



# Utilisation pratique à court terme de la connaissance du génome dans l'amélioration génétique porcine française

Ronan GUÉBLEZ  
Marie-Yvonne BOSCHER  
Pascale LE ROY

**D**epuis la publication des premières cartes génétiques chez le porc en 1994 et 1995, la connaissance du génome de cette espèce s'est accélérée : le génome est désormais quadrillé par plus de 1000 marqueurs de diverses natures, pour lesquels des méthodes de typage sont disponibles de manière effective ou potentielle. Les perspectives d'utilisation de ces nouveaux outils se rapprochent donc et doivent être envisagées de manière concrète.

Dans le cadre de son encadrement technique des Livres Généalogiques Porcins Collectifs, l'ITP, en collaboration avec l'INRA, s'est impliqué dans deux actions qui vont déboucher dans le courant de l'année 1999 et que nous allons présenter dans les lignes qui suivent :

- le contrôle de la filiation
- la recherche de gènes à effets quantitatifs.

Cet article reprend une communication présentée lors d'un forum "Biotechnologies" organisé par l'Organisation de Sélection Porcine NUCLEUS à Rennes le 18 novembre 1998.

## Mise au point de méthodes de contrôle de filiation en routine dans les populations Large White, Landrace Français et Pietrain.

### Principe du contrôle de filiation

La vérification de l'identification d'un animal, par contrôle de filiation ou de paternité, se base sur des systèmes génétiques choisis selon toute une série de critères : les systèmes utilisés doivent être suffisamment polymorphes et hérités simplement selon les lois de Mendel, détectables dès la naissance et stables tout au long de la vie, enfin faciles à mettre en évidence par un test simple et automatisable.

Le contrôle de filiation était basé jusqu'ici essentiellement sur les groupes

sanguins. Cependant, l'efficacité des tests dépend directement du nombre de marqueurs génétiques utilisés, de leur degré de polymorphisme et de la répartition des allèles dans une population donnée. En conséquence, les groupes sanguins sont ou non suffisamment efficaces selon les espèces. Le cas le plus favorable est celui du bovin. Pour les espèces équine, ovine, caprine, canine et porcine, il était nécessaire, pour obtenir une efficacité comparable à celle des bovins, de recourir à des systèmes complémentaires, tels, dans le cas du porc, les antigènes du système majeur d'histocompatibilité (SLA).

Jusqu'ici, le porc, au contraire des bovins ou des chevaux, n'avait pas bénéficié de contrôles de filiation systématiques. L'avènement du BLUP fait dépendre la valeur génétique de tout animal des performances de ses apparentés et s'est accompagné d'une for-

te augmentation de l'usage de l'insémination artificielle : cette situation aggrave les conséquences d'erreurs d'identification lors du tri des futurs reproducteurs, en particulier lors du choix des verrats destinés à l'insémination artificielle.

### Développement de nouvelles techniques ; application au Porc

Ces nouvelles techniques se basent sur les microsatellites, qui sont des régions du génome caractérisées par la répétition en tandem d'une même séquence d'ADN. Les plus utilisées sont des répétitions de bases TG. Pour un marqueur donné, le nombre de répétitions varie d'un individu à l'autre, définissant des allèles. Ces allèles sont facilement visualisables par amplification de l'ADN (PCR ou équivalent), et séparation par migration sur un support électrophorétique



adapté. Chaque allèle se définit par sa taille. Le polymorphisme ainsi visualisé constitue un outil de choix d'autant plus intéressant que ces microsatellites sont répartis sur l'ensemble des génomes des animaux. Ils sont ainsi utilisés pour la cartographie des génomes, la recherche de gènes à effets quantitatifs, les études de populations et le contrôle des filiations.

Grâce aux travaux en cours de réalisation pour la recherche de gènes majeurs chez le porc réalisés par les équipes de l'INRA (Génétique Cellulaire à Toulouse, et Station de Génétique Quantitative à Jouy en Josas) et auxquels LABOGENA collabore, de nombreux marqueurs microsatellites sont sélectionnés. Nous avons d'ores et déjà retenu 7 microsatellites, génétiquement indépendants, qui pourraient être utilisés de façon routinière en contrôle de filiation chez le porc. Nous avons 3 marqueurs supplémentaires, utilisables en complément de diagnostic.

