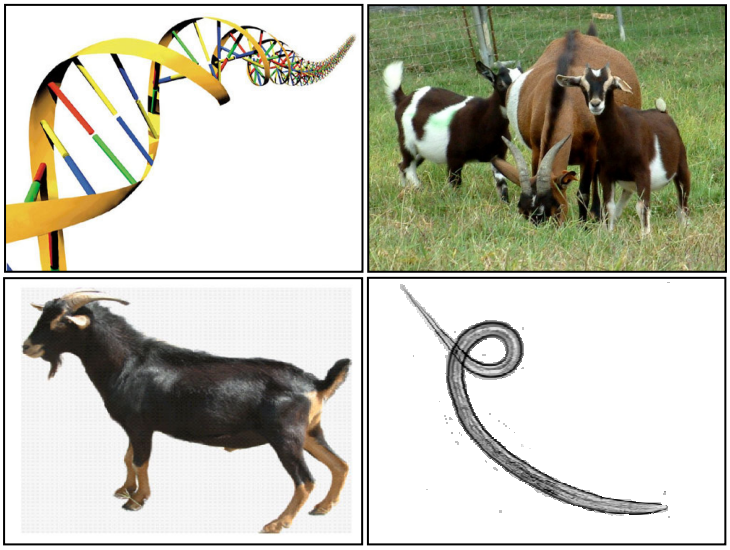
Université des Antilles et de la Guyane

Diplôme de Doctorat
Sciences de la Vie

Analyse de la variabilité génétique de la résistance aux strongles gastro-intestinaux chez la chèvre Créole à des fins de sélection et de compréhension des mécanismes

Claudia de la Chevrotière



Thèse dirigée par :
Nathalie **Mandonnet**

Soutenue publiquement le 11 mai 2011 devant le jury composé de :

Dr. M-H. **Pinard-van der Laan**	INRA-GABI	Rapporteur
Pr. J.E **Miller**	Louisiana State University	Rapporteur
Dr. A. **Hiol**	Université Antilles-Guyane	Président
Dr. E. **Quillet**	INRA-GABI	Examinateur
Dr. N. **Mandonnet**	INRA-URZ	Examinateur

Université des Antilles et de la Guyane

Unité de Recherches Zootechniques

Thèse

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DES ANTILLES ET DE LA GUYANE

Discipline : Sciences de la Vie

Présentée par

Claudia DE LA CHEVROTIÈRE

Analyse de la variabilité génétique de la résistance aux strongles gastro-intestinaux chez la chèvre Créole à des fins de sélection et de compréhension des mécanismes

Thèse dirigée par :
Nathalie **Mandonnet**

Soutenue publiquement le 11 mai 2011 devant le jury composé de :

Dr. M-H. **Pinard-van der Laan**	INRA-GABI	Rapporteur
Pr. J.E **Miller**	Louisiana State University	Rapporteur
Dr. A. **Hiol**	Université Antilles-Guyane	Président
Dr. E. **Quillet**	INRA-GABI	Examinateur
Dr. N. **Mandonnet**	INRA-URZ	Examinateur

If opportunity doesn't knock, build a door.
Milton Berle

A mes parents et mon frère
A Jean-luc et Mahina

Remerciements

Un seul nom sur la couverture pour résumer un travail qui n'aurait abouti sans l'aide de plusieurs personnes. Je tenterai doncde dresser une liste des personnes qui m'ont aidé de près ou de loin dans l'élaboration de cette thèse.

Je tiens à remercier le Département de Génétique Animale, pour m'avoir accordé une bourse pour réaliser cette thèse.

Merci à Mme Danielle Célestine-Myrtil-Marlin, présidente du Centre de Recherche Antilles-Guyane, pour m'avoir accueillie au sein de son établissement.

Je voudrais aussi exprimer mes remerciements à Mr. Harry Archimède et Mme Maryline Boval de m'avoir accueillie au sein de leur unité et d'avoir su gérer mes soucis administratifs en tous genres.

Je tiens également à remercier les membres du jury et rapporteurs pour avoir accepté de juger ce travail: Mr. James E. Miller, Mme Marie-Hélène Pinard van der Laan, Mr. Abel Hiol et Mme Edwige Quillet.

Je souhaite remercier ma directrice de thèse, Mme Nathalie Mandonnet, sans qui cette thèse n'aurait jamais aboutie, ou même jamais eu lieu. De ces 5 années (dont 2 en Master) à faire partie de son équipe, je retiens la confiance qu'elle a montré en mon travail. Dès que l'occasion se présentait, même si cela était souvent synonyme de présentations orales stressantes, elle n'hésitait pas à mettre en avant mon projet de thèse. J'ai eu la chance de pouvoir profiter de beaucoup de formations et séjours à l'étranger et je la remercie pour sa volonté à défendre l'intérêt de ces missions. Nathalie, je te remercie également pour ta grande disponibilité et ton écoute. Je n'aurais choisi mieux comme directrice pour ma thèse.

Je remercie Mme Carole Moreno et Mr. Steve Bishop pour leurs conseils avisés tout au long de cette thèse et leur disponiblité. Je les remercie également de m'avoir accueillie dans leurs

laboratoires respectifs. Merci à Mr. Oswald Matika, de l'Institut Roslin, pour son aide cruciale à l'utilisation du logiciel QTLexpress.

Je remercie Mr. Didier Boichard, pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail et ses conseils sur le programme de détection de QTL.

Merci à Mr. Jean-Christophe Bambou pour son aide tout au long de cette thèse. Tes conseils avisés sur la thèse et l'après-thèse m'ont fait avancer et réfléchir respectivement !

Je souhaite remercier l'équipe du laboration de parasitologie, Mme Lucina Abinne-Molza et Mr Hugues Varo. Merci également à l'équipe de Gardel. Sans eux, je n'aurai eu aucune donnée à analyser et cette thèse n'aurait pu être possible.

Un merci aussi aux secrétaires, Mélanie et Marie-Josée, pour leur aide dans mes démarches administratives. Merci à Luber pour avoir régler mes problèmes informatiques en tout genre.

Je souhaite remercier l'ensemble du personnel de l'URZ pour leur gentillesse et la bonne humeur qui règne au sein de leur unité. Un merci spécial aux anciens et nouveaux thésards, Carine, Mélanie, Carole, Audrey sans qui l'ambiance au travail n'aurait pas été la même.

Merci à Séverine pour son amitié, sa gentillesse et pour toutes nos discussions qui ont traversé à certains moments les murs du bureau des filles. Un jour, on les aura nos vacances ensemble au Canada !

Enfin, cette liste ne serait complète sans citer mes parents Jean et Ginette, qui ont respecté mon choix parfois difficile de vivre loin du pays natal et de m'avoir encouragée et soutenue tout au long de cette thèse. Merci à mon frère Antoine pour ses encouragements. Même si j'ai deux ans d'avance, toi aussi tu l'auras ton doc ! Merci également à Tatie Yvette d'avoir gardé ma puce. Grâce à toi, j'ai pu reprendre le travail l'esprit tranquille.

Je souhaite pour terminer, remercier Jean-luc, le responsable de ma présence en Guadeloupe, pour sa présence et sa patience et pour la plus belle, notre amour Mahina.

Résumé

Analyse de la variabilité génétique de la résistance aux strongles gastro-intestinaux chez les chèvres Créoles à des fins de sélection et de compréhension de mécanismes.

En se basant sur des méthodes de génétique quantitative d'analyse de la variabilité des caractères, les deux principaux objectifs de ce travail sont de proposer des outils pour la sélection d'animaux résistants aux strongles gastro-intestinaux, parasites du tube digestif, et de faire progresser la compréhension des mécanismes de résistance. La chèvre Créole a été choisie comme modèle d'étude pour ses caractéristiques génétiques originales, provenant de plusieurs métissages avec des races d'Afrique, d'Europe et d'Asie.

Ce travail s'est penché sur l'analyse de la variabilité génétique du caractère de résistance au parasitisme digestif afin de vérifier si ce caractère est sélectionnable et quels critères décrivant le mieux la résistance, peuvent être utilisés pour la sélection. Les relations génétiques entre ces critères de résistance et les critères de production ont également été explorées. L'ensemble des résultats obtenus suggèrent que le critère d'excrétion d'œufs et le critère d'éosinophilie sont les plus adaptés pour un schéma de sélection puisqu'ils possèdent une héritabilité moyenne et représentent le mieux la résistance. De plus, ils ne semblent pas en opposition avec le poids, principal critère de production.

Le déterminisme génétique de la résistance aux strongles gastro-intestinaux a été étudié en identifiant tout d'abord si ce caractère est régit par un gène majeur ou est sous influence de plusieurs gènes. Une primo détection de QTL a ensuite été réalisée. Cette thèse apporte des pistes sur les possibles gènes impliqués dans la résistance et a permis de mettre en évidence l'existence d'un gène majeur pour la résistance chez la population de chèvre Créole. De plus, la primo-détection de QTL a permis d'identifier 13 régions du génome ayant un effet sur les critères de résistance. L'utilisation d'une puce SNP à haute densité permettra de confirmer ces premiers résultats et d'affiner la localisation de ces QTL.

Les mécanismes responsables de la résistance aux strongles gastro-intestinaux ont également été à l'étude en utilisant à la fois des outils de génétique quantitative et des outils d'immuno-pathologie et a formulé des premières hypothèses quant à l'implication de la réponse immunitaire dans la résistance aux parasites digestifs chez la chèvre. L'ensemble des résultats met en évidence le rôle des éosinophiles dans la mise en place de la résistance aux strongles gastro-intestinaux. De plus, les immunoglobulines A ne semblent pas jouer un rôle dans la résistance chez la chèvre Créole mais serait plus un indicateur de la charge parasitaire de l'animal. A l'inverse, l'activité des immunogobulines E semblent dirigés vers les larves L3 *d'Haemonchus contortus* et suggère la mise en place d'une réaction protectrice. Chez la chèvre Créole, ces deux mécanismes semblent donc jouer un rôle important dans la mise en place de la résistance aux strongles gastro-intestinaux.

Mot Clés : chèvre Créole, Résistance, strongles gastro-intestinaux, QTL, réponse immunitaire, variabilité génétique

Abstract

Analysis of genetic variability of resistance to gastrointestinal nematodes in Creole goats for selection and understanding of mechanisms.

Based on quantitative genetics methods focused on the analysis of the variability, the two main objectives of this work are to propose tools for the selection of resistant animals to gastrointestinal nematodes and advance knowledge on mechanisms of resistance. The Creole goat was chosen as a model because of its unique genetic characteristic coming from several crossbreeding of African, European and Asian breeds.

This work has analysed the genetic variability of resistance to digestive parasitism in order to determine whether this character is selectable and which criteria best describes the resistance and can be use for selection. Genetic relationship between resistance and production criteria were also explored. The overall results suggest that the egg excretion and the eosinophilia are the criteria most suitable for a breeding scheme because they have moderate heritability estimates and best represent the resistance. Moreover, they do not seem in conflict with the weight, the main criterion of production.

The genetic determinism of resistance to gastrointestinal parasites has been studied by identifying whether this character is under control of a major gene or is influenced by several genes. A primo-detection of QTL was then performed. This thesis provides clues about the possible genes involved in resistance and has highlighted the existence of a major gene for resistance in Creole goats. In addition, the primo-detection of QTL identified 13 genomic regions that affect the resistance. The use of a highly densified SNP chip will confirm these initial results and refine the location of these QTL.

The mechanisms behind the resistance to gastrointestinal parasites were also studied by using quantitative genetics and immuno-pathology tools. First hypothesis regarding the involvment of the immune response in resistance have been made in goats. The overall results highlighted the role of eosinophils in the development of resistance to gastrointestinal nematodes. In addition, immunoglobulin A does not appear to play a role in resistance in the Creole goat but may be more an indicator of the nematode burden of the animal. In contrast, the activity of immunoglobulin E seems directed toward L3 larvae of *Haemonchus contortus* and may be imply in the establishment of a protective response agasint nematode parasites. In Creole goats, these two mechanisms seem to play an important role in the development of resistance to gastrointestinal nematode infections.

Keywords : Creole goats, gastrointestinal nematode infection, resistance, QTL, immune response, genetic variability

Liste des publications et des communications

Articles originaux

de la Chevrotière C et Mandonnet N., La sélection génétique pour la maîtrise des strongyloses gastro-intestinales des petits ruminants (*soumis à INRA Productions Animales*)

de la Chevrotière C., Bambou J.C., Mandonnet N., Arquet R., Abinne-Molza L., Varo H., Jacquiet P., Mandonnet N., Genetic parameters of IgA and IgE activity against *Haemonchus contortus* in Creole kids under natural mixed infection. (s*oumis à Veterinary Parasitology*)

de la Chevrotière C., Menendez-Buxadera A., Bambou J.C., Mandonnet N., Genetic parameters of gastrointestinal nematode resistance traits in Creole goats during post-weaning period using random regression models. (*en préparation pour Journal of Agricultural Sciences*)

de la Chevrotière C., Bishop S.C., Arquet R., Bambou J.C., Schibler L., Amigues Y., Moreno C., Mandonnet N. Detection of quantitative trait loci for resistance to gastrointestinal nematode infections in Creole goats. (*en révision dans Animal*).

Bambou, J.C., **de la Chevrotière, C**., Varo, H., Arquet, R., Kooyman, F.N.J. and Mandonnet, N. 2008. Serum antibody responses in Creole kids experimentally infected with *Haemonchus contortus.* Veterinary Parasitology (158) 311-318.

Bambou, J.C., González-García E., **de la Chevrotière, C**., Arquet, R., Vachiery, N. and Mandonnet, N. 2008. Peripheral immune response in resistant and susceptible Creole kids experimentally infected with *Haemonchus contortus.* Small ruminant Research (82) 34-39.

Communications scientifiques

de la Chevrotière, C., Moreno, C., Arquet, R., Bambou, J.C., Schibler, L., Amigues, Y., Alexandre, G. and Mandonnet, N. 2008. Preliminary detection of QTL associated with resistance to gastrointestinal nematode in the Creole goat. 9th International Conference on Goats (ICG). Mexico, 31th of August to 5th of September 2008.

de la Chevrotière, C., Bishop, S., Moreno, C., Arquet, R., Bambou, J.C., Schibler, L., Amigues, Y., Mandonnet, N. Identification of QTL associated with gastrointestinal nematode resistance in Creole goat. 60th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science (EAAP), Barcelona, Spain, August 2009.

de la Chevrotière, C., Gunia, M., Menendez-Buxadera A., Bambou, J.C., Mandonnet N., Genetic parameters of a gastrointestinal resistance trait in Creole goats during post-weaning period. 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Productions (WCGALP), Leipzig, Germany, August 2010.

de la Chevrotière, C. Contributions of the Creole goat model to the understanding of the genetic resistance to gastrointestinal nematode infections. Sustainable Animal Productions in the Tropics (SAPT), Le Gosier, Guadeloupe, November 2010.

Récompenses

Prix du meilleur poster au Séminaire des Thésards du Département de Génétique Animale de l'INRA. Toulouse, 2008.

Best Presentation by a Young Scientist, Sheep and Goat Commission, EAAP, Barcelona, 2009

Table des matières

REMERCIEMENTS ..... -4-

RÉSUMÉ ..... -6-

ABSTRACT ..... -7-

LISTE DES PUBLICATIONS ET DES COMMUNICATIONS ..... -8-

INDEX DES FIGURES ..... -11-

INTRODUCTION ..... -12-

1. ENJEUX DE L'ÉLEVAGE EN MILIEU TROPICAL ..... -13-
2. UN CARACTÈRE D'ADAPTATION GÉNÉTIQUE PARTICULIER ..... -14-
3. PROBLÉMATIQUE ET OBJECTIFS DE LA THÈSE ..... -14-

ÉTAT DES CONNAISSANCES ..... -17-

1. LA PRODUCTION CAPRINE EN GUADELOUPE ..... -18-
2. LE PARASITISME DIGESTIF ..... -18-
   - 2.1 Conséquences pathologiques de l'infestation ..... -20-
   - 2.2 Réponse immunitaire de l'hôte ..... -21-
   - 2.3 Modes de lutte ..... -23-
   - 2.4 Résistance génétique au parasitisme digestif ..... -24-

PUBLICATION N°1 ..... -25-

RÉSULTATS ..... -59-

PUBLICATION N°2 ..... -61-
PUBLICATION N°3 ..... -85-
RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES ..... -93-
PUBLICATION N°4 ..... -104-
PUBLICATION N°5 ..... -129-

DISCUSSION GÉNÉRALE ..... -138-

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES ..... -152-

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES ..... -155-

Index des figures

FIGURE 1. BOUC CRÉOLE .....- 38 -

FIGURE 2. CYCLE DE DÉVELOPPEMENT DES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX. .....- 40 -

FIGURE 3. REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DE L'ORIENTATION DE LA RÉPONSE TH1/TH2 .....- 46 -

FIGURE 4 : DIFFÉRENTS PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX UTILISÉS DANS LA THÈSE. .....- 122 -

FIGURE 5. ARTICULATION DES DIFFÉRENTES FACETTES DU PROGRAMME « RÉSISTANCE AUX STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX CHEZ LES CAPRINS CRÉOLES» DE L'INRA-URZ .....- 280 -

FIGURE 6. SCHÉMA REPRÉSENTANT LES DIFFÉRENTS TYPES D'ANALYSES RÉALISÉES SUR LES CRITÈRES DE RÉSISTANCE ET LES DIFFÉRENTS OUTILS D'ANALYSES UTILISÉS AU COURS DE LA THÈSE. .....- 282 -

INTRODUCTION

1. Enjeux de l'élevage en milieu tropical

Les pays situés en zone tropicale, et de surcroît en milieu insulaire, sont soumis à une forte pression démographique. Une augmentation de 50 % de la population des pays du Sud est prévue entre 2005 et 2050 pour atteindre un pic de 7,8 milliards d'habitants, contrairement à la population des pays développés qui devrait stagner à 1,2 milliards d'habitants (Genin, 2006). Cet accroissement démographique engendrera une augmentation des besoins alimentaires, notamment pour les produits carnés (Delgado *et al.*, 1999).

Ce contexte particulier incite à intensifier les systèmes de production agricole (Menendez-Buxadera et Mandonnet, 2006), comme en témoigne l'augmentation de la production mondiale de viande. De 136 000 milliers de tonnes dans les années 1980, elle atteint plus de 280 000 milliers de tonnes en 2009, toutes espèces confondues (FAO Statistics Division). Les petits ruminants (*Capra hircus* et *Ovis aries*) ne font pas exception à la règle. Le cheptel mondial est en continuelle augmentation depuis les années 1980 et a atteint 1,89 milliards de tête en 2005 (FAO Statistics Division). La majeur partie du bétail caprin se trouve dans des pays sous-développés d'Asie, d'Afrique et du Proche-Orient (Galal, 2000). Ces animaux jouent un rôle important dans les systèmes d'élevage extensifs (Lebbie, 2004; Kosgey *et al.,* 2006). Leur marché représente une part de plus en plus importante de l'économie mondiale et plus particulièrement des pays du Sud. Ces animaux fournissent non seulement de la viande, mais également d'autres produits (lait, viande, fibres, fumier) et des avantages intangibles (prestige, éparge, assurance). De plus, leur grande rusticité, leur facilité d'adaptation aux conditions difficiles et leur capacité à valoriser des ressources locales en font des animaux de choix pour l'élevage dans ces régions du Sud.

Or, ces pays tropicaux sont confrontés à de fortes contraintes environnementales limitant le développement de la production animale et engendrant une insuffisance de l'offre par rapport aux besoins des populations. La Guadeloupe, par exemple, produit seulement environ 14 % de sa consommation de viande caprine et ovine (AGRESTE, 2006). Les aléas climatiques, les températures et taux d'humidité élevés occasionnent des fluctuations de la production, tant en quantité qu'en qualité. De plus, l'organisme des animaux d'élevage soumis à ces contraintes est plus vulnérable à une grande variété de maladies (virus, bactéries ou parasites). Ces contraintes

s'aggraveront avec l'augmentation du réchauffement climatique au cours des prochaines décennies (GIEC, 2007). En partant de l'hypothèse qu'il est impossible de s'affranchir complètement de ces contraintes en milieu tropical l'enjeu est donc de miser sur l'adaptation des systèmes d'élevage à ces milieux difficiles.

2. Un caractère d'adaptation génétique particulier

Le terme adaptation peut revêtir plusieurs sens en production animale. On dit qu'un animal s'adapte à son milieu lorsqu'il a la faculté de faire face aux pressions de son environnement par différents mécanismes (comportement, nutrition, physiologie, etc.). Lorsque les conditions du milieu sont contraignantes pour l'animal de façon continue et à long terme, la sélection naturelle dans la population locale peut favoriser une combinaison d'allèles conférant une meilleure adaptation. Dans cette situation, on parle d'adaptation génétique car l'animal ayant fait face le mieux au milieu difficile aura assuré sa propre survie et engendré une descendance. Cette adaptation génétique peut être valorisée dans les systèmes d'élevage en régions tropicales pour garantir une durabilité de la productivité (Wilson, 1998).

Dans cette thèse, il est question de l'animal (la chèvre) et de son adaptation à une contrainte particulière, le parasitisme digestif par les strongles gastro-intestinaux. En effet, cette parasitose est la pathologie majeure (avec la cowdriose) des élevages de petits ruminants en Guadeloupe. Elle est un frein majeur au développement de la production caprine. En effet, la Guadeloupe, département français d'Outre-mer situé dans le bassin Caraïbe, est soumis à un climat de type tropical humide, exposant les ruminants élevés au pâturage aux parasites digestifs (Aumont *et al.*, 1997). L'impact économique de cette pathologie sur les caprins Créoles a été estimé à environ 0,23 millions € par an (Mandonnet, 2009). Les mères allaitantes et les chevreaux en début de phase d'engraissement sont les plus pénalisés par ce parasitisme digestif (Mandonnet *et al.*, 2005).

3. Problématique et objectifs de la thèse

La production caprine tient une place importante dans l'économie locale de la Guadeloupe, de par le marché gravitant autour de sa viande, et la popularité dont elle jouit dans la culture hindoue

(Alexandre *et al.,* 2008). L'étude des performances zootechniques a permis de confirmer le potentiel de cette race qui se classe parmi les génotypes tropicaux à viande les plus productifs du fait de sa prolificité, de sa production laitière et de la bonne survie néonatale des chevreaux .

Dans ce contexte particulier, la chèvre Créole représente un modèle de choix pour l'analyse génétique de ce caractère d'adaptation. En effet, cette population caprine, issue de nombreux métissages avec des races provenant d'Afrique, d'Europe et d'Asie (Naves *et al.*, 2001), a été soumise qu'à une sélection naturelle pendant de nombreuses décennies. Utilisée à des fins multiples dans un environnement contraignant, elle pourrait être porteuse d'allèles d'adaptation favorables. Cette thèse fait l'hypothèse qu'une amélioration de la production de viande caprine est possible en valorisant l'adaptation de la chèvre Créole à son milieu, et particulièrement sa résistance aux strongles gastro-intestinaux, et en l'améliorant dans un programme de sélection génétique.

Deux approches sont possibles pour améliorer l'adaptation des animaux à leur milieu. *L'approche globale* se concentre sur l'analyse de la variabilité des performances de production en milieu contraignant laissant les aptitudes d'adaptation sous l'emprise de la sélection naturelle. *L'approche analytique* quant à elle, étudie la variabilité du caractère d'adaptation et la met ensuite en relation avec celle des caractères de production. La démarche privilégiée dans cette thèse est l'approche analytique.

En se basant sur des méthodes de génétique quantitative d'analyse de la variabilité des caractères, les deux principaux objectifs de ce travail sont de proposer des outils pour la sélection d'animaux résistants aux strongles gastro-intestinaux et de faire progresser la connaissance des mécanismes de résistance.

- Ce travail analysera la variabilité génétique du caractère de résistance au parasitisme digestif afin de vérifier si ce caractère est sélectionnable et quels critères décrivant le mieux la résistance peuvent être utilisés pour la sélection. Les relations génétiques entre ces critères de résistance et les critères de production seront également explorées.

- Le déterminisme génétique de la résistance aux strongles gastro-intestinaux sera étudié en identifiant tout d'abord si ce caractère est régit par un gène majeur ou est sous influence de plusieurs gènes. Une primo détection de QTL sera présentée. Cette thèse tentera d'apporter des pistes sur les possibles gènes impliqués dans la résistance.

- Les mécanismes responsables de la résistance aux strongles gastro-intestinaux seront également à l'étude en utilisant à la fois des outils de génétique quantitative et des outils d'immuno-pathologie afin formuler des premières hypothèses quant à l'implication de la réponse immunitaire dans la résistance aux parasites digestifs chez la chèvre.

La suite du document sera organisée en trois sections distinctes. Dans un premier temps, les connaissances existantes sur la résistance aux strongles gastro-intestinaux chez les petits ruminants seront présentées : les conséquences pathologiques sur l'hôte, la réponse immunitaire de l'hôte, les modes de lutte ainsi que la résistance génétique. Ce dernier point sera exposé sous forme d'un article scientifique de synthèse.

Dans un second temps, les résultats de ce travail seront présentés sous forme d'articles scientifiques. Cinq publications seront intégrées à cette thèse. Ces articles sont soit en phase de préparation, soumis à un journal scientifique ou acceptés pour publication.

Dans un troisième et dernier temps, une discussion générale de l'ensemble des résultats démontrera les principaux apports de cette thèse sur le sujet et finalement, mettra en relief les perspectives d'étude de ce caractère d'adaptation pour le futur.

ÉTAT DES CONNAISSANCES



Figure 1. Bouc Créole

1. La production caprine en Guadeloupe

Les troupeaux caprins en Guadeloupe sont composés d'animaux de type Créole (*Capra hircus*) (Figure 1), et de plusieurs autres races importées (Boer, Anglo-Nubien, Saanen, Alpine) (Gunia *et al.*, 2010). Le génotype Créole provient du métissage de différentes races introduites (Africaine, Européenne et Indienne) aux Antilles françaises pendant la période coloniale (Pépin, 1994). Le nombre total de têtes du cheptel s'élevait à environ 31 000 en 2006 selon un relevé officiel bien que le chiffre avoisinerait les 60 000 selon les éleveurs (AGRESTE Guadeloupe 2006).

La chèvre est principalement élevée pour la viande en système allaitant au pâturage, en mode extensif. Les éleveurs possèdent en moyenne 60 chèvres et environ 4 % des fermes élèvent la race Créole uniquement (Gunia *et al.*, 2010). Malgré le fait que les éleveurs reconnaissent la rusticité de la chèvre Créole ainsi que la qualité de sa viande, ils préfèrent utiliser des races importées de plus gros gabarit (Gunia *et al.*, 2010). Or, cette race locale possède un réel potentiel de production (Alexandre et al., 1997). De plus, la croissance, la conformité et le poids de la carcasse peuvent être améliorés dans ce génotype (Liméa *et al.*, 2009). Ces indications incitent à utiliser à une plus grande échelle la race Créole en Guadeloupe et à instaurer un schéma d'amélioration génétique. Les éleveurs guadeloupéens ont démontré une forte volonté à participer à ce programme (Gunia *et al.*, 2010). Aidée par la coopérative d'éleveur CABRICOOP, la filière a opté en 2008 pour l'exploitation de la chèvre Créole via la production de chevreaux en race pure et de chevreaux croisés Boer * Créole destiné à la boucherie. Le schéma d'amélioration génétique est présentement à l'étude (Thèse de Gunia, M).

2. Le parasitisme digestif

L'élevage au pâturage domine en Guadeloupe et cette pratique favorise, avec les conditions environnementales tropicales de la région, les strongyloses gastro-intestinales (Aumont *et al.,* 1997). Cette pathologie des petits ruminants est causée par des nématodes de l'ordre des Strongylida. Les principales espèces infestant la chèvre Créole sont *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis* et *Oesophagostomum columbianum* et appartiennent toutes à la famille des Trichostrongylidae. La taille moyenne d'*Haemonchus contortus* varie entre 15 et 35

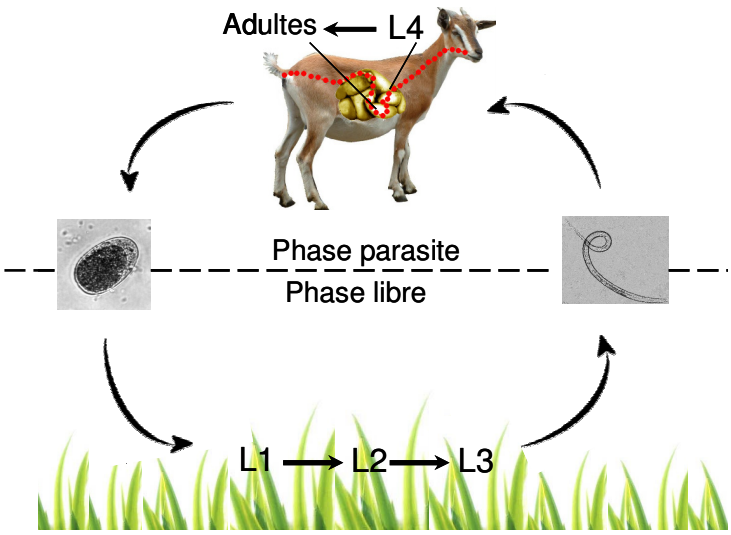


Figure 2. Cycle de développement des strongles gastro-intestinaux. L1, L2, L3 et L4 représentent les stades larvaires successifs du développement de l'œuf jusqu'à l'âge adulte des strongles gastro-intestinaux.

mm alors que celle de *Trichostrongylus colubriformis* se situe entre 3 et 8 mm (Baudron, 2001). Ces populations parasitaires sont naturellement présentes sur les pâturages et colonisent différentes parties du système digestif de leur hôte selon l'espèce de nématode impliquée. De plus, la dynamique des populations est hautement influencée par le climat et, selon l'espèce de parasite, la prévalence peut facilement atteindre 100 % en saison humide (Aumont *et al.,* 1997).

Le cycle de développement des strongles se déroule en deux phases et n'implique qu'un seul hôte (monoxène) (Figure 2). La première phase est dite « phase libre ou externe », car elle se déroule sur le pâturage. Elle débute par l'expulsion des œufs pondus par les vers femelles dans les fèces des animaux. Ensuite, deux stades larvaires successifs (L1 et L2) sont nécessaires pour aboutir à la larve infestante, dite larve L3. Cette larve est particulièrement résistante, car elle demeure engainée dans la mue du stade précédent. L'ingestion des larves infestantes par les animaux marque le début de la « phase parasite ou phase interne ». Les larves migrent alors vers la muqueuse digestive de leur site d'implantation, où se déroulera la mue en larves L4. Les larves perdent au passage leur gaine par l'action de sucs digestifs et d'enzymes. Au stade L4, une période de latence, l'hypobiose, peut avoir lieu chez certaines espèces de strongles si les conditions environnementales extérieures ne sont pas favorables à leur développement. Du stade L4, une mue est nécessaire pour franchir le stade adulte et une fois la maturité sexuelle atteinte, le vers femelle pond ses œufs (plus de 10 000 par jour par femelle pour *H. contortus*) dans la lumière du tube digestif qui seront excrétés à nouveau avec les matières fécales de l'hôte.

La durée du cycle biologique varie en fonction de l'espèce de strongles. Pour les genres *Haemonchus* et *Trichostrongylus*, les larves infestantes peuvent être détectées sur le pâturage dès le 8^{e} jour après l'excrétion des œufs, mais leur abondance est maximale entre le 14^{e} et 21^{e} jour . La phase parasite (phase interne), quant à elle, peut durer plusieurs mois et voire plus en cas d'hypobiose, et elle est influencée par une série de facteurs environnementaux (climat, réponse de l'animal à l'infestation, etc.) (Jacquiet *et al.,* 1998). La durée de la période prépatente (de l'ingestion des larves à l'expulsion des premiers œufs dans les fèces) est de l'ordre de 2 à 3 semaines.

2.1 Conséquences pathologiques de l'infestation

Les strongles digestifs causent de multiples agressions au niveau du tube digestif et particulièrement lorsque l'espèce est hématophage, comme c'est le cas pour *Haemonchus contortus* (Chermette, 1981). Les principaux signes cliniques de l'infestation sont un ramollissement des selles plus ou moins aigu, une faiblesse générale et une diminution de l'appétit (Chermette, 1981). Cet état mène à un amaigrissement et peut aboutir à la mort des individus les plus faibles. Les espèces hématophages causent en plus une anémie se traduisant par une baisse de l'hématocrite en dessous de 20 % (Chermette, 1981). Les individus fortement infestés présentent aussi une pâleur sévère des muqueuses.

Les conséquences des strongyloses sur les performances zootechniques des chèvres Créoles sont plus importantes chez les mères et les chevreaux. Chez les mères, les dépenses énergétiques seraient prioritairement allouées à la gestation et la lactation et les réponses immunitaires face aux parasites seraient temporairement diminuées et/ou inefficaces (Kahn, 2003). En début de lactation, les femelles sont nettement plus sensibles à l'infestation de strongles que les femelles sèches (Mandonnet *et al.*, 2005). Cette sensibilité se traduit par une excrétion d'œufs de strongles entre quatre et sept fois supérieure et une anémie plus sévère. Le phénomène est aussi lié à la taille de la portée ainsi qu'à la parité des femelles. Les femelles primipares et celles ayant une grande portée ont une excrétion d'œufs plus élevée ainsi qu'une anémie marquée (Mandonnet *et al.,* 2005). La production laitière semble aussi affectée par l'infestation de strongles. Les femelles de valeur laitière inférieure à 80g/j, exprimée en GMQ moyen (Gain Moyen Quotidien) entre 10 et 30 jours par chevreau, sont plus infestées que celles de valeur laitière supérieure à 80g/j (Mandonnet *et al.,* 2005).

Les chevreaux sont aussi plus sensibles que les animaux adultes, car leur système immunitaire n'est pas mature (Stear *et al.,* 1999). Les conséquences sur les chevreaux sous la mère se traduisent, pour un écart de 600 OPG (mesure de l'excrétion d'œufs exprimée en nombre d'œufs par gramme de fèces) dans l'excrétion des mères, par un GMQ, entre 30 et 70 jours d'âge, inférieur de 17 % ainsi qu'une masse au sevrage inférieure de 1 kg. Cette perte est significative pour les chevreaux, car chaque kilogramme de masse supplémentaire au sevrage diminue d'un

quart le risque de mourir d'une strongylose après sevrage . Les impacts pathologiques d'une strongylose entraînent une perte de poids vif (poids de l'animal vivant) à 300 jours de 20 % par rapport au potentiel qui est de 17,5 kg en moyenne (N. Mandonnet, communication personnelle). De plus, la présence de parasites empêche la reprise de la croissance à 180 jours suite au stress du sevrage. En tenant compte de la mortalité induite durant la période d'engraissement, la production est alors diminuée de 31 % de poids vif (N. Mandonnet, communication personnelle). Ces résultats témoignent donc de l'importance de contrôler le parasitisme chez les caprins Créoles pour éviter de lourdes pertes de productivité. De plus, de par leur vulnérabilité aux strongyloses, une attention toute particulière doit être donnée aux femelles en début de lactation ainsi qu'aux chevreaux en phase d'engraissement.

2.2 Réponse immunitaire de l'hôte

La présence d'un pathogène dans l'organisme hôte induit des réactions immunologiques. C'est ce qui est communément appelé la réponse immunitaire. Ces mécanismes immunitaires sont à la base de la résistance génétique aux infestations par des strongles digestifs. La réponse immunitaire face à un pathogène se traduit par deux réactions différées, soit la réponse innée et la réponse acquise (Janeway, 2001).

La première ligne de défense face au parasite est possible grâce à une réponse immunitaire dite « innée », qui se met en place dès l'intrusion du pathogène dans l'hôte. Cette réponse est rapide et constituée de mécanismes non spécifiques de types mécaniques, chimiques ou cellulaires (excrétion de mucus, péristaltisme, inflammation, macrophages, etc.) (Basset *et al.,* 2003 ; Moncada *et al.,* 2003). À long terme, lorsque le contact avec le parasite se maintient, les réponses immunitaires s'intensifient et se complexifient. Cette défense acquise de l'organisme est spécifique aux antigènes des pathogènes et possède une capacité de mémoire. Elle se développe au cours de la vie de l'hôte et est donc dite « adaptative » (Mulcahy *et al.,* 2004).

La réponse adaptative se traduit en deux composantes : la réponse humorale et cellulaire. La réponse humorale sous-entend la production d'anticorps par les lymphocytes B, tandis que la réponse cellulaire est modulée par les lymphocytes T et activent la production de macrophages et

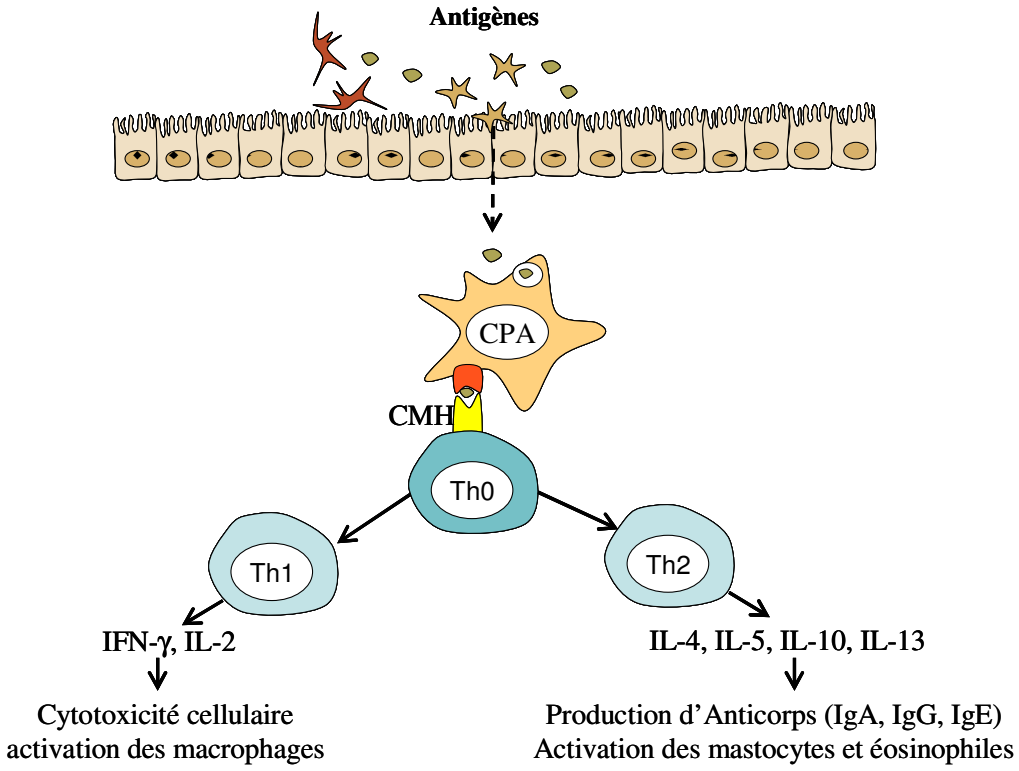


Figure 3. Représentation schématique de l'orientation de la réponse Th1/Th2. (CPA : cellule présentatrice d'antigènes; CMH : complexe majeur d'histocompatibilité; Th : lymphocytes T4 effecteurs; IFN-γ : interféron gamma; IL : interleukines; Ig : immunoglobulines; adaptée de Neurath *et al.,* 2002).

diverses cytokines. La réponse immunitaire adaptative face à un pathogène débute par la reconnaissance des antigènes du pathogène par les cellules présentatrices d'antigènes (CPA), principalement des macrophages, cellules dendritiques et lymphocytes B. Le complexe antigène-CPA est alors présenté aux récepteurs cellulaires T (TCR : T-cell receptors) associés aux molécules CD4 présentes à la surface des lymphocytes T4 naïfs. Les lymphocytes T activés prolifèrent et se différencient en lymphocytes T4 effecteurs. Il existe différents types de lymphocytes T4 effecteurs dont les deux principaux sont les lymphocytes Th1 et Th2 (Figure 3).

Les lymphocytes Th1 orientent la réponse immunitaire vers une médiation cellulaire en activant les macrophages par l'intermédiaire de cytokines comme l'interféron gamma (IFN-γ) et l'interleukine 2 (IL-2). Les lymphocytes Th2 orientent la réponse immunitaire vers une médiation humorale et produisent principalement des cytokines IL-4, IL-5, IL-10 et IL-13. Ces cytokines activent la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes sécréteurs d'anticorps (IgA, IgG, IgE) ainsi que les mastocytes et éosinophiles (Neurath *et al.,* 2002).

Chez les petits ruminants, la résistance aux strongles gastro-intestinaux semble directement reliée à la mise en place d'une réponse immunitaire adaptative comme le démontre l'étude de Peña *et al.* (2006). En effet, ces chercheurs ont montré que des moutons (*Ovis aries*) naturellement résistants, traîtés avec des anticorps anti-lymphocytes T $CD4^+$, sont plus sensibles à une infestation avec *Haemonchus contortus* que les moutons possédant leurs lymphocytes T $CD4^+$ (Peña *et al.*, 2006). Les réponses immunitaires chez les animaux résistants suggèrent le développement d'une réponse Th2 (accroissement des mastocytes, plasmocytes et des polynucléaires éosinophiles ainsi qu'une augmentation des anticorps IgA et IgG), mais des cytokines typiques de réponse Th1 sont également exprimées chez ces animaux (Pernthaner *et al.,* 2005; Gill *et al.,* 2000). La polarisation Th1-Th2 de la réponse immunitaire ovine ne semble donc pas aussi évidente que chez le modèle murin (réponse fortement marquée de type Th2) (Gause *et al.,* 2003). Des avancées sont attendues dans ce domaine grâce à l'apport de nouvelles techniques (génomique, protéomique) et disciplines (génétique, physiologie fonctionnelle).

