mesurer que les caractères d'intérêt lorsque ceux-ci sont difficiles à appréhender. Ainsi, par exemple, il est maintenant courant d'estimer la tendreté de la viande bovine par la mesure de sa force de cisaillement.

Les approches de phénotypage à haut débit impliquent (i) la définition de nouveaux caractères (prédicteurs des phénotypes d'intérêt) ou de phénotypes complexes comme par exemple la robustesse ou la fertilité, obtenus à partir de l'intégration de données à différents niveaux (gène, tissu, animal, troupeau) (ii) la mise en œuvre des dernières méthodes et technologies à haut débit pour caractériser à moindre coût et le plus précisément possible le plus grand

nombre d'animaux, et (iii) le développement d'importantes bases de données à des fins de synthèse des informations et de modélisation.

Les approches prédictives en biologie se situent à l'interface de la biologie intégrative et de la modélisation. La biologie intégrative fait le lien entre des recherches sur les molécules (ADN, ARN, protéines, métabolites) et celles sur les individus et les populations. La modélisation permet de construire des modèles permettant de représenter et de comprendre des phénomènes biologiques complexes et leurs interrelations. Elle s'appuie sur les progrès des techniques d'analyse à haut débit qui apportent des quantités de données notamment sur les gènes et leur expression en fonction de l'environnement. Grâce à ces nouvelles approches et aux modèles mathématiques, les chercheurs peuvent maintenant explorer les réponses des animaux dans des conditions environnementales variables et développer des outils de prédictions dans des domaines aussi divers que le pilotage des écosystèmes, la croissance des végétaux, le suivi de la distribution spatiale d'espèces animales, la santé des animaux, leur comportement, leur métabolisme et leur production (document scientifique de l'Inra 2010-2020).

## 3. LE PHENOTYPAGE A HAUT DEBIT

### 3.1. DEFINITION

Le phénotypage à haut débit des animaux d'élevage apparaît ainsi comme une nécessité dans le cadre des nouveaux enjeux sociétaux et scientifiques qui doivent être relevés pour la durabilité des productions animales. Il peut être défini comme suit : « méthode de détermination de phénotypes mesurables de façon répétable, automatisable et rapide de sorte que le processus de mesure génère un grand nombre de données ».

Par exemple, la spectrométrie moyen infrarouge (MIR) est une méthode alternative déjà utilisée en routine depuis de nombreuses années pour les mesures de teneurs en protéines et matières grasses des laits. Cette méthode a été perfectionnée pour être utilisée afin de prédire la composition en acides gras des laits des ruminants, après la mise au point d'équations de prédiction à partir des spectres MIR ce qui permet de mieux appréhender les caractéristiques nutritionnelles du produit. Ces phénotypes prédictifs sont alors mis en relation avec le génotype des animaux pour une meilleure connaissance et maîtrise de la composition fine des laits (programme PhénoFinLait). Ce type d'approche est souvent appelé phénotypage horizontal car il correspond à des mesures faciles à mettre en œuvre sur un grand nombre d'animaux.

Le phénotypage vertical correspond à la mesure de plusieurs phénotypes de plus en plus fins concernant une famille de caractères sur peu d'individus mais avec beaucoup de mesures. Ainsi, par exemple, dans le domaine de la qualité de la viande bovine, sont mesurés simultanément les caractéristiques des carcasses (conformation, engraissement), les critères de qualité sensorielle des viandes (tendreté, saveur, jutosité), la composition fine du muscle (type de fibre, teneurs en collagène et en lipides, composition en acides gras) ainsi que l'expression des gènes et des protéines impliqués dans le déterminisme de la qualité de la viande (programme européen ProSafeBeef). Dans le domaine de la reproduction, le phénotypage vertical a permis d'étudier plusieurs événements clés de la fertilité : qualité des gamètes, développement précoce de l'embryon et implantation notamment en fonction des conditions d'élevage (Ponsart *et al.*, 2011). Le phénotypage vertical fait donc potentiellement appel à des techniques complexes comme l'imagerie, la génomique fonctionnelle, la métabolomique, etc.



### 3.2. MÉTHODOLOGIES A DÉVELOPPER

A partir des définitions ci-dessus, il apparaît clairement que le phénotypage à haut débit implique des équipements et des méthodologies générant un grand nombre de données s'appuyant sur des mesures souvent automatisées.

Il est courant de faire une distinction entre les méthodes *ex vivo* pour déterminer les caractères après récolte d'échantillons (ces méthodes étant parfois invasives ou destructives), des mesures *in vivo* (souvent non-invasives) qui présentent l'avantage de permettre un suivi longitudinal au niveau individuel de l'évolution des caractères. Pour les analyses sur échantillons, la problématique du haut débit (correspondant à un nombre important d'analyses réalisables en un temps donné) est moins cruciale car le traitement des échantillons se fait *a posteriori* et les analyses peuvent donc être répétées si la taille de l'échantillon le permet. Pour les mesures *in vivo* ou sur l'organisme entier, la question du haut débit est plus difficile en fonction des contraintes techniques liées aux méthodes utilisées (Dreyer et Gaudin, 2010) et à la nécessité d'assurer des conditions de vie normales aux animaux afin de ne pas biaiser les mesures réalisées.