La comparaison du profil électrophorétique du produit avec ceux de ses parents présumés permet d'obtenir directement le diagnostic. Dans le schéma suivant, représentant le résultat obtenu avec un microsatellite, on voit que le produit a reçu de son père l'allèle A et de sa mère l'allèle D. Pour chacun des 10 microsatellites, ce résultat doit se vérifier. La filiation peut alors être déclarée compatible.

	Père	Mère	Produit
Allèle A	■		■
Allèle B	■		
Allèle C		■	
Allèle D		■	■
<b>Génotype</b>	<b>A/B</b>	<b>C/D</b>	<b>A/D</b>

Les Livres Généalogiques Porcins Collectifs ont retenu le principe d'un contrôle de paternité, qui nécessite le typage de l'individu et de son père : la méthode doit aboutir à une probabi-

lité d'exclusion de paternité, elle sera destinée en priorité aux verrats et concernera les trois populations Large White, Landrace français et Piétrain. La méthode dont la mise au point sera achevée d'ici la fin 1998, sera vérifiée en aveugle sur 100 animaux issus de pères déjà typés : elle sera donc opérationnelle au printemps 1999.

### Recherche de gènes à effets quantitatifs dans le Large White et le Landrace Français

Un programme de détection de QTL (locus à effets quantitatifs) pour les principaux caractères quantitatifs d'intérêt économique au sein d'une population F2 issue d'un croisement entre des verrats Large White et des truies Meishan est conduit à l'INRA depuis quelques années, dans le cadre du programme européen PIGMAP. Plusieurs QTL ont déjà été mis en évidence, notamment pour l'épaisseur de lard dorsal, l'âge à 100 kg, le taux d'ovulation et le nombre d'embryons. Il est à présent intéressant de vérifier si les mêmes allèles aux QTL sont également présents dans le génome des individus des populations Large White et Landrace Français, et si leurs effets sont identiques à ceux observés sur les animaux F2 Large White x Meishan.

En prévision d'une telle étude, des prélèvements de sang ont été effectués à partir de 1994 sur des individus constituant des familles issues de même grand-père : près de 200 animaux (verrats d'IA, verrats de monte naturelle, quelques truies) ont fourni des échantillons sanguins dont l'ADN a été extrait et stocké. L'objectif était de constituer un dispositif où chaque grand-père aurait au minimum 20 fils en service dont la valeur génétique serait connue avec une bonne précision pour les six objectifs de sélection dans les lignées femelles : GMQ, IC, rendement en carcasse, teneur en viande maigre, IQV et bien sûr proli-

ficité. La large utilisation de certains verrats d'IA hyperprolifériques dans les années 92-94, nous plaçait dans un contexte favorable pour constituer un tel dispositif.

Trois années de prélèvements sanguins ont permis d'arriver à un dispositif basé sur six verrats "grands-pères", quatre Large White et deux Landrace français, dont la structure est décrite au tableau 1. Grâce à la mini-banque d'ADN ainsi disponible, la ségrégation aux QTL dans les populations Large White et Landrace français va être analysée à partir des marqueurs déterminés par l'INRA dans le cadre du programme précédemment évoqué : l'intérêt de connaître ces marqueurs est de cibler la recherche dans des zones du génome identifiées, donc de réduire fortement le nombre de typages à réaliser par individu. Il est actuellement prévu d'étudier les zones suivantes dans les mois à venir :

- chromosome 7 : zone sur laquelle ont été trouvés des effets sur le taux d'ovulation, le nombre d'embryons, la croissance et l'épaisseur de lard dorsal
- chromosome 4 : zone où a été trouvé un effet sur la croissance
- chromosome 8 : zone où a été trouvé un effet sur le taux d'ovulation
- chromosome 1 : zone où a été trouvé un effet sur la prolificité ("gène ESR").

Dans chaque zone, quatre microsatellites distants d'environ 10 cM seront choisis, en fonction du polymorphisme des grands-pères, pour marquer le segment étudié.

Les premières conclusions seront connues avant l'été 1999.

