

# DETECTION DE QTL AVEC LA PUCE *PorcineSNP60* POUR DES INDICATEURS DE LA QUALITE TECHNOLOGIQUE DE LA VIANDE DANS UNE POPULATION LARGE WHITE

SANCHEZ M.P.<sup>1</sup>, TRIBOUT T.<sup>1</sup>, IANNUCELLI N.<sup>2</sup>, BOUFFAUD M.<sup>3</sup>, SERVIN B.<sup>2</sup>, DEHAIS P.<sup>2</sup>, MULLER N.<sup>3</sup>, MERCAT M.J.<sup>4</sup>, ESTELLE J.<sup>1</sup>, BIDANEL J.P.<sup>1</sup>, ROGEL-GAILLARD C.<sup>1</sup>, MILAN D.<sup>2</sup>, GILBERT H.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR1313 GABI, F-78350 Jouy-en-Josas, <sup>2</sup>INRA, UMR444 LGC, F-31326 Castanet-Tolosan, <sup>3</sup>INRA, UE450 Testage Porcs, F-35651 Le Rheu ; <sup>4</sup>IFIP, Pôle génétique, F-35651 Le Rheu

**Abstract: Detecting QTL of ham technological quality in Large White pigs with the *PorcineSNP60* Beadchip**

A total of 389 French Large White pigs (106 sire families) were controlled for ultimate pH of *semimembranosus* muscle, L\* a\* b\* Minolta values and water holding capacity of *gluteus superficialis* muscle, and a meat quality index was computed. Pigs were genotyped using the *PorcineSNP60* Beadchip containing 64,432 SNP (Single Nucleotide Polymorphism) markers. A genome-wide association study (GWAS) was then performed with the FASTA method. Thirty-three significant SNP effects ( $P < 10^{-4}$ ) were identified on chromosomes (SSC) 1, 3, 4, 7, 8, 9, 13 and 14. Further haplotypic analyses revealed a 6-SNP region (183kb) on SSC1 with 3 major haplotypes having favourable (ACTCTA, 57%), intermediate (GTCTCC, 19%) and unfavourable (ACTTTC, 24%) effects on meat quality. Complementary analyses showed that these haplotypes did not affect growth rate or body composition of the pigs. Further investigations are required but these results are of potential interest to improve technological meat quality.

## Introduction

De nombreux locus à effets quantitatifs (QTL) ont été détectés à l'aide de marqueurs microsatellites chez le porc (<http://www.animalgenome.org/QTLdb/pig.html>; Hu *et al.*, 2007). Cependant, à cause de la faible densité de ce type de marqueurs (un microsatellite tous les 10-30 Mb sur le génome porcin), c'est essentiellement l'information de liaison intra-famille due à la ségrégation sur une génération qui a permis de détecter des associations marqueur-caractère. Ces résultats intra-famille sont difficiles à utiliser dans les programmes d'amélioration génétique du porc. Avec les progrès du séquençage des génomes, des marqueurs beaucoup plus densément répartis sur le génome et correspondant à la variation d'un seul nucléotide (SNP pour Single Nucleotide Polymorphism) ont été développés. La puce *PorcineSNP60* disponible depuis 2009 (Ramos *et al.*, 2009) renferme 64 432 SNP, soit un SNP tous les 50kb en moyenne. Avec un tel outil, la distance entre les mutations responsables des effets observés et les marqueurs anonymes permet de détecter des SNP associés à la variabilité des caractères quantitatifs non plus intra-famille mais intra-population. Les résultats obtenus dans les populations commerciales peuvent donc ensuite être directement utilisés en sélection. A ce jour, quelques analyses d'association à l'échelle du génome ont été publiées chez le porc mais à notre connaissance, aucune ne portait sur l'analyse de caractères de qualité de viande. Nous rapportons ici les résultats d'une étude réalisée dans une population Large White (LW) française pour 6 indicateurs de la qualité technologique du jambon.

## Matériel et méthodes

**Animaux et performances.** Un total de 389 mâles castrés LW, issus de 106 verrats, a été contrôlé dans l'unité expérimentale INRA de testage des porcs (UETP, Le Rheu, Ille et Vilaine). Les porcs ont été abattus dans un abattoir commercial à environ 110kg de poids vif. Plusieurs critères de la qualité technologique du jambon ont été mesurés 24h après l'abattage : le pH du muscle demi-membraneux (PHDM), les coordonnées L\*, a\* et b\* (système CIELAB, Minolta) et le temps d'imbibition d'un morceau de papier pH sur le muscle fessier superficiel (LFS, AFS, BFS et IMBFS, respectivement). Un indice de qualité de viande (IQV) a été calculé pour prédire le rendement technologique du jambon selon l'équation (ITP, 1993):  $IQV = 34 + (11,04 \times PHDM) + (0,105 \times IMBFS) - (0,231 \times LFS)$ .