Parmi les grandes familles de méthodes permettant le haut débit, nous pouvons citer les nombreuses méthodes optiques basées sur des mesures de réflectance ou de transmittance à différentes longueurs d'ondes (visible, IR, voire UV). Dans le domaine végétal, elles peuvent être appliquées au champ ou en milieu contrôlé pour doser par exemple les chlorophylles, ou encore mesurer les températures de surface ou des consommations d'O<sub>2</sub> (Dreyer et Gaudin, 2010). Dans le domaine animal, ces méthodes peuvent être utilisées pour estimer la valeur des aliments (Andueza et al., 2010), la traçabilité de l'alimentation des herbivores à partir de la composition de leurs produits et tissus (Prache et al., 2006), ou encore la couleur de la viande, la composition en acides gras des laits, etc.

Par ailleurs, la conception d'un dispositif de monitoring "multi-capteurs, modulable et intelligent" de l'animal et de son environnement est un enjeu méthodologique fort afin d'obtenir des informations répétées, multiples et de manière non invasive. Aujourd'hui, on peut imaginer d'équiper un animal avec un système embarqué multi-capteurs qui, outre l'identification qui devient courante (puces RFID), reproduirait ses perceptions et assurerait un suivi de nombreux paramètres physiologiques (température, pH du rumen, rythme cardiaque et respiratoire,...) et comportementaux (déplacements, boiteries, œstrus, interactions avec les congénères,...) sans perturber son comportement ni son bien-être. Des systèmes en poste fixe peuvent en complément assurer l'enregistrement automatique d'autres paramètres tels que le poids et la conformation, des mesures de comportement, ou de nombreux paramètres lors de la traite des femelles laitières. Ces mesures font l'objet de recherches continues (Frost et al., 1997).

Toutefois, au delà du signal capté, un champ de recherche multidisciplinaire doit s'ouvrir sur le traitement de l'information et plus particulièrement autour 1) du traitement mathématique du signal (filtrage,...), 2) de l'établissement de mesures de références (éventuellement à faible débit) pour calibrer les méthodes indirectes et 3) de la validation de l'intérêt du cumul d'informations d'origine diverses, notamment entre celles liées aux paramètres biologiques de l'animal et à son comportement.

Parmi les mesures *ex vivo*, certaines techniques visent à quantifier la biomasse (chez les végétaux) et la structure d'individus (architecture des végétaux, morphologie et composition corporelle des animaux). Certaines font appel à des méthodes de microscopie (pour les études au niveau cellulaires) et d'imagerie (de la structure subcellulaire jusqu'au niveau de l'organisme entier). Un des goulots

d'étranglement est certainement l'automatisation de l'analyse d'images.

Les analyses d'échantillons biologiques (sang, urine, fèces, biopsies tissulaires) gagnent également à être automatisées pour être plus rapides et moins onéreuses tout en étant précises, sensibles, fiables et reproductibles rendant les comparaisons possibles entre laboratoires. Les progrès spectaculaires en métabolomique contribuent à atteindre cet objectif. Les études d'expression de gènes et de protéines ont aujourd'hui atteint un niveau de maturité technique permettant de déployer ces approches pour du phénotypage à haut débit.

Toutes les techniques de laboratoire présentent potentiellement la possibilité d'être améliorées pour réaliser du haut débit. Ainsi, par exemple, les techniques histologiques viennent récemment d'évoluer en « tissue array ». Par analogie avec les « DNA array » permettant les études d'expression de gènes, le « tissue array » consiste à construire, à partir de blocs de tissus inclus en paraffine ou congelés, des collections de plusieurs dizaines à plusieurs centaines de carottes de ces tissus réorganisées en nouveaux blocs. Après coupe de ces blocs de « tissue arrays », il est alors possible de monter des lames de microscope comprenant plusieurs dizaines à plusieurs centaines de coupes de tissus. Différentes utilisations sont alors possibles : colorations standards pour des études de morphologie ou de comptage cellulaire, immuno-histochimie, hybridation *in situ*, etc. Le « tissue array » constitue donc un nouvel outil à haut débit et performant pour les travaux de post-génomique et post-protéomique. Il est utilisé notamment en cancérologie (Radhakrishnan et al., 2008).

Toutes ces méthodologies doivent être validées et standardisées pour permettre la comparaison des données entre laboratoires, cet aspect étant devenu plus important avec le nombre élevé de données générées. Les caractéristiques de performances des méthodes d'analyse sont : définition du champ d'application; spécificité; étalonnage (linéarité); justesse; fidélité; gamme de validité; limite de quantification; limite de détection; sensibilité; incertitude de la mesure et robustesse (RESOLUTION OENO 8/2005).

