



Centre de référence en agriculture
et agroalimentaire du Québec

Comité bovins laitiers

31^e Symposium sur les bovins laitiers « *Repenser nos modèles* »

Jeudi 15 novembre 2007

La génomique, que peut-elle faire pour le producteur laitier?

D^r Jacques CHESNAIS, Ph.D.
Généticien principal

L'Alliance Semex
Nepean, Ontario

Conférence préparée avec la collaboration de :

Nicolas CARON, généticien
L'Alliance Semex, Saint-Hyacinthe

Note : Cette conférence a été présentée lors de l'événement et a été
publiée dans le cahier des conférences.

Pour commander le cahier des conférences, consultez
[le catalogue des publications du CRAAQ](#)



La génomique : que peut-elle faire pour le producteur laitier?

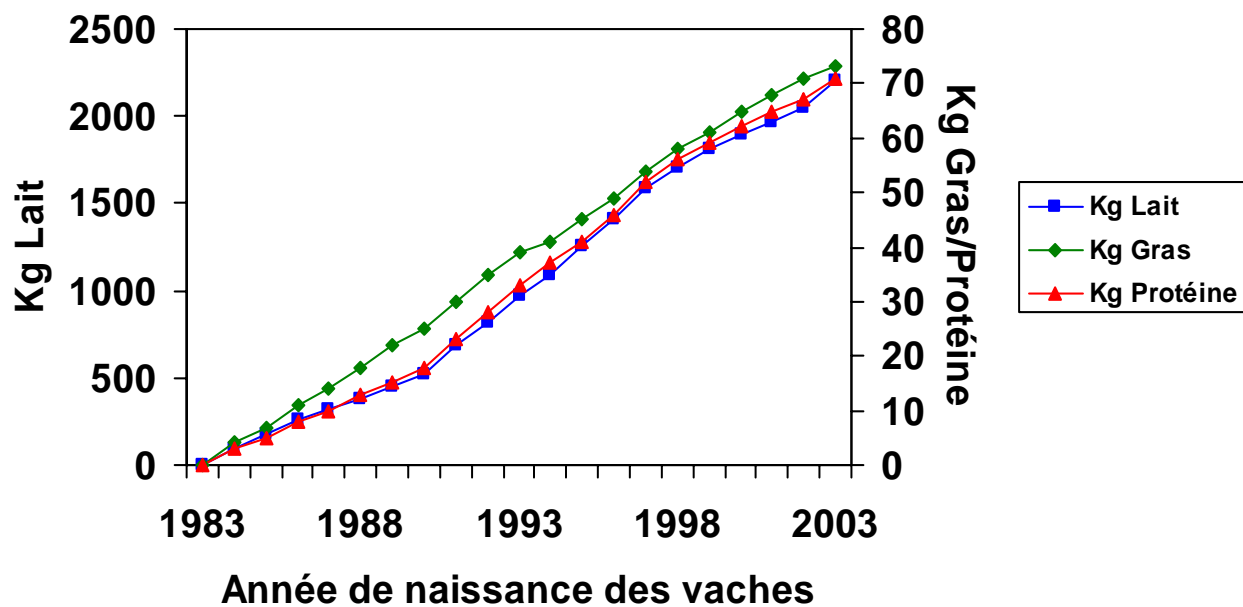
1. INTRODUCTION

1.1 Le contexte de la sélection

Au cours des 20 dernières années, l'amélioration génétique a été responsable de progrès considérables dans la productivité des bovins laitiers au Canada. Dans la race Holstein, elle a permis à elle seule un accroissement de 2200 kg de lait, 73 kg de gras et 71 kg de protéine par lactation entre 1983 et 2003 (figure 1). Des progrès importants ont aussi été réalisés dans le domaine de la conformation, puisque le système mammaire s'est amélioré de 10 points, les pieds et membres de 4 points, la puissance laitière de 9 points et la conformation globale de 11 points (figure 2). Bien que les augmentations de production soient généralement associées à une baisse de fertilité, il semble qu'au Canada on a obtenu ces résultats sans abaisser notablement la capacité génétique des vaches pour ce caractère. L'amélioration génétique constitue maintenant le cheval de bataille des gains de productivité des bovins laitiers. Au cours des vingt dernières années, elle était à l'origine de 61 % et 67 % des gains totaux réalisés pour le rendement en gras et en protéine en race Holstein, respectivement. Au cours des dix dernières années, elle en expliquait 80 % et 87 % (Chesnais, 2006). Les progrès réalisés dans les autres races étaient légèrement inférieurs mais néanmoins très élevés. Les facteurs qui ont permis le succès de l'amélioration génétique au Canada incluent des programmes rigoureux d'identification, de collecte des données, d'évaluation génétique, de sélection des pères et mères de taureaux, et de testage des jeunes taureaux. L'engouement des producteurs pour utiliser la semence des meilleurs taureaux a aussi bien sûr été un facteur déterminant, ainsi que le choix d'objectifs de sélection stables et éclairés.

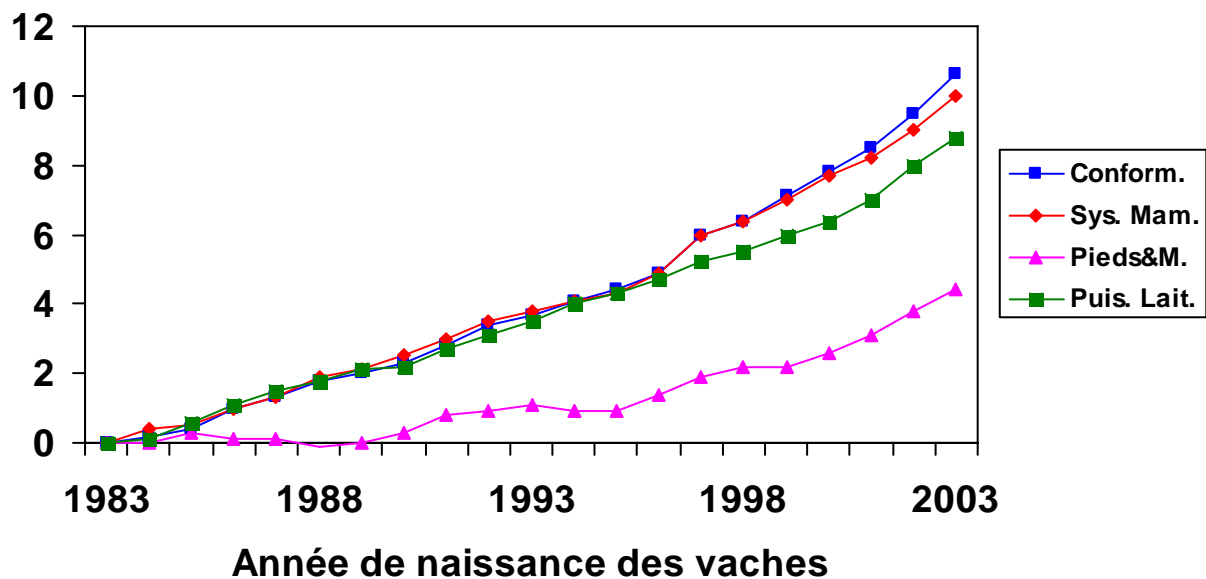
Cependant, il reste encore de nombreux défis. La sélection pour la production a un effet négatif sur la reproduction et la santé. Il va donc falloir sélectionner davantage sur ces caractères pour les maintenir à leur état actuel ou même pour les améliorer. Un autre défi consiste à limiter le déclin de la variabilité génétique dans les races sélectionnées. L'utilisation systématique des géniteurs de pointe conduit en effet à une augmentation progressive de la consanguinité. Celle-ci pourrait affecter en premier lieu la fertilité et la santé, les mêmes caractères pour lesquels on souhaite accroître l'effort de sélection.

La génomique est un nouvel outil qui a le potentiel de mieux faire face à ces défis et aussi d'accélérer les progrès réalisables pour tous les caractères sélectionnés actuellement. Cependant, il reste encore beaucoup à faire afin que ce potentiel soit réalisé.