2.3 Modes de lutte

Le contrôle du parasitisme gastro-intestinal passe généralement par l'emploi d'anthelminthiques chimiques. Cette méthode classique, utilisée à grande échelle depuis les années 70, est très coûteuse et polluante et de plus, des souches résistantes de parasites sont apparues au fil des années (Gruner, 1985; Bastien *et al.,* 1991), la rendant de moins en moins efficace. Afin d'opérer un changement significatif dans la sensibilité des populations parasitaires, il est nécessaire de diminuer l'utilisation d'anthelminthiques à grande échelle (Waller, 1999) et de réserver ces traitements aux animaux du troupeau les plus touchés par l'infestation (chevreaux sous la mère, femelles en début de lactation). Par ailleurs, une méthode de diagnostic des strongyloses digestives (méthode FAMACHA©, Mahieu *et al.*, 2007) basée sur la pâleur des muqueuses a été développée afin de faciliter l'identification des animaux les plus affectés sans avoir recours à des méthodes de comptage direct. Ces modifications des pratiques s'intègrent dans une démarche de lutte durable s'appuyant non plus seulement sur une méthode unique, mais plutôt sur une combinaison de solutions.

Il existe des alternatives à l'emploi systématique des produits chimiques. Deux grands axes stratégiques se dégagent de l'ensemble des méthodes actuelles de gestion des populations parasitaires. La première stratégie consiste à limiter le contact entre le parasite et son hôte et ont démontré l'efficacité du pâturage mixte en ce sens (pâturage simultané de petits ruminants et de bovins, plus résistants aux espèces parasitant les petits ruminants). Cette pratique permet une dilution des larves infestantes sur le pâturage ce qui résulte en une diminution de leur ingestion par les petits ruminants. Des gains de production de 10 % peuvent être obtenus de cette manière, en diminuant les conséquences pathologiques et zootechniques de l'infestation (Mahieu *et al.,* 1997). D'autres pratiques d'élevage peuvent diminuer de façon significative les niveaux d'infestation, notamment par pâturage alternatif d'animaux plus sensibles avec des animaux résistants (petits ruminants ou bovins) ou par l'élevage en hors-sol (aucun contact avec le pâturage) des individus les plus sensibles (Leimbacher *et al.,* 2002). L'utilisation de champignons nématophages ou de microfaune coprophage (vermicompost) peut aussi permettre une réduction importante de la contamination larvaire des pâtures (Chandrawathani *et al.*, 2002; d'Alexis *et al.*, 2009).

La seconde stratégie de lutte consiste à augmenter les défenses naturelles de l'hôte face aux parasites. La vaccination des animaux fait partie intégrante de cette stratégie. Bien qu'il n'existe aucun vaccin à ce jour, plusieurs antigènes ayant un rôle protecteur ont été identifiés chez les ruminants (Smith et Zarlenga, 2006). Il a également été montré qu'une complémentation alimentaire peut réduire significativement l'excrétion d'œufs chez les mères autour de la parturition ainsi que chez les chevreaux (Dumas, 2007). Les jeunes chevreaux Créoles supportent également mieux les effets du parasitisme lorsqu'ils reçoivent une complémentation protéique (Bambou *et al.*, 2008).

L'amélioration génétique s'intègre aussi dans cette stratégie comme une voie durable pour augmenter la résistance des animaux. S'il existe une variabilité génétique pour la résistance au sein du troupeau ou de la race, il est possible de mettre en place des schémas de sélection (Falconer et Mackay, 1996). Il en résulterait des bénéfices économiques, notamment par l'augmentation de la productivité des animaux, mais aussi par une moins grande dépendance vis-à-vis des anthelminthiques. Par contre, cette stratégie n'est envisageable qu'après une connaissance approfondie de la résistance et de la façon dont elle s'exprime chez les animaux.

2.4 Résistance génétique au parasitisme digestif

Ce paragraphe est au cœur de ce travail de thèse est a fait l'objet d'une synthèse bibliographique

PUBLICATION №1

Publication nº1 (soumise à INRA Productions Animales)

La sélection génétique pour la maîtrise des strongyloses gastro-intestinales des petits ruminants

Elle dresse un portrait des études réalisées chez les petits-ruminants visant à quantifier la variabilité génétique inter et intra-espèces et à rechercher des QTL de résistance. Cet article permet également de bien distinguer, dans un contexte plus global, l'intérêt et l'apport de ce travail de thèse.

La sélection génétique pour la maîtrise des strongyloses gastro-intestinales des petits ruminants

C. de la Chevrotière et N. Mandonnet

UR 143 – INRA–URZ, domaine Duclos, 97170 PETIT–BOURG

Correspondance: Nathalie Mandonnet. E-mail: Nathalie.Mandonnet@antilles.inra.fr

Chapeau incitatif

L'omniprésence des parasites gastro-intestinaux et leur pouvoir pathogène fragilisent les systèmes d'élevages en milieu tropical humide. La sélection génétique est une méthode de choix à long terme pour maîtriser ces parasites au pâturage. Les nouveaux outils de génétique quantitative et de génomique promettent de réelles avancées dans ce domaine.

RESUMÉ

La durabilité des systèmes d'élevage tropicaux et tempérés extensifs est à rechercher dans l'équilibre entre le milieu (sol, faune, flore) et les productions, animales et végétales. Le rétablissement, ou la sauvegarde, d'un tel équilibre trophique et écologique passe par la mise en œuvre de techniques innovantes. Il est vain de soustraire les animaux aux contraintes du milieu d'élevage et plus judicieux de les choisir pour leur adaptation à ces contraintes. Dans ce contexte, les strongyloses gastro-intestinales représentent une contrainte pathologique majeure des petits ruminants (PR) particulièrement en zone tropicale humide. Depuis quelques années, on est passé d'une stratégie d'éradication des parasites à une logique de manipulation des équilibres hôtes-parasites dans les systèmes pâturés par combinaison de diverses stratégies. La résistance génétique des PR aux strongles digestifs s'inscrit dans cette nouvelle démarche et y tient un rôle majeur. L'objectif de cette révision est de souligner les apports de la génétique quantitative et de la génomique à la compréhension et l'exploitation de différences entre individus pour la résistance aux SGI. La résistance est entendue dans toutes ses acceptations (pouvoir contaminateur, résistance, tolérance, résilience). Les races locales se révèlent dans la plupart des

cas les plus résistantes et les plus productives dans leur milieu. De la variabilité génétique exploitable en sélection intra population est connue en ovin comme en caprin avec un contrôle génétique comparable. Cependant, les mécanismes biologiques sous jacents seraient plus élémentaires et moins efficients en caprin. L'information génomique s'accumule mais reste encore difficilement valorisable par les professionnels.

Selection tools in the control of gastrointestinal parasitism in small ruminants

The sustainability of tropical and extensive temperate farming systems is the key for balance between environment (soil, fauna and flora) and animal and plant productions. The restoration or preservation of such a trophic and ecological balance requires the implementation of innovative techniques. It is vain to avoid constraints of animal rearing and wiser to choose animals for their adaptations to these constraints. In this context, gastrointestinal strongyles infections (GSI) are a major constraint in small ruminant (SR), particularly in humid tropics. In recent years, strategy of eradication of pest has evolved to a more logical manipulation of host-parasite equilibrium in grazed systems by implementation of various actions. The genetic resistance of SR to GSI is part of this new approach and plays a major role. The objective of this review is to highlight the contributions of quantitative genetics and genomics to the understanding and exploitation of differences between individuals for resistance to GSI. Local breeds are found, in most cases, the most resistant and more productive in their environment. Genetic variability exploitable in selection is known in sheep as in goat with a similar genetic control. However, the underlying biological mechanisms are more basic and less efficient in goat. The genomic information accumulates but remains difficult to exploit by professionals.

INTRODUCTION

La durabilité des systèmes d'élevage tropicaux et tempérés au pâturage est à rechercher dans la mise en œuvre de techniques innovantes limitant l'investissement financier et l'apport d'intrants pour préserver l'équilibre entre le milieu et les productions animales et végétales. L'objectif n'est plus désormais de soustraire les animaux aux contraintes du milieu d'élevage mais de les choisir pour leur adaptation à ces contraintes. Dans ce contexte, les strongyloses gastro-intestinales (SGI)

représentent une contrainte pathologique majeure des petits ruminants (PR) particulièrement en zone tropicale humide (Over *et al* 1992) du fait de pertes de production (lait, croissance, laine) et mortalités induites.

Depuis quelques années, la maîtrise de cette pathologie passe par la manipulation des équilibres hôtes-parasites dans les systèmes pâturés par combinaison de diverses stratégies (Mahieu *et al* 2009). La résistance génétique des PR aux strongles digestifs s'inscrit dans cette nouvelle démarche et y tient un rôle majeur. La mise en évidence d'une variabilité génétique de ce caractère remonte aux années 40-50 avec les travaux de Gregory (1937) et Emik (1949). Elle a fait ensuite l'objet de nombreux développements à partir des années 80.

L'objectif de cette synthèse bibliographique est de souligner l'apport des diverses approches de la génétique à la compréhension et à l'exploitation de différences entre individus pour la résistance aux SGI. Au préalable, il est nécessaire de rappeler quelques définitions car le terme de résistance peut prendre de nombreuses acceptions.

1. QU'EST CE QUE LA RESISTANCE AUX SGI ? COMMENT LA MESURE-T-ON ?

Jusqu'à il y a 8-10 000 ans de cela, les parasites et leurs hôtes ont co-évolué en générant des structures génétiques de populations permettant le maintien des deux entités sauvages. La domestication des mammifères par l'Homme est venue rompre cet équilibre naturel (Mignon-Grasteau *et al* 2005). Les animaux ont été parqués sur des surfaces restreintes ce qui a considérablement modifié l'épidémiologie des parasites gastro-intestinaux. Le détenteur d'animaux est entré petit à petit dans une logique d'augmentation de la productivité de son troupeau. L'équilibre dans l'allocation des ressources nutritionnelles de l'hôte, entre l'homéostase (survie de l'individu) et l'homéorhèse (pérennité de l'espèce) a été déplacé vers cette dernière (Hoch *et al* 2004). Les fonctions régulant la pérennité de l'espèce (reproduction, lactation, ….) ont été privilégiées aux dépens de celles régulant la survie de l'individu (adaptation, fitness,…). Le parasite s'est trouvé favorisé et les défenses des hôtes ont été diminuées. Toutefois, l'impact n'a pas été le même chez tous les hôtes. Il existe une variabilité individuelle dans la résistance des animaux d'un troupeau. Le parasite s'appuie sur un petit

nombre d'animaux très sensibles pour réaliser rapidement son cycle et coloniser efficacement le milieu.

Les strongles gastro-intestinaux infestant les PR sont des nématodes de l'ordre des strongylidae, famille des Trichostrongylidae, d'où leur nom commun de strongles. Leur cycle de développement se déroule en deux phases et n'implique qu'un seul hôte (monoxène). La phase «libre ou externe » débute par l'expulsion des œufs pondus par les vers femelles dans les fèces des animaux sur le pâturage. Ensuite, deux stades larvaires successifs sont nécessaires pour aboutir à la larve infestante, dite larve L3. L'ingestion des larves infestantes par les animaux marque le début de la « phase parasite ou phase interne ». Les larves migrent alors vers la muqueuse digestive de leur site d'implantation, où se déroulent 2 mues aboutissant à l'adulte mâle ou femelle. Une fois la maturité sexuelle atteinte, le vers femelle pond ses œufs dans la lumière du tube digestif qui seront excrétés à nouveau avec les matières fécales de l'hôte.

Le terme de résistance recouvre différents phénomènes biologiques. Au sens strict, la résistance se définit comme la capacité d'un animal à limiter la taille de la population vermineuse hébergée, c'est-à-dire à prévenir l'installation de larves et/ou à provoquer leur élimination rapide et celles des adultes. Le nombre de vers installés est l'évaluation la plus juste et la plus directe de la résistance d'un animal, mais elle ne peut se mesurer qu'après abattage. Elle est donc difficilement envisageable dans un projet de sélection. De ce fait, le critère de sélection le plus fréquemment retenu comme indicateur phénotypique de résistance est l'excrétion d'œufs exprimée en nombre d'œufs par gramme de fèces (Baker, 1997). C'est une estimation indirecte de la charge parasitaire de l'animal et une évaluation de son pouvoir contaminateur, c'est-à-dire du nombre d'œufs excrétés sur le pâturage et susceptible de réinfester un autre animal. La résistance/sensibilité d'un animal au sens strict ne préfigure pas systématiquement de sa tolérance, aptitude de l'animal à survivre aux effets pathogènes du parasitisme (Albers *et al* 1987), ni de sa résilience, aptitude de l'animal à maintenir sa production en niveau subclinique d'infestation. Or ces acceptions sont les plus « parlantes » en termes de productivité d'élevage.

Ainsi, la résistance aux SGI est un phénomène complexe par le nombre de mécanismes physiologiques impliqués. L'estimer par un seul paramètre phénotypique expliquant l'ensemble

des processus inhérents est difficile (Dominik, 2005). On a donc recours à un ensemble de paramètres pour caractériser un statut de résistance ou de sensibilité. Ces paramètres peuvent être classés en trois catégories : les paramètres parasitologiques, immunologiques et pathologiques. Les paramètres parasitologiques (excrétion d'œufs, charge parasitaire) sont relatifs à des mesures du cycle parasitaire et reflètent le niveau d'infestation de l'animal. Les paramètres immunologiques (anticorps, éosinophilie, mastocytes, etc.) estiment la résistance à travers l'intensité des réactions immunitaires de l'hôte en présence de nématodes. Enfin, les paramètres pathologiques (hématocrite, albuminémie, pepsinogène sérique, « dag score ») évaluent les effets délétères de l'infestation parasitaire et reflètent la résilience des hôtes. La résilience s'évalue en perte de croissance par rapport à des animaux sains ou comme une fréquence de traitements anthelminthiques indispensables pour maintenir un bon niveau de croissance (infestation par *Trichostrongylus colubriformis*), ou contenir l'intensité de l'anémie lors d'infestation par *Haemonchus contortus* (méthode Famacha© Bath *et al* 1996, Mahieu *et al* 2007). La tolérance s'exprime quant à elle en terme de chance de survie à l'exposition à un stress parasitaire sévère (Mandonnet *et al* 2003).

Ces réflexions sur la résistance aux SGI illustrent la plus grande complexité à inclure un caractère d'adaptation dans un schéma de sélection par rapport à un caractère de production classique. En effet, il faut à la fois comprendre les mécanismes d'adaptation sur lesquels le sélectionneur veut faire levier et s'assurer qu'ils ne sont pas antagonistes avec ceux régulant la production de l'animal.

2. APPORTS DE LA GENETIQUE QUANTITATIVE A LA MAITRISE DES SGI – EXPERIENCES DE SELECTION

Les premiers travaux sur la résistance génétique aux SGI avaient pour objectif de mettre en évidence une variabilité inter et intra races exploitable en sélection et d'estimer les paramètres génétiques de la résistance, indicateurs de l'efficacité d'une telle sélection. Les Néo-Zélandais (Watson *et al* 1986) et les Australiens (Woolaston *et al* 1991) ont été pionniers en la matière, car confrontés intensément au problème du parasitisme. La majorité des études concerne l'espèce ovine mais quelques données existent dans l'espèce caprine, dont la chèvre Créole.

Tableau 1. Revue bibliographique des études de variabilité inter-race de la résistance aux strongles chez les différentes races ovines et caprines

Race résistante		Races comparées	Pays	Référence
Chèvres	Small East African	Galla	Kenya	Baker *et al* 1998, 2001
	Red Sokoto	Sahelian	Nigeria	Makun *et al* 2008
	Saanen	Angora	France	Hoste *et al* 2001
	West African Dwarf	Sahelian	Nigéria	Chiejina *et al* 2010
	Anglo-Nubians	Caninde	Brésil	Costa *et al* 2000
	Thai Native	50 % TN x 50 % AN	Thaïlande	Pralomkarn *et al* 1997
	Barbari	Jamunapari	Inde	Chauhan *et al* 2003a,b
Moutons	Gulf Coast Native	Suffolk	Etats-unis	Miller *et al* 1998, 2006, Li *et al* 2001
	St-Croix X Sumatra	Sumatra	Indonésie	Romjali *et al* 1997
	Java Fat-tail X Sumatra			
	Barbados Blackbell X Sumatra			
	Menz	Horro	Éthiopie	Tembely *et al* 1998, Rege *et al* 2002, Haile *et al* 2002
	Red Massai	Dorper	Kenya	Mugambi *et al* 1996, Wanyangu *et al* 1997, Baker *et al* 2003
	Red Massai	Dorper, Romney Marsh, Blackheaded Somali	Kenya	Mugambi *et al* 1997
	Crioula Lanada	Corriedale	Brésil	Bricarello *et al* 2004
	Lohi	Kachhi, Thalli	Pakistan	Saddiqi *et al* 2010a, b
	Criollo	Suffolk	Mexique	Alba-Hurtado *et al* 2010
	Santa Ines pure and crossbred	Suffol, Ile de France	Brésil	Amarante *et al* 2004, 2009
	Local Kashmiri	Crossbred Kashmir Merino > Bhakarwal, Corriedale	Inde	Tariq *et al* 2008
	St-Croix hair	Wool (50%Dorset, 25%Rambouillet, 25% Finnsheep)	États-Unis	MacKinnon *et al* 2010
	Canaria Hair	Canaria	Espagne	Gonzalez *et al* 2008
	Garole sheep	Decanni, Bannur	Inde	Nimbkar *et al* 2002, 2003
	Blackbelly	INRA401	Guadeloupe	Aumont *et al* 2003, Gruner *et al* 2003
	Djallonké	Djallongé-Sahelian	Gambie	Goossens *et al* 1999
	Merinoland	Rhoen	Allemagne	Gauly *et al* 2002, Hielscher *et al* 2006
	Dorper, Katahdin, St-Croix (Hair)	Hampshire	Etats-Unis	Burke et Miller, 2002, 2004
	Florida Native, FN x R	Rambouillet	Etats-Unis	Amarante *et al* 1999
	Texel	Suffolk	Irlande	Good *et al* 2006
	Sabi	Dorper	Zimbabwe	Matika *et al* 2003

2-1. EXPLOITATION DE DIFFERENCES ENTRE RACES

Des différences de résistance entre populations de petits ruminants ont été observées dans tous les grands types de systèmes de production en zone tropicale ou tempérée, et pour une grande variété d'espèces parasites (*H. contortus, T. colubriformis, Teladorsagia circumcincta, Oesophagostomum columbianum, Nematodirus sp.),* en infestation artificielle ou naturelle (Tableau 1).

Les races identifiées comme résistantes sont souvent des races locales, probablement parce qu'elles ont subi une plus forte pression de sélection naturelle par les parasites en l'absence de traitement et sont en équilibre avec leur milieu (moutons Florida Native, Gulf Coast Native, Blackbelly et Sainte Croix, chèvre Small East African et Créole). Cela leur confère une meilleure résilience en milieu difficile et donc une meilleure productivité (mouton Red Massaï au Kénya - Baker *et al* 2003; mouton Garole en Inde - Nimbkar *et al* 2003). Les races spécialisées plus sensibles ne parviennent pas à exprimer leur potentiel de production en présence d'un challenge sévère dans des systèmes d'élevage à faible niveau d'intrants.

Les races de moutons à poils (d'origine tropicale) semblent plus résistantes que la plupart de leur homologues à laine d'origine tempérée (MacKinnon *et al* 2010, Gruner *et al* 2004, Gonzalez *et al* 2008), conséquence d'une sélection naturelle en milieu fortement parasité. Les chèvres laitières sont également plus sensibles que les allaitantes car leurs besoins nutritionnels supérieurs à des fins de production affaiblissent leurs mécanismes de résistance. Ils les amènent par ailleurs à consommer plus d'herbe et donc les exposent plus aux parasites (Hoste *et al* 2001).

Ces connaissances orientent le choix des races pour un croisement ou une conduite en race pure, voies rapides pour changer la structure génétique d'une population. Suivant le milieu et le degré de spécialisation des populations de petits ruminants, la démarche sera sensiblement différente.

En zone tempérée, la maîtrise du parasitisme GI par substitution ou croisement se heurte au niveau de productivité élevé des races exploitées et cette voie n'est pas privilégiée. A notre connaissance, aucune expérience commerciale n'a été tentée en ce sens, même en Afrique du Sud

ou en Australie où l'élevage ovin peut être remis en cause par le parasitisme. Dans un futur plus ou moins proche, on pourra envisager l'introgression de gènes (allèles) de résistance identifiés dans une race locale vers une population tempérée spécialisée.

Dans les systèmes d'élevage tropicaux, en revanche les expériences de substitution de races locales par des races exotiques spécialisées ont été nombreuses mais ont invariablement échoué à court ou moyen terme. Les races tempérées ont un mauvais comportement dans les systèmes d'élevage à faible niveau d'intrant et fortes contraintes (Ayalew *et al* 2003, Rewe *et al* 2002). Cependant, il est possible de substituer une race locale par une race tropicale plus résistante (St Croix résistant en Indonésie et Philippines, BlackBelly résistant en Indonésie).

L'amélioration génétique par croisement ou substitution est globalement incertaine quant aux résultats et par ailleurs lourde et coûteuse à mettre en place (introduction de reproducteurs d'une nouvelle race, maintien de plusieurs noyaux de race pure en cas de croisement…). Elle ne correspond, pour le moment, ni aux niveaux de productivité de la zone tempérée, ni aux infrastructures présentes en zone tropicale (Alexandre et Mandonnet, 2005).

En 2008, les éleveurs caprins de Guadeloupe ont opté pour l'exploitation de leur population locale, la chèvre Créole, issue du métissage de races africaines et européennes durant la colonisation. Ils la destinent à la production de chevreaux de race pure et de chevreaux terminaux Boer*Créole pour la boucherie. Pour ce faire, ils exploiteront la variabilité intra-race Créole, autre voie d'amélioration génétique de la résistance aux SGI (Mandonnet, 2009).

2-2. EXPLOITATION DE LA VARIABILITE INTRA-RACE

La majorité des travaux intra-race se sont attachés à quantifier la variabilité génétique disponible intra populations ovines en vue d'inclure ce caractère dans les schémas de sélection. Les résultats montrent une héritabilité moyenne de la résistance (0,2-0,4), quel que soit le génotype de l'hôte (tableau 2). Une sélection efficace est donc envisageable. Dans le cas des caprins, les études sont peu nombreuses et parfois contradictoires. Certaines concluent à l'absence de variabilité génétique (Woolaston *et al* 1992) et d'autres à la possibilité de sélectionner efficacement (Baker

Tableau 2. Héritabilités du caractère de résistance aux SGI pour des populations ovines et caprines.

Région	Type infestation	Espèces nématodes	Race	Héritabilité	Références
Tropical	IN	Mixte	**Fijian**	0.04 ± 0.03	Woolaston *et al* 1992
Subtropical	IN	Mixte	**Galla + Small East African**	0.20 ± 0.14	Baker *et al* 2001
	IN	Mixte	**Barbari**	0.13 ± 0.04	Mandal et Sharma, 2008
	IN	Mixte	**Creole**	0.33 ± 0.06	Mandonnet *et al* 2001
	IN	Mixte	Avikalin	0.15 ± 0.10	Prince *et al* 2010
	IN	Mixte	Red Massai	0.33 ± 0.10	Baker *et al* 1994
	IN	Mixte	Dorper	0.31 ± 0.14	Baker *et al* 2003
	IN	Mixte	Santa Ines	0.18 ± 0.05	McManus *et al* 2009
	IE	Hc	Garole et Decanni	0.36 ± 0.22	Nimbkar *et al* 2003
Tempéré	IE -IN	Tc-Mixte	**Australian Angora**	0.12 ± 0.08	Bolormaa *et al* 2010a
	IN	Mixte	**Cross bred cashmere**	0.17 ± 0.02	Vagenas *et al* 2002
	IN	Mixte	**Saanen**	0.05 ± 0.03	Morris *et al* 1997b
	IN	Mixte	Blueface Leicaster X Scottish Blackface	0.09 ± 0.04	Wolf *et al* 2008
	IE	Hc, Tc	INRA401	0.39 à 0.48	Gruner *et al* 2004
	IN	Mixte	Rhön	0.44 ± 0.11	Gauly et Erhardt, 2001
	IN	Mixte	Polish longwool	0.20 à 0.33	Bouix *et al* 1998
	IE	Hc	50%Dorset, 25 % Romney 25 % Finnsheep	0.19	Vanimisetti *et al* 2004
	IN	Mixte	Perendale	0.22 ± 0.03	Morris *et al* 2005
	IN	Mixte	Texel	0.17 à 0.25	Bishop *et al* 2004
	IN	Mixte	Soay	0.26 ± 0.01	Beraldi *et al* 2007
	IN	Mixte	Scottish Blackface	0.33 ± 0.15	Davies *et al* 2005
	IN	Mixte	Menz	0.01 ± 0.02	Rege *et al* 2002
	IN	Mixte	crossbred romney	0.34 ± 0.20	Watson *et al* 1986
	IN	Mixte	Romney	0.42 ± 0.06	Morris *et al* 1997a
	IN	Mixte	Romney	0.13 ± 0.07	McEwan et al., 1992
	IN	Mixte	Romney	0.35 ± 0.02	Morris *et al* 2004
	IE	Hc	Merinoland	0.17 ± 0.07	Gauly *et al* 2002
	IE	Hc	Merino-HR-LR	0.49 ± 0.17	Sréter *et al* 1994
	IE	Hc	Merino	0.29 ± 0.03	Woolaston et Piper, 1996
	IE	Hc	Merino	0.26 ± 0.09	Albers *et al* 1987
	IN	Mixte	Merino	0.21 ± 0.02	Khusro *et al* 2004
	IE	Tc	Merino	0.39 ± 0.05	Woolaston et Windon, 2001
	IN	Mixte	Merino	0.33 ± 0.11	Pollot *et al* 2004

et al 2001). Dans ce cas, la variabilité génétique disponible pour la sélection paraît moitié moins importante qu'en ovin avec une héritabilité voisine de 0,2 (Tableau 2). Ceci peut être dû au fait que les mécanismes de résistance seraient moins développés chez la chèvre que chez le mouton. En effet, les chèvres ont une alimentation principalement de cueilleurs tandis que les ovins, brouteurs, sont soumis à une pression de sélection plus importante de la part des parasites gastro-intestinaux. La coévolution plus intime entre les ovins et les strongles aurait ainsi abouti à des mécanismes de résistance plus complexes (Mirkena *et al* 2010), et donc une variabilité génétique de ce caractère plus importante que chez les chèvres. Par ailleurs, quelque soit l'espèce, une fois le sevrage passé, le caractère de résistance n'est plus contrôlé par des caractères maternels (Baker *et al* 1998 ; Bishop et Stear, 2001 ; Mandonnet *et al* 2001, 2006). Ce sont uniquement les gènes de résistance de l'individu qui s'expriment. Cette absence d'effets génétiques maternels augmente l'efficacité de la sélection car, quand ils existent, leur relation est généralement défavorable avec les effets génétiques directs.

En ovins, les mêmes gènes semblent exprimés en infestation expérimentale et en infestation naturelle au pâturage (Gruner *et al* 2004a ; Watson *et al* 1992 ; Woolaston et Eady, 1995). Une fois l'immunité de l'hôte acquise vis-à-vis des strongles, les mécanismes de résistance qui s'expriment pour bloquer l'installation et le développement de la population vermineuse sont indépendants du mode d'infestation. En caprins, les seuls résultats connus ont été obtenus en chèvres Créoles et aboutissent aux mêmes conclusions (Bambou *et al* 2010). Dans le cadre d'un schéma de sélection d'une population de petits ruminants conduits au pâturage, il est ainsi possible de comparer les reproducteurs sur leur résistance génétique aux SGI suite à une infestation expérimentale standardisée. De plus, la spécificité de la résistance ne semble pas si étroite avec la souche de parasite voire même avec l'espèce de parasite (Gruner *et al* 2004; Bambou *et al* 2010). Ainsi un animal sélectionné pour sa résistance à *H.contortus* présentera un certain niveau de protection vis-à-vis de *T.colubriformis*, les espèces dominantes en zone tropicale.

Les gènes qui contrôlent le caractère de résistance sont pour partie identiques aux différents stades de production (Woolaston, 1992 ; Morris *et al* 1998 ; Mandonnet *et al* 2006). Ainsi, la sélection d'animaux résistants en phase de croissance diminue également la sensibilité des

chèvres autour du part, point épidémiologique clé pour la propagation des parasites aux jeunes sous la mère. Par ailleurs, la grande majorité des études concluent à des relations favorables ou neutres entre résistance et caractères de production ou de reproduction. Vanimissetti *et al* (2004) ont montré l'absence de contrôle génétique commun entre caractères de reproduction et résistance aux parasites chez l'agneau. Dans leur revue bibliographique, Safari *et al* (2005) rapportent une corrélation génétique moyenne de -0,24 entre le poids et l'excrétion d'œufs en ovin. En chèvre Créole, des relations neutres ont été estimées entre fertilité, prolificité, valeur laitière et excrétion d'œufs tandis que la corrélation avec le poids à la mise en reproduction est légèrement favorable (Gunia *et al* 2011). Les gènes qui contrôlent la résistance ne sont pas (ou peu) impliqués dans le déterminisme des caractères productifs. L'amélioration de la résistance des petits ruminants ne va donc pas à l'encontre de l'amélioration de ces caractères.

Les critères de mesure classiques de la résistance sont l'excrétion d'œufs (OPG) et l'hématocrite. Ces critères sont très corrélés bien que ne recouvrant pas les mêmes aspects du caractère de résistance. En effet, l'hématocrite, corrélé fortement avec les variables de poids, est plus considéré comme un critère de résilience quelque soit l'espèce parasite dominante (Mandonnet *et al* 2001 ; Gunia *et al* 2011). La résilience peut être également prise en compte dans un schéma en concentrant l'effort de sélection sur les caractères de production dans le milieu contraignant et en laissant la composante adaptation sous l'effet de la sélection naturelle. Cette voie est moins efficace qu'une prise en compte directe de la résistance en particulier parce que les antagonismes génétiques entre production et adaptation sont négligés (Finch 1986, Davis 1993). Cependant, du progrès génétique peut être obtenu (Poivey 1987). Par ailleurs, la sélection doit intervenir dans un milieu le plus proche possible du milieu de production afin d'éviter les interactions génotype*environnement très fréquentes en milieu contraignant (Vercoe et Frish 1992, Naves 2003, Menendez et Mandonnet 2006).

Dans le cas de la résistance aux strongles, beaucoup de connaissances sont déjà disponibles et le sélectionneur désirant l'inclure directement dans son schéma d'amélioration génétique se trouve dans une situation favorable. La prise en compte de la résistance a un coût uniquement sur l'intensité de sélection qu'elle diminue pour les caractères de production mais reste neutre (voire légèrement favorable) vis-à-vis de leur variabilité génétique. Il apparaît de plus que les parasites

ne pourront pas s'adapter à une résistance accrue de l'hôte (Saulai *et al* 2001, Kemper *et al* 2009) du fait du déterminisme fondamentalement polygénique de ce caractère. En effet, le critère le plus utilisé (OPG) fait la synthèse de divers mécanismes visant à limiter l'installation des vers, leur développement dans le tractus digestif et la prolificité des vers femelles. En Australie, tous ces résultats ont permis la mise en place d'un service nommé WormBoss, développé par l'Australian Sheep Industry Cooperative Research Centre (Sheep CRC) et l'Australian Wool Innovation AWI, pour aider les éleveurs à contrôler les populations vermineuses dans leurs élevages et à sélectionner les béliers résistants aux SGI. Au Kenya, Gicheha *et al* (2005, 2007) ont proposé un objectif de sélection pour les élevages d'ovin viande les plus productifs en zone tropicale, incluant la résistance aux strongles. En Guadeloupe, un schéma de sélection des caprins Créoles combinant résistance aux strongles, qualités maternelles et production de viande dans un objectif économique synthétique, est en cours de mise en œuvre (Gunia *et al* 2010).

3. PEUT-ON ENVISAGER L'UTILISATION D'INFORMATIONS GENOMIQUES POUR AMELIORER LA RESISTANCE GENETIQUE AUX SGI ?

Dans les années 90, l'essor des technologies de biologie moléculaire a fait naître de grands espoirs chez les sélectionneurs. L'information moléculaire est venue compléter l'information phénotypique et généalogique. Cette information, coûteuse rapportée à la valeur individuelle du petit ruminant, peut en théorie se justifier dans le cas de caractères difficiles à mesurer comme la résistance aux SGI.

De nombreux programmes de recherche à travers le monde ont donc concerné la détection de QTL (Quantitative Trait Loci) de résistance aux SGI chez les petits ruminants. Deux stratégies ont été utilisées. La première, nommée « approche par gène candidat », étudie la relation entre un caractère et un gène connu qui serait associé aux mécanismes physiologiques impliqués dans l'expression du caractère (Sourdioux *et al* 1997). La seconde approche, « genome scan », consiste à étudier la relation entre un caractère et différents marqueurs génétiques répartis sur tout le génome de l'animal, sans *a priori* (Sourdioux *et al* 1997). Cette approche permet d'identifier une position possible d'un QTL sur un chromosome donné. La première stratégie peut s'avérer très efficace s'il existe une bonne connaissance préalable de la physiologie du

caractère, qui a orienté le choix du gène candidat. À l'inverse, la méthode du *genome scan* est une première étape et doit être poursuivie par une cartographie plus fine des régions identifiées dans les premières analyses. Le choix de la stratégie repose essentiellement sur l'état des connaissances des mécanismes entourant le caractère et le budget disponible. Dans le but d'identifier avec précision un gène responsable du niveau d'un caractère, les deux approches peuvent être utilisées de façon complémentaire, l'approche par *genome scan* fournissant un point d'ancrage pour une cartographie physique et l'approche par gène candidat, des arguments fonctionnels et métaboliques (Sourdioux *et al* 1997). Le développement des nouvelles technologies de génomique permettent de concevoir ces 2 étapes en une seule grâce à des puces SNP (Single Nucleotide Polymorphism) pangénomiques très denses en marqueurs et à des puces dédiées à des caractères particuliers. Aucun résultat n'est encore disponible avec ces nouvelles méthodes.

La majorité des résultats publiés à ce jour concerne, une fois encore, l'espèce ovine (Bishop et Morris, 2007 ; Moreno *et al* 2006 ; Crawford *et al* 2006). A ce jour, deux études de recherche de QTL existent chez l'espèce caprine. La première réalisée sur des chèvres Australiennes utilise l'approche par gène candidat tandis que la seconde étude est présentement menée en Guadeloupe sur la chèvre Créole en utilisant une approche de génome scan (de la Chevrotière *et al* 2009). Les résultats ovins peuvent toutefois orienter les recherches effectuées dans l'espèce caprine. En effet, le mouton et la chèvre appartiennent tous deux à la famille Bovidae et la sous-famille Caprinae. La chèvre fait partie du genre *Capra* tandis que le mouton fait partie du genre *Ovis.* La lignée Caprinae aurait divergé des Bovidae il y a environ 17 à 18 millions d'années (Allard *et al* 1992). Les genres *Capra* et *Ovis* se seraient séparés il y a 8 millions d'années (Randi *et al* 1991, cité par Vaiman *et al* 1996). La conservation des chromosomes au sein d'espèces issues d'un ancêtre commun, comme c'est le cas pour le bœuf, le mouton et la chèvre, aurait permis une certaine homologie dans la localisation des gènes d'espèces proches. L'étude de Othman (2004) confirme l'hypothèse de l'homologie génétique: les 16 microsatellites testés sur le buffle (*Bubalus bubalis*), le bœuf (*Bos taurus*) et le mouton (*Ovis aries*) sont localisés sur des chromosomes équivalents. Cette homologie chromosomique est un bon indicateur de l'homologie génétique entre ces espèces.

Tableau 3. Synthèse des QTL de résistance aux strongles gastro-intestinaux chez les petits ruminants (Partie 1)

Chr.*						
CHI	**OAR**	**Population**	**Strongles**	**Caractère**	**Gène candidat**	**Références**
3 et 1	1	Merinos, Romneys, Spanish Churra,	Multi-espèces, *T. colubriformis*, *H. contortus*	OPG, vers adultes, IgA		Beh *et al* 2002, Diez-Tascon *et al* 2002, Davies *et al* 2006, Gutiérrez-Gil *et al* 2009, Marshall *et al* 2009
8 et 2	2	Scottish Blackface, Sarde x Lacaune, Merinos, Romneys	Multi-espèces, *H. contortus*	OPG, vers adultes		Moreno *et al* 2006, Crawford *et al* 2006, Marshall *et al* 2009
11 et 5	3	Scottish Blackface, Merinos, Soay, Sarde x Lacaune, Blackbelly x INRA401, Texel,	Multi-espèces, *T. colubriformis*, *H. contortus*, *T. circumcincta*	OPG, IgA	IFNG	Coltman *et al* 2001, Beh *et al* 2002, Sayers *et al* 2005b Davies *et al* 2006, Moreno *et al* 2006, Marshall *et al* 2009
4	4	Sarde x Lacaune, Merinos	Multi-espèces, *H. contortus*	OPG		Moreno *et al* 2006, Marshall *et al* 2009
7	5	BlackBelly x INRA401	*H. contortus*	OPG, PCV		Moreno *et al* 2006
7	5	BlackBelly x INRA401, Corriedale, Polwart	Multi-espèces, *H. contortus*	OPG, PCV	IL-3, IL-4, IL-5	Benavides *et al* 2002, Moreno *et al* 2006
6	6	Merinos, Sarde x Lacaune, Spanish Churra,	Multi-espèces, *T. colubriformis*, *H. contortus*	OPG	GR01, KIT, IF1	Beh *et al* 2002, Moreno *et al* 2006, Gutiérrez-Gil *et al* 2009, Marshall *et al* 2009
10	7	BlackBelly x INRA401, Merinos	*H. contortus*	OPG		Moreno *et al* 2006, Marshall *et al* 2009
8	8	Sarde x Lacaune, Merinos, Romneys	Multi-espèces, *H. contortus*	OPG, vers adultes		Moreno *et al* 2006, Crawford *et al* 2006, Marshall *et al* 2009
14	9	Merinos	*H. contortus*	OPG		Marshall *et al* 2009
12	10	Sarde x Lacaune, Spanish Churra, Merinos	Multi-espèces, *H. contortus*	OPG		Moreno *et al* 2006, Gutiérrez-Gil *et al* 2009, Marshall *et al* 2009
19	11	Merinos, Romneys	Multi-espèces, *T. colubriformis*, *H. contortus*	OPG, vers adultes		Beh *et al* 2002, Crawford *et al* 2006, Marshall *et al* 2009
16	12	Merinos, Sarde x Lacaune, BlackBelly x INRA401	Multi-espèces, *T. colubriformis*, *H. contortus*	OPG		Beh *et al* 2002, Moreno *et al* 2006, Marshall *et al* 2009
13	13	Sarde x Lacaune, BlackBelly x INRA401	Multi-espèces, *H. contortus*	OPG, PCV		Moreno *et al* 2006
18	14	Scottish Blackface, Sarde x Lacaune, Spanish Churra	Multi-espèces	OPG		Davies *et al* 2006, Moreno *et al* 2006, Gutiérrez-Gil *et al* 2009
15	15	Merinos	*H. contortus*	OPG		Marshall *et al* 2009
20	16	Sarde x Lacaune, Merinos	Multi-espèces, *H. contortus*	OPG		Moreno *et al* 2006, Marshall *et al* 2009
21	18	Merinos	*T. colubriformis*, *H. contortus*	OPG	IgE	Clarke *et al* 2001, Marshall *et al* 2009
22	19	Sarde x Lacaune	Multi-espèces	OPG		Moreno *et al* 2006

* Chromosomes ovins (OAR) et caprins (CHI)

L'existence de cette homologie interspécifique révèle son importance dans la recherche des QTL de résistance aux nématodes gastro-intestinaux chez les petits ruminants. On peut penser que les QTL de résistance trouvés chez le mouton peuvent être les mêmes et localisés sur des chromosomes équivalents chez la chèvre. L'ensemble des résultats de QTL de résistance aux nématodes gastro-intestinaux (Tableau 3) met en évidence 5 régions chromosomiques principales où sont codés des gènes impliqués dans la réponse immunitaire et qui auraient un rôle possible dans la mise en place d'une résistance aux parasites.

La région chromosomique près de l'interféron gamma (IFN-γ), située sur le chromosome 3 ovin, est également associé à de nombreux QTL. L'IFN-γ est une cytokine sécrétée par les lymphocytes Th1. Son rôle est d'activer les macrophages et de favoriser la réponse immunitaire de type Th1 aux dépens de la réponse de type Th2. Les résultats obtenus par Coltman *et al* (2001) démontrent une association avec un QTL situé près de la région de l'IFN-γ et une excrétion d'œufs faibles chez le mouton de Soay. Ce QTL est aussi associé à une augmentation du niveau d'IgA chez des agneaux de 4 mois d'âge. Ces résultats suggèrent que l'effet du gène interféron sur l'excrétion d'œufs serait influencé par le niveau d'IgA. En effet, une faible production de la cytokine IFN-γ inhiberait la réponse Th1 en faveur de la réponse Th2 et donc augmenterait la production d'IgA.

Le chromosome 5 ovin, porteur de gènes codant pour les interleukines IL-4 et 5, a également été associé à un QTL de résistance situé près de ces gènes (Benavides *et al* 2002). Les IL-4 et 5 sont impliqués directement dans la réponse immunitaire de type Th2 en activant la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes sécréteurs d'IgA, IgE et IgG. Leur rôle potentiel confirmerait que l'acquisition de la résistance aux nématodes gastro-intestinaux passe par la mise en place d'une réponse immunitaire de type Th2.

Le chromosome 6 ovin est associé à un QTL de résistance pour une excrétion d'œufs faible près de gènes ayant des fonctions immunologiques. Les gènes GRO1, KIT, PDGFRA et IF1 sont localisés près du QTL trouvé. GRO1 est oncogène impliqué dans la chimiotaxie des neutrophiles, macrophages et lymphocytes.