**Génotypages et contrôle qualité.** Les 389 castrats et leurs 106 pères ont été génotypés pour la puce *PorcineSNP60* (Illumina, 64 432 SNP) au Centre National de Génotypage (Evry, Essonne). La carte physique la plus complète disponible à ce jour (*Sus Scrofa* Build 10.2) a été utilisée. Les SNP génotypés sur moins de 97% des animaux, avec une fréquence de l'allèle rare (MAF) inférieure à 5% et dont les fréquences génotypiques s'éloignaient significativement de l'équilibre de Hardy-Weinberg ( $P > 10^{-5}$ ) ont été éliminés (fonction check.marker, package R GenABEL ; Aulchenko *et al.*, 2007). Au total, 44 412 SNP ont ainsi été inclus dans les analyses, soit 15 SNP par mégabase (Mb) en moyenne.

**Analyses statistiques.** Les performances des 389 animaux LW et de 2890 contemporains (4 races - UETP et station de Mauron, Morbihan) ont été considérées pour corriger les données pour les effets de milieu. Tous les caractères ont été corrigés pour les effets fixés de la race, de la combinaison année de contrôle - station de contrôle - date d'abattage, ainsi que pour la covariable poids de l'animal à l'abattage intra race (procédure GLM, SAS). Les analyses d'association ont été réalisées avec le package R GenABEL (Aulchenko *et al.*, 2007). Pour chaque caractère, l'effet individuel du SNP et l'effet polygénique (effet aléatoire avec une matrice de variance-covariance structurée selon la matrice de parenté

génomique) ont été estimés conjointement avec la méthode FASTA (Chen *et al.*, 2007). Des analyses par haplotype ont ensuite été réalisées dans les régions présentant des effets significatifs. Les blocs haplotypiques ont été reconstitués avec le logiciel Haploview (V4.2 ; Barret *et al.*, 2005) et leur effet a été testé avec un modèle mixte (procédure Mixed, SAS) incluant un effet aléatoire du père et une régression multiple sur les haplotypes de la région.

## Résultats et discussion

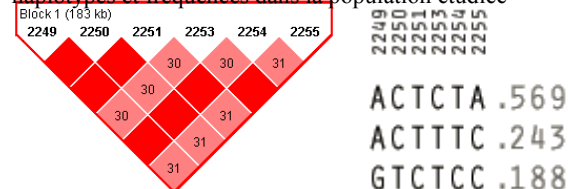
Afin de limiter le nombre de résultats faux-positifs dû à la multiplicité des tests (44 412 SNP x 6 caractères), nous avons ajusté le seuil de signification (« p-value ») pour le nombre de tests indépendants. Pour cela, nous avons considéré que 2 SNP distants de plus d'une Mb étaient indépendants et que, compte tenu de leurs corrélations, les 6 caractères analysés correspondaient à 4 caractères indépendants. Nous avons donc choisi de ne conserver que les résultats avec une p-value < 10<sup>-4</sup> (valeur correspondant à un faux-positif à l'échelle de notre analyse). Nous avons ainsi obtenu 33 résultats significatifs sur les chromosomes (SSC) 1, 3, 4, 7, 8, 9, 13 et 14. Parmi ces régions, 5 ont été sélectionnées pour des analyses haplotypiques car elles présentaient plusieurs SNP avec des résultats significatifs (tableau 1). Les QTL mis en évidence sur SSC1a et SSC9 avec des effets respectifs sur BFS et LFS n'avaient jamais été décrits auparavant.

**Tableau 1.** Régions QTL décrites par les SNP significatifs (p-value < 10<sup>-4</sup>) et effets alléliques correspondant en unités d'écart-type (a)

| SSC | Nombre de résultats significatifs | Taille région (kb) | Caractères    | a (min - max) | p-value (min - max)                     |
|-----|-----------------------------------|--------------------|---------------|---------------|-----------------------------------------|
| 1a  | 3                                 | 13                 | BFS           | 0,33 - 0,35   | 6.10 <sup>-6</sup> - 2.10 <sup>-5</sup> |
| 1b  | 3                                 | 27                 | PHDM, IQV     | 0,31 - 0,32   | 8.10 <sup>-5</sup> - 2.10 <sup>-5</sup> |
| 1c  | 10                                | 183                | BFS, LFS, IQV | 0,32 - 0,49   | 2.10 <sup>-6</sup> - 1.10 <sup>-4</sup> |
| 4   | 4                                 | 1 288              | AFS           | 0,30 - 0,37   | 4.10 <sup>-5</sup> - 5.10 <sup>-5</sup> |
| 9   | 6                                 | 401                | LFS           | 0,30 - 0,37   | 1.10 <sup>-6</sup> - 7.10 <sup>-5</sup> |