Source : RLC

Figure 1. Tendances génétiques pour les vaches Holstein au Canada de 1983 à 2003 : production.



Source : CDN

Figure 2. Tendances génétiques pour les vaches Holstein au Canada de 1983 à 2003 : conformation.

1.2 Qu'est-ce que la génomique?

Tandis que la génétique quantitative traditionnelle s'intéresse à la transmission des caractères exprimés par les individus (leur phénotype), la génomique concerne l'étude des molécules d'ADN portées par chaque individu (leur génotype ou génome). Ces molécules, contenues dans les chromosomes de chaque cellule, contiennent les gènes et contrôlent les différences génétiques entre individus (tableau 1). La génomique est une science relativement nouvelle. La structure de l'ADN a été découverte en 1955, et le code génétique, c'est-à-dire comment l'ordre des molécules d'ADN contrôle la fabrication des protéines, en 1968. Depuis, la connaissance du génome a fait de grands pas, grâce en particulier aux progrès réalisés dans le domaine de l'extraction et de la réplication de l'ADN, et du déchiffrement de sa séquence (génotypage).

Tableau 1. Génomes de différentes espèces

Espèce	N ^{bre} bases	N ^{bre} gènes	N ^{bre} chromosomes
Humain	3 milliards	30 000	46
Bovin	3 milliards	30 000	60
Souris	2,5 milliards	30 000	40
Plante*	125 millions	25 500	10
E. coli	5 millions	3 200	1

* Arabidopsis

1.3 Chromosomes, ADN et gènes

Toutes les cellules d'un être vivant, sauf celles qui comme les globules rouges ont perdu leur noyau, contiennent des chromosomes (figure 3). Chez les bovins, il y a trente paires de chromosomes. Les chromosomes sont formés d'un support protéique et d'une double chaîne extrêmement longue de molécules d'acide désoxyribonucléique (ADN) appelées nucléotides. Il existe quatre types de nucléotides, représentés habituellement par les lettres G, C, A et T que l'on retrouve chez tous les êtres vivants de la planète. C'est la nature et l'ordre de ces nucléotides le long de la chaîne d'ADN qui constitue la recette de la vie, c'est-à-dire les instructions servant à bâtir et à faire fonctionner chaque individu. Dans les parties de l'ADN qui correspondent à des gènes, l'agencement des nucléotides contrôle par l'intermédiaire d'autres molécules, les ARN messagers, la fabrication des protéines (figure 4). Celles-ci, à leur tour, contrôlent toutes les activités nécessaires à la vie. L'environnement de chaque cellule, et son histoire, activent la « lecture » de certains gènes seulement. Une cellule du cerveau, par exemple, n'activera que les gènes nécessaires au cerveau, même si elle contient dans ses chromosomes le message génétique pour tous les différents organes. Ce dernier point a des conséquences importantes en génomique. Il suffit d'un échantillon de poil, de sang ou de sperme, par exemple, pour avoir accès à l'ensemble du code génétique d'un individu et de le « génotyper ». L'ADN et la recette de la vie qu'il contient sont transmis de génération en génération, à travers les spermatozoïdes et les ovules dans le cas de la reproduction sexuelle, et constituent donc la base de l'hérédité.

