

Détection de locus à effets quantitatifs dans le croisement entre les races porcines Large White et Meishan.

Dispositif expérimental et premiers résultats

J.P. BIDANEL (1), D. MILAN (2), C. CHEVALET (2), Nathalie WOLOSZYN (2), Florence BOURGEOIS (3), J.C. CARITEZ (4), J. GRUAND (5), Pascale LE ROY (1), M. BONNEAU (6), L. LEFAUCHEUR (6), J. MOUROT (6), Armelle PRUNIER (6), Céline DÉSAUTÉS (7), P. MORMÈDE (7), Christine RENARD (8), M. VAIMAN (8), Annie ROBIC (2), J. GELLIN (2), L. OLLIVIER (1)

Institut National de la Recherche Agronomique

(1) Station de Génétique Quantitative et Appliquée - 78352 Jouy-en-Josas Cedex

(2) Laboratoire de Génétique Cellulaire - 31326 Castanet Tolosan Cedex

(3) LABOGENA- 78352 Jouy-en-Josas Cedex

(4) Domaine Expérimental du Magneraud - 17700 Surgères

(5) Station Expérimentale de Sélection Porcine - 86480 Rouillé

(6) Station de Recherches Porcines - 35590 St Gilles

(7) Génétique du Stress, Institut François Magendie, 33077 Bordeaux Cedex

(8) Laboratoire de Radiobiologie Appliquée - 78352 Jouy-en-Josas Cedex

Détection de locus à effets quantitatifs dans le croisement entre les races porcines Large White et Meishan. Dispositif expérimental et premiers résultats

Après une description des principes utilisés pour la détection de locus à effets quantitatifs (QTL), le programme expérimental de détection de QTL dans une population F2 issue du croisement entre les races porcines Meishan (MS) et Large White (LW) se déroulant à l'INRA depuis 1991 est présenté. Environ 2400 porcs F2 MS x LW ont été produits par 6 verrats et 23 truies F1, eux mêmes issus de 6 verrats LW et 6 truies MS. Plus de 500 mâles et 500 femelles F2 ont été élevés dans des conditions standardisées et soumis à un protocole intensif de mesures incluant des caractères de croissance, de composition corporelle, de qualité de la viande, de développement sexuel mâle et femelle, de prolificité et de réactivité comportementale. Le génotype de l'ensemble animaux LW, MS, F1 et F2 a été déterminé à l'aide de séquenceurs automatiques pour un total de 65 marqueurs microsatellites couvrant la majeure partie du génome porcine. Les données ont été analysées par chromosome (analyse multipoint) à l'aide d'une procédure du maximum de vraisemblance, en supposant une répartition des animaux F2 en 6 familles de demi germains. Des QTL ont été mis en évidence sur les chromosomes 3 (nombre de fibres musculaires), 4 (croissance), 7 (croissance, épaisseur de lard dorsal, teneur en gras intramusculaire, teneur en androsténone du gras, taux d'ovulation et taux basal de cortisol plasmatique) et 8 (nombre d'embryons).

Mapping of quantitative trait loci (QTL) in F2 crosses between Meishan and Large White pig breeds. Experimental design and first results.

Basic principles of QTL mapping are described. The QTL detection experiment performed at INRA since 1991 in F2 crosses between Meishan (MS) and Large White (LW) pig breeds is then presented. Six F1 boars and 23 F1 sows issued from 6 LW boars and 6 MS sows produced about 2400 MS x LW F2 pigs between 1992 and 1996. More than 500 male and 500 female F2 pigs were raised in standardised management conditions and measured for a large number of traits including growth rate, carcass composition meat quality, male and female sexual development, prolificacy and behavioural reactivity. All LW, MS, F1 and F2 pigs have been genotyped for a panel of 65 microsatellite markers covering the major part of porcine genome. Data were analysed for each chromosome using a multiple marker maximum likelihood procedure assuming a half sib family structure for F2 pigs. QTLs were found on chromosome 3 (number of muscle fibres), chromosome 4 (growth traits), chromosome 7 (body weight, average backfat thickness, intramuscular fat content, fat androstenone levels in entire males, ovulation rate and basal cortisol level) and chromosome 8 (number of embryos).

INTRODUCTION

Le déterminisme génétique des caractères d'intérêt économique importants est en général complexe et implique un nombre inconnu, mais a priori élevé, de gènes ayant des effets d'importance très variable sur ces caractères. Quelques gènes peuvent avoir des effets majeurs sur un ou plusieurs caractères. C'est le cas par exemple des gènes de sensibilité à l'halothane (LARZUL et al, 1996) ou RN (LE ROY et al, 1990) chez le porc. La plupart des gènes ont cependant des effets individuels modérés ou faibles, qui ne peuvent être estimés par les méthodes statistiques classiquement utilisées en génétique. Dans son approche traditionnelle, la génétique quantitative contourne le problème en s'intéressant non pas aux effets individuels des gènes, mais à la valeur globale du génome d'un individu, ou valeur génétique, supposée être le résultat de l'action d'un très grand nombre de gènes à effets individuels faibles, mais s'ajoutant les uns aux autres. Sous ce modèle, la ressemblance entre apparentés est proportionnelle à la part de génome commune. La connaissance des performances des candidats à la sélection et/ou de celles d'apparentés permet de prédire leur valeur génétique et de sélectionner les meilleurs d'entre eux.