Tableau 3. Synthèse des QTL de résistance aux strongles gastro-intestinaux chez les petits ruminants (Partie 2)

Chr.*		Population	Strongles	Caractère	Gène candidat	Références
CHI	OAR					
23	20	Scottish Blackface, Rhönschaf, Polish Heath, Soay, Merinos, Suffolk, Chèvres Angora et Cashmere	Multi-espèces, *H. contortus*, *T. circumcincta*	OPG, PCV, IgA, IgL, eosinophiles	CMH	Janssen *et al* 2002, Marshall *et al* 2009, Bolormaa *et al* 2010b
29	21	Sarde x Lacaune, Merinos	Multi-espèces, *H. contortus*	OPG		Moreno *et al* 2006, Marshall *et al* 2009
26	22	Merinos	*H. contortus*	OPG		Marshall *et al* 2009
24	23	BlackBelly x INRA401, Romneys	Multi-espèces, *H. contortus*	OPG, IgG, IgE		Moreno *et al* 2006, Crawford *et al* 2006
25	24	Merinos	*H. contortus*	OPG		Marshall *et al* 2009
28	25	Merinos	*H. contortus*	OPG		Marshall *et al* 2009
27	26	Merinos	*H. contortus*	OPG		Marshall *et al* 2009
	X	Merinos	*H. contortus*	OPG		Marshall *et al* 2009

* Chromosomes ovins (OAR) et caprins (CHI)

Le chromosome 18 ovin est porteur du gène codant pour l'IgE pour lequel une association entre un allèle de ce gène et la résistance à *T. colubriformis* mesuré par l'excrétion d'œufs a été mise en évidence par Clarke *et al* (2001). Le gène IgE est situé sur le chromosome 18 chez le mouton. L'IgE est aussi un acteur important dans la réponse immunitaire de type Th2 et serait nécessaire à l'expulsion des vers adultes. Des niveaux élevés d'IgE ont souvent été observés chez des animaux résistants.

Le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), situé sur le chromosome 20 ovin, a été aussi associé avec de nombreux QTL. Des QTL situés près de cette région ont également été mis en évidence chez la chèvre sur le chromosome homologue 23 (Boloorma *et al* 2010). Le CMH est une région multi-génique qui fait l'interface entre le système immunitaire et les maladies infectieuses. Les gènes codent pour des protéines réceptrices situés sur la surface de cellules immunes ou non. Le rôle principal de ces récepteurs est de reconnaître les antigènes et de les présenter aux lymphocytes T. Les gènes du CMH sont divisés en deux classes distinctes : les gènes de classe I et II. Chez les mammifères, ces deux classes forment un unique complexe génique. Les molécules de classe I sont présentes dans toutes les cellules nucléées et ont essentiellement pour rôle de reconnaître des antigènes endogènes. Elles ont un rôle essentiel dans la défense contre les pathogènes intracellulaires. Les molécules de classe II sont présentes seulement sur les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) du système immunitaire. Elles reconnaissent principalement les antigènes exogènes et les présentent aux lymphocytes T. Le système immunitaire des animaux résistants aux nématodes gastro-intestinaux aurait une plus grande capacité de reconnaissance des antigènes spécifiques des parasites, grâce aux molécules du CMH.

Cependant, de nombreuses autres régions interviennent et les QTL détectés semblent dispersés sur tout le génome suggérant, en l'état actuel des connaissances, que la résistance a fondamentalement un déterminisme polygénique (Bishop, 2010).

La sélection assistée par marqueurs ou par gènes n'est pas possible à l'heure actuelle pour le caractère de résistance aux SGI. Bien que certains QTL soient localisés près de gènes connus, les mutations causales ne sont pas identifiées. Une cartographie plus fine de ces régions est

nécessaire pour isoler le ou les gènes responsables de la variation génétique. La disponibilité en puces pangénomiques haute densité et en puces dédiées à la résistance chez les ovins et les caprins permet d'envisager des avancées dans ce domaine. En effet, dans un futur assez proche, la sélection génomique pourrait permettre d'indexer les reproducteurs sur des caractères complexes tels que la résistance aux strongles. Avec des infrastructures relativement réduites et un coût de plus en plus raisonnable, il devient envisageable de sélectionner de grandes populations, sans pedigree, ni performances. Cependant, la mise en œuvre de ces nouveaux outils nécessite des investissements à entreprendre en collaboration et les structures de population requises (taille de population de référence) ne sont pas disponibles dans tous les génotypes tropicaux.

Cette approche génomique n'ouvre pas actuellement de réelles avancées dans la maîtrise du parasitisme, mais elle a permis une évolution notable dans la caractérisation de la résistance. En effet, les différents QTL trouvés amènent à analyser la composante immunitaire de la résistance. La réponse immune des ovins vis-à-vis des strongles est bien décrite (Terefe *et al* 2007). Leur résistance génétique induit la prolifération de mastocytes, de globules blancs et éosinophiles dans la muqueuse gastro-intestinale. Cette réponse produit des immunoglobulines A, G1 et E spécifiques.

L'expression de gènes impliqués dans la résistance aux strongles gastrointestinaux a été récemment étudiée chez l'espèce ovine (Diez-Tascon *et al* 2004, Keane *et al* 2007, Rowe *et al* 2009, MacKinnon *et al* 2009, Andronicos *et al* 2010). Ces études ont mis en évidence plusieurs gènes du CMH ou impliqués dans la structure du muscle lisse intestinal et différentiellement exprimés chez des moutons résistants et sensibles (Diez-Tascon *et al* 2004 et Kean *et al* 2007). Malgré tout, les hypothèses restent nombreuses quant à l'enchaînement des mécanismes et l'identification du mécanisme dominant, décisif dans cette chaîne. Les travaux en caprin sont rares. Les premières hypothèses ont été avancées en chèvre Créole (Bambou *et al* 2009a et b).

CONCLUSION

L'amélioration génétique apparaît comme une des voies durables pour rétablir un équilibre entre les petits ruminants et leurs parasites GI, équilibre qui soit gérable au sein du système d'élevage. Il faut avant tout capitaliser sur des génotypes adaptés au milieu c'est-à-dire à la pression parasitaire locale, notamment en zone tropicale. Leur résistance peut ensuite être augmentée efficacement par sélection conjointement à leurs performances de production. Ces connaissances militent donc pour la prise en compte de ce caractère d'adaptation dans les schémas de sélection. L'application est encore limitée à quelques cas comme en Australie pour les ovins. C'est également l'option choisie par les éleveurs caprins guadeloupéens. Cependant, pour gagner en efficacité et en durabilité, la résistance génétique aux SGI doit être combinée à d'autres voies de maîtrise du parasitisme, dans le cadre d'une lutte intégrée.

RÉFÉRENCES

Albers G.A.A., Gray G.D., Piper L.R., Barker J.S.F., Le Jambre L.F., Barger I.A., 1987. The genetics of resistance and resilience to Haemonchus contortus infection in young Merino sheep. Int. J. Parasitol., 17, 1355-1363.

Alba-Hurtado F., Romero-Escobedo E., Muñoz-Guzmán M.A., Torres-Hernández G., Becerril-Pérez C.M., 2010. Comparison of parasitological and productive traits of *Criollo* lambs native to the central Mexican Plateau and Suffolk lambs experimentally infection with *Haemonchus contortus*. Vet. Parasitol., 172, 277-282.

Alexandre G., Mandonnet N., 2005. Goat meat production in harsh environments. Small Rum. Res., 60, 53-66.

Allard M.W., Miyamoto M.M., Jarecki L., Kraus F., Tennant M.R., 1992. DNA systematics and evolution of the artiodactyl family Bovidae. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 89, 3972-3976.

Amarante A.F.T., Craig T.M., Ramsey W.S., El-Sayed N.M., Desouki A.Y., Bazer F.W., 1999. Comparison of naturally acquired parasite burdens among Florida Native, Rambouillet and crossbreed ewes. Vet. Parasitol., 85, 61-69.

Amarante A.F.T., Bricarello P.A., Rocha R.A., Gennari S.M., 2004. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France sheep to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. Vet. Parasitol., 120, 91-106.

Amarante A.F.T., Susin I., Rocha R.A., Silva M.B., Mendes C.Q., Pires A.V., 2009. Resistance of Santa Ines and crossbred ewes to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. Vet. Parasitol., 165, 273-280.

Andronicos N., Hunt P., Windon R., 2010. Expression of genes in gastrointestinal and lymphatic tissues during parasite infection in sheep genetically resistant or susceptible to *Trichostrongylus colubriformis* and *Haemonchus contortus*. Int. J. Parasitol., 40, 417-429.

Aumont G., Gruner L., Hostache G., 2003. Comparison of the resistance to sympatric and allopatric isolated of *Haemonchus contortus* of Black Belly sheep in Guadeloupe (FWI) and of INRA 401 sheep in France. Vet. Parasitol., 116, 139-150.

Ayalew W., Rischkowsky B., King J.M., Bruns E., 2003. Crossbreds did not generate more net benefits than indigenous goats in Ethiopian smallholdings. Agric. Sys., 76, 1137–1156.

Baker R.L., 1997. Résistance génétique des petits ruminants aux helminthes en Afrique. Inra Prod. Anim., 10, 99-110.

Baker R.L., Gray G.D. 2003. Appropriate breeds and breeding schemes for sheep and goats in the tropics. Sani, R.A., Gray, G.D., Baker, R.L. (Eds.) Worm Control for Small Ruminants in Tropical Asia, Monograph 113. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), 63–95.

Baker R.L., Mwamachi D.M., Audho J.O., Thorpe W., 1994. Genetic resistance to gastrointestinal nematode parasites in red Maasai sheep in Kenya. In: session 38 Eds Smith C, Gavora JS et al., 5th WCGALP Guelph (Canada), 20: 277-280

Baker R.L., Mwamachi D.M., Audho J.O., Aduda E.O., Thorpe W., 1998. Resistance of Galla and Small East African goats in the sub-humid tropics to gastrointestinal nematode infections and the peri-parturient rise in faecal egg counts. Vet. Parasitol., 79, 53-64.

Baker R.L., Audho J.O., Aduda E.O., Thorpe W., 2001. Genetic resistance to gastro-intestinal nematode parasites in Galla and Small East African goats in the sub-humid tropics. Anim. Sci., 73, 61-70.

Baker R.L., Nagda S., Rodrigez-Zas S.L., Southey B.R., Audho J.O., Aduda E.O., Thorpe W., 2003. Resistance and resilience to gastro-intestinal nematode parasites and relationships with productivity of Red Maasai, Dorper and Red Maasai x Dorper crossbred lambs in the sub-humid tropics. Anim. Sci., 76, 119-136.

Bambou J.C., Arquet R., Archimede H., Alexandre G., Mandonnet N., Gonzalez-Garcia E., 2009a. Intake and digestibility of naïve kids differing in genetic resistance and experimentally parasitized (indoors) with Haemonchus contortus in two successive challenges. J. Anim. Sci., 87, 2367-2375.

Bambou J.C., Gonzalez-Garcia E., de la Chevrotière C., Arquet R., Vachiery N., Mandonnet N., 2009b Peripheral immune response in resistant and susceptible Creole kids experimentally infected with *Haemonchus contortus*. Small Rum. Res., 82, 34-39.

Bambou J.C., de la Chevrotière C., Gunia M., Arquet R., Mandonnet N. 2010. Genetic correlation between resistance to strongyle natural infection and resistance to *Haemonchus contortus* experimental infection in Creole goats. *submitted for the Xth International Goat Congress 2010, Recife, Brasil.*

Bath G.F., Malan F.S., Van Wyk J.A., 1996. The "FAMACHA" ovine anaemia guide to assist with the control of haemonchosis. 7th annual congress of the livestock health and production group of the South African Veterinary Association, 152-156

Beh K.J., Hulme D.J., Callaghan M.J., Leish Z., Lenane I., Windon R.G., Maddox J.F., 2002. A genome scan for quantitative trait loci affecting resistance to Trichostrongylus colubriformis in sheep. Anim. Genet., 33, 97-106.

Benavides M.V., Weimer T.A., Borba M.F.S., Berne M.E.A., Sacco A.M.S., 2002. Association between microsatellite markers of sheep chromosome 5 and faecal egg counts. Small Rum. Res., 46, 97-105.

Beraldi D., McRae A.F., Gratten J., Pilkington J.G., Slate J., Visscher P.M., Pemberton J.M., 2007. Quantitative trait loci (QTL) mapping of resistance to strongyles and coccidia in the free-living Soay sheep (Ovis aries). Int. J. Parasitol., 37,121-129.

Bishop S.C. 2010. How to account for adaptation in breeding schemes for ruminant production under tropics: focus on resistance to strongyles in small ruminants? Advances in Animal Biosciences,384 (doi: 10.1017/S2040470010000129)

Bishop S.C., Morris C.A., 2007. Genetics of disease resistance in sheep and goats. Small Rum. Res., 70, 48-59.

Bishop S.C., Stear M.J., 2001. Inheritance of, and factors affecting, egg counts during early lactation in Scottish Blackface ewes facing mixed, natural nematode infections, Anim. Sci., 73, 389–395.

Bishop S.C., Jackson F., Coop R.L., Stear M.J., 2004. Genetic parameters for resistance to nematode infections in Texel lambs and their utility in breeding programmes. Anim. Sci., 78, 185-194.

Bouix J., Krupinski J., Rzepecki R., Nowosad B., Skrzyzala I., Roborzynski M., Fudalewicz-Niemczyk W., Skalska M., Malczewski A., Gruner L., 1998. Genetic resistance to gastrointestinal nematode parasites in Polish long-wool sheep. Int. J. Parasitol., 28, 1797-1804.

Bolormaa S., Olayemi M., van der Werf J.H.J., Baillie N., Le Jambre F., Ruvinsky A., Walkden-Brown S.S., 2010a. Estimates of genetic and phenotypic parameters for production, haematological and gastrointestinal nematode-associated traits in Australian Angora goats. Anim. Prod. Sci., 50, 25-36.

Bolormaa S., van der Werf J.H.J., Walkden-Brown S.W., Marshall K., Ruvinsky A., 2010b. A quantitative trait locus for faecal worm egg and blood eosinophil counts on chromosome 23 in Australian goats. J. Anim. Breed. Genet., 127, 207-214.

Bricarello P.A., Gennari S.M., Oliveira-Sequeira T.C.G., Vaz C.M.S.L., Gonçalves de Gonçalves I., Echevarria F.A.M., 2004. Worm burden and immunological responses in Corriedale and Crioula Lanada sheep following natural infection with *Haemonchus contortus*. Small Rum. Res., 51, 75-83.

Buitkamp J., Filmether P., Stear M.J., Epplen J.T., 1996. Class I and class II major histocompatibility complex alleles are associated with faecal egg counts following natural, predominantly Ostertagia circumcincta infection. Parasitol. Res., 82, 693-696.

Burke J.M., Miller J.E., 2002. Relative resistance of Dorper crossbred ewes to gastrointestinal nematode infection compared with St. Croix and Katahdin ewes in southeastern United States. Vet. Parasitol., 109, 265-275.

Burke J.M., Miller J.E., 2004. Relative resistance to gastrointestinal nematode parasites in Dorper, Katahdin, and St. Croix lambs under conditions encountered in the southeastern region of the United States. Small Rum. Res., 54, 43-51.

Charon K.M., Moskwa B., Rutkowski R., Gruszczynska J., Swiderek W., 2002. Microsatellite polymorphism in DRB 1 gene (MHC class II) and its relation to nematode faecal egg count in Polish Heath Sheep. J. Anim. Feed Sci., 11, 47-58.

Chauhan K.K., Rout P.K., Singh P.K., Mandal A., Singh S.K., Roy R., 2003a. Genetic resistance of Barbari and Jamunapari kids to natural infection with gastrointestinal nematode. Trop. Anim. Health Prod., 35, 397-408.

Chauhan K.K., Rout P.K., Singh P.K., Mandal A., Singh H.N., Roy R., Singh S.K., 2003b. Susceptibility to natural gastro-intestinal nematode infection in different physiological stages in Jamunapari and Barbari goats in the semi-arid tropics. Small Rum. Res., 50, 219-223.

Chiejina S.N., Behnke J.M., Musongsong G.A., Nnadi P.A., Ngongeh L.A., 2010. Resistance and resilience of West African Dwarf goats of the Nigerian savanna zone exposed to experimental escalating primary and challenge infection with *Haemonchus contortus*. Vet. Parasitol., 171, 81-90.

Clarke R.A., Burn A.L., Lenane I., Windon R.G., Beh K.J., 2001. Molecular analysis and nematode resistance association of a polymorphism at the 5 ' end of the sheep IgE gene. Vet. Immunol. Immunopathol., 79, 15-29.

Coltman D.W., Wilson K., Pilkington J.G., Stear M.J., Pemberton J.M., 2001. A microsatellite polymorphism in the gamma interferon gene is associated with resistance to gastrointestinal nematodes in a naturally-parasitized population of Soay sheep. Parasitology, 122, 571-582.

Costa C.A.F., Vieira L. da S., Berne M.E.A., Silva M.U.D., Guidoni A.L., Figueiredo E.A.P., 2000. Variability of resistance in goats infected with Haemonchus contortus in Brazil. Vet. Parasitol., 88, 153-158.

Crawford A.M., Paterson K.A., Dodds K.G., Diez Tascon C., Williamson P.A., Thomson M.R., Bisset S.A., Beattie A.E., Greer G.J., Green R.S., Wheeler R., Shaw R.J., Knowler K., McEwan C., 2006. Discovery of quantitative trait loci for resistance to parasitic nematode infection in sheep: I. Analysis of outcross pedigrees. BMC Genomics, 7, 178-187.

Davies G., Stear M.J., Bishop S.C., 2005. Genetic relationships between indicator traits and nematode parasite infection levels in 6-month-old lambs. Anim. Sci., 80, 143-150.

Davies G., Stear M.J., Benothman M., Abuagob O., Kerr A., Mitchell S., Bishop S.C., 2006. Quantitative trait loci associated with parasitic infection in Scottish blackface sheep. Heredity 96, 252-258.

de la Chevrotière C., Bishop S., Moreno C., Arquet R., Bambou J.C., Schibler L., Amigues Y., Mandonnet N., 2009. Identification of QTL associated with gastrointestinal nematode resistance in Creole goat. In : Sheep and Goat production. Wageningen Academics Publishers (Eds). 60th EAAP Annual meeting, Barcelona, Spain, 24-27.

Diez-Tascon C., MacDonald P.A, Dodds K.G., McEwan J.C., Crawford, A.M., 2002. A screen of chromosome 1 for QTL affectin nematode resistance in an ovine outcross population. 7th World Congress on Genetics Applied To Livestock Productions, Montpellier, France. Session 13, 13-37

Diez-Tascón C., Keane O.M., Wilson T., Zadissa A., Hyndman D.L., Baird D.B., McEwan J.C., Crawford A.M., 2005. Microarray analysis of selection lines from outbred populations to identify genes involved with nematode parasite resistance in sheep. Physiol. Genomics, 21, 59-69.

Dominik S., 2005. Quantitative trait loci for internal nematode resistance in sheep: a review. Genet. Sel. Evol., 37, 83-96.

Emik L.O., 1949. The effects of environmental and hereditary factors on trichostrongylid worm infestation in sheep. J. Anim. Sci., 8, 73-80.

Finch V.A., 1986. Body Temperature in Beef Cattle: Its Control and Relevance to Production in the Tropics. J. Anim Sci., 62, 531-542.

Gauly M., Erhardt G., 2001. Genetic resistance to gastrointestinal nematode parasites in Rhön sheep following natural infection. Vet. Parasitol., 102, 253-259.

Gauly M., Kraus M., Vervelde L., van Leeuwen M.A., Erhardt G., 2002. Estimating genetic differences in natural resistance in Rhön and Merinoland sheep following experimental *Haemonchus contortus* infection.Vet. Parasitol., 106, 55-67.

Gicheha M.G., Kosgey I.S., Bebe B.O., Kahi A.K., 2005. Economic values for resistance to gastrointestinal helminths in meat sheep in Kenya. J. Anim. Breed. Genet., 122, 165–171.

Gicheha M.G., Kosgey I.S., Bebe B.O., Kahi A.K., 2007. Efficiency of alternative schemes breeding for resistance to gastrointestinal helminths in meat sheep. Small Rum. Res., 69, 167-179.

González J.F., Hernández Á., Molina J.M., Fernández A., Raadsma H.W., Meeusen E.N.T., Piedrafita D., 2008. Comparative experimental *Haemonchus contortus* infection of two sheep breeds native to the Canary Islands. Vet. Parasitol., 153, 374-378.

Good B., Hanrahan J.P., Crowley B.A., Mulcahy G., 2006. Texel sheep are more resistant to natural nematode challenge than Suffolk sheep based on faecal egg count and nematode burden. Vet. Parasitol., 136, 317-327.

Goossens G., Osaer S., Ndao M., Van Winghem J., Geerts S., 1999. The susceptibility of Djallonké and Djallonké-Sahelian crossbred sheep to *Trypanosoma congolense* and helminth infection under different diet levels. Vet. Parasitol., 85, 25-41.

Gregory P.W., 1937. The possibility of establishing within breeds lines of sheep that are genetically resistant to stomach worms. Am. Soc. Anim. Prod., 316-324.

Gruner, L., Aumont G., Getachew T., Brunel J.C., Pery C., Cognié Y., Guérin Y., 2003. Experimental infection of Black Belly and INRA 401 straight and crossbred sheep with trichostrongyle nematode parasites. Vet. Parasitol., 116, 239-249.

Gruner L., Bouix J., Brunel J.C., 2004. High genetic correlation between resistance to *Haemonchus contortus* and to *Trichostrongylus colubriformis* in INRA 401 sheep. Vet. Parasitol., 119, 51-58.

Gunia M., Mandonnet N., Arquet R., de la Chevrotière C., Naves M., Mahieu M., Alexandre G., 2010. Production systems of Creole goat and their implications for a breeding programme. Animal (4): 2099-2105.

Gunia M., Phocas F., Arquet R., Alexandre G., Mandonnet N., 2011. Genetic parameters for weight, reproduction and parasitism resistance traits in Creole goat. JAS (soumis)

Gutiérrez-Gil B., Pérez J., Alvarez L., Martínez-Valladares M., de la Fuente L.F., Bayón Y., Meana A., San Primitivo F., Rojo-Vázquez F.A., Arranz J.J., 2009. Quantitative trait loci for resistance to trichostrongylid infection in Spanish Churra sheep. Genet. Sel. Evol., 28, 41-46.

Haile A., Tembely S., Anindo D.O., Mukasa-Mugerwa E., Rege J.E.O., Yami A., Baker R.L., 2002. Effects of breed and dietary protein supplementation on the responses to gastrointestinal nematode infections in Ethiopian sheep. Small Rum. Res., 44, 247-261.

Hielscher A., Brandt H., Erhardt G., Gauly M., 2006. Heterosis analysis of Haemonchus contortus resistance and production traits in Rhoen sheep, Merino Land sheep and crossbred lambs. Vet. Parasitol., 141, 279-284.

Hoch T., Pradel P. Agabriel J., 2004. Modélisation de la croissance de bovins : évolution des modèles et applications. Inra Prod. Anim., 17, 303-314.

Hoste H., Leveque H., Dorchies Ph., 2001. Comparison of nematode infections of the gastrointestinal tract in Angora and dairy goats in a rangeland environment: relations with the feeding behaviour. Vet. Parasitol., 101,127-135.

Janssen M., Weimann C., Gauly M., Erhardh G., 2002. Associations between infections with *Haemonchus contortus* and genetic markers on ovine chromosome 20. 7th World Congress on Genetics Applied To Livestock Productions, Montpellier, France. Session 13, 13-11.

Keane O.M., Dodds K.G., Crawford A.M., McEwan J.C., 2007. Transcriptional profiling of *Ovies aries* identifies *Ovar-DQA1* allele frequency differences between nematode-resistant and susceptible selection lines. Physiol. Genomics, 30, 253-261.

Khusro M., Van der Werf J.H.J, Brown D.J., Ball A., 2004. Across flock (co)variance components for faecal worm egg count, live weight, and fleece traits for Australian merinos. Livest. Prod. Sci., 91, 35-43.

Li Y., Miller J.E., Franke D.E., 2001. Epidemiological observations and heterosis analysis of gastrointestinal nematode parasitism in Suffolk, Gulf Coast Native, and crossbred lambs. Vet. Parasitol., 98, 273-283.

MacKinnon K.M., Burton J.L., Zajac A.M., Notter D.R., 2009. Microarray analysis reveals difference in gene expression profiles of hair and wool sheep infected with *Haemonchus contortus*. Vet. Immunol. Immunopathol., 130,210-220.

MacKinnon K.M., Zajac A.M., Kooyman F.N.J., Notter D.R., 2010. Differences in immune parameters are associated with resistance to *Haemonchus contortus* in Caribbean hair sheep. Parasite Immunol., 32, 484-493.

Mahieu M., Arquet R., Kandassamy T., Mandonnet N., Hoste H., 2007. Evaluation of targeted drenching using Famacha(©) method in Creole goat: reduction of anthelmintic use, and effects on kid production and pasture contamination. Vet. Parasitol., 146, 135-147.

Mahieu M., Arquet R., Fleury J., Coppry O., Marie-Magdeleine C., Boval M., Archimède H., Alexandre G., Bambou J.C., Mandonnet N., 2009. Contrôle intégré du parasitisme gastro-intestinal des petits ruminants au pâturage en zone tropicale humide. In : Santé - Sécurité des aliments. Institut de l'Élevage (Eds.). 16e Rencontres Recherches Ruminants, Paris, France, 265-268.

Makun H.J., Ajanusi J.O., Lakpini C.A.M., Ehoche O.W., Rekwot P.I., 2008. Response of Red Sokoto and Sahelian goats to trickle *Haemonchus contortus* infection. J. Biol. Sci., 8, 753-759.

Mandal A., Sharma D.K., 2008. Inheritance of faecal nematode egg count in Barbari goats following natural *Haemonchus contortus* infection. Vet. Parasitol., 155, 89-94.

Mandonnet N., 2009. Adaptation des populations animales aux systèmes d'élevage tropicaux : Analyser la variabilité génétique en vue de sélectionner et de comprendre les gènes et mécanismes impliqués. HDR Université Antilles-Guyane, 45p.

Mandonnet N., Aumont G., Fleury J., Arquet R., Varo H., Gruner L., Bouix J., Khang J.V.T., 2001. Assessment of genetic variability of resistance to gastrointestinal nematode parasites in Creole goats in the humid tropics. J. Anim. Sci., 79, 1706-1712.

Mandonnet N., Ducrocq V., Arquet R., Aumont G., 2003. Mortality of Creole kids during infection with gastrointestinal strongyles: A survival analysis. J. Anim. Sci., 81, 2401-2408.

Mandonnet N., Menendez-Buxadera A., Arquet R., Mahieu M., Bachand M., Aumont G., 2006. Genetic variability in resistance to gastro-intestinal strongyles during early lactation in Creole goats. Anim. Sci.; 82, 283-287.

Marshall K., Maddox J.F., Lee S.H., Zhang Y., Kahn L., Graser H.U., Gondro C., Walkden-Brown S.W., van der Werf J.H.J., 2009. Genetic mapping of quantitative trait loci for resistance to Haemonchus contortus in sheep. Anim. Genet., 40, 262-272.

Matika O., Nyoni S., van Wyk J.B., Erasmus G.J., Baker R.L., 2003. Resistance of Sabi and Dorper ewes to gastro-intestinal nematode infections in an African semi-arid environment. Small Rum. Res., 47, 95-102.

McEwan J.C., Mason P., Baker R.L., Clarke J.N., Hickey S.M., Turner K., 1992. Effect of selection for productive traits on internal parasite resistance in sheep. Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod., 52, 53-56.

McManus C., Louvandini H., Paiva S.R., de Oliveira A.A., Azevedo H.C., de Melo C.B., 2009. Genetic factors of sheep affecting gastrointestinal parasite infections in the Distrito Federal, Brazil. Vet. Parasitol., 166, 308-313.

Menendez-Buxadera A., Mandonnet N., 2006. The importance of the genotype*environment interaction for selection and breeding programmes in tropical conditions, CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, *26*, 14 pp.

Mignon-Grasteau S., Boissy A., Bouix J., Faure J.M., Fisher A.D., Hinch G.N., Jensen P., Le Neindre P., Mormède P., Prunet P., Vandeputte M., Beaumont C., 2005. Genetics of adaptation and domestication in livestock. Livest. Anim. Sci., 93, 3-14.

Miller J.E., Bahirathan M., Lemarie S.L., Hembry F.G., Kearney M.T., Barras S.R., 1998. Epidemiology of gastrointestinal nematode parasitism in Suffolk and Gulf Coast Native sheep with special emphasis on relative susceptibility to *Haemonchus contortus* infection. Vet. Parasitol., 74, 55-74.

Miller J.E., Bishop S.C., Cockett N.E., McGraw R.A., 2006. Segregation of natural and experimental gastrointestinal nematode infection in F_2 progeny of susceptible Suffolk and resistant Gulf Coast Native sheep and its usefulness in assessment of genetic variation. Vet. Parasitol., 140, 83-89.

Mirkena T., Duguma G., Haile A., Tibbo M., Okeyo A.M., Wurzinger M., Sölkner J., 2010. Genetics of adaptation in domestic farm animals: A review. Livest. Sci., 132, 1-12.

Moreno C.R., Gruner L., Scala A., Mura L., Schibler L., Amigues Y., Sechi T., Jacquiet P., François D., Sechi S., Roig A., Casu S., Barillet F., Brunel J.C., Bouix J., Carta A., Rupp R., 2006. QTL for resistance to internal parasites in two designs based on natural and experimental conditions of infection. WCGALP (Eds.) 8th World Congress on Genetics Applied To Livestock Productions, Belo Horizonte, Brazil, Session 15, 15-05.

Morris C.A., Vlassoff A., Bisset S.A., Baker R.L., West C.J., Hurford A.P., 1997a. Responses of Romney sheep to selection for resistance or susceptibility to nematode infection. Anim. Sci., 64, 319-329.

Morris C.A., Wheeler M., Hosking B.C., Watson T.G., Hurford A.P., Foote B.J., Foote J.F., 1997b. Genetic parameters for milk yield and faecal nematode egg count in Saanen does. N.Z. J. Agric. Res., 40, 523-528.

Morris C.A., Bisset S.A., Vlassoff A., West C.J, Wheeler M., 1998. Faecal nematode egg counts in lactating ewes from Romney flocks selectively bred for divergence in lamb faecal egg count, Anim. Sci., 67, 283–288.

Morris C.A., Bisset S.A., Vlassoff A., West C.J., Wheeler M., 2004. Genetic parameters for *Nematodirus* spp. Egg counts in Romney lambs in New Zealand. Anim. Sci., 79, 33-39.

Morris C.A., Wheeler M., Watson T.G., Hosking B.C., Leathwick D.M., 2005. Direct and correlated responses to selection for high or low faecal nematode egg count in Perendale sheep. N.Z. J. Agric. Res., 48, 1-10.

Mugambi J.M., Wanyangu S.W., Bain R.K., 1996., Response of Dorper and red Maasai lambs to trickle *Haemonchus contortus* infections. Res. Vet. Sci., 61, 218-221.

Mugambi J.M., Bain R.K., Wanyangu S.W., Ihiga M.A., Duncan J.L., Murray M., Stear M.J., 1997. Resistance of four sheep breeds to natural and subsequent artificial *Haemonchus contortus* infection. Vet. Parasitol., 69, 265-273.

Naves M. 2003. Caractérisation et gestion d'une population bovine locale de la zone tropicale : le Bovin Créole de Guadeloupe. Thèse INA-PG, 283pp.

Nimbkar C., Ghalsasi P.M., Walkden-Brown S.W., Khan L.P., 2002. Breeding program for the genetic improvement of Deccani sheep of Maharashtra, India. In: Developing sustainable breeding strategies in medium-to low-input systems. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Productions, Montpellier, France, Session 25, 25-11.

Nimbkar C., Ghalsasi P.M., Swan A.A., Walkden-Brown S.W., Khan L.P., 2003. Evaluation of growth rates and resistance to nematodes of Deccani and Bannur lambs and their crosses with Garole. Anim. Sci., 76, 503-515.

Othman O.E., 2004. Chromosome and gene mapping homology between river buffalo, cattle and sheep using molecular markers. Biotechnology, 3, 119-125.

Over H.J., Jansen J., Olm P.W.V., 1992. Distribution and impact of helminth diseases of livestock in developing countries. FAO Anim Prod Health Pap, 96, 221

Paterson S., Wilson K., Pemberton J.M., 1998. Major histocompatibility complex variation associated with juvenile survival and parasite resistance in a large unmanaged ungulate population (Ovis aries L.). Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 95, 3714-3719.

Pollot G.E., Karlsson L.J.E., Eady S., Greeff J.C., 2004. Genetic parameters for indicators of host resistance to parasites from weaning to hogget age in Merino sheep. J. Anim. Sci., 82, 2852-2864.

Pralomkarn W., Pandey V.S., Ngampongsai W., Choldumrongkul S., Saithanoo S., Rattaanachon L., Verhulst A., 1997. Genetic resistance of three genotypes of goats to experimental infection with *Haemonchus contortus*. Vet. Parasitol., 68, 79-90.

Prince L.L.L., Gowane G.R., Swarnkar C.P., Singh D., Arora A.L., 2010. Estimated of genetic parameters for faecal egg count of *Haemonchus contortus* infection and relationship with growth traits in Avikalin sheep. Trop. Anim. Health Prod., 42, 785-791.

Rege, J.E.O., Tembely S., Mukasa-Mugerwa E., Sovani A., Anindo D., Lahlou-Kassi A., Nagda S., Baker R.L., 2002. Effect of breed and season on production and response to infection with gastro-intestinal nematode parasites in sheep in the highlands of Ethiopia. Livest. Prod. Sci., 78, 159-174.

Rewe T.O., Ogore P.B., Kahi A.K., 2002. Integrated goat projects in Kenya: impact on genetic improvement. In: 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Productions, Montpellier, France, Session 25, 25-19.

Romjali E., Dorny P., Batubara A., Pandey V.S., Gatenby R.M., 1997. Peri-parturient rise in faecal strongyle egg counts of different genotypes of sheep in North Sumatra, Indonesia. Vet. Parasitol., 68, 191-196.

Rowe A., Gondro C., Emery D., Sangster N., 2009. Sequential microarray to identify timing of molecular responses to *Haemonchus contortus* infection in sheep. Vet. Parasitol., 161, 76-87.

Saddiqi H.A., Iqbal Z., Khan M.N., Muhhamad G., 2010a. Comparative resistance of sheep breeds to *Haemonchus contortus* in a natural pasture infection. Int. J. Agric. Biol., 12, 739-743.

Saddiqi H.A., Iqbal Z., Khan M.N., Sarwar M., Muhhamad G. Yaseen M., Jabbar A., 2010b. Evaluation of three Pakistani sheep breeds for their natural resistance to artificial infection of *Haemonchus contortus*. Vet. Parasitol., 168, 141-145.

Safari E., Fogarty N.M., Gilmour A.R., 2005. A review of genetic parameter estimates for wool, growth, meat and reproduction traits in sheep. Livest. Prod. Sci., 92, 271-289.

Saulai M., Cabaret J., Hostache G., Mandonnet N., Aumont G., 2001. Life-trait evolution of a parasite strongyle nematode in response to host resistance: an experimental approach using Haemonchus contortus in black belly lambs. Genet. Sel. Evol., 33, S25-S44.

Sayers G., Good B., Hanrahan J.P., Ryan M., Angles M., Sweeney T., 2005a. Major Histocompatibility complex DRB1 gene: its role in nematode resistance in Suffolk and Texel sheep breeds. Parasitology 131, 403-409.

Sayers G., Good B., Hanrahan J.P., Ryan M., Sweeney T., 2005b. Intron 1 of the interferon γ gene: Its role in nematode resistance in Suffolk and Texel sheep breeds. Res. Vet. Sci., 79, 191-196.

Schwaiger F.W., Gostomski D., Stear M.J., Duncan J.L., McKellar Q.A., Epplen J.T., Buitkamp J., 1995. An Ovine Major Histocompatibility Complex Drb1 Allele Is Associated with Low Fecal Egg Counts Following Natural, Predominantly Ostertagia-Circumcincta Infection. Int. J. Parasitol., 25, 815-822.

Sourdioux M., Lagarrigue S., Douaire M., 1997. Analyse génétique d'un caractère quantitatif. Inra Prod. Anim., 10, 251-258.

Sréter T., Kassai T., Takacs E., 1994. The heritability and specificity of responsiveness to infection with *Haemonchus contortus* in sheep. Int. J. Parasitol., 24, 871-876.

Tariq K.A., Chishti M.Z., Ahmad F., Shawl A.S., 2008. Epidemiology of gastrointestinal nematodes of sheep managed under traditional husbandry system in Kashmir valley. Vet. Parasitol., 158, 138-143.

Tembely S., Lahlou-Kassi A., Rege J.E.O., Mukasa-Mugerwa E., Anindo D., Sovani S., Baker R.L., 1998. Breed and season effects on the peri-parturient rise in nematode egg output in indigenous ewes in a cool tropical environment. Vet. Parasitol., 77, 123-132.

Terefe G., Lacroux C., Andreoletti O., Grisez C., Prevot F., Bergeaud J.P., Penicaud J., Rouillon V., Gruner L., Brunel J.C., François D., Bouix J., Dorchies P., Jacquiet P., 2007. Immune response to Haemonchus contortus infection in susceptible (INRA 401) and resistant (Barbados Black Belly) breeds of lambs. Parasite Immunol., 29, 415–424.

Vagenas D., Jackson F., Russel A.J.F., Merchant M., Wright I.A., Bishop S.C., 2002. Genetic control of resistance to gastro-intestinal parasites in crossbred cashmere-producing goats: responses to selection, genetic parameters and relationships with production traits. Anim. Sci., 74, 199-208.

Vaiman D., Schibler L., Bourgeois F., Oustry A., Amigues Y., Cribiu E.P., 1996. A genetic linkage map of the male goat genome. Genetics, 144, 279-305.

Vanimisetti H.B., Andrew S.L., Zajac A.M., Notter D.R., 2004. Inheritance of fecal egg count and packed cell volume and their relationship with production traits in sheep infected with *Haemonchus contortus*. J. Anim. Sci., 82, 1602-1611.

Vercoe J.E., Frisch J.E., 1992. Genotype (breed) and environment interaction with particular reference to cattle in the tropics. Asian-Austral. J. Anim. Sci., 5, 401-409.

Wanyangu S.W., Mugambi J.M., Bain R.K., Duncan J.L., Murray M., Stear M.J., 1997. Response to artificial and subsequent natural infection with *Haemonchus contortus* in Red Maasai and Dorper ewes. Vet. Parasitol., 69, 275-282.

Watson T.G., Baker R.L., Harvey T.G., 1986. Genetic variation in resistance or tolerance to internal nematode parasites in strains of sheep at Rotomahana. Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod., 46, 23-26.

Wolf B.T., Howells K., Nakielny C., Haresign W., Lewis R.M., Davies O., Davies M.H., 2008. Genetic parameters for strongyle and *Nematodirus* faecal egg counts in lambs and their relationships with performance traits. Livest. Sci., 113, 209-217.

Woolaston R.R., Piper L.R., 1996. Selection of Merino sheep for resistance to *Haemonchus contortus*: genetic variation. Anim. Sci., 62, 451-460.

Woolaston R.R., Eady S.J. 1995. Australian research on genetic resistance to nematode parasites, in: Gray G.D., Woolaston R.R., Eaton B.T. (Eds.), Breeding for Resistance to Infectious Diseases of Small Ruminants, Aus. Centre Int. Agric. Res., Canberra, Australia, pp. 53–75

Woolaston R.R., Windon R.G., 2001. Selection of sheep for response to *Trichostrongylus colubriformis* larvae: genetic parameters. Anim. Sci., 73, 41-48.

Woolaston R.R., Windon R.G., Gray G.D., 1991. Genetic variation in resistance to internal parasites in Armidale experimental flocks. In: Breeding for disease resistance in sheep. Gray G.D., Woolaston R.R. (Eds). Australian Wool Corporation Editions, Melbourne, Australie, 1-9.

Woolaston R.R., Singh R., Tabunakawai N., Le Jambre L.F., Banks D.J.P., Barger I.A., 1992. Genetic and environmental influences on worm egg counts of goats in the humid tropics. Proc. Austr. Assoc. Anim. Breed. Genet. 10, 147-150.