## 4. LA NÉCESSAIRE STANDARDISATION

Dans ce contexte de développement du phénotypage à haut débit, l'obtention d'informations phénotypiques précises, fiables, répétables et comparables entre laboratoires, pays, ou entreprises, est critique pour d'une part, acquérir une bonne compréhension de la relation entre les gènes et les phénotypes, et d'autre part développer un élevage de précision avec des animaux robustes. Jusqu'à présent, il est en effet extrêmement difficile de combiner différentes sources de données phénotypiques elles-mêmes diverses et issues de bases de données d'origines multiples en raison notamment de la variabilité dans les méthodes de phénotypage et l'absence d'information concernant les conditions d'élevage.

### 4.1. EXEMPLES DE TRAVAUX

Pour remédier à ces difficultés, différents programmes ont été développés. Ainsi, par exemple, des mesures standards à mettre en place en ferme commerciale pour estimer douze critères associés au bien-être animal ont été développées en tenant compte de leur pertinence, de leur répétabilité et de leur faisabilité (programme européen Welfare Quality®) (Botreau et al., 2009).

De même, chez le cheval, et suite à la demande de la filière, deux ensembles de tests standardisés ont été développés pour estimer rapidement et objectivement le tempérament du cheval et son aptitude à la selle : les tests

de tempérament et le bilan des acquis et du comportement (Lansade *et al.*, 2010).

Dans le domaine de la qualité de la viande bovine, le programme « Meat Standard Australia » a permis de développer un système de prédiction de la qualité de la viande bovine (Watson *et al.*, 2008). Le système MSA résulte de la constitution et de l'exploitation d'une très importante base de données (plus de 500.000 échantillons), qui est continuellement enrichie, pour une approche qui se veut évolutive. Une telle base de données n'a pu être construite qu'après définition et standardisation des mesures réalisées sur les animaux et la viande. Cette base comprend d'une part, les résultats de dégustations de consommateurs de différents muscles, selon des modes de cuisson variés, et d'autre part, des données sur la construction de la qualité des produits dégustés (animal, carcasse, viande). Ce système est une réelle innovation pour la filière viande (Hocquette *et al.*, 2010). Une autre approche moins onéreuse est de combiner dans une base de données les résultats des nombreuses expériences réalisées à ce jour mais les chercheurs se heurtent dans ce cas à l'absence de standardisation des méthodes d'analyse (Meurice *et al.*, 2008).

## 4.2. UN PRÉ-REQUIS : LES ONTOLOGIES

Pour mener à bien les recherches autour du phénotypage animal à haut débit, il faut pouvoir disposer d'un langage commun avec des définitions partagées et non équivoques des caractères et de leur mode de mesure (Hughes *et al.*, 2008). Pour cela, le programme de phénotypage s'appuiera sur le programme « Animal Trait Ontology of Livestock » (ATOL) développé à l'Inra avec l'« Iowa State University » dont l'objectif est de définir précisément les caractères phénotypiques d'intérêt (Hurtaud *et al.*, 2011).

A ce stade, il est important de rappeler quelques définitions de base :

- Un caractère (ou *trait* en anglais) correspond à une caractéristique simple facilement mesurable. Il peut s'agir du poids de l'animal, de sa composition corporelle, de sa production laitière, etc.
- Est associé à ce caractère un état ou une valeur qui correspond à ce qui est réellement mesuré et qui est associé au phénotype.
- Le phénotype correspond à l'état d'un caractère d'un organisme positionné par rapport à l'ensemble des états de ce caractère rencontrés dans la population animale. On dira par exemple que l'animal est grand (c'est son phénotype) car sa taille (il s'agit du caractère associé) sera plus élevée que la moyenne.

Une ontologie est une représentation formelle et structurée d'un ensemble d'objets (dans le cas présent des caractères des animaux ou encore des mesures), et des relations entre ces objets. Dans une ontologie, les concepts définissant les objets et les relations entre ces concepts sont clairement définis. Les concepts sont organisés de manière structurée (souvent une structure hiérarchique). Le sens d'un terme définissant un objet est utilisé de façon univoque. Les termes utilisés doivent être lisibles par des machines (permettant l'automatisation des mesures ou de l'utilisation de l'information).

Actuellement, les efforts des scientifiques impliqués dans le programme ATOL ont porté sur la définition des caractères et sur l'organisation hiérarchique entre ces caractères. Plus de 1600 caractères ont ainsi été définis concernant l'adaptation et le bien-être animal ( $\approx$  300), la nutrition ( $>$  400), la croissance et la production de viande ( $\approx$  200), la production laitière ( $>$  400) et la reproduction ( $\approx$  300) (Hurtaud *et al.*, 2011). De plus, il est prévu une base de référence des méthodes de mesures associées à ces caractères, ainsi qu'une ontologie des conditions d'élevage. La première a pour objectif de définir avec précision les protocoles de mesures selon des normes

proches de la démarche assurance-qualité, la seconde a pour objet de définir les conditions environnementales des mesures.