Bien que biologiquement approximatif, ce modèle a été utilisé avec succès pour sélectionner de nombreuses populations animales à travers le monde. Son utilisation peut toutefois s'avérer peu efficace et/ou coûteuse dans certaines situations : faible héritabilité, mesure tardive, difficile ou coûteuse des caractères sélectionnés. Les progrès récents de la biologie moléculaire ont permis de développer depuis quelques années des cartes génétiques chez le porc (ELLEGREN et al, 1994 ; ARCHIBALD et al, 1995 ; ROHRER et al, 1994 ; 1996) et dans les principales espèces d'animaux d'élevage. Chez le porc, plus de 1000 marqueurs polymorphes, essentiellement des microsatellites, couvrant l'ensemble du génome sont désormais disponibles (ROHRER et al, 1996). Ces cartes génétiques permettent d'envisager la détection et la localisation systématique des principaux gènes responsables de la variabilité génétique des caractères quantitatifs (ou QTL pour l'anglais « quantitative trait loci ») et la prise en compte de l'information apportée par les marqueurs dans les programmes d'amélioration génétique.

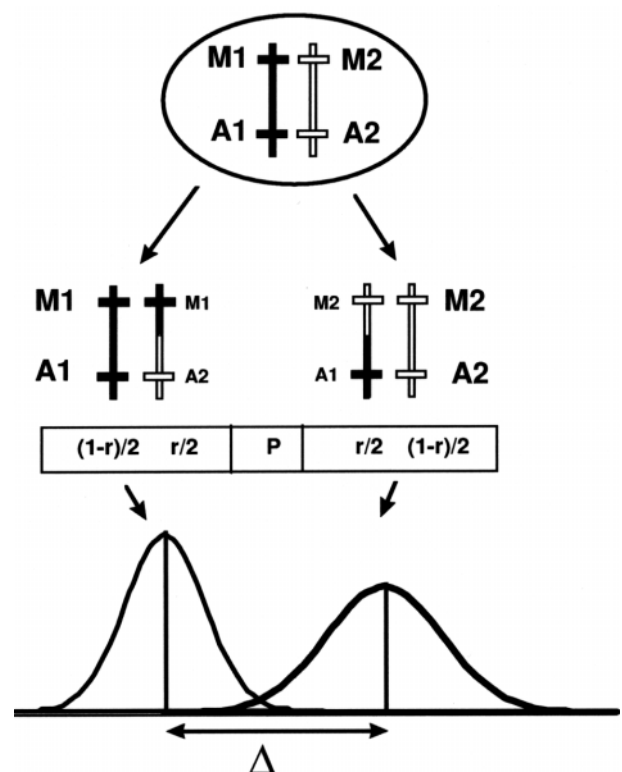
L'INRA a lancé en 1991 un programme de détection de QTL dans une population F2 issue d'un croisement entre les races porcines Meishan (MS) et Large White (LW) à l'aide d'un réseau de marqueurs microsatellites. Les deux races MS et LW diffèrent de façon importante pour un grand nombre de caractères d'intérêt économique : reproduction, croissance, composition corporelle, qualité de la viande, comportement, résistance aux maladies,... (voir par exemple BIDANEL et al, 1990). Ces différences rendent très probable l'existence d'un nombre important de QTL en ségrégation dans une population F2 MS x LW et permettent de bénéficier de locus marqueurs très informatifs. L'objectif de cet article est de détailler le dispositif expérimental et les méthodes utilisées, ainsi que les résultats obtenus à partir d'un premier réseau de 70 marqueurs.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. Dispositif expérimental : principes généraux

Le principe de la détection et de la localisation d'un QTL réside dans l'observation des différences de performances moyennes entre les groupes d'individus définis par l'allèle au locus marqueur reçu de l'un ou l'autre parent. Soit un reproducteur (par exemple un père) hétérozygote M1M2 à un locus marqueur M. Supposons qu'un QTL avec deux allèles, A1 et A2, est situé à proximité de M (figure 1). Si le père est hétérozygote au QTL et que M1 est associé à A1 et M2 à A2, les descendants de ce mâle seront pour la majeure partie M1 A1/- et M2 A2/- (- indique que le génotype des mères n'est pas connu). Si, de plus, A1 a un effet important sur un caractère y, la moyenne (ou plus généralement la distribution) pour ce caractère des descendants ayant reçu M1 différera de celle des descendants ayant reçu M2. La différence Δ entre groupes de descendants dépend à la fois de l'effet du QTL et de la fréquence r des produits recombinants, l'augmentation du nombre de recombinaisons tendant à réduire cette différence.

Figure 1 - Utilisation de marqueurs pour la détection de locus à effet quantitatif (QTL)

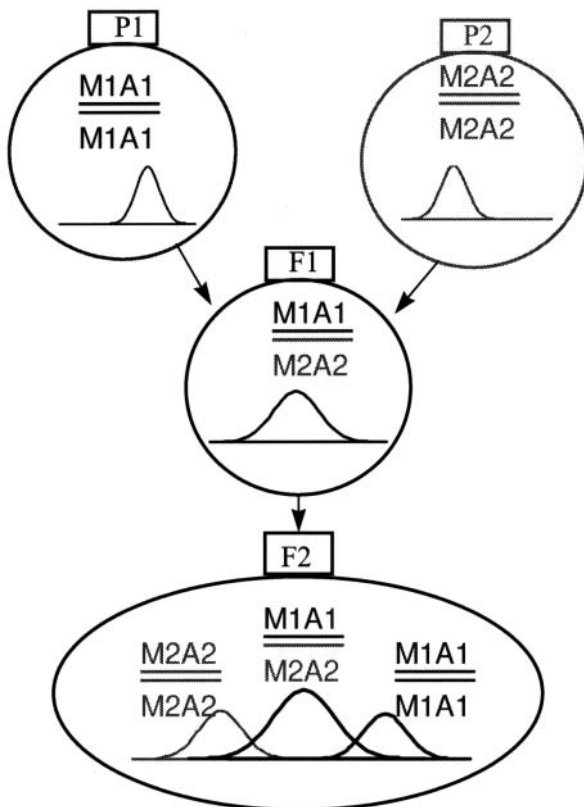


M1, M2 = allèles au locus marqueur ; P = fréquences gamétiques ;
A1, A2 = allèles au QTL r = taux de recombinaison ;