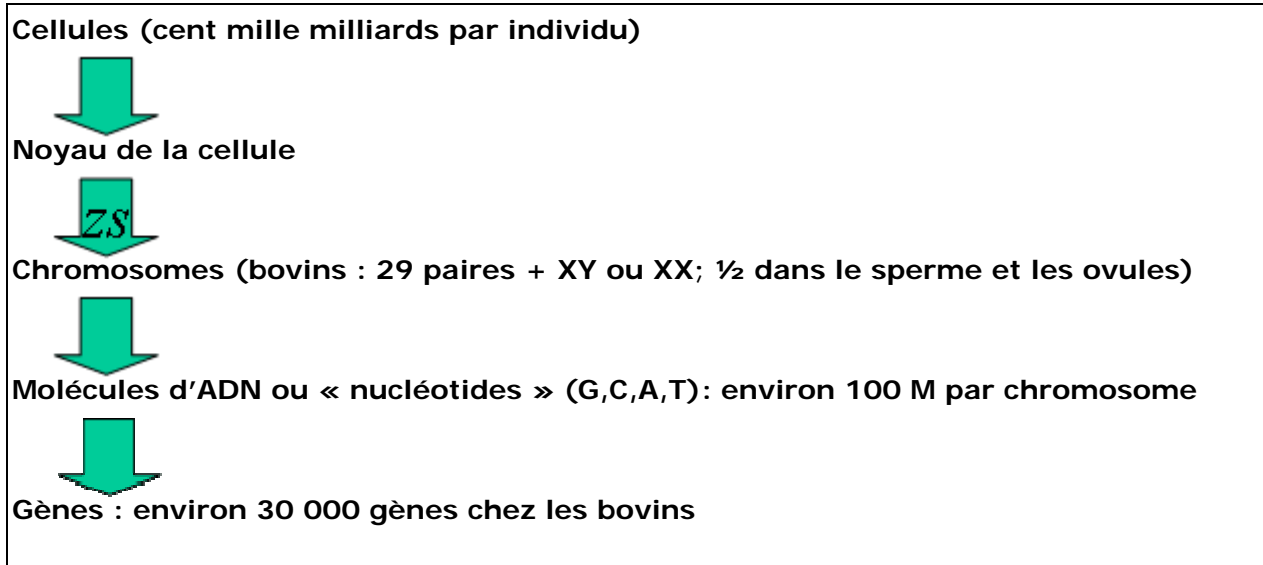


Figure 3. Chromosomes, ADN et gènes

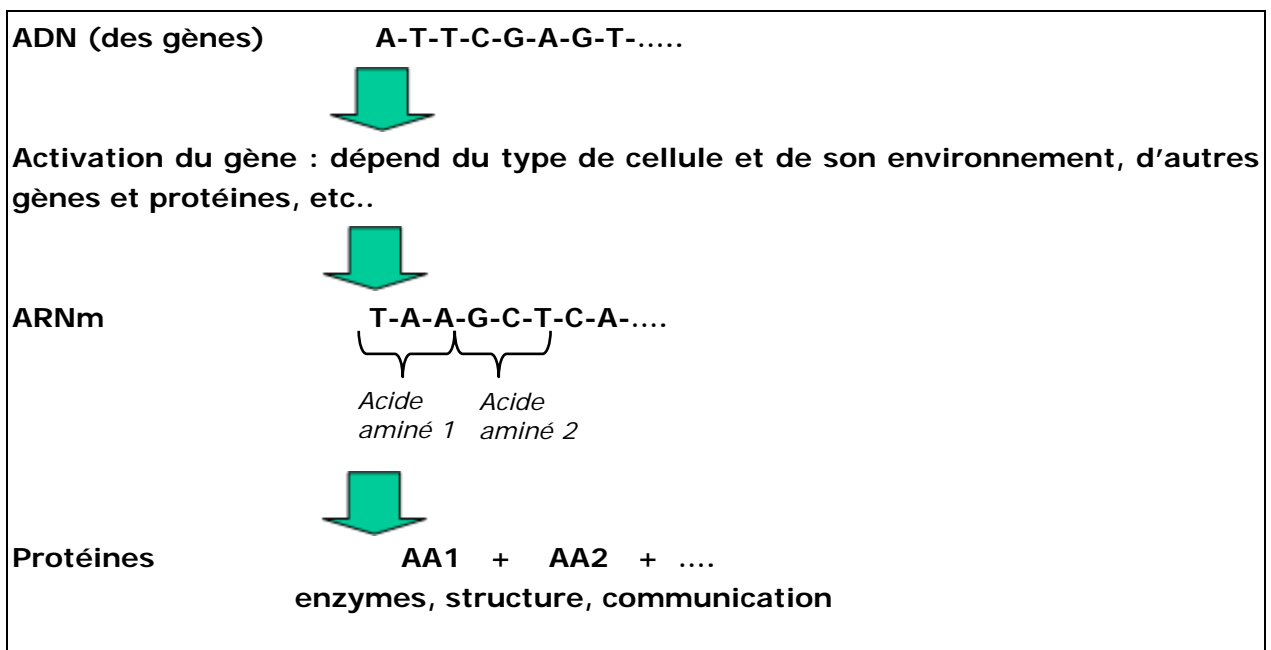


Figure 4. De l'ADN aux protéines

1.4 Cause des différences génétiques entre individus

Les variations de la séquence d'ADN sont la cause des différences génétiques entre individus. Le plus souvent, à un endroit spécifique du même chromosome, on peut trouver un seul nucléotide qui diffère selon les individus (G au lieu de C, par exemple). Ce type de variation est appelé simple nucléotide polymorphique ou SNP (prononcer « snip »). On trouve des SNP dans les gènes, la partie de l'ADN qui code les protéines, mais aussi dans le reste de l'ADN, qui est parfois impliqué dans la régulation des gènes. Chez les humains, sur les trois milliards de nucléotides du génome, on estime qu'il y a environ 10 millions de SNP avec une fréquence supérieure à 1 %. Beaucoup de SNP n'ont aucun effet, mais les autres expliquent la plupart des différences génétiques entre individus d'une même espèce. On ignore encore combien il existe de SNP chez les bovins, mais il y en a probablement moins que chez les humains car la sélection a pour effet de diminuer la variabilité génétique et de réduire le nombre de SNP. La variation du nombre de copies d'un gène est un autre type de différence entre individus que l'on a découvert récemment. Pour une proportion de gènes assez élevée, un petit pourcentage d'individus (généralement moins de 1 %) peuvent avoir plus d'une copie du même gène. L'effet de ce type de variation est encore mal connu. Il existe d'autres types de variations possibles, y compris celles qui impliquent des morceaux entiers de chromosomes (ex. : translocations), mais en fin de compte, le consensus actuel est que les SNP expliquent la plus grande partie des différences génétiques entre individus. Les SNP sont dus à des mutations, c'est-à-dire des changements accidentels de nucléotides dans l'ADN. Ces mutations sont le plus souvent néfastes, car elles interfèrent avec la production normale des protéines ou la régulation des gènes. Dans certains cas, elles correspondent cependant à une meilleure adaptation de l'individu à son environnement. Quand c'est le cas et qu'elles sont transmises aux générations futures, elles permettent ainsi l'évolution des espèces.

1.5 Le génotypage

Le génotypage consiste à déterminer, à partir d'un échantillon d'ADN, les nucléotides ou groupe de nucléotides qu'un animal possède à un emplacement précis de ses chromosomes où l'on sait qu'il existe une variation génétique. Chez les mammifères, chaque individu possède deux exemplaires de chaque chromosome (un paternel et l'autre maternel). Pour un SNP, on dira donc qu'un animal a le génotype AG s'il possède les nucléotides A sur un chromosome et G sur l'autre. Un autre animal pourrait avoir le génotype CG, par exemple. Grâce à l'avancement des méthodes de génotypage, on peut maintenant génotyper un animal pour de nombreux SNP à la fois, par exemple 10 000 ou 250 000. Par comparaison, le testage actuel de parenté chez les bovins laitiers est effectué grâce au génotypage des sujets pour 12 marqueurs de type microsatellite, le type de marqueurs privilégié avant l'arrivée des SNP.

1.6 État des connaissances

Pendant de nombreuses années, les génomistes ont prédit que leur nouvelle science, la génomique, allait révolutionner l'amélioration génétique des animaux et des plantes. En effet, si l'on sait quels SNP un animal possède et quels effets ces SNP ont sur différents caractères, il n'est alors plus nécessaire d'attendre que l'animal obtienne sa propre performance ou soit testé sur descendance pour le sélectionner. Il suffit alors de collecter un échantillon d'ADN à la naissance ou même chez un embryon, d'analyser cet échantillon, et de ne retenir que les sujets qui présentent les meilleurs SNP comme parents pour les générations futures. La collecte de données pour les caractères de production, de conformation, de santé et de fertilité n'est plus alors nécessaire que pour vérifier de temps à autre que la sélection génomique fonctionne bien, et pour entreprendre des recherches.

Malheureusement, ou heureusement selon le point de vue adopté, la vie n'est pas si simple. Le génome d'un animal comme une vache est extrêmement complexe. Il est codé par plus de trois milliards de molécules d'ADN comme chez les humains. Nous n'avons d'information que sur un très petit nombre des 20 000 à 30 000 gènes qu'il contient, et des SNP qui modifient ces gènes. Nous en savons encore moins sur la façon dont ces gènes interagissent les uns avec les autres ou réagissent avec les molécules présentes dans la cellule. D'autre part, l'ADN n'est pas uniquement formé de gènes. Les gènes ne constituent que 2 à 3 % de l'ADN des mammifères. La fonction exercée par les 97 à 98 % de l'ADN restant est encore très mal connue, mais on sait déjà qu'il contient des éléments qui interviennent dans la régulation des gènes, c'est-à-dire dans leur activation ou inactivation, ou même pour contrôler le niveau d'expression des protéines codées par les gènes. À cause de cette extraordinaire complexité, nous sommes très loin de comprendre comment le génome fonctionne, et cette compréhension risque de prendre des décennies. Cependant, il n'est pas toujours nécessaire de tout comprendre pour développer des applications pratiques. On peut donc s'attendre dès les prochaines années à ce que la génomique exerce un impact de plus en plus important dans la sélection des bovins laitiers.

2. LE POTENTIEL DE LA GÉNOMIQUE

La génomique peut avoir de nombreuses applications. Théoriquement, elle peut servir à la création d'animaux transgéniques, au contrôle de parenté, à la traçabilité des animaux, à la détection de gènes simples et à la sélection pour des caractères économiquement importants.

2.1 Création d'animaux transgéniques

L'insertion de gènes d'une espèce dans une autre est maintenant réalisée de façon courante chez les plantes (ex. : céréales OGM) et est également possible chez les animaux.

Par exemple, aux États-Unis, des chercheurs de l'USDA ont transféré en 2001 le gène d'une bactérie non pathogène dans une vache Jersey. Ce gène produit une protéine, la lysostaphine, qui tue le *Staphylococcus aureus*, une bactérie responsable d'environ 30 % des cas de mammites. Les vaches portant ce gène possédaient une résistance accrue au *Staphylococcus aureus*. Cependant, la nouvelle protéine antimicrobienne doit être présente dans le lait pour être efficace, ce qui soulève bien des questions. La nouvelle protéine a-t-elle d'autres effets sur les vaches et les veaux? Est-elle saine pour les consommateurs? Quelle serait la réaction de ces derniers à un lait transgénique, alors que le lait a toujours été présenté comme un produit naturel qui n'est pas été génétiquement modifié?

En réalité, la création d'animaux transgéniques n'est pas une direction vers laquelle le secteur se dirige actuellement au Canada. La technique est difficile à intégrer à un programme de sélection, extrêmement coûteuse et la perception du public est négative. Des sujets transgéniques pourraient éventuellement être utilisés pour produire certains produits pharmaceutiques dans le lait, lesquels seraient extraits et commercialisés. Cependant, pour la production laitière, il est bien plus probable que l'industrie utilisera la génomique uniquement comme outil de sélection. Dans ce cas, il ne s'agit pas d'introduire des gènes d'une espèce dans une autre, mais plutôt d'utiliser les connaissances acquises en génomique pour tirer le meilleur parti des variations génétiques qui existent à l'état naturel dans nos races laitières.

2.2 Contrôle de parenté

L'ADN est déjà utilisé par les associations de race et les centres d'insémination artificielle pour le contrôle de parenté des reproducteurs. Si la collecte de l'ADN se généralise, le contrôle de parenté pourrait être étendu à beaucoup plus de sujets. Déjà, l'utilisation de marqueurs génétiques a permis de mieux connaître le taux d'erreurs de parenté au Canada parmi les filles des taureaux en testage. Ce taux n'est que de 3 à 4 %, ce qui se compare avantageusement avec les taux de près de 20 % rapportés par certaines compagnies testant dans de gros troupeaux aux États-Unis.