### Conclusion

A la fin des années 80, nombreux étaient ceux qui prophétisaient un bouleversement rapide des méthodes de sélection, voire de l'organisation de l'amélioration génétique porcine,



**Tableau 1 : répartition des échantillons d'ADN stockés**

Verrat "grand-père"	Race	Nombre de descendants en service dont l'ADN a été stocké	
		Verrats	Truies
86HLJ924620	LW	24	2
16HAC920579	LW	32	4
86001934716	LW	33	8
62PN7930041	LW	21	3
29THC918455	LR	17	2
50UHC915197	LR	16	10

en conséquence de l'irruption des biotechnologies dans ce domaine d'activité. Dix ans plus tard, le discours a changé alors même que l'utilisation de ces techniques se précise. Les QTL qui seront mis en évidence dans les prochaines années n'auront pas un effet aussi important qu'un gène majeur tel HAL ; de plus, l'augmentation de la fréquence des allèles favorables de ces QTL est désormais obtenue avec une efficacité de plus en plus grande par la sélection classique, c'est-à-dire la sélection sur performances, grâce aux nouvelles méthodes d'évaluation de la valeur génétique (BLUP). Dans le meilleur des cas, la sélection sur marqueurs

sera un complément de la sélection sur performances, dont l'intérêt économique devra être évalué au cas par cas ; elle n'aura la primauté que dans les contextes où l'on doit éliminer un défaut d'origine monogénique (exemple : HALn, RN-...).

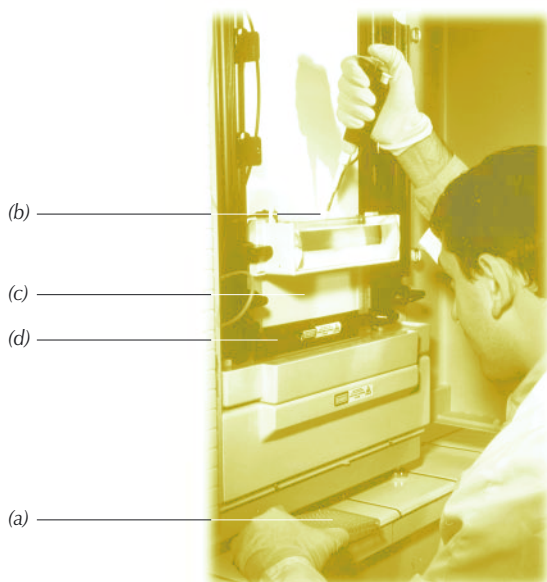
Au sein des Livres Généalogiques Porcins Collectifs, l'établissement d'un contrôle de paternité ciblé sur les verrats, et en particulier ceux d'IA, va nécessiter de procéder à des prélèvements sanguins systématiques sur tous les verrats entrant en service, avec extraction ADN : cela conduit à envisager la gestion d'une banque d'ADN qui serait un outil pré-

cieux tant pour le chercheur que pour le sélectionneur. Cette banque, couplée à la base de données BLUP, offrira un outil puissant de détection de QTL ; de plus, les mêmes prélèvements pourront être utilisés pour mettre en oeuvre une éventuelle sélection assistée par marqueurs, complémentaire des outils de sélection classique.

L'exemple des typages sanguins ayant permis d'éradiquer le gène HAL dans le Landrace français il y a une dizaine d'années montre que le fonctionnement des unités de sélection ne sera pas affecté par la connaissance du génome, pas plus que celui des Organisations de Sélection Porcine. Mais une bonne liaison entre celles-ci et la Recherche sera plus que jamais nécessaire. Les Livres Généalogiques Porcins Collectifs offrent un cadre très favorable à une telle liaison puisque l'ITP travaille dans le domaine de la sélection depuis longtemps en étroite collaboration avec l'INRA, qui est l'un des deux ou trois opérateurs principaux des programmes européens de recherche sur le génome des animaux domestiques. ■

Marie-Yvonne BOSHER, Pascale LE ROY

Station de Génétique Quantitative et Appliquée, INRA - 78352 Jouy en Josas Cedex



Exemple d'un dépôt de 96 échantillons sur un séquenceur automatique ABI 377.

96 échantillons différents contenus dans une microplaque (a) sont déposés dans 96 micropuits (b) d'un gel de polyacrylamide (c). Sous l'influence d'un champ électrique, chaque échantillon migre à travers le gel de polyacrylamide permettant ainsi de séparer les allèles des différents marqueurs selon leur taille. Les marqueurs microsatellites marqués par 3 fluorophores différents (jaune, bleu et vert) seront détectés au niveau de la fenêtre de détection (d). Les signaux ainsi récoltés pourront être interprétés en profil, donnant un génotype bien défini pour chaque marqueur et chaque individu.