Evaluation de la composition raciale actuelle du DRC, lignée synthétique à base de Duroc, par analyse de la généalogie et analyse moléculaire

Loïc FLATRES-GRALL (1), Sophie RUZAFA (2), Nathalie IANNUCCELLI (3), Damien BAHON (1), Magali SANCRISTOBAL (3), Michel SOURDIOUX (1)

> (1) GENE+, 12 rue du moulin, 62134 Erin, France (2) Plateforme Génomique, Chemin Borde Rouge, 31326 Castanet-Tolosan, France (3) INRA Toulouse, UMR444 Lab. de Génét. Cellulaire, 31326 Castanet-Tolosan, France

> > msourdioux@geneplus.com

Evaluation de la composition raciale actuelle du DRC, lignée synthétique à base de Duroc, par analyse de la généalogie et analyse moléculaire

La lignée DRC, créée en 1986, est définie à l'Agence de la Sélection Porcine, comme constituée de 87,5% de gènes Duroc et 12,5% de gènes Large White (LW) et Landrace (LR). Cependant, du fait notamment d'un apport de sang extérieur, sa composition raciale n'est pas aujourd'hui connue précisément. La caractérisation raciale de cette lignée synthétique a donc été réalisée afin de connaître sa composition exacte et principalement la proportion de gènes Duroc. La recherche des ancêtres efficaces permet de quantifier la contribution des différentes races présentes dans le DRC aujourd'hui. Sous certaines hypothèses, cette méthode attribue 89,2% des gènes DRC au Duroc. Cette valeur est cependant inférieure à celle obtenue par la fréquence d'apparition de l'allèle e du gène MC1R4 (93%). Enfin, le typage, à partir de 40 marqueurs microsatellites (panel PigBioDiv), du DRC, du DRB (lignée composite d'origine commune) et des principales races qui les composent (Duroc, LW et LR) a été réalisé. A partir d'une assignation bayésienne, la part de gène Duroc dans le DRC apparaît bien être autour de 90%. Cette méthode apporte également une indication sur les 10% de gènes restants, qui seraient majoritairement du LW. Seul 1% de LR serait présent.

Les différentes méthodes donnent des résultats concordants pour la part du Duroc dans le génome du DRC. L'analyse de la généalogie visualise la présence d'un apport même minime de sang extérieur dans la généalogie et la comparaison à l'aide de marqueurs microsatellites permet d'estimer la part du LW et du LR dans le noyau. La complémentarité des approches permet donc une bonne caractérisation du DRC d'aujourd'hui.

Estimation of the breed composition of the DRC line, a composite line based on Duroc, by pedigree- and molecular-based analyses.

The DRC line, created in 1986, was originally constituted by 87.5% of Duroc and 12.5% of LW and LR genes. However, the exact composition became unknown due to an importation of genes since its creation. The breed characterization of this composite line was carried out to establish its exact composition, especially with regard to the proportion of Duroc genes. It was hoped the contribution of each breed represented in the DRC line today could be achieved by researching effective ancestors (pedigree analysis). This method attributed 89.2% of the genes in the DRC line to the Duroc breed. That value was corroborated by the frequency of the allele 'e' of the MC1R4 gene, which is around 93%. Next, characterizations with 40 microsatellites markers (PigBioDiv panel) of the DRC line, the DRB line (a composite line with the same origins) and the major breeds of those lines (Duroc, LW and LR) were carried out. Using Bayesian assignment methods, it appeared that the contribution of Duroc in the DRC line was around 90%. This method also provided information about the remaining 10% genes, which proved to be predominantly LW genes. Only 1% of LR genes were represented.

The different methods gave similar results for the proportion of Duroc genes in the DRC line. The pedigree analysis allowed even very limited breed contributions to the current line composition to be revealed. The molecular method provided an estimation of the relative contributions of LW and LR breeds. The use of these complementary methods allowed a precise characterization of the DRC composition.

INTRODUCTION

La connaissance précise de la composition raciale d'une lignée composite peut permettre de juger certains de ses potentiels d'évolution en sélection et de prévoir le niveau des effets d'hétérosis en croisement. La lignée DRC est issue de la scission d'un noyau composite construit par absorption sur 3 générations de truies Large White et Landrace en croisement par des verrats Duroc de diverses provenances, donnant un noyau théoriquement constitué de 87,5% de Duroc et 12,5% de Large White et Landrace. Ces pourcentages définissent actuellement la composition du DRC au niveau de l'Agence de la Sélection Porcine. La division de ce noyau en 1986 en une lignée mâle, le DRC, et une lignée femelle, le DRB, a été faite sur des critères de croissance, de carcasse et de productivité. Cependant, du fait de l'apport de sang extérieur et de 20 années de sélection, la composition actuelle du DRC est relativement mal connue. Cette étude vise à travers diverses méthodes à préciser la constitution raciale de cette lignée.

L'analyse de la généalogie permet, grâce à la recherche des ancêtres efficaces, de connaître les origines et les apports de sang réalisés sur un noyau, comme le montre une étude de la variabilité génétique des races porcines Large White, Landrace français et Piétrain (Maignel et al., 1998). Delgado et al. (2002) ont montré qu'une analyse microsatellite permettait de déterminer la race d'un individu. Cette assignation d'un individu à une population à partir d'un panel microsatellite n'a cependant été testée que sur des races dites pures et non sur des lignées composites. Enfin, l'étude de Jerez et al. (2005) proposent de déterminer le pourcentage de sang Duroc dans une population à partir de la fréquence d'apparition d'un allèle caractéristique de la race, en l'occurrence l'allèle e du gène MC1R4. En effet, cet allèle, identifié au niveau moléculaire par Kijas et al.(1998) semble n'avoir été découvert que sur des populations Duroc, Tamworth (race de porc rouge d'origine Anglaise) et Minnesota n°1 (hybride à base de porc rouge créé aux Etats-Unis - Legault et al., 2000).

Cette étude présente les résultats d'une évaluation de la composition raciale du DRC, et plus précisément une évaluation du pourcentage de sang Duroc, à partir de l'analyse de la généalogie, du polymorphisme du gène MC1R4 et d'une comparaison, à l'aide de marqueurs microsatellites, entre le DRC, le DRB, et différents noyaux de races pures.

1. MATERIEL ET METHODES.

1.1. Les populations et leurs échantillonnages.

L'étude du noyau DRC est basée sur les femelles actives et en pré-troupeau en février 2010 dans l'élevage de Bizy (FR41TFM), soit 67 femelles (dont la robe est rousse uniforme). Le fichier généalogique, utilisé pour l'étude des ancêtres efficaces, est constitué de ces 67 femelles DRC ainsi que de tous leurs ancêtres connus, soit un fichier regroupant 991 animaux nés entre 1988 et 2009 et dont le type génétique est connu.

La comparaison microsatellite est faite à partir du typage de 44 individus DRC, 44 Duroc GENE+ (DUG), 44 Duroc SOGEPORC (SOG), 50 Large White (LW), 49 Landrace (LR) et 49 DRB. Les échantillonnages des populations DRC, DUG et SOG sont réalisés sur les femelles actives ou en pré-troupeau, prises au hasard mais en excluant les mères/filles et les pleines sœurs

pour garantir un maximum de variabilité. Le DUG est une variété de Duroc agréée en France, d'origine principalement hongroise, le SOG est un Duroc canadien sélectionné par SOGEPORC, filiale de la Coopérative Fédérée du Québec. Les échantillons LW, LR (deux races pures des Livres Généalogiques Porcins Collectifs) et DRB sont ceux déjà utilisés dans l'étude PigBioDiv (San Cristobal *et al.*, 2006).

L'étude du gène MC1R4 est réalisée sur les 44 femelles DRC utilisées pour la comparaison microsatellite.

1.2. Prélèvements et analyses d'ADN

Un prélèvement de tissu au niveau de l'oreille a été réalisé sur les 44 femelles DRC, DUG et SOG à l'aide du kit de prélèvement VETKIT®.

L'extraction d'ADN a été réalisée par la plateforme génomique du Génopole Toulouse Midi-Pyrénées sur le robot ExtraGene (Genomic) à partir d'un protocole dérivé du protocole de Montgomery et Sise (1990).

L'analyse de ces échantillons d'ADN est réalisée à partir de 40 marqueurs microsatellites (panel PigBioDiv, San Cristobal *et al.*, 2006) au Génopole Toulouse Midi-Pyrénées à partir d'un séquenceur 48 capillaires ABI3730. Les données brutes ont été analysées avec le logiciel GeneMapper (version 4.0).

L'analyse du gène MC1R4 est réalisée au laboratoire de l'INIA à Madrid par pyroséquençage après amplification de type PCR (Pyrosequencing AB, Uppsala).

1.3. Analyse des résultats

1.3.1. Analyse de la généalogie

L'évaluation de la qualité du fichier généalogique est réalisée par estimation du pourcentage d'ancêtres connus à chaque génération, en utilisant le programme *Ngen* (Boichard, 2002).

La recherche des ancêtres efficaces est réalisée sur le fichier généalogique des 67 femelles DRC à l'aide du programme orig_gen (Boichard, 2002). La composition raciale de chaque ancêtre efficace est estimée par observation du type génétique des ascendants sur 3 générations, base prise en référence au croisement d'absorption. Par défaut, un ancêtre dont le type génétique est inconnu est défini comme étant de type DRC. La composition raciale du DRC (CDRC) aujourd'hui est alors obtenue par le calcul suivant :

$$C_{DRC} = \sum_{i=0}^{n} C_i * P_i$$

où n est le nombre total d'ancêtres, i l'ième ancêtre efficace, C_i la composition raciale de cet ancêtre et P_i sa contribution marginale au noyau DRC actuel.

1.3.2. Analyse du gène MC1R4.

Le typage de ce gène de coloration permet de connaître le génotype de chacun des individus pour le gène MC1R4. L'allèle e correspondant à une mutation d'une séquence codant pour la Tyrosine (T) au lieu de l'Alanine (C) en position 240 sur la protéine MC1R. Les génotypes sont donc CC, TT ou CT. Seul le génotype TT code pour la robe caractéristique du Duroc car cet allèle est récessif (Kijas et al., 1998).

1.3.3. Analyse microsatellite

Concernant l'analyse de la diversité neutre à l'aide des marqueurs microsatellites, une Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) et une assignation bayésienne ont été effectuées avec les logiciels Génétix (Belkhir et al., 1998) et Structure (Pritchard et al., 2000) respectivement. Pour ce dernier, un modèle avec admixture et fréquences corrélées a été choisi. Le modèle est construit pour séparer l'échantillon de 4 populations en 3 groupes (clusters) en référence aux 3 races pures (Duroc, LW et LR) présent dans l'échantillonnage.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Qualité de la généalogie

La figure 1 présente les résultats des pourcentages d'ancêtres connus à chaque génération.

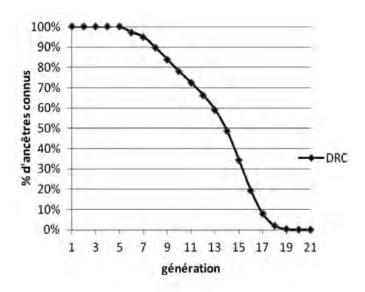


Figure 1- Evolution du pourcentage d'ancêtres connus suivant les générations dans la population DRC.

La connaissance des généalogies est maximale (100%) jusqu'à la génération 5 et décroît ensuite. Elle est de 78% à la dixième génération. A partir de la génération 17, moins d'un ancêtre sur 10 est connu.

Dans l'étude réalisée par Maignel et al. (1998), portant sur l'analyse de la variabilité génétique des races Large White, Landrace et Piétrain, l'analyse de la qualité des fichiers généalogiques montrait que 95% des ancêtres du Large White étaient connus en cinquième génération, 90% pour le Landrace et à peine 80% pour le Piétrain. En dixième génération, ce chiffre variait entre 5% pour le Piétrain et 80% pour le Large White Français. Les auteurs considéraient que la quantité d'information était suffisante pour permettre l'étude de la variabilité basée sur les analyses de la généalogie. De la même façon, dans l'étude de Maignel et Labroue (2001), la connaissance des générations pour les races Large White lignée femelle et lignée mâle, Landrace, Gascon, Basque, Blanc de l'Ouest, Limousin et Bayeux est considérée comme bonne avec un pourcentage d'ancêtres connus en cinquième génération variant selon les races entre 85% et 100%.

Le fichier généalogique de la population DRC est donc de très bonne qualité en comparaison à ces références antérieures. Cependant, les fondateurs initiaux de la lignée seront imparfaitement représentés, ce qui handicapera la bonne assignation raciale de chaque ancêtre.

2.2. Origines raciales du DRC.

Le tableau 1 décrit les principales caractéristiques des ancêtres efficaces obtenus par le calcul de la probabilité d'origine des gènes.

Tableau 1 - Description des ancêtres efficaces des femelles DRC actives ou en pré-troupeau en février 2010 et de phénotype Duroc.

Nombre d'ancêtres efficaces	48
Total de contribution	100%
Ancêtre apportant le maximum de contribution	9,87%
Ancêtre apportant le minimum de contribution	0,12%
Année de naissance de l'ancêtre le plus vieux	1994
Année de naissance de l'ancêtre le plus jeune	2006
Nombre d'ancêtres efficaces DRC	41
Nombre d'ancêtres efficaces DUG	6
Autre type génétique	1

Pour cette population femelle de type génétique DRC, 100% des gènes sont apportés par 48 ancêtres efficaces. L'ancêtre le plus important contribue pour 9,87% au génome de la population de février 2010. Les ancêtres sont de 3 types génétiques différents : DRC, DUG, et autre (Croisé Cul noir du Limousin).

Le plus vieil ancêtre efficace est né en 1994. Aucun des fondateurs de la lignée n'est considéré comme ancêtre efficace de cet échantillon de la population. Cela peut s'expliquer par la connaissance non exhaustive des généalogies et par la pression de sélection exercée sur le noyau. En effet, la connaissance de la généalogie ne permet de remonter qu'en 1989, or la lignée a été créée en 1986. De plus, 20 ans de sélection ont pu générer des goulots d'étranglement dans la population. En particulier, le peuplement de l'élevage de Bizy en 2004-2005, à partir de l'élevage fondateur, a pu provoquer un goulot d'étranglement majeur. Ces événements ont accentué les effets de la sélection et peuvent expliquer pourquoi l'étude des ancêtres efficaces ne remonte pas plus loin que 1994.

La présence de DUG et d'une autre population dans les ancêtres efficaces confirme l'import de sang extérieur dans la population DRC et surtout montre que des animaux issus de croisements entre DUG et DRC ont été conservés et utilisés pour le renouvellement du noyau DRC. La présence de 6 ancêtres DUG est le résultat de l'utilisation relativement importante et surtout récente de cette population Duroc pure.

Tableau 2 - Origines raciales des femelles actives ou en prétroupeau en février 2010 et de phénotype Duroc (DRC).

•	
Race	Contribution
Duroc	89,2%
Large White ou Landrace	9,6%
Autres	1,2%
Total	100%

Par cette approche, la population DRC femelle apparait comme majoritairement d'origine Duroc, à plus de 89%, (tableau 2) soit une valeur supérieure à la valeur définie par construction (87,5%) matérialisant l'apport de gènes Duroc réalisé entre la construction du noyau et la population actuelle. Le Large White et le Landrace sont les secondes races représentées dans le génome du DRC, pour une valeur de 9,56%. Il n'est pas possible de différencier l'apport du LW de celui du LR du fait de l'absence des fondateurs dans les ancêtres efficaces et dans leur pédigrée.

De façon plus anecdotique, des gènes de Cul Noir du Limousin et du Musclor (piétrain négatif halothane) sont également retrouvés. Les pourcentages de Duroc, Large White et Landrace restent cependant sujets à caution car basés sur une hypothèse de 87,5% à la création du livre généalogique.

Par ailleurs, comme le précisent De Rochambeau *et al.* (2003) cette méthode est une approche probabiliste sur la transmission mendélienne du polymorphisme. Elle ne prend pas en compte les mutations par exemple et donc ne rend pas totalement compte du polymorphisme réel.

2.3. Typage du gène MC1R4.

Nous disposons de 42 typages (2 ADN extraits n'ont pu être exploités par la technique PRC utilisée) du gène MC1R4 avec les informations du type de mutation sur chaque allèle de chaque individu. La fréquence d'apparition de la mutation T (ou allèle e) du gène MC1R dans l'échantillon de la population DRC est largement majoritaire (93%), cependant, il existe encore des individus ayant une version allélique codant pour une alanine. Ce résultat concorde avec l'augmentation du pourcentage de sang Duroc dans la population DRC par rapport à 1986, mais résulte également de la sélection sur la couleur. L'étude de Jerez et al. (2005) montre que la fréquence d'apparition de l'allèle e permet de connaître le pourcentage de sang Duroc dans une population.

Cependant, il faut nuancer ce résultat car, dans cette étude, le test a été effectué sur des porcs charcutiers pour 3 proportions de sang Duroc : 0%, 50% et 100%.

Ce pourcentage dans la lignée DRC variant probablement entre 87,5% (3 générations d'absorption) et 93,75% (4 générations d'absorption), cette méthode n'est peut être pas suffisamment précise pour distinguer des seuils aussi rapprochés.