2.3 Traçabilité des animaux

La probabilité que deux animaux possèdent le même génotype pour plus d'une centaine de SNP est pratiquement nulle, si les SNP ont une fréquence suffisante dans la population. C'est encore plus vrai pour des marqueurs de type microsatellite. L'ADN identifie donc chaque animal de façon unique et constitue un outil naturel et idéal de traçabilité. Déjà, dans le porc, la société Maple Leaf Foods a mis au point un panel de SNP qui permettra de retracer à la ferme d'origine tous les produits sortant de l'abattoir. Chez les bovins laitiers, il est plus logique d'utiliser l'ADN comme soutien aux programmes actuels de traçabilité (étiquettes RFID).

Dans un projet pilote effectué récemment par Holstein Canada, L'Alliance Semex, Bova-Can, Valacta et Can West DHI, le génotypage de douze marqueurs génétiques (microsatellites) s'est avéré suffisant pour identifier des animaux parmi plus de 150 000 sujets de races diverses. Il est donc probable que dans l'avenir la collecte d'ADN devienne un outil supplémentaire de traçabilité. Le projet pilote a utilisé à cette fin une étiquette qui prélève un petit échantillon du cartilage de l'oreille au moment de sa pose. L'ADN extrait de ce tissu peut servir à plusieurs génotypages, que ce soit pour le contrôle de parenté, la traçabilité ou la sélection génomique.

2.4 Sélection assistée par les gènes

La génomique peut être très efficace pour des caractères contrôlés par un seul ou par un petit nombre de gènes, si l'on connaît les gènes et les SNP impliqués. C'est particulièrement vrai pour les défauts génétiques. De nombreuses mutations ont l'effet de rendre inopérante la ou les protéines correspondant au gène où elles se trouvent. Chaque individu a deux copies de chaque gène, l'une du père et l'autre de la mère. Tant que l'une des deux copies peut produire la protéine correctement, il n'y a pas de conséquences néfastes pour l'individu. Cependant, si les copies transmises par les deux parents sont toutes les deux défectueuses, l'individu ne peut plus produire la protéine requise. On a alors ce que l'on appelle un défaut génétique récessif. De tels défauts sont présents dans toutes les populations, souvent avec une faible fréquence. Cependant, leur fréquence peut augmenter si des sujets porteurs, c'est-à-dire ayant la mutation sur un chromosome et pas sur l'autre, possèdent un avantage quelconque ou si la sélection privilégie une famille qui par accident possède ce défaut. Un bon exemple en race Holstein est le cas du taureau Carlin-M Ivanhoe Bell qui était porteur de défauts génétiques à la fois pour BLAD (défiance d'adhésion des leucocytes bovins) et CVM (malformation vertébrale complexe). À la suite de l'utilisation intensive de Bell, ces défauts ont commencé à apparaître plus fréquemment dans la population. Avant que les tests génétiques ne soient disponibles, on ne pouvait savoir si un taureau était porteur de la mutation qu'en le testant sur descendance, ce qui prenait des années et ne pouvait se faire efficacement que si le nombre de femelles porteuses de la mutation était suffisamment élevé. Avec les outils génomiques qui existent maintenant, il suffit tout simplement de génotyper l'animal en question pour déterminer s'il est porteur ou non (figure 5).

Prenons l'exemple de CVM. Nous savons maintenant que le CVM est causé par une simple mutation (SNP) sur le gène SLC35, qui ne compte pas moins de 22 400 nucléotides. Ce gène encode une protéine qui sert à transporter l'acétylglucosamine, laquelle est nécessaire, entre autres, au développement normal de la colonne vertébrale. L'un des 22 400 nucléotides, toujours au même endroit sur le gène, est parfois un G au lieu d'un T. Cela change la composition de la protéine, qui est alors inactivée. Si un individu reçoit le nucléotide G des deux côtés de son pedigree, il sera atteint de CVM. Pour identifier les animaux porteurs, il suffit de les génotyper pour ce SNP. Les sujets TT ne sont pas porteurs, les sujets TG le sont (pour les sujets GG, on sait déjà qu'ils ont CVM).

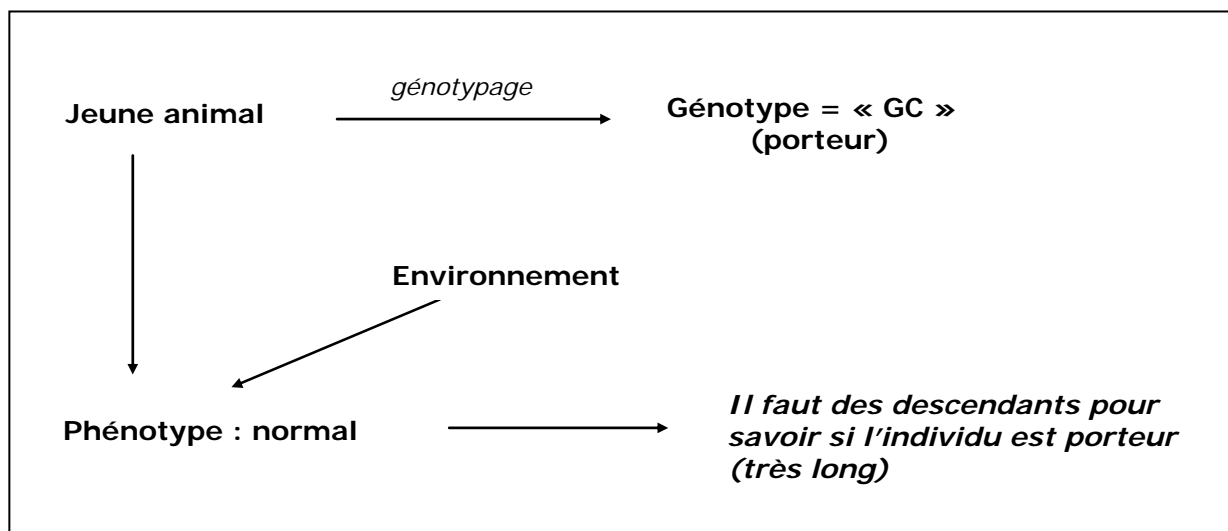


Figure 5. Défaut ou maladie génétique simple

La génomique simplifie donc beaucoup la détection et l'élimination de défauts génétiques pour lesquels on connaît la mutation. C'est non seulement le cas pour BLAD et CVM, mais pour plusieurs autres défauts comme la déficience en synthèse d'uridine monophosphate (DUMPS) et la déficience du métabolisme de la citrulline. Certains SNPs ou groupes de SNPs peuvent aussi avoir des effets appréciables sur des caractères bien définis. Par exemple, on sait depuis longtemps que certaines variantes génétiques de la caséine kappa, une des protéines du lait, ont un effet sur le rendement fromager. Le facteur rouge en race Holstein serait un autre exemple.

Il existe plusieurs méthodes pour détecter de nouveaux gènes. Les études de génomique comparatives recherchent dans le génome bovin des gènes « candidats », c'est-à-dire qui sont déjà connus dans d'autres génomes (les humains ou les souris, par exemple) pour leurs effets sur le métabolisme. La cartographie fine consiste à étudier des familles où un défaut est présent et à déterminer avec de plus en plus de précision où se trouve le gène impliqué, puis où se trouve la mutation correspondante. Les études d'expression des gènes consistent à examiner l'ARN messager d'individus qui réagissent différemment au même environnement, par exemple des vaches infectées ou résistantes à la mammite, ou des taureaux à haute ou faible fertilité, de façon à mesurer si certains gènes sont plus ou moins exprimés dans chaque groupe, et pourraient donc jouer un rôle dans le phénomène étudié. C'est ce qu'on appelle la génomique fonctionnelle. Une fois que les gènes impliqués ont été déterminés, on doit alors rechercher des SNP sur ces gènes et analyser leurs effets.