RÉSULTATS

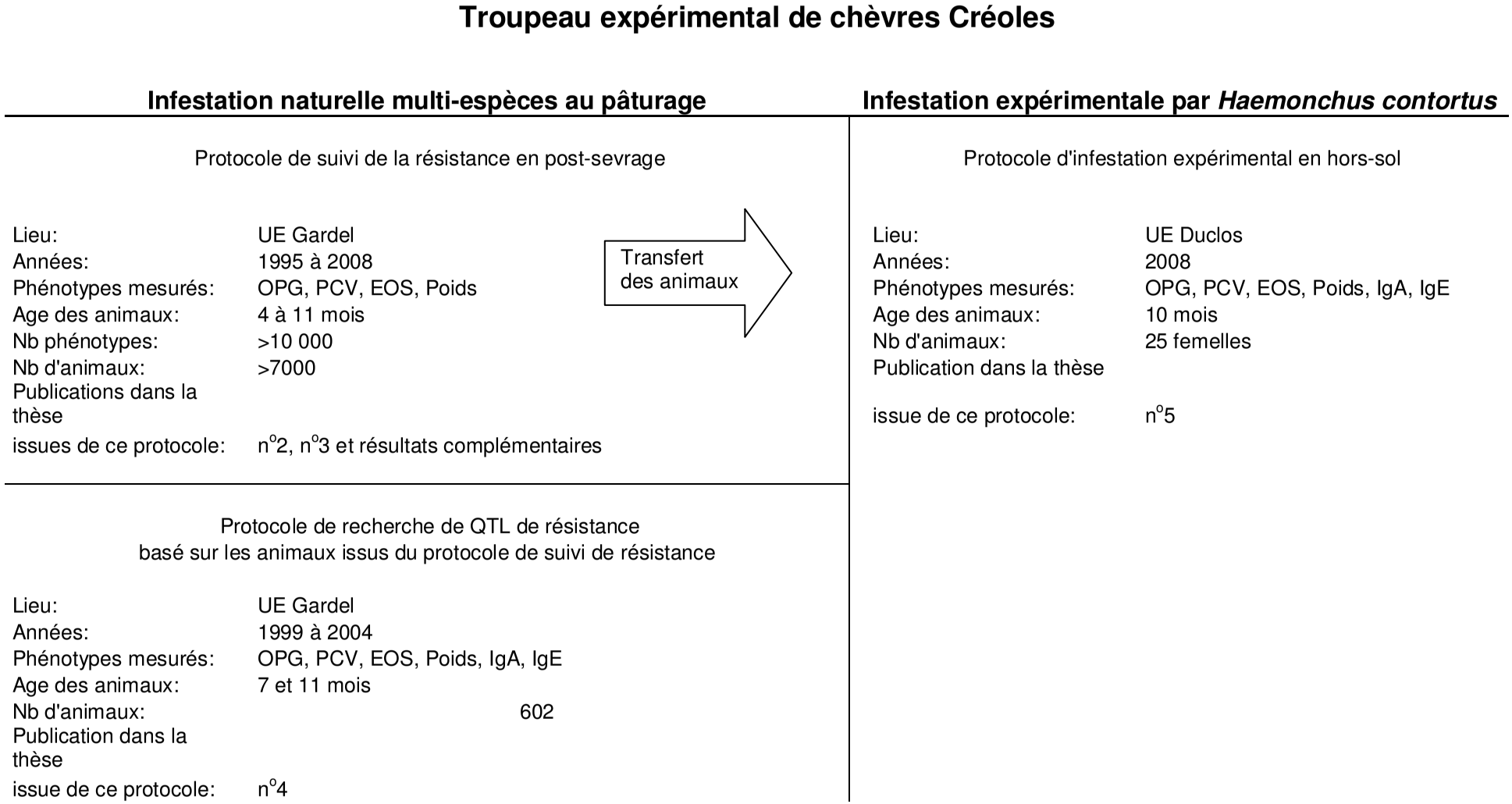


Figure 4 : Différents protocoles expérimentaux utilisés dans la thèse.

La Plateforme Tropicale d'Expérimentation Animale (PTEA) du domaine de Gardel est située en Grande-Terre sur l'île de la Guadeloupe. Le troupeau de chèvres Créoles est organisé en 12 familles de pères. La généalogie complète du troupeau est connue depuis sa création en 1979. Le troupeau produit environ 250 chevreaux tous les 4 mois suivant un rythme intensif de 3 parturitions en 2 ans. Les animaux sont élevés au pâturage et s'infestent naturellement avec des strongles gastro-intestinaux dominés par les espèces *Haemonchus contortus* et *Trichostrongylus colubriformis*. Le suivi de la résistance aux strongles gastro-intestinaux a débuté en 1995 par la mesure de différents phénotypes (figure 4). Le protocole de recherche de QTL de résistance a été mis en place sur ce même troupeau en 2000 et les mesures phénotypiques ont eu lieu pendant 5 ans. Un protocole d'infestation expérimentale a été mis en place en 2008 sur des animaux élevés en hors-sol.

Ce travail exploite les bases de données collectées au cours des différents protocoles mis en place sur le troupeau expérimental, exception faite des phénotypes d'immunoglobulines, obtenus au cours de la thèse à partir d'ELISA réalisés *a posteriori* sur des échantillons de sérums congelés.

PUBLICATION №2

Publication nº2 (soumise à Veterinary Parasitology)

Paramètres génétiques des réponses d'IgA et IgE contre *Haemonchus contortus* chez les chèvres Créole soumises à une infestation naturelle mixte.

Cette publication scientifique répond au premier et troisième objectif de la thèse visant à caractériser la variabilité génétique de la résistance et à comprendre les mécanismes de résistance. Cet article propose une mise à jour des estimations de variabilité génétique pour les critères d'OPG, de PCV et de poids, auquel s'ajoutent des résultats originaux sur des caractères immunologiques. De l'ensemble de ces résultats émergent les premières hypothèses de mécanismes de résistance.

Résumé en français

Les strongles gastro-intestinaux (SGI) affectent les petits ruminants, particulièrement les jeunes animaux incapables de produire une réponse immunitaire protectrice. Une stratégie prometteuse pour contrôler les SGI repose sur l'augmentation de la résistance dans la population en prenant avantage de la réponse immunitaire de l'hôte. Des études ont démontré l'implication des immunoglobulines A (IgA) et E (IgE) dans la réponse immunitaire contre les SGI. Le but de cette étude est donc d'analyser les paramètres génétiques des réponses des IgA et IgE contre *Haemonchus contortus* chez des chevreaux Créoles naturellement infestés au pâturage et de déterminer leurs relations avec les critères classiques de résistance et de production. Les estimations d'héritabilité pour les réponses d'IgA et d'IgE varient entre 0.15 et 0.57. De fortes corrélations génétiques positives ont été observées entre les réponses soit d'IgE ou d'IgA contre les larves L3 et les produits d'excrétion/sécrétions des adultes (PES) d'*H. contortus*, suggérant ainsi que la réponse immunitaire humorale est soit non spécifique des stades du cycle parasitaire ou qu'il existe une reconnaissance croisée entre les différents antigènes parasitaires. Les estimations des héritabilités pour l'excrétion d'œufs (OPG), d'hématocrite (PCV) et du poids sont en accord avec les précédents résultats obtenus chez la chèvre Créole. L'éosinophilie est moyennement héritable et négativement corrélée avec l'OPG, suggérant que cette population cellulaire joue un rôle dans la résistance aux SGI. La réponse d'IgA est positivement corrélée avec l'OPG, contrairement à la réponse d'IgE contre les larves L3 d'*H. contortus* négativement corrélé avec l'OPG. Chez la chèvre Créole, les IgA seraient associés avec la charge parasitaire

plutôt qu'avec une réponse immunitaire protectrice. La réponse immunitaire implicant l'activité des IgE contre les larves L3 d'*H. contortus* jouerait donc un role important dans le développement de la résistance au SGI chez la chèvre Créole.

Genetic parameters of IgA and IgE responses against *Haemonchus contortus* in Creole goats under natural mixed infection.

Claudia de la Chevrotière[1], Jean-Christophe Bambou[1], Rémy Arquet[2], Lucina Abinne-Molza[1], Hugues Varo[1], Philippe Jacquiet[3], Nathalie Mandonnet[1§]

[1] UR 143 – INRA–URZ, Domaine Duclos, 97170 PETIT–BOURG

[2] UE– INRA–PTEA, Domaine Duclos, 97170 PETIT–BOURG

[3] UMR INRA/DGER 1225 Interactions Hôtes-Agents Pathogènes, École Nationale Vétérinaire, 23, Chemin des Capelles, 31076 Toulouse, FRANCE

[§]Corresponding author : Nathalie Mandonnet (Nathalie.Mandonnet@antilles.inra.fr)

Tel. +590-590 25 54 08; Fax +590-590 25 59 36

Abstract

Small ruminants are affected by gastrointestinal nematode (GIN) infection and young animals are more susceptible as they are not able to mount protective immune response. A promising alternative strategy for control of GIN infection is to increase the level of resistance in the population by taking advantage of the host's immune response. Immunoglobulin A (IgA) and E (IgE) are known to be involved in immune response to GIN. The aim of this study was thus to investigate genetic parameters of IgA and IgE responses against *Haemonchus contortus* in Creole kids naturally challenged at pasture and to determine the relationship with other classical resistance and production traits. Heritability estimates for IgA and IgE ranged between 0.15 and 0.57. Strong positive genetic correlations were observed between either IgE or IgA responses against L3 and adult excretory/secretory products (ESP)antigens of *H. contortus*, suggesting that

the humoral immune response is either not specific to the life cycle stage of the parasite or there is substantial cross recognition between the different parasite antigens. Heritability estimates for faecal egg count (FEC), packed-cell volum (PCV) and bodyweight (BW) were in accordance with previous results in Creole kids. Eosinophil counts were found moderately heritable and negatively correlated with FEC, suggesting that this cell population plays a role in resistance to nematode parasite infection in Creole goats. IgA response was positively correlated to FEC, in contrast with the negative correlation between IgE against L3 of *H. contortus* and FEC. In Creole goats, IgA would rather be associated with the worm burden than a immune protective response. The immune response involving activity of IgE against L3 of *H. contortus* may be one important pathway for development of resistance to gastrointestinal nematode infections in Creole goats.

Keywords: *Haemonchus contortus*, IgA, IgE, genetic parameters, resistance, goat

1. Introduction

Gastrointestinal nematode (GIN) infections, particularly with *Haemonchus contortus*, cause major problems for small ruminant production throughout the temperate and tropical regions of the world, with increasing cases of anthelmintic resistance (Sangster, 1999; Waller, 2003). Young animals are more susceptible to infections as they are not able to mount protective immune response. Indeed, older animals acquire immunity to GIN parasites following repeated infections, indicating that one promising alternative strategy for control of GIN infection is to take advantage of the host's immune response in selection programs to increase the level of resistance in the population.

The immune response against GIN is mediated by proliferation of mucosal mast cells, globule leukocytes and eosinophils (Meeusen et al., 2005). The response against gastrointestinal nematodes also involves production of parasite-specific immunoglobulin A (IgA), IgG1 and IgE (Pfeffer et al., 1996; Kooyman et al., 1997; Shaw et al., 1998). Furthemore, increased expression of immunoglobulin A and E are associated with resistance against GIN infection in sheep (Pernthaner et al., 2005, 2006). Data on the involvement of immunoglobulins in resistance to strongyles are scarce in goat. Moreover, few is known on the genetic control of IgA and IgE response against GIN in small ruminant.

Naturally contaminated tropical pastures have already been showed to allow the genetic evaluation of Creole goat resistance to gastrointestinal strongyles (Mandonnet et al., 2001, 2006). Creole goats of the INRA-Gardel flock are indexed on their resistance under mixed natural

infection conditions. The aims of this study were first to estimate the genetic parameters of immunoglobulin A and E responses against *H. contortus* and secondly their relationship with classical resistance and production traits.

2. Materials and Methods

2.1. Experimental design

Animals used in this study came from the experimental flock of Creole goats reared at INRA-Gardel since 1995 to study gastrointestinal nematode resistance. Animals are raised on pasture (*Digitaria decumbens*) all year long and naturally exposed to a mixed nematode infection. Main species infecting Creole goat are *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis* and *Oesophagostomum columbianum*, in order of the importance of their prevalence (Aumont et al., 1997a). Male kids from the same reproductive group were raised together and weaned at 82 days of age on average. Anthelmintic treatment was administered every 8 weeks after weaning with levamisole (12mg/kg).

2.2 Animal sampling

All traits were collected at 11 months of age. Faecal samples were collected two times (week 6 and 7 after drenching) to determine faecal egg counts (FEC) using a modified McMaster method for rapid determination (Aumont et al., 1997b). The FEC variable was the average of these two measures. Blood samples were also collected on week 6 after drenching for all animals. A sample was centrifuged for 5 minutes at 5000 rpm and serum was then frozen at -20ºC until analysis by indirect ELISA. Circulating eosinophils (EOS) were counted according to the method of Dawkins et al. (1989), on Malassez cell counter. Packed cell volume (PCV) was also measured

using the capillary micro-haematocrit method. Finally, bodyweight (BW) was measured on average at 325 days of age, corresponding approximately to 11 months of age.

2.3. Antibody responses by indirect ELISA

The activity of IgA and IgE against a crude extract of *H. contortus* L3 and excretory/secretory products (ESP) was measured by indirect ELISA based on method used by Bambou et al. (2008). ESP were prepared using adult *H. contortus* collected from abomasum from a sacrificed goat. Worms were washed in PBS (pH 7.4) with penicillin (100 IU/ml) and streptomycin (1 mg/ml) and maintained in this buffer by group of fifty adults in a 5 % CO_2 atmosphere at 37 ºC overnight. The supernatant containing ESP were collected, filtered (0.2 µm) and store at -80 ºC until further use. A crude extract of *H. contortus* L3 was prepared after three cycles of freezing and thawing (-80 ºC, + 25 ºC), homogenization at 4 ºC and centrifugation at 30 000 g for 30 min at 4 ºC. The supernatant was used as the crude extract of the L3 antigen. The protein concentration of both antigenic products was determined with the method of Bradford (1976).

Antibodies against these two products were detected in serum using indirect ELISA. Antigens were diluted at 2 µm/ml in carbonate buffer (pH 9.6) in 96-well plates (Nunclon surface, Nunc, Denmark) and incubated overnight at 4 ºC. Wells were then washed three times with PBS with 0.1 % Tween 20 (PBST). Non-specific binding sites were blocked by 3h incubation with PBS-1% bovine serum albumin, 5% sucrose. Duplicate serum samples diluted 1:10 in PBST were incubated for 2h at room temperature. Plates were washed three times with PBST before addition of horseradish peroxidase-conjugated Rabbit anti-goat IgA (Rockland,

Pennsylvania, USA) diluted 1:5000 (IgA) in carbonate buffer. For IgE ELISA, plates were sequentially incubated with mouse anti-ovine IgE monoclonal IE7 (Kooyman et al., 1997) diluted 1:100000 (provided by Dr. F.N.J. Kooyman, Utrecht University, The Netherlands) and rabbit anti-mouse horseradish peroxidase conjugate diluted 1:750 (Serotec, Oxford, England). After an incubation of 1h at room temperature, plates were washed three times with PBST and 100 µl of chromogen TMB (3,3′, 5,5′-tetramethylbenzidine) was added in each well. The colour reaction was stopped by the addition of 50 µl per well of 2N H_2SO_4 and the optical density was measured at 450 nm (OD450). In order to compare results between assays, a positive control consisting of a pool of sera containing IgA and IgE antibody was included on each plate. OD450 of tested serum were altered in proportion with changes of this standard. A negative control consisting of serum from a naive kid goat was also added on each plate.

2.4. Statistical analysis

Statistical analysis was made on 3862 male kids of 11 month of age for FEC, PCV, EOS and BW. Immunoglobulin traits were analyzed for 315 animals. Animals were born of 140 sires and 860 dams. Total pedigree of animals used in this study is composed of 249 sires and 1131 dams.

Distributions of traits were examined using a Shapiro-Wilk test and transformations were chosen to normalize the variance. FEC and EOS were log transformed using ln(trait + 15). Other traits did not require any transformation. Fixed effects were fitted using the general linear model procedure of SAS software (SAS Institute Inc., 1999). Fixed effects tested for all traits were the cohort, rank of litter and the type of nursing (natural or artificial), along with significant first

order interactions. Phenotypic correlations r_p were calculated using the following formula (Minvielle, 1990):

$$r_p = r_a \sqrt{h_1^2 h_2^2} + r_e \sqrt{(1-h_1^2)(1-h_2^2)},$$

where r_a et r_e are genetic and residual correlations between trait 1 and trait 2 and h_1^2 et h_2^2 are heritability estimates for both traits. No standard errors are available for these correlations.

Variance and covariance components for genetic and residuals effects were estimated using REML VCE package (Groeneveld, 1993), according to the following model:

$$\mathbf{y = Xb + Za + e}$$

where

$$\mathrm{E}\begin{bmatrix} a \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \end{bmatrix} \text{ and } Var\begin{bmatrix} a \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} G_0 \otimes A & 0 \\ 0 & R_0 \otimes I \end{bmatrix}$$

where **y** is the vector of observations, **b** is the vector of significant fixed effects, **a** is the vector of random direct additive genetic effects, **e** is the vector of random residual effects, **X, Z** are the incidence matrices connecting the y to the effects in the model, $\mathbf{G_0}$ is the additive genetic variance-covariance matrix between traits, $\mathbf{R_0}$ is the residual variance-covariance matrix between traits, **A** is the relationship matrix among animals and **I** is the identity matrix. The variances of the random effects a and e are σ_a^2, σ_e^2. Maternal effects were not significant for BW, FEC, PCV and EOS. We failed to include them for immunoglobulins analyses due to the size of the data set.

Table 1

Descriptive statistics of traits related to parasite resistance

Trait	n	Mean	Range	Standard deviation
LFEC (*ln* + 15 eggs/g)	1835	6.28	2.71 - 9.99	1.49
		(1291)	(0 - 21690)	(1988)
LEOS (*ln* + 15 cells/ml)	1596	6.84	2.71 - 9.37	1.05
		(1427)	(0 - 11693)	(1347)
PCV (%)	1730	25.87	10 - 40	4.65
BW (kg)	1993	17.91	6.67 - 32.85	3.75
IgE anti-ESP (OD ratio)	268	0.14	0.03 - 0.33	0.05
IgE anti-L3 (OD ratio)	271	0.28	0.04 - 0.60	0.12
IgA anti-ESP (OD ratio)	261	0.22	0.03 - 0.65	0.14
IgA anti-L3 (OD ratio)	260	0.32	0.03 - 0.74	0.19

Means, Range and Standard deviation of non transformed data are showed in brackets.

A first multivariate model was used to estimate genetic parameters of all immunological traits. IgE and IgA responses were fitted separately on two others multivariate models to obtain the genetic correlations with other traits (LFEC, LEOS, PCV and BW).

3. Results

3.1. Descriptive statistics

The least-square means, range and standard deviation for all traits are presented in Table 1. Ranges observed for all traits analysed showed a wide variation among the population. Levels of IgE and IgA responses were higher against L3 than ESP antigens with higher means and higher maximum optical density. Levels of IgA responses against both antigens were higher than IgE responses.

3.2. Genetic parameters

Significant fixed effects for LFEC, LEOS and BW were the cohort, rank of litter and the type of nursing. Significant fixed effects for PCV were the cohort and the type of nursing. The cohort was the only significant fixed effect for all IgE and IgA traits.

A positive phenotypic correlation was found between IgE anti-ESP and IgE anti-L3 and between IgA anti-ESP and IgA anti-L3 (Table 2). Negative phenotypic correlations were found between LFEC and LEOS, PCV and BW (Table 3). IgE anti-ESP was negatively correlated with LFEC and positively correlated with PCV. LEOS was positively correlated with IgA anti-ESP and IgA anti-L3 (Table 3a and b).

Table 2

Phenotypic and genetic parameters of immunoglobulin traits

	IgE anti-ESP	IgE anti-L3	IgA anti-ESP	IgA anti-L3
IgE anti-ESP	0.23 (0.12)	0.99 (0.01)	-0.43 (0.28)	0.02 (0.41)
IgE anti-L3	0.61	0.57 (0.16)	-0.51 (0.26)	-0.07 (0.39)
IgA anti-ESP	0.06	-0.005	0.27 (0.11)	0.89 (0.10)
IgA anti-L3	0.09	0.09	0.82	0.15 (0.11)

Phenotypic correlations are presented below the diagonal, heritability estimates on diagonal and genetic correlations above the diagonal. Standard deviations are shown between brackets.

Heritability estimates for immunoglobulin responses are presented in Table 2. Heritability estimates for other traits are presented in Table 3, a and b. Heritability and correlation estimates were consistent between the 3 models. Non significant differences were due to sampling effects. Parameters of LFEC, PCV and BW are an update of those previously estimated (Mandonnet et al., 2001). Their heritability estimates ranged between 0.21 and 0.31. Heritability estimated in this present study for LEOS on 11 month-old kids was higher (0.20 ± 0.03). The IgE anti-ESP, IgA anti-ESP and IgA anti-L3 responses were moderately heritable whereas the IgE anti-L3 response appears to be highly heritable (0.57 ± 0.16). However, the standard error for this estimate was higher compared to the other traits (0.10 in average).

Genetic correlations between immunoglobulin traits are shown above the diagonal in Table 2. Genetic correlations within classical traits and between classical traits and immunoglobulin traits are presented above the diagonal in Table 3 a and b. LFEC was negatively correlated with PCV. LFEC was also negatively correlated with LEOS. PCV and BW were positively correlated as previously estimated (Mandonnet et al., 2001). The IgE anti-ESP and IgE anti-L3 were strongly and positively correlated as shown by a genetic correlation of almost 1 (0.99 ± 0.01). A strong relationship was also found between IgA anti-L3 and IgA anti-PES showing a genetic correlation of 0.89 ± 0.10. To a lesser extent, the IgE and IgA anti-ESP responses were negatively correlated as well as the IgE anti-L3 and IgA anti-ESP responses, but with higher standard errors.

Genetic correlations between IgE anti-ESP, IgE anti-L3 and the other classical traits showed quite high standard errors. Nevertheless, IgE anti-L3 was negatively correlated to LFEC and positively correlated to BW (-0.32 ± 0.08 and 0.35 ± 0.16 respectively). No significant

Table 3

Phenotypic and genetic correlations between resistance, production traits and IgE response (a) and IgA response (b)

a.

	LFEC	LEOS	PCV	BW	IgE anti-ESP	IgE anti-L3
LFEC	0.21 (0.03)	-0.23 (0.06)	-0.35 (0.08)	-0.007 (0.06)	-0.08 (0.12)	-0.32 (0.08)
LEOS	-0.11	0.20 (0.03)	-0.05 (0.07)	-0.09 (0.07)	-0.18 (0.14)	0.03 (0.09)
PCV	-0.24	0.03	0.22 (0.03)	0.40 (0.07)	0.18 (0.12)	-0.09 (0.06)
BW	-0.10	0.04	0.49	0.31 (0.03)	0.13 (0.21)	0.35 (0.16)
IgE-ESP	-0.14	-0.06	0.13	0.08	0.18 (0.10)	0.79 (0.11)
IgE-L3	-0.08	-0.03	-0.01	0.07	0.60	0.44 (0.13)

b.

	LFEC	LEOS	PCV	BW	IgA anti-ESP	IgA anti-L3
LFEC	0.20 (0.03)	-0.22 (0.08)	-0.35 (0.08)	0.0005 (0.08)	0.84 (0.13)	0.72 (0.18)
LEOS	-0.11	0.20 (0.04)	-0.04 (0.10)	-0.07 (0.12)	-0.005 (0.31)	-0.44 (0.25)
PCV	-0.24	0.03	0.22 (0.03)	0.39 (0.08)	-0.36 (0.18)	0.04 (0.17)
BW	-0.10	0.04	0.49	0.32 (0.04)	-0.50 (0.15)	-0.38 (0.16)
IgA-ESP	-0.06	0.10	0.03	-0.02	0.19 (0.09)	0.83 (0.11)
IgA-L3	-0.04	0.10	0.004	-0.02	0.82	0.23 (0.11)

Phenotypic correlations are presented below the diagonal, heritability estimates on diagonal and genetic correlations above the diagonal. Standard deviations are shown between brackets

correlation between IgE anti-ESP response and classical traits were found. In contrast, IgA anti-ESP and IgA anti-L3 were strongly positively correlated with LFEC despite high standard errors. IgA anti-ESP response was negatively correlated with PCV and BW (-0.36 ± 0.18 and -0.50 ± 0.15 respectively) whereas IgA anti-L3 response was negatively correlated with LEOS and BW (-0.44 ± 0.25 and -0.38 ± 0.16 respectively).

4. Discussion

In this study, we quantified the genetic parameters of parasite resistance traits of Creole kids at 11 months of age, under natural mixed infection with *H.contortus* and *T.colubriformis* predominantly. We measured the faecal egg count, haematocrit, and bodyweight as classical resistance and productive traits and circulating eosinophil counts, serum parasite-specific IgA and IgE responses as immunological traits, indicators of the protective immune response. These traits are considered as different criteria related to the pathophysiology of GIN infection (Dominik, 2005).

Significant heritability estimates for classical resistance and productive traits ranged from 0.20 to 0.31, and are in the range of heritability estimates reported in sheep (Bishop et al., 2004; Vanimisetti et al., 2004; Morris et al., 2005; McManus et al., 2009; Prince et al., 2010) and in goats (Baker et al., 2001; Vagenas et al., 2002). Heritability estimates for FEC and PCV were in accord with our previous data in Creole goats with a range of 0.14-0.33 and 0.10-0.33 respectively (Mandonnet et al., 2001). However, lower estimates were also observed in other goat breeds (Morris et al., 1997; Mandal et Sharma., 2008, Bolormaa et al., 2010) as well as in sheep breeds (Rege et al., 2002; Wolf et al., 2008). Our greater heritability estimates in Creole goats,

compared to other goat breeds in tropics, may be due to the relatively standardized experimental conditions and flock management in Guadeloupe (Mandonnet et al., 2001).

The heritability estimates for eosinophil counts and IgA responses were in the same range than other published estimates (Bolormaa et al., 2010; Gutiérrez-Gil et al., 2010). Heritability estimates for eosinophil counts were in accordance with our previous data under natural mixed infection condition of Creole does (range 0.12-0.24, recorded at week 4 and week 6 after kidding respectively). In Australian Angora goat kids at 3 and 5 months of age and 35 days following an experimental infection with *Trichostrongylus colubriformis*, heritability estimates for eosinophil counts ranged from 0.06 to 0.28 (Bolormaa et al., 2010). However, higher heritability for eosinophil counts was found by Davies et al. (2005) in 6 month-old lambs naturally exposed to a mixed nematode infection. To our knowledge, no other study was published in goat on genetic parameters of IgA and IgE responses against *H. contortus*. Recently, Bolormaa et al. (2010) investigated genetic parameters of another immunoglobulin, IgG, against *T.colubriformis* and found heritability estimates ranging from 0.14 to 0.42. In Creole kids, heritability estimates for IgA against *H. contortus* are lower than those reported in Scottish blackface lambs, Romney lambs and Spanish Churra ewes (Davies et al., 2005; Gutiérrez-Gil et al., 2010). However, in Creole kids, the highest heritability estimate was for IgE anti-L3 (0.57 ± 0.16), a value in the range of those estimated in sheep against *T. colubriformis* and *Teladorsagia circumcincta* (Shaw et al., 1999; Murphy et al., 2010). Significant genetic variability was observed in Creole goats for traits associated with the host immune response: low to high heritability estimates for immunoglobulin responses and eosinophil counts. Therefore, these traits could be proposed as criteria of resistance to GIN in a breeding scheme. However, before selecting animals on these

traits to improve resistance to GIN, these traits should not be in an antagonistic relation with production traits.

In Creole goats, the genetic correlation between eosinophil counts and bodyweight was not significant. Furthermore, the negative genetic correlation found between eosinophil counts and faecal egg counts is in concordance with previous data suggesting that this cell population plays a role in resistance to helminth infection since a similar but stronger correlation (-0.62 ± 0.20) between resistance to *T. colubriformis* infection and the magnitude of the peripheral eosinophil response has been shown in resistant line of Merino sheep (Woolaston et al., 1996). As blood eosinophilia is easier and cheaper to measure than egg counts, one could imagine replacing FEC by EOS as selection criteria. However, Woolaston et al (1996) reported that the efficiency of an indirect selection based on eosinophilia is only 43% relative to direct selection on FEC. In our case the genetic progress with indirect selection on EOS would be 48% of the one of direct selection on eggs output. Combining these two criterions in a selection index could be a better solution, putting more emphasis on immune response.

The strong positive genetic correlations between either IgE or IgA responses against L3 and adult ESP antigens of *H. contortus* suggest that the humoral immune response is either not specific to the life cycle stage of the parasite or there is substantial cross recognition between the different parasite antigens. A high positive genetic correlation was observed between the IgA response and FEC. Furthermore, a negative genetic correlation is also observed between the IgA response and BW. Our data suggest that in Creole goats, the IgA response reflects the nematode burden importance (assessed by FEC) rather than the efficiency of the protective immune response. In contrast, previous studies in sheep reported negative genetic and phenotypic

correlations between FEC and the IgA response (Amarante et al., 2005; Davies et al., 2005) in agreement with the role of IgA as the major mechanism controlling GIN fecundity and adult development (Stear et al., 1995; Strain et al., 2002). The cost of producing these immune responses against gastrointestinal parasite does not surpass the benefits of the protection provided by these responses. These protective mechanisms are not pathogenic, as hypothesized by Murphy et al. (2009), as shown by the positive genetic correlation between IgE anti-L3 and the bodyweight. Resources allocation is thus not in competition between growth and immune protection. In contrast, activity of IgA is not only ineffective in controlling nematode infection but also is in direct competition with growth as shown by the negative genetic correlation wit BW.

The IgE anti-ESP response showed no genetic correlation with the different traits analysed in this study. Moreover, a weak and negative phenotypic correlation was observed between IgE anti-ESP and FEC, in contrast with previous results in Creole kids showing a positive phenotypic correlation between these two traits (Bambou et al., 2008). Inversely, the IgE anti-L3 responses showed a negative genetic correlation with FEC and a positive genetic correlation with BW. These findings are consistent with previous results suggesting involvement of this antibody isotype in protection against GIN infection in sheep (Shaw et al., 1998; Pettit et al., 2005; Murphy et al., 2010). To our knowledge, parasite-specific IgE play a central role in immediate hypersensitivity reactions, by cross-linking of IgE on the mast cell surface. Based on heritability estimates and genetic correlations found in this study, the immediate hypersensitivity reaction mediated by IgE against infective larvae of *H. contortus* would be one key point of the immune response in the model of Creole goats.

In resume, activity of IgA against L3 and adults of *H. contortus* would not induce a protective reaction to nematode infection. Immunoglublin A recognizes L3 and adults as suggested by the positive genetic correlations with faecal egg count but this would not result in effective reduction of the parasite population. Immune pathway involving IgA may not play an efficient in controlling resistance to gastrointestinal parasites in Creole goats.

In other hand, the immune response involving IgE directed against L3 of *H. contortus* would be efficient to control the nematode population, as suggested by the negative genetic correlation with FEC. However, the protective response would not to be directed against adults of *H. contortus* as suggested by the weak genetic correlation with FEC. As mentioned above, the immune response involving activity of IgE against L3 of *H. contortus* may be one important pathway for development of resistance to gastrointestinal nematode infections in Creole goats.

Eosinophil cells, another immunological trait studied, may reduce efficiently the nematode population as this trait is negatively correlated with FEC. Besides, eosinophil cells are also negatively correlated with IgA anti-L3. As the response of IgA anti-L3 may reflect directly presence of L3 in the digestive system of the animal, this suggests that activity of eosinophil cells would be directed towards L3 rather than adults. However, the absence of genetic correlation with IgE response suggests that the immune response involving eosinophil cells may be independent of the immune response involving IgE. These two pathways may be different and may offer two effective and protective responses to nematode infection in Creole goats.

5. Conclusion

This study demonstrated that IgA and IgE against L3 and adults of *H. contortus* are under genetic control in Creole goats. Moreover, IgA responses were genetically and positively correlated with FEC as IgE responses were negatively correlated with FEC. This study provides interesting results and formulates hypothesis on mechanisms of resistance involved in goats.

Acknowledgements

The authors thank the European Community (FEOGA), "La Région Guadeloupe" and EADGENE Network of Excellence (E.U. Contract N° FOOD-CT-2004-506416) for its financial support. They are grateful to the INRA teams of Gardel (Tony Kandassamy, Willy Troupe, Saint-Ange Matou, Jacky Gobardham

References

Amarante, A.F.T., Bricarello, P.A., Huntley, U., Mazzolin, L.P.,Gomes, J.C., 2005. Relationship of abomasal histology and parasite-specific immunoglobulin A with the resistance to *Haemonchus contortus* infection in three breeds of sheep. Vet. Parasitol. 128, 99–107.

Aumont, G., Pouillot, R., Simon, R., Hostache, G., Varo, H., Barre, N., 1997a. Parasitisme digestif des petits ruminants dans les Antilles Françaises. Inra Prod. Anim. 10, 79-89.

Aumont, G., Pouillot, R., Mandonnet, N., Nzobadila, G., 1997b. Le dénombrement des éléments parasitaires : Un outil pour l'étude de la résistance génétique aux endo-parasites chez les petits ruminants. Workshop final de l'ATP CIRAD-MIPA 72/94, Guadeloupe, France.

Baker, R.L., Audho, J.O., Aduda, E.O., Thorpe, W., 2001. Genetic resistance to gastro-intestinal nematode parasites in Galla and Small East African goats in the sub-humid tropics. Anim. Sci. 73, 61-70.

Bambou, J.-C., de la Chevrotière, C., Varo, H., Arquet, R., Kooyman, F.N.J., Mandonnet, N., 2008. Serum antibody responses in Creole kids experimentally infected with *Haemonchus contortus*. Vet. Parasitol. 158, 311-318.

Bishop, S.C., Jackson, F., Coop, R.L., Stear, M.J., 2004. Genetic parameters for resistance to nematode infections in Texel lambs and their utility in breeding programmes. Anim. Sci. 78, 185-194.

Bolormaa, S., Olayemi, M., van der Werf, J.H.J., Baillie, N., Le Jambre, F., Ruvinsky, A., Walkden-Brown, S.S., 2010. Estimates of genetic and phenotypic parameters for production, haematological and gastrointestinal nematode-associated traits in Australian Angora goats. Anim. Prod. Sci. 50, 25-36.

Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem.72, 248-54.

Davies, G., Stear, M.J., Bishop, S.C., 2005. Genetic relationships between indicator traits and nematode parasite infection levels in 6-month-old lambs. Anim. Sci. 80, 143-150.

Dawkins, H.J.S., Windon, R.G., Eagleson, G.K., 1989. Eosinophil responses in sheep selected for high and low responsiveness to *Trichostrongylus colubriformis*. Int. J. Parasitol. 19, 199-205.

Dominik, S., 2005. Quantitative trait loci for internal nematode resistance in sheep: a review. Genet. Sel. Evol. 37, 83-96.

Groeneveld, E., 1993. REML-VCE a multivariate model restricted maximum likelihood (co)variance component estimation package. In : E. Groeneveld (Ed.) Proc. EC Symp. On Appl. Of Mixed Linear Model in the Predictive of Genetic Merit in Pigs, Mariensee, Germany. pp 83-102.

Gutiérrez-Gil, B., Pérez, J., de la Fuente, L.F., Meana, A., Martinez-Valladares, M., San Primitivo, F., Rojo-Vazquez, F.A., Arranz, J.J., 2010. Genetic parameters for resistance to trichostrongylid infection in dairy sheep. Animal 4, 505-512.

Kooyman, F.N.J., VanKooten, P.J.S., Huntley, J.F., MacKellar, A., Cornelissen, A.W.C.A., Schallig, H.D.F.H., 1997. Production of a monoclonal antibody specific for ovine immunoglobulin E and its application to monitor serum IgE responses to *Haemonchus contortus* infection. Parasitology 114, 395–406.

Mandal, A., Sharma, D.K., 2008. Inheritance of faecal nematode egg count in Barbari goats following natural *Haemonchus contortus* infection. Vet. Parasitol. 155, 89-94.

Mandonnet, N., Aumont, G., Fleury, J., Arquet, R., Varo, H., Gruner, L., Bouix, J., Khang, J.V.T., 2001. Assessment of genetic variability of resistance to gastrointestinal nematode parasites in Creole goats in the humid tropics. J. Anim. Sci. 79, 1706-1712.

Mandonnet, N., Menendez-Buxadera, A., Arquet, R., Mahieu, M., Bachand, M., Aumont, G., 2006. Genetic variability in resistance to gastro-intestinal strongyles during early lactation in Creole goats. Anim. Sci. 82, 283-287.

McManus, C., Louvandini, H., Paiva, S.R., de Oliveira, A.A., Azevedo, H.C., de Melo, C.B., 2009. Genetic factors of sheep affecting gastrointestinal parasite infections in the Distrito Federal, Brazil. Vet. Parasitol. 166, 308-313.

Meeusen, E.N.T., Balic, A., Bowles, V., 2005. Cells, cytokines and other molecules associated with rejection of gastrointestinal nematode parasites. Vet. Immunol. Immunopathol. 108, 121–125.

Morris, C.A., Wheeler, M., Hosking, B.C., Watson, T.G., Hurford, A.P., Foote, B.J., Foote, J.F., 1997. Genetic parameters for milk yield and faecal nematode egg count in Saanen does. N.Z. J. Agric. Res. 40, 523-528.

Morris, C.A., Wheeler, M., Watson, T.G., Hosking, B.C., Leathwick, D.M., 2005. Direct and correlated responses to selection for high or low faecal nematode egg count in Perendale sheep. N.Z. J. Agric. Res. 48, 1-10.

Pernthaner, A., Shaw, R.J., McNeill, M.M., Morrison, L., Hein, W.R., 2005. Total and nematode-specific IgE responses in intestinal lymph of genetically resistant and susceptible sheep during infection with *Trichostrongylus colubriformis*. Vet. Immunol. Immunopathol. 104, 69–80.

Pernthaner, A., Cole, S.A., Morrison, L., Green, R., Shaw, R.J., Hein, W.R., 2006. Cytokine and antibody subclass responses in the intestinal lymph of sheep during repeated experimental infections with the nematode parasite *Trichostrongylus colubriformis*. Vet. Immunol. Immunopathol. 114, 135-48.

Pettit, J.J., Jackson, F., Rocchi, M., Huntley, J.F., 2005. The relationship between responsiveness against gastrointestinal nematodes in lambs and the numbers of circulating IgE-bearing cells. Vet. Parasitol. 134, 131-139.

Prince, L.L.L., Gowane, G.R., Swarnkar, C.P., Singh, D., Arora, A.L., 2010. Estimated of genetic parameters for faecal egg count of *Haemonchus contortus* infection and relationship with growth traits in Avikalin sheep. Trop. Anim. Health Prod. 42, 785-791.

Pfeffer, A., Douch, P.G.C., Shaw, R.J., Gatehouse, T.K., Rabel, B., Green, R.S., Shirer, C.L., Jonas, W.E., Bisset, S., 1996. Sequential cellular and humoral responses in the abomasal mucosa and blood of Romney sheep dosed with *Trichostrongylus axei*. Int. J. Parasitol. 26, 765–773.

Rege, J.E.O., Tembely, S., Mukasa-Mugerwa, E., Sovani, A., Anindo, D., Lahlou-Kassi, A., Nagda, S., Baker, R.L., 2002. Effect of breed and season on production and response to infection with gastro-intestinal nematode parasites in sheep in the highlands of Ethiopia. Livest. Prod. Sci. 78, 159-174.

Sangster, N.C., 1999. Anthelmintic resistance: past, present and future. Int. J. Parasitol. 29, 115-124.

Shaw, R.J., Gatehouse, T.K., McNeill, M.M., 1998. Serum IgE responses during primary and challenge infections of sheep with *Trichostrongylus colubriformis*. Int. J. Parasitol. 28, 293–302.

Shaw, R.J., Morris, C.A., Green, R.S., Wheeler, M., Bisset, S.A., Vlassoff, A., Douch, P.G.C., 1999. Genetic and phenotypic relationships among *Trichostrongylus colubriformis*-specific immunoglobulin E, anti-*Trichostrongylus colubriformis* antibody, immunoglobulin G(1), faecal egg count and body weight traits in grazing Romney lambs. Livest. Prod. Sci. 58, 25-32.

Stear, M.J., Bishop, S.C., Doligalska, M., Duncan, J.L., Holmes, P.H., Irvine, J., McCririe, L., McKellar, Q.A., SINSKI, E., Murray, M., 1995. Regulation of egg production, worm burden, worm length and worm fecundity by host responses in sheep infected with Ostertagia circumcincta. Parasite Immunol. 17, 643–652.

Strain, S.A.J., Bishop, S.C., Henderson, N.G., Kerr, A., McKellar, Q.A., Mitchell, S., Stear, M.J., 2002. The genetic control of IgA activity against *Teladorsagia circumcincta* and its association with parasite resistance in naturally infected sheep. Parasitology 124,545–552.

Vagenas, D., Jackson, F., Russel, A.J.F., Merchant, M., Wright, I.A., Bishop, S.C., 2002. Genetic control of resistance to gastro-intestinal parasites in crossbred cashmere-producing goats: responses to selection, genetic parameters and relationships with production traits. Anim. Sci. 74, 199-208.

Vanimisetti, H.B., Andrew, S.L., Zajac, A.M., Notter, D.R., 2004. Inheritance of fecal egg count and packed cell volume and their relationship with production traits in sheep infected with *Haemonchus contortus*. J. Anim. Sci. 82, 1602-1611.

Waller, P.J., 2003. Global perspectives on nematode parasite control in ruminant livestock: the need to adopt alternatives to chemotherapy, with emphasis on biological control. Anim. Health Res. Rev. 4, 35-43.

Wolf, B.T., Howells, K., Nakielny, C., Haresign, W., Lewis, R.M., Davies, O., Davies, M.H., 2008. Genetic parameters for strongyle and *Nematodirus* faecal egg counts in lambs and their relationships with performance traits. Livest. Sci. 113, 209-217.

Woolaston, R.R., Manueli, P., Eady, S.J., Barger, I.A., Le Jambre, L.F., Banks, D.J.D, Windon, R.G., 1996. The value of circulating eosinophil count as a selection criterion for resistance of sheep to trichostrongyle parasites Int. J. Parasitol. 26, 123-126.

PUBLICATION №3

Publication nº3 (en préparation pour Journal of Agricultural Sciences)

Analyse des paramètres génétiques de critères de résistance aux strongles gastro-intestinaux chez la chèvre Créole en période post-sevrage par la méthode de régression aléatoire

Cette seconde publication apporte des connaissances sur la variabilité génétique de la résistance et plus spécifiquement sur l'évolution de cette variabilité avec l'âge de l'animal. L'originalité de cet article repose sur l'utilisation de la méthodologie de régression aléatoire. Ces résultats complètent les réponses relatives au premier objectif de la thèse et apportent des informations pratiques pour la sélection.