## 4.3. AUTRES DEMARCHES DE STANDARDISATION

L'avènement des techniques de génomique générant beaucoup de données avec des expérimentations quelquefois difficiles à reproduire a parfois généré des protocoles standards que les communautés scientifiques ont été invitées à suivre.

Ainsi, par exemple, MIAME (pour « Minimum information about a microarray experiment ») décrit le minimum d'informations indispensables à communiquer concernant une expérience de transcriptomique pour permettre d'une part l'interprétation des résultats de l'expérience avec un minimum d'ambiguïté et d'autre part contribuer à la reproductibilité de l'expérience (Brazma *et al.*, 2001). Plus récemment, certains auteurs ont proposé un MIAPE pour « minimum information about a proteomics experiment » (Taylor *et al.*, 2007). Ce concept a été étendu à des domaines autres que la génomique avec par exemple le MIBBI pour « minimum reporting requirements for biological and biomedical investigations » (Taylor, 2007).

De façon similaire, le MIASE (« Minimum Information About a Simulation Experiment ») décrit le minimum d'informations à communiquer concernant les approches de modélisation. L'application systématique des règles de MIASE devrait permettre de reproduire les études de modélisation et donc d'en vérifier les résultats. Une telle transparence est nécessaire pour évaluer au mieux la qualité d'une activité scientifique. Cela devrait également permettre le partage des méthodes de simulation, la promotion de projets collaboratifs et l'utilisation de modèles (Waltemath *et al.*, 2011).

De nos jours, certaines revues scientifiques font le constat que les données brutes des expérimentations ne sont pas suffisamment accessibles. Dans le domaine médical, l'éditeur *BioMed Central* encourage tout auteur d'un essai clinique publié à le contacter pour discuter de la publication de leur jeu de données afin de les partager avec d'autres scientifiques. Plus précisément, le journal *BMC Research Notes* en appelle à la responsabilité des scientifiques pour promouvoir les meilleures pratiques en matière de normalisation, de partage et de publication des données dans un objectif de biologie prédictive (Hrynaszkiwicz, 2010).

## 5. VERS UNE NOUVELLE ORGANISATION

### 5.1. DÉMARCHE

La mise en place des programmes de phénotypage rendra nécessaire de prioriser les phénotypes d'intérêt et les plus pertinents en fonction de leur finalité (développement d'itinéraires techniques, indexation génomique, etc.) à partir du profil des animaux de demain qui devront être efficaces, robustes, adaptables et productifs comme détaillé ci-dessus. Il sera également nécessaire d'associer des informations concernant l'environnement lié au système d'élevage des animaux phénotypés, ainsi que les méthodes de mesure associées pour appréhender de façon non équivoque les différences phénotypiques entre animaux, d'où l'intérêt de poursuivre la mise en place des ontologies.

De même que le développement des techniques complexes, onéreuses et standardisées de séquençage, transcriptomique, protéomique ou métabolomique ont poussé à l'émergence de plates-formes de génomique, les programmes de phénotypage à haut débit impliquent également la construction d'un réseau coordonné d'infrastructures de recherche (laboratoires, unités expérimentales) ou de développement (fermes expérimentales de la profession, réseaux d'élevage) pourvus d'équipements modernes et adaptés. C'est

pourquoi, deux projets complémentaires sont actuellement en réflexion au niveau français en réponse aux appels d'offre dans le cadre des investissements d'avenir. Le premier projet concerne les structures de recherches associées à quatre centres Inra pour les bovins allaitants (Auvergne), les bovins laitiers et les porcs (Bretagne), la poule pondeuse et le poulet de chair (Tours) et les études de modélisation après la mise en place d'un système d'information pour stocker et utiliser les données (Ile de France). Le second projet concerne les structures professionnelles comme les instituts techniques et les interprofessions.

## 5.2. INFRASTRUCTURES A METTRE EN PLACE POUR LES PRODUCTIONS ANIMALES

La collecte des phénotypes nécessite de mettre en place un réseau de plates-formes de phénotypage appliquées aux productions animales. Ces plates-formes pourront être composées :

1) de stations d'élevage dans les organismes professionnels ou d'unités expérimentales de l'Inra, permettant de rassembler des animaux dans des conditions maîtrisées. Un des enjeux de ces entités sera d'être en mesure de déterminer tous les phénotypes d'intérêt sur les mêmes animaux afin de réaliser véritablement de la biologie intégrative. En effet, la dispersion actuelle des structures de recherche conduit aujourd'hui à mesurer les phénotypes d'intérêt sur des animaux différents en des lieux différents rendant impossible l'analyse de l'interaction entre les fonctions biologiques.

2) d'équipements et de compétences dans les laboratoires de recherches, le plus souvent implantés sur ou à proximité de ces stations, capables de réaliser les mesures sur les animaux et les échantillons provenant des différentes stations du réseau, mais aussi de prélèvements réalisés en ferme, voire dans les chaînes aval des filières (abattoirs, laiteries...) dans le cadre de grands projets de phénotypage. Ces équipements doivent intégrer les avancées technologiques notamment développées dans le secteur de la recherche médicale (imagerie, résonance, puces d'expression...). Le fonctionnement de ces plateformes analytiques devra s'appuyer sur un cahier des charges répondant aux normes de l'assurance qualité.