La génomique fonctionnelle et l'étude des protéines (ou protéonomique) constituent actuellement un énorme domaine de recherche, dont l'objectif dépasse beaucoup le cadre de la sélection, puisqu'il pourrait déboucher sur la découverte de nouveaux produits ayant des propriétés thérapeutiques ou sur des vaccins, par exemple. Il pourrait également

permettre d'affiner le diagnostic et le traitement de certaines maladies, ou même l'alimentation et la régie, à partir d'une meilleure connaissance du génome de chaque sujet. Cependant, il y a encore peu de gènes et de mutations dont les effets sont bien connus chez les bovins, et le plus souvent un gène n'explique par lui-même qu'une faible fraction de la variation génétique totale d'un caractère.

2.5 Sélection assistée par les marqueurs

La plupart des caractères sélectionnés chez les bovins laitiers (production, conformation, santé, longévité) sont contrôlés non par un seul gène mais par de nombreux gènes. Le plus souvent, on ne sait pas quels gènes ou SNPs sont impliqués pour chaque caractère, et on ignore comment ces gènes fonctionnent et agissent les uns sur les autres. Il est donc illusoire d'essayer de sélectionner ces caractères à travers quelques tests génétiques simples, même si cette approche est parfois proposée par certaines compagnies. Un gène ou SNP affectant la production ou la durabilité d'un animal, par exemple, n'en est qu'un parmi de nombreux autres influant sur ces caractères. La vache avec le meilleur phénotype pour le caractère visé peut avoir un mauvais résultat pour le test et vice-versa. On ne peut donc utiliser efficacement de simples tests génétiques pour des caractères complexes.

L'idéal serait de sélectionner simultanément pour tous les SNPs ou gènes affectant un caractère complexe, même si on ne les connaît pas. Cet objectif peut paraître impossible à atteindre à première vue, mais en réalité il existe maintenant plusieurs approches pour essayer de s'en approcher. Ces approches reposent sur l'emploi de marqueurs génétiques.

La première approche utilisée pour les caractères complexes s'est basée surtout sur des marqueurs de type microsatellite, car les plates-formes avec un nombre élevé de SNPs n'étaient pas encore possibles à ce moment-là. L'ADN est transmis en énormes régions d'une génération à la suivante. On peut donc suivre la transmission de ces grandes régions d'ADN (10 à 20 millions de nucléotides) à l'aide de marqueurs et analyser leurs effets dans les familles de pères de taureaux. Ces effets peuvent alors être utilisés pour modifier la moyenne de parents de jeunes taureaux issus de ces familles. Il faut pour cela génotyper les jeunes taureaux et leurs mères pour un nombre suffisant de marqueurs. C'est ce qui se fait en France de façon systématique depuis plusieurs années (Boichard *et al.*, 2002, 2006). Tous les jeunes taureaux, et leurs pères et mères, sont génotypés pour un groupe de 43 marqueurs situés sur 12 régions intéressantes du génome. Les moyennes des parents des jeunes taureaux sont alors modifiées en fonction des résultats du génotypage, et mises à la disposition des centres d'insémination artificielle pour permettre une sélection plus efficace. Plus de 50 000 sujets ont été génotypés en France dans le cadre de ce programme. Des programmes similaires, mais moins systématiques et de moindre ampleur, ont été utilisés en Allemagne (Bennewitz *et al.*, 2003, 2004) et par l'Alliance Semex au Canada. Cette approche a cependant plusieurs inconvénients : elle ne peut être utilisée que dans de grandes familles de pères de taureaux, et ne résulte que dans un accroissement modeste

(5 à 10 %) de la précision de la moyenne des parents. Elle a été principalement employée pour départager des demi-frères qui ont la même moyenne de parents.

Une deuxième approche consiste à utiliser les SNP eux-mêmes comme marqueurs. Elle a été rendue possible par deux développements relativement récents. L'un est le séquençage du génome bovin, qui a été complété l'année dernière à travers un projet international auquel le Canada a participé. Grâce à ce séquençage, on connaît maintenant l'ordre de chacun des trois milliards de nucléotides du génome bovin avec un assez bon degré de précision (il y a encore quelques erreurs ici et là, qui seront probablement corrigées avec le temps). La même technique de séquençage, appliquée cette fois à des individus différents, a aussi permis de découvrir un nombre relativement important de SNP dans les populations bovines. On ne connaît pas la fonction de la plupart de ces SNP, mais on peut les utiliser comme marqueurs. Le deuxième développement est la mise au point de plates-formes de génotypage à haut volume. Grâce à ces plates-formes, on peut maintenant génotyper jusqu'à 50 000 SNP à la fois, à un coût qui varie entre 150 \$ et 400 \$ par individu, soit moins que 0,01 \$ par SNP. Chez les humains, il existe des plates-formes capables de génotyper 1,4 million de SNP à la fois. De telles plates-formes ne sont pas encore disponibles chez les bovins, car on ne connaît pas assez de SNP, mais elles pourraient être développées au cours des années qui viennent.

Cette nouvelle approche, baptisée sélection génomique, consiste à utiliser le fait que les SNPs qui se trouvent dans de petites régions d'ADN (50 000 à 300 000 nucléotides) tendent à rester ensemble pendant de nombreuses générations, un phénomène que l'on nomme déséquilibre de liaison. Si l'on a suffisamment de SNP pour couvrir le génome, on peut tenter de marquer chaque petite région avec un ou plusieurs SNP. Il faut alors génotyper chaque individu pour au moins 10 000 SNP répartis à travers le génome, davantage si possible. Les effets de ces SNPs sont estimés grâce à un groupe de taureaux éprouvés, pour tous les caractères évalués actuellement (production, conformation, durée de vie, cellules somatiques, fertilité, facilité de vêlage, etc.). En effet, les taureaux éprouvés sur descendance ont une évaluation génétique plus précise que les autres sujets de la population et, par conséquent, ces évaluations constituent des données idéales pour estimer les effets des SNP. Chaque effet SNP correspond alors à l'effet combiné de tous les autres SNP dans sa région, soit plus d'une centaine. On peut alors génotyper des jeunes taureaux ou des vaches, déterminer quels SNP ils portent, combiner les effets estimés de ces SNP pour chaque caractère et modifier leur moyenne de parent ou leur évaluation génétique avec cette évaluation « génomique ».

Des études de simulation donnent des résultats intéressants pour cette approche, soit des corrélations de 0,75 à 0,85 entre l'évaluation « génomique » des sujets génotypés et leur valeur génétique vraie (Meuwissen *et al.*, 2001). Ces études dépendent cependant beaucoup des hypothèses que l'on y fait. En pratique, il convient plutôt de valider l'approche en comparant l'évaluation « génomique » d'un groupe de taureaux à leur épreuve, en s'assurant bien sûr que l'estimation des effets SNP ne repose pas sur ces épreuves.

Le tableau 2 contient des résultats obtenus récemment dans un projet conjoint entre l'Université de Guelph et Boviteq pour une plate-forme de 10 000 SNP et montre comment ces résultats se comparent à d'autres scénarios. Il correspond à des caractères d'héritabilité moyenne (0,2 à 0,4).

Tableau 2. Précision relative de différents types d'évaluations génétiques

	Précision %
Moyenne parents jeune taureau*	10
GEBV (10 k SNP – actuel)	16-36
GEBV (50 k SNP – simulation)	51-64
Taureau éprouvé 100 filles	90

* Après présélection

Après que les jeunes taureaux ont été sélectionnés sur leur moyenne de parents, cette moyenne ne constitue plus qu'un médiocre indicateur de leur future épreuve. L'augmentation de précision attribuable à l'évaluation génomique des jeunes taureaux n'a donc pas besoin d'être très élevée pour en justifier l'utilisation. Par exemple, d'après les résultats obtenus avec 10 000 SNP, on fait plus que doubler la précision réelle de la moyenne des parents (la précision augmente de 10 % à 16-36 %). Ces résultats encore préliminaires sont donc encourageants. Cependant, ils montrent aussi que les évaluations génomiques sont pour l'instant loin d'avoir la précision qu'on obtient avec une bonne épreuve sur descendance. En effet, avec 100 filles par taureau, cette précision atteint 90 %, soit beaucoup plus que 16-36 %.