Résumé en français

Un total de 12319 données d'excrétion d'œufs (OPG) et d'hématocrite (PCV) provenant de 3743 chèvres Créoles, naturellement infestés au pasturage par *Haemonchus contortus* et *Trichostrongylus colubriformis*, ont été analysés pendant la période post-sevrage (entre 4 et 12 mois d'âge) par la méthode de régression aléatoire. Un effet génétique additif et un effet d'environnement individuel permanent ont été inclus dans des modèles univariés. Les variances phénotypiques et génétiques pour l'OPG et le PCV augmentent de 210 à 360 jours d'âge. Les estimations d'héritabilité pour l'OPG varient entre 0.10 et 0.26 et augmentent à partir de 7 mois d'âge pour atteindre une valeur maximale à 12 mois. Une évolution similaire de l'héritabilité a été observée pour le PCV avec des valeurs variant de 0.16 à 0.25. De fortes corrélations génétiques ont été observées entre des mesures prises entre 9 et 12 mois d'âge pour l'OPG et le PCV, suggérant que ces différentes mesures peuvent être considérées comme un seul et même caractère. De manière générale, les correlations génétiques diminuent entre mesures éloignées dans le temps. Cette étude a permis d'étudier l'évolution de la résistance génétique aux strongles gastro-intestinaux pendant la période post-sevrage. L'évolution positive des paramètres génétiques avec l'âge de l'animal a mise en évidence la fonction adaptative de la résistance. La sélection pour la résistance serait plus efficace sur les critères d'OPG et de PCV measurés à 12 mois d'âge où l'héritabilité est la plus élevée.

Genetic parameters of gastrointestinal nematode resistance traits in Creole goats during post-weaning period using random regression models

Claudia de la Chevrotière
UR 143 – INRA-URZ
Domaine Duclos, 97170 Petit-Bourg, France
E-mail: Claudia.Chevrotiere@antilles.inra.fr

Alberto Menendez-Buxadera
Centro de Control Pecuario c-Direccón de Genética.
Ministerio de la Agricultura, Conill y Boyeros C. de la Habana, Cuba

Jean-Christophe Bambou
UR 143 – INRA-URZ
Domaine Duclos, 97170 Petit-Bourg, France
E-mail: Jean-Christophe.Bambou@antilles.inra.fr

Nathalie Mandonnet (Corresponding author)
UR 143 – INRA-URZ
Domaine Duclos, 97170 Petit-Bourg, France
Tel: +590-590-25-54-08 E-mail: Nathalie.Mandonnet@antilles.inra.fr

Abstract

A total of 12319 records of faecal egg count (FEC) and packed-cell volume (PCV) obtained from 3743 Creole goats naturally infected at pasture with *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* predominantly were analyzed using random regression models throughout the post-weaning period (4 to 12 months of age). Univariate analyses were carried out by fitting a direct additive genetic effect and an individual permanent environment effect. Phenotypic and direct additive genetic variance for FEC and PCV increased from 210 to 360 days of age. Heritability estimates for FEC ranged from 0.10 to 0.26 along the age trajectory and increased from 7 months of age and peaked at 360 days of age. Similar evolution of heritability estimates was found for PCV and values ranged from 0.16 to 0.25. High genetic correlations were found between measurements taken at 9 to 12 months of age for FEC and PCV, suggesting that different records are treated as the same trait. In general, genetic correlation decreased with increasing time between measurements. This study allowed the investigation of the evolution of the genetic resistance within the post-weaning period. The adaptative function of resistance to parasite was evidenced as genetic components increase with the age of the animal. Selection for resistance would be more efficient if FEC or PCV were sampled at 12 months of age as heritability is highest at this age for both traits.

Keywords: Nematode parasite, faecal egg count, packed-cell volume, random regression analysis, Creole goats

1. Introduction

Increasing genetic resistance to gastrointestinal nematode infections is one promising alternative to widely used anthelmintic products in small ruminant productions (Eady et al., 1995). Parasite resistance is under genetic control in many sheep and goat breeds, thus enabled its insertion into breeding programs. However, many questions remained for optimal and successful improvement of the resistance in the population. One important question is to determine at what age the resistance should be measured on animals to have the more efficient response to selection.

Infections by gastrointestinal nematodes are responsible of major loss of production in the Creole goat raised for meat in Guadeloupe (Mandonnet et al., 2005). The faecal egg count (FEC) and haematocrit (PCV), criteria used to estimate the resistance of the host, are moderately heritable and could be added into a breeding scheme to improve Creole goats (Mandonnet et al., 2006).

Previous study has been estimating genetic parameters at two distinct ages, 7 and 11 months, assuming that these two measurements are considered as the same trait (Mandonnet et al., 2001). However, another approach is possible by considering each measurement of FEC and PCV as different traits. The random regression methodology (Schaeffer and Dekkers, 1994) allows this by analyzing the repeated measures as different traits and taking into account the change of covariance with time. This method also allows estimations of genetic parameters by interpolation at time points where no phenotypic records are available.

Random regression analysis could be easily applied in Creole goats, on a dataset of more than 10 000 measurements of gastrointestinal nematode resistance taken between 4 to 12 months of age on more than 3000 animals. The purpose of this study was thus to investigate the change in genetic parameters of FEC and PCV over the post-weaning period using a random regression model.

2. Material and methods

2.1 Experimental design

Data used in this study were obtained from an experimental flock of Creole goats raised at pasture under a natural mixed nematode infection, mainly composed by *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis* and *Oesophagostomum columbianum*. The flock produced on average a 200-kid cohort every 4 months. It was organized in 12 families. Kids used in this study were born in the flock between 1995 and 2006. Faecal and blood samples were collected on each animal every 7 weeks after drenching with levamisole, during the post-weaning period (4 to 12 months of age). FEC was determined by a modified McMaster method for rapid determination (Aumont et al., 1997). PCV was measured using the capillary micro-haematocrit method.

2.2 Statistical analyses

A total of 12319 records from 3743 animals were analyzed with a random regression model using the Asreml software (Gilmour et al., 2006). For that purpose, a longitudinal file was made in which each animal is repeatedly represented for each FEC and PCV recorded at different ages between 4 and 12 month of age. Prior to analysis, FEC was log-transformed (LFEC=ln(FEC+15)) in order to normalize the distribution. PCV did not require any transformation. LFEC and PCV were analysed according to this model:

$$y_{ij} = Xb + \sum_{k=0}^{k_a-1} Z_1 a_k + \sum_{k=0}^{k_p-1} Z_2 p_k + \varepsilon$$

where:

y is a vector of the trait of the i^{th} animal at the j age

b is a vector of fixed effects with X incidence matrix, a fixed regression equation of k_f order is included within each fixed effect. Fixed effects were identified using the GLM procedure of SAS software (2000). Significant fixed effects for LFEC and PCV were sex and a combined effect of cohort and date of measurement. The rank of litter and the type of nursing (natural or artificial) was added for PCV.

$\mathbf{a_k}$ is a set (of dimension = number of animals) of k random coefficients of regression of k_a order for the direct additive genetic effect.

$\mathbf{p_k}$ is I_n dimension set for the random individual permanent environment effect due to the repeated of the dependent variable in each animal. The order of adjustments of the k random coefficients of regression was k_p.

A second order orthogonal polynomial was chosen for the fixed part of the model. A first order was chosen for the animal effect and for the individual permanent environmental effect.

Table 1. Number of records, mean and maximum values for log-transformed FEC and PCV at nine recording time.

Age	LFEC			PCV		
(in days)	n	Mean	Max	n	Mean	Max
120	94	7.45	9.06	125	25.18	39.00
150	643	6.96	10.32	1168	26.41	48.00
180	522	6.46	9.77	947	24.89	38.00
210	2071	6.47	11.74	3076	25.66	40.00
240	229	5.86	9.40	214	25.30	45.00
270	662	7.41	10.22	991	26.99	46.00
300	386	6.58	9.43	553	26.12	38.00
330	2030	6.43	9.99	2850	27.56	50.00
360	173	5.11	7.87	205	29.00	39.00

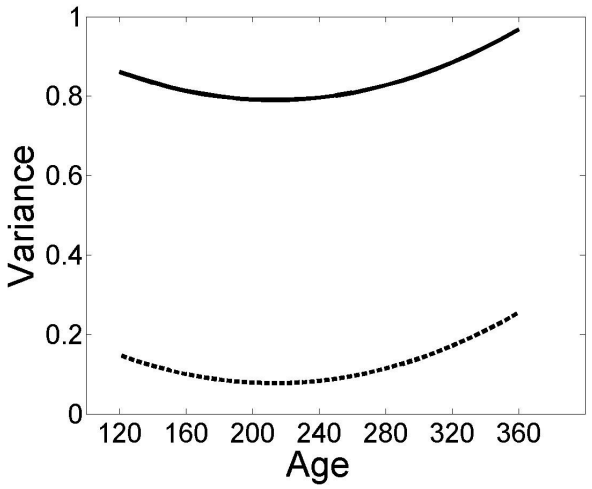


Figure 1. Phenotypic (solid line) and genetic (dashed line) variances of LFEC during the post-weaning period (in days of age).

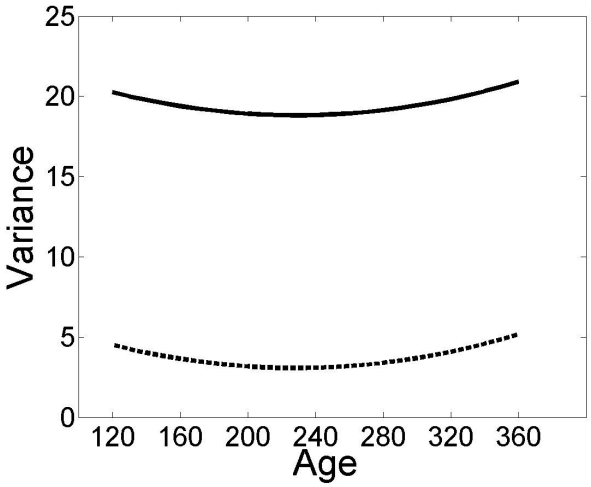


Figure 2. Phenotypic (solid line) and genetic (dashed line) variances of PCV during the post-weaning period (in days of age).

$\mathbf{Z_1}$ and $\mathbf{Z_2}$ are incidence matrices with n x k_a (k_p). These matrices contain as elements $Z_i = \Phi_i = \forall_i(t_{ij}^*)$ where $\forall_i$ is the coefficient of the polynomial selected and t_{ij}^* is the standardized age between -1 to +1 which is necessary for the utilization of the orthogonal polynomials (Φ_i) of k_i order. The symbol Σ means that the total effects are estimated by adding the corresponding Φ_i terms.

ε is a vector of random residual effect with homogenous variance.

The Asreml software offers the solutions for all the effects but also for all the variance components. However, results received an additional treatment following the proposal of Jamrozik and Schaeffer (1997). Genetic variance for the trait direct genetic effect (σ_{aj}^2) at the j age can be estimated by:

$$\sigma_{aj}^2 = \Phi_{aj} K_a \Phi_{aj}^{'}$$

and for the variances of the individuals permanent environment effects (σ_{pj}^2):

$$\sigma_{pj}^2 = \Phi_{pj} K_p \Phi_{pj}^{'}$$

The Asreml version used was offering the polynomial coefficients (Φ) for every points of the age trajectory represented in the data. With all the previous components, the total phenotypic variance must be estimated for the age desired; the residual variance corresponding to the given age group must be added. Finally, the genetic parameters (heritability and genetic correlation) were estimated by the classical procedures.

3. Results

Number of records, means and maximum values for LFEC and PCV for all ages analyzed are presented in Table 1. Records were more numerous at 210 and 330 days of age for both traits. Animals at 330 days of age have the lowest mean of LFEC and highest mean for PCV.

Variance components estimated through the age scale for LFEC and PCV are shown in Figure 1 and 2 respectively. Genetic and phenotypic variances of LFEC increase from 210 days to 360 days of age. Values at the end of the period are greater of about 0.10 than those at the beginning of the period. Genetic and phenotypic variances for PCV slightly increase from 230 days of age until the end of the period. However, the difference between values at the beginning and the end of the period is not as important as for LFEC. For both traits, genetic and phenotypic variance was higher just after weaning (120 days of age) to decrease to about 7 months of age before increasing again.

Heritability estimates of LFEC and PCV are shown in Figure 3. As for variance components, heritability decreased from weaning to about 220 days of age for both traits, after increasing until the end of the period analyzed. Heritability of PCV was higher than heritability of LFEC until about 330 days of age. The increase of heritability from 220 days of age to 360 days of age was more important for LFEC and reached a maximal value of 0.26.

Genetic correlations between different measurements of FEC taken at different ages are presented in Figure 4. Measurements taken at 120 days of age and those sampled up to 200 days of age have a genetic correlation greater than 0.8. Similarly, measurements taken at 270 and those collected up to 360 days of age have also a genetic correlation greater than 0.8. Surprisingly, genetic correlations between traits collected at extreme points are slightly negative. The low number of records at these ages may explain the low accuracy of correlations estimates and therefore the negative values. Traits collected in these two defined periods can be treated as two distinct traits. Therefore, all measurements taken before 200 days of age are genetically the same trait as all measurements taken after 270 days of age can be also defined as genetically the same trait. Similar pattern was found for PCV (Figure 5).

4. Discussion

FEC and PCV are indicators commonly used to evaluate the nematode resistance status of the host. These two traits were found moderatly heritable at 11 months of age in a Creole goat population (Mandonnet et al., 2001). The aim of this study was to get a description of the evolution of genetic parameters of FEC and PCV between 4 to 12 month of age. Therefore, by using random regression methodology, this study allows a better understanding of the resistance to nematode infections as well as providing useful information for practical application.

In our study, heritability estimates for FEC ranged from 0.10 to 0.26 through out the post-weaning period. Similar values were found in lambs using single measurements of FEC (Bishop et al., 2004, Vanimisetti et al., 2004; Morris et al., 2005; McManus et al., 2009) or two or more records, using repeatability models (Baker et al., 2003; Vanimisetti et al., 2004). Moderate heritability estimates for FEC were also found in goats (Baker et al., 2001; Vagenas et al., 2002; Bolormaa et al., 2010).

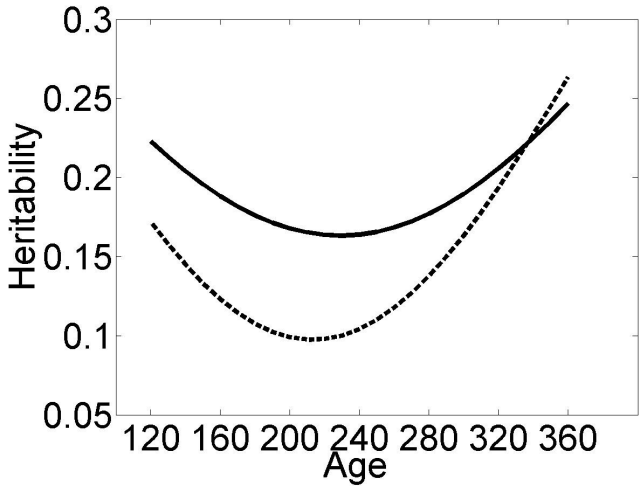


Figure 3. Heritability estimates of LFEC (dashed line) and PCV (solid line) during the post-weaning period (in days of age).

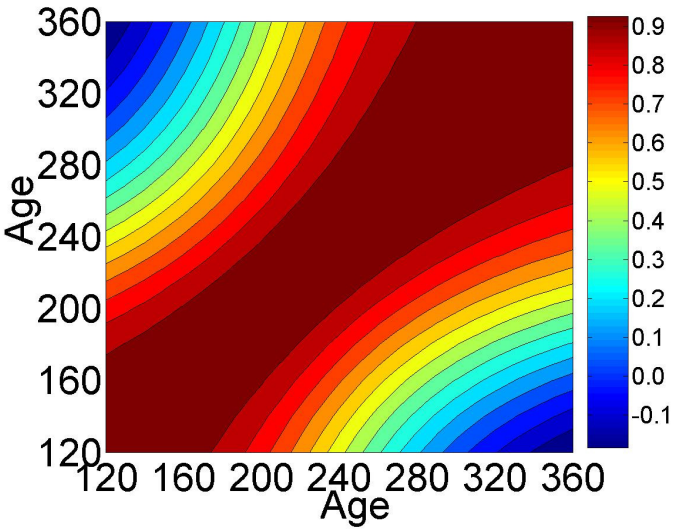


Figure 4. Contour plot of genetic correlation between FEC measurements at different age (in days).

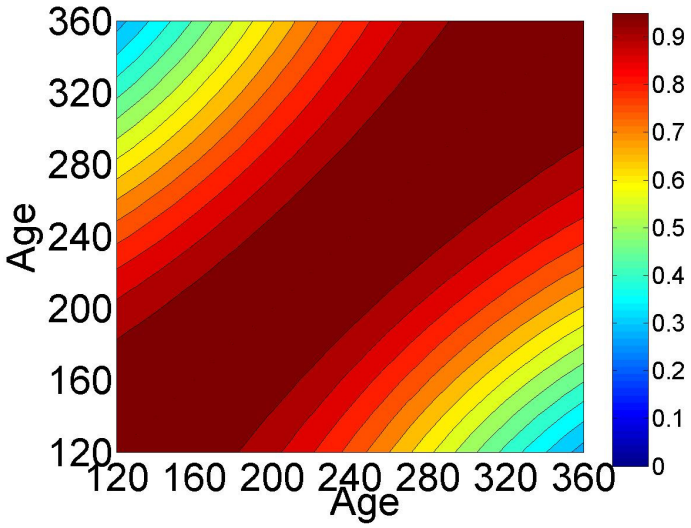


Figure 5. Contour plot of genetic correlation between PCV measurements at different age (in days).

Genetic parameters of FEC increased significantly with the age of the animal. The use of random regression method has allowed the interpolation of estimations between records, thus giving a global view of the evolution of the genetic resistance within the post-weaning period. However, few studies have used this methodology to estimate genetic parameters of FEC over a time period. Pollot et al. (2004) estimated FEC heritability between weaning and 12 months of age and found similar increase of genetic variability with the age of the animal. The increase was highest from 250 days of age until the end of the period analysed as also observed in our study. Lôbo et al. (2009) estimated genetic parameters of FEC after two natural challenges between 5 and 18 months in Santa Inês female lambs. FEC heritability also increased with age with a higher increase in the second challenge. Similar positive evolution was also found by Vagenas et al., 2007 in lambs between 2 and 6 months of age. These patterns agree with the now well-documented biological understanding of the development of the resistance to gastrointestinal nematode parasites. It is known to be acquired gradually throughout the life of the animal with repeated contacts with parasites (Stear et al., 1999, Peña *et al.,* 2006).

PCV heritability estimates were ranging from 0.16 to 0.25. Similar values were found in sheep (Woolaston and Piper, 1996; Gauly et al., 2001; McManus et al., 2009). However, estimations in sheep also showed a wide variability among studies. Lower heritability estimates were found by Baker et al. (2003) and Rege et al. (2002) while a higher heritability was found by Vanimisetti et al. (2004). PCV was also moderately heritable in goats (Baker et al., 2001. Higher heritability estimates were observed in Angora goats ranging from 0.49 to 0.59 between 3 and 6.5 months of age (Bolormaa et al., 2010). However, as for FEC, these results were obtained from single measurements or on two or more records using repetability models. To our knowledge, only one study have used a random regression model to estimate genetic parameters of PCV over a time period. In contrast with our study, Lôbo et al. (2009) observed a more complex pattern of the evolution of PCV heritability between 5 and 18 months of age. During the first natural challenge, heritability increased and peak to 0.31 before decreasing until almost 13 months of age. Heritability estimates for the second challenge started at almost zero at almost 14 months of age to peak at 0.12 before rapidly decreasing. Moreover, the genetic variance sligthly decline over the two natural challenge.

FEC and PCV heritability estimates both decrease between weaning and 7 months old. Maternal genetic effects were found to be significant at weaning but remain unimportant between 4 and 10 months of age (Mandonnet et a., 2001). However, in our study, it was not possible to fit maternel effects for both traits, due to convergence problems. This could explain why we observed higher heritability estimates at weaning. Fitting maternal effects may change the aspect of the curve for the beginning of the period tested.

Genetic correlations between differents records of FEC and PCV showed two distinct periods where measurements are treated as a same trait. Traits collected between weaning and 200 days of age are genetically different traits as those collected between 270 and 360 days of age. Again, this result agrees with the protective nature of the resistance to nematode parasite. Genes controlling FEC and PCV are not the same depending of the age of the animal. The genes implies in nematode resistance may not be fully activated after weaning but become mature with exposition of nematodes during life of animal. Similar results were obtained in sheep (Vagenas *et al.,* 2007).

In addition, this information could be useful when applying selection for resistance. As the genetic variance and heritability start increasing after 7 months of age, this suggest that the immunity against nematode parasites may not be fully developed before 7 months of age. Selecting for FEC and PCV will then be more effective at the end of the post-weaning period, where genetic variance and heritability is highest for both traits. Moreover, selecting on traits sampled on 9 months-old animal will affect the same genes but with less effective genetic progress. Therefore, a compromise is needed to determine the best sampling time between this 9 to 12 months range to obtain optimal progress while taking into account pratical issues.

5. Conclusion

Random regression methodology have allowed a global view of the evolution of the genetic component of two parasite resistance traits during the post-weaning period in Creole goats. The adaptative function of resistance to parasite was evidenced as genetic parameters increases with the age of the animal. Moreover, these results provided useful information to include nematode resistance in a breeding scheme.

Acknowledgments

The authors thank the “Région Guadeloupe” for its financial support. They are grateful to the INRA teams of Gardel and parasitology laboratory.

References

Baker R.L., Audho J.O., Aduda E.O., Thorpe W., 2001. Genetic resistance to gastro-intestinal nematode parasites in Galla and Small East African goats in the sub-humid tropics. Anim. Sci., 73, 61-70.

Baker R.L., Nagda S., Rodrigez-Zas S.L., Southey B.R., Audho J.O., Aduda E.O., Thorpe W., 2003. Resistance and resilience to gastro-intestinal nematode parasites and relationships with productivity of Red Maasai, Dorper and Red Maasai x Dorper crossbred lambs in the sub-humid tropics. Anim. Sci., 76, 119-136.

Bishop S.C., Jackson F., Coop R.L., Stear M.J., 2004. Genetic parameters for resistance to nematode infections in Texel lambs and their utility in breeding programmes. Anim. Sci., 78, 185-194.

Bolormaa S., Olayemi M., van der Werf J.H.J., Baillie N., Le Jambre F., Ruvinsky A., Walkden-Brown S.S., 2010. Estimates of genetic and phenotypic parameters for production, haematological and gastrointestinal nematode-associated traits in Australian Angora goats. Anim. Prod. Sci., 50, 25-36.

Eady S.J., 1995. Phenotypic traits associated with resistance to internal parasites. In: G.D. Gray, R.R. Woolaston and B.T. Eaton, Editors, *Breeding for Resistance to Infectious Diseases in Small RuminantsACIAR Monograph No 34*, ACIAR, Canberra, Australia, pp. 219–236.

Gauly M., Erhardt G., 2001. Genetic resistance to gastrointestinal nematode parasites in Rhön sheep following natural infection. Vet. Parasitol., 102, 253-259.

Gilmour A.R., Gogel B.J., Cullis B.R., Thompson R., 2006. ASReml User Guide Release 2.0. VSN International Ltd, Hemel Hempstead, UK.

Jamrozik J., Schaeffer L.R., 1997. Estimates of genetic parameters for a test day model with random regression for yield traits of first lactation Holsteins. J. Dairy Sci. 80, 762–770.

Lôbo R.N.B, Veira L.S., de Oliveira A.A., Muniz E.N., da Silva J.M., 2009. Genetic parameters for faecal egg count, packed-cell volume and body-weight in Santa Inês lambs. Genet. Mol. Biol., 32, 288-294.

Mandonnet N., Aumont G., Fleury J., Arquet R., Varo H., Gruner L., Bouix J., Khang J.V.T., 2001. Assessment of genetic variability of resistance to gastrointestinal nematode parasites in Creole goats in the humid tropics. J. Anim. Sci., 79, 1706-1712.

Mandonnet N., Bachand A., Mahieu A., Arquet R., Baudron F., Abinne-Molza L., Varo H., Aumont G., 2005. Impact on productivity of peri-parturient rise in fecal egg counts in Creole goats in the humid tropic. Veterinary Parasitology 134, 249-259.

Mandonnet N., Menendez-Buxadera A., Arquet R., Mahieu M., Bachand M., Aumont G., 2006. Genetic variability in resistance to gastro-intestinal strongyles during early lactation in Creole goats. Animal Science 82, 283-287.

McManus C., Louvandini H., Paiva S.R., de Oliveira A.A., Azevedo H.C., de Melo C.B., 2009. Genetic factors of sheep affecting gastrointestinal parasite infections in the Distrito Federal, Brazil. Vet. Parasitol., 166, 308-313.

Morris C.A., Wheeler M., Watson T.G., Hosking B.C., Leathwick D.M., 2005. Direct and correlated responses to selection for high or low faecal nematode egg count in Perendale sheep. N.Z. J. Agric. Res., 48, 1-10.

Peña M.T., Miller J.E., Horohov D.W., 2006. Effect of CD4+ T lymphocyte depletion on resistance of Gulf Coast Native lambs to *Haemonchus contortus* infection. Vet. Parasitol., 138, 240-246.

Pollot G.E., Karlsson L.J.E., Eady S., Greeff J.C., 2004. Genetic parameters for indicators of host resistance to parasites from weaning to hogget age in Merino sheep. J. Anim. Sci., 82, 2852-2864.

Rege J.E.O., Tembely S., Mukasa-Mugerwa E., Sovani A., Anindo D., Lahlou-Kassi A., Nagda S., Baker R.L., 2002. Effect of breed and season on production and response to infection with gastro-intestinal nematode parasites in sheep in the highlands of Ethiopia. Livest. Prod. Sci., 78, 159-174.

SAS 1999-2000. SAS Release 8.1. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Stear M.J., Strain S., Bishop S.C., 1999. Mechanisms underlying resistance to nematode infection. Int. J. Parasitol., 29, 51–56.

Schaeffer L.R., Dekkers J.C.M., 1994. Random regressions in animal models for test-day production in dairy cattle. In : Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Productions, Canada, 18, 443-446.

Vagenas D., Jackson F., Russel A.J.F., Merchant M., Wright I.A., Bishop S.C., 2002. Genetic control of resistance to gastro-intestinal parasites in crossbred cashmere-producing goats: responses to selection, genetic parameters and relationships with production traits. Anim. Sci., 74, 199-208.

Vagenas D., White I.M.S., Stear M.J., Bishop S.C., 2007. Estimation of heritabilities and correlations between repeated faecal egg count measurements in lambs facing natural nematode parasite challenge, using a random regression model. J. Agricult. Sci., 145, 501-508.

Vanimisetti H.B., Andrew S.L., Zajac A.M., Notter D.R., 2004. Inheritance of fecal egg count and packed cell volume and their relationship with production traits in sheep infected with *Haemonchus contortus*. J. Anim. Sci., 82, 1602-1611.

Woolaston R.R., Piper L.R., 1996. Selection of Merino sheep for resistance to *Haemonchus contortus*: genetic variation. Anim. Sci., 62, 451-460.

RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES

Résultats complémentaires

Recherche d'un gène majeur affectant la résistance aux strongles gastro-intestinaux chez la chèvre Créole.

L'analyse de la variabilité génétique ne serait complète sans évoquer le déterminisme génétique de la résistance. Cette section présentera des résultats complémentaires sous la forme d'une publication scientifique afin de conserver une présentation homogène pour tous les résultats. Cependant, ils ne seront pas valorisés en l'état dans un journal scientifique. L'analyse du déterminisme génétique fait figure de première étape dans la recherche et l'identification du ou des gènes responsables de la résistance. Il nous a semblé important à ce titre d'inclure ces résultats dans la thèse.

Résumé en français

Les strongles gastro-intestinaux sont une pathologie majeure chez les petits ruminants. Une méthode alternative de contrôle des strongyloses se base sur l'amélioration de la résistance génétique de l'hôte. Connaître les gènes affectant la résistance faciliterait la sélection des animaux résistants. La chèvre Créole possède un génotype original provenant d'une sélection naturelle dans un environnement contraignant. Cette population pourrait être porteuse d'allèles favorables pour l'adaptation aux parasites qui pourraient être utiles à la sélection. Une analyse de ségrégation a été utilisée pour déterminer si un gène majeur affecte la résistance. La mesure d'excrétion d'œuf (OPG) mesuré à 11 mois d'âge sur des animaux élevés au pâturage sous une infestation parasitaire mixte a été utilisée sous un modèle polygénique et un modèle de transmission mixte. Les résultats démontrent que l'OPG est influencé par un gène majeur avec dominance partielle dans la population de chèvre Créole. L'allèle B est dominant et est associé à

une susceptibilité aux parasites gastro-intestinaux. Cette méthode a donc permis de préciser le déterminisme génétique pour la résistance dans cette population caprine.

Analysis for a major gene affecting resistance to gastrointestinal nematode infections in Creole goats

Nathalie Mandonnet[1§], Claudia de la Chevrotière[1], Carole Moreno[4], Maurice Mahieu[1], Rémy Arquet[2], Pascale Le Roy[3], Jean-Michel Elsen[4]

[1]Institut National de Recherche Agronomique, Unité de Recherche Zootechniques, Domaine Duclos, 97170 Petit-Bourg

[2]Institut National de Recherche Agronomique, Plateforme tropicale d'expérimentation sur l'animal, Domaine de Gardel, 91120 Le Moule

[3]Institut National de Recherche Agronomique, Domaine de la Motte au Vicomte BP 35327 35653 LE RHEU CEDEX

[4]INRA-UR SAGA, Chemin de borde Rouge, 31326 Castanet Tolasan

[§]Corresponding author

Email addresses:

NM: Nathalie.Mandonnet@antilles.inra.fr

CDLC: Claudia.Chevrotiere@antilles.inra.fr

MM: Maurice.Mahieu@antilles.inra.fr

RM: Remy.Arquet@antilles.inra.fr

PL: Pascale.leroy@rennes.inra.fr

JME: Jean-Michel.Elsen@toulouse.inra.fr

CM: Carole.Moreno@toulouse.inra.fr

Abstract

Background

Small ruminants are affected by gastrointestinal nematode infections. An alternative control strategy is based on increasing the genetic resistance of the host. Knowing genes affecting the resistance would simplify the selection of resistant animals. The Creole goat breed has an original genetic background resulted of natural selection under harsh environment. It may carry favourable alleles for adaptation to parasites that can be used in selection.

Methods

A segregation analysis was used to determine if there is a major gene affecting resistance. The faecal egg count (FEC) measured at 11 months of age on animal reared at pasture under a natural mixed nematode infection was tested under a polygenic model and a mixed transmission inheritance model.

Results

FEC was found to be influenced by a major gene with partial dominance. The dominant allele B was associated with susceptibility to gastrointestinal nematode parasites.

Conclusion

Resistance of gastrointestinal nematode infection is found to be under control of a major gene in the Creole goat population.

Background

In the tropics, the most important diseases of small ruminants are the infections produced by gastrointestinal nematodes, causing a major constraint to the production [1]. Control based on anthelmintics has been largely used but the widespread occurence of resistant parasite strains make this method unsustainable over the long term [2]. An alternative control strategy is based on increasing the genetic resistance of the host [3]. Numerous evidences of genetic variation in resistance to gastrointestinal nematode parasites, both between and within breeds sheep and goats, now exist and have proven the feasibility of improving the resistance by selection [4].

The Creole goat is a highly productive meat breed now well characterized [5, 6, 7]. Historical, biological and genetic data show that this breed is a mixture of various breeds introduced in the French West Indies during the colonisation period [8]. The combination of natural selection under harsh environment and the common use of flock during four centuries have resulted in a crossbred which is a genetically original resource [9]. It may carry favourable alleles for adaptation to parasites that can be used in selection as resistance is under genetic control in this population [10].

Knowing genes affecting the resistance would simplify the selection of resistant animals. QTL studies have been conducted in sheep and goat and many chromosomal regions have been found affecting the resistance to nematodes, mainly the faecal egg count (FEC) [11]. Despite detection of genomic regions near candidate genes such as the interferon gamma or the major histocompatibility complex, these studies did not find any evidence of major genes affecting the resistance, thus emphasizing the hypothesis that resistance is rather polygenic.

For the last twenty years, research have been exploring the genetic variation for resistance with the use of genomic information but segregation analysis can also be used to determine if there are major genes affecting resistance without the use of genetic markers.Various attempts to demonstrate the segregation of major gene of resistance have been carried out on the “Golden Ram” in the 1980s but all were unsuccessful [12].However, a more recent attempt successfuly found a major gene of large effect affecting FEC [13]. It would be interesting to use the Creole goat as an original model to test the hypothesis of a major gene segregating for resistance in this population.

The purpose of this study was to investigate the existence of major genes affecting resistance to gastrointestinal strongyles applying a maximum likelihood method, via a Quasi-Newton algorithm [14] on the data collected over the last 15 years from an experimental Creole goat flock under natural parasite challenge.

Methods

Experimental design

The data on 1387 kids born between 1995 and 2010, sired from 55 bucks and 1030 does were collected from the experimental Creole goat flock of INRA-Gardel, located in Guadeloupe. The flock grazed all year on irrigated *Digitaria decumbens* pastures. More details on flock management can be found in Mandonnet et al. 2001 [15]. After weaning, males and females were naturally infected on separate paddocks. The main strongyle species were *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis*. Kids were drenched with Levamisole every 8 weeks. Faecal samples were recorded at weeks 6 and 7 after drenching to determine the faecal egg counts (FEC) and the mean was calculated and expressed in eggs per gram of faeces. The following analyses were performed on FEC at 11 months of age.

Variance analyses

Environmental effects were tested using the general linear model of SAS software [16]. Data were pre-adjusted for significant effects before segregation analyses. Genetic parameters were estimated under assumption of a polygenic inheritance using REML methodology applied to a univariate animal model with the VCE software [17].

Major gene detection

The hypothetic major gene was defined as an autosomal biallelic (*A* and *B*) locus with Mendellian transmission probabilities. In the presence of two alleles *A* and *B*, with probabilities P_A and P_B=1-P_A, 3 genotypes *AA*, *AB* and *BB* can be encountered. Any given animal has the genotype *g* (*g*=1, 2 or 3) with a probability P_g. The vector of phenotypic values **Y** was modelled as follows:

$$\mathbf{Y=ZW\mu + ZU + E}$$

where **μ** is the vector of genotypic means *(μ - a, μ + d, μ + a)* associated respectively with the major gene genotypes *AA*, *AB* and *BB*, **U** is the vector of polygenic genetic values and **E** is the vector of residuals; **Z** is an incidence matrix relating genetic effects to observations and **W** is a matrix containing the genotype of each individual. Distributional assumptions for U and E were $\mathbf{U} \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{A}\sigma^2_u)$, where **A** is the numerator relationship matrix and σ^2_u is the polygenic variance;

and $\mathbf{E} \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{I}\sigma^2_e)$ where σ^2_e is the error variance. Polygenic heritability was calculated as $h^2_{pol} = \sigma^2_u /[\sigma^2_u + \sigma^2_e]$.

The major gene existence was tested by comparing the polygenic heredity model (null hypothethis H_0) to the mixed inheritance model (general hypothesis H_1). The statistic test was obtained from the likelihood ratio $l=-2ln(M_0/M_1)$ where M_0 and M_1 are the likelihoods under H_0 and H_1. Seven parameters were thus estimated (μ_1, μ_2, μ_3, σ_u, σ_e , P_{AA} and P_{AB}) under H_1 whereas three parameters were estimated (μ_0, σ_u and σ_e) under H_0. Maximisation of likelihoods was performed using a quasi-Newton algorithm (E04JYF) of the NAG Fortran library. Likelihood ratio l was assumed to be asymptotically distributed according to a χ^2 distribution with 4 degrees of freedom [18].

Results & Discussion

Traits distributions and environmental effects

1387 kids were used in this study born from 55 bucks and 1030 does. The buck families were included in the study when their size was bigger or equal to 14 offspring. Animals have FEC of 1291 eggs/grams on average and ranging from 0 to 21690 eggs/grams. FEC was log transformed prior to segregation analysis by using ln(FEC +15). Significant environmental effect for FEC was the cohort effect only. An additional transformation was done on residuals of log-transformed FEC:

$$FECt = r\left(\left(FEC / r + 1\right)\right)^{(p-1)/p}$$

Under H_0, values of p and r were 1.49678 and 0.248673 respectively while under H_1, values of p and r were 1.2316 and 0.35513.

Segregation analysis

The parameters estimated under a polygenic model (H_0) and under a mixed transmission model (H_1) are shown in Table 1. The likelihood ratio value was significantly higher than the 5% threshold ($\chi^2_{0.05;4} = 9.5$). Heritability estimate was slightly higher under the mixed transmission model and is consistent with the estimate obtained on the same dataset with a linear model using ASREML software [18]. FEC was found to be influenced by a major gene with partial

Table 1 - Parameters estimated for FEC under a polygenic heredity model (H_0) and a mixed transmission model (H_1).

Parameters[1]			
H_0		**H_1**	
μ_0	13.7	μ_{1*}	3.22
σ_u	1.83	μ_{2*}	7.88
σ_e	10.78	μ_{3*}	6.78
h^2_{VCE}	0.145	a	1.78
		d	2.87
		$2a/\sigma_p$	2.6
		σ_u	0.32
		σ_e	1.56
		h^2_{pol}	0.17
		P_{AA}	$0.23*10^{-6}$
		P_{AB}	0.23
		l	24.3
		$P(l<\chi^2_4)$	$6.95*10^{-5}$

[1] See methods for description of parameters
*See results section for transformations of FEC

dominance. The dominant allele B was associated with higher values, *i.e.* with increased egg output or susceptibility to gastrointestinal nematodes infections.

The hypothesis is done of a major gene controlling egg output in Creole kids naturally infected at pasture after weaning. Its effect is quite important (2.6 genetic standard deviation). The resistant allele may have been selected by the strong parasitism pressure met in Guadeloupe. This result allows a better understanding of the mechanisms of resistance.

The favourable allele A is only present in heterozygous form in the sire population. This indicates that this resistant allele A may have deleterious effects on criteria used to select bucks for reproduction that is to say live weight at 11 months of age, size of its litter at birth and growth rate before weaning. This gene would create an opposite link between resistance and production that the one observed between these traits under a polygenic model [18].

In theory, the Maximum Likelihood approach requires simple pedigree structures. So the complex relationship matrix of our data set was not taken into account. For example, a doe that mated with 3 different bucks during its reproductive carrier was considered as 3 different females in the analysis. However, the consequences of this approximation seem to be limited. In similar conditions of pedigree structure, Sanchez et al. (2003) [19] concluded that ignoring dependencies between families did not change their results by comparing with Bayesian approach.

Conclusions

The results from segregation analysis should be considered as first indications of the presence of a major gene, which need to be confirmed by analyses using molecular tools. The next step will be to localize this gene using an experimental design. A QTL detection program is ongoing and will use the high density goat SNP chip. Further analyses are also necessary to detect any pleiotropic effect of this gene on other resistance and production criteria.

References

1. Over HJ, Jansen J, van Olm PW: *Distribution and impact of helminth diseases of livestock in developing countries***.** FAO Animal Production Health Paper 96, FAO 1992

2. Sangster NC: **Anthelmintic resistance: past, present and future.** *Int J Parasitol* 1999, **29**:115-124
3. Gibson JP, Bishop SC: **Use of molecular markers to enhance resistance of livestock to disease: a global approach.** *Rev sci tech Off int Epiz* 2005, **24**:343-353
4. Baker RL, Gray GD: **Appropriate breeds and breeding schemes for sheep and goats in the tropics.** In *Worm Control for Small Ruminants in Tropical Asia. ACIAR Monograph 113*. Edited by Sany RA, Gray GD, Baker RL.Australia, 2004:63-95
5. Alexandre G, Aumont G, Mainaud JC, Fleury J, Naves M: **Productive performances of Guadeloupean Creole goats during the suckling period.** *Small Rum Res* 1999, **34**:155-160
6. Menéndez-Buxadera A, Alexandre G, Mandonnet N, Naves M, Aumont G: **Direct genetic and maternal effects affecting litter size, birth weight and pre-weaning losses in Creole goats of Guadeloupe.** *Anim Sci* 2003, **77**:363-369
7. Mandonnet N, Menéndez-Buxadera A, Arquet R, Naves M, Alexandre G: **Genetic variability on post-weaning growth traits in Creole goats reared on pasture.** In *Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production: August 2002; France*. Edited by INRA; 2002: 0-3
8. Pépin L: **Recherche de polymorphisme génétique chez les caprins. Application à l'étude de la diversité des populations, au contrôle de filiation et à la résistance génétique à la cowdriose.** *PhD thesis.* **Université Paris-Sud; 1994.**
9. Verrier E, Naves M, Tixier-Boichard M, Bernigaud R: **Values of local breeds for niche productions and/or adaptation to specific environments.** In *Proceedings of the Second International Workshop: "Governance of biodiversity as a global public good: bioprospection, intellectual property rights and traditional knowledge: 5-6 February 200; Belgium*.
10. Mandonnet N, Aumont G, Fleury J, Arquet R, Varo H, Gruner L, Bouix J, Vu Tien Khang J: **Assessment of genetic variability of resistance to gastrointestinal nematode parasites in Creole goats in the humid tropics.** *J Anim Sci* 2001, **79**:1706-1712
11. Bishop SC, Morris CA: **Genetics of diseases resistance in sheep and goats.** *Small Rum Resi* 2007, **70**:48-59

12. Woolaston RR, Gray GD, Albers GAA, Piper LR, Baker JSF: **Analysis for a major gene affecting parasite resistance in sheep.** In *Proceedings of the 4th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production: July 1990; Edinburgh*.
13. Meszaros SA, Henshall, JM, Burgess SK, Gray GD, Tier B: **Detection of a quantitative trait locus associated with a reduction of faecal egg count in Merino sheep.** In *Proceedings of the Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics: July 1999; Edinburgh*.
14. Le Roy P, Elsen JM, Knott S: **Comparison of four statistical methods for detection of a major gene in a progeny test design.** *Genet Sel Evol* 1989, **21**:341-357
15. Mandonnet N, Aumont G, Fleury J, Arquet R, Varo H, Gruner L, Bouix J, Khang JVT: **Assessment of genetic variability of resistance to gastrointestinal nematode parasites in Creole goats in the humid tropics.rect genetic and maternal effects affecting litter size, birth weight and pre-weaning losses in Creole goats of Guadeloupe.** *J Anim Sci* 2001, **79**:1706-1712
16. SAS Institute Inc. (1999). SAS/Stat ® User's Guide. Version 3.1. SAS Institute, Cary, NC, USA.
17. Neumaier A, Groeneveld E: **Restricted maximum likelihood estimation of covariances in sparse linear models.** *Genet Sel Evol* 1998, **30**:3-26
18. Gunia M., Phocas F., Arquet R., Alexandre G., Mandonnet N., **Genetic parameters for weight, reproduction and parasitism resistance traits in Creole goat.** *J Anim Sci* 2011, (in press)
19. Sanchez M.P., Bidanel J.P., Zhang S., Naveau J., Burlot T., Le Roy P: **Likelihood and Bayesian analyses reveal major genes affecting body composition, carcass, meat quality and the number of false teats in a Chinese European pig line.** *Genet Sel Evol* 2003, **35**: 385-402

PUBLICATION №4

Publication nº4(en révision dans Animal)

Détection de QTL pour la résistance aux strongles gastro-intestinaux chez la chèvre Créole

Cette publication fait suite à de l'article précédent. Le déterminisme génétique y est étudié en utilisant cette fois-ci l'information moléculaire provenant de marqueurs génétiques. C'est une primo-détection de QTL de résistance aux strongles gastro-intestintaux chez la chèvre Créole. En plus d'apporter des connaissances sur la résistance génétique, cette publication évoque également quelques pistes de mécanismes immunitaires à travers l'hypothèse de gènes candidats.