La présence de l'allèle C sur des animaux de robe rousse uniforme peut également surprendre. Les nuances de roux observés sur les animaux expliquent peut-être ce résultat.

2.4. Analyse microsatellite.

Le typage microsatellite a été réalisé pour 6 populations et 40 marqueurs. Lors du typage des Duroc et du DRC, 2 marqueurs ont montré des résultats insuffisamment exploitables. En effet, l'attribution des versions alléliques pour ces deux marqueurs n'a pu être réalisée avec certitude que pour une dizaine d'individus. Ces 2 marqueurs ont en conséquence été exclus du jeu de données pour l'ensemble des calculs suivants. De la même façon, les individus ayant plus de la moitié des marqueurs sans résultats ont été exclus, un nombre trop important de données manquantes risquant de déséquilibrer et biaiser l'analyse. Le jeu de données à l'issue de ces éliminations se compose de 264 individus soit 45 DRB, 47 LR, 45 LW, 41 DRC, 42 DUG et 44 SOG.

La valeur de FST calculée pour l'échantillon total est de 0,18. Elle traduit une bonne structuration de l'échantillon par population d'origine (Wright, 1978). Ce résultat est corroboré par l'AFC (Figure 2), montrant aussi que les marqueurs microsatellites choisis permettent de réaliser une ségrégation de l'échantillon en fonction du type génétique. Les individus de la même population sont relativement bien regroupés entre eux. Les populations apparaissent distinctes les unes des autres, mis à part les 2 variétés de race Duroc (SOG et le DUG) qui sont partiellement imbriquées.

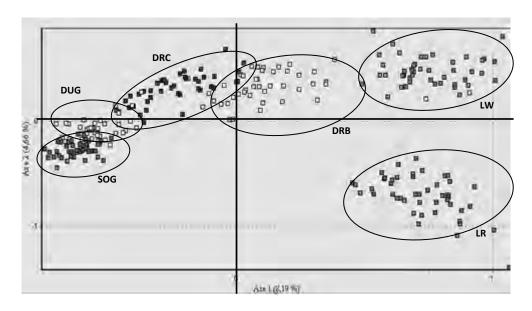


Figure 2 - Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) des 264 animaux génotypés pour 38 microsatellites. Chaque point correspond à un individu, chaque ellipse à une population.

L'axe 1 de l'AFC explique 8,19% de la variance de l'échantillon. Il sépare les variétés de race Duroc (à gauche sur la Figure 2) des races sans gène Duroc (Large White et Landrace, sur la

droite). L'axe 2 qui explique 4,66% de la variabilité de l'échantillon sépare les Large White (en haut), des Landrace (en bas).

Ce positionnement du DRC entre le noyau DRB, lignée ayant une même origine, et les Duroc, traduit une différence de pourcentage de gènes Duroc entre ces deux lignées.

Le nuage de points met en évidence, comme attendu, une plus grande proximité des populations d'une même race (les Duroc) et un positionnement des lignées composites entre les races constituantes. Les DRB et les DRC se positionnent au dessus de l'axe 2, donc plus près du LW que du LR.

Cela peut signifier que, lors de la construction du noyau, une majorité de mères était d'origine LW. Cependant, cela peut également être dû à la sélection faite sur ces lignées.

Plus finement, pour le noyau DRC, il apparaît que les individus se positionnant au niveau du noyau DUG sont ceux qui ont un ancêtre DUG en première ou en deuxième génération et donc une part de sang Duroc plus importante. A l'inverse, les animaux positionnés sur l'AFC au niveau des individus DRB n'ont que des ancêtres de type DRC, et n'ont donc que 87,5% de sang Duroc.

2.5. Composition du DRC.

Les résultats de l'assignation bayésienne sont présentés dans le tableau 3. Le Duroc SOG n'a pas été utilisé ici pour éviter un déséquilibre des tailles d'échantillon.

Tableau 3 - Assignation bayésienne des quatre populations en 3 groupes selon leurs caractéristiques moléculaires

Population présumée	Appai	Nombre d'individus		
	1	2	3	
DRC	0,009	0,917	0,075	41
DUG	0,002	0,996	0,002	42
LD	0,961	0,006	0,033	49
LW	0,042	0,006	0,952	50

Le cluster n° 1 correspond à la population LR, le n°2 au Duroc, le n°3 à la population LW. Le DRC est assigné dans 91,7% des cas au cluster n° 2 (Duroc). Le pourcentage d'assignation avec le cluster n° 3 (LW) est de 7,5% et 0,9% pour le LR. Le même travail réalisé avec 50 individus Duroc, 50% SOG et 50% DUG montre des résultats légèrement différents.

En effet, le pourcentage de similitude avec le Duroc n'est plus que de 87,8% et passe à 11,3 pour le LW (la valeur pour le LR ne change pas). Outre la taille réduite des échantillons, la différence de résultat entre les modèles peut s'expliquer par le lien qui existe entre les races pures et la lignée DRC. L'objectif de ce travail était de voir le lien entre le DRC aujourd'hui et les races pures qui la composent.

Le Duroc SOG n'est pas à l'origine du DRC alors que le DUG l'est au moins en partie. L'observation de l'AFC montre que la caractérisation à partir de ce panel microsatellite sépare distinctement les deux populations issues de la même race et que, par conséquent, l'utilisation de l'une ou de l'autre peut faire varier le résultat. Cette observation ne s'applique pas ou peu pour les lignées LW et LR puisque les échantillons utilisés ici ont les mêmes origines ancestrales que les LW et LR qui ont permis la création du DRC.

Le tableau 3 donne un pourcentage d'assignation entre le DRC et le Duroc du même ordre de grandeur que les méthodes précédentes. Le pourcentage de lien avec le LW et le LR donné ici quantifie les observations faites sur la figure 2. La part de LW dans le DRC serait plus importante que celle du LR, sans que l'on puisse dire si c'est le cas depuis la construction ou si c'est un effet dû à l'échantillonnage ou à la sélection.

CONCLUSION

Cette étude montre que l'analyse de la généalogie et l'analyse moléculaire apportent des résultats similaires sur le pourcentage de sang Duroc de la lignée DRC. L'analyse de la généalogie permet de mettre en évidence les apports de gènes extérieurs et leurs impacts sur la population actuelle. L'analyse microsatellite permet d'estimer le pourcentage de gènes LW et LR dans la population sans notion du pourcentage de départ. Ces deux méthodes sont concordantes et complémentaires, et permettent une analyse fine de la composition raciale de cette lignée composite qui, en fonction des orientations prises dans la sélection, pourrait être également considérée comme une variété de race Duroc.

REMERCIEMENTS

Les auteurs souhaitent remercier Nicole Dion de la COOP Fédéré du Québec et Carmen Rodriguez Valdovinos de l'INIA (Madrid) pour leur participation technique à l'étude.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Belkhir K., Borsa P., Goudet J., Chikhi L. Bonhomme F., 1998. GENETIX, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome et Populations, CNRS UPR 9060, Université de Montpellier II, Montpellier, France.
- Boichard D., 2002. Pedig: a fortran package for pedigree analysis suited to large populations. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, 28-13.
- Delgado R., Torrento N., Trilla N., Collell E., Ballester J., Tibau J., 2002. Aplicación de microsatélites en la identificación genética de reproductores y en el estudio de parentesco en poblaciones porcinas de selección de las razas Piétrain y Duroc, www.acteon.webs.upv.es.
- De Rochambeau H., Verrier E., Bidanel J.P., Maignel L., Labroue F., Tribout T., Palhière L., Astruc J.M., Barillet F., Chapuis H., 2003. Mise en place de procédures de suivi de la variabilité génétique des populations animales domestiques sélectionnées et établissement de guides de gestion : applications aux ovins laitiers et aux porcs. Les Actes du BRG, 4, 17-34.
- Jerez F.M., Navarro G., Carrion D., 2005. Aplicación de un test de ADN (PICSpecTM) para la determinación del contenido de la raza Duroc en carne y curados en el mercado Español. Tercero Congreso Mundial del Jamón, 373-375.
- Kijas J.M.F., Wales R., Törnsten A., Chardon P., Moller M., Anderson L., 2001. A frameshift mutation in MC1R and a high frequency of somatic reversions cause black spotting in pigs. Genetics, 158,779-785.
- Legault C., Chardon P., 2000. Génétique de la coloration de la robe chez le Porc. Journées Rech. Porcine, 32, 385-395.
- Maignel L, Tribout T., Boichard D., Bidanel J.P., Guéblez R., 1998. Analyse de la variabilité génétique des races porcines Large White, Landrace Français et Piétrain, sur la base de l'information généalogique. Journées Rech. Porcine, 30, 109-116.
- Maignel L., Labroue F., 2001. Analyse de la variabilité génétique des races porcines collectives et des races locales en conservation à partir de l'information généalogique. Journées Rech. Porcine, 33, 111-117.
- Montgomery G.W., Sise J.A., 1990. Extraction of DNA from sheep white blood cells. New Zealand Journal of Agricultural Research 33, 437–441.
- Pritchard J.K., Stephens M. & Donnelly P., 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics, 155, 945-59.
- SanCristobal M., Chevalet C., Haley C.S., Joosten R., Rattink A.P., Harlizius B., Groenen M.A.M., Amigues Y., Boscher M.Y., Russell G., Law A., Davoli R., Russo V., Désautés C., Alderson L., Fimland E., Bagga M., Delgado J. V., Vega-Pla J. L., Martinez A.M., Ramos M., Glodek P., Meyer J.N., Gandini G.C., Matassino D., Plastow G.S., Siggens K.W., Laval G., Archibald A., Milan D., Hammond K., Cardellino R., 2006. Genetic diversity within and between European pig breeds using microsatellite markers. Animal Genetics, 37, 189–198.
- Wright S., 1978. The relation of livestock breeding to theories of evolution. J. Anim. Sci., 46, 1192-1200.

Recherche de causes génétiques des anomalies congénitales majeures chez le porc

Juliette RIQUET (1), Marie-José MERCAT (2), Nathalie IANNUCCELLI (1), Bertrand SERVIN (1), Eric PAILHOUX (3), Catherine LARZUL (4)

(1) INRA, UMR444, LGC, 31326 Castanet-Tolosan, France
(2) IFIP-Pôle génétique, la Motte au Vicomte, 35651 Le Rheu cedex, France
(3) INRA, UMR1198, BDR, 78352 Jouy-en-Josas, France
(4) INRA, UMR1313, GABI, 78352 Jouy-en-Josas, France

juliette.riquet@toulouse.inra.fr

Avec la collaboration des Organisations de Sélection Porcine membres de BIOPORC : ADN, GENE+, Nucleus et Pen Ar Lan

Recherche de causes génétiques des anomalies congénitales majeures chez le porc

Bien que la fréquence des anomalies congénitales soit relativement faible (environ 1%), leur impact en production porcine est significatif. Elles provoquent le plus souvent un mal-être des animaux et une dépréciation des carcasses à l'abattoir induisant des pertes économiques. Les anomalies les plus courantes chez le porc sont les hernies inguinales/scrotales, la cryptorchidie et l'intersexualité. En 2006, BIOPORC (l'IFIP et les Organisations de Sélection Porcine ADN, GENE+, Nucleus et Pen Ar Lan) a inscrit cette problématique dans ses priorités et deux programmes de recherche, ANOPORC (Ministère de l'Agriculture 2007-2008) et SwAn (ANR 2009-2012), ont été mis en place en partenariat entre l'INRA et BIOPORC. L'objectif de cette présentation est de faire un état des lieux de la banque de données phénotypiques et moléculaires mise en place dans le cadre d'ANOPORC et de présenter les premiers résultats d'utilisation de cette collection pour la recherche des gènes responsables de l'apparition de ces anomalies (SwAn). Les outils moléculaires disponibles chez le porc permettent en effet de réaliser aujourd'hui une analyse systématique de l'ensemble du génome et de mettre en évidence les régions chromosomiques portant des gènes responsables de ces défauts ou de leur apparition en interaction avec l'environnement. Un signal fort d'association entre le caractère intersexué et des marqueurs d'une petite région du chromosome 12 a été identifié. Ces résultats prometteurs seront présentés afin d'illustrer la stratégie également mise en œuvre sur les hernies scrotales/inguinales et la cryptorchidie.

Genetic factors influencing major congenital anomalies in pigs.

Although the incidence of congenital anomalies is quite low (around 1%), it is a significant problem in the pig industry. These defects have a serious impact on animal welfare and result in economic losses due to carcass depreciation. The most important congenital defects that occur in piglets are scrotal or inguinal hernias, cryptorchidism, and intersexuality. In 2006, it was declared a priority by BIOPORC (IFIP and the French pig breeding companies ADN, GENE+, Nucleus and Pen Ar Lan) and two research projects, ANOPORC (Ministère de l'Agriculture 2007-2008) and SwAn (ANR 2009-2012), were initiated in collaboration with INRA. The aim of this paper was to describe the phenotypic and molecular datasets, developed as part of the ANOPORC project, and to present some of the first findings from the efforts to identify genes underlying congenital anomalies (SwAn). Available molecular tools in swine enable large scale, genome wide association studies to identify chromosomal regions containing causal genes. A strong association signal has been identified between intersexuality and a small region located on chromosome 12. These results are just one example of the approach that will be used to identify genes involved in scrotal/inguinal hernias and cryptorchidism.

INTRODUCTION

L'existence d'anomalies congénitales chez le porc est une préoccupation importante en production porcine en raison du mal-être des animaux et des pertes économiques qu'elles entraînent. Les anomalies les plus fréquentes sont les hernies scrotales et inguinales, la cryptorchidie et l'intersexualité; dans une moindre mesure les atrophies ou dissymétries testiculaires, les atrophies de la vulve, les anus imperforés (atrésie anale), le prognathisme facial, le phimosis, la rétention urinaire et les tremblements sont également rencontrés dans les élevages (à différents étages de la pyramide de production). Au total, toutes anomalies confondues, on estime que 1% des animaux seraient touchés, et en Europe la perte économique due à ces défauts est estimée à plusieurs millions d'euros par an. L'impact de ces défauts sur le bien-être des animaux n'est également pas à sous-estimer, certaines de ces anomalies causant une mortalité accrue des porcelets, d'autres nécessitant l'euthanasie des animaux. Parallèlement aux facteurs alimentaires et environnementaux, des causes génétiques ont été mises en évidence pour les principales anomalies et plusieurs études ont été réalisées afin d'estimer les paramètres génétiques dans différentes races porcines.

Dans les populations françaises, des valeurs d'héritabilité de 0,37, 0,11 et 0,81 ont respectivement été obtenues pour les hernies scrotale/inguinale, la cryptorchidie et l'intersexualité (Larzul *et al.*, 2008). Au cours des dix dernières années, l'avancée des connaissances en génomique porcine a permis d'envisager la recherche des causes moléculaires sousjacentes et l'identification des gènes et mutations causales.

Si de nombreuses équipes scientifiques ont entrepris cette recherche, aucune mutation n'a pu être identifiée à ce jour. Depuis 2006, les organisations de sélection porcine (OSP) ADN, GENE+, Nucleus et Pen Ar Lan et l'IFIP, fédérés au sein de BIOPORC, ont décidé de mettre en place, en collaboration avec l'INRA, un dispositif de recherche destiné à développer un outil moléculaire permettant la contre sélection de ces défauts dans les populations porcines françaises.

Dans un premier temps, des fiches descriptives des principales anomalies ont été réalisées pour servir d'appui aux professionnels afin de réaliser au fur et mesure du temps une collection de données phénotypiques et d'échantillons biologiques exploitables en génétique moléculaire (programme ANOPORC). Depuis janvier 2009, cette collection est utilisée dans le cadre d'une étude d'association pangénomique afin d'identifier les régions du génome contenant les gènes responsables des anomalies (ou de leur apparition) les plus fréquentes (programme SwAn).

La démarche suivie et les premiers résultats obtenus dans le cadre de ce programme sont présentés.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Les animaux

Les animaux utilisés dans le cadre du programme SwAn sont issus de la collection ANOPORC. L'échantillonnage est réalisé au sein de portées présentant au moins un porcelet atteint d'une anomalie (voire deux descendants dans le cas des hernies). Une prise de sang ou un échantillon biologique est prélevé sur les porcelets atteints, sur deux pleins-frères (sœurs) sains du même sexe que les animaux malades et sur

leurs mères. Parallèlement, une description de l'anomalie est enregistrée. Cette collection est réalisée, pour l'essentiel, dans des noyaux de sélection d'animaux de race pure issus des OSP membres de BIOPORC et des unités expérimentales INRA. Quelques familles intersexuées sont issues de croisements réalisés à l'INRA entre 1991 et 1997. Tous les échantillons sont stockés à l'INRA, excepté l'échantillon de chaque père, chaque verrat étant systématiquement stocké dans d'autres collections de matériel (BAP: Banque d'ADN Porcine ou autre). Parmi la collection ANOPORC, un premier lot de 309 animaux atteints a été sélectionné comprenant 170 animaux présentant une hernie scrotale, 79 cryptorchides et 60 intersexués ainsi que leurs parents respectifs.

Un échantillon d'ADN a été préparé pour chaque individu afin de réaliser (1) un contrôle de filiation à l'aide d'un jeu de 10 marqueurs microsatellites et de valider les apparentements au sein de chaque famille nucléaire, (2) le génotypage du locus SRY par PCR à l'aide d'un couple d'amorces ciblant le gène, et (3) le génotypage des marqueurs SNP (Single Nucleotide Polymorphism).