On distingue généralement deux grands types de dispositifs expérimentaux selon que la détection de QTL est réalisée intra- ou entre populations. Les protocoles de détection de QTL entre populations ont tout d'abord été développés chez les plantes avec des populations parentales fortement homozygotes et présentant des niveaux de performances et des

allèles aux locus marqueurs différents (PATERSON et al, 1988). Leur principe est schématisé sur la figure 2. Des allèles différents sont supposés fixés au locus marqueur et au QTL dans les populations P1 et P2. Leur croisement donne une F1 double hétérozygote et engendre une association systématique entre les allèles au locus marqueur et au QTL. Dans les populations F2 ou « backcross », des différences de moyenne du caractère sont attendues en fonction de l'allèle au locus marqueur reçu si celui-ci est proche d'un QTL. Ce dispositif peut être étendu à des croisements entre des populations non consanguines. La puissance du dispositif décroît lorsque les allèles au(x) locus marqueurs et/ou au(x) QTL sont en ségrégation dans les populations que l'on croise, et ce d'autant plus que les différences de fréquences géniques entre ces populations sont faibles (BECKMAN et SOLLER, 1988). C'est pourquoi l'on cherche en pratique à maximiser ces différences en utilisant des populations phénotypiquement aussi divergentes que possibles. Ce type de dispositif est celui utilisé dans le cadre du présent projet.

Figure 2 - Dispositifs expérimentaux pour la détection de locus à effets quantitatifs (QTL)



M1, M2 = allèles au locus marqueur ;
A1, A2 = allèles au QTL ;

1.2. Animaux et mesures

Six portées F1 Meishan x Large White ont été produites en 1991 dans le Domaine Expérimental du Magneraud (Surgères, Charente-Maritime) en accouplant six verrats Large White non apparentés à six truies Meishan aussi peu apparentées que possible (un verroat/truie). Un verroat et

4 truies ont été conservés comme reproducteurs dans chacune de ces portées (à l'exception d'une portée pour laquelle seules trois femelles étaient disponibles) et accouplés de façon hiérarchique, à raison d'un mâle pour quatre femelles, de façon à produire des familles de pleins-frères F2 aussi grandes que possible. Un total d'environ 2400 porcelets F2 ont été produits entre 1992 et 1996, parmi lesquels 500 mâles et 500 femelles ont été utilisés pour la détection de QTL.

Les truies F1 ont été conduites en bandes, avec un intervalle de trois semaines entre bandes consécutives. Les bandes de mise bas devenaient ensuite les bandes de post-sevrage et d'engraissement des animaux en croissance. Les jeunes mâles ont été transférés à l'âge de 10 semaines à la Station Expérimentale de Sélection Porcine (SESP, Rouillé, Vienne). Par contre, les femelles ont été conservées au Magneraud, à l'exception de 68 femelles élevées à la SESP en 1992.

Afin de valoriser au mieux les animaux F2 produits, le protocole de mesures a été organisé de façon à permettre l'étude d'un grand nombre de fonctions biologiques et à en approfondir les mécanismes sous-jacents. Les porcelets ont été pesés à la naissance et à 21 jours après mise bas. À six semaines d'âge, ils ont fait l'objet d'un test d'exposition à un environnement nouveau détaillé par DESAUTES et al (1997). À leur arrivée à la SESP à 10 semaines d'âge, les jeunes mâles ont été pesés et placés en contrôle de croissance dans des loges collectives en bâtiment semi-ouvert. Pendant toute la durée du contrôle, ils ont été alimentés à volonté (nourrisseur automatique) avec un aliment à 17% de matières azotées totales, 0,85% de lysine et 3100 kcal d'énergie digestible. Une pesée, une mesure d'épaisseur de lard dorsal et un prélèvement par biopsie d'un échantillon de gras dorsal (en vue d'un dosage de la teneur en androsténone du gras) ont ensuite été réalisés à 100, 120, 140 et 160 jours d'âge. À 120 jours d'âge, les porcs ont en outre fait l'objet d'un test à l'insuline. Ils ont été abattus à la fin du contrôle de performances, entre 160 et 180 jours d'âge, lorsqu'ils atteignaient un poids vif de 90 kg. Le lendemain de l'abattage, il a été procédé à une découpe parisienne normalisée d'une demi-carcasse et au prélèvement d'un échantillon de gras dorsal (en vue d'un dosage de la teneur en androsténone du gras et de l'activité des enzymes de la lipogénèse) et d'échantillons de muscle semitendineux (en vue d'un dosage de la teneur en gras intramusculaire, de l'activité des enzymes de la lipogénèse dans le muscle et d'une détermination du nombre de fibres musculaires). Une pesée et des mensurations sur le tractus génital ont également été réalisées. Les teneurs en androsténone ont été déterminées à partir d'un test spécifique développé par le Centre Technique de la Salaison, de la Charcuterie et des Conserves de Viandes. La procédure d'extraction était similaire à celle décrite par CLAUS et al. (1988). Le nombre de fibres est estimé comme le produit de l'aire de section transversale du muscle semitendineux et du nombre de fibres par unité de surface (NFUS), mesuré à partir d'une coupe histologique (10 µm) réalisée transversalement aux fibres, et colorée à l'azorubine. La teneur en gras intramusculaire a été mesurée après extraction à froid au méthanol-chloroforme selon la méthode décrite par FOLCH et al. (1957).