Résumé en français

Cette étude a pour but d'identifier des régions du génome affectant la résistance aux strongles gastro-intestinaux chez une population de chèvres Créole naturellement exposée à une infestation parasitaire mixte (*Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis* and *Oesophagostomum columbianum*). Une recherche de QTL sur l'ensemble du génome a été réalisée sur 383 descendants provenant de 12 familles de pères. Un total de 101 marqueurs microsatellites a été génotypés. Les caractères analysés sont le nombre d'œufs excrétés par gramme de faeces (FEC), l'hématocrite (PCV), les éosinophiles et le poids (BW) a 7 et 11 mois d'âge. Les niveaux de réponses des IgA et IgE contre les larves L3 et les produits d'excrétion/sécrétion d'adultes (ESP) *Haemonchus contortus* ont également été analysés. Cette étude a identifié 13 QTL associés avec la résistance aux parasites, en utilisant la méthode de cartographie par intervalle. Deux QTL associés avec FEC ont été découverts sur les chromosomes 22 et 26. Trois QTL ont été détectés sur les chromosomes 7, 8 et 14 pour les éosinophiles. Trois QTL associés avec l'hématocrite ont été identifiés sur les chromosomes 5, 9 et 21. Un QTL associé avec le poids à 7 mois d'âge a été découvert sur le chromosome 6. Deux autres QTL détectés sur les chromosomes 3 et 10 ont été associés avec IgE-anti-L3 et IgE anti-ESP a été associé à deux QTL sur les chromosomes 1 et 26. Cette étude est la première à identifier des régions du génome associées avec la résistance aux parasites dans une population caprine en utilisant un génome scan. Ces résultats apportent une meilleure connaissance de la résistance aux parasites chez les petits ruminants.

Detection of quantitative trait loci for resistance to gastrointestinal nematode infections in Creole goats

C. de la Chevrotière[1], S.C Bishop[2], R. Arquet[3], J.C. Bambou[1], L. Schibler[4], Y. Amigues[5], C. Moreno[6], N. Mandonnet[1]

[1] *Institut National de la Recherche Agronomique, Unité de Recherches Zootechniques, Domaine Duclos, 97170 Petit-Bourg, Guadeloupe.*

[2] *The Roslin Institute and Royal (Dick) School of Veterinary Studies, University of Edinburgh, Roslin Biocentre, Midlothian EH25 9PS, UK.*

[3] *Institut National de la Recherche Agronomique, Domaine expérimental de Gardel, 97160 Le Moule, Guadeloupe.*

[4] *Institut National de la Recherche Agronomique, Laboratoire, UMR1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, 78252 Jouy-en-Josas, France.*

[5] *GIE LABOGENA, 78352 Jouy-en-Josas, France*

[6] *Institut National de la Recherche Agronomique, Station d'Amélioration Génétique des Animaux, 31326 Castanet-Tolosan, France.*

Corresponding author: Nathalie Mandonnet. E-mail: Nathalie.Mandonnet@antilles.inra.fr

Abstract

This study aimed to identify regions of the genome affecting resistance to gastrointestinal nematode in a Creole goat population naturally exposed to a mixed nematode infection (*Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis* and *Oesophagostomum columbianum*)

by grazing on irrigated pasture. A genome-wide QTL scan was performed on 383 offspring from 12 half-sib families. A total of 101 microsatellite markers were genotyped. Traits analysed were faecal egg counts (FEC), packed cell volume (PCV), eosinophil counts and bodyweight (BW) at 7 and 11 months of age. Levels of IgA and IgE anti-*Haemonchus contortus* L3 crude extracts and adult excretion/secretion products (ESP) were also analysed. Using interval mapping, this study identified 13 QTL associated with parasite resistance. Two QTL associated with FEC were found on chromosome 22 and 26. Three QTL were detected on chromosome 7, 8 and 14 for eosinophil counts. Three QTL associated with PCV were identified on chromosome 5, 9 and 21. A QTL associated with BW at 7 months of age was found on chromosome 6. Lastly, two QTL detected on chromosome 3 and 10 were associated with IgE anti-L3 and IgE anti-ESP was linked to two QTL on chromosome 1 and 26. This study is the first that identify regions of the genome associated with nematode resistance in a goat population using a genome scan. These results provide useful tools for the understanding of parasite resistance in small ruminants.

Keywords: goat, gastrointestinal nematode resistance, QTL detection, faecal egg count, antibodies

Running head

QTL for nematode resistance in Creole goats

Implication

The use of anthelmintics is an integral part of the methods of control of gastrointestinal nematode parasites in small ruminants. However, breeding sheep and goats for increased nematode resistance could reduce anthelmintic costs and reduce the effect of parasites on production. The

knowledge of the genes or regions of the genome responsible for nematode resistance in small ruminants could facilitate the selection of resistant animals. The study reports the presence of genomic regions linked with nematode resistance in goats.

Introduction

Gastrointestinal parasites infections remain one of the major constraints to small ruminant production in temperate and tropical climates (Perry and Randolph, 1999). Anthelmintics have been largely used in the past for parasite control despite the presence of parasite strains showing some degree of resistance to the molecules used (Sangster, 1999). Even if other strategies of control exist, such as rotation pasture systems or the use of biological products with anthelmintic properties (Waller, 1999), in the absence of effective vaccines the most promising complementary control method is based on the selection of resistant animals (Eady *et al.*, 2003).

Selection for increased resistance exploits the genetic variability in resistance observed in most commercial sheep breeds and in some goat breeds (Baker and Gray, 2004). As a result, a first approach is to select resistant animals using phenotypic traits such as the faecal egg counts (FEC), an indirect measure of resistance. This approach has been used in selective breeding schemes in Australia and New Zealand, with encouraging results (Karlsson *et al.*, 1991), however, it is costly and time-consuming as it requires animals to be challenged with parasites. The emergence of new technologies in molecular biology has allowed a second approach consisting of combining phenotypic and genotypic information in selection. For example, quantitative trait loci (QTL) could be used in a marker-assisted selection scheme. Several studies using diverse approaches, breeds and nematode species have been published and many QTL associated with nematode resistance have been detected on more than twenty chromosomal regions, as reviewed by Dominik (2005) and Bishop and Morris (2007). Some of these QTL were

detected near candidate genes such as interferon gamma (Coltman *et al.*, 2001; Davies *et al.*, 2006). However, these QTL studies have only been performed in ovine breeds and a single study has been done in goats (Bolormaa *et al.*, 2010), using a candidate-gene approach.

The lack of investigations in goats raises the interest of studying QTL for nematode resistance, using a genome scan approach, or by means of genomic selection. Of specific interest is the Creole goat breed, which typically faces continual strong parasite challenges under humid tropical conditions. The Creole population is a mixture of African and European breed and, although it is well adapted to its harsh environment, it shows genetic variability for nematode resistance (Mandonnet *et al.*, 2001). It thus provides an interesting and informative model to increase knowledge of nematode resistance in goats.

The objective of this current study was to identify QTL for nematode resistance in a Creole goat population, using different criteria of nematode resistance such as faecal egg counts, packed cell volume, eosinophil counts, body weight and immunoglobulin A and E activity against *Haemonchus contortus* third-stage larvae and excretory/secretory products. This study thus should supply the first knowledge of QTL for nematode resistance in goats.

Materials and methods

Outbred design

The Creole goat is the local breed raised for meat in Guadeloupe, in the French West Indies. An experimental flock has been reared at INRA-Gardel since 1995 to study gastrointestinal nematode resistance. Animals are raised on pasture (*Digitaria decumbens*) all year long and are naturally exposed to a mixed nematode infection. The main species infecting the Creole goat are *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis* and *Oesophagostomum columbianum*, in order of their importance (Aumont *et al.*, 1997a).

Kids from the same reproductive group were raised together and weaned at 82 days of age on average. Anthelmintic treatment was administered every 8 weeks after weaning with levamisole (12mg/kg). All animals used for QTL analysis came from this population and were bred over a 5-year period (1999-2004). The population studied comprised 383 kids from 12 half sib sire families.

Phenotypic measurements

Faecal samples were collected two times (week 6 and 7 after drenching) at two different ages (7 and 11 months) to determine faecal egg counts (**FEC**) using a modified McMaster method for rapid determination (Aumont *et al.*, 1997b). FEC7 and FEC11 variables were the average of these two measures at 7 and 11 months respectively. Blood samples were collected at weaning and leucocytes were then extracted and sent to INRA's LABOGENA laboratory to perform DNA extraction and genotyping. Blood samples were also collected on week 6 after drenching for all animals at 7 and 11 months of age using anticoagulant coated tubes. Circulating eosinophils were counted at both ages according to the method of Dawkins *et al.* (1989), on Malassez cell counter. Packed cell volume (**PCV**) was also measured at both ages using the capillary micro-haematocrit method. Finally, bodyweight (**BW**) was measured at 210 and 325 days of age, corresponding approximately to 7 and 11 months of age. Blood samples were also collected at 11 months of age using tubes without anticoagulant and centrifuged for 5 minutes at 5000 rpm. Serum was then frozen at -20ºC until analysis. The activity of immunoglobulin A (**IgA**) and immunoglobulin E (**IgE**) against a crude extract of *H. contortus* third-stage larvae (**L3**) and excretory/secretory products (**ESP**) was measured by indirect ELISA based on method used by Bambou *et al.* (2008), using the serum collected at 11 months. ESP were prepared using adult *H. contortus* collected from abomasa from sacrificed goats.

Table 1 *Characteristic of genotyped families in the QTL design*

Family	Number of offspring	Number of does genotyped[a]
1	35	22(24)
2	28	19(21)
3	31	24(25)
4	51	17(28)
5	25	10(18)
6	55	25(34)
7	24	14(17)
8	37	18(24)
9	16	9(13)
10	25	8(16)
11	28	22(22)
12	28	22(24)

[a]Total number of does are shown in parentheses

Genotyping and creation of the genetic map

Prior to genotyping offspring, 27 sires were tested for heterozygosity on 400 microsatellites markers. A first selection was done by keeping microsatellites with the highest heterozygosity among all sires. Sires with the highest percentage of heterozygosity for these selected markers were then chosen. Among these families, those with the greatest phenotypic variability based on two measures of FEC were selected. Related families were also preferred. A total of 12 sires and 101 microsatellites were then chosen based on these tests. Then, 383 kids and 162 does were genotyped for these markers, giving a total of 552 animals (Table 1) (N.B. three male kids became sires and two female kids became dams). Relative marker locations were established by creating a linkage map for each chromosome using Cri-map (Green *et al.*, 1990). The position of the first marker on each chromosome was always set at 0 cM (not corresponding to the extreme point of the chromosome). Chromosomes 2 and 6 were the most explored chromosomes with eight markers (Table 2). The mean percentage of heterozygous sires was 70 % for markers across all chromosomes. Four chromosomes (8, 11, 16 and 24) had only two markers, too far apart to estimate correctly their respective position, resulting in their linkage groups defined to be 100 cM.

Data analysis

A total of 602 animals were analysed comprising 383 kids from 12 sires and 210 does. Family size varied from 16 to 55 kids. Distributions of traits were examined using a Shapiro-Wilk test and transformations were chosen to normalize the variance. Logarithm and square-root transformations were tested for all traits. For the QTL analysis, fixed effects were fitted using the general linear model procedure of SAS software (SAS, 1999). Fixed effects tested for all traits were the cohort, sex, birth-rearing rank and the type of nursing (natural or artificial).

Table 2 *Characteristic of the genetic map*

Chromosome	Length of link group (cM)	Number of markers	Mean percentage of heterozygous sire (%)
1	172.1	4	79
2	148.9	8	70
3	142.2	7	76
4	75.6	3	75
5	107	5	70
6	110.4	8	72
7	129.5	4	71
8	100	2	83
9	92.9	3	69
10	145.6	4	56
11	98	2	67
12	80.9	4	71
13	10.7	2	63
14	67.5	4	65
15	28.1	4	75
16	100	2	63
17	90.2	4	77
18	59.1	7	68
19	13.4	2	54
20	8.7	2	83
21	74.8	4	71
22	56.4	4	69
23	66.2	3	69
24	100	2	67
26	11.5	2	79
29	63.1	5	68

Approximate phenotypic correlations between traits were calculated using the Pearson correlation coefficient (Corr procedure of the SAS software (SAS, 1999)) for transformed data corrected for environmental effects.

Besides, data for FEC, PCV and eosinophil counts at both ages were converted into a joint measurement in order to perform a QTL analysis on repeated measurements. A repeatability model was fitted using SAS software and traits were corrected for fixed effects. In addition to the classical fixed effects, mixed models included a random effect of rank of measurement (7 and 11 months of age), random animal and residual effects. All these effects were found significant. The estimates of average animal effect for FEC, PCV et eosinophil counts traits were so-called in the following analyses FEC(rep), Ln(eosi)(rep) and PCV(rep).

QTL analysis was performed with QTL express (Seaton *et al.*, 2002), using regression techniques (*Knott et al.*, 1996). The probability of inheriting a particular sire haplotype at a particular position was calculated at 1 cM intervals, conditional on the marker genotypes of the individual and its sire, and on the sire's linkage phase. Phenotypes were then regressed on this probability and fixed effects for each trait, at every position. The QTL analysis for repeated measurements was performed on residuals. An F-ratio was obtained for the full model versus the same model without the inheritance probability. The position of the QTL was indicated by the position with the largest F-value. Chromosome-wide threshold, at the 1% and 5% levels, were obtained for each chromosome by permutation testing (Churchill and Doerge, 1994), using 10000 permutations for each trait and each chromosome. QTL effects were divided by the phenotypic standard deviation of each trait to be expressed in standard deviation units. The proportion of phenotypic variance explained by the QTL was calculated as $4(1-MS_{full}/MS_{reduced})$, where MS is the residual mean square from the regression analysis (Knott *et al.*, 1996). Confidence intervals for QTL were also calculated using QTL express software with the bootstrap method. The power

Table 3 *Summary statistics of nematode resistance traits*

Trait	Unit	N	Mean	S.d.	Min.	Max.	Mean of untransformed data
ln(FEC7)	ln (eggs/g)	399	5.99	1.39	2.71	10.90	982
ln(FEC11)	ln (eggs/g)	367	5.92	1.38	2.71	8.76	774
ln(eosi7)	ln (cells/ml)	405	6.37	1.09	2.71	8.98	945
ln(eosi11)	ln (cells/ml)	406	6.79	1.05	2.71	9.24	1409
PCV7	%	444	25.3	5.26	8.00	39.0	-
PCV11	%	420	27.3	4.67	9.00	39.0	-
BW7	kg	585	13.9	2.50	5.60	23.9	-
BW11	kg	435	18.3	3.60	7.97	26.5	-
IgA-L3	OD	314	0.32	0.19	0.03	0.74	-
IgA-esp	OD	300	0.22	0.14	0.03	0.65	-
IgE-L3	OD	315	0.28	0.12	0.04	0.60	-
IgE-esp	OD	312	0.14	0.05	0.03	0.34	-

Table 4 *Phenotypic correlations between resistance traits at 7 (above diagonal), 11 months of age (below diagonal) and correlations between 7 and 11 months of age for each trait (on diagonal)*

Trait	*ln*(FEC)	*ln*(eosi)	PCV	BW
ln(FEC)	0.17**	-0.03	-0.20***	-0.04
ln(eosi)	-0.18**	0.24***	0.30***	0.18***
PCV	-0.18**	0.12*	0.36***	0.39***
BW	-0.14*	0.05	0.52***	0.82***

*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001

of detection of different experimental designs was determined as a function of the number of sires, the number of offspring per sires, the heritability of the trait, the heterozygosity of the QTL, the type I error accepted, the magnitude of the QTL effect and the recombination fraction between marker and QTL.

Results

Descriptive statistics for each trait are shown in Table 3. As usually reported, the FEC variable was transformed prior to analysis (Mandonnet *et al.*, 2001). FEC and eosinophil counts were log transformed by *ln*(trait + 15). Other traits distributions were almost normal and did not require any transformation. The infection level in these animals, PCV and bodyweight are consistent with previous results obtained from the entire experimental flock (Mandonnet *et al.*, 2001).

Significant fixed effects were the reproductive group and sex for all traits. A fixed effect representing the rank of litter was added for eosinophils at 7 months of age. The type of nursing (natural or artificial) was added for PCV at 7 months and bodyweight at both ages. Phenotypic correlations corrected for these effects are described in Table 4. FEC and PCV were negatively correlated in both ages. A negative phenotypic correlation was found between FEC and eosinophil counts at 11 months of age.

Significant QTL are shown in Table 5. This study identified 13 QTL, on chromosome 1, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 14, 21, 22, 26. Five QTL were significant at the 1% chromosome-wide threshold. As often seen with linkage-base QTL studies, the confidence intervals for each QTL were large, being equivalent to the genotyped region in respective chromosomes. The average effect of most QTL exceeded one phenotypic standard deviation and three QTL had a mean effect

Table 5 *QTL detected for nematode resistance traits*

Chr.	Trait	Position in cM	Flanking markers (cM)	Families segregating for QTL	Mean QTL Effect (in s.d)	Phenotypic variance explained by QTL	Significance
22	ln(FEC7)	0	BMS517 (0.0) - DIK2716 (26.4)	1, 10	1.17	0.23	**
26	ln(FEC11)	3	HEL11 (0.0) - INRA081 (11.5)	1, 6, 9, 11	1.07	0.35	**
8	ln(eosi7)	81	INRA129 (0.0) - CSSM047 (100.0)	6, 8	1.34	0.26	**
14	ln(eosi7)	67	BM302 (37.0) - BM2934 (67.5)	6, 7	1.36	0.20	*
7	ln(eosi11)	0	RM006 (0.0) - BMS2258 (100.0)	8, 11	4.60	0.19	*
5	PCV7	27	BMC1009 (0.0) - BMS1248 (82.0)	3, 7	1.88	0.18	*
9	PCV11	76	BMS1724 (43.6) - BMS1967 (92.9)	9, 12, 6	1.56	0.18	*
21	PCV11	0	BMS1117 (0.0) - ILSTS052 (19.4)	2, 12	1.24	0.18	*
6	BW7	3	INRA133 (0.0) - MCM53 (9.6)	2, 3, 5, 8	0.95	0.17	*
3	IgE-L3	4	ILSTS096 (0.0) - INRA006 (14.4)	6, 7, 10	1.33	0.24	*
10	IgE-L3	4	BM3033 (0.0) - TGLA378 (76.2)	1, 7, 10	2.98	0.24	**
1	IgE-esp	129	BMS2263 (114.7) - LSCV105 (172.1)	10, 12	2.31	0.19	*
26	IgE-esp	11	HEL11 (0.0) - INRA081 (11.5)	2, 10, 11	1.15	0.19	**
8	Ln(eosi)(rep)	72	INRA129 (0.0) - CSSM047 (100.0)	6, 12	1.88	0.16	**
9	PCV(rep)	15	BM2504 (0.0)- BMS1724 (43.6)	6, 12	1.55	0.15	*

*5% chromosome-wide level, **1% chromosome-wide level

over two phenotypic standard deviations. Two QTL were found on the same chromosome (26) for FEC at 11 months of age and IgE anti-esp. However, correlated traits such as FEC and PCV were never associated with a same QTL in this study. In contrast, no QTL were detected for IgA anti-L3 or IgA anti-esp. Two QTL were significant on chromosome 8 and 9 for repeated measurements of eosinophil counts and PCV respectively. These two chromosomal regions were also detected using single measurement at 7 and 11 months of age.

All half-sib families were segregating for at least one QTL except, the family of sire 4. Three families stand out, segregating for four QTL (sire 7) and five QTL (sire 6 and sire 10). Family of sire 7 has the lowest mean of FEC and the third highest mean of PCV at 11 months of age for both traits. This family has also the lowest response for IgE-esp and the second lowest response for IgE-L3. The family of sire 10 has one of the lowest FEC, highest PCV, highest bodyweight, and lowest responses for IgA-esp and IgA-L3 at 11 months of age. IgA-esp and IgA-L3 responses were the lowest in family of sire 6. These families are thus among the most resistant at 11 months in our design and could carry particular gene variants for nematode resistance. The family of sire 6 is also the largest family of the QTL design with 55 offspring, which is consistent with the importance of large half-sib families in the power of QTL detection as shown in Table 6. The power tests of different designs revealed that our design had a detection power of 0.40, suggesting that there are likely to be segregating QTL that this study has missed. Increasing the average number of offspring per family to 90 would increase the power of detection up to 0.87.

Discussion

We previously described a significant genetic variability for nematode resistance in Creole goats and calculated heritability for FEC, eosinophil counts, PCV and bodyweight (Mandonnet *et al.*,

Table 6 *Power test of different designs for QTL detection in 12 half-sib families*

Number of offspring per family	Recombinant frequency between QTL and marker		
	0.30	0.25	0.20
30	0.38	0.58	0.76
50	0.63	0.82	0.93
70	0.77	0.92	0.98
90	0.87	0.97	0.99

All designs are for a heritability of trait of 0.20, heterozygosity of the QTL of 0.50, type I error of 0.05 and QTL effect of 1 in phenotypic standard deviation

2001). The present study analysed further the genetic basis of nematode resistance in Creole goats by detecting QTL for eight relevant traits: FEC, PCV, eosinophil counts and BW at 7 and 11 months of age and levels of IgA and IgE anti-*Haemonchus contortus* L3 crude extracts and ESP at 11 months of age. For this purpose, we sampled individuals which were representative of the entire experimental population, as the phenotypic correlations estimated are similar to those estimated in the whole population (data not shown).

The design used in this study allowed the detection of 13 QTL associated with nematode resistance, despite the low power of detection (40%). Nematode resistance is likely to be polygenic, with several QTL with smaller effect, rather than a few major QTL as concluded by most studies of performance traits in sheep. Therefore, some QTL segregating in this population have been probably missed due to the lack of power. For example, the F-ratio for FEC11 on chromosome 9, where a QTL was found for PCV11 at 76 cM, was almost significant at the 5 % chromosome-wide level for the same position. A higher power of detection may have resulted in this QTL being declared to be significant for both traits. This could partly explain why correlated traits such as FEC and PCV were never associated with a same QTL in this study. The analysis of repeated measurements did not result either in detection of QTL significant for correlated traits. However, the presence of QTL on chromosome 8 and 9, for eosinophil counts and PCV respectively, is confirmed with repeated measurements.

Moreover, most of our QTL were detected at or close to a marker position on respective genetic map. Walling *et al*. (2002) suggest that the bias towards marker positions is greatest under the null hypothesis of no QTLs or when QTL effects are small. Therefore, this increases the risk that some of the QTL detected in this study could either be false positives, or true QTL but with an upwardly biased estimated size of effect. A solution to increase the precision of the location and confirm the actual presence of these QTL in our design could be to increase the

number of markers on chromosome where QTL were detected. Decreasing the recombinant frequency between QTL and marker from 0.3 to 0.2 in our design could increase the power of detection from 41% to 79% for a QTL of magnitude of 1 phenotypic standard deviation unit. To obtain similar power of detection without changing the number of markers per chromosome, an average of 40 offspring per sire should be added to our design to have an average of 70 offspring per sire. The first solution seems more appropriate and could be easily achieved by using SNP technology, once suitable tools become available for goats. Also, three highly resistant families stand out as they are segregating for several QTL and further studies should focus on these families.

To our knowledge, this is the first genome scan providing evidence of which genomic regions are associated with nematode resistance in goats. A study using a candidate gene approach has however been published in Australian goats (Bolormaa *et al.*, 2010) and focused on the chromosome 23 using three microsatellites markers adjacent to the major histocompatibility complex (**MHC**). QTL associated with FEC, eosinophil counts and basophil counts were detected in two goat populations. In our study, no QTL were detected on chromosome 23. This chromosome was screened with only three microsatellites markers. This could explain the absence of QTL detected on this chromosome. Adding markers near the MHC may allow a comparison with the only other study currently available in goats.

Many QTL associated with nematode resistance have been detected in sheep (Dominik, 2005; Crawford *et al.*, 2006; Beraldi *et al.*, 2007). More recent studies have also identified QTL associated with nematode resistance (Gutiérrez-Gil *et al.*, 2009; Marshall *et al.*, 2009). Despite differences in terms of parasite biology, challenge type, sheep breeds and/or measured traits, some insight can be drawn from the comparison with these previous results, taking advantage of

the high degree of sequence and chromosome conservation between ruminants and comparative mapping results (Schibler *et al*., 1998 and 2009; Maddox and Cockett, 2007).

The genome scan revealed two segments on chromosome 22 and chromosome 26 with evidence for QTL associated with faecal egg counts. It is noteworthy that in sheep, Moreno *et al.* (2006) and Marshall *et al.* (2009) detected suggestive QTL influencing FEC on orthologous ovine chromosomes 19 and 22, respectively. These coincident findings strengthen the support for these detected QTL.

Immunoglobulins A and E are known to be involved in nematode resistance mechanisms. Previous studies in sheep showed that IgA might be the major mechanism controlling worm length and fecundity of *H. contortus* (Strain and Stear, 2001). Elevation of serum IgE following a nematode infection have been reported in sheep (Shaw *et al.*, 1999) suggesting a protective function of IgE as a result of an increase in activity of the TH2 arm of the immune system. Immunoglobulin responses mainly IgA, IgG and IgE, have already been analyzed in sheep and QTL have been detected on chromosome 1, 3, 20 and 23 (Crawford *et al.*, 2006; Davies *et al.*, 2006; Gutiérrez-Gil *et al.*, 2009). The potential role of these immunoglobulins in the mechanisms of resistance led us to include them in the QTL detection design. Our study has detected four regions on chromosome 1, 3, 10 and 26 associated with IgE. None of these chromosomes were associated with a significant QTL for IgE in sheep. However, QTL for FEC and worm burden were detected on the orthologous chromosomes in sheep. These findings indicate that IgE and FEC could share common genes implied in the resistance, a hypothesis supported by significant genetic correlations between IgE and FEC in our goat population (unpublished results).

A QTL on ovine chromosome 3 has been associated with FEC and IgA activity (Coltman *et al.*, 2001; Beh *et al.*, 2002; Davies *et al.*, 2006; Moreno *et al.*, 2006). This chromosome is known to carry a candidate gene, the interferon gamma, thought to be associated

with nematode resistance (Coltman *et al.*, 2001; Sayers *et al.*, 2005). A precursor of insulin-like growth factor I is also present on this chromosome. Higher concentrations of this hormone were detected in resistant sheep, suggesting that resistance could enhance protein anabolism in the body, helping to alleviate the performance loss during the infection (Liu *et al.*, 2007). A QTL associated with PCV at 7 months was evidenced in the Creole goat design on chromosome 5, orthologous to ovine chromosome 3. Other candidate genes such as interleukins (IL3, IL4, IL5, IL7, IL25) are also present on goat chromosome 1, 7, 10, 14 and 22, where QTL were associated with FEC, eosinophil counts and IgE in this study. Significant associations with FEC were also detected on orthologous chromosomes in sheep (Benavides *et al.*, 2002; Moreno *et al.*, 2006; Marshall *et al.*, 2009). Other candidate genes like the IgE gene localized on chromosome 18, homologous to goat chromosome 21, was also linked to nematode resistance on a sheep flock (Clarke *et al.*, 2001) and for PCV at 11 months of age in this study.

In addition to the important part of the immune response in the resistance, other physiological processes could also have a protective role against parasites. One component of the gastrointestinal tract, the smooth muscle, could be involved in the resistance. Thicker layers of smooth muscle associated with enhanced contractility could facilitate the eviction of worms as shown in mouse by Blennerhassett *et al.* (1992). The transgelin gene, abundantly expressed in smooth muscle cells, was more expressed in resistant sheep than in susceptible animals (Diez-Tascón *et al.*, 2005). This gene is localized on chromosome 3 in goats.

The precise localisation of these candidate genes and QTL should be assessed to determine if they are close to each other. Identification of a QTL near these genes could provide an indication that nematode resistance is controlled by immune mechanisms and mechanical processes in goats as in sheep. However, before using this information into a breeding scheme, these results must be validated in an independent sample of animals and they must also be

validated using a technology that can be more easily applied within a routine breeding programme such as a high density SNP chip. The combination of molecular and phenotypic information could then be beneficial in improving nematode resistance in Creole goats given the low heritability and the difficulty of measurement of this trait.

In terms of experimental design, QTL associated with nematode resistance were successfully found in this study despite the low experimental power. QTL were certainly missed especially those with small effects and some of those found could be false positives. This could be partially overcome by using SNP technology, which should available soon for the goat, on as many animals as possible. These further analyses would complement the results obtained with microsatellite markers.

Conclusion

This study has provided an indication of QTL linked to parasitic infection in a goat population. In total, 13 QTL were found for resistant and immunological traits. Many QTL were found on chromosomes known to carry candidate genes and further work is required to determine more precisely the position of these genes and to identity other potential candidate genes. The use of a high density SNP chip should, in principle, provide a more powerful detection of QTL and results obtained would complement these first results.

Acknowledgments

The authors thank the European Community (FEOGA), "La Région Guadeloupe" and EADGENE Network of Excellence (E.U. Contract N^{o} FOOD-CT-2004-506416) for its financial support. They are grateful to the INRA teams of Gardel and parasitology laboratory. They also thank Oswald Matika of the Roslin Institute for his help on the QTL analyses.

References

Aumont G, Pouillot R, Simon R, Hostache G, Varo H and Barre N 1997a. Parasitisme digestif des petits ruminants dans les Antilles Françaises. INRA Productions Animales 10, 79-89.

Aumont G, Pouillot R, Mandonnet N et Nzobadila G 1997b. Méthodologie de la coproscopie quantitative chez les petits ruminants infestés par les strongles gastro-intestinaux. Résultats 1995 et 1996. Rapport Annuel 1996. Action Thématique programmée 72-94.

Bambou JC, de la Chevrotière C, Varo H, Arquet R, Kooyman FNJ and Mandonnet N 2008. Serum antibody responses in Creole kids experimentally infected with *Haemonchus contortus*. Veterinary Parasitology 158, 311-318.

Baker RL and Gray GD 2004. Appropriate breeds and breeding schemes for sheep and goats in the tropics. In Worm Control for Small Ruminants in Tropical Asia (eds RA Sani, GD Gray and RL Baker), pp. 63-95. ACIAR Monograph 113, Canberra, Australia.

Beh KJ, Hulme DJ, Callaghan MJ, Leish Z, Lenane I, Windon RG and Maddox JF 2002. A genome scan for quantitative trait loci affecting resistance to *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. Animal Genetics 33, 97-106.

Benavides MV, Weimer TA, Borba MFS, Berne MEA and Sacco AMS 2002. Association between microsatellite markers of sheep chromosome 5 and faecal egg counts. Small Ruminant Research 46, 97-105.

Beraldi D, McRae AF, Gratten J, Pilkington JG, Slate J, Visscher PM and Pemberton JM 2006. Quantitative trait loci (QTL) mapping of resistance to strongyles and coccidia in the free-living Soay sheep (*Ovis aries*). International Journal of Parasitology 37, 121-129.

Blennerhassett MG, Vignjevic P, Vermillion DL and Collins SM 1992. Inflammation causes hyperplasia and hypertrophy in smooth muscle of rat small intestine. American Journal of Physiology 262, 1041-1046.

Bishop SC and Morris CA 2007. Genetics of disease resistance in sheep and goats. Small Ruminant Research 70, 48-59.

Bolormaa S, van der Werf JHJ, Walkden-Brown SW, Marshall K and Ruvinsky A 2010. A quantitative trait locus for faecal worm egg and blood eosinophil counts on chromosome 23 in Australian goats. Journal of Animal Breeding and Genetics 127, 207-214.

Churchill GA and Doerge RW 1994. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. Genetics 138, 963-971.

Clarke RA, Burn AL, Lenane I, Windon RG and Beh KJ 2001. Molecular analysis and nematode resistance association of a polymorphism at the 5 ' end of the sheep IgE gene. Veterinary Immunology and Immunopathology 79, 15-29.

Coltman DW, Wilson K, Pilkington JG, Stear MJ and Pemberton JM 2001. A microsatellite polymorphism in the gamma interferon gene is associated with resistance to gastrointestinal nematodes in a naturally-parasitized population of Soay sheep. Parasitology 122, 571-582.

Crawford AM, Paterson KA, Dodds KG, Diez-Tascón C, Williamson PA, Roberts Thomson M, Bisset SA, Beattie AE, Greer GJ, Green RS, Wheeler R, Shaw RJ, Knowler K and McEwan JC 2006. Discovery of quantitative trait loci for resistance to parasitic nematode infection in sheep: I. Analysis of outcross pedigrees. BMC Genomics 7, 178-187.

Davies G, Stear MJ, Benothman M, Abuagob O, Kerr A, Mitchell S and Bishop SC 2006. Quantitative trait loci associated with parasitic infection in Scottish blackface sheep. Heredity 96, 252-258.

Dawkins HJS, Windon RG and Eagleson GK 1989. Eosinophil responses in sheep selected for high and low responsiveness to *Trichostrongylus colubriformis*. International Journal of Parasitology 19, 199-205.

Diez-Tascón C, Keane OM, Wilson T, Zadissa A, Hyndman DL, Baird DB, McEwan JC and Crawford AM 2005. Microarray analysis of selection lines from outbred populations to identify genes involved with nematode parasite resistance in sheep. Physiological Genomics 21, 59-69.

Dominik S 2005. Quantitative trait loci for internal nematode resistance in sheep: a review. Genetics Selection Evolution 37, 83-96.

Eady SJ, Woolaston RR and Barger IA 2003. Comparison of genetic and nongenetic strategies for control of gastrointestinal nematodes of sheep. Livestock Production Science 81, 11-23.

Green P, Fall K and Crook S 1990. Documentation for CRIMAP, version 2.4, Washington Univ. School of Medicine, St-Louis, MO.

Gutiérrez-Gil B, Pérez J, Alvarez L, Martínez-Valladares M, de la Fuente LF, Bayón Y, Meana A, San Primitivo F, Rojo-Vázquez FA and Arranz JJ 2009. Quantitative trait loci for resistance to trichostrongylid infection in Spanish Churra sheep. Genetics Selection Evolution 28, 41:46.

Karlsson LJE, McLeod IM, Leelawardana DH, Sissoev K and Simmons J 1991. Selection for nematode resistance in sheep in the Australian Mediterranean climate zone. In Breeding for disease resistance in Sheep (eds GD Gray and RR Woolaston), pp. 131-138. Australian Wool Corporation, Melbourne, Australia.

Knott SA, Elsen JM and Haley CS 1996. Methods for multiple-marker mapping of quantitative trait loci in half-sib populations. Theoretical and Applied Genetics 93, 71-80.

Liu SM, Adams NR, Briegel JB, Smith TL and Martin GB 2007. Effect of genetic resistance to gastrointestinal nematodes on plasma concentrations of insulin-like growth factor-1 and leptin in Merino sheep. Australian Journal of Experimental Agriculture 47, 905-911.

Maddox JF and Cockett NE 2007. An update on sheep and goat linkage maps and other genomic resources. Small Ruminant Research 70, 4-20.

Mandonnet N, Aumont G, Fleury J, Arquet R, Varo H, Gruner L, Bouix J and Khang JVT 2001. Assessment of genetic variability of resistance to gastrointestinal nematode parasites in Creole goats in the humid tropics. Journal of Animal Science 79, 1706-1712.

Marshall K, Maddox JF, Lee SH, Zhang Y, Kahn L, Graser HU, Gondro C, Walkden-Brown SW and van der Werf JHJ 2009. Genetic mapping of quantitative trait loci for resistance to Haemonchus contortus in sheep. Animal Genetics 40, 262-272.

Moreno CR, Gruner L, Scala A, Mura L, Schibler L, Amigues Y, Sechi T, Jacquiet P, François D, Sechi S, Roig A, Casu S, Barillet F, Brunel JC, Bouix J, Carta A and Rupp R 2006. QTL for resistance to internal parasites in two designs based on natural and experimental conditions of infection. In Proceedings of 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Belo Horizonte, Brazil.

Perry BD and Randolph TF 1999. Improving the assessment of the economic impact of parasitic diseases and of their control in production animals. Veterinary Parasitology 84, 145-168.

Sangster NC 1999. Anthelmintic resistance: past, present and future. International Journal of Parasitology 29, 115-124.

SAS 1999 -2000. SAS Release 8.1. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Sayers G, Good B, Hanrahan JP, Ryan M and Sweeney T 2005. Intron 1 of the interferon [gamma] gene: Its role in nematode resistance in Suffolk and Texel sheep breeds. Research in Veterinary Science 79, 191-196.

Schibler L, Vaiman D, Oustry A, Giraud-Delville C and Cribiu EP 1998. Comparative gene mapping: a fine-scale survey of chromosome rearrangements between ruminants and humans. Genome Research 8, 901-915.

Schibler L, Di Meo GP, Cribiu EP and Iannuzzi L 2009. Molecular cytogenetics and comparative mapping in goats (*Capra hircus*, 2n = 60). Cytogenetic and Genome Research 126, 77-85.

Seaton G, Haley CS, Knott SA, Kearsey M and Visscher PM 2002. QTL Express: mapping quantitative trait loci in simple and complex pedigrees. Bioinformatics 18, 339-340.

Shaw RJ, Morris CA, Green RS, Wheeler M, Bisset SA, Vlassoff A and Douch PGC 1999. Genetic and phenotypic relationships among *Trichostrongylus colubriformis*-specific immunoglobulin E, anti-*Trichostrongylus colubriformis* antibody, immunoglobulin G_1, faecal egg count and body weight traits in grazing Romney lambs. Livestock Production Science 58, 25-32.

Strain SAJ and Stear MJ 2001. The influence of protein supplementation on the immune response to *Haemonchus contortus*. Parasite Immunology 23, 527-531.

Waller PJ 1999. International approaches to the concept of integrated control of nematode parasites of livestock. International Journal of Parasitology 29, 155-164.

Walling GA, Haley CS, Perez-Enciso M, Thompson R and Visscher PM 2002. On the mapping of quantitative trait loci at marker and non-marker locations. Genetical Research 79, 97-106.

Pour conclure, il nous paraît important d'ajouter quelques réflexions par rapport au dispositif mis en place pour cette étude.

Le dispositif utilisé pour mettre en œuvre la recherche de QTL s'est basé sur une population non consanguine (outbred) dans laquelle nous avons fait l'hypothèse qu'il existait des allèles en ségrégation dans les familles étudiées. Cette méthode se distingue de l'autre dispositif habituellement utilisé pour la recherche de QTL, basé sur la création d'individus hétérozygotes issus d'un backcross réalisé à partir de deux populations parentales divergentes. En production animale de rente, ce dernier dispositif est utilisé quand il existe des génotypes extrêmes sur le caractère étudié (résistant et sensible par exemple) dans une espèce, à défaut de créer des lignées complètement homozygotes, comme c'est techniquement réalisable pour les animaux de laboratoire et dans le monde végétal. Les populations choisies se comportent alors comme des populations consanguines sur une partie de leur génome et par leur homogénéité, s'apparentent donc aux homozygotes de lignées consanguines (Sourdioux *et al.,* 1997).

L'avantage du dispositif outbred est qu'il peut servir à détecter des QTL pour autant de caractères que de phénotypes mesurés dans la population. De plus, les QTL découverts peuvent être utilisés dans une sélection assistée par marqueur. A l'inverse, en créant des lignées divergentes, pour la résistance par exemple, la recherche de QTL est limitée uniquement au caractère à l'état homozygote dans les populations à l'étude.

Le dispositif outbred présente toutefois certaines limites. En effet, bien que cette méthode se base sur l'hypothétique existence d'individus hétérozygotes au marqueur et au QTL, la population est aussi composée d'individus homozygotes au marqueur et au QTL. La présence d'individus homozygotes réduit le pouvoir de détection car ces individus n'apportent aucune information quant à la ségrégation au marqueur et au QTL. De plus, il peut exister différentes paires d'allèles dans la population. Il existe aussi une incertitude sur le génotype des parents hétérozygotes (M1Q1/M2Q2 ou M1Q2/M2Q1 par exemple). Ces particularités réduisent la puissance de détection de ce dispositif et nécessitent un effectif d'animaux beaucoup plus important, car l'analyse doit être effectuée intra-famille contrairement aux populations inbred. Un compromis doit alors être trouvé entre le nombre de familles, leur taille et le nombre de générations génotypées.