Une variation de cette nouvelle approche consiste à n'utiliser que les SNPs avec les effets les plus importants pour la prédiction des évaluations génomiques (par exemple, les meilleurs 500 à 1 500 des 10 000 SNP). Des résultats intéressants semblent avoir été obtenus en Australie avec cette stratégie, puisque des chercheurs australiens rapportent une précision des évaluations génomiques variant entre 40 % et 72 % selon le caractère. Cependant, dans le cas de jeunes taureaux présélectionnés sur ascendance, la précision ne dépassait pas 49 % (Sölkner *et al.*, 2007). De plus, ces résultats n'ont pas encore été validés par d'autres laboratoires.

Le calcul d'évaluations génomiques (GEBV), à partir du génotype d'un animal et des effets des SNPs estimés sur des taureaux éprouvés, ne constitue pas l'étape finale du processus d'évaluation. En pratique, il convient de combiner ces évaluations aux évaluations génétiques basées sur les phénotypes (EBV), comme illustré à la figure 6, de façon à obtenir des estimations encore plus précises. Malheureusement, il n'y a pas encore de méthodes disponibles pour ce faire quand le nombre de marqueurs dépasse quelques

dizaines, alors qu'on cherche à en utiliser des milliers. Il n'y a pas non plus de méthodes statistiques standards, acceptées par la communauté scientifique, pour le calcul des évaluations génomiques. L'approche décrite plus haut est encore au stade de la recherche, mais les connaissances risquent de progresser rapidement d'ici deux à trois ans.

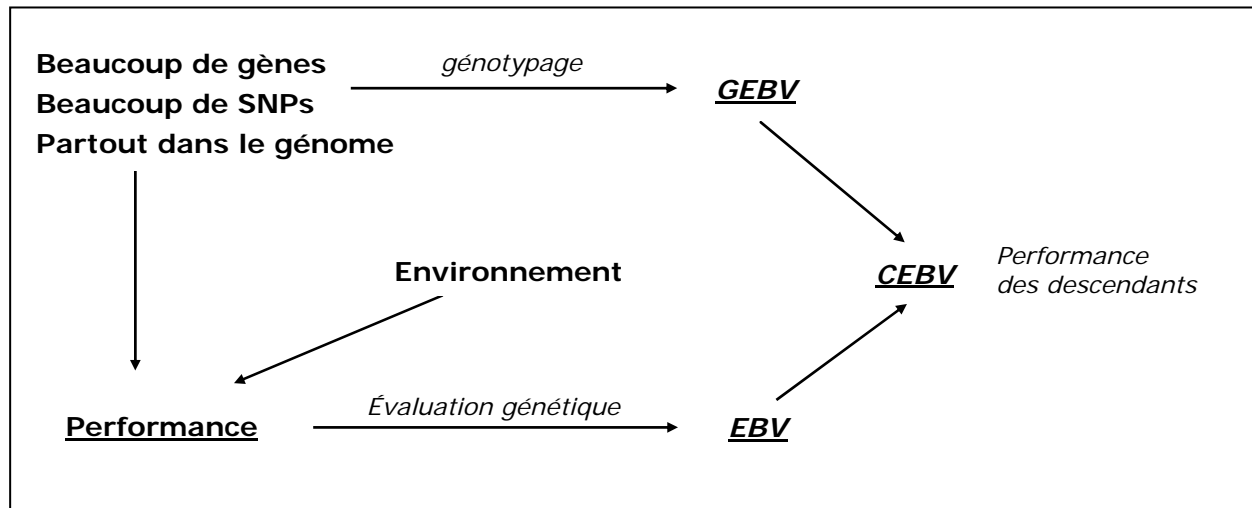


Figure 6. Caractères complexes (tels que production, fertilité, durée de vie)

2.6 État des recherches : l'exemple de Boviteq et de l'Alliance Semex

Depuis plusieurs années, l'Alliance Semex et sa compagnie de recherche, Boviteq, entreprennent et supportent des recherches en génomique, le plus souvent en collaboration avec d'autres centres de recherche au Canada. L'objectif de ces recherches est d'assurer que le Canada demeure un leader mondial dans le domaine de la génétique des bovins laitiers. Voici quelques-uns des projets de recherche récemment complétés ou en cours :

- Évaluation des effets liés à différentes régions chromosomiques dans 10 familles de pères à taureaux : ce projet, effectué en collaboration avec la Station de recherche de Lennoxville, a conduit au génotypage de près de 1000 taureaux éprouvés, chacun pour 155 marqueurs de type microsatellite; il a commencé en 1999 et s'est terminé en 2006.
- Mesure des associations de 10 000 SNP avec les caractères utilisés en sélection, en collaboration avec l'Université de Guelph; plus de 800 taureaux éprouvés ont été génotypés à ce jour et les données analysées. Le projet a débuté en 2004 et sera étendu à 50 000 SNP en 2007.
- Évaluations de 1536 SNP sur des gènes candidats, en collaboration avec l'Université de l'Alberta; de 2006 à 2007;

- Participation à un projet de recherche de l'USDA en 2007 et 2008, sur les associations entre 50 000 SNP et les caractères sélectionnés; le projet implique le génotypage d'environ 5000 taureaux (4000 de race Holstein, 750 de race Jersey et 250 de race Suisse Brune).
- Projet conjoint de collecte d'ADN avec Holstein Canada, Semex, Bova-Can, Valacta et CanWest DHI; le projet a permis de collecter de l'ADN sur plus de 3000 vaches et d'examiner son utilisation pour le contrôle de parenté, la génomique et la traçabilité. Il a débuté en 2005 et s'est terminé en 2007.
- Soutien à travers DairyGen à plusieurs projets de recherche : expression des gènes pour la résistance aux mammites et la fertilité, gènes candidats pour l'acide linoléique conjugué dans le lait, mesure génomique de la variabilité génétique, etc.

En plus d'entreprendre ces recherches, Semex a mis en application l'emploi de 55 marqueurs microsatellites pour assister la sélection des jeunes taureaux. Ces marqueurs seront remplacés par des plates-formes de SNP vers la fin de 2007 ou le début de 2008..

3. IMPLICATIONS POUR LE SECTEUR LAITIER

3.1 Impact actuel de la génomique

Malgré son grand potentiel, la génomique n'a pas eu jusqu'à maintenant d'impact majeur sur la sélection des bovins laitiers. Son principal rôle a été de faciliter la sélection contre certains défauts génétiques comme BLAD ou CVM. C'est encore la sélection phénotypique qui est responsable de la majeure partie du progrès génétique.

3.2 Impact potentiel de la génomique

Impact global sur la sélection

Si les approches récentes proposées pour la sélection des caractères complexes se soldent par un succès, l'impact de la génomique pourrait augmenter rapidement. Pour ces caractères, cet impact peut être mesuré par la précision des valeurs génomiques estimées (GEBV). Si celle-ci dépasse 30 %, on sera en mesure de sélectionner les jeunes taureaux de façon plus efficace et donc l'impact sera significatif (tableau 3). Si elle dépasse 75 %, l'impact sera considérable, puisqu'on se rapprochera alors de la précision de l'épreuve d'un taureau testé sur 100 filles, sans nécessairement l'atteindre.