Les jeunes femelles ont été placées en contrôle de croissance entre 10 et 22 semaines d'âge dans des loges collectives en bâtiment fermé. Elles ont été alimentées à volonté (nourrisseur automatique) pendant toute la durée du contrôle avec un aliment présentant les mêmes caractéristiques que pour les mâles. Elles ont été pesées et ont fait l'objet d'une mesure d'épaisseur de lard dorsal à 90, 120 et 150 jours d'âge. L'apparition du premier oestrus a fait l'objet d'une détection visuelle quotidienne entre 90 et 210 jours d'âge. Elle a été complétée par un dosage qualitatif du taux de progestérone

plasmatique à partir d'échantillons sanguins prélevés tous les 10 jours. Les femelles ont ensuite été soumises à un traitement de synchronisation au régumate débutant à 26 ou 29 semaines d'âge, puis inséminées sur oestrus induit avec de la semence de verrats Piétrain et abattues à 30 jours de gestation pour mesure des composantes de la prolificité (taux d'ovulation, nombre d'embryons) et des caractéristiques du tractus génital. Un récapitulatif des caractères mesurés figure dans le tableau 1.

Tableau 1 - Principaux caractères étudiés dans le projet INRA de détection de QTL

Caractères	Sexe	Liste des caractères
Croissance	M	<ul style="list-style-type: none"> • Poids corporel à 100, 120, 140, 160 jours d'âge • Taux plasmatiques de GH et d' IGF à 120 jours d'âge, avant et après test à l'insuline
	F	<ul style="list-style-type: none"> • Poids corporel mesuré toutes les 3 semaines à partir de 90 jours d'âge
Composition corporelle	M	<ul style="list-style-type: none"> • Epaisseur de lard dorsal à 100, 120, 140, 160 jours d'âge • Rendement de carcasse à 90 kg • Poids des morceaux de découpe
	F	<ul style="list-style-type: none"> • Epaisseur de lard dorsal à 90, 120 et 150 jours d'âge
Caractéristiques du muscle et du gras	M	<ul style="list-style-type: none"> • Taux d'androsténone à 100, 120, 140, 160 jours d'âge et à l'abattage • Taux de gras intramusculaire • Nombre, taille des fibres musculaires • Activités des enzymes de la lipogénèse dans les tissus musculaires et adipeux
Reproduction	M	<ul style="list-style-type: none"> • Caractéristiques du tractus génital <ul style="list-style-type: none"> - longueur et poids des glandes de Cowper - poids de l'épididyme - poids des testicules
	F	<ul style="list-style-type: none"> • Age à la puberté (progestérone) • Age au premier oestrus • Taux d'ovulation • Nombre d'embryons (à 30 jours de gestation) • Caractéristiques du tractus génital <ul style="list-style-type: none"> - longueur et poids des cornes utérines - poids des ovaires, des placentas et des foetus
Comportement	M+F	<ul style="list-style-type: none"> • Réactivité et réponse neuroendocrinienne des porcelets à un test d'introduction dans un environnement nouveau: <ul style="list-style-type: none"> - locomotion, vocalises, défécations et exploration - niveau plasmatique d'ACTH, de cortisol et de glucose pré- et post- test
Caractéristiques sanguines	M+F	<ul style="list-style-type: none"> • Caractéristiques sanguines (taille et volume des hématies et des plaquettes, ...)
Résistance à la diarrhée néonatale	M+F	<ul style="list-style-type: none"> • Présence/Absence de sites d'attachement à E.coli K88 et K99

1.3. Développement du réseau de marqueurs

À l'exception du Système Majeur d'Histocompatibilité (SLA), le réseau de marqueurs utilisé est constitué uniquement de microsatellites. Il a été mis au point en deux étapes : un réseau de 65 marqueurs, permettant une couverture à 40 centimorgans (cM) du génome, a été utilisé dans un pre-

mier temps. Les marqueurs ont été choisis en fonction :

- 1) de leur position sur les cartes génétiques,
- 2) de la qualité et de la reproductibilité de leur profil sur séquenceur automatique,
- 3) de leur hétérozygotie.

Ce premier réseau a ensuite été complété de façon à assurer une couverture à 20 cM de l'ensemble du génome. Les

typages, réalisés sur séquenceur automatique ABI 377 (Perkin Elmer), en fluorescence sur analyseur automatique de séquences, ont débuté en 1996 et doivent s'achever au printemps 1998. De 2 à 10 marqueurs, regroupés en fonction de leur condition spécifique, sont amplifiés par PCR sur un même animal simultanément dans le même tube. De 8 à 12 marqueurs sont regroupés, en fonction de la compatibilité de leur analyse, puis déposés sur une même piste du gel de séquence. Après analyse par le logiciel Genescan (Perkin Elmer) de la taille de tous les fragments amplifiés, le génoty-

pe des individus est déterminé par analyse automatique au moyen des logiciels Gemma (IANNUCCELLI et al, 1996), et Genotyper (Perkin Elmer). Les données de typage sont ensuite vérifiées, validées et stockées dans Gemma.