3) d'infrastructures de transfert et de stockage de données brutes venant des équipements spécifiques (capteurs, dispositifs de pesée, robot d'analyse, etc.) dont ces différentes stations seront équipées. Le principe de ces transferts et stockages de données est de s'intéresser à la donnée la plus brute possible, la plus proche possible du signal produit par l'appareillage, en s'affranchissant des interfaces qui livrent une donnée interprétée, afin de préserver toutes les opportunités d'analyses ultérieures des phénomènes biologiques.

4) d'un moteur de balayage des grandes bases de données zootechniques qui devront être partagées et qui seront produites par des dispositifs collectifs de repérage et d'extraction automatique des individus exprimant des phénotypes extrêmes, si possible apparentés avec des congénères présentant les mêmes « déviances » phénotypiques (caractère familial). Un tel dispositif de veille et de surveillance des bases de données collectives permettrait de repérer rapidement des animaux intéressants (avant leur disparition) et de prélever des échantillons biologiques nécessaires aux études de génomique, transcriptomique protéomique ou métabolomique.

5) des centres de conservation de produits biologiques (viande, lait, sang, tissus divers...) : il s'agit de disposer dans ce réseau d'un support de centres de ressources assurant la traçabilité des phénotypes et permettant de revenir sur un échantillon biologique pour l'analyser avec une technologie nouvelle qui n'existait pas

quand l'échantillon avait été prélevé. Le fonctionnement de ces collections devra répondre au cahier des charges défini par le GIS IBISA pour les Centres de Ressources Biologiques.

## 5.3. EXEMPLES DE PROJETS OU D'INFRASTRUCTURES DE PHÉNOTYPAGE À HAUT DÉBIT

Des premiers projets de taille importante ont déjà démarré en France. C'est notamment le cas du projet QUALVIGENE. Ce projet intitulé "Détection et validation de gènes impliqués dans les qualités de la viande bovine dans les 3 principales races à viande en France" a été mis en place en 2003 par l'Inra, l'UNCEIA, l'Institut de l'Élevage et les Unités de Sélection. Son objectif était de constituer un puissant outil d'analyse du déterminisme génétique des qualités de la viande indispensable au développement de méthodes de sélection basées sur des informations moléculaires. Il a notamment permis la création d'une banque de données phénotypiques pour plus de 3000 animaux selon des protocoles standardisés à partir de l'utilisation durant trois années du dispositif de contrôle sur descendance des aptitudes bouchères sur jeunes bovins en races Charolaise (33,3%), Limousine (37,4%) et Blonde d'Aquitaine (29,3%) (Payet *et al.*, 2006). Dans le domaine de la reproduction, un échantillon de 3500 femelles Prim Holstein ont été suivies au cours du premier tiers de gestation, afin de phénotyper les échecs de gestation (Ledoux *et al.*, 3R 2011).

Coordonné par l'Inra et lancé le 1er mars 2011, le projet européen AQUAEXCEL ('Aquaculture Infrastructures for Excellence in European Fish Research') a pour objectif de mettre en place une nouvelle plateforme européenne d'excellence pour la recherche et l'expérimentation aquacole. L'objectif global est de permettre l'innovation pour développer une production aquacole de haute qualité et à faible impact environnemental. AQUAEXCEL est conduit par une équipe interdisciplinaire d'experts en nutrition des poissons, physiologie, santé et bien-être, génétique, instrumentation et ingénierie aquacole et il s'appuie sur l'ontologie ATOL. Il mettra en réseau les meilleures infrastructures de recherche aquacole européennes (17 partenaires, 11 pays), couvrant l'ensemble des systèmes de production, des environnements, des espèces, des expertises scientifiques et des champs disciplinaires ([http://www.inra.fr/presse/lancement\\_projet\\_europeen\\_aquaexcel](http://www.inra.fr/presse/lancement_projet_europeen_aquaexcel)).

Le projet PHENOFINLAIT a démarré en 2008 et rassemble l'ensemble des acteurs de la filière lait. Son objectif est de caractériser la composition fine du lait (acides gras, fractions protéiques) en vue d'identifier et quantifier les facteurs d'influence et leurs interactions : alimentation, variabilité génétique, détection de QTL et lien avec des gènes majeurs. Les attendus de ce programme sont triples : 1) mettre en œuvre des méthodes de phénotypage à haut débit et « phénotyper » une très large population de ruminants, 2) jeter les bases de l'amélioration génétique de ces caractères (introduction dans un programme de sélection génomique), 3) proposer un modèle pour enrichir le conseil en élevage à partir de l'obtention en routine des profils en acides gras (notamment) du lait. Au total 12000 vaches, 4000 brebis et 4000 chèvres représentant 7 races différentes, 1500 élevages et 26 départements ont été phénotypés à partir de prélèvements de lait à raison de 4 à 6 fois par lactation. En parallèle des échantillons de sang (génotypage) et de lait (études complémentaires) seront prélevés et stockés.