Tableau 3. Impact présumé de la génomique sur la sélection des bovins laitiers

Précision des GEBVs (%)	0-10	10-30	30-75	>75
Impact sur l'industrie	Faible	Moyen	Grand	Énorme

Cet impact pourrait être important même si la précision combinée de la moyenne des parents et de l'évaluation génomique des jeunes taureaux demeure inférieure à celle de l'épreuve d'un taureau testé sur 100 filles, soit par exemple 60-70 % au lieu de 90 % pour un caractère comme la protéine. En effet, cette précision combinée n'a théoriquement pas besoin d'être très élevée pour justifier un changement majeur du schéma de sélection. Présentement, le testage sur descendance donne des épreuves très précises, mais il allonge aussi beaucoup l'intervalle de génération, puisque tester un taureau sur descendance prend de 5 à 6 ans. Ceci a pour effet de ralentir le progrès génétique. Grâce à la génomique, on pourrait génotyper les jeunes taureaux peu après leur naissance, ou même au stade embryonnaire, et les utiliser commercialement dès qu'ils sont en mesure de produire de la semence, donc beaucoup plus rapidement que maintenant. Leurs évaluations seraient significativement moins précises qu'actuellement, mais les producteurs pourraient pallier à cette diminution de précision en utilisant un groupe suffisamment grand de jeunes taureaux. Les pères à taureaux seraient eux aussi sélectionnés beaucoup plus jeunes, et en plus grand nombre à cause de leur plus faible précision. Des études théoriques ont montré que le progrès génétique pour l'objectif de sélection choisi pourrait être deux à trois fois plus rapide avec un tel schéma qu'avec le schéma actuel (Spelman *et al.*, 1999; Schaeffer, 2006). Le principal gain provient alors de la diminution de l'intervalle de génération. Il reste cependant à voir si les producteurs seraient prêts à faire 100 % de leurs accouplements à des jeunes taureaux non testés de manière conventionnelle, dont l'épreuve « génomique » serait nettement moins précise que les épreuves actuelles. Ces jeunes taureaux devraient bien sûr être commercialisés à un prix permettant aux centres d'insémination artificielle de recouvrir les coûts de sélection correspondants, y compris ceux rattachés au génotypage et au calcul d'épreuves « génomiques », puisque le testage sur descendance planifié et les ventes de semence des taureaux qui en résultent diminueraient alors progressivement.

Les résultats actuels sont loin de cette situation. Si ces résultats ne s'améliorent pas, la génomique servira alors à présélectionner les jeunes taureaux plutôt qu'à remplacer le testage sur descendance. Cependant, les choses pourraient changer très vite. Dès 2008, on aura les résultats de validation d'une plate-forme de 50 000 SNP et il est toujours possible que ceux-ci soient supérieurs à ceux obtenus par simulation. D'autre part, on peut faire le pari que des plates-formes de 250 000 à 500 000 SNP seront disponibles pour les bovins d'ici quelques années. Nos résultats préliminaires avec la plate-forme de 10 000 SNP indiquent que ces densités supérieures de SNP devraient résulter en un déséquilibre de liaison plus élevé, et donc donner des prédictions plus fiables de la valeur génétique des sujets génotypés. On peut donc prédire avec suffisamment de confiance que la génomique

va influencer la sélection des bovins laitiers et accélérer la vitesse du progrès génétique au cours des prochaines années.

Caractères visés

Comme nous l'avons vu au tout début de cet article, les progrès réalisés pour la production et la conformation sont déjà élevés avec les méthodes actuelles. On peut donc s'attendre à ce que l'effet de la génomique se fasse surtout sentir dans l'amélioration génétique des caractères à faible héritabilité, tels que la santé, la fertilité et la durée de vie, où les méthodes traditionnelles sont moins efficaces. Il y aura plusieurs défis à franchir, cependant. On ne peut estimer les effets SNP avec précision que si les taureaux ont des épreuves précises pour ces caractères. Dans le cas de la fertilité et de la durée de vie, cette précision n'est élevée que pour les taureaux retournés en service, qui sont relativement peu nombreux. Pourtant, si l'on a beaucoup de SNP, il faut beaucoup de taureaux éprouvés pour estimer leurs effets. Dans le cas des caractères de santé, le principal problème est le manque de données, sauf dans le cas du comptage des cellules somatiques (CCS). Heureusement, le secteur a décidé de mettre en application un programme de collecte de données sur la santé, qui fournira des renseignements sur huit maladies en particulier (mammite, boiterie, kyste ovarien, déplacement de caillette, acétonémie, métrite, fièvre vitulaire, rétention placentaire). Il faudra cependant attendre que la banque de données sur la santé contienne suffisamment d'information pour procéder à une analyse génomique, ce qui pourrait prendre plusieurs années. Au Québec, un accord entre les vétérinaires du Programme d'amélioration de la santé des troupeaux laitiers du Québec (ASTLQ), Valacta et le Réseau laitier canadien, pourrait peut-être permettre l'emploi de données collectées par ce programme depuis de nombreuses années, et ainsi gagner beaucoup de temps.

D'ici là, la recherche de SNP liés à des défauts génétiques ou à des caractères simples va continuer. Étant donné l'augmentation rapide des connaissances sur le génome des bovins, on peut s'attendre à ce que les reproducteurs d'élite soient testés pour un nombre grandissant de facteurs. Dans la mesure où l'accès à ces tests spécifiques ne sera pas restreint par des brevets, les SNP correspondants pourraient être inclus dans les plateformes de génotypage de haut volume, de façon à éviter une situation où un animal devra être génotypé plus d'une fois pour avoir toute l'information désirée.

Collecte des données et évaluations génétiques

Quel que soit le succès de la génomique, le secteur devra continuer à collecter des données phénotypiques. En effet, comme on peut le voir dans le cas des données pour la santé, on ne peut pas faire de génomique sans données phénotypiques. La collecte des données devra continuer même pour les caractères où l'on connaît déjà les effets des SNP avec une bonne précision, car ces effets peuvent changer sous l'influence de la sélection. Il faudra donc les réestimer régulièrement à partir des données phénotypiques. Les évaluations génétiques des taureaux constituent l'ingrédient principal dans le calcul de ces effets. Pour ce qui est

des vaches, le calcul d'évaluations combinées demandera des indices autant que des évaluations génomiques. On devra donc continuer à calculer les évaluations génétiques traditionnelles.

Sélection des taureaux

Le testage sur descendance demeure très précis et il sera difficile d'égaliser une telle précision avec des évaluations génomiques. Jusqu'à ce que cela arrive, la génomique servira plutôt d'outil de présélection pour les jeunes taureaux. Ces jeunes taureaux et leurs mères seront alors systématiquement génotypés et présélectionnés avant le testage sur descendance. Si l'emploi des GEBV accroît le taux de retour en service de ces taureaux, on aura besoin de moins de taureaux testés sur descendance pour produire le même nombre de taureaux d'élite. Une autre possibilité serait de produire davantage de taureaux d'élite. Cependant, ceux-ci compétitionnent les uns avec les autres. En fait, la plus grosse partie des ventes des centres d'I.A. provient de leurs 20 meilleurs taureaux seulement. Le maintien du nombre de taureaux testés ne pourra alors se justifier que si le marché est prêt à accepter une offre plus diversifiée, par exemple des taureaux d'élite plus forts en production, d'autres en conformation, d'autres en santé et fertilité, etc., ce qui aurait aussi l'avantage d'accroître leur diversité génétique.

Si la précision des évaluations génomiques dépasse un certain niveau, les jeunes taureaux mis en testage constitueront un produit nouveau, avec plus de valeur que les jeunes taureaux actuels, puisqu'ils auront tous été présélectionnés d'après leur génotype. Les centres d'I.A. devront alors probablement ajuster leurs programmes de testage de jeunes taureaux en conséquence.

Certaines compagnies de sélection pourraient même complètement abandonner leur programme organisé de testage sur descendance et miser uniquement sur la commercialisation de jeunes taureaux avec une « épreuve génomique ». En effet, comme on l'a noté précédemment, le testage sur descendance ne sera plus la méthode de sélection la plus efficace si l'augmentation de précision due à la génomique est suffisante. Les jeunes taureaux avec des ventes importantes de semence recevraient alors une épreuve traditionnelle lorsque leurs filles sont en production, soit plusieurs années après le début de leur utilisation commerciale.

Sélection des vaches

Pour l'instant, la précision des évaluations génomiques est encore trop faible pour changer significativement la sélection des vaches. Le génotypage des mères de taureaux sert principalement à retracer la transmission des marqueurs des pères aux fils dans le but d'aider à la sélection de ces derniers. Cependant, la situation pourrait changer si la précision des évaluations génomiques augmente, surtout pour les mères à taureaux. On combinerait alors les indices des vaches avec leur évaluation génomique (GEBV) pour mieux prédire leur

potentiel génétique. En général, l'augmentation de précision sera plus élevée pour les génisses que pour les vaches, car les premières ont moins d'information disponible.