1.2. L'analyse de la puce SNP

L'analyse de marqueurs moléculaires balisant la totalité du génome a été réalisée à l'aide de la puce pangénomique 60K. Cette puce générique, commercialisée par Illumina, a été développée dans le cadre d'un consortium international impliquant les laboratoires de recherche majeurs travaillant sur le porc. Cet outil permet de déterminer simultanément le génotype d'un individu pour 64 232 marqueurs moléculaires de type SNP. En moyenne, chaque intervalle génétique de 1 cM est balisé par une vingtaine de marqueurs bi-alléliques.

1.3. Analyse statistique

Un **TDT** (Transmission Disequilibrium Test) a été réalisé pour chaque marqueur (Spielman *et al.*, 1993). Le principe consiste à tester s'il existe, au sein de familles nucléaires, une distorsion de transmission d'un des deux allèles d'un parent hétérozygote vers sa descendance atteinte. Ce test permet de détecter une association entre un marqueur (SNP) et une maladie **en présence** de liaison gamétique. La robustesse du TDT résulte dans le fait que le test de liaison permet d'exclure des marqueurs présentant des associations fortuites avec la maladie en raison, par exemple, d'une structuration en souspopulations.

Tableau 1 – Synthèse des différentes transmissions alléliques possibles d'un parent à sa descendance pour un SNP bi-allélique (génotypes possibles : A/A, A/C et C/C).

		Allèle non transmis		
Allèle transmis		Allèle A	Allèle C	
	Allèle A	а	b	
	Allèle C	С	d	

Les cellules grisées d'effectif a et d, correspondent aux situations où le parent est homozygote A/A ou C/C.

Pour chaque marqueur, la transmission des allèles de chaque parent à sa descendance peut être résumée selon le tableau 1.

Afin de tester la liaison, seuls les parents hétérozygotes pour le SNP sont pris en compte dans le TDT (correspondant aux effectifs b et c du tableau 1). La distorsion de transmission (lorsque les ratios b/(b+c) et c/(b+c) sont significativement différents de 0,5) peut être testée à l'aide d'un test de χ^2 à un degré de liberté.

2. RESULTATS

2.1. La collection ANOPORC

La collection ANOPORC a été initiée en 2006 et est destinée à recueillir des échantillons pour n'importe quelle anomalie congénitale porcine. L'objectif initial était d'obtenir le plus

rapidement possible, pour les anomalies les plus fréquentes, un minimum de 100 familles nucléaires (père, mère, descendants sains et atteints). En moyenne, les familles d'une trentaine d'animaux atteints sont collectées chaque mois. La figure 1 présente l'évolution de cette collection depuis sa création. Au 1^{er} juillet 2010, la base ANOPORC comprenait 1484 échantillons d'animaux atteints d'une anomalie congénitale. Les anomalies les plus fréquemment représentées sont les hernies scrotales et inguinales (46%), la cryptorchidie (24%) et l'intersexualité (11%). Les cas de hernie ombilicale, de splayleg, de trembleur représentent 14% de la collection. Enfin pour certaines maladies rares, moins de 3 familles ont été collectées à ce jour.

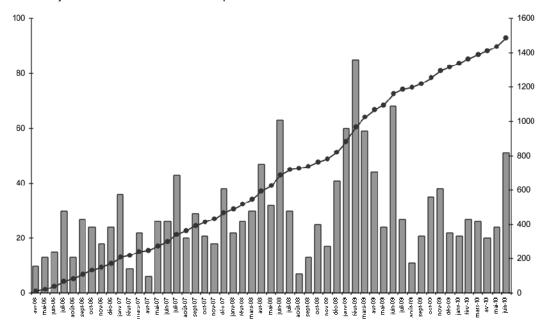


Figure 1 - Evolution du nombre d'échantillons d'animaux atteints d'une anomalie congénitale collectés depuis avril 2006 (nombre mensuel (échelle de gauche) et nombre cumulé (échelle de droite)).

2.1. Analyse moléculaire de la collection ANOPORC

Seuls les résultats obtenus à partir des familles intersexuées seront présentés comme illustration de la démarche du programme de recherche SwAn.

Chez le porc la fréquence de l'intersexualité varie de 0,1 à 0,5% chez les femelles. Ce défaut est le plus souvent détecté en cours de croissance en raison du développement de caractères morphologiques de type mâle, parfois à l'abattoir par l'identification de testicules en position abdominale. A l'abattoir, l'incidence de l'intersexualité est estimée supérieure à 0,2%. Les conséquences en élevage de cette anomalie sont des problèmes de stérilité, d'infections génitales, de croissance réduite et de déclassement de carcasses à l'abattoir en raison de problèmes de teneur accrue en androsténone. Ces animaux peuvent également présenter des comportements plus agressifs en élevage. Chez le porc, trois origines possibles de cas d'intersexualité ont été identifiées dans les années 1990. La première identifiée (4% des cas), est la conséquence de mosaïcisme induisant la présence simultanément de cellules des deux sexes, 38XX et 38XY (19 paires de chromosomes dont une paire de chromosomes sexuels respectivement XX ou XY). La seconde, et la moins fréquente (2% des cas), résulte de la

présence d'une petite portion du chromosome Y, contenant le gène SRY (Sex-determining Region of the Y chromosome), chez des individus de caryotype (38XX). Dans ces deux cas l'intersexualité est due à la présence et à l'expression du gène SRY, identifié en 1990 comme étant le facteur induisant la première étape de la différenciation gonadique en testicule, à partir de la crête urogénitale foetale.

Les cas d'intersexualité de la catégorie la plus fréquente (94%) sont des animaux de caryotype femelle (38XX) pour lesquels le phénotype intersexué est indépendant de l'expression du locus SRY. Ces cas seraient déterminés par un ou plusieurs locus autosomaux (Pailhoux *et al.*, 2001). L'objectif de ce programme étant de rechercher les gènes (autres que SRY) induisant des problèmes d'inversion sexuelle, un criblage SRY préalable des animaux collectés a été réalisé.

Parmi les individus classés intersexués, 9 ont répondu positivement au test de recherche de SRY et ont été écartés de la suite de l'analyse. Au total, 60 animaux atteints issus de 21 pères et de 36 mères différents ont été sélectionnés pour être génotypés à l'aide de la puce 60 K.

Parmi les familles sélectionnées certaines étaient issues de la collection ANOPORC, d'autres provenaient des familles collectées à l'INRA dans les années 1990.

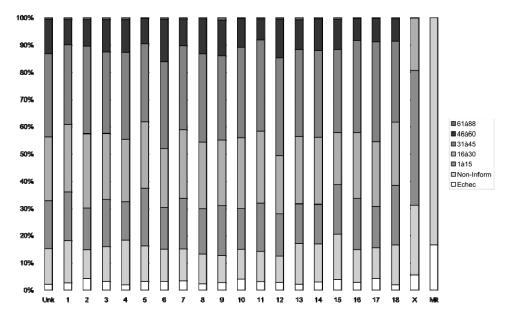


Figure 2 - Informativité des marqueurs SNP de la puce 60K utilisée pour l'analyse des familles LW intersexuées. Les marqueurs sont répartis en classes de nombres de méioses exploitables dans l'analyse TDT. Ces pourcentages sont indiqués pour chaque chromosome (Unk : chromosome inconnu (ensemble des marqueurs non assignés pour le moment à un chromosome);

1 à 18 : chacun des 18 autosomes (du chromosome 1 au chromosome 18), X : chromosome X, Mit : mitochondrie).

Le programme SwAn étant un des premiers programmes à tirer parti de la puce 60K, peu d'informations étaient disponibles sur la qualité de cet outil, comme l'informativité des marqueurs génotypés. Les 64 232 SNP constituant cette puce ont été choisis sur la base des fréquences alléliques de chaque marqueur, calculées sur un échantillonnage d'animaux issus de races et populations différentes.

Dans le cas de l'étude que nous avons réalisée sur les animaux intersexués, les familles sélectionnées et analysées en TDT étaient toutes de race LW. La figure 2 résume le nombre de marqueurs informatifs par chromosome : 16% des SNP en moyenne n'ont pu être exploités dû à un échec de génotypage ou parce que l'ensemble des parents du dispositif étaient homozygotes (et donc non-informatifs). En moyenne, sur l'ensemble du génome, 58% des marqueurs

permettaient au mieux de ne tirer parti que de 30 méioses sur les 120 du dispositif (2 méïoses x 60 descendants intersexués). En moyenne, ces taux sont équivalents quel que soit l'autosome. Par ailleurs, intra-chromosome, les marqueurs les moins informatifs sont répartis tout au long du chromosome.

Le segment chromosomique le plus long, homozygote chez tous les fondateurs de ces familles, est localisé sur le chromosome 4 et est constitué de 16 marqueurs non-informatifs successifs couvrant un intervalle de 1 Mb.

Ces résultats confirment que ces approches moléculaires ne peuvent être entreprises que lorsque le nombre de familles nucléaires et de descendants atteints collectés ne sont pas trop faibles, la perte d'informativité entrainant une perte de puissance pour l'analyse d'association.

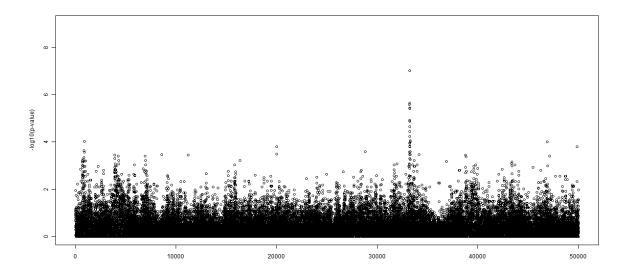


Figure 3 - Résultats des analyses TDT réalisées pour chacun de SNP informatifs de la puce pangénomique. Sur l'axe des X, les marqueurs informatifs sont ordonnés le long du génome ; l'axe des Y indique la valeur -log10 (p-value) du test de χ^2 réalisé. La flèche indique les marqueurs les plus significatifs localisés sur le chromosome 12.

L'analyse TDT a été réalisée pour l'ensemble des familles génotypées et pour chaque SNP de la puce pangénomique (Figure 3). Les 18 marqueurs les plus significatifs (p-value < 10⁻⁴) sont tous localisés dans un seul intervalle du chromosome 12. Le marqueur présentant l'association la plus importante est significatif au seuil de 5% à l'échelle du génome (correction pour le nombre d'analyses réalisées à partir de l'ensemble des marqueurs testés). Pour ce marqueur, 36 méioses ont été prises en compte dans l'analyse TDT : 34 fois l'allèle « A » a été transmis d'un parent hétérozygote à sa descendance atteinte alors que l'allèle « G » n'a été transmis que deux fois. Des analyses TDT ont été également réalisées sur deux sous-jeux de familles correspondant aux animaux nés dans les années 1990 dans les unités expérimentales INRA et les familles de la collection ANOPORC collectées depuis 2006. Les résultats obtenus indiquent que chaque sous-ensemble contribue au signal global obtenu, et permettent de conclure que la même cause génétique est responsable du phénotype intersexué chez ces animaux échantillonnés à 15 ans d'intervalle environ.

Les études de ségrégation initiales semblaient indiquer que cette anomalie pouvait être déterminée par plusieurs locus ; les résultats obtenus dans cette analyse portent à croire qu'en population LW, l'intersexualité est causée essentiellement par un seul gène.

Jusqu'à présent ces analyses nous ont permis de cartographier ce locus dans un intervalle de petite taille (2 Mb) comprenant un gène candidat potentiel.

Au cours des mois à venir, un échantillonnage de familles complémentaires de la collection ANOPORC sera génotypé à l'aide de la puce afin de confirmer ce résultat et de tenter de réduire l'intervalle de localisation. Parallèlement, un sous-jeu de marqueurs spécifiques de la région candidate sera analysé sur les demi-sœurs non-intersexuées collectées comme échantillons témoins : les allèles des marqueurs préférentiellement associés à la maladie doivent être sous-représentés dans l'échantillonnage des animaux sains.

A plus long terme, le séquençage systématique d'animaux intersexués et d'animaux témoins sera réalisé afin de rechercher l'ensemble des variations de séquence différenciant, dans cet intervalle, les animaux sains des malades.

Ces travaux de cartographie fine, combinés à des analyses fonctionnelles des gènes de la région, devraient nous permettre d'aboutir à l'identification de marqueurs moléculaires utilisables en sélection assistée par marqueurs voire à l'identification de la mutation causale.

CONCLUSION

L'objectif des programmes ANOPORC et SwAn était de caractériser les causes moléculaires associées aux anomalies congénitales majeures affectant la production porcine française. Nous avons fait le choix de mener cette recherche à partir d'animaux issus des schémas de sélection et non via la mise en place de croisements expérimentaux dans les unités expérimentales de l'INRA. Compte tenu de la fréquence relativement faible de ces anomalies, les 3 premières années ont été destinées à mettre en place, documenter et enrichir la base ANOPORC.

Depuis janvier 2009, des recherches moléculaires ont été initiées. Les résultats obtenus à partir d'animaux atteints d'intersexualité, présentés ci-dessus sont prometteurs ; parallèlement la même démarche a été suivie à partir de familles atteintes d'hernies scrotales/inguinales et de cryptorchidie. Des résultats intéressants ont été obtenus pour les hernies, que nous devrons néanmoins confirmer dans les mois à venir.

Les causes de ces anomalies sont peu connues et d'origines diverses (alimentation, sanitaire et génétique).

Ce travail devrait nous permettre de mieux connaître les facteurs génétiques de certaines maladies et de prendre en compte le génotype des animaux aux gènes responsables dans le choix des reproducteurs.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Larzul C., Delaunay I., Schwob S,. Mercat M.J., 2008. Paramètres génétiques des principales anomalies congénitales porcines. Journées Rech. Porcine, 40, 141-142.
- Pailhoux E., Pepin-Mandon B., Cotinot C., 2001. Mammalian gonadal differenciation: the pig model. Reproduction. Suppl 58, 65-80.
- Spielman R.S., McGinnis R.E., Ewens W.J. (1993). "Transmission test for linkage disequilibrium: the insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM)". Am J Hum Genet. 52 (3), 506–16.

La sélection génomique : principe et perspectives d'utilisation pour l'amélioration des populations porcines

Thierry TRIBOUT (1,2), Jean-Pierre BIDANEL (1,2), Florence PHOCAS (1,2), Sandrine SCHWOB (1,2,3),
François GUILLAUME (1,2,4), Catherine LARZUL (1,2)

(1) INRA, UMR1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, 78350 Jouy-en-Josas, France
(2) AgroParisTech, UMR1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, 75005 Paris, France
(3) IFIP-Institut du Porc, 35650 Le Rheu, France
(4) Institut de l'Elevage, 75012 Paris, France

thierry.tribout@jouy.inra.fr

La sélection génomique : principe et perspectives d'utilisation pour l'amélioration des populations porcines

L'évaluation génomique est une nouvelle méthodologie d'estimation de la valeur génétique des animaux d'élevage. Son principe est de subdiviser le génome en un très grand nombre de segments chromosomiques (SC) déterminés par un ou plusieurs marqueurs SNP (Single Nucleotide Polyrphism), d'estimer l'effet de chacun de ces SC sur les caractères d'intérêt dans une population de référence (PR) phénotypée et génotypée pour ces marqueurs, puis de calculer la valeur génomique d'individus non phénotypés en sommant les effets estimés des SC portés par ces individus. Les méthodes d'estimation des effets des SC sont nombreuses et variables en termes de précision et de temps de calculs. L'efficacité d'une sélection fondée sur cette méthodologie augmente avec l'héritabilité du caractère considéré, la taille de la PR et le niveau de déséquilibre de liaison entre marqueurs adjacents, mais est plus faible dans les populations de grand effectif génétique ou lorsque la distance génétique entre la PR et les individus évalués est grande. Chez le porc, la sélection génomique pourrait permettre d'améliorer les populations pour des caractères non mesurables en routine, d'augmenter la précision des valeurs génétiques estimées, et de sélectionner les individus de l'étage de sélection pour leur valeur en croisement et en milieu de production. Les coûts de mise en œuvre d'une sélection génomique chez le porc seraient élevés, en raison principalement de la taille des PR nécessaires à une évaluation précise et du nombre élevé de candidats à génotyper. Le partage de PR par les différentes Organisations de Sélection et le recours aux techniques d'imputation génotypiques permettraient de maîtriser ces coûts.

Genomic selection: principles and possible uses in pig genetic improvement schemes

Genomic evaluation is a new methodology to estimate the breeding value of livestock. Its principle is to subdivide the genome into a very large number of chromosomal segments (CS) determined by one or several SNP (Single Nucleotide Polymorphism) markers, to estimate the effect of each of these CS on the traits of interest in a reference population (RP) phenotyped and genotyped for these markers, and then to calculate the genomic value of unphenotyped animals by summing the estimated effects of the CS carried by these individuals. The methods to estimate the effects of the CS are numerous, and vary in terms of accuracy and computing time. The efficiency of a selection based on this methodology increases with the heritability of the considered trait, the size of RP and the level of linkage disequilibrium between adjacent markers, but is lower in populations with a large effective size or when the genetic distance between the RP and the evaluated animals is large. In pigs, genomic selection could be used to improve populations for traits too costly to be recorded routinely, to increase the accuracy of the estimated breeding values, and to select the nucleus populations for their crossbred value expressed in a commercial environment. The implementation of genomic selection in pigs would be costly, mainly because of the size of the RP required to estimate accurate breeding values and the high number of candidates that should be genotyped. The sharing of RP by several breeding organizations and the use of genotypes imputation techniques would help reduce the implementation costs.