De tels projets émergent également à l'étranger. Un projet d'envergure est en cours au Canada. Il est intitulé "Application of next generation genomic tools in Beef: Addressing the Phenomic Gap". Son objectif est de collecter un grand nombre d'informations (pédigrée,



performance, caractéristiques de la carcasse, qualité de la viande, analyse sensorielle...) de 2000 animaux.

Un projet comparable sur 8000 bovins est en cours aux USA. Son objectif est de rassembler des données génotypiques et phénotypiques afin d'améliorer l'efficacité alimentaire, la composition corporelle et réduire l'émission des gaz à effet de serre (<http://www.beefefficiency.org>).

En Allemagne, le projet PHENOMICS a démarré en mai 2010. Il s'agit d'un réseau de stations animales qui réunit des compétences concernant l'analyse fonctionnelle des génomes, les sciences vétérinaires, la génétique des animaux de ferme, la biologie du comportement animal, l'élevage, la bioinformatique et les biomathématiques. Le réseau est coordonné par la Faculté des sciences agricoles et environnementales de l'université de Rostock et comprend 19 partenaires de 7 universités allemandes et deux institutions de recherche extra-universitaires <http://www.phaenomics.auf.uni-rostock.de/en-home.html>

#### 5.4. INFRASTRUCTURES EXISTANTES DANS D'AUTRES DOMAINES

Les projets de plates-formes de phénotypage à haut débit concernent pour le moment principalement les modèles végétaux. De telles plates-formes sont généralement basées sur le transport de centaines de plantes par des convoyeurs vers des stations de mesure permettant l'irrigation et le suivi de croissance et de propriétés physiologiques par des mesures optiques. La mise en place d'un réseau de telles plates-formes est un enjeu important à l'échelle européenne (voir: EPSO: Workshop on Plant Phenotyping, November 2009; <http://www.plantphenomics.com/phenotyping2009>).

Dans le domaine animal, les plates-formes de phénotypage ont surtout été développées pour les animaux modèles et sont regroupées en France dans le réseau CELPHEDIA (Création, Elevage, PHénotypage, DIstribution et Archivage de modèles animaux vertébrés) qui développe des approches technologiques innovantes et standardisées visant à accélérer la compréhension du génome et l'obtention de modèles de maladies humaines chez l'animal (<http://www.celphedia.eu/>).

Par ailleurs, il existe de nombreuses petites ou moyennes structures qui possèdent généralement un atelier de transgénése adossé à une animalerie "rongeurs" dans les centres de recherche en France. Toutes ces animaleries, plates-formes et plateaux de transgénése sont regroupés dans un réseau des « centres de transgénése » coordonné par l'INSERM et inclus dans le réseau IBISA.

Au niveau international, un réseau de plates-formes de phénotypage à haut débit de souris mutantes permet de générer des modèles de maladies humaines. L'organisation mondiale de production de cellules souches embryonnaires (cellules ES) mutantes offre maintenant la possibilité de générer des séries de mutations ciblées dans presque n'importe quel gène et inductibles de façon spatio-temporelle. Le potentiel de cette ressource trouve sa pleine efficacité lorsque les plates-formes qui génèrent les souris mutantes sont associées à des centres de phénotypage capables de disséquer le rôle de chacun des gènes. Pour répondre à cet enjeu, plusieurs initiatives internationales se sont structurées pour standardiser les tests fonctionnels. En Europe, le programme Européen EUMORPHIA, [www.eumorphia.org](http://www.eumorphia.org)) a créé une base de données EMPReSS qui a établi 150 nouvelles procédures opératoires pour couvrir toutes les grandes fonctions physiologiques, ainsi que les pathologies. Cette famille de procédure est ensuite utilisée dans des cribles de phénotypage à haut débit.

Un programme de phénotypage est en train de démarrer dans le cadre de l'«International Mouse Phenotyping Consortium» (IMPC) afin de produire la première analyse fonctionnelle compréhensive standardisée et systématique de l'ensemble des gènes chez la souris. L'insertion de

plusieurs dispositifs dans le cadre de l'IMPC va faciliter la comparaison des données entre les différents laboratoires, avec comme objectif de réduire les sources de variabilité expérimentales et le coût de la recherche sans réduire pour autant son efficacité (voire même en l'augmentant). Plus important encore, l'utilisation de protocoles validés permettra également de réduire le nombre d'animaux utilisés dans la recherche. La disponibilité de criblages standardisés associés à des structures et des outils informatiques puissants seront des éléments essentiels pour étayer une méthode systématique et rationnelle de la caractérisation phénotypique des individus. L'initiative européenne Eumodic (programme Européen intitulé « European Mouse disease clinic », [www.eumodic.org](http://www.eumodic.org)) s'insère pleinement dans ce domaine.