Le dispositif outbred employé pour la détection de QTL de résistance a permis la détection de QTL de résistance mais a toutefois mis en lumière les limites de ce dispositif. En effet, le nombre d'animaux génotypés intra-famille (32 descendants en moyenne) n'était pas suffisant pour atteindre un pouvoir de détection élevé (40 %). De plus, la présence de pères non informatifs (30 % en moyenne par chromosome) (c'est-à-dire homozygotes au marqueur) a réduit de façon encore plus significative le nombre d'individus analysés pour certains marqueurs. Les marqueurs qui ont été utilisés étaient des microsatellites. Ces courts segments d'ADN comportent un certain nombre de répétitions des mêmes paires de bases et le nombre de répétitions se traduit en différentes formes alléliques. Ces marqueurs ont l'avantage d'être très polymorphes, d'être situés de façon uniforme sur le génome et dans des régions non-codantes. Une des difficultés rencontrées dans ce programme de recherche de QTL est le faible nombre de microsatellites disponible pour la chèvre. Des microsatellites provenant de l'espèce bovine et ovine ont dû être testés chez la chèvre Créole pour s'assurer qu'ils amplifiaient bien chez les pères testés. Le nombre de microsatellites disponibles, 104 au total, s'est révélé insuffisant pour explorer l'ensemble des chromosomes. Par conséquent, trois chromosomes (chromosome 25, 27 et 28) n'ont pu être analysés car seulement un microsatellite était disponible sur chacun d'eux. De plus, certains chromosomes n'étaient porteurs que de deux marqueurs très distants. Le taux de recombinaison entre les deux marqueurs étant très important, ceci diminue grandement la précision de la position des QTL trouvés.

PUBLICATION №5

Publication nº5(publiée dans Veterinary Parasitology)

Réponses d'anticorps sériques chez des chevreaux Créoles infestés expérimentalement avec *Haemonchus contortus.*

Cette dernière publication apporte des connaissances sur la réponse immunitaire mise en place pendant une infestation par des strongles gastro-intestinaux. Avec la publication nº2, elle complète l'apport de cette thèse à une première compréhension des mécanismes de résistance chez la chèvre Créole.

Résumé en français

L'objectif de cette étude a été d'évaluer la relation entre des anticorps sériques spécifiques de parasites avec le statut de résistance chez les chevreaux Créoles. Les valeurs génétiques moyennes de l'excrétion d'œufs de strongles entre animaux résistants et sensibles, prédites dans un contexte d'infestation naturelle à 11 mois d'age, étaient distantes de 1.07 en écart-type génétique. Les animaux ont été maintenus sans parasites pendant 1 mois avant d'être infesté expérimentalement avec 10 000 larves infestantes L3 d'*Haemonchus contortus.* Des tests ELISA ont été réalisés sur des échantillons de sérums afin de déterminer le niveau en IgG, IgA et IgE contre les larves L3 d'*H. contortus* et contre les produits d'excrétion et de sécrétion (PES) des adultes. Les paramètres parasitologiques et immunologiques ont été mesurés sur les deux groupes extrêmes. Malgré l'absence de signes typiques d'une haemonchose, les chevreaux susceptibles excrétaient 11 fois plus d'œufs 35 jours après l'infestation que les chevreaux résistants. Toutefois, aucune différence n'a été mise en évidence entre les deux groupes d'animaux pour la réponse immunitaire de l'hôte modulée par les immunoglobulines. Ce résultat suggère qu'un certain degré de protection est survenu chez les chèvres préalablement infestées et que la ségrégation phénotypique et génétique des animaux résistants et sensibles n'est pas reliée à la réponse immunitaire humorale. Les coefficients de corrélations entre le nombre d'œufs excrétés et les IgE anti-PES ($r=0.593$; $P<0.05$) sont significatif à la fois chez les animaux résistants et sensibles. Une telle corrélation suggère une réaction d'hypersensibilité reliée à la prolificité des vers et n'a jamais été décrite auparavant.

Available online at www.sciencedirect.com
ScienceDirect
Veterinary Parasitology 158 (2008) 311–318
veterinary parasitology
www.elsevier.com/locate/vetpar

Serum antibody responses in Creole kids experimentally infected with *Haemonchus contortus*

Jean-Christophe Bambou [a,*], Claudia de la Chevrotière [a], Hugues Varo [a], Remy Arquet [a], Frans N.J. Kooyman [b], Nathalie Mandonnet [a]

[a] *Institut National de la Recherche Agronomique, France, Station de Recherches Zootechniques, Domaine Duclos, 97170 Petit Bourg, Guadeloupe (F.W.I.)*
[b] *Department of Infectious Diseases and Immunology, Utrecht University, Yalelaan 1, 3584 CL Utrecht, The Netherlands*

Received 7 February 2008; received in revised form 15 August 2008; accepted 15 September 2008

Abstract

The objective of this study was to evaluate the relationship of parasite-specific serum antibodies with the resistance status of Creole kids. The average breeding values on egg output predicted in a context of natural infection at 11 months of age were distant of 1.07 genetic standard deviation between resistant and susceptible animals. After drenching the animals were maintained worm-free during 1 month until experimental infection with 10,000 *Haemonchus contortus* infective larvae (L3). Enzyme-linked immunosorbent assay was carried out in serum samples to determine the level of IgG, IgA and IgE anti-*H. contortus* L3 crude extracts and adult excretion/secretion products (ESP). Parasitological and blood immunological parameters were measured on the 2 extreme groups. Despite the absence of any typical signs of haemonchosis, susceptible kids had more than 11 times higher faecal egg counts (FEC) at 35 days post-infection (d.p.i.) than resistant kids had. Levels of immunoglobulin against *H. contortus* L3 and ESP increased significantly after infection in both groups. However, no difference in the host immune response mediated by immunoglobulin against *H. contortus* was evidenced between groups. This finding suggests that, in goats previously infected by *H. contortus*, a degree of protection occurred and the phenotypic and genetic segregation in resistant and susceptible animals were not related to the humoral immune response. The correlation coefficients between FEC and IgE anti-ESP ($r = 0.593$; $P < 0.05$ was significant in both resistant and susceptible animals. Such correlation suggesting a hypersensitivity reaction dependent on worm prolificacy has never been described. This result needs further studies to understand the mechanisms underlying this observation.
© 2008 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: *Haemonchus contortus*; Goats; Genetic resistance; Antibody response

1. Introduction

The gastrointestinal nematode *Haemonchus contortus* is one of the major pathogens of sheep and goats throughout the temperate and tropical region of the world and is thus considered as an important constraint on efficient production. The emergence of nematode populations with resistance to anthelmintics and the concern about chemical residues in animal products threaten the sustainability of this approach (Waller, 2006). Alternative strategies for the control of gastrointestinal nematode infections, include selection of genetically resistant breeds and the development of effective vaccine (Gray, 1997; Newton and Munn,

* Corresponding author. Tel.: +590 590 255 429; fax: +590 590 255 936.
E-mail address: jean-christophe.bambou@antilles.inra.fr (J.-C. Bambou).

0304-4017/$ – see front matter © 2008 Elsevier B.V. All rights reserved.
doi:10.1016/j.vetpar.2008.09.020

1999). In sheep, the ability to acquire immunity and express resistance to gastrointestinal nematodes varies among and within breeds and is under genetic control (Stear et al., 1999). The knowledge of the immune mechanisms underlying such genetic variation is critical for the identification of genetically resistant livestock and immunization (Gill et al., 2000).

The immune response against gastrointestinal nematodes is well documented in sheep (Miller and Horohov, 2006). Thus genetic resistance is immunogically mediated by proliferation of mucosal mast cells, globule leukocytes and eosinophils (Meeusen et al., 2005). The response against gastrointestinal nematodes also involves production of parasite-specific immunoglobulin A (IgA), IgG1 and IgE (Pfeffer et al., 1996; Kooyman et al., 1997; Shaw et al., 1998).

Although goats are markedly susceptible to infection with gastrointestinal nematodes, some breeds are genetically resistant to infection (Pralomkam et al., 1997; Behnke et al., 2006). Recently, we demonstrated the feasibility of breeding for improved resistance to nematode within the Creole goats breed (Mandonnet et al., 2001, 2006). Few studies have investigated the goat immune response to *Teladorsagia circumcincta*, *Trichostrongylus colubriformis* and *H. contortus* infections (Huntley et al., 1995; Fakae et al., 1999; Perez et al., 2001, 2003). However, the humoral response in relation with the resistance/susceptible status to gastrointestinal nematode infection together with parasitological measures has not been investigated in goats. This study was carried out to evaluate the relationship of parasite-specific serum IgG, IgA and IgE and parasitological parameters with the resistance and susceptibility to *H. contortus* within the Creole goats breed.

2. Materials and methods

2.1. Animals and experimental design

Twenty five 10-month old female Creole goats reared on pasture were chosen from the flock of INRA-Gardel, according to their breeding value for resistance (Mandonnet et al., 2001). In this flock, the pedigree of each animal was available from the foundation generation of 1979. In addition, faecal samples have been regularly collected (weeks 6 and 7 after drenching) at 7 and 11 months of age for genetic evaluation on the average of 2 faecal egg counts (FEC) measures, since 1995. The resistant and susceptible average predicted breeding values on egg output in a context of natural infection at 11 months of age were distant of 1.07 genetic standard deviation in this experiment. The animals were drenched with moxidectine (Cydectine®, Fort Dodge Veterinaria S.A., Tours, France, 300 μg/kg) and housed indoors under worm-free conditions in a single pen 1 month before the start of the experiment. During this period, nematode faecal egg counts remained at zero. Limited infection with coccidia occurred despite diclazuril treatments (Vecoxan, Janssen-Cilag, 1.5 mg/kg) before the start of the experiment, but without any clinical signs of coccidiosis. All animals received granulated feed adapted to their age, as well as forage and tap water *ad libitum*. Animals were reared following European Union recommendations for animal welfare in accordance with the regulations of the Animal Care Committee of INRA.

Infective larvae (L3) of *H. contortus* were obtained 42 days before challenge from cultures of faeces taken from monospecifically infected Creole goats with isolates previously obtained from Creole goats reared on pasture in different farms in Guadeloupe (Aumont and Cabaret, 1999). Kids were orally infected with a single dose of 10,000 *H. contortus* third-stage larvae (L3) at Day 0. Here we analyzed the response of 8 resistant and 8 susceptible animals according to their FEC during experimental infection.

2.2. Parasitological techniques, blood and serum samples

Faecal samples were collected to determine FEC using a modified McMaster method for rapid determination (Aumont, 1997). Blood samples from each animal were recovered once a week and centrifuged for 5 min at 5000 rpm. Serum was then frozen at −20 °C until analysis. Blood samples were collected in EDTA coated tubes (Becton Dickinson, Plymouth, UK) to measure the number of circulating eosinophils according to the method of Dawkins et al. (1989). Eosinophils were counted with a Malassez cell counter. The packed cell volume was measured using the capillary microhaematocrit method.

2.3. Antibodies detection in serum by indirect ELISA

2.3.1. Worm antigen preparation

Prior to experimentation five donor goats infected with 10,000 L3 of *H. contortus* were sacrificed at 42 d.p.i. and adult worms were harvested from the abomasum. These worms were thoroughly washed in PBS (pH 7.4) containing penicillin (100 IU/ml) and streptomycin (1 mg/ml). Fifty adult worms per millilitre of the same buffer were maintained in a 5% CO_2

atmosphere at 37 °C overnight. Next, the supernatant containing excretory/secretory products (ESP) was collected, filtered (0.2 μm) and stored at −70 °C until further use. A crude extract of *H. contortus* L3 was prepared after three cycles of freezing and thawing (−70 °C, +25 °C), homogenization at 4 °C and centrifugation at 30,000 *g* for 30 min at 4 °C. The supernatant was used as the crude extract of the L3 antigen. The protein concentration of both antigenic preparations was determined with the method of Bradford (1976).

2.3.2. Serum specific IgA and IgE

Briefly, crude extract of *H. contortus* L3 and ESP were diluted at 2 μg/ml in carbonate buffer (pH 9.6), distributed in 96-well plates (Nunclon surface, Nunc, Denmark), incubated overnight at 4 °C. The wells were washed three times with PBST (0.01 M phosphate, 0.15 M sodium chloride, pH 7.2 and 0.1% Tween 20). Non-specific binding sites were blocked by 3 h incubation with PBS-1% bovine serum albumin (BSA, Sigma, St. Louis, USA), 5% sucrose. Duplicate serum samples diluted 1:2 (IgA), and 1:320 (IgE) in PBST were incubated for 2 h at room temperature (RT). The plates were washed three times with PBST before addition of a horseradish peroxidase-conjugated Rabbit anti-goat IgA (Alpha Diagnostic) diluted 1:1000 in carbonate buffer (60 min of incubation at RT). For IgE ELISA, plates were sequentially incubated with mouse anti-ovine IgE monoclonal IE7 (Kooyman et al., 1997) diluted 1:1000 (kindly provided by Dr. F.N.J. Kooyman, Utrecht University, The Netherlands) and rabbit anti-mouse HRP conjugate (Serotec, Oxford, England). Three final washes with PBST were carried out before addition and incubation at RT of 100 μl per well of the chromogen (2,2′-azino-bis, 3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid or 3,3′,5,5′-tetramethylbenzidine for IgA and IgE respectively). After 20 min, the optical densities were determined with a spectrophotometer by measuring the absorbance at 405 nm for IgA. For IgE detection the colour reaction was stopped by the addition of 50 μl per well of 2N H_2SO_4 and the optical density was measured at 450 nm (OD450). In order to compare results between assays, a positive control consisting of a pool of sera containing IgA and IgE antibody was included on each plate, and the OD405 or OD450 of unknown samples were altered in proportion with changes of this standard.

2.4. Statistical analysis

All variables were log transformed (except PCV and weights) in order to normalize the variances. Kinetics of each variable was modelized using mixed procedure of SAS software release 3.1 (SAS institute Inc., 1999). The peaks of the different variables were localized using also mixed procedure of SAS software, and including resistance status and time as discrete variation factors. The same procedure was used to compare animals of the 2 extreme groups. The results are presented after back-transformation. The association between data was determined using Pearson's rank correlation (MINITAB software, release 12.2).

3. Results

3.1. Parasitological and zootechnical measures

The FEC remained at zero until 21 days post-infection (d.p.i.) in both groups. Susceptible kids showed a peak in egg output between 28 and 42 d.p.i. whereas resistant kids' egg output began to increase significantly at 42 d.p.i. (Fig. 1a and Table 1). From 21 d.p.i., kinetics of egg output was significantly higher in susceptible group ($P < 0.01$). At 35 d.p.i. FEC in susceptible group was more than 11 times higher than in resistant one.

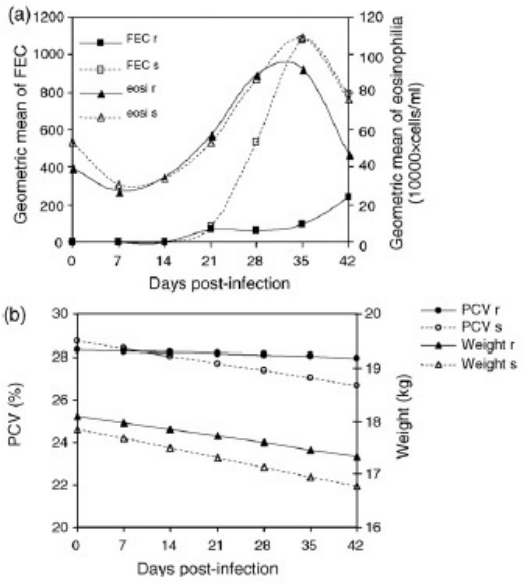


Fig. 1. (a) Geometric mean of faecal egg counts (FEC, ■ resistant; □ susceptible) and number of blood eosinophils/ml (eosi, ▲ resistant; △ susceptible) comparing resistant (r) and susceptible (s) Creole kids. (b) Mean of packed cell volume (PCV, ● resistant; ○ susceptible) and weight (▲ resistant; △ susceptible) comparing resistant (r) and susceptible (s) Creole kids.

Table 1
Significance (P value) of circulating eosinophils and egg output levels in reference to levels at 0 and 21 days post-infection (d.p.i.) respectively.

Status[a]	d.p.i.[b]	7	14	21	28	35	42
Resistant	Eosinophil counts	0.072	0.005	0.007	<0.0001	0.073	n.s.
	Egg output				n.s.	n.s.	0.098
Susceptible	Eosinophil counts	n.s.	0.002	n.s.	0.014	0.092	0.028
	Egg output				<0.001	0.002	0.0035

n.s., non-significant ($P > 0.10$).
[a] Status, genetic predisposition against gastrointestinal nematode infection.
[b] Days post-infection, number of days after the animals were orally infected with a single dose of 10,000 of *H. contortus* third-stage larvae (L3).

Eosinophils counts in blood significantly increased after infection ($P < 0.001$). A slight peak was shown between 28 and 35 d.p.i. in resistant kids (Fig. 1a and Table 1). In susceptible kids eosinophilia was high for days 28, 35 and 42 post-infection and a peak was shown at 35 d.p.i. (Fig. 1a and Table 1). No significant difference was shown in the kinetics of the resistant and susceptible groups.

PCV values did not change during the experiment (Fig. 1b). The average values were not significantly different between the 2 groups: 28.1% for resistant kids and 27.7% for the susceptible one.

Animals slightly lost weight ($P < 0.0001$) across the experiment (Fig. 1b). Resistant kids lost less weight than susceptible ones but the differences were not statistically significant. The loss was around 0.6 kg in resistant group and around 1 kg in susceptible one.

3.2. Serum antibody responses

The OD's levels of sera from parasite-free kids used as negative control were not significantly different from the background (data not shown). Following infection with *H. contortus* the levels of IgA anti-L3 response increased in both groups to peak at 14 d.p.i., and then decreased rapidly to reach a baseline from 28 d.p.i. to the end of the infection (Fig. 2a and Table 2). Susceptible animals had an IgA anti-L3 response more pronounced than resistant without statistical differences (Fig. 2a). The IgE anti-L3 response increased significantly after infection to peak at 21 and 28 d.p.i., in susceptible and resistant groups (Table 2). The level of IgE anti-L3 was higher in susceptible group but without significant differences (Fig. 2a).

The levels of IgA specific antibody response to *H. contortus* adult excretion/secretion products (IgA anti-ESP) increased rapidly in both groups to peak between 14 and 21 d.p.i., then decreased and reach the baseline at 35 d.p.i. (Fig. 2b) but no difference was observed between groups. The IgA anti-ESP response was more pronounced than the IgA response against *H. contortus* L3 crude extract (Fig. 2a and b; $P < 0.005$). IgE anti-ESP increased significantly from 14 d.p.i. in resistant kids and from 7 d.p.i. in susceptible ones. The level of IgE anti-ESP increase continuously in both groups throughout the infection (Fig. 2b). The levels of IgG anti-L3 and IgG anti-ESP were weak and no difference was evidenced between groups (data not shown).

Table 2
Significance (P value) of immunoglobulin (Ig) secretion levels in relation to secretion at 0 days post-infection (d.p.i.), in resistant and susceptible kids.

Antigen[a]		L3[b]						ESP[c]					
Status[d]	d.p.i.[e]	7	14	21	28	35	42	7	14	21	28	35	42
Resistant	IgE	n.s.	n.s.	<0.001	<0.001	0.081	0.053	n.s.	0.052	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	IgA	n.s.	<0.001	0.006	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	<0.001	<0.001	0.015	0.020	n.s.
Susceptible	IgE	n.s.	0.051	<0.001	<0.001	n.s.	n.s.	0.007	0.019	0.002	<0.001	<0.001	<0.001
	IgA	0.006	<0.001	<0.001	0.171	0.122	0.025	n.s.	<0.001	<0.001	<0.001	0.010	0.102

[a] Antigen, soluble protein extract of *Haemonchus contortus*.
[b] L3, third-stage larvae (L3) crude extracts.
[c] ESP, adult nematode excretory/secretory products.
[d] Status, genetic predisposition against gastrointestinal nematode infection.
[e] Days post-infection, number of days after the animals were orally infected with a single dose of 10,000 *H. contortus* third-stage larvae (L3).

Table 3
Overall correlation between immunological and parasitological variables measured during the experimental infection.

	Circulating eosinophils	IgA anti-L3	IgA anti-ESP	IgE anti-L3	IgE anti-ESP
IgA anti-L3	−0.018				
IgA anti-ESP	0.239	0.767***			
IgE anti-L3	0.583**	0.458*	0.684**		
IgE anti-ESP	0.588**	0.169	0.286	0.649**	
FEC	0.254	−0.147	0.084	0.444	0.593**

* $P < 0.10$.
** $P < 0.05$.
*** $P < 0.001$.

3.3. Correlation coefficients between parasitological and immunological variables

Since the serum antibody response showed similar profiles in susceptible and resistant animals with no statistical differences the analysis of correlation coefficients was realized between variables of all animals. Values of circulating eosinophils, IgE anti-L3 and IgE anti-ESP were positively correlated ($r = 0.583$ and $r = 0.588$, $P < 0.05$, Table 3). Values of FEC were only correlated with IgE anti-ESP ($r = 0.593$, $P < 0.05$). IgA and IgE response against *H. contortus* L3 crude extract or adult ESP were highly positively correlated ($r = 0.767$, $P < 0.001$ and $r = 0.649$, $P < 0.05$, respectively).

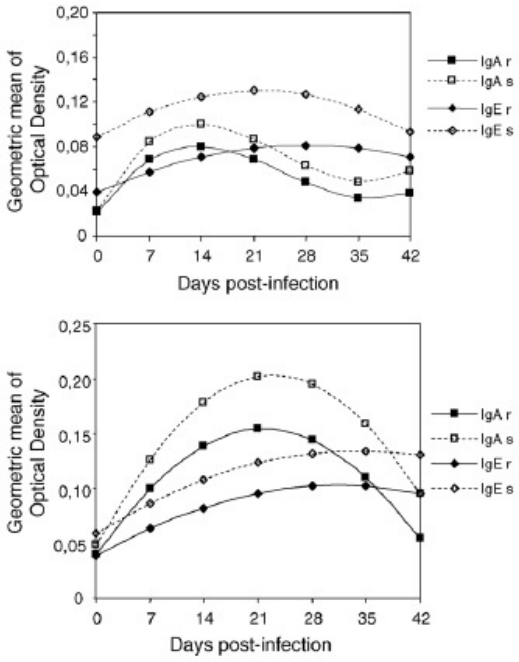


Fig. 2. (a) Systemic IgA (■ resistant; □ susceptible) and IgE (◆ resistant; ◇ susceptible) response against *H. contortus* crude extract of L3 (anti-L3) antigens in resistant (r) and susceptible (s) Creole kids. (b) Systemic IgA (■ resistant; □ susceptible) and IgE (◆ resistant; ◇ susceptible) response against adults *H. contortus* excretion secretion products (anti-ESP) in resistant (r) and susceptible (s) Creole kids.

4. Discussion

While there is evidence that some breeds of goats differ from others in their susceptibility to nematode infection (Cabaret and Gruner, 1988; Pralomkarn et al., 1997), there is as yet little information available about within-breed variation in nematode resistance on which to base a breeding programme. Previous work has shown that resistance to naturally acquired strongyles infections in Creoles goats seems to be under genetic control (Mandonnet et al., 2001). In the present study we evaluated the phenotypic and genetic resistant/susceptible status of these animals during experimental infection with *H. contortus* and showed a good genetic and phenotypic segregation between resistant and susceptible kids. At 35 d.p.i. FEC in resistant animals was 11 times lower than in susceptible. Thus, in resistant animals worm establishment rate seems to be lower and female prolificacy and/or worm maturation delayed. In accordance with this hypothesis resistance of sheep to *H. contortus* has been associated, with the lengthening of prepatent periods, lower parasite faecal egg output, lower establishment rate and, consequently, lower adult worm burdens as well as an increase in larval inhibition in the abomasal mucosa (Adams, 1993; Stear et al., 1995a).

Despite a good segregation in FEC between animal groups, the typical signs of *H. contortus* infection, such as anorexia, prostration, apathy and anaemia were not observed throughout the experiment, thus characterizing the infection as subclinical. The number of infective larvae used in this experiment resulted in mild infection, rather than the more accentuated clinical response obtained with a similar infective dose employed in

previous studies with *H. contortus* within different goats and sheep breeds (Perez et al., 2001, 2003; Lacroux et al., 2006).

In this experiment the animals were fed with a high amount of protein (40 g crude protein/day) what could be, at least in part, responsible for the absence of signs. Indeed, several studies has showed that protein or urea supplementation in the diet of sheep was able to increase resilience and resistance to infection by endoparasites (Houtert et al., 1995; Wallace et al., 1998; Knox and Steel, 1999).

It is generally assumed that blood eosinophilia and the infiltration of target tissues by eosinophils are characteristic outcomes of helminth infection in mammals. Many studies suggested that this cell population play a role in resistance to helminth infection since significant correlations between resistance/susceptibility to endoparasites infection and the magnitude of the peripheral eosinophil response has been shown (Meeusen et al., 2005). More recently it has been shown that eosinophils could interact with and damage gastrointestinal nematode larvae *in vivo* (Balic et al., 2006). Herein eosinophilia increased significantly after infection, but no correlations between peripheral blood eosinophilia and protection/resistance were found. One reason for this might be that eosinophilia should have been measured locally rather than in peripheral blood. Nonetheless, it has been shown that in parasitized sheep a high protein diet could increase eosinophils counts and attenuate physiopathological effects of haemonchosis (Datta et al., 1998). The subclinical haemonchosis observed in our experiment where resistant and susceptible animals showed no differences in eosinophilia, is in keeping with this previous study, but this hypothesis needs further experiments to be validated.

In this study the humoral immune response observed was not a primary response since the animals were previously exposed to nematode infection on pasture. But in contrast to studies in Texel and Castellana sheep showing a stronger IgG and IgA response in animals previously exposed to infection (Schallig et al., 1995; Gomez-Munoz et al., 1999), in Creole kids naturally parasitized on pasture before the experimental infection, a weak response was observed except for IgA anti-ESP which showed amounts similar to primo-infected sheep. Previous studies in sheep suggest that IgA may be the major mechanism controlling fecundity of *H. contortus* and worm length and fecundity of *Teladorsagia circumcincta* (Stear et al., 1995b; Strain et al., 2002). In agreement, Amarante et al. showed in three breeds of sheep (Tropical Santa Ines, European Suffolk and Ile de France) an inverse relationship between FEC and IgA anti-L3 and IgA anti-L5 in the mucus (Amarante et al., 2005). A significant IgA response was observed in both groups against *H. contortus*, but no relationship was found between IgA anti-L3 or IgA anti-ESP and FEC.

In mammals, elevated IgE response following parasitic nematodes infection is well documented for a long time. Studies on IgE response in ruminant were as yet restricted to sheep and cattle. Thus, in sheep increased total and nematode-specific serum IgE levels after gastrointestinal nematode infection have been reported in many studies (Huntley et al., 1998; Pernthaner et al., 2005). Furthermore, a negative correlation between worm counts and total serum IgE levels was found in sheep parasitized with *H. contortus* (Kooyman et al., 1997). Our results showed a significant rise in L3 crude extract and ESP specific serum IgE in both animal groups after *H. contortus* infection. But in contrast to previous studies in sheep, no statistical difference was evidenced between resistant and susceptible animals. A significant positive correlation was found between FEC and IgE anti-ESP ($r = 0.593$; $P < 0.05$), suggesting that hypersensitivity response in Creole kids infected with *H. contortus* might be associated with worm burden and/or female prolificacy. Altogether these data emphasise the intriguing complexity of the immune response to nematode infection.

In conclusion, in accordance to our previous results (Mandonnet et al., 2001, 2006) this study showed a within-breed variation in resistance to experimental haemonchosis. This genetic and phenotypic variation was not related to the host humoral response level, probably in part due to a degree of immunization of the animals on pasture in natural infection and a balanced diet during the course of the experiment. In further research, we aim to investigate the primo immune response locally in the abomasal mucosa and mucus together with the humoral response of Creole kids infected with *H. contortus*.

Acknowledgements

We thank Dr. Philippe Jacquiet for his helpful discussion and critical reading of the manuscript.

This work was supported in part by INRA and by La Région Guadeloupe. JCB was supported by a post-doctoral fellowship from Le Conseil Général de la Guadeloupe.

References

Adams, D.B., 1993. Systemic responses to challenge infection with *Haemonchus contortus* in immune Merino sheep. Veterinary Research Communications 17 .

Amarante, A.F.T., Bricarello, P.A., Huntley, U., Mazzolin, L.P., Gomes, J.C., 2005. Relationship of abomasal histology and parasite-specific immunoglobulin A with the resistance to *Haemonchus contortus* infection in three breeds of sheep. Veterinary Parasitology 128, 99–107.

Aumont, G., Cabaret, J., 1999. Etude comparée du succès reproductif du nématode parasite *Haemonchus contortus*, en situation de coévolution chez des hôtes petits ruminants sensibles et résistants en zone tropicale. Appel d'offres recherche du Bureau des Ressources Génétiques: Recherches méthodologiques pour l'amélioration des processus de gestion et de conservation des ressources génétiques animales, végétales et microbiennes Rapport d'étape 1997–1998.

Aumont, G. R. P. a. N. M. 1. 1997. Le dénombrement des éléments parasitaires: Un outil pour l'étude de la résistance génétique aux endo-parasites chez les petits ruminants. Workshopfinal de l'ATP CIRAD-MIPA 72/94, Guadeloupe, France.

Balic, A., Cunningham, C.P., Meeusen, E.N.T., 2006. Eosinophil interactions with *Haemonchus contortus* larvae in the ovine gastrointestinal tract. Parasite Immunology 28 .

Behnke, J.M., Chiejina, S.N., Musongong, G.A., Fakae, B.B., Ezeokonkwo, R.C., Nnadi, P.A., Ngongeh, L.A., Jean, E.N., Wakelin, D., 2006. Naturally occurring variability in some phenotypic markers and correlates of haemonchotolerance in West African Dwarf goats in a subhumid zone of Nigeria. Veterinary Parasitology 141, 107–121.

Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72 .

Cabaret, J., Gruner, L., 1988. Genetic variability of resistance to parasites. In: Proceedings, 3rd World Congress on Sheep and Beef Cattle Breeding, Volume 1, 19–23 June 1988, Paris.

Datta, F.U., Nolan, J.V., Rowe, J.B., Gray, G.D., 1998. Protein supplementation improves the performance of parasitised sheep fed a straw-based diet. International Journal for Parasitology 28 .

Dawkins, H.J.S., Windon, R.G., Eagleson, G.K., 1989. Eosinophil responses in sheep selected for high and low responsiveness to *Trichostrongylus colubriformis*. International Journal for Parasitology 19 .

Fakae, B.B., Chiejina, S.N., Behnke, J.M., Ezeokonkwo, R.C., Nnadi, P.A., Onyenwe, W.I., Gilbert, F.S., Wakelin, D., 1999. The response of Nigerian West African Dwarf goats to experimental infections with *Haemonchus contortus*. Research in Veterinary Science 66, 147–158.

Gill, H.S., Altmann, K., Cross, M.L., Husband, A.J., 2000. Induction of T helper 1-and T helper 2-type immune responses during *Haemonchus contortus* infection in sheep. Immunology 99, 458–463.

Gomez-Munoz, M.T., Cuquerella, M., Gomez-Iglesias, L.A., Mendez, S., Fernandez-Perez, F.J., Fuente, C.d.l., Alunda, J.M., 1999. Serum antibody response of Castellana sheep to *Haemonchus contortus* infection and challenge: relationship to abomasal worm burdens. Veterinary Parasitology 81 .

Gray, G.D., 1997. The use of genetically resistant sheep to control nematode parasitism. Veterinary Parasitology 72, 345–366.

Houtert, M.F.J., Barger, I.A., Steel, J.W., 1995. Dietary protein for young grazing sheep: interactions with gastrointestinal parasitism. Veterinary Parasitology 60 .

Huntley, J.F., Patterson, M., MacKellar, A., Jackson, F., Stevenson, L.M., Coop, R.L., 1995. A comparison of the mast-cell and eosinophil responses of sheep and goats to gastrointestinal nematode infections. Research in Veterinary Science 58, 5–10.

Huntley, J.F., Schallig, H.D.F.H., Kooyman, F.N.J., MacKellar, A., Millership, J., Smith, W.D., 1998. IgE responses in the serum and gastric lymph of sheep infected with *Teladorsagia circumcincta*. Parasite Immunology 20 .

Knox, M.R., Steel, J.W., 1999. The effects of urea supplementation on production and parasitological responses of sheep infected with *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis*. Veterinary Parasitology 83 .

Kooyman, F.N.J., VanKooten, P.J.S., Huntley, J.F., MacKellar, A., Cornelissen, A.W.C.A., Schallig, H.D.F.H., 1997. Production of a monoclonal antibody specific for ovine immunoglobulin E and its application to monitor serum IgE responses to *Haemonchus contortus* infection. Parasitology 114, 395–406.

Lacroux, C., Nguyen, T.H.C., Andreoletti, O., Prevot, F., Grisez, C., Bergeaud, J.P., Gruner, L., Brunel, J.C., Francoise, D., Dorchies, P., Jacquiet, P., 2006. *Haemonchus contortus* (Nematoda: Trichostrongylidae) infection in lambs elicits an unequivocal Th-2 immune response. Veterinary Research 37, 607–622.

Mandonnet, N., Aumont, G., Fleury, J., Arquet, R., Varo, H., Gruner, L., Bouix, J., Khang, J.V.T., 2001. Assessment of genetic variability of resistance to gastrointestinal nematode parasites in Creole goats in the humid tropics. Journal of Animal Science 79, 1706–1712.

Mandonnet, N., Menendez-Buxadera, A., Arquet, R., Mahieu, M., Bachand, M., Aumont, G., 2006. Genetic variability in resistance to gastro-intestinal strongyles during early lactation in Creole goats. Animal Science 82, 283–287.

Meeusen, E.N.T., Balic, A., Bowles, V., 2005. Cells, cytokines and other molecules associated with rejection of gastrointestinal nematode parasites. Veterinary Immunology and Immunopathology 108, 121–125.

Miller, J.E., Horohov, D.W., 2006. Immunological aspects of nematode parasite control in sheep. Journal of Animal Science 84 (Suppl.), E124–E132.

Newton, S.E., Munn, E.A., 1999. The development of vaccines against gastrointestinal nematode parasites, particularly *Haemonchus contortus*. Parasitology Today 15, 116–122.

Perez, J., Garcia, P.M., Hernandez, S., Martinez-Moreno, A., las Mulas, J.M., Camara, S., 2001. Pathological and immunohistochemical study of the abomasum and abomasal lymph nodes in goats experimentally infected with *Haemonchus contortus*. Veterinary Research 32, 463–473.

Perez, J., Garcia, P.M., Hernandez, S., Mozos, E., Camara, S., Martinez-Moreno, A., 2003. Experimental haemonchosis in goats: effects of single and multiple infections in the host response. Veterinary Parasitology 111, 333–342.

Pernthaner, A., Shaw, R.J., McNeill, M.M., Morrison, L., Hein, W.R., 2005. Total and nematode-specific IgE responses in intestinal lymph of genetically resistant and susceptible sheep during infection with *Trichostrongylus colubriformis*. Veterinary Immunology and Immunopathology 104, 69–80.

Pfeffer, A., Douch, P.G.C., Shaw, R.J., Gatehouse, T.K., Rabel, B., Green, R.S., Shirer, C.L., Jonas, W.E., Bisset, S., 1996. Sequential cellular and humoral responses in the abomasal mucosa and blood

DISCUSSION GÉNÉRALE

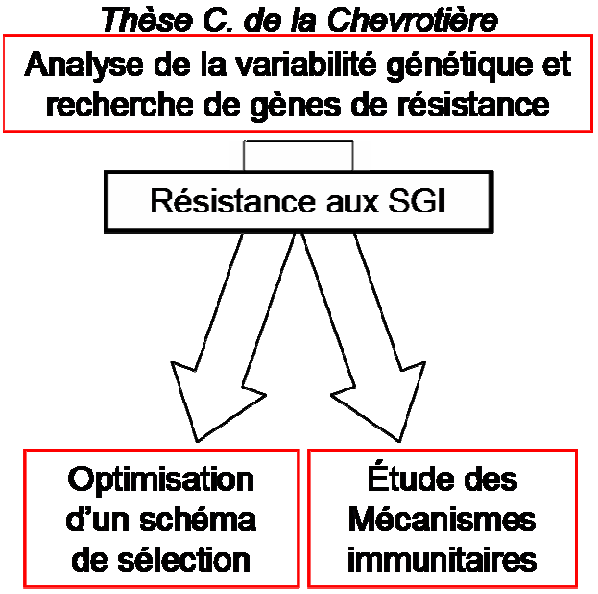


Figure 5. Articulation des différentes facettes du programme « Résistance aux strongles gastro-intestinaux chez les caprins Créoles» de l'INRA-URZ

Ce travail de thèse avait pour objectif de décrire la variabilité génétique de la résistance afin de proposer des outils pour la sélection et d'ouvrir des pistes de réflexion sur les mécanismes de résistance. Il en découle trois questions auxquelles cette discussion apporte des éléments de réponse en complément des résultats acquis par les autres membres de mon équipe de travail (figure 4).

La première question aborde la faisabilité de la sélection sur le caractère de résistance chez les chèvres Créoles en proposant le critère le plus informatif sur le statut de résistance et le moins antagoniste génétiquement avec les caractères de production.

La deuxième question concerne le déterminisme génétique de la résistance afin d'identifier si ce caractère est sous influence d'un gène majeur ou de plusieurs gènes, tout en proposant des pistes sur la nature des gènes impliqués dans la résistance.

La troisième question soulevée dans cette thèse concernait les mécanismes de résistance afin de formuler des hypothèses quant à l'implication de la réponse immunitaire dans la résistance aux parasites chez les chèvres.

Les types d'analyses statistisques effectués sur les critères de résistance selon les différents objectifs de la thèse sont représentés à la page suivante (figure 6). Les logiciels utilisés au cours de la thèse y sont également représentés.

La discussion qui suit reprend les principaux résultats de cette thèse selon ces trois problématiques, en développant d'un œil critique leurs implications pour l'amélioration génétique et pour la compréhension de la résistance aux strongles gastro-intestinaux chez la chèvre.

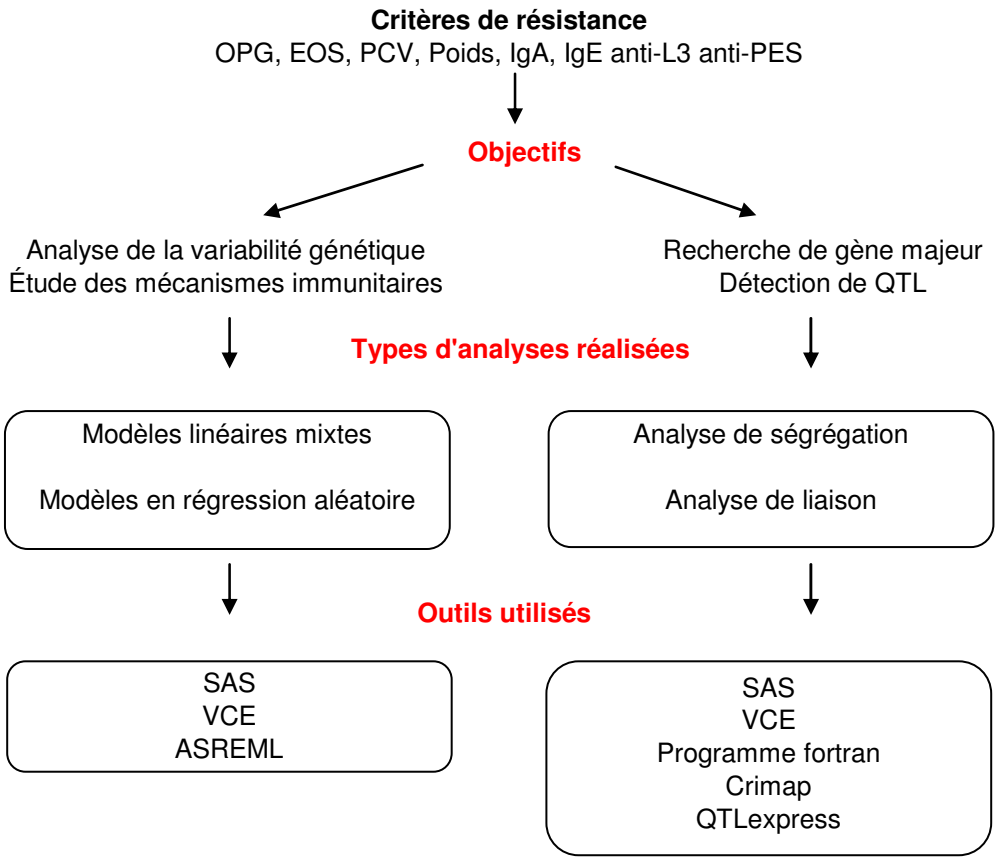


Figure 6. Schéma représentant les différents types d'analyses réalisées sur les critères de résistance et les différents outils d'analyses utilisés au cours de la thèse.

La résistance aux strongles gastro-intestinaux est-elle sélectionnable chez la chèvre Créole ?

L'excrétion d'œufs (OPG), l'hématocrite (PCV), l'éosinophilie (EOS), et les réponses des immunoglobulines A et E (IgA et IgE) contre des antigènes spécifiques d'*Haemonchus contortus* ont été analysés pour estimer la variabilité génétique de la résistance au sein de la population de chèvres Créoles. Les analyses se sont concentrées sur la période post-sevrage, c'est-à-dire de 4 à 12 mois d'âge (publications n° 2 et 3).

Les résultats acquis sur l'OPG et le PCV sont une actualisation des précédents résultats déjà publiés par Mandonnet *et al.* (2001, 2006). Les résultats relatifs à l'EOS et aux réponses d'IgA et IgE (publication n°2) sont originaux et viennent compléter le volet « étude de la variabilité génétique de la résistance», entamé il y a une dizaine d'années.

Les résultats obtenus confirment l'existence d'une variabilité génétique pour tous les critères de résistance étudiés (publication n°2). Les estimations de l'héritabilité de l'OPG, PCV et EOS sont moyennes, avec des valeurs entre 0,20 et 0,22 (± 0,03) à 11 mois d'age. Le nombre important de données a permis d'estimer ces paramètres avec une très bonne précision. Les estimations d'héritabilité pour les réponses des IgA et IgE contre les L3 et produits d'excrétion/sécrétion (PES) des adultes d'*H. contortus* sont moins précises, du fait de l'échantillon d'animaux plus réduit. L'héritabilité la plus élevée (0,57 ± 0,16) a été associée aux IgE dirigés contre les larves L3 d'*H. contortus*. Les effets maternels génétiques et d'environnement permanent se sont révélés non significatifs dans les modèles linéaires mixtes testés pour la période post-sevrage (mais n'ont pas pu être testés dans les modèles de régression aléatoire). Les chevreaux expriment donc leur potentiel génétique individuel et ne sont plus sous l'influence des capacités maternelles.