INTRODUCTION

Jusqu'à récemment, la grande majorité des programmes d'amélioration génétique des populations animales d'élevage s'appuyaient sur le « modèle infinitésimal », qui considère le génome comme une « boite noire » contenant un très grand nombre de gènes non identifiés ayant chacun un effet très faible sur les caractères. Le principe sous-jacent à ce modèle est qu'un individu porteur d'allèles favorables aux gènes impliqués dans le déterminisme d'un caractère aura de bonnes performances, et qu'il va transmettre à ses descendants une partie de ses allèles et donc de sa supériorité. On peut ainsi estimer la valeur génétique des individus d'une population à partir de leurs performances propres et/ou de performances d'individus apparentés (les individus apparentés portant des allèles identiques pour un nombre de gènes proportionnel à leur degré de parenté) et d'informations généalogiques. La sélection des allèles favorables aux gènes dans la population se fait ainsi implicitement, sans avoir besoin de s'intéresser aux gènes eux mêmes.

Chez le porc, comme dans les autres espèces, les programmes d'amélioration génétique fondés sur le modèle infinitésimal ont été (et demeurent) très efficaces, comme en témoignent les évolutions génétiques réalisées au cours des précédentes décennies (voir par exemple Tribout et al., 2003, 2004). Cependant, en dépit de sa simplicité et de son efficacité, il est évident que le « modèle infinitésimal » ne reflète qu'imparfaitement la réalité. On connaît en effet depuis longtemps des gènes ayant un effet majeur sur les performances, et on peut supposer qu'il existe un nombre non négligeable de gènes d'effet important. Il est alors tentant de sélectionner directement les individus de la population pour leur génotype à ces gènes, afin de fixer les allèles favorables plus rapidement qu'avec les programmes classiques.

Le génotype des individus à un gène d'intérêt n'est cependant en général pas accessible, le gène lui-même n'étant la plupart du temps même pas identifié (on sait seulement qu'il se trouve dans une région plus ou moins précise du chromosome, on parle alors de locus à effet quantitatif ou QTL); on est donc contraint de se contenter du génotype des individus à des « marqueurs » de ce gène (ou de ce QTL) pour distinguer les individus porteurs d'allèles favorables ou défavorables. Ces marqueurs peuvent être de nature diverse: visuels (coloration de la robe de l'animal), physiologiques (réaction de l'animal à un stimulus externe), biochimiques (protéines sanguines), ou encore génétiques (fragments d'ADN), et doivent présenter différentes formes dans la population, associées (dans l'idéal le plus étroitement possible) aux différents allèles du gène ou du QTL. La connaissance du variant d'un marqueur porté par un individu permet ainsi de savoir indirectement, avec toutefois parfois un risque de se tromper, si l'individu est génétiquement intéressant car porteur d'un allèle favorable au gène ou au QTL (et mérite donc d'être mis à la reproduction afin de transmettre sa supériorité à ses descendants) ou pas (et doit dans ce cas être réformé). Cette pratique est connue sous le nom de « sélection assistée par marqueurs » (SAM), dont l'une des toutes premières applications en sélection animale fut l'éradication de l'allèle de sensibilité à l'halothane dans la population porcine Landrace Français dans les années 1980. Ce programme est néanmoins longtemps resté la seule application de la SAM chez le porc, faute de marqueurs disponibles permettant de mettre en évidence des gènes d'effets moins marqués.

Dans les années 1990, la découverte des marqueurs microsatellites et la production dans les différentes espèces animales d'élevage de cartes génétiques (Archibald et al., 1995) constituées grâce à ces marqueurs ont attisé l'enthousiasme de la communauté scientifique pour la SAM. De nombreux programmes de recherche ont été réalisés, conduisant à la mise en évidence d'un nombre important de QTL dans l'ensemble des espèces animales de rente. Des programmes de SAM ont été mis en place avec succès dans plusieurs espèces, en France par exemple chez les bovins laitiers (Fritz et al., 2003) ou encore chez les ovins pour la résistance à la tremblante (Sidani et al., 2010). Dans l'espèce porcine en revanche, force est de constater qu'à ce jour, les applications de la SAM ont été très peu nombreuses (Van der Steen et al., 2005; Luther et al., 2009 Schwob et al., 2009) en dépit des centaines de QTL localisés (Hu et al., 2010). Cette situation s'explique principalement par le fait que les marqueurs microsatellites, seuls marqueurs disponibles jusqu'à récemment, sont généralement en équilibre de liaison avec les QTL au niveau d'une population (obligeant à raisonner intra-famille ce qui complique les programmes de SAM), et éloignés des mutations causales (d'où une diminution rapide de l'efficacité de la sélection en raison des recombinaisons entre marqueurs et QTL).

Au cours des dernières années, les progrès du séquençage des génomes humains et des principales espèces domestiques ont permis de mettre en évidence un nouveau type de marqueurs répartis sur l'ensemble du génome et en nombre extrêmement élevé (plusieurs centaines de milliers à plusieurs millions de marqueurs sur l'ensemble d'un génome) : les marqueurs SNP, dont le polymorphisme consiste en la variation d'une seule base nucléotidique (« Single Nucleotide Polymorphism »). Grâce au développement de puces à SNP, il est aujourd'hui possible de génotyper très rapidement et pour un coût modéré (moins de 200€) un individu pour plusieurs dizaines de milliers de SNP. Avec une telle densité de marqueurs, les QTL sont obligatoirement en déséquilibre de liaison avec les SNP les plus proches, et le suivi de la transmission de l'ensemble du génome grâce aux marqueurs permet de suivre la transmission de tous les gènes intervenant sur un phénotype.

En 2001, Meuwissen *et al.* (2001) ont montré qu'en subdivisant le génome en un très grand nombre de segments déterminés par un ou plusieurs marqueurs, puis en estimant l'effet de chaque segment grâce à un échantillon d'individus phénotypés et génotypés pour ces marqueurs, on peut, en sommant les effets associés aux génotypes d'un individu pour tous ces segments, disposer d'une estimation très précise de sa valeur génétique, et ceci dès son plus jeune âge. C'est ce qu'on appelle l'évaluation génomique. Cette nouvelle méthodologie est utilisée dans les évaluations des populations bovines laitières de plusieurs pays depuis 2009, et la disponibilité d'une puce porcine de 60 000 SNP permet d'envisager sa mise en place dans l'espèce porcine.

La première partie de cette communication sera consacrée à la présentation du principe de l'évaluation génomique et des différentes méthodes d'estimation des segments chromosomiques. Nous présenterons ensuite les facteurs influençant l'efficacité de cette méthodologie d'évaluation. Enfin, les perspectives d'applications dans les populations porcines seront évoquées.

1. LA SELECTION GENOMIQUE: PRINCIPE

La mise en œuvre de la sélection génomique comporte deux étapes distinctes: (1) l'estimation des effets des segments chromosomiques dans une population de référence, et (2) la prédiction, à partir des effets précédemment estimés, des valeurs génomiques des animaux qui ne font pas partie de cette population de référence (des candidats à la sélection par exemple).

1.1. Constitution de la population de référence

effets Concrètement, l'étape d'estimation des chromosomiques nécessite la constitution d'un groupe d'individus - la « population de référence » (PR) - pour lesquels on dispose à la fois du génotype pour un très grand nombre de marqueurs et du phénotype pour les caractères pour lesquels on souhaite réaliser une sélection. La densité de marqueurs doit être suffisamment grande pour que tous les loci contribuant à la variabilité génétique d'un caractère présentent un déséquilibre de liaison suffisant avec les marqueurs qui leur sont proches (ou avec une combinaison de ces marqueurs). En pratique, plusieurs dizaines de milliers de marqueurs répartis sur l'ensemble du génome semblent nécessaires. Cette PR doit être représentative de la population que l'on souhaite sélectionner (dans l'idéal, l'ensemble des allèles des différents loci ségrégeant dans la population doivent y être représentés), et d'effectif suffisamment grand pour permettre une estimation précise de l'effet des fragments chromosomiques, car de celle-ci dépendra la précision de la prédiction des valeurs génomiques des candidats.

1.2. Estimation des effets des segments chromosomiques

Une fois la PR constituée, la principale difficulté consiste à estimer un très grand nombre d'effets de segments chromosomiques (M = plusieurs dizaines de milliers) à partir d'un nombre en général beaucoup plus faible (N = quelques centaines à quelques milliers) de phénotypes, ce qui revient à vouloir résoudre le système ci-dessous contenant plus d'inconnues que d'équations :

$$\begin{bmatrix} \vdots \\ y_i \\ \vdots \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \vdots \\ \mu + \sum_m X_{i,m} g_m + e_i \\ \vdots \end{bmatrix}$$

où y_i est le phénotype de l'individu i de la PR, μ est la moyenne générale, $X_{i,m}$ est le génotype (ou haplotype) de l'individu i au m^{ème} segment chromosomique, g_m est l'effet du m^{ème} segment chromosomique sur le caractère, et e_i est une résiduelle non expliquée.

Pour cela, plusieurs méthodologies statistiques ont été proposées, présentant des coûts de calcul et des efficacités très variables. Ces méthodes peuvent s'appliquer à l'estimation des effets de marqueurs individuels ou d'haplotypes, selon que chaque segment de chromosome est déterminé par un seul marqueur ou par plusieurs marqueurs contigus. Dans le premier cas, on estimera un seul effet par marqueur, alors que dans le second cas, plusieurs effets devront être estimés pour chaque segment.

1.2.1. Méthode des moindres carrés

La méthode des moindres carrés est fréquemment utilisée en statistique pour trouver les valeurs des paramètres décrivant le mieux les données (minimisant l'écart entre performances observées et performances prédites à l'aide de ces paramètres). Cependant, elle ne peut s'appliquer que lorsque le nombre de paramètres à estimer est inférieur au nombre d'observations. Dans le cas de l'évaluation génomique, on est donc amené dans un premier temps à sélectionner un sous ensemble de M' segments chromosomiques parmi M (avec M'<N) en estimant l'effet de chacun des M segments par régression dans un modèle uni-varié, et en ne conservant que les M' segments dont l'effet est le plus significatif.

Dans un second temps, les effets g_m de ces M' segments sont ré-estimés dans un modèle de régression multiple comme cidessous, les segments non conservés étant supposés avoir un effet nul :

 $\hat{g} = X'X^{-1}X'y$, où X est la matrice d'incidence reliant les M' génotypes (ou haplotypes) aux N phénotypes.

Cette méthode, très simple d'un point de vue calculatoire, pose cependant les problèmes du choix du seuil de significativité qui ne doit pas être trop laxiste afin de ne pas conserver plus de segments que de phénotypes dans la PR, et de la forte surestimation des effets estimés de certains segments. Pour ces raisons, cette méthode n'est en pratique pas recommandée.

1.2.2. Méthode de la régression pénalisée

Afin de contourner ce problème de surestimation et de présélection des segments à conserver, il est possible d'estimer les effets de tous les segments chromosomiques simultanément (ils sont alors considérés comme des effets aléatoires dans le modèle), en régressant vers 0 (en « pénalisant ») les estimations des effets. Ainsi, seuls les segments ayant un effet important auront un effet dans l'estimation de la valeur génomique, l'influence des segments de plus faible effet étant minimisée. Diverses méthodes de pénalisation ont été proposées pour déterminer la valeur de la pénalité à appliquer dans le modèle : « Ridge Regression » (Whittaker et al., 2000 ; Xu, 2003), « LASSO » (Least Absolute Shrinkage and Selection Operator, Tibshirani, 1996), ...

Dans le cas particulier de la « Ridge Regression » où la pénalité appliquée est égale au rapport de la variance résiduelle sur la variance génétique, on retrouve le BLUP utilisé par Meuwissen et al. (2001), qui fait l'hypothèse que la variance de l'effet de chaque segment chromosomique est identique :

$$\hat{g} = \left(X'X + \frac{\sigma_e^2}{\sigma_g^2}I\right)^{-1}X'y$$

1.2.3. Les méthodes bayesiennes

Les QTL et gènes mis en évidence dans les programmes expérimentaux de détection ou de validation de gènes candidats n'expliquent qu'une partie de la variabilité génétique des caractères, et il est communément admis que celle-ci résulte d'un petit nombre de loci d'effet important, de quelques loci d'effet moyen à faible, et d'un grand nombre de loci ayant un effet très faible ou nul (Hayes et Goddard, 2001).

L'intérêt des méthodes bayesiennes est de combiner de manière optimale cette information a priori avec les données réellement observées sur la PR (phénotypes et génotypes / haplotypes aux segments chromosomiques), afin d'obtenir de meilleures estimations des effets des segments chromosomiques que celles qui pourraient être obtenues en considérant uniquement les observations.

Cependant, l'obtention de la distribution conjointe a posteriori de tous les paramètres est trop complexe pour être obtenue directement, et il est nécessaire de recourir à des techniques d'échantillonnages successifs et répétés de chaque paramètre, connaissant les observations et l'état des autres paramètres à cet instant. Le gain de précision dans l'estimation des effets des segments chromosomiques est donc obtenu au prix d'un accroissement considérable des temps de calcul.

Plusieurs méthodes bayesiennes d'estimation des effets des segments chromosomiques ont été développées, variant entre elles au niveau de l'information considérée a priori.

Chronologiquement, la première méthode développée, appelée « Bayes A », fait l'hypothèse qu'un grand nombre de QTL ont un effet faible et que quelques QTL ont un effet important (Meuwissen et al., 2001). Ceci se traduit par l'utilisation d'une distribution de Chi2 inversée comme distribution a priori des variances des effets des segments chromosomiques. En réalité cependant, beaucoup des segments chromosomiques ne contiennent aucun QTL et n'ont donc strictement aucun effet sur le caractère. La distribution a priori de la méthode « Bayes A », qui ne permet pas à un nombre suffisamment grand de segments d'avoir un effet nul, n'est donc pas réellement adéquate. Meuwissen et al. (2001) ont alors proposé une autre méthode, nommée « Bayes B », avec laquelle une proportion π de segments n'a aucun effet, une distribution de Chi2 inversée étant à nouveau utilisée comme distribution a priori des variances des effets des $(1-\pi)$ autres segments chromosomiques.

De nombreuses variantes à ces méthodes ont été proposées, afin de remédier aux imperfections des approches précédentes, mais globalement leur efficacité reste assez similaire dans la plupart des cas.

Bien que les méthodes bayesiennes requièrent une information a priori sur la distribution des effets des QTL, et que cette information est nécessairement biaisée car les expérimentations de recherche de QTL ne peuvent en général détecter que les QTL à effet fort, des études montrent leur efficacité et leur robustesse (Verbyla et al., 2009). Cependant, le gain de précision dans l'estimation des valeurs génétiques par rapport aux méthodes de régression pénalisée (BLUP) peut cependant sembler modeste au regard de leur coût en temps de calcul. Hayes et al. (2008) rapportent en effet des gains de précision de seulement 1% à 7% dans les évaluations génétiques des populations bovines laitières australiennes, néo-zélandaises hollandaises américaines, comparativement aux méthodes « BLUP ».

1.3. Estimation des valeurs génomiques

Une fois les effets des segments chromosomiques estimés, on peut calculer la valeur génomique de n'importe quel individu de la population pour lequel on dispose du génotype aux marqueurs considérés dans la PR, en sommant simplement les effets estimés des segments portés par l'individu :

$$\widehat{VG}_i = \sum_m X_{i,m} \hat{g}_m$$

où $X_{i,m}$ et est le génotype (ou l'haplotype) de l'individu i au segment chromosomique m et $\hat{g}m$ est l'effet estimé du segment chromosomique m.

1.4. Le BLUP génomique

Dans les méthodes décrites précédemment, la valeur génomique d'un animal était définie comme la somme d'effets de segments chromosomiques. Une autre approche

équivalente (Van Raden, 2009) consiste à estimer directement la valeur génomique d'un individu (pour lequel on dispose du génotype) sans estimer les effets des segments chromosomiques, mais en résolvant un système analogue au système des équations du modèle mixte obtenu lorsque les performances sont décrites avec un modèle animal individuel. Dans ce système, la matrice de parenté entre individus (A) classiquement utilisée est remplacée par une « matrice de parenté génomique » (G) décrivant la parenté « réelle » entre les individus observée à travers leurs génotypes aux marqueurs :

$$[Z'Z + \alpha G^{-1}][\alpha] = [Z'y]$$

où a est le vecteur des valeurs génomiques des individus génotypés, y est le vecteur des phénotypes des individus de la PR, Z est la matrice d'incidence reliant les performances aux valeurs génomiques, et α est égal au rapport de la variance résiduelle sur la variance génétique. Cette méthode est connue sous le nom de « BLUP Génomique ».