A travers ces quelques exemples, il apparaît que l'organisation de la recherche en biologie se modifie de façon profonde en favorisant la mutualisation des moyens et la mise en place d'infrastructures avec des méthodes standardisées et partagées. Alors que cette tendance se développe dans le domaine végétal ou médical, cela reste à faire dans le domaine des animaux d'élevage.

Nous pouvons nous inspirer des infrastructures qui se sont développées pour les animaux modèles (rongeurs de laboratoire) pour développer des infrastructures pour nos espèces agronomiques. Toutefois, les gènes d'intérêt pour nos animaux d'élevage seront sûrement différents de ceux étudiés chez la souris et chez l'homme (Liao et Zhang, 2008), d'où la nécessité de développer nos propres infrastructures.

Ainsi, l'ampleur des défis à résoudre afin de générer des données utiles, complètes et normalisées pour la caractérisation des phénotypes nécessite des actions de grande envergure. Le modèle qui émerge est basé sur des plates-formes d'excellence spécialisées dans une fonction physiologique donnée afin d'être efficace et d'opérer des économies d'échelle. Un modèle en réseau de centres intégrés et de nœuds de spécialistes offre de tels gains d'efficacité mais requiert une gestion de projet solide et des capacités informatiques suffisantes pour le partage et l'exploitation des données. En France, plusieurs plates-formes spécialisées ont été créées et s'insèrent dans cette démarche (<http://www.ibisa.net/>).

#### CONCLUSION

Alors que le phénotypage à haut débit s'est bien développé ces dernières années pour les végétaux et les rongeurs de laboratoire principalement, le phénotypage à haut débit des animaux de ferme en est encore à ses balbutiements et ne dispose pas encore de plateaux techniques clairement identifiés (à quelques exceptions près).

La mise en place d'infrastructures de recherche pour le phénotypage ouvre un large spectre de questions allant des réflexions amont sur les critères à mesurer, les méthodes et outils de mesure, la modernisation des sites expérimentaux capables de réaliser ces mesures, etc. jusqu'à l'acquisition, le stockage, la gestion, le partage et l'analyse des données mesurées.

**Andueza D., Picard F., Jestin M., Andrieu J., Baumont, R. 2011. *Animal*, 5, 1002-1013.**

**Barendse W. 2011. *BMC Genomics* 12, 232**

**Botreau R., Veissier I., Perny P. 2009. *Anim. Welfare* 18(Sp. Iss. SI):363-370.**

**Brazma A., Hingamp P., Quackenbush J., Sherlock G., Spellman P., Stoeckert C., Aach J., Ansorge W., Ball C.A., Causton H.C., Gaasterland T., Glenisson P., Holstege F.C.P., Kim I.F., Markowitz V., Matise J.C., Parkinson H., Robinson A., Sarkans U., Schulze-Kremer S., Stewart J., Taylor R., Vilo J., Vingron M. 2001. *Nat. Gen.*, 29, 365-371.**