Un total de 925 animaux F2 ont à l'heure actuelle été génotypés pour un ensemble de 65 marqueurs. La répartition par famille des animaux figure dans le tableau 2, celle des marqueurs par chromosome dans le tableau 3.

Tableau 2 - Répartition par famille des animaux F2 Meishan Large White

Père					
1	2	3	4	5	6
38 (1)	17	37	25	35	37
65	30	37	27	27	37
24	26	28	55	67	61
29	48	39	41	60	
			35		
Nombre de descendants par père					
156	121	141	148	224	135

(1) Chaque cellule indique les effectifs par famille de mère intra-père

Tableau 3 - Répartition des marqueurs par chromosome

Chromosome	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Nb marqueurs	6	5	5	5	5	4	5	5	3	3	3	2	2	5	4	3

1.4. Analyses statistiques

Les analyses ont été réalisées pour un sous-ensemble de 23 caractères. Le nombre de données disponibles, leur moyenne et leur écart type figurent dans le tableau 4.

Des analyses préliminaires ont été réalisées de façon systématique en testant, dans chaque famille et pour chaque marqueur, les effets de l'allèle transmis par le père et par la mère. Le modèle utilisé est un modèle à effets fixés incluant les effets du père, de la mère intra-père, des allèles transmis par le père et la mère (sans effet de dominance), de la portée de naissance et, si nécessaire, du sexe et de l'âge ou du poids de l'animal en covariable.

Des analyses multipoints ont ensuite été effectuées lorsque :

- 1) des chromosomes comprenant un nombre suffisant de marqueurs étaient disponibles,
- 2) des résultats significatifs ($P < 0,001$) étaient obtenus par analyse de variance pour au moins un caractère.

Ces conditions étaient vérifiées pour les chromosomes 1, 3, 4, 7, 8 et 14. Les données analysées ont été préalablement ajustées pour les effets de la portée de naissance et, si nécessaire,

pour le sexe, l'âge ou le poids en utilisant la procédure GLM du logiciel SAS (SAS INSTITUTE, 1992). Une analyse a été effectuée pour chaque chromosome en utilisant l'ensemble de l'information disponible sur les marqueurs de ce chromosome. Elle a consisté à calculer, en chaque position du chromosome (tous les centimorgans), la probabilité des observations disponibles sous l'hypothèse de l'existence (vraisemblance $M1$), puis de l'absence (vraisemblance $M0$), d'un QTL à cette position. La comparaison des probabilités ainsi obtenues par un test du rapport de vraisemblance ($TRV = -2\log[M0/M1]$) permet de retenir l'hypothèse expliquant le mieux les données. L'évolution de TRV en fonction de la position sur le chromosome donne alors la (les) position(s) la(les) plus probable(s) pour le QTL recherché (figures 3, p 122).

Les distances génétiques entre marqueurs, calculées préalablement à l'aide du logiciel CRIMAP, sont supposées connues dans le calcul de TRV. Les analyses sont réalisées en ignorant les méioses femelles, autrement dit en supposant que les animaux appartiennent à six familles de demi-frères. Afin de simplifier les calculs, la vraisemblance a été linéarisée comme le proposent HALEY et al (1994). Les variances intra-père ont été considérées comme hétérogènes de façon à permettre la prise en compte des effets d'éventuelles diffé-

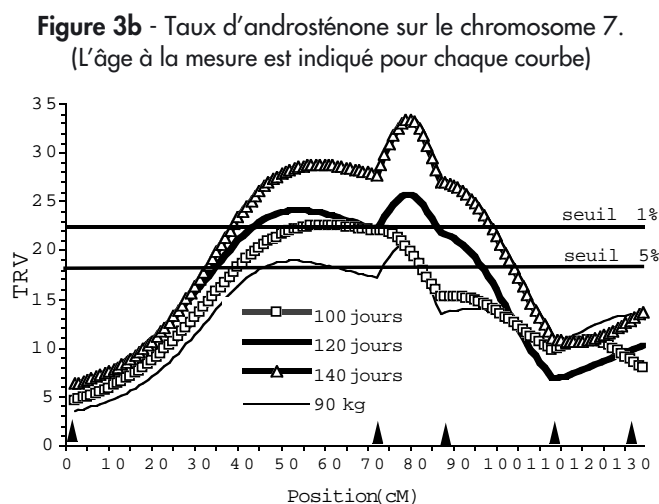
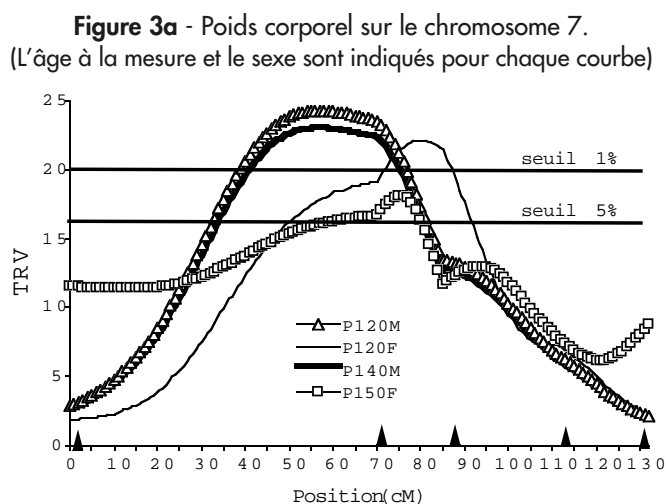
Tableau 4 - Nombre de données, moyenne et écart type des données analysées