Alors que la matrice de parenté A habituellement utilisée pour estimer les valeurs génétiques contient pour chaque paire d'individus évalués leur parenté espérée compte tenu de leur pedigree, les coefficients de parenté entre les paires d'individus contenus dans la matrice de parenté génomique G sont calculés en fonction du nombre d'allèles communs entre individus sur l'ensemble des marqueurs. Ainsi, si on considère 3 germains I, J et K (issus des mêmes père et mère), les 3 coefficients de parenté entre I et J, entre I et K et entre J et K seront identiques dans la matrice A (par exemple 0,5), mais pourront différer dans la matrice G, par exemple si les individus I et J ont reçu plus d'allèles identiques de leurs parents que l'individu K, comme illustré sur la figure 1.

Dans ce cas, I et J seront considérés plus apparentés entre eux que I et K et que J et K.

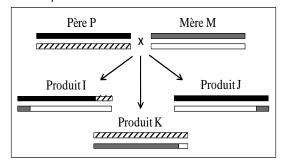


Figure 1 - Génotype à un chromosome de 3 individus I, J et K issus des mêmes parents P et M. I et J partagent une plus grande quantité de matériel génétique entre eux qu'avec K.

1.5. Intérêts de l'évaluation génomique par rapport aux méthodes de sélection classiques

L'évaluation génomique présente potentiellement de nombreux avantages par rapport aux méthodes d'évaluation classiques :

- Il est possible de disposer d'une estimation de la valeur génétique de tout individu de la population pour lequel on dispose d'un échantillon d'ADN, sans qu'il soit nécessaire de le phénotyper, ou de phénotyper un individu apparenté (collatéral ou descendant).
- Cette méthode peut s'appliquer à n'importe quel caractère, y compris aux caractères s'exprimant tardivement (longévité) et/ou dans un seul sexe (prolificité, fertilité, production de semence) ou dont le phénotypage

nécessite l'abattage de l'animal (qualité des tissus, ...), du moment que la constitution d'une PR pour le(s) caractère(s) considéré(s) est possible.

- Sous réserve de disposer d'une PR de taille suffisante et de marqueurs suffisamment nombreux pour assurer un déséquilibre de liaison adéquat avec tous les QTL, la précision d'estimation des valeurs génomiques peut être très élevée.
- La valeur génomique d'un individu peut être estimée dès sa naissance, ce qui permet de réduire fortement l'intervalle entre générations dans la population par rapport à un dispositif s'appuyant sur du testage sur descendance qui reporte nécessairement la mise en service d'un reproducteur.
- Dans le cas où le coût de génotypage d'un candidat est inférieur à celui de son testage (performances propres, contrôle de collatéraux ou testage sur descendance), l'évaluation génomique permet d'augmenter le nombre de candidats à la sélection et l'intensité de sélection des reproducteurs de renouvellement, sur la voie mâle comme sur la voie femelle.

Le progrès génétique réalisé annuellement dans une population en sélection étant proportionnel à la précision d'estimation des valeurs génétiques des candidats et à l'intensité de sélection pratiquée, et inversement proportionnel à l'intervalle entre générations (Falconer, 1981), la sélection génomique est donc potentiellement source d'un gain d'efficacité important dans les schémas de sélection.

C'est par exemple le cas des schémas d'amélioration des 3 principales races bovines laitières françaises dans lesquelles le traditionnel testage sur descendance se voit aujourd'hui remplacé par une évaluation génomique (Boichard et al., 2010). S'appuyant sur une population de testage de plus de 3600 taureaux testés sur descendance et sur une puce de 54 000 marqueurs SNP, cette nouvelle évaluation permet de disposer pour les jeunes taureaux d'index presqu'aussi précis que dans le dispositif classique, mais sans nécessiter un testage sur descendance long (5 ans) et couteux (environ 40 000 euros par mâle testé). Les candidats sélectionnés peuvent donc être mis à la reproduction dès leur maturité sexuelle, soit une diminution d'1/3 de l'intervalle entre générations. De plus, les schémas n'étant plus limités par les capacités de testage sur descendance, un plus grand nombre de candidats mâles peuvent être évalués, augmentant ainsi l'intensité de sélection sur la voie mâle. Enfin, la possibilité de génotyper des génisses pour disposer de valeurs génomiques estimées avec la même précision que celles des candidats mâles est à l'étude, ce qui permettrait d'améliorer l'efficacité des schémas sur la voie femelle.

2. FACTEURS INFLUENÇANT L'EFFICACITE DE LA SELECTION GENOMIQUE

2.1. Niveau du déséquilibre de liaison, taille efficace de la population et densité de marqueurs

L'évaluation génomique ne peut fonctionner que si l'association entre les allèles aux marqueurs (ou les haplotypes) et les allèles aux QTL est suffisamment forte, afin que les effets estimés des segments chromosomiques reflètent bien les effets des QTL dans la population. La force de l'association entre un marqueur et un QTL, ou entre deux marqueurs, s'appelle le déséquilibre de liaison (DL). Au sein d'une population, les associations entre les allèles à plusieurs

loci d'une région chromosomique sont le résultat de la transmission sans recombinaison de cette région au travers des générations, comme illustré sur la figure 2.

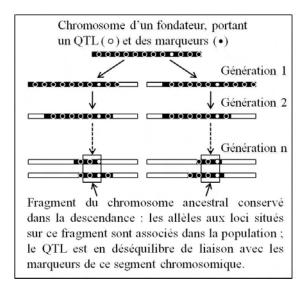


Figure 2 - Origine du déséquilibre de liaison dans une population. Un fondateur transmet à ses produits des gamètes créés à partir de ses chromosomes, modelés par des évènements de recombinaison a priori aléatoires.

Au fur et à mesure des générations et au gré des évènements de recombinaisons, des segments de taille décroissante du chromosome ancestral sont conservés et sont portés par un grand nombre d'individus de la population; les allèles aux loci présents sur ces segments ancestraux sont statistiquement associés, c'est à dire en déséquilibre de liaison.

Le génome des individus d'une population est donc constitué d'un ensemble de segments chromosomiques issus de reproducteurs influents et conservés au cours des générations, la longueur de ces segments étant d'autant plus faible que le nombre de générations séparant des individus considérés de leur ancêtre commun est grand.

En considérant que les différentes races porcines sont toutes issues d'une même population ancestrale ayant divergé un grand nombre de générations plus tôt, on peut donc trouver des associations entre loci communes aux différentes races, mais ces associations se limitent à des loci beaucoup plus proches qu'intra population.

Le déséquilibre de liaison entre deux loci peut être quantifié par divers indicateurs, par exemple au travers du paramètre r² (Hill, 1981) qui varie entre 0 (indépendance entre les allèles aux deux loci) et 1 (les allèles aux deux loci sont totalement liés). Des études réalisées par simulations (Calus et al., 2008, Meuwissen, 2009) ont montré que la précision d'estimation des valeurs génomiques est fortement dépendante du niveau de r² entre marqueurs adjacents. En effet, la position des QTL étant en général inconnue, le r² moyen entre marqueurs répartis sur l'ensemble du génome est un indicateur du niveau de r² attendu entre un QTL et les marqueurs l'entourant. La figure 3, réalisée d'après les résultats de Calus et al. (2008), présente la précision d'estimation des valeurs génomiques non phénotypés (CD = Coefficient d'individus Détermination = carré de la corrélation entre valeur génomique estimée et valeur génétique vraie de l'individu) pour deux caractères d'héritabilité (h²) 0,1 et 0,5, en fonction du r² moyen entre marqueurs contigus.

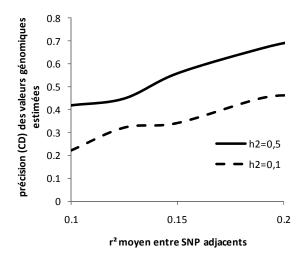


Figure 3 - Effet du niveau moyen de déséquilibre de liaison entre marqueurs contigus (r²) sur la précision d'estimation des valeurs génomiques. D'après Calus *et al.*, 2008.

On constate que la précision est positivement liée au niveau de DL entre marqueurs. Ainsi, pour un caractère d'héritabilité 0,1, le CD est doublé lorsque le r² moyen entre marqueurs contigus passe de 0,1 à 0,2.

Dans les populations de taille finie, ce qui est le cas des populations animales d'élevage, le r² attendu entre 2 loci dépend principalement de 2 paramètres. Tout d'abord, la probabilité de recombinaison entre deux loci étant inversement liée à la distance les séparant, le r² sera en moyenne d'autant plus élevé que les loci considérés sont proches. En conséquence, un moyen d'améliorer l'efficacité de l'évaluation génomique consiste à disposer d'un marquage du génome très dense, afin de maximiser la probabilité que les QTL soient en fort déséquilibre de liaison avec les marqueurs les entourant. Ainsi, dans les populations bovines laitières, environ 30 000 SNP répartis sur le génome sont nécessaires pour disposer en moyenne d'un r² de 0,2 entre deux marqueurs contigus, soit un marqueur tous les 100kb environ. Outre l'augmentation de la densité de marqueurs, un autre moyen d'améliorer la précision de l'évaluation génomique consiste à définir les segments chromosomiques dont on cherche à estimer l'effet à l'aide de plusieurs marqueurs contigus plutôt qu'avec un seul marqueur. Les haplotypes ainsi déterminés présentent en effet un déséquilibre de liaison plus fort avec les allèles des QTL, ce qui permet de mieux estimer leur effet. Cependant, des simulations semblent indiquer que l'utilisation d'haplotypes ne présente un avantage que pour de faibles densités de SNP, les deux approches ayant des efficacités très proches pour des r² moyens entre marqueurs adjacents supérieurs à 0,2 (Calus et al., 2008).

Le second paramètre dont dépend le r² est la taille efficace Ne de la population considérée. Dans une population de faible effectif génétique, un reproducteur va transmettre en espérance des fragments de son génome à une proportion importante de la population, ce qui résulte en une faible variété d'haplotypes. En conséquence, le r² moyen entre loci sera plus élevé dans une population de faible effectif génétique que dans une population de taille efficace importante.

2.2. Taille de la population de référence et héritabilité des caractères

La figure 4, établie d'après Meuwissen (2009), présente la taille approximative de la PR nécessaire pour atteindre des précisions (CD) de 0,3, 0,5 ou 0,7 dans la prédiction des valeurs génomiques de candidats, en fonction de l'héritabilité du caractère considéré.

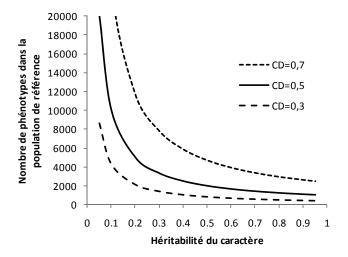


Figure 4 - Taille de la population de référence requise pour atteindre une précision d'estimation (coefficient de détermination = CD) donnée des valeurs génomiques (0,3, 0,5 ou 0,7) pour des individus sans phénotype, en fonction de l'héritabilité du caractère considéré. La taille efficace de la population (Ne) considérée est 100.

On constate, d'après cette figure, que la taille de la PR influence fortement la précision des valeurs génomiques prédites, un plus grand nombre de phénotypes permettant une meilleure estimation des effets des segments chromosomiques. Ainsi, pour un caractère d'héritabilité 0,2, environ 2000 individus sont nécessaires pour obtenir des CD de 0,3 alors qu'il en faut six fois plus pour disposer de CD de 0,7. Par ailleurs, la taille de la PR requise pour prédire des valeurs génomiques avec une précision souhaitée est inversement liée à l'héritabilité des caractères. Autrement dit, pour une taille de PR fixée, la précision de prédiction de la valeur génomique d'un individu pour un caractère peu héritable sera plus faible que pour un caractère plus héritable. Par exemple, d'après ces résultats, une PR de 5000 individus permet de prédire des valeurs génomiques avec des CD de 0,3 et 0.7 pour des caractères d'héritabilités 0.10 et 0.50. respectivement. Ceci peut s'expliquer par la plus faible part de variance phénotypique expliquée par les loci impliqués dans le déterminisme des caractères peu héritables, nécessitant plus d'observations pour pouvoir être mis en évidence.

Dans ce contexte, les schémas bovins laitiers sont dans une position avantageuse. En effet, leurs PR sont constituées de taureaux génotypés testés sur descendance dont le « phénotype » est une moyenne ajustée des performances de leurs filles. Tout se passe alors comme si l'héritabilité du caractère était égale à la précision de la valeur du taureau sur descendance. C'est par exemple le cas de la fertilité, extrêmement peu héritable (h²=0,02) mais dont l'héritabilité « apparente » dans la PR est proche de 0,60.

2.3. « Distance génétique » entre population de référence et population sélectionnée

L'évaluation génomique repose sur l'hypothèse que les associations entre allèles aux marqueurs et allèles aux QTL sont les mêmes dans la PR et dans la population des candidats à la sélection. Cependant, plus ces deux populations sont génétiquement différentes, moins cette hypothèse est valide, en particulier si la densité de marqueurs est faible, c'est-à-dire si la distance entre marqueurs et QTL est grande.

En pratique, la sélection génomique est toujours mise en œuvre dans une population différente de la PR utilisée pour estimer les effets des fragments chromosomiques: les candidats à la sélection pour lesquels on estime des valeurs génomiques à l'aide de ces estimations peuvent être de la même race que la PR mais nés dans des générations plus récentes, où appartenir à des races ou des lignées différentes.

2.3.1. La population de référence et les candidats à la sélection sont de la même race mais ne sont pas contemporains

Au cours des générations, des recombinaisons chromosomiques se produisent. Lorsqu'une recombinaison a lieu a proximité d'un QTL, l'association entre les allèles à ce QTL et les allèles aux marqueurs situés au-delà de la recombinaison se réduit, rendant caduques les effets des segments chromosomiques de cette région estimés dans la population d'origine.

La précision d'estimation de la valeur génomique des nouveaux candidats s'en trouve donc réduite. Ce phénomène est d'autant plus rapide que la densité de marqueurs est faible, comme illustré sur la figure 5, réalisée d'après les résultats de Solberg *et al.* (2009) obtenus par simulation.

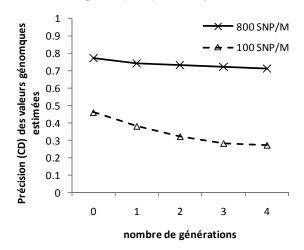


Figure 5 - Diminution de la précision d'estimation des valeurs génomiques estimées en fonction du nombre de générations séparant les individus constituant la population de référence des candidats à la reproduction, pour deux valeurs de densité de marqueurs sur le génome. Taille efficace Ne de la population considérée =100.

Habier et al. (2007a) ont montré que la perte d'efficacité de l'évaluation génomique au cours des générations varie selon les méthodes d'estimation des effets des segments chromosomiques, la dégradation étant moins rapide avec les méthodes bayesiennes qu'avec celles reposant sur le BLUP. Dans tous les cas cependant, le maintien d'un niveau de précision d'estimation des valeurs génomiques des candidats nécessite de ré-estimer périodiquement les effets des segments chromosomiques à l'aide d'une PR renouvelée.

Diverses stratégies peuvent être envisagées, allant du renouvellement complet de la PR après un nombre fixé de générations au remplacement en continu des individus les plus anciens de la PR par des individus contemporains des candidats.

2.3.2. La population de référence et les candidats à la sélection appartiennent à des races différentes

On peut envisager d'estimer les valeurs génomiques de candidats d'une race à partir des effets de segments chromosomiques estimés grâce à une PR d'une autre race. Cependant, la précision d'estimation des valeurs génomiques des candidats est dans ce cas en général assez faible.

Ainsi, Harris et al. (2008) ont obtenu des corrélations entre les valeurs génétiques vraies de taureaux Holstein et leurs valeurs génomiques estimées à partir d'effets de SNP obtenus sur une population PR Jersiaises (et inversement) variant entre -0,1 et 0,3.

Outre le fait que les associations entre marqueurs et QTL peuvent varier entre deux populations qui ont divergé depuis de nombreuses générations en raison des recombinaisons évoquées ci-dessus, d'autres facteurs peuvent également expliquer ces résultats. Tout d'abord, certains gènes polymorphes dans une population peuvent être fixés dans une autre. De plus, des QTL peuvent avoir des effets différents dans diverses populations.

La manière optimale de composer une PR destinée à estimer la valeur génomique d'individus appartenant à différentes races n'est pas encore clairement établie, mais une densité de marqueurs plus forte que pour une application intra-race, ainsi qu'une représentation de tous les types génétiques que l'on souhaite évaluer semblent requises (De Roos *et al.*, 2008; Harris *et al.*, 2008).

3. PERSPECTIVES D'UTILISATION DE LA SELECTION GENOMIQUE DANS LES POPULATIONS PORCINES

3.1. Forces et faiblesses des schémas d'amélioration génétiques porcins actuels

Chez le porc, les dispositifs d'amélioration génétique ont une structure pyramidale, composée schématiquement de trois étages : sélection, multiplication et production (pour plus de détails, voir par exemple Ollivier, 1998).

L'ensemble du travail d'amélioration génétique est réalisé à l'étage de sélection sur les populations de race pure et les lignées synthétiques ; l'objectif final est cependant d'améliorer les performances de reproduction et d'aptitudes maternelles des truies parentales croisées et les performances d'engraissement et de qualité de la carcasse des porcs charcutiers terminaux des élevages de production. Cette concentration de l'effort de sélection au sommet de la pyramide est fondée sur l'hypothèse que le progrès génétique qui y est réalisé se transmet jusqu'à l'étage de production.