**Dreyer E., Gaudin P. 2010. <http://www.inra.fr/efpa/internet/SeminaireEFPA2010/Resumes/LephenotypagedansEFPAV3.pdf>**

- FABRE, 2006.** Sustainable Farm Animal Breeding and Reproduction – A Vision for 2025. 30 pages.
- Faucon F., Barillet F., Boichard D., Brunschwig P., Duhem K., Ferrand M., Fritz S., Gastinel P.L., Journaux L., Lagriffoul G., Larroque H., Lecomte C., Leray O., Leverrier S., Martin P., Mattalia S., Palhière I., Peyraud J.L., Brochard M.** *Book of Abstracts of the 61<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Heraklion 2010*, p. 19.
- Ferrand M., Huquet B., Aurel MR., Barbey S., Barrillet F., Bouvier F., Brochard M., Brunschwig Ph., Duhem K., Faucon F., Gueldry D., Larroque H., Lautier G., Leray I., Leverrier S., Palhière I., Peyraud J.L., 2009.** *Renc. Rech. Ruminants*, 16, 169.
- Friggens N., Sauvant D., Martin O., 2010.** *Inra Prod. Anim.*, 23, 43-52
- Frost AR., Schofield C.P., Beulah S.A., Mottram T.T., Lines J.A., Wathes C.M. 1997.** *Comput. Electron. Agr.*, 17, 139-159.
- Herpin P., 2009.** *Cah. Agric.*, 18, Number 1, 5-6, Éditorial.
- Hocquette J.F., David V., Capel C., Gastinel P.L., Le Bail P.Y., Ponsart C., Brochard M., Monget P., Mormède P., Peyraud J.L. 2011.** *Conférence au Space, 15/09/2011.*
- Hocquette J.F., Legrand I., Jurie C., Pethick D.W., Micol D. 2011.** *Anim. Prod. Sci.*, 51, 30–36.
- Hrynaszkiewicz I.** *BMC Research Notes* 2010, 3:235.
- Hughes L. M., Bao J., Hu Z.-L., Honavar V., Reecy J. M. 2008.** *J. Anim. Sci.*, 86, 1485-1491.
- Hurtaud C., Bugeon J., Dameron O., Fatet A., Hue I., Meunier-Salaün M.C., Reichstadt M., Valancogne A., Vernet J., Reecy J., Park C., Le Bail P.Y. 2011.** ATOL: a new ontology for livestock. *General Assembly and annual workshop of ICAR 2011*. Bourg-en-Bresse, France, June 22<sup>nd</sup> to 24<sup>th</sup> 2011.
- Lansade L., Dubois C., Gillot A., Delfosse A., Le Bon M., Roche H., Yvon J.M., Foisnel S., Rizo S., Menard C., Baumgartner M., Vidament M., 2010.** 36<sup>eme</sup> journées de la recherche équine, 177-185.
- Ledoux D., Gatien J., Grimard B, Deloche M.C., Fritz S., Lefebvre R., Humblot P., Ponsart C. 2011.** *Renc. Rech. Ruminants*, soumis pour publication.
- Liao B.-Y., Zhang J., 2008.** *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 105, 6987-6992.
- Meurice P., Brun J.P., Jurie C., Picard B., Nute G.R., Hocquette J.F., 2008.** Meta-analysis of beef sensory quality. *Book of Abstracts of the 59th Annual meeting of the European Association for Animal Production, Vilnius 2008*, Page 162.
- Monget P, le Bail P Y, 2009.** *Renc. Rech. Ruminants* 16 : 407-409.
- Mormède P., Foury A., Terenina E., Knap P.2010.** *Animal*, 5, 651-657.
- Payet N., Malafosse A., Renand G., Ménissier F., Hocquette J.F., Lepetit J., Rousset S., Denoyelle C., Journaux L., Dodelin V., Levézuel H. 2006.** *Renc. Rech. Ruminants*, 2006, 13, 264
- Ponsart C., Dalbies-Tran R., Hue I., Druart X., Duranthon V., Dupont J., Jammes H., Uzbekova S., Nuttinck F., Charpigny G., Joly C., Leguienne B., Salvetti P., Capitan A., Grimard B., Humblot P., Sandra O., Mermillod P. 2011.** *Renc. Rech. Ruminants*, soumis pour publication.
- Prache S., Martin B., Nozière P., Engel E., Besle J.M., Ferlay A., Micol D., Cornu A., Cassar-Malek I., Andueza D., 2006.** *Renc. Rech. Ruminants*, 13, 175-182.
- Radhakrishnan R., Solomon M., Satyamoorthy K., Martin L.E., Mark W. Lingen M.W., 2008.** *J. Oral Pathol. Med.* 37, 166–176
- Reecy J.M., Park C.A., Hu Z.-L., Hulsegge I., Van Der Steen H., Hocquette J.F., 2009.** *Book of Abstracts of the 60<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Barcelona 2009*, p. 319. .
- Resolution Oeno 8/2005.** [http://news.reseau-concept.net/images/oiv/Client/Resolution\\_Oeno\\_FR\\_2005\\_08.pdf](http://news.reseau-concept.net/images/oiv/Client/Resolution_Oeno_FR_2005_08.pdf)
- Scollan N.D., Greenwood P.L., Newbold C.J., Yáñez Ruiz D.R., Shingfield K.J., Wallace R.J., Hocquette J.F., 2011.** *Anim. Prod. Sci.*, 51, 1–5.
- Reynolds C.K., Crompton L.A., Mills J.A.N. 2011.** *Anim. Prod. Sci.*, 6–12.
- doi:10.1071/AN10160**Taylor C.F., Paton N.W., Lilley K.S., Binz P.-A., Julian Jr R.K., Jones A.R., Zhu W., Apweiler R., Abersold R., Deutsch E.W., Dunn M.J., Heck A. J.R., Leitner A., Macht M., Mann M., Martens L., Neubert T.A., Patterson S.D., Ping P., Seymour S.L., Souda P., Tsugita A., Vandekerckhove J., Vondriska T.M., Whitelegge J.P., Wilkins M.R., Xenarios I., Yates III J.R., Hermjakob H. 2007. *Nat. Biotechnol.*, 25, 887-893.
- Taylor, C.F. 2007.** *Drug Discovery Today*, 12, 13/14, 527-533.
- Waltemath D. Adams R., Beard D.A., Bergmann F.T., Bhalla U.S., Britten R., Chelliah V., Cooling M.T., Cooper J., Crampin E.J., Garry A., Hoops S., Hucka M., Hunter P., Klipp E., Laibe C., Miller A.K., Moraru I., Nickerson D., Nielsen P., Nikolski M., Sahle S., Sauro H.M., Schmidt H., Snoep J.L., Tolle D., Wolkenhauer O., Le Novère N. 2011.** *PLoS Comput. Biol.*, 7, e1001122.
- Watson R., Polkinghorne R., Thompson J.M. 2008.** *Aust. J. Exp. Agric.*, 48, 1368–1379.