Sur **SSC1c**, région dans laquelle le plus grand nombre d'effets significatifs a été retrouvé (10 combinaisons SNP x caractère avec 6 SNP différents), un bloc haplotypique contenant 6 SNP en fort déséquilibre de liaison a pu être reconstitué et 3 haplotypes distincts ont été retrouvés dans la population LW étudiée (figure 1). L'effet global de la région est significatif sur l'ensemble des caractères analysés (tableau 2). L'haplotype le plus fréquent (ACTCTA) est associé à une viande de meilleure qualité avec des plus fortes valeurs d'IMBFS et d'IQV par rapport à la moyenne de la population ; l'haplotype ACTTTC a un effet légèrement défavorable sur IMBFS (-8s par rapport à la moyenne) ; enfin, l'haplotype GTCTCC a un effet défavorable sur l'ensemble des caractères, sauf sur IMBFS (effet intermédiaire). Aucun effet significatif n'a été mis en évidence pour ces haplotypes sur des caractères de croissance, d'ingestion, d'efficacité alimentaire et de composition de carcasse (Sanchez *et al.*, 2012).

**Figure 1.** SSC1c : bloc haplotypique avec les valeurs du déséquilibre de liaison (r<sup>2</sup>) entre les SNP (carré rouge, r<sup>2</sup>=1), haplotypes et fréquences dans la population étudiée



**Tableau 2.** Effets des haplotypes

| Caractère | Ecart-type | p-value  | Effets en unités d'écart-type |         |          |
|-----------|------------|----------|-------------------------------|---------|----------|
|           |            |          | ACTCTA                        | ACTTTC  | GTCTCC   |
| PHDM      | 0,15       | 0,0007   | 0,16 a                        | 0,03 a  | -0,19 b  |
| LFS       | 3,49       | < 0,0001 | -0,16 a                       | -0,14 a | 0,30 b   |
| AFS       | 1,54       | 0,0252   | -0,13 a                       | 0,04 ab | 0,09 b   |
| BFS       | 1,43       | < 0,0001 | -0,18 a                       | -0,13 a | 0,31 b   |
| IMBFS (s) | 59,6       | 0,0113   | 0,14 a                        | -0,13 b | -0,02 ab |
| IQV (%)   | 2,45       | < 0,0001 | 0,20 a                        | 0,03 a  | -0,23 b  |

<sup>1</sup> Pour un même caractère, les effets avec des lettres différentes (a ou b) sont significativement différents pour une erreur de 1<sup>ère</sup> espèce de 0.05

Ces résultats sont très prometteurs. En effet, notre étude a été réalisée sur une population représentative de la population LW française et un grand nombre de caractères a été contrôlé. Néanmoins, avant de pouvoir envisager la sélection des haplotypes favorables en race LW, il faut s'assurer qu'il n'existe pas d'autres haplotypes sur un échantillon d'animaux plus grand et vérifier les effets de ces haplotypes sur d'autres caractères (reproduction par exemple).

## Conclusion

Grâce à l'utilisation de la puce *porcineSNP60*, nous avons confirmé l'existence de plusieurs QTL et surtout, mis en évidence de nouveaux QTL pour plusieurs indicateurs de la qualité technologique du jambon dans la population LW française. Dans ces régions, une densification en marqueurs voire un séquençage, combiné à l'analyse de paramètres liés au métabolisme énergétique du muscle, pourraient permettre d'identifier des variants candidats. Cette première analyse permet d'envisager dès à présent la sélection des haplotypes favorables dans le but d'améliorer la qualité technologique de la viande chez le porc LW.

Cette étude a été financée par l'ANR et BLOPORC (Projets DELISUS ANR-07-GANI-001 et IMMOPIG ANR-06-GANI-008)

- Aulchenko Y.S., de Koning D.J., Haley C., 2007. *Genetics*, 177, 577-585.  
 Barrett J.C., Fry B., Maller J., Daly M.J., 2005. *Bioinformatics*, 21, 263-265.  
 Chen W.M., Abecassis G.R., 2007. *Am. J. Hum. Genet.*, 81, 913-926.  
 Hu Z.L., Fritz E.R., Reecy J.M., 2007. *Nucleic Acids Research*, 35, 604-609.  
 Ramos A.M., Crooijmans R.P., Affara N.A., Amaral A.J., Archibald A.L., Beever J.E. et al., 2009. *PLoS One* 4, e6524.  
 Sanchez M.P., Tribout T., Iannuccelli N., Bouffaud M., Servin B., Dehais P., Muller N., Mercat M.J., Estelle J., Bidanel J.P., Rogel-Gaillard C., Milan D., Gilbert H., 2012. *J. Rech. Porcine*, 44, 7-12.