A l'exception du schéma bavarois qui s'appuie en partie sur un testage sur descendance (Habier et al., 2007b), les dispositifs d'évaluation génétique porcins actuels reposent sur un contrôle en élevage des performances des jeunes candidats mâles et femelles pour quelques caractères d'engraissement et de composition de la carcasse. Ces mesures sont parfois complétées par le contrôle en station puis l'abattage d'un nombre limité de collatéraux des candidats, permettant de disposer de performances pour des caractères trop complexes ou trop coûteux à mesurer en élevage (efficacité alimentaire)

ou enregistrés post mortem (caractères de qualité de la viande, composition de la carcasse, ...). Dans les populations maternelles, les performances de reproduction des truies (prolificité, aptitudes maternelles) sont considérées. Les valeurs génétiques sont estimées grâce à la méthodologie du BLUP appliquée à un modèle animal. Chaque individu (jeune candidat mâle ou femelle, reproducteur) dispose ainsi d'une valeur génétique estimée pour tous les caractères de l'objectif de sélection de sa population, y compris pour les caractères pour lesquels il ne dispose pas de phénotype propre. En général, seules les performances des individus de la population sélectionnée sont considérées dans l'évaluation génétique, mais certains schémas prennent également en compte des performances d'apparentés croisés.

Les décisions de sélection ou de réforme des candidats mâles et femelles sont prises dès la fin de leur contrôle de performances en ferme (un peu avant 6 mois d'âge), et les intensités de sélection sont fortes. Ainsi, dans la population collective Large White type femelle française par exemple, 1 candidate sur 11 est conservée pour la reproduction en sélection, et 1 candidat sur 65 entre en CIA et sera utilisé en sélection; dans la population collective Piétrain française, ces taux sont de 1/16 et 1/50, respectivement.

Les individus retenus sont mis à la reproduction dès 8 mois d'âge, et leur carrière de reproducteur en sélection est courte, environ 1 an pour les mâles et 2 ans pour les femelles.

Ce taux de renouvellement rapide s'explique d'une part par le progrès génétique réalisé dans les populations, qui fait que la supériorité génétique des reproducteurs en activité par rapport au niveau des meilleurs candidats s'amenuise rapidement, ce qui impose leur réforme et leur remplacement, et d'autre part par la volonté de limiter la descendance des verrats dans les élevages de sélection afin de préserver la variabilité génétique dans la population.

En conséquence directe de ces pratiques, les intervalles de génération sont très faibles, tant sur la voie mâle que sur la voie femelle, et seules des carrières encore plus courtes pourraient les réduire davantage.

Faiblesses des dispositifs actuels. Cette organisation des schémas d'amélioration porcins, malgré des intervalles de génération faibles et des intensités de sélection fortes tous deux propices à un progrès génétique important, présente cependant plusieurs faiblesses.

Tout d'abord, la faible durée de carrière des reproducteurs limite le nombre de leurs produits phénotypés ; la précision de leurs valeurs génétiques reste donc globalement faible. Ainsi, le CD moyen des verrats de CIA actifs dans les populations collectives françaises pour les caractères mesurés sur les individus contrôlés en station varie entre 0,18 pour le rendement technologique estimé (caractère le moins héritable, h²≈0,28) et 0,50 pour le taux de muscle des pièces (caractère le plus héritable, h²≈0,75), et se limite à 0,30 pour le nombre de porcelets nés vivants par portée (h²≈0,10) dans les populations maternelles. Il en va de même pour le CD des valeurs génétiques des jeunes candidats en fin de contrôle de performances, en moyenne très modeste pour ces mêmes caractères (0,10, 0,40 et 0,16, respectivement). Cette précision limitée des valeurs génétiques estimées au moment de la sélection des reproducteurs de renouvellement pénalise le progrès génétique, les risques de sélectionner un individu qui se révèlera finalement mauvais étant non négligeables. Des schémas fondés sur un testage sur descendance des verrats (comme le schéma bavarois) permettraient certes de

disposer de valeurs génétiques estimées plus précises et donc de diminuer les risques lors de la sélection des candidats, mais au prix cependant d'un allongement de l'intervalle entre générations et d'une réduction de l'intensité de sélection, venant réduire le progrès génétique réalisé.

Comme évoqué précédemment, le travail de sélection est réalisé dans les noyaux de race pure en faisant l'hypothèse que le progrès génétique réalisé se transmet (avec un retard d'une ou deux générations) aux individus croisés de l'étage de production. Cependant, les valeurs génétiques estimées en race pure peuvent parfois se révéler être des prédicteurs imparfaits de celles des descendants croisés élevés dans des conditions de production, pour deux principales raisons.

Tout d'abord, les individus de l'étage de sélection sont élevés dans des environnements extrêmement maîtrisés et d'excellent statut sanitaire, et ces conditions d'élevage favorables peuvent différer sensiblement des conditions de production. Or, les animaux les plus performants dans un milieu peuvent se révéler moyens voire médiocres dans un environnement différent, et inversement. De telles interactions génotype x milieu ont par exemple été mises en évidence chez le porc par Merks (1988). Par ailleurs, des effets de dominance et d'épistasie inexistants dans deux races pures peuvent exister chez les individus issus de leur croisement. Ainsi, plusieurs auteurs rapportent des corrélations entre les performances d'individus de race pure d'élevages de sélection et celles de leurs descendants croisés comprises entre 0,3 et 1 selon les caractères et les populations considérées (Merks, 1988; Merks et Hanenberg, 1998; Lutaaya et al., 2001). En conséquence, le progrès génétique effectivement réalisé peut être sensiblement plus faible à la base de la pyramide qu'à son sommet.

Il est possible d'augmenter le progrès génétique réalisé en élevage de production, en combinant les performances des individus de race pure à celles d'apparentés croisés lors de l'évaluation génétique des populations en sélection (Wei et Van der Steen, 1991). Plusieurs schémas de sélection porcins se sont engagés dans cette voie. Cependant, la remontée d'informations en provenance des élevages de production s'avère en général difficile faute de généalogies de qualité suffisante et en l'absence de contrôle de performances. De plus, 1 ou 2 générations (parfois plus dans le cas de croisements complexes) séparent les populations sélectionnées des porcs charcutiers et, sauf à vouloir organiser testage sur descendance (qui augmenterait considérablement l'intervalle entre générations et pénaliserait le progrès génétique réalisé annuellement), le gain de précision obtenu pour les jeunes candidats grâce à leurs apparentés croisés serait minime.

3.2. Opportunités offertes par la sélection génomique dans l'espèce porcine

Une puce pangénomique de 60 000 marqueurs SNP est disponible chez le porc depuis 2009. Les résultats de Du et al. (2007) et de Huisman et al. (2010) dans diverses populations porcines semblent indiquer qu'avec une telle densité de marqueurs, le déséquilibre de liaison moyen (r²) entre SNP adjacents serait supérieur à 0,20, ce qui, au vu des exemples des schémas bovins laitiers français et étrangers, permet d'envisager la mise en place d'une sélection génomique dans l'espèce porcine. De plus, il est probable que des puces beaucoup plus denses seront disponibles dans les prochaines années, qui permettront de tirer parti d'associations encore

plus fortes entre marqueurs et QTL. Cependant, avant de se lancer dans une telle évolution des schémas d'amélioration génétique porcins, il est impératif de se demander en quoi la sélection génomique pourrait améliorer leur efficacité.

3.2.1. Intervalles entre générations

Les intervalles entre générations dans les dispositifs porcins actuels sont très faibles, de l'ordre de 2 ans dans les populations collectives françaises (Maignel *et al.*, 1998). Les verrats et les cochettes sont en effet mis à la reproduction peu après leur puberté, leurs carrières sont courtes, et un changement des modalités d'évaluation génétique n'aurait qu'un impact limité sur ces paramètres.

3.2.2. Intensités de sélection

Dans un dispositif fondé sur l'évaluation génomique, chaque individu génotypé peut se voir calculer une valeur génomique, même s'il n'a pas de performance propre et ne dispose d'aucun apparenté phénotypé.

Le choix des reproducteurs de renouvellement peut donc se faire en théorie parmi l'ensemble des porcelets nés, permettant de maximiser l'intensité de sélection et donc d'augmenter le progrès génétique réalisé.

En pratique, le nombre de candidats dans un tel dispositif, et par conséquent l'intensité de sélection effective, seraient fonction des éventuels surcoûts liés au génotypage que les sélectionneurs seraient prêts à supporter compte tenu des gains génétiques supplémentaires attendus.

Les intensités de sélection actuellement réalisées dans les schémas porcins sont cependant déjà élevées (le coût des mesures réalisées en ferme sur les candidats est faible, permettant de contrôler une forte proportion des porcelets nés), et le gain attendu en jouant sur ce paramètre pourrait donc ne pas être majeur.

3.2.3. Précision des valeurs génétiques estimées

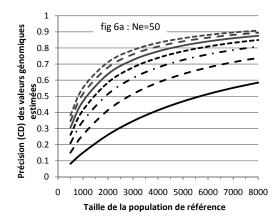
L'évaluation génomique peut en revanche avoir un impact beaucoup plus important sur l'efficacité des schémas par le biais d'une augmentation de la précision des valeurs génétiques estimées.

Comme indiqué précédemment, les VG des candidats pour les caractères de reproduction (dans les lignées femelles) et pour les caractères mesurés sur collatéraux (caractères de qualité, d'efficacité alimentaire) sont estimées avec des précisions souvent modestes (CD moyens compris entre 0,10 et 0,40 selon le caractère).

Le retour d'expérience des schémas de sélection génomique bovins laitiers et d'études réalisées par simulations (figure 6, établie d'après Meuwissen, 2009) montrent qu'il serait possible d'estimer pour de jeunes candidats des valeurs génomiques plus précises que leurs valeurs génétiques actuelles.

Les effectifs génétiques considérés sur la figure 6 (Ne=50 et Ne=150) correspondent approximativement à la plage de variation des tailles efficaces des lignées et races porcines en sélection (Maignel *et al.*, 1998 ; Habier *et al.*, 2009 ; Welsh *et al.*, 2009).

On constate que l'obtention de CD supérieurs à 0,3 pour des caractères faiblement héritables, ce qui est le cas de la qualité de la viande, de la prolificité et des aptitudes maternelles par exemple, requerrait une PR d'environ 2000 à 5000 individus selon la taille efficace de la population évaluée.



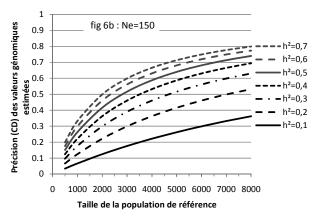


Figure 6 - Précision (CD) des valeurs génomiques estimées en fonction de la taille de la population de référence et de l'héritabilité (h²) du caractère considéré, pour une population de taille efficace Ne =50 (figure 6a) ou 150 (figure 6b).

D'après Meuwissen, 2009.

3.2.4. Sélection sur des caractères non mesurables en routine

L'évaluation génomique pourrait également permettre de sélectionner les populations pour des caractères nouveaux, trop complexes ou trop couteux à mesurer en routine (y compris dans le cadre d'un contrôle sur collatéraux) ou nécessitant la mise en place de protocoles expérimentaux spécifiques : mesures comportementales, immunitaire, composition des rejets, maturité des porcelets à la naissance, homogénéité des porcelets intra-portée, odeurs sexuelles, qualité des aplombs ... On pourrait par exemple imaginer d'enregistrer dans quelques élevages équipés d'automates de pesée les poids des porcelets à la naissance et au sevrage pour un échantillon de truies génotypées; ces truies constitueraient une PR permettant d'estimer les valeurs génomiques des candidats à la sélection pour l'homogénéité du poids des porcelets intra-portée, la croissance des porcelets en période d'allaitement et la production laitière des truies, ... Les coûts de génotypage et de phénotypage liés à la constitution initiale et au renouvellement périodique de telles PR seraient cependant très élevés, et ce type d'approche se limiterait vraisemblablement à quelques caractères parmi les plus importants pour la filière.

3.2.5. Augmentation du progrès génétique en production

Comme évoqué précédemment, le fait de sélectionner des individus de race pure élevés dans un milieu très contrôlé dans le but d'améliorer les performances de leurs descendants

croisés en conditions de production constitue l'une des principales faiblesses des dispositifs d'amélioration génétique porcins. C'est probablement sur ce point que la sélection génomique pourrait présenter son plus grand intérêt chez le porc. Il serait en effet possible, en s'appuyant sur une PR constituée d'animaux croisés, idéalement phénotypés dans des conditions de milieu semblables à celles des élevages de production, d'estimer la valeur génomique de candidats de race pure pour des caractères exprimés par des animaux commerciaux (truies parentales ou porcs charcutiers).

Dekkers (2007) et Kinghorn et al. (2010) ont montré par simulation qu'une telle approche permettrait un progrès génétique plus important dans la population croisée qu'une sélection génomique s'appuyant sur une PR constituée d'animaux de race pure. Elle serait également plus efficace qu'une sélection classique (BLUP-modèle animal) combinant les informations des individus de race pure et de leurs apparentés croisés (Dekkers, 2007), sans nécessiter l'organisation d'un enregistrement en routine des généalogies et des performances des descendants de production et sans augmenter l'intervalle entre générations.

Deux modèles ont été proposés pour estimer les effets des segments chromosomiques à partir d'une PR constituée d'animaux croisés (Ibanz-Escriche et al., 2009 ; Kinghorn et al., 2010). Pour décrire ces modèles, considérons par exemple que les individus de la PR sont issus du croisement entre une truie parentale croisée ayant des parents des races pures A et B et un verrat terminal de race pure C, et que chaque segment chromosomique est défini par un seul marqueur biallélique.

Le premier modèle, le plus simple, fait l'hypothèse que l'effet du génotype à un marqueur sur la performance d'un animal croisé est identique quelles que soient les populations d'origine (A, B ou C) des allèles reçus par l'animal pour ce

$$y_i = \mu + \sum_i X_{ij} \beta_j + e_i$$

nombre d'allèles 1 (0, 1 ou 2) au locus du j^{ème} marqueur de l'individu i, β_i est l'effet de substitution de l'allèle 1 au locus du j^{ème} marqueur dans la PR, et e_i est le résidu pour l'individu i.

La valeur génomique estimée VGE d'un candidat q d'une quelconque des 3 races pures A, B ou C se calcule alors simplement comme la somme sur l'ensemble des marqueurs considérés du produit du nombre d'allèles 1 portés par l'individu q au locus j (X $_{qi}$) par l'effet de substitution estimé $VGE_q = \sum_J X_{qj} \, \beta_j$ pour cet allèle :

$$VGE_q = \sum_i X_{qj} \beta_j$$

pour cet allèle :

Le second modèle considère au contraire que l'effet du génotype à un marqueur peut être différent en fonction de la population d'origine des allèles au marqueur :

population d'origine des allèles au marqueur :
$$y_i = \mu + \sum_J \left(A^P_{ijk} \beta^P_{jk} + A^M_{ijl} \beta^M_{jl}\right) + e_i \qquad , \quad \text{où} \quad y_i \quad \text{est} \quad \text{la} \\ \text{performance} \quad \text{de l'individu croisé i,} \quad \mu \quad \text{est} \quad \text{la performance} \\ \text{moyenne,} \quad A^P_{ijk} \quad \text{est} \quad \text{l'allèle porté par l'individu au j}^\text{ème} \quad \text{SNP} \\ \text{provenant de la race k transmis par le père de l'individu (ici, l'allèle provient forcément de la race C puisque le père est de race pure), et
$$\beta^P_{jk} \quad \text{est l'effet de substitution de l'allèle} \quad A^P_{ijk} \quad \text{De} \\ \text{même,} \quad A^M_{ijl} \quad \text{est} \quad \text{l'allèle porté par l'individu au j}^\text{ème} \quad \text{SNP} \\ \label{eq:memerical}$$$$

provenant de la race I transmis par la mère de l'individu (ici, l'allèle provient de la race A ou de la race B puisque la mère de l'individu est croisée), et β_j^M est l'effet de substitution de l'allèle A_{ijl}^{ijl} . Dans le cas d'une population croisée constituée d'individus (AxB)xC, on estimera donc pour chaque SNP 3 effets : un effet β_{jC}^{iC} pour l'allèle transmis par les pères, et deux effets β_{jA}^{M} et β_{jB}^{M} pour l'allèle transmis par les mères selon qu'il provient à l'origine de la population A ou B,

La valeur génomique des candidats de chacune des 3 races pures constituant le croisement est ensuite calculée à partir des effets des marqueurs estimés pour la race correspondante; par exemple, pour un individu q de la race

$$VGE_q = \sum_{j} X_{qjA} \beta_{jA}$$

respectivement.

La sélection génomique s'appuie sur le déséquilibre de liaison existant entre marqueurs et QTL. Cependant, les associations entre marqueurs et QTL, et par conséquent les effets des génotypes aux marqueurs, peuvent varier entre populations. Le modèle estimant les effets des marqueurs intra-race semble donc plus pertinent, en particulier si les populations de race pure considérées ont divergé depuis de nombreuses générations (par exemple, populations paternelles vs populations maternelles) ou si la densité de marqueurs est faible (augmentant la probabilité de recombinaisons entre marqueurs et QTL).