Impact sur la variabilité génétique

La génomique est un outil de sélection supplémentaire. Son impact sur la variabilité génétique des races de bovins laitiers dépendra de la façon dont elle est utilisée. Si la génomique sert à identifier un nombre limité de reproducteurs d'élite qui sont par la suite utilisés intensément, on peut s'attendre à ce qu'elle diminue encore plus la variabilité génétique. Si par contre la génomique sert à mettre en évidence des sources nouvelles et diversifiées de génétique, par exemple de nouvelles familles de taureaux et de vaches avec des GEBV élevés pour les caractères désirés mais qui sont moins apparentés au reste de la population que celles utilisées habituellement, la génomique aura alors un impact positif sur le problème. La génomique, et particulièrement les plates-formes de SNP, permettront de mieux mesurer la variabilité génétique et de mieux la surveiller. On peut par exemple calculer le taux réel de consanguinité d'une population en se basant sur la transmission des SNP plutôt que sur des notions de probabilité, comme on le fait actuellement. Quoi qu'il en soit, le maintien de la variabilité génétique des populations sélectionnées devra recevoir plus d'attention dans le futur, quelle que soit la taille des races impliquées. De nouvelles approches développées au cours des dernières années devraient permettre de trouver le bon équilibre entre le progrès génétique à court terme et la variabilité génétique des populations qui influe sur le progrès génétique à long terme. Ces approches peuvent s'appliquer à des données de génomique autant que de génétique.

3.3 Aspects pratiques

L'application de la génomique va poser un certain nombre de questions que le secteur laitier, plus particulièrement les éleveurs, les associations de race et les centres d'I.A. auront à résoudre conjointement.

La première question concerne la collecte de tissus biologiques (poil, étiquettes d'oreille ou sang, par exemple) pour le génotypage des vaches. Le sang est onéreux à prélever, les poils contiennent relativement peu d'ADN de qualité variable. Les étiquettes d'oreille se prêtent mieux à une utilisation multiple (testage de parenté, sélection génomique, aide à la traçabilité, recherche) mais elles demandent un minimum de coordination pour être utilisées efficacement. Pour rester un leader mondial dans le domaine de la génétique des bovins laitiers, le Canada pourrait envisager la création d'une banque d'ADN qui supporterait tous ces objectifs. Autrement, si la génomique se développe, un éleveur risque d'être sollicité plusieurs fois pour fournir des échantillons biologiques sur les mêmes sujets. Une équipe composée de représentants de l'industrie laitière et de chercheurs universitaires a donc été formée dans le but d'étudier la création d'une banque nationale canadienne d'ADN qui servirait à la fois à la recherche en génomique et aux objectifs précités.

D'autres questions à résoudre concernent l'accès à l'ADN et aux valeurs génomiques. Il y a de nombreuses étapes entre le prélèvement d'un échantillon biologique et le calcul des valeurs génomiques, dont l'extraction de l'ADN, le génotypage et le développement de méthodes pour estimer les effets SNP. Toutes ces étapes ont des coûts inhérents. Les intervenants devront décider comment organiser ces étapes, qui aura accès aux GEBV et dans quelles conditions.

De plus, il n'existe pas pour l'instant de méthodes standards pour génotyper un individu (le génotypage peut concerner quelques SNP ou des dizaines de milliers) ou même pour calculer les valeurs génomiques (Weller, 2007). Le développement de ces méthodes dépendra beaucoup de l'évolution des structures. Si des groupes comme le Réseau laitier canadien, l'USDA et Interbull s'impliquent, on pourrait arriver à une situation proche de ce qui existe pour les évaluations génétiques actuelles, où les méthodes sont publiques et officielles. À l'opposé, les compagnies engagées dans la sélection pourraient faire leurs propres évaluations génomiques, comme c'est déjà le cas pour la sélection de la volaille et du porc. La prudence serait alors de mise pour les producteurs laitiers, qui n'auraient pas de système indépendant pour vérifier que la précision des « épreuves génomiques » correspond bien à ce qui a été annoncé.

Plusieurs scénarios sont donc possibles pour l'application future de la génomique et il va être important que les intervenants en discutent activement au cours des prochaines années.

Il reste aussi à voir comment la situation va évoluer au niveau des brevets. Les brevets ne constituent pas un obstacle à l'application des nouvelles technologies tant que leur portée n'est pas abusive, mais c'est une situation que le secteur aura intérêt à surveiller. Plusieurs compagnies ont déjà pris des brevets sur des gènes ou SNP particuliers qui pourraient en limiter l'utilisation par le secteur. Si la sélection basée sur des plates-formes de SNP est efficace, la portée de ces brevets risque de diminuer considérablement. Cependant, certaines compagnies pourraient aussi essayer de breveter des méthodes d'évaluation génétique ou de sélection génomique.

CONCLUSIONS

La génomique n'a pas encore eu d'impact majeur sur le secteur laitier. Cependant, au cours des deux ou trois dernières années, le séquençage du génome bovin et le développement de plates-formes de génotypage à haut volume lui ont donné un nouvel élan. Le potentiel de la génomique est important, surtout pour la sélection et la traçabilité. Elle peut aider à éliminer des défauts génétiques simples et à améliorer des caractères plus complexes, comme la plupart des caractères sélectionnés actuellement, mais avec des approches relativement différentes dans chaque cas. Les progrès seront peut-être plus lents que ce qu'ont prédit beaucoup de chercheurs, mais l'impact risque d'augmenter d'année en année

Jusqu'à ce que la génomique devienne un outil incontournable de sélection. Le testage sur descendance continuera probablement pour de nombreuses années, mais le nombre de taureaux testés pourrait diminuer si la précision des évaluations génomiques augmente. Les données sur la production, la conformation et la santé, et les évaluations génétiques basées sur ces données, resteront une nécessité quoi qu'il arrive.

RÉFÉRENCES

- Bennewitz, J., N. Reinsch, H. Thomsen, J. Szyda, F. Reinhart, C. Kuhn, M. Schwerin, G. Erhardt, C. Weimann, et E. Kalm. 2003. *Marker assisted selection in German Holstein dairy cattle breeding: outline of the program and marker assisted breeding value estimation*. Ann. Meet. Europ. Ass. Anim. Prod. 54th Session G1.9. Rome, Italy.
- Bennewitz, J., N. Reinsch, F. Reinhardt, Z. Liu et E. Kalm. 2004. *Top down preselection using marker assisted estimates of breeding values in dairy cattle*. J. Anim. Breed. Genet. 121:307.
- Boichard, D., S. Fritz, M.N. Rossignol, M.Y. Boscher, A. Malafosse et J.J. Colleau. 2002. *Implementation of marker-assisted selection in French dairy cattle*. Proc. 7th World Cong. Genet. Appl. Livest. Prod. 33: 19. Montpellier, France.
- Boichard, D., S. Fritz, M.N. Rossignol, F. Guillaume, J.J. Colleau et T. Druet. 2006. *Implementation of marker-assisted selection: practical lessons from dairy cattle*. Proc. 8th World Cong. Genet. Appl. Livest. Prod. 22:11. 13–18 August 2006, Belo Horizonte, MG, Brazil.
- Chesnais, J.P. 2006. *Forces of change*. Endless performance visioning conference, November 2006, Ottawa, Ontario, Canada.
- Meuwissen, T.H.E., B.J. Hayes et M.E. Goddard. 2001. *Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps*. Genetics 157:1819.
- Schaeffer, L.R. 2007. *Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle*. J. Anim. Breed. Genet. 123 :218.
- Sölkner, J., B. Tier, R. Crump, G. Moser, P.Thomson et H.W. Raadsma. 2007. *A comparison of different regression methods for genomic-based prediction of genetic values in dairy cattle*. 58th Annual meeting of the European Association of Animal Production, Dublin, Ireland.

Spelman, R.J., D.J. Garrick et J.A.M. van Arendonk. 1999. *Utilization of genetic variation by marker assisted selection in commercial dairy cattle populations*. Livest. Prod. Sci. 59:51.

Weller, J.I. 2007. *Marker-assisted selection in dairy cattle*, in Marker-assisted selection: current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish, Chapter 12, pp 199-228, FAO publication ISBN 978-92-5-105717-9.