Caractère	Nombre	Moyenne	Écart-type
Poids vif (kg)			
à 90 jours	572	37,7	6,1
à 100 jours	554	38,6	5,9
à 120 jours	1129	55,1	10,0
à 140 jours	549	61,9	11,4
à 150 jours	563	80,4	11,7
à 160 jours	538	71,8	13,9
Épaisseur de lard dorsal (mm)			
à 90 jours	410	14,2	3,2
à 100 jours	438	10,6	2,2
à 120 jours	966	15,6	5,3
à 140 jours	435	14,1	3,6
à 150 jours	409	25,3	5,3
Taux d'androsténone			
à 100 jours	248	0,402	0,45
à 120 jours	245	0,616	0,65
à 140 jours	237	0,767	0,80
à 160 jours	206	1,143	1,27
à l'abattage	290	1,628	1,55
Nombre de fibres musculaires (x 1000)	378	533	94
Teneur en gras intramusculaire (%)	180	1,70	0,54
Taux basal de cortisol (ng/ml)	334	84,7	43,3
Taux de cortisol post test (ng/ml)	334	161,9	51,6
Taux d'ovulation	332	16,4	2,9
Nombre d'embryons à J30	312	12,6	3,7

rences de ségrégation au(x) QTL(s) dans les familles de pleins frères. Les seuils de signification pour le test de rapport de vraisemblance ont été calculés en utilisant les techniques de permutations de données (CHURCHILL et DOERGE, 1994). Deux mille à dix mille séries de permutations ont été réalisées pour chaque combinaison chromosome - caractère. Les calculs ont été effectués à l'aide du logiciel MapQTL actuellement développé à l'INRA (ELSEN et al., 1996).

2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les profils correspondant à la statistique de test pour certains des chromosomes et des caractères étudiés sont présentés sur les figures 3. La forme en général très arrondie du profil autour de la valeur maximale traduit le fait que la localisation du QTL est connue de façon relativement imprécise, avec des intervalles de confiance de l'ordre de 20 à 40 cM.

Figure 3 - Exemples de profils de la statistique de test

Les caractères et les chromosomes pour lesquels une valeur significative au seuil de 5% en analyse multipoint a été obtenue sont présentés dans le tableau 5. Les valeurs des seuils de signification obtenues par les techniques de permutations sont assez proches quel que soit le caractère considéré. Compte tenu du nombre important de tests réalisés, un niveau de signification plus sévère doit toutefois être utilisé si l'on souhaite parvenir à un niveau de signification global de 5%. Si les tests individuels étaient indépendants, le niveau de signification α de chaque test pour obtenir un niveau global donné g serait tel que $g=1 - (1-\alpha)^{np}$, où n et p sont respectivement le nombre de caractères et le nombre de chromosomes. Si l'on admet dans le cas présent que les caractères analysés, qui sont pour plusieurs d'entre eux très corrélés, équivalent à 10 caractères indépendants, des niveaux de signification de 0,05, 0,01 et 0,001 correspondent à des probabilités de 95%, 45% et 5% d'avoir un faux positif pour l'un des caractères au niveau du génome. En pratique, le choix d'un seuil de probabilité sera fonction des objectifs de l'étude. Si le but est de mettre en évidence un nombre maximum de QTL, un niveau de signification peu exigeant est utilisé. Cette pratique est courante pour la recherche des gènes responsables des maladies génétiques chez l'homme, où l'on préfère, pour des raisons évidentes, obtenir des faux positifs plutôt que ne pas mettre en évidence le gène concerné. Si par contre l'objectif est d'éviter des faux positifs, qui se traduiraient par une perte d'efficacité dans le cas d'une sélection assistée par marqueurs, un seuil de signification plus sévère est souhaitable.

Les valeurs présentées pour les effets des QTL correspondent aux effets moyens des allèles, estimés pour chacune des familles de père. Ces effets représentent la moitié de la différence à laquelle on peut s'attendre entre les deux homozygotes aux QTL. Les estimations sont assez variables d'une famille à l'autre. L'obtention d'effets estimés proche de zéro dans certaines familles pourrait indiquer que les QTL ne sont pas fixés dans les deux races grand-parentales. Inversement, des effets relativement importants (parfois supérieurs à un écart type phénotypique du caractère) sont obtenus dans certaines familles. On notera en particulier les effets obtenus pour les composantes de la prolificité qui sont du même ordre de grandeur que ceux liés au gène ESR (ROTHSCHILD et al, 1996) sur la prolificité. Leur effet sur la taille de la portée à la naissance et les autres caractères d'intérêt économique reste toutefois à confirmer avant d'envisager une utilisation dans les programmes d'amélioration génétique. De même, les effets importants obtenus sur la teneur en androsténone du gras et, dans une moindre mesure, la teneur en gras intramusculaire pourraient offrir des perspectives intéressantes en matière de contrôle de la qualité de la viande de porc. La valeur de l'effet pour la teneur en gras intramusculaire est toutefois nettement inférieure à celle obtenue par JANSS et al (1997) à partir d'une analyse de ségrégation de données F2 Meishan x Large White. Les valeurs obtenues pour les poids corporel et l'épaisseur de lard dorsal sont également assez élevées du fait notamment de la grande variabilité de ces caractères dans la population étudiée. On peut noter que le(s) QTL du chromosome 4 n'a d'effet significatif que sur le poids corporel des mâles. Par contre, le(s) QTL du chromosome 7 affecte(nt) les poids corporels dans