La méthode de régression aléatoire a permis de vérifier que la résistance exprimée à des âges proches était sous le contrôle des mêmes gènes tandis qu'à des âges plus éloignés le contrôle génétique était différent (publication n°3).

Cette conclusion est cohérente avec l'hypothèse communément admise que les mécanismes de résistance se mettent en place au fil des contacts répétés du chevreau avec le parasite et de la

maturation de son système immunitaire. Par ailleurs, avec cette méthode, nous avons visualisé l'évolution de la variabilité génétique sur toute la période post-sevrage en intrapolant les valeurs pour les âges où il n'existait pas de phénotype disponible, tout au long de la période post-sevrage. L'âge pour lequel la variabilité génétique est maximale a pu être localisé plus précisément et correspond à 12 mois d'âge, rejoignant ainsi les résultats obtenus à partir de modèles linéaires. Cependant, étant donné la complexité de ces modèles et les difficultés de convergence rencontrés, seuls les critères d'OPG et de PCV ont été analysés.

L'ensemble de ces résultats démontre que tous les critères étudiés sont bien sous contrôle génétique et qu'il est donc possible d'améliorer la résistance aux strongles gastro-intestinaux par sélection. Comme le progrès génétique attendu est fonction de l'importance de la variabilité génétique disponible, la sélection serait optimale sur des mesures prises à 11 mois, voire 12 mois d'âge. Sélectionner des animaux de 9 mois ciblerait essentiellement le même caractère mais le progrès génétique serait moins important car l'héritabilité et la variance génétique sont moins élevées à cet âge. De plus, l'absence de contrôle maternel (ni génétique et/ou environnemental) pour l'ensemble des critères de résistance facilitera la mise en œuvre de la sélection car il ne sera pas nécessaire de prendre en compte en parallèle, une composante maternelle généralement opposée.

Quels critères estiment le mieux la résistance aux strongles gastro-intestinaux chez la chèvre Créole ?

La taille de la population vermineuse (nombre de parasites par hôte infecté) est l'évaluation la plus juste et la plus directe de la résistance d'un animal (Gruner *et al.,* 1994), mais elle ne peut se mesurer qu'après abattage. Elle est donc difficilement envisageable dans un projet de sélection génétique. De ce fait, le critère le plus fréquemment retenu comme indicateur de résistance est l'OPG (Mandonnet, 1995) car il permet d'évaluer indirectement la charge parasitaire de l'animal ainsi que son pouvoir contaminateur, c'est-à-dire le nombre d'œufs émis sur le pâturage. De plus, l'intérêt de ce critère réside dans son caractère synthétique, représentant un ensemble de différents mécanismes de résistance (immunitaires et non immunitaires), rendant ainsi difficile l'adaptation rapide des vers à la sélection de l'hôte.

Afin de déterminer si d'autres critères peuvent remplacer ou compléter l'OPG dans un schéma de sélection, il convient, entre autre, de s'assurer que ces critères sont corrélés à l'OPG. Les corrélations génétiques entre l'excrétion d'œufs (OPG), l'hématocrite (PCV), l'éosinophilie (EOS), et les réponses des immunoglobulines A et E (IgA et IgE) contre des antigènes spécifiques d'*Haemonchus contortus* ont donc été analysés à 11 mois d'âge (Publication n°2).

Une corrélation génétique négative a été observée entre le PCV et l'OPG, indiquant qu'un animal émettant peu d'œufs sur le pâturage a également un taux d'hématocrite (PCV) élevé. Le PCV est généralement un critère de résistance utilisé en cas d'infestation par *H. contortus*, espèce hématophage. Dans ce cas, la baisse de l'hématocrite est directement liée à la charge parasite en *H. contortus*. Or, les chèvres Créoles sont soumises à une infestation naturelle et multi espèces. La proportion entre parasites hématophages et non hématophage comme *T. colubriformis* varie tout au long de l'infestation naturelle et d'une année à l'autre. L'hématocrite reste cependant toujours négativement corrélée avec l'OPG. Ceci suggère qu'une baisse de l'hématocrite ne serait pas le résultat unique de la présence de parasites hématophages, mais serait plus le reflet des conséquences de l'infestation en général, ou encore de l'état de santé de l'animal. Ce critère semble être plus un critère de résilience chez la chèvre Créole qu'un critère de résistance. Sélectionner sur le PCV favoriserait les animaux capables de surmonter les effets délétères d'une infestation parasitaire. Ceci est également mis en évidence par la corrélation génétique positive du PCV avec le poids, démontrant que les animaux ayant un PCV élevé (en bon état de santé malgré l'infestation) sont capables d'assurer leur croissance en présence des parasites.

Une corrélation génétique négative modérée a aussi été démontrée entre l'éosinophilie et l'OPG : plus l'éosinophilie est élevée, plus l'animal est résistant. Ceci suggère que les éosinophiles participent activement aux mécanismes de résistance chez la chèvre Créole. De plus, l'absence de corrélation avec le poids suggère que l'éosinophilie serait un critère de résistance reflétant la réponse immunitaire de l'hôte plutôt qu'un critère de résilience.

Chez la chèvre Créole, les IgA semblent bien détecter les larves L3 et les adultes *d'H. contortus* comme le montrent les fortes corrélations génétiques avec l'OPG. Par contre, les corrélations positives observées suggèrent que cette reconnaissance n'aboutit pas à une résistance accrue chez l'animal. Les IgA reflèteraient donc plutôt la charge parasitaire de l'animal, et l'information

génétique qu'ils apportent serait redondante avec celle de l'OPG. En l'absence de mécanismes de résistance associés à ces critères, il ne semble pas opportun de les utiliser dans la sélection de la résistance aux strongles gastro-intestinaux.

La reconnaissance des adultes d'*H. contortus* par les IgE ne serait pas efficace chez la chèvre Créole. Les IgE cibleraient les larves L3 uniquement et induirait une réaction protectrice comme le démontre la corrélation négative avec l'OPG. Ce critère semble donc adapté à la sélection pour la résistance.

Ces critères de résistance sont-ils antagonistes par rapport aux critères de production ?

Le schéma de sélection qui sera appliqué dans la population de chèvres en Guadeloupe visera à améliorer la production de viande, en incluant à la fois des critères de production, de reproduction et d'adaptation. Les critères de résistance ne doivent donc pas être antagonistes avec ceux-ci. Nous avons étudié les relations entre le poids vif, caractère de production et les critères de résistance étudiés (publication n°2).

Il ressort de nos analyses que le critère d'OPG n'est pas génétiquement corrélé avec le poids. La résistance serait sous un contrôle génétique indépendant de celui de la fonction de croissance chez le caprin Créole. Bien qu'*a priori* régulée par les fonctions d'homéostase, elle n'entrerait pas en compétition pour l'allocation des ressources alimentaires avec la fonction de croissance. Celle-ci est régulée par l'homéorhèse, le mécanisme régulateur des voies métaboliques, des fonctions de reproduction et de croissance et qui traduit directement les actions du génome (Hoch et *al.*, 2004). La sélection sur l'OPG n'altèrerait donc pas le potentiel de production chez la chèvre Créole. L'éosinophilie est également génétiquement indépendante du poids. La mise en place d'une réponse immunitaire impliquant les éosinophiles n'engendrerait pas de pertes de croissance. A l'opposé, l'activité des IgA semble être antagoniste au poids vif de l'animal. Les corrélations génétiques défavorables estimées entre le poids vif et les IgA anti-PES et anti-L3 indiquent que la réponse en IgA se développerait aux dépens du gain de poids. L'activité des IgE est quant à elle positivement corrélée avec le poids. La protection induite par les IgE aurait donc un effet favorable sur la résistance ainsi que sur la capacité de croissance de l'animal.

Au vu de l'ensemble de ces résultats, les meilleurs critères de résistance à inclure dans schéma de sélection de la chèvre Créole seraient les critères d'OPG, d'éosinophilie et l'activité des IgE anti-L3. Le PCV serait quant à lui un bon critère de résilience.

Le choix d'un critère de sélection repose aussi sur son coût, sa facilité et sa fiabilité de mesure. La mesure du critère de l'OPG et de l'éosinophilie est relativement simple et rapide à mettre en œuvre dans un noyau de sélection par exemple. Par contre, la mesure des IgE anti-L3 est plus complexe et coûteuse. Il paraît difficile d'inclure ce critère dans le schéma de sélection chez la chèvre Créole en l'état actuel de la technique de laboratoire.

L'efficacité d'une sélection pour la résistance aux strongles gastro-intestinaux sur le critère d'OPG a été démontrée sur un protocole expérimental mené à l'UE-PTEA entre 2006 et 2010 (Blaes *et al.,* 2010). Un écart de 0,53 écart-type génétique sur l'index de chevreaux pour l'OPG à 11 mois entraine une réduction d'excrétion d'œufs des mères de 32% autour du part. La sélection sur le critère d'OPG est efficace même pour des stades de production différents.

Des simulations sur le progrès génétique attendu sur le critère d'OPG ont été réalisées (logiciel SelAction; Rutten *et al.,* 2002) en combinant en plus de l'OPG, soit critère d'éosinophilie soit le PCV. Il en résulte que le progrès génétique attendu sur l'OPG n'est pas significativement amélioré par l'ajout d'un critère reflétant les mécanismes immunitaires de l'hôte ou sa résilience. La sélection pour la résistance serait donc optimale en mesurant le critère d'OPG seulement.

La résistance est-elle sous contrôle d'un gène majeur chez la chèvre Créole ?

La sélection pour la résistance aux strongles gastro-intestinaux serait facilitée si un ou quelques gènes parmi tous ceux responsables de la résistance étaient identifiés. Une recherche de gène majeur a donc été mise en œuvre chez la chèvre Créole (résultats complémentaires). L'OPG a été analysé avec une méthode utilisant le maximum de vraisemblance par l'algorithme de Quasi-Newton. L'avantage de cette méthode est qu'elle se base uniquement sur les phénotypes des individus. Il n'est donc pas nécessaire d'obtenir de l'information moléculaire sur les individus. Cette méthode par contre ne permet pas d'identifier formellement un gène majeur. Elle donne tout au plus des pistes quant à l'existence de ce gène. C'est donc une première étape servant d'indication et d'orientation pour les recherches futures sur le déterminisme génétique. Chez la chèvre Créole, les résultats suggèrent l'existence d'un gène majeur pour la résistance estimée par le critère de l'OPG. Ce gène serait à dominance partielle dans la population étudiée et les fréquences des individus homozygotes pour l'allèle de résistance seraient très faibles.

Existe-il des QTL de résistance chez la chèvre Créole ?

Tandis que la méthode décrite plus haut n'utilise que les informations phénotypiques et de pedigree pour mettre en évidence un gène majeur, les méthodes de recherche de QTL combinent en plus une information moléculaire pour identifier des régions du génome expliquant une part significative de la variabilité du caractère étudié.

Dans ce travail de thèse, un protocole de détection de QTL de résistance a été analysé sur les critères d'OPG, PCV, éosinophilie, poids ainsi que les réponses d'IgA et d'IgE anti-L3 et anti-PES d'*H. contortus*. Ces critères ont été considérés à 7 mois (excepté pour l'activité des immunoglobulines) et 11 mois d'âge (publication n^{o}4).

Les résultats obtenus ont révélé 13 régions génomiques associées avec la résistance aux strongles chez la chèvre Créole. L'OPG a été associé avec deux QTL tandis que trois QTL ont été associé aux éosinophiles et également au PCV. Le poids a été associé avec un seul QTL. Les immunoglobulines E anti-L3 et anti-PES ont été associées à deux QTL respectivement. Parmi

l'ensemble de ces QTL, seulement le QTL associé à l'IgE anti-PES et à l'OPG ont été détecté sur le même chromosome 26. Les autres régions génomiques détectées ont été localisées sur des chromosomes différents.

En somme, la présence de pères non informatifs, le nombre insuffisant de descendants par famille et la faible densité des marqueurs utilisés ont limité le pouvoir de détection de QTL pour la résistance aux strongles gastro-intestinaux chez la chèvre Créole. De plus, les positions des QTL détectés ne sont pas précises, comme le démontre des intervalles de confiances très importants. Malgré ces limites, cette étude a permis une primo-localisation de QTL de résistance aux strongles. A l'étape actuelle, cette information ne peut cependant pas être valorisée par une sélection assistée par marqueur. En effet, inclure l'information au QTL dans un schéma de sélection n'apporterait que très peu de progrès génétique supplémentaire par rapport à l'utilisation des phénotypes et du pedigree uniquement. Avec 3,9 marqueurs en moyenne par chromosome et une distance moyenne entre marqueurs de 36 cM, les QTL détectés avec ce dispositif seraient rapidement perdus par recombinaison s'ils étaient utilisés en sélection. De plus, la présence d'épistasie et d'effets environnementaux peut avoir pour effet de rendre la sélection incontrôlable. En revanche les QTL mis en évidence sont des pistes vers des gènes candidats et vers une meilleure compréhension des mécanismes de résistance.

Nous avons mis en évidence au cours de cette thèse l'influence d'un gène majeur sur le critère d'excrétion d'œufs. Ce gène n'a pas pu être localisé par la primo-détection de QTL. Plusieurs explications peuvent être avancées :

- Le gène se situe sur l'un des chromosomes qui n'a pas été couvert par le genome scan (chromosomes 25, 27, 28).
- Le gène majeur détecté est en fait la somme de plusieurs gènes d'effet moins important.
- Il existe par artéfact statistique, la méthode de détection ne permettant pas de conclure définitivement sur son existence.

La prochaine étape consiste donc en une cartographie plus fine des QTL détectés, c'est-à-dire en la réduction de la taille de l'intervalle de localisation des QTL. Le dispositif utilisé chez la chèvre Créole repose sur l'hypothèse qu'il existe un déséquilibre de liaison (DL) entre les allèles des

gènes responsables de la résistance et les marqueurs intra-famille. Il y a déséquilibre de liaison lorsqu'il y a une association non aléatoire entre les allèles de deux ou plusieurs loci. Les recombinaisons survenues pendant les méioses permettent de mesurer la distance entre les deux loci. Le nombre de recombinaisons observables est donc le facteur limitant des détections QTL et plus particulièrement de la cartographie fine. Il dépend directement de la densité des marqueurs, du nombre de descendants par famille et de l'intervalle de génération entre l'apparition de la mutation et l'observation du DL.

Augmenter le nombre de marqueurs génétiques répartis sur tout le génome est primordial pour préciser la localisation de ces QTL. Cette étude est le premier génome scan à être réalisé chezl'espèce caprine malgré la faible densité des marqueurs utilisés. Au moment de l'étude, seul le génotypage par microsatellites était disponible chez la chèvre. Or, une puce de marqueurs SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) à haute densité (60 K) sera désormais disponible pour les chèvres à partir de l'automne 2011 grâce l'identification de SNP par l'INRA à partir de séquences françaises, chinoises et hollandaises dans le cadre du consortium International Goat Genome (IGGC) (*http://www.goatgenome.org/*). Les SNP sont des polymorphismes d'une simple paire de bases du génome. Ils sont très fréquents à la fois dans des régions codantes et non-codantes. Les estimations actuelles indiquent la présence de SNP toutes les 200 paires de bases (Williams, 2005). Par contre, comme les SNP sont habituellement bialléliques, il faut alors plus de marqueurs de ce type comparativement aux marqueurs microsatellites pour avoir la même quantité d'informations. Malgré cela, leur grand nombre et les méthodes de génotypage à très haut débit confirment l'intérêt grandissant qui leur est porté en génétique animale.

L'utilisation de cette puce sur le même dispositif préalablement analysé avec l'aide de marqueurs microsatellites permettrait d'affiner la localisation des QTL déjà détectés. De plus, comme le génome sera entièrement exploré, il est à prévoir que de nouveaux QTL soient détectés. Le pouvoir de détection en utilisant cette puce SNP sera nettement supérieur à celui obtenu dans l'étude de primo-localisation.

Augmenter la taille des familles est nécessaire pour augmenter le pouvoir de détection du dispositif utilisé chez la chèvre Créole. Le nombre total d'animaux génotypés est limité par les coûts et un compromis doit être trouvé. Ce compromis dépendra directement de l'effet du QTL

attendu ainsi que de sa fréquence allélique dans la population. Ainsi, un plus grand nombre de familles et de descendants seront requis pour détecter un QTL avec un effet faible et une fréquence extrême (van der Werf *et al.,* 2007). Par exemple, 10 familles avec chacune 100 descendants seront nécessaires pour pouvoir détecter un QTL à effet large (>0,5 écart-type phénotypique). Cependant, très peu d'individus supplémentaires possèdent des phénotypes déjà mesurés dans notre dispositif et pourraient être en ce sens inclus dans les analyses. Une autre option serait d'utiliser les familles des petits-fils pour lesquels les phénotypes sont déjà acquis. Créer entièrement de nouvelles familles est difficilement envisageable chez la chèvre Créole étant donné le temps qu'il faudrait pour composer une famille importante et obtenir l'ensemble des phénotypes.

Augmenter le nombre de recombinaisons utiles à la détection de QTL peut aussi se faire par la « création » de façon expérimentale de nouveaux individus. La dissection chromosomique consiste à produire de nouvelles méioses sur plusieurs générations afin d'identifier les recombinaisons produites et de réduire progressivement la longueur de la région chromosomique d'intérêt. Malheureusement, augmenter le nombre de recombinaisons par l'ajout de descendants est une stratégie très coûteuse et n'est pas envisageable chez la plupart des espèces d'élevage (Grapes *et al.,* 2004). L'autre solution repose sur l'exploitation des recombinaisons historiques.

Tandis que l'analyse de liaison repose sur l'étude des recombinaisons intra-famille sur deux générations comme nous l'avons appliqué ici dans le cas de la chèvre Créole, l'analyse du DL (ou analyse d'association) exploite toutes les recombinaisons ayant eu lieu depuis l'apparition du gène d'intérêt sur l'ensemble de la population. Cette méthode est basée sur le principe que les régions génomiques adjacentes au(x) gènes(s) d'intérêt sont transmises de générations en générations avec le gène. Ces QTL peuvent être identifiés car les régions contiennent des marqueurs génétiques et forment des haplotypes spécifiques présents plus fréquemment chez les individus porteurs du caractère étudié.

L'étendue du DL chez l'espèce étudiée est importante puisqu'elle déterminera le potentiel à détecter des QTL et surtout la densité des marqueurs requise (van der Werf *et al.,* 2007). Récemment, des études ont estimé le DL chez des populations bovines (Farnir *et al.,* 2000; Tenesa *et al.,* 2003) et ovines (McRae *et al.,* 2002) démontrant l'existence de DL sur des

distances importantes (>30 cM). Contrairement à l'homme où une puce de quelques 500 000 SNP serait nécessaire pour détecter des QTL puisque le DL est estimé sur une distance moyenne de 3 kb (Farnir *et al.,* 2000), chez les espèces d'élevage, le DL pourrait être utilisé pour la cartographie fine de QTL avec les marqueurs génétiques actuellement disponibles. On peut donc émettre l'hypothèse que le DL disponible chez la chèvre Créole s'étend sur une distance comparable au mouton et donc l'utilisation de la puce SNP 60 K permettrait d'identifier les QTL et d'affiner leur localisation.

De plus, l'avantage de cette méthode est qu'elle ne requiert pas de population structurée, contrairement au dispositif utilisé chez la chèvre Créole. L'analyse d'association est réalisée sur les individus non apparentés au niveau de la population entière. Par contre, la structure génétique de la population doit être prise en compte dans l'analyse pour minimiser les risques de type I. En effet, plusieurs phénomènes (sélection, mélange récent de deux populations, population de taille réduite) peuvent conduire à créer du DL entre loci qui ne sont pas véritablement en association.

Une autre approche combinée utilisant à la fois l'information provenant de l'analyse de liaison et l'information du DL, nommée LDLA (Linkage disequilibrium Linkage analysis) pourrait être mise en place. Une approche proposée par Meuwissen et Goddard (2000) se base sur la prédiction d'une matrice de probabilité IBD (Identify by Descent) entre tous les haplotypes des animaux à la position du QTL. En utilisant cette matrice comme une matrice de corrélation entre les haplotypes, les variances associées au QTL et la vraisemblance peuvent être estimées en utilisant l'estimation des composantes de la variance par REML. La vraisemblance est maximisée sur les différentes positions du QTL afin de trouver le maximum de vraisemblance pour la position la plus probable du QTL. La matrice des probabilités IBD est prédite en utilisant les allèles aux marqueurs dans la région près du QTL (information du DL) ainsi qu'en utilisant les recombinaisons survenues dans les haplotypes des animaux génotypés et phénotypés (information de l'analyse de liaison).

Cette méthode a été utilisée avec succès chez le bovin sur un caractère affectant la composition du lait (Riquet *et al.,* 1999, Farnir *et al.,* 2002) ou sur le taux de gémellité (Meuwissen *et al.,* 2002). Appliquée chez la chèvre Créole, cette méthode pourrait permettre de réelles avancées sur la localisation des gènes responsables de la résistance aux strongles gastro-intestinaux.

Quelles hypothèses peut-on émettre sur les mécanismes responsables de la résistance aux strongles gastro-intestinaux chez la chèvre Créole ?

Au cours de cette thèse, certains mécanismes responsables de la résistance aux strongles ont pu être observés chez des chevreaux infestés artificiellement par *H. contortus* (publication n°5) puis analysés via la variabilité génétique des immunoglobulines A et E sur des chevreaux infestés naturellement au pâturage (publication n°2).

La réponse humorale a été corrélée positivement avec le niveau d'infestation des animaux (publication n°5). Par contre, aucune différence significative n'a été observée entre animaux résistants et sensibles. Le faible nombre d'animaux dans chacun des groupes pourrait expliquer ce résultat. Cette étude a mis en évidence une augmentation des éosinophiles circulants après infestation, suggérant que les éosinophiles jouent un rôle important dans la mise en place de la résistance. L'ensemble des résultats de cette première étude incite à mesurer la réponse humorale locale dans la muqueuse gastro-intestinale, lieu de la mise en place de la réponse immunitaire effectrice.

Au pâturage, les immunoglobulines A contre *H. contortus* ne semblent pas impliquées dans la réponse immuniatire protectrice, mais seraient plutôt des marqueurs du niveau d'infestation (publication n°2). Cette deuxième étude a permis de mettre en évidence deux mécanismes immunitaires impliqués dans la résistance aux strongles gastro-intestinaux chez la chèvre créole. Le rôle des éosinophiles sur la résistance semble se confirmer au pâturage. Les animaux résistants et excrétant peu d'œufs ont plus d'éosinophiles circulants, suggérant ainsi que ces cellules du système immunitaire sont impliquées dans un mécanisme induisant une réaction protectrice vis-à-vis des strongles. De plus, il semblerait que cette réaction soit plus orientée vers les stades larvaires que les adultes d'*H. contortus.* L'autre mécanisme immunitaire mis en évidence serait indépendant génétiquement de celui impliquant les éosinophiles. L'activité des immunoglobulines E serait efficace pour contrôler la population parasitaire en réduisant l'excrétion d'œufs sur le pâturage. Comme les éosinophiles, le rôle des ces immunoglobulines serait orienté contre les larves L3. De plus, ces deux réactions immunitaires protectrices ne semblent pas pathogènes pour l'hôte. La mise en place de la résistance ne se ferait pas au dépend de la croissance de l'animal. Il n'y aurait

donc pas de compétition pour l'allocation des ressources alimentaires entre l'immunité et la croissance.

Ces premières hypothèses émises sur les mécanismes immunitaires responsables de la résistance aux strongles gastro-intestinaux tendent à confirmer la différence entres les mécanismes ovins et caprins. En effet, la réponse immunitaire de la chèvre, orientée plutôt vers les stades larvaires, serait plus simple que les mécanismes ovins, dirigés plutôt vers les stades adultes. Le contact des parasites avec les chèvres serait plus récent que les moutons, de part leur comportement alimentaire de cueilleur et la réponse immunitaire développée serait donc ciblée sur les premiers stades parasitaires en contact avec l'hôte. L'absence de mécanismes plus complexes dirigés vers les stades adultes pourrait expliquer la relative susceptibilité des chèvres par rapport aux moutons.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Au cours de cette thèse, il a été démontré que la résistance aux strongles gastro-intestinaux est sous contrôle génétique chez la population de chèvres Créoles. Les critères d'excrétion d'œufs et d'éosinophilie sont les critères de résistance les plus adaptés pour la sélection de la résistance dans le schéma d'amélioration de la chèvre Créole. Le critère de PCV est considéré comme un critère de résilience. Par contre, inclure le critère d'éosinophilie ou le PCV en plus du critère d'OPG dans le schéma de sélection n'apporterait pas de gain significatif sur le progrès génétique attendu pour l'OPG. La suite des analyses devra se concentrer à modéliser les effets directs maternels dans les modèles de régression aléatoire pour les prendre en compte au début de la période post-sevrage notamment. Afin de compléter ces résultats, il serait également intéressant d'appliquer cette méthodologie à la mesure d'éosinophilie pour laquelle nous disposons d'une base de données conséquente.

Notre travail a permis de mettre en évidence l'influence d'un gène majeur sur le critère d'excrétion d'œufs. Ce gène n'a pas pu être localisé par l'étude de détection de QTL. Cependant, nous avons identifié 13 régions du génome affectant la résistance aux strongles gastro-intestinaux. Après étude des différentes options possibles, la localisation plus fine des QTL chez la chèvre Créole sera réalisée en utilisant le DL sur des lignées divergentes en cours de sélection dans le troupeau expérimental de chèvres Créoles de l'INRA. Environ 300 chevreaux divergents seront produits en trois cohortes, issus de 4 pères et 150 mères extrêmes en 2011. La divergence entre les chevreaux résistants et sensibles sera de l'ordre de 1 σ_g d'après nos prédictions. Les données seront analysées en déséquilibre de liaison avec une approche cas/témoin (Hästbacka *et al.,* 1992). La structure de la population sera introduite dans l'analyse en utilisant une matrice moléculaire (modèle LDLA). Quelques simulations utilisant le logiciel CaTS (Skol and Abecasis, 2006) nous permettent de prévoir une puissance au moins égale à 92 % pour la détection d'un gène d'effet modéré dans le cadre d'un dispositif cas/témoin (rapport de 5 dans l'intensité de l'infestation entre des chevreaux sensibles et des résistants, rapport minimum attendu au vu de la divergence entre nos lignées sélectionnées). Le rapprochement entre les résultats obtenus dans l'étude familiale et dans l'étude cas/témoins permettra une validation de certains QTL.

Ce travail de thèse a permis également d'avancer des hypothèses sur les mécanismes immunitaires de la résistance. L'activité des éosinophiles et des IgE contre les larves L3 *d'H. contortus* serait impliquée dans des mécanismes responsables du développement de la résistance chez la population de chèvres Créoles. Les recherches futures devront se concentrer sur les réponses humorales et cellulaires au niveau des tissus cibles (caillette, intestin). De plus, il serait intéressant d'utiliser des techniques histopathologiques pour analyser plus finement la réaction immunitaire dans les muqueuses au contact direct avec le parasite. La création de lignées divergentes fournira également des chevreaux plus extrêmes génétiquement et l'étude des mécanismes immunitaires sur ces animaux permettra de vérifier les premières hypothèses émises dans cette thèse.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AGRESTE. (2006). Effectifs animaux. http://www.agreste.agriculture.gouv.fr/region_5/; site consulté le 20 octobre 2009.

Alexandre G., Aumont G., Fleury J., Coppry O., Mulciba P., Nepos A., 1997. Semi intensive production of meat goats in a tropical area - The case of Creole goats grazing on Digitaria decumbens in Guadeloupe. Inra Productions Animales 10, 43-53.

Alexandre G., Ribal-Rilos M., Naves M., Mandonnet N., 2008. Le choix de la race pour les systèmes de production caprine en Guadeloupe, entre question technique et débat sociétal. Ethnozootechnie 85, 111-124.

Aumont G., Pouillot R., Simon R., Hostache G., Varo H., Barre N., 1997. Digestive parasitism of small ruminants in the French West Indies. Inra Productions Animales 10, 79-89.

Bambou J.C., de la Chevrotiere C., Varo H., Arquet R., Kooyman F.N.J., Mandonnet N., 2008. Serum antibody responses in Creole kids experimentally infected with *Haemonchus contortus*. Veterinary Parasitology 158, 311-318.

Basset C., Holton J., O'Mahony R., Roitt I., 2003. Innate immunity and pathogen-host interaction. Vaccine 2, 12-23.

Bastien O., Kerboeuf D., Leimbacher F., Gevrey J., Nicolas J.A., 1991. Recherche des causes d'échec thérapeutiques dans la lutte contre les strongyloses gastro-intestinales des ovins Martinique. Revue d'élevage et de médicine vétérinaire des pays tropicaux, *numéro spécial*, 117-121.

Baudron F., 2001. Étude de la variabilité de la sensibilité des chèvres Créoles aux strongles gastro-intestinaux autour de la mise bas: une voie de maîtrise génétique du parasitisme gastro-intestinal. Diplôme d'Agronomie Approfondie, Institut National Agronomique de Paris Grignon, Paris.

Blaes J.-L., Mandonnet N., Arquet R. and Mahieu M., 2010. *A long term experiment of integrated control of nematode parasitism in Creole goats.* Proceedings of SAPT2010 Conference, Advances in Animal Biosciences 1, 413-414.

Chandrawathani P., Jamnah O., Waller P.J., Hoglund J., Larsen M., Zahari W.M., 2002. Nematophagous fungi as a biological control agent for nematode parasites of small ruminants in Malaysia: a special emphasis on *Duddingtonia flagrans*.Veterinary Research 33, 685-696.

Chermette R., 1981. Les helminthes du mouton et leur rôle pathogène. Le Point Veterinaire 12, 11-44.

d'Alexis S., Loranger-Merciris G., Mahieu M., Boval M., 2009. Influence of earthworms on development of the free-living stages of gastrointestinal nematodes in goat faeces. Veterinary Parasitology 163, 171-174.

Delgado C., Rosegrant M., Steinfeld H., Ehui S., Courbois C., 1999. Livestock to 2020: The next food revolution (Washington:International Food Policy Research Institute).

Dumas E., 2007. Interaction du niveau de complémentation avec le niveau d'infestation par Haemonchus contortus chez des chevrettes Créoles en croissance. Rapport de stage C.E.A.V. Pathologies Animales en Régions Chaudes. École Nationale Vétérinaire de Toulouse, Toulouse.

Falconer D.S., Mackay T.F.C., 1996. Introduction to quantitative genetics (Essex:Longman).

FAO Statistics Division. http://www.fao.org/statistics/; site consulté le 22 octobre 2009.

Farnir F., Coppieters W., Arranz J.J., Berzi P., Cambisano N., Grisart B., Karim L., Marcq F., Moreau L., Mni M., Nezer C., Simon P., Vanmanshoven P., Wagenaar D., Georges M., 2000. Extensive genome-wide linkage disequilibrium in cattle. Genome Research 10, 220-227.

Farnir F., Grisart B., Coppieters W., Riquet J., Berzi P., Cambisano N., Karim L., Mni M., Moisio S., Simon P., Wagenaar D., Vilkki J., Georges M., 2002.Simultaneous mining of linkage and linkage disequilibrium to fine map quantitative trait loci in outbred half-sib pedigrees: revisiting the location of a quantitative trait loci with major effect on milk production on bovine chromosome 14. Genetics 161, 275–287.

Galal S., Boyazoglu J., Hammond K., 2000. Developing breeding strategies for lower input animal production environments. ICAR Technical Series 3, 570.

Gause W.C., Urban J.F., Stadecker M.J., 2003. The immune response to parasitic helminths: insights from murine models. Trends in Immunology 24, 269-277.

Genin D., 2006. Croissance démographique : quels impacts sur le développement durable. http://www.pro-environnement.com/publications/vertitude-magazine/; site consulté le 25 octobre 2007.

GIEC Climate Change 2007: Climate Change Impacts, Adaptations and Vulnerability, IPCC Working Group II, Cambridge University Press, Cambridge, England.

Gill H.S., Altmann K., Cross M.L., Husband A.J., 2000. Induction of T helper-1 and T helper 2-type immune responses during *Haemonchus contortus* infection in sheep. Immunology 99, 458-456.

Grapes L., Dekkers J.C.M., Rothschild M.F., Fernando R.L., 2004. Comparing linkage disequilibrium-based methods for fine mapping Quantitative Trait Loci. Genetics 166, 1561–1570

Gruner L., 1985. Control of gastrointestinal strongyles in sheep and goats in the French West Indies: development of benzimidazole resistance and the benefit of pasture management. Revue d'élevage et de médicine vétérinaire des pays tropicaux 38, 386-393.

Gruner L., Mandonnet N., Bouix J., Vu Thien Khang J., Cabaret J., Hoste H., Kerboeuf D., Barnouin J., 1994. Worm population characteristics and pathological changes in lambs after a single or trickle infection with *Teladorsagia circumcincta*. International Journal of Parasitology 24, 347-356.

Gunia M., Mandonnet N., Arquet R., de la Chevrotière C., Naves M., Mahieu M., Alexandre G., 2010. Production systems of Creole goat and their implications for a breeding programme. Animal 4, 2099-2105.

Hästbacka J., de la Chapelle A., Kaitila I., Sistonen P., Weaver A., Lander E., 1992. Linkage disequilibrium mapping in isolated founder populations : diastrophic dysplasia in Finland. Nature Genetics 2, 204-211.

Hoch T., Pradel P., Agabriel, J., 2004. Modélisation de la croissance de bovins: évolution des modèles et applications. INRA Productions Animales 17, 303-314.

Jacquiet P., Cabaret J., Thiam E., Cheikh D., 1998. Host range and the maintenance of Haemonchus spp. in an adverse arid climate. International Journal of Parasitology 28, 253-261.

Janeway C.A.Jr., 2001. How the immune system works to protect the host from infection: a personal view. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 98, 7461-7468.

Kahn L.P., 2003. Regulation of the resistance and resilience of periparturient ewes to infection with gastro-intestinal nematode parasites by dietary supplementation. Australian Journal of Experimentation Agriculture 43, 1477-1485.

Kosgey I.S., Baker R.L., Udo H.M.J., Van Arendonk J.A.M., 2006. Successes and failures of small ruminant breeding programmes in the tropics: a review. Small Ruminant Research 61, 13–28.

Lebbie S.H.B., 2004. Goats under household conditions. Small Ruminant Research 51, 131–136.

Leimbacher F., Mahieu M., Mandonnet N., 2002. Développer des méthodes de lutte alternatives contre les parasites internes des petits ruminants:une nécessité pour l'élevage. In : Résultats de recherches pour une agriculture durable en Martinique. Les Cahiers du PRAM no 2. (Martinique: Pôle de recherche Agronomique de la Martinique). pp.51-56.

Liméa L., Boval M., Mandonnet N., Garcia G., Archimède H., Alexandre G., 2009. Growth performances, carcass quality and non-carcass components of indigenous Caribbean goats under varying nutritional densities. Journal of Animal Science 87, 3770-378.

Mahieu M., Aumont G., Michaux Y., Alexandre G., Archimede H., Boval M., Theriez M., 1997. Mixed grazing sheep/cattle on irrigated pastures in Martinique (FWI). Inra Productions Animales 10, 55-65.

Mahieu M., Arquet R., Kandassamy T.; Mandonnet N., Hoste H., 2007. Evaluation of targeted drenching using Famacha © method in Creole goat: reduction of anthelmintic use, and effects on kid production and pasture contamination. Veterinary Parasitology 146, 135-147.

Mandonnet N., 1995. Analyse de la variabilité génétique de la résistance aux strongles gastro-intestinaux chez les petits ruminants: éléments pour la définition d'objectifs et de critères de sélection en milieu tempéré ou tropical. Thèse de doctorat, Université Paris-Sud, U.F.R. Scientificque d'Orsay, Orsay.

Mandonnet N., Aumont G., Fleury J., Arquet R., Varo H., Gruner L., Bouix J., Khang J.V.T., 2001. Assessment of genetic variability of resistance to gastrointestinal nematode parasites in Creole goats in the humid tropics. Journal of Animal Science 79, 1706-1712.

Mandonnet N., Ducrocq V., Arquet R., Aumont G., 2003. Mortality of Creole kids during infection with gastrointestinal strongyles: A survival analysis. Journal of Animal Science 81, 2401-2408.

Mandonnet N., Bachand A., Mahieu A., Arquet R., Baudron F., Abinne-Molza L., Varo H., Aumont G., 2005. Impact on productivity of peri-parturient rise in fecal egg counts in Creole goats in the humid tropic. Veterinary Parasitology 134, 249-259.

Mandonnet N., Menendez-Buxadera A., Arquet R., Mahieu M., Bachand M., Aumont G., 2006. Genetic variability in resistance to gastro-intestintal strongyles during early lactation in Creole goats. Animal Science 82, 283–287.

Mandonnet N., 2009. Adaptation des populations animales aux systèmes d'élevage tropicaux. Analyser la variabilité génétique en vue de sélectionner et de comprendre les gènes et mécanismes impliqués. Habilitation à Diriger des Recherches, Université de Antilles et de la Guyane, Guadeloupe.

McRae A.F., McEwan J.C., Dodds K.G., Wilson T., Crawford A.M., Slate J., 2002. Linkage disequilibrium in domestic sheep. Genetics 160, 1113–1122.

Menendez-Buxadera A., Mandonnet N. (2006). The importance of the genotype*environment interaction for selection and breeding programmes in tropical conditions, CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, *26*, 14 pp.

Meuwissen T., Goddard M., 2000. Fine mapping of quantitative trait loci using linkage disequilibria with closely linked marker loci. Genetics 155, 421–430.

Meuwissen T.H.E., Karlsen A., Lien S., Olsaker I., Goddard M.E., 2002. Fine mapping of a quantitative trait locu for twinning rate using combined linkage and linkage disequilibrium mapping. Genetics 161, 373–379.

Moncada D.M., Kammanadiminti S.J., Chadee K., 2003. Mucin and Toll-like receptors in host defense against intestinal parasites.Trends in Parasitology 19, 305-311.

Mulcahy G., O'Neill S., Donnelly S., Dalton J.P., 2004. Helminths at mucosal barriers-interaction with the immune system. Advanced Drug Delivery Reviews 56, 853-868.

Naves M., Alexandre G., Leimbacher F., Mandonnet N., Menendez-Buxadera A., 2001. Les ruminants domestiques de la Caraïbe: le point sur les ressources génétiques et leur exploitation. Inra Productions Animales 14, 181-192.

Neurath F.M, Finotto S., Glimcher L.H., 2002. The role of Th1/Th2 polarization in mucosal immunity. Nature medicine 8, 567-573.

Peña M.T., Miller J.E., Horohov D.W., 2006. Effect of $CD4^+$ T lymphocyte depletion on resistance of Gulf Coast Native lambs to *Haemonchus contortus* infection. Veterinary Parasitology 138, 240-246.

Pernthaner A., Cole S.A., Morrison L., Hein W.R., 2005. Increased Expression of Interleukin-5 (IL-5), and Tumor Necrosis Factor Alpha Genes in intestinal lymph cells of sheep selected of enhanced resistance to nematodes during infection with *Trichostrongylus colubriformis*. Infection and Immunity 73, 2175-2183.

Pépin L., 1994. Recherche de polymorphisme génétique chez les caprins. Application à l'étude de la diversité des populations, au contrôle de filiation et à la résistance génétique à la cowdriose. Thèse de doctorat. Université Paris-Sud, Orsay.

Riquet J., Coppieters W., Cambisano N., Arranz J.J., Berzi P., Davis S.K., Grisart B., Farnir F., Karim L. Mni M., Simon P., Taylor J.F., Vanmanshoven P., Wagenaar D., Womack J.E., Georges M., 1999. Fine-mapping of quantitative trait loci by identify by descent in outbred populations : Application to milk production in dairy cattle. Proceedings of the National Academy of Sciences 96, 9952-9957.

Rutten M.J.M., Bijma P., Woolliams J.A., van Arendonk J.A.M., 2002. SelAction: Software to predict selection response and rate of inbreeding in livestock breeding programs. Journal of Heredity 93, 456-458.

Skol A.D., Scot L.J., Abecasis G.R. Boehnke M., 2006. Joint analysis is more efficient than replication-based analysis for two-stage genome-wide association studies. Nature Genetics 38, 209 – 213.

Smith W.D., Zarlenga D.S., 2006. Developments and hurdles in generating vaccines for controlling helminth parasites of grazing ruminants. Veterinary Parasitology 139, 347-359.

Sourdioux M., Lagarrigue S., Douaire M., 1997. Analyse génétique d'un caractère quantitatif. INRA Productions. Animales 10, 251-258.

Stear M.J., Strain S., Bishop S.C., 1999. Mechanisms underlying resistance to nematode infection. International Journal of Parasitology 29, 51-56.

Tenesa A., S. A. Knott D. Ward D. Smith J. L. Williams et al., 2003 Estimation of linkage disequilibrium in a sample of the United Kingdom dairy cattle population using unphased genotypes. J. Anim. Sci. 81: 617–623.

Van der Werf J.H.J., Marshall K., Sanghong L., 2007. Methods and experimental designs for detection of QTL in sheep and goats. Small Ruminant Research 70, 21–31.

Waller P.J., 1999. International approaches to the concept of integrated control of nematode parasites of livestock. International Journal of Parasitology 29, 155-164.

Williams J.L., 2005. The use of marker-assisted selection in animal breeding and biotechnology. Revue scientifique et technique - Office international des épizooties 24, 379-391.

Wilson P.N., 1998. Adaptation of livestock to tropical environments. In: Agriculture in the Tropics by Webster, C.C. and Wilson, P.N.(Eds), pp. 371-390.