Cependant, le nombre de paramètres à estimer avec ce modèle est plus important que lorsqu'on estime un seul effet par SNP commun à toutes les races, et une PR de plus grande taille est donc nécessaire pour conserver une bonne précision d'estimation des effets des marqueurs (Ibanz-Escriche et al., 2009). De plus, le modèle « intra-race » nécessite de connaître l'origine raciale de chaque allèle porté par les individus de la PR croisée, mais des erreurs d'attribution seraient en pratique inévitables, réduisant peut-être son efficacité par rapport à un modèle plus simple.

Ces deux modèles, appliqués à une PR croisée, permettraient d'estimer l'effet de substitution des allèles présents dans les races pures dans le fond génétique de la population croisée que l'on cherche à améliorer, en incluant implicitement dans ces estimations une partie des effets de dominance et d'épistasie s'exprimant en croisement (Ibanz-Escriche et al., 2009; Kinghorn et al., 2010). De plus, l'enregistrement des performances de la PR dans un environnement représentatif du milieu de production permettrait d'estimer pour les individus des races pures des valeurs génomiques pour les caractères exprimés en conditions commerciales, et de s'affranchir ainsi du problème d'éventuelles interactions génotype x milieu.

Le progrès génétique réalisé dans la population croisée à l'étage de production serait donc plus important grâce à un tel dispositif; en revanche, le progrès réalisé à l'étage de sélection serait nécessairement plus faible qu'avec des objectifs de sélection définis en race pure.

Bien que ces modèles n'aient pour l'instant pas été testés sur de vraies populations mais aient uniquement fait l'objet d'études par simulation, la possibilité de sélectionner les individus de races pures en se fondant sur des valeurs génomiques estimées à l'aide d'une PR croisée semble prometteuse pour les schémas porcins.

3.3. Mise en place d'une évaluation génomique chez le porc : de l'idéal à la réalité

Compte tenu de l'ensemble des éléments précédents, on pourrait imaginer faire évoluer les actuels dispositifs d'amélioration génétique porcins organisés autour d'un contrôle de performances des candidats et de collatéraux et d'évaluations génétiques BLUP-modèle animal vers des dispositifs fondés sur des évaluations génomiques.

Dans l'idéal, des PR constituées de porcs charcutiers croisés élevés dans des conditions de production et phénotypés pour l'ensemble des caractères d'intérêt de production et de qualité, permettraient d'établir les équations de prédiction de la valeur génomique des populations en sélection.

Ce dispositif serait complété dans les populations maternelles par une évaluation génomique pour la prolificité et les aptitudes maternelles, s'appuyant sur des PR constituées de truies parentales croisées d'élevages de production.

Cependant, la mise en place effective d'un tel scénario nécessite de résoudre un certain nombre de difficultés pratiques.

3.3.1. Coût de la constitution des populations de référence et du génotypage des candidats

On ne dispose pour l'instant pas des éléments nécessaires au dimensionnement précis des PR à mettre en place en vue d'une sélection génomique chez le porc. Cependant, compte tenu des résultats de simulations, du retour d'expérience des schémas génomiques bovins laitiers, et du niveau présumé du déséquilibre de liaison entre les marqueurs de la puce porcine 60 K actuellement disponible, une PR de plusieurs milliers d'individus semble nécessaire pour atteindre des précisions satisfaisantes (c'est à dire au moins égales aux précisions obtenues dans les dispositifs actuels) pour une population sélectionnée dont la taille efficace est proche de 100, en particulier si on s'intéresse à des caractères peu héritables comme la qualité de la viande ou les aptitudes maternelles. Il est probable que les coûts de génotypage diminueront au cours des prochaines années, mais en considérant un prix approximatif de 150 € par individu, la constitution initiale d'une PR s'élèverait donc à plusieurs centaines de milliers d'euros, auxquels viendraient s'ajouter les coûts de phénotypage, évidemment dépendants de la liste des caractères considérés. De plus, une PR doit être renouvelée régulièrement afin de préserver la qualité de prédiction des valeurs génomiques des candidats (Solberg et al., 2009). La vitesse de perte d'efficacité de la prédiction est inversement liée au niveau du déséquilibre de liaison et à la densité des marqueurs, et même si des références précises manquent encore pour l'espèce porcine, on peut néanmoins faire l'hypothèse de la validité d'une PR pendant 3 générations, ce qui impliquerait de renouveler la dépense initiale environ tous les 5 ans. De plus, ces coûts seraient approximativement doublés pour les populations maternelles, puisque les phénotypes pour les caractères de production et de reproduction ne pourraient pas être mesurés dans une même PR. Enfin, l'évaluation génomique d'éventuels nouveaux caractères dont le phénotypage serait incompatible avec des conditions d'élevage classiques pourrait nécessiter la constitution de PR spécifiques supplémentaires.

A ces charges viendraient s'ajouter celle du génotypage des candidats à la sélection, directement liées au nombre de candidats à évaluer, et donc à l'intensité de sélection et au progrès génétique réalisés. Des études (voir par exemple Druet et Georges, 2010) montrent que, sous certaines conditions (par exemple, génotypage d'une partie des reproducteurs de la population pour l'ensemble des marqueurs considérés dans la PR), il serait possible de ne génotyper les candidats que pour quelques milliers de marqueurs informatifs répartis de manière homogène sur le génome, et « d'imputer » avec un très faible taux d'erreur (quelques pourcents) leur génotype aux marqueurs manquants. Ces techniques d'imputation permettraient de diminuer sensiblement les coûts de génotypage des candidats, tout en préservant l'efficacité de l'évaluation génomique. Néanmoins, même sous l'hypothèse favorable d'un coût de 30 euros par individu pour une puce de 3 000 SNP, le génotypage des 9 200 candidats mâles et des 35 000 candidates femelles contrôlés en ferme en 2008 dans la population collective française Large White type femelle s'élèverait par exemple à plus de 1 300 K€ chaque année.

Les sommes à engager pour mettre en place une sélection génomique dans les dispositifs porcins sont donc importantes. Contrairement à la situation des schémas bovins laitiers pour lesquels la mise en place de la sélection génomique, en se substituant à un testage sur descendance très coûteux (40 000 euros par candidat mâle testé en France), a permis de réaliser des économies considérables couvrant les frais de génotypage, un mode de financement reste à trouver chez le porc. Le coût des mesures actuellement réalisées sur les candidats en ferme, qui se limitent en général à des pesées et des mesures par ultrasons, est faible, et un éventuel arrêt du contrôle en ferme permis par une évaluation génomique ne conduirait pas à des économies substantielles. Le contrôle des collatéraux est en revanche plus coûteux, nécessitant l'équipement des élevages ou des stations en automates d'alimentation et le suivi des animaux à l'abattoir pour les mesures de qualité, avec parfois une diminution de la valeur de la carcasse en cas de prélèvement de tissus. Cependant, on peut dans une première approche considérer que le phénotypage des individus des PR remplacerait celui des collatéraux, et là encore aucun report de financement vers des génotypages n'est à espérer.

Toutefois, si on tient compte du volume annuel de la production porcine (25 millions de porcs charcutiers ont été abattus en France en 2008), l'ensemble des coûts liés à la constitution des PR, au génotypage des candidats et à l'encadrement des dispositifs serait a priori faible comparé au profit supplémentaire réalisé à l'étage de production, grâce à un accroissement du progrès génétique permis par la sélection génomique. On pourrait en conséquence imaginer de financer l'augmentation du coût de la sélection par une hausse du prix de vente des reproducteurs et de la semence.

Les valeurs individuelles d'une cochette et d'un verrat sont certes faibles (entre 260 et 300 euros pour une cochette, environ 650 euros pour un verrat (IFIP, 2009)), mais le nombre de reproducteurs vendus annuellement est très élevé (environ 400 000 cochettes et 9 400 verrats ont été vendus en France en 2008, tous types génétiques confondus (IFIP, 2009)), si bien que cette augmentation serait a priori modérée.

Des études économiques devront cependant être conduites afin de quantifier de manière plus précise les sommes concernées et trouver le mode de financement le plus adapté à une évolution des dispositifs porcins.

3.3.2. Cas des petites populations

De nombreuses lignées et variétés de races en sélection comptent moins de 200 femelles reproductrices, et même si la taille de la PR nécessaire à l'estimation de valeurs génomiques avec une précision donnée est plus faible dans les populations de petite taille efficace (Ne), la constitution de dispositifs suffisamment puissants au sein de chacune de ces populations ne sera pas possible. Il semble néanmoins envisageable dans de tels cas d'utiliser des équations de prédiction des valeurs génomiques établies dans une autre race. L'efficacité d'une telle solution nécessite cependant une densité de marqueurs beaucoup plus forte que lorsque la PR et la population sélectionnée sont du même type génétique, afin de disposer d'associations entre marqueurs et QTL valides dans l'ensemble des populations. De Roos et al. (2008) ont ainsi estimé à 300 000 le nombre de SNP nécessaires à une évaluation efficace de la population bovine laitière Jersiaise à l'aide d'effets de marqueurs estimés en Holstein. Il est possible que la puce porcine de 60 000 SNP actuellement sur le marché soit insuffisante pour de telles applications, mais des puces plus denses seront certainement bientôt disponibles.

Par ailleurs, des résultats suggèrent qu'une représentation, même faible, d'individus de la population à évaluer au sein de la PR permettrait d'améliorer sensiblement la précision d'évaluation (Harris *et al.*, 2008 ; de Roos *et al.*, 2008) ; les organisations de sélection détentrices de petites populations seront donc vraisemblablement amenées à collaborer afin de constituer des dispositifs multiraciaux.

3.3.3. Partage des ressources

Cette mise en commun de ressources ne se limitera vraisemblablement pas aux seules petites populations. En effet, compte tenu du nombre élevé de populations porcines sélectionnées (par exemple, en France, 5 grandes races, une dizaine de variétés de ces races et une quinzaine de lignées composites), de la variété des truies parentales et des types de porcs charcutiers produits, des capacités de phénotypage limitées pour certains caractères, ainsi que des budgets à engager, il semble peu probable de pouvoir constituer et entretenir des PR spécifiques pour un grand nombre de populations sélectionnées ou de croisements pratiqués. Une mise en commun des phénotypes et génotypes de populations génétiquement proches détenues par plusieurs Organisations de Sélection semble donc nécessaire, permettant d'augmenter la puissance des dispositifs tout en limitant les coûts engagés par chaque partenaire. Des collaborations internationales sont également possibles, à l'image du projet Eurogenomics destiné à mettre en commun les phénotypes et génotypes de 16 000 taureaux Holstein de 6 pays européens (Lund *et al.,* 2010).

CONCLUSIONS

La sélection génomique offre plusieurs pistes d'amélioration de l'efficacité des schémas d'amélioration génétique porcins, bien qu'il soit peu probable que sa mise en place entraine des mutations aussi profondes que les changements auxquels nous assistons dans les schémas bovins laitiers, principalement avec l'arrêt du testage sur descendance.

Les perspectives les plus intéressantes semblent être la possibilité d'estimer plus précisément la valeur génétique des individus pour les caractères peu héritables et non observables sur les candidats (qualité de la viande, efficacité alimentaire, aptitudes maternelles) et de sélectionner plus efficacement les individus de race pure pour les caractères exprimés en croisement et dans des conditions de production.

Bien que cette méthodologie permette d'estimer la valeur génétique de candidats sans performance propre et sans performance d'apparenté, l'enregistrement de phénotypes pour les caractères que l'on souhaite améliorer reste tout de même primordial afin d'établir les équations de prédiction des valeurs génomiques. Les stations publiques porcines, bien que les conditions d'environnement y soient sensiblement différentes de celles des élevages commerciaux, seraient naturellement un outil de choix pour la constitution des PR. Elles permettent en effet de mesurer de manière précise les performances des individus pour un grand nombre de caractères, et la nécessité de leur maintien dans des schémas d'amélioration génétique s'appuyant sur la sélection génomique est donc primordiale. La création d'un réseau d'élevages de référence dont la fonction serait analogue à celles des stations pour les caractères de reproduction et d'aptitudes maternelles semble également nécessaire.

De nombreuses incertitudes demeurent cependant quant aux modalités de mise en œuvre de la sélection génomique dans les schémas porcins, qui devraient être levées par les prochaines avancées technologiques (puces plus denses et à moindre coût) et méthodologiques (meilleure prise en compte des effets génétiques non additifs, mélanges de populations). Des études par simulations devront également être conduites afin de déterminer la manière optimale de réorganiser les schémas d'amélioration génétique porcins autour de cette nouvelle méthodologie.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Archibald A. L., Haley C. S., Brown J. F., Couperwhite S. et al., 1995. The PIGMaP consortium linkage map of the pig (Sus scrofa), Mamm. Genome, 6, 157-175.
- Boichard D., Guillaume F., Baur A., Croiseau P., Rossignol M.N., Boscher M.Y., Druet T., Genestout L., Eggen A., Journaux L., Ducrocq V., Fritz S., 2010. Genomic selection in french dairy cattle. Proc 9th WCGALP, Leipzig, Germany August 1-6, 2010. Comm. 716.
- Calus M.P.L., Meuwissen T.H.E., de Roos A.P.W., Veerkamp R.F., 2008. Accuracy of genomic selection using different methods to define haplotypes. Genetics, 178, 553-561.
- Dekkers J.C.M., 2007. Marker assisted selection for commercial crossbred performance. J. Anim. Sci., 85(9), 2104-2114.
- De Roos A.P.W., Hayes B.J., Spelman R., Goddard M.E., 2008. Linkage disequilibrium and persistence of phase in Holstein Friesian, Jersey and Angus cattle. Genetics, 179, 1503-1512.
- Druet T., Georges M., 2010. A Hidden Markov Model Combining Linkage and Linkage Disequilibrium Information for Haplotype Reconstruction and Quantitative Trait Locus Fine Mapping. Genetics, 184, 789-798.
- Du F.X., Clutter A.C., Lohuis M.M., 2007. Characterizing Linkage Disequilibrium in Pig Populations. Int. J. Biol. Sci., 3(3), 166-178.
- Falconer, D. S. 1981. Introduction to Quantitative Genetics. 2nd ed., Longman Inc., New York, NY.
- Fritz S, Colleau J.J., Druet T., Boscher M.Y., Rossignol M.N., Malafosse A., Boichard D., 2003. Mise en place d'une sélection assistée par marqueurs dans les trios principales races bovines laitières françaises. Renc. Rech. Ruminants, 10, 53-56.