Tableau 5 - Principaux QTL mis en évidence par analyse multipoint de 6 chromosomes porcins

Caractère	Niveau de signification du test	Effet moyen des allèles intra-famille de père (en unité d'écart-type phénotypique)
Chromosome 3		
Nombre de fibre musculaires	P<0,04	0,16 à 0,40
Chromosome 4		
Poids vif		
à 100 jours	P<0,001	0,02 à 0,51
à 120 jours	P<0,001	0,12 à 0,53
à 140 jours	P<0,005	0,00 à 0,78
Chromosome 7		
Poids vif		
à 100 jours	P<0,03	0,15 à 0,36
à 120 jours	P<0,002	0,03 à 0,44
à 140 jours	P<0,001	0,03 à 0,37
à 150 jours	P<0,03	0,07 à 0,47
à 160 jours	P<0,001	0,09 à 0,45
Épaisseur de lard dorsal		
à 90 jours	P<0,005	0,04 à 0,45
à 120 jours	P<0,003	0,07 à 0,48
à 150 jours	P<0,02	0,06 à 0,43
Taux d'androsténone du gras		
à 100 jours	P<0,008	0,14 à 0,71
à 120 jours	P<0,009	0,04 à 0,52
à 140 jours	P<0,001	0,17 à 0,64
à l'abattage	P<0,03	0,13 à 1,02
Teneur en gras intramusculaire	P<0,005	0,18 à 0,64
Taux basal de cortisol	P<0,01	0,06 à 0,47
Taux de cortisol post test	P<0,001	0,00 à 0,55
Taux d'ovulation (1)	P<0,02	0,37 à 0,54
Chromosome 8		
Nombre d'embryons à J30 (1)	P<0,05	0,13 à 0,50

(1) Résultats obtenus sur 4 familles de pères

les deux sexes, ainsi que l'épaisseur de lard dorsal chez les femelles. L'intérêt d'une prise en compte de l'information sur les QTL de croissance et de composition corporelle dans les programmes de sélection est a priori limité, compte tenu de l'efficacité des méthodes classiques de sélection, sauf peut être dans les lignées «sino-européenne», où elle pourrait permettre une diminution du coût de la sélection. Ceci étant, l'étude de ces gènes peut avoir des retombées intéressantes, notamment comme modèle biologique dans le cadre des travaux menés sur l'obésité chez l'homme.

Ces premières analyses n'avaient pas pour objectif de localiser de façon précise les QTL sur les chromosomes, mais de mettre en évidence un nombre limité de régions du génome dans lesquelles des travaux de localisation plus fine pourront être menés. Ces travaux consisteront dans un premier temps à accroître la densité des marqueurs dans ces régions, puis à essayer d'exclure des portions chromosomiques en étudiant la présence du QTL dans la descendance d'animaux porteurs de chromosomes recombinants (XIONG et GUO, 1997). Dans le cas du taux de cortisol et du nombre de fibres musculaires, la position la plus probable du QTL se situe à l'extérieur de la région couverte par le réseau de marqueurs, à l'une des extrémités des chromosomes 7 et 3, respectivement. L'analyse de marqueurs supplémentaires sera nécessaire pour déterminer la position de ces 2 QTL. Sur le chromosome 7, de nombreux QTL ont été identifiés dans deux autres régions : une région située dans l'intervalle de l'ordre de 15 à 20 cM compris entre le complexe majeur d'histocompatibilité (SLA) et le microsatellite S0102, et une région encore mal précisée sur le bras p du chromosome 7. Il est pour l'instant impossible d'émettre une hypothèse sur le nombre réel de locus impliqués dans ces différents effets, même s'il l'on peut penser qu'un même gène est vraisemblablement responsable des effets estimés sur les différents poids corporels. Cette même hypothèse peut être avancée pour les mesures d'épaisseur de lard dorsal ou les teneurs en androsténone. Sur le chromosome 4, la localisation du QTL affectant les poids corporels est similaire à celle mise en évidence par ANDERSSON et al (1994) chez des animaux F2 Large White x Sanglier. Toutefois, contrairement à cette première étude, aucun effet significatif n'a été mis en évidence sur l'épaisseur de lard dorsal. Sur le chromosome 8, nous avons détecté un QTL affectant le nombre d'embryons et probablement le taux d'ovulation dans une région similaire à celles mise en évidence au Nebraska sur des animaux F2 issus de croisements entre races prolifiques chinoises et races américaines d'une part (WILKIE et al., 1996), entre une lignée sélectionnée pour le taux d'ovulation et une lignée témoin d'autre part (RATHJE et al., 1997). De plus, cette région du chromosome 8 est, semble-t-il, équivalente à la région du génome ovin où a été localisé le gène «Booroola», qui présente un effet majeur sur le taux d'ovulation dans

cette espèce. Des études ultérieures devront préciser si ces deux localisations sont identiques, et si un même gène peut être responsable de différences de prolificité dans ces deux espèces. Aucun effet de la région chromosomique où est situé le gène ESR, pour laquelle un effet sur la prolificité des truies a été rapporté par ROTHSCCHILD et al (1996), n'a par contre été mis en évidence sur le taux d'ovulation ou le nombre d'embryons à 30 jours de gestation. Un effet sur la survie foetale et la taille de la portée à la naissance ne peut toutefois être exclu.

CONCLUSION

Cette première analyse de l'expérience de détection de QTL menée à l'INRA depuis 1992 est extrêmement encourageante. L'analyse et l'exploitation des résultats de cette expérience n'en est toutefois qu'à ses débuts. De nombreuses régions du génome restent encore à explorer, puisque les 6 chromosomes analysés ne représentent qu'environ 38% du génome. Outre l'intérêt scientifique de ces résultats, des perspectives d'application dans les programmes d'amélioration génétique peuvent d'ores et déjà être entrevues, en particulier pour la sélection des lignées «sino-européennes». Des travaux complémentaires restent toutefois nécessaires afin de préciser les effets mis en évidence, ainsi que l'intérêt génétique et économique de leur prise en compte dans les schémas de sélection. Par la suite, l'identification des gènes responsables des effets observés constitue un formidable défi pour la recherche et un enjeu primordial pour l'amélioration génétique.

REMERCIEMENTS

Le programme expérimental a fait l'objet de financements de l'Union Européenne (BRIDGE et BIOTECH+), de l'INRA (AIP «structure des génomes animaux»), du Département de Génétique Animale et du Groupement de Recherches et d'Etudes sur les Génomes. Nous remercions Hervé Lagant pour l'aide apportée à la gestion de la base de données «performances».

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANDERSSON L., HALEY C.S., ELLEGREN H., KNOTT S.A., JOHANSSON M., ANDERSSON-EKLUND L., EDFORS-LILJA I., FREDHOLM M., HANSSON I., HAKANSSON J., LUNDSTROM K., 1994. *Science*, 263, 1771-1774.
- ARCHIBALD A.L., HALEY C.S., BROWN J.F. et al., 1994. *Mammalian Genome*, 6, 157-175.
- BECKMANN J.S., SOLLER M., 1988. *Theor. Appl. Genet.*, 76, 228-236.
- BIDANEL J.P., CARITEZ J.C., LEGAULT C., 1990. *Pig News and Information*, 11, 345-348.
- CHURCHILL G.A., DOERGE R.W., 1994. *Genetics*, 138, 963-971.
- CLAUS R., MAHLER G., MUNSTER E., 1988. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 39, 87-90.
- DESAUTÉS C., BIDANEL J.P., MORMÈDE P., 1997. *Physiol. Behav.*, 62, 337-347.
- ELLEGREN H., CHOWDHARY B., JOHANSSON M., ANDERSSON L., 1994. *Genetics*, 137, 1089-1100.
- ELSÉN J.M., SCHELER P., LE ROY P., BOICHARD D., GOFFINET B., MANGIN B., 1996. Rapport interne INRA, 37 P.
- FOLCH J., LEES M., LOANE-STANLEY G.H., 1957. *J. Biol. Chem.*, 226, 497-509.
- HALEY C.S., KNOTT S.A., ELSÉN J.M., 1994. *Genetics*, 136, 1195-1207.
- IANNUCELLI E., WOLOSZYŃ N., ARHAINX J., GELLIN J., MILAN D., 1996. In: Proc. XXVe réunion de l'ISAG, 21-25 juillet 1996, Tours, France, p. 88 (résumé).
- JANSS L.L.G., VAN ARENDONK J.A.M., BRASCAMP E.W., 1997. *Genetics*, 145, 395-408.
- LE ROY P., NAVEAU J., ELSÉN J.M., SELLIÉ P., 1990. *Genet. Res.*, 55, 33-40.
- LARZUL C., ROUSSET-AKRIM S., LE ROY P., GOGUÉ J., TALMANT A., VERNIN P., TOURAILLE C., MONIN G., SELLIÉ P., 1996. *Journées Rech. Porcine en France*, 28, 39-44.

- PATERSON A.H., DAMOM S., HEWITT J.D., ZAMIR D., RABINOVITCH H.D., LINCOLN S.E., LANDER E.S., TANKSLEY S.D., 1988. *Nature*, 335, 721-726.
- RATHJE T.A., ROHRER G.A., JOHNSON R.K., 1997. *J. Anim. Sci.*, 75, 1486-1494.
- ROHRER G.A., ALEXANDER L.J., HU Z., SMITH T.P.L., KEELE J.W., BEATTIE C.W., 1994. *Genetics*, 136, 231-245.
- ROHRER G.A., ALEXANDER L.J., HU Z., SMITH T.P.L., KEELE J.W., BEATTIE C.W., 1996. *Genome Res.*, 6, 371-391.
- ROTHSCHILD M.F., JACOBSON C., VASKE D., TUGGLE C., WANG L., SHORT T., ECKARDT G., SASAKI S., VINCENT A., MC LAREN D., SOUTHWOOD O., VAN DER STEEN H., MILEHAM A., PLASTOW G., 1996. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 93, 201-205.
- SAS INSTITUTE INC., 1992. *User's Guide : Stastics. Statistical Analysis System Institute Inc.*, Cary, N.C.
- XIONG M., GUO S.W., 1997. *Genetics*, 145, 1201-1218.
- WILKIE P.J., PASZEK A.A., FLICKINGER G.H., ROHRER G.A., ALEXANDER L.J., BEATTIE C.W., SHOOK L.B., 1996. In: *Proc. XXVe réunion de l'ISAG*, 21-25 juillet 1996, Tours, France, p. 187 (résumé).