- Habier D., Fernando R.L., Dekkers J.C.M., 2007a. The impact of genetic relationship information on genome-assisted breeding values. Genetics, 177, 2389-2397.
- Habier D., Götz K.U., Dempfle L., 2007b. Estimation of genetic parameters on test stations using purebred and crossbred progeny of sires of the Bayarian Piétrain. Livest. Sci., 107, 142-151.
- Habier D., Götz K.U., Dempfle L., 2009. Breeding programme for Piétrain pigs in Bavaria with an estimation of genetic trends and effective population size. Livest. Sci., 123, 187-192.
- Harris B.L., Johnson D.L. Spelman R.J., 2008. Genomic selection in New Zealand and the implications for national genetic evaluation. Proc. Interbull Meeting, Niagara Falls, Canada.
- Hayes B., Goddard M.E., 2001. The distribution of the effects of genes affecting quantitative traits in livestock. Genet. Sel. Evol., 33, 209-229.
- Hayes B.J., Bowman P.J., Chamberlain A.J., Goddard M.E., 2008. Invited review: Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges. J. Dairy Sci., 92, 433-443.
- Hill W.G., 1981. Estimation of effective population size from data on linkage disequilibrium. Genet. Res., 38, 209-216.
- Hu Z.L., Park C.A., Fritz E.R., Reecy J.M., 2010. QTLdb: A Comprehensive Database Tool Building Bridges between Genotypes and Phenotypes. Proc. 9th WCGALP, Leipzig, Germany August 1-6, 2010. Comm. 17.
- Huisman A.E., Cherel P., van Haandel B., 2010. Linkage disequilibrium and signatures of selection on chromosome 1 in a commercial sire line and dam line. Proc. 9th WCGALP, Leipzig, Germany August 1-6, 2010. Comm. 840.
- Ibanz-Escriche N., Fernando R.L., Toosi A., Dekkers J.C.M., 2009. Genomic selection of purebreds for crossbred performance. Genet. Sel. Evol., 41, 12-21.
- IFIP Institut du Porc, 2009. Le porc par les chiffres. Ed. IFIP, 149, rue de Bercy, 75595 Paris cedex 12.
- Kinghorn B.P., Hickey J.M., van der Werf J.H.J., 2010. Reciprocal recurrent genomic selection for total genetic merit in crossbred individuals. Proc 9th WCGALP, Leipzig, Germany August 1-6, 2010. Comm. 36.
- Lund M.S., de Roos A.P.W., de Vries A.G., Druet T., Ducrocq V., Fritz S., Guillaume F., Guldbrandtsen B., Liu Z., Reents R., Schrooten C., Seefried M., Su G., 2010. Improving genomic prediction by EuroGenomics collaboration. Proc 9th WCGALP, Leipzig, Germany, Comm. 0880.
- Lutaaya E., Misztal I., Mabry J.W., Short T., Timm H.H., Holzbauer R., 2001. Genetic parameter estimates from joint evaluation of purebreds and crossbreds in swine using the crossbred model. J. Anim. Sci., 79, 3002-3007.
- Luther H., Vögeli P., Hofer A., 2009. Increasing genetic E. coli F18 resistance in Swiss pigs. Proc. 60th EAAP, Barcelona, Spain, 24-27 August 2009. Comm. 18-03.
- Maignel L., Tribout T., Boichard D., Bidanel J.P., Guéblez R., 1998. Analyse de la variabilité génétique des races porcines Large White, Landrace Français et Piétrain, sur la base de l'information généalogique. Journées Rech. Porcine en France, 30, 109-116.
- Merks J.W.M. 1988. Genotype x environment interactions in pig breeding programs. Thèse de doctorat. Wageningen Agricultural University, Wageningen, The Netherlands, 137 pp.
- Merks J.W.M., Hanenberg E.H.A.T., 1998. Optimal selection strategy for crossbred performance in commercial pig breeding programs. Proc. 6th WCGALP, Armidale, Australia. 23, 575-579.
- Meuwissen T.H.E., 2009. Accuracy of breeding values of unrelated individuals predicted by dense SNP genotyping. Genet. Sel. Evol., 41, 35.
- Meuwissen T.H.E., Hayes B.J., Goddard M.E., 2001. Prediction of Total Genetic Value Using Genome-Wide Dense Marker Maps. Genetics, 157, 1819-1929.
- Ollivier L., 1998. Improvement. In M.F. Rothschild & A. Ruvinsky (Eds), The genetics of the pig, 511-540. CAB International, Wallingford, Oxon OX10 8DE, UK.
- Sidani C., Astruc J.-M., Baelden M., Barillet F., Bibé B. *et al.*, 2010. The French ovine scrapie plan: results and prospects. Proc. 9th WCGALP, Leipzig, Germany August 1-6, 2010. Comm. 412.
- Schwob S., Riquet J., Bellec T., Kernaleguen L., Tribout T., Bidanel J.P., 2009. Mise en place d'un programme de sélection assistée par marqueurs dans la population sino-européenne Duochan. Journées Rech. Porcine, 41, 29-30.
- Solberg T.R., Sonesson A.K., Woolliams J.A., Odegard J., Meuwissen T.H.E., 2009. Persistence of accuracy of genome-wide breeding values over generations when including a polygenic effect. Genet. Sel. Evol., 41, 53.
- Tibshirani R., 1996. Regression shrinkage and selection via the Lasso. J. Royal Stat. Soc., 58, 267-288.
- Tribout T., Caritez J.C., Gogué J., Gruand J., Billon Y., Bouffaud M., Lagant H., Le Dividich J., Thomas F., Quesnel H., Guéblez R., Bidanel J.P., 2003. Estimation, par utilisation de semence congelée, du progrès génétique réalisé en France entre 1977 et 1998 dans la race porcine Large White: résultats pour quelques caractères de reproduction femelle. Journées Rech. Porcine, 35, 285-292.
- Tribout T., Caritez J.C., Gogué J., Gruand J., Bouffaud M., Billon Y., Péry C., Griffon H., Brenot S., Le Tiran M.H., Bussières F., Le Roy P., Bidanel J.P., 2004. Estimation, par utilisation de semence congelée, du progrès génétique réalisé en France entre 1977 et 1998 dans la race porcine Large White: résultats pour quelques caractères de production et de qualité des tissus gras et maigres. Journées Rech. Porcine, 36, 275-282.
- Van der Steen H.A.M., Prall G.F.W., Plastow G.S., 2005. Application of genomics to the pork industry. J. Anim. Sci., 83(E. Suppl.), E1-E8.
- Van Raden P.M., 2009. Efficient methods to compute genomic predictions. J. Dairy Sci., 91, 4414-4423.
- Verbyla K., Bowman P., Hayes B., Raadsma H., Khatkar M., Goddard M.E., 2009. Comparison of Bayesian methods for genomic selection using real dairy data. Proc. 60th EAAP, Barcelona, Spain, 24-27 August 2009. Comm. 28-2.
- Wei M., Van der Steen H.A.M., 1991. Comparison of reciprocal recurrent selection with pure-line selection systems in animal breeding (a review). Anim. Breed. Abstr., 59, 281-298.
- Welsh C.S., Blackburn H.D., Schwab C., 2009. Population status of major U.S. swine breeds. Proceedings of American Society of Animal Science Western Section, June 16-18, 2009 Fort Collins, CO, 60, 42-45.
- Whittaker J.C., Thompson R., Denham M.C., 2000. Marker-assisted selection using ridge regression. Genet. Res., 75, 249-252.
- Xu S., 2003. Estimating polygenic effects using markers of the entire genome. Genetics, 163, 789-801.

Décryptage du contrôle génétique des réponses immunitaires innées et adaptatives chez le porc Large White : une étude combinant des approches génétiques et fonctionnelles

Avec la collaboration technique de Gaëtan LEMONNIER (1,2,3), Angélique TEILLAUD (1,2,3), Jean-Jacques LEPLAT (1,2,3), Stephan BOUET (1, 2, 3), Fabrice ANDREOLETTI (1, 2, 3), Anne-Marie COSSALTER (4), Joelle LAFFITTE (4), Christiane de VAUREIX (5) et le soutien financier de l'Agence Nationale de la Recherche (Projet IMMOPIG, programme Genanimal 2007-2009)

Décryptage du contrôle génétique des réponses immunitaires innées et adaptatives chez le porc Large White : une étude combinant des approches génétiques et fonctionnelles

Un programme d'analyse fine du contrôle génétique de la réponse immunitaire (RI) combinant des approches génétiques et fonctionnelles a été développé. Plus de 400 animaux de race Large White mesurés pour des caractères de production ont été caractérisés pour un large éventail de paramètres de l'immunité trois semaines après vaccination contre *Mycoplasma hyopneumoniae*. Ces paramètres incluent : i) une numération-formule sanguine et un comptage par cytométrie de flux de cinq sous-populations leucocytaires caractérisées par la présence à leur surface des marqueurs IgM, $TCR\gamma\delta$, CD4/CD8, CD16/CD2 et CD16/CD172a/MHCII, ii) des paramètres de la RI innée (phagocytose et production in vitro des cytokines IL1B, IL6, IL8, TNF, IL12 et $IFN\alpha$ après stimulation du sang total), iii) des paramètres de RI adaptative (prolifération lymphocytaire, production *in vitro* des cytokines IL2, IL4, IL10 et $IFN\gamma$, dosages sériques des immunoglobulines (Ig) totales A, G, M et des IgG spécifiques anti-*Mycoplasma hyopneumoniae*) et iv) deux protéines de la phase inflammatoire aiguë (protéine C-réactive et haptoglobine). Les estimations d'héritabilité atteignent 0,4 en moyenne (SE = 0,1) et 42 des 54 paramètres mesurés ont montré des valeurs d'héritabilité estimées modérées à élevées (\geq 0,2). Ces valeurs confirment que de nombreux paramètres sont sous contrôle génétique et pourraient être inclus dans les programmes de sélection. Les analyses fonctionnelles ont révélé que le transcriptome sanguin est informatif pour une partie des caractères d'immunité mesurés et pourrait être utile pour affiner nos connaissances sur l'immunocompétence chez le porc.

Deciphering the genetic control of innate and adaptive immune responses in Large White pigs: a combined genetic and genomic study

Improving animal robustness and resistance to pathogens by adding health criteria to selection schemes is one of the challenging objectives of the next decade. In order to better understand the genetic control of immunity in French Large White pigs, we have launched a program combining genetic and genomic studies that do not focus on any particular pathogen. More than 400 animals recorded for production traits were scored for a wide range of immunity parameters three weeks after vaccination against $Mycoplasma\ hyopneumoniae$: i) total white blood cells and lymphocyte counts and proportions of various leucocyte subsets including cells harbouring IgM, $\gamma\delta$ TCR, CD4/CD8, CD16/CD2 and CD16/CD172a/MHCII, ii) innate immune response parameters (phagocytosis and *in vitro* production of IL1B, IL6, IL8, TNF, IL12 and IFN α after blood stimulation), iii) adaptive immune response parameters (lymphocyte proliferation, *in vitro* production of IL2, IL4, IL10 and IFN α after blood stimulation, total IgG, IgA, IgM and specific IgG levels) and iv) two acute phase proteins (C-reactive protein and haptoglobin). Heritability estimates were 0.4 on average (SE=0.1) and 42 of the 54 measured parameters showed moderate to high heritabilities (\geq 0.2), confirming that many parameters are under genetic control and could be included in selection protocols. Functional analyses revealed that blood transcriptome is informative for some of the immunity traits and could be relevant to refine our knowledge on pig immunocompetence.

INTRODUCTION

Chez le porc, l'élaboration de programmes de sélection efficaces sur les caractères de production et l'application de règles sanitaires strictes ont conduit à une amélioration hautement significative des performances zootechniques pendant les 30 dernières années. Or, de nouvelles considérations liées au bien-être animal, à la sécurité du consommateur et la mise en place de nouvelles directives à l'échelle européenne ont conduit à supprimer l'usage des antibiotiques à des fins de croissance et à limiter la prophylaxie médicamenteuse. De plus, des pathologies chroniques et émergentes existent en élevage et représentent des pertes économiques importantes que la profession souhaite réduire. Dans ce contexte, améliorer la robustesse et la résistance des animaux aux pathogènes devient une priorité pour la plupart des animaux de rente. Introduire des critères de santé dans les futurs schémas de sélection pour produire des animaux globalement plus résistants à des pathologies diverses est un des enjeux majeurs de la prochaine décennie.

L'identification et l'utilisation de critères qui caractérisent une multi-résistance des animaux à des agents pathogènes variés est une question complexe. Plusieurs options sont possibles pour aborder le sujet. Parmi ces options, deux approches peuvent être distinguées: explorer les résistances de l'hôte aux agents pathogènes ou caractériser l'immunocompétence des animaux sans cibler un agent pathogène particulier. Cette dernière approche est sous-tendue par une hypothèse forte selon laquelle le niveau d'immunocompétence pourrait être un critère prédictif de résistance/susceptibilité aux infections. Caractériser l'immunocompétence signifie choisir paramètres de la réponse immunitaire (RI) considérés ensuite comme des critères de santé (Wilkie et Mallard, 1999, 2000). Ces derniers pourraient être ensuite introduits dans les objectifs de sélection. Pour effectuer ce choix, il est nécessaire, d'une part, d'identifier des paramètres immuns héritables et positivement corrélés avec la santé et la résistance aux maladies et, d'autre part, d'analyser les corrélations avec les paramètres zootechniques sous sélection. Quelques études ont déjà montré des héritabilités moyennes à élevées pour plusieurs paramètres de la RI, notamment le nombre de leucocytes et les proportions de sous-types leucocytaires (Edfors-Lilja et al., 1994; Henryon et al., 2006; Clapperton et al., 2008, 2009), l'hypersensibilité retardée (Joling et al., 1993; Wilkie et Mallard, 2000), la prolifération lymphocytaire et la production des cytokines IL2 et IFN α après stimulation leucocytaire ainsi que la phagocytose (Edfors-Lilja et al., 1994), les taux d'anticorps totaux ou spécifiques (Joling et al., 1993; Edfors-Lilja et al., 1994; Wilkie et Mallard, 2000; Henryon et al., 2006) et des protéines de la phase inflammatoire aiguë (Henryon et al., 2006; Clapperton et al., 2008).

Une sélection divergente basée sur un index de quatre paramètres a été réalisée avec succès sur huit générations chez le porc (Mallard *et al.*, 1998; Wilkie et Mallard, 1999) et des QTL contrôlant le nombre total de leucocytes, la prolifération lymphocytaire induite par des agents mitogènes, la production d'IFN γ et d'IL10 ainsi que le taux d'anticorps spécifiques ont été identifiés (Edfors-Lilja *et al.*, 1994; Wattrang *et al.*, 2005; Lu *et al.*, 2010).

L'ensemble de ces données suggère qu'il est envisageable de prendre en compte des paramètres de la RI dans des programmes de sélection chez le porc.

programme d'étude démarré un Nous avons l'immunocompétence de porcs Large White suite à une vaccination. L'objectif est de couvrir une large gamme de paramètres qui caractérisent les RI innées et adaptatives pour une même population d'animaux. Le projet ne cible pas un agent pathogène particulier et associe des approches de génétique et de génomique fonctionnelle. L'approche génétique repose sur i) le phénotypage des animaux pour des paramètres variés et complémentaires de la RI, ii) une estimation de l'héritabilité des paramètres mesurés et iii) une estimation des corrélations phénotypiques et génétiques entre les paramètres immuns et entre les paramètres immuns et des caractères de production. L'approche de génomique fonctionnelle repose sur l'analyse du transcriptome des cellules du sang total en utilisant une puce à ADN porcine générique enrichie en gènes de la RI (Gao et al., 2010). Nos premiers résultats sur l'estimation des héritabilités et le transcriptome sont présentés ici.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Animaux et prélèvements

Un total de 443 mâles castrés de race Large White, appartenant à une lignée femelle en contrôle de performances dans une unité de testage a été inclus dans l'étude. Les animaux sont nés dans des élevages de sélection et transférés dans l'unité de testage à 35 jours, sans vaccination préalable. Le lendemain de leur arrivée en station, les animaux ont été vaccinés contre *Mycoplasma hyopneumoniae* (vaccin Stellamune, Pfizer, une seule injection). L'arrivée des animaux et les prélèvements se sont déroulés sur une période de 18 mois. La population est constituée de 307 familles nucléaires issues de 106 verrats. Tous les porcs étaient exempts de signes cliniques extérieurs d'infection. Les mesures réalisées en routine sur les animaux en contrôle de performances ont été enregistrés pour tous les animaux: paramètres de croissance et de carcasse (n=19) et de qualité de viande (n=6).

Des échantillons de sang ont été prélevés trois semaines après vaccination par ponction au niveau de la veine jugulaire externe et collectés soit dans des tubes sans anti-coagulant, soit dans des tubes contenant de l'EDTA ou de l'héparine de sodium. Du sang a également été prélevé dans des tubes PAXgeneTM (PreAnalytiX). Les protocoles étaient en accord avec la réglementation en vigueur sur l'expérimentation animale.

1.2. Paramètres immuns mesurés

La liste des paramètres mesurés est présentée dans le tableau 1. Le détail des protocoles est décrit dans Flori *et al*. (soumis).

1.3. Analyses génétiques

Des analyses statistiques préliminaires ont été réalisées à l'aide du langage R (R 2.8.1, http://www.R-project.org). Les mesures des paramètres ont été normalisées par une transformation boxcox ou ln (1+x). Les effets des variables âge au moment de la vaccination, jour de vaccination, élevage de naissance et jour des prélèvements ont été trouvés significatifs pour la plupart des caractères mesurés (ANOVA, R 2.8.1, http://www.R-project.org). Les composantes de la variance, les paramètres génétiques et leurs erreurs standards ont été estimés en utilisant la méthodologie REML (Patterson et Thompson, 1971) appliquée à un modèle linéaire mixte.

Tableau 1 - Phénotypes mesurés dont l'estimation de l'héritabilité est significative.

Typologie des mesures de RI	Protocole simplifié	Paramètres mesurés	h² (se)	h ² : Intervalle de confiance à 95%
Di alabala	Niveránski sa formanila samanina	Globules blancs (GB)	0,7 (0,2)	[0,3 - 1]
RI globale	Numération formule sanguine	Lymphocytes	0,7 (0,2)	[0,3 - 1]
		IL4-CONA	0,5 (0,1)	[0,3 - 0,6]
		IL4-PMAIONO	0,6 (0,2)	[0,2 - 0,9]
		IL4-LPS	0,1 (0,1)	[0 - 0,2]
	Stimulation in vitro de sang total	IL10-CONA	0,5 (0,2)	[0,1 - 0,8]
	avec un mélange de phorbol	IL10-PMAIONO	0,9 (0)	[0,9 - 0,9]
	myristate acetate (PMA) et ionomycine (PMAIONO) ou	IL10-LPS	0,3 (0,1)	[0,1 - 0,4]
	lipopolysaccharide (LPS) ou	IFNG-CONA	0,4 (0,1)	[0,2 - 0,5]
	concanavaline A (CONA) pendant	IFNG-PMAIONO	0,5 (0,2)	[0,1 - 0,8]
RI adaptative à	48 heures	IFNG-LPS	0 (0)	[0 - 0]
médiation cellulaire		IL2-CONA	0,8 (nd ¹)	nd ¹
		IL2-PMAIONO	0,7 (0,1)	[0,5 - 0,8]
		IL2-LPS	0,9 (0)	[0,9 - 0,9]
	Prolifération lymphocytaire non	PROLIF-CONA	0,3 (0,1)	[0,1 - 0,4]
	spécifique: stimulation in vitro de	PROLIF-PMAIONO	0,2 (0,1)	[0 - 0,3]
	sang total pendant 48 heures	PROLIF-LPS	0,3 (0,1)	[0,1 - 0,4]
		CD4 ⁻ CD8 ⁺ (Lymphocytes Tαβ)	0,4 (0,2)	[0 - 0,7]
	Cytométrie de flux	CD4 ⁺ CD8 ⁺ (Lymphocytes Tαβ)	0,6 (0,2)	[0,2 - 0,9]
	-,	CD4 ⁺ CD8 ⁻ (Lymphocytes Tαβ)	0,5 (0,1)	[0,3 - 0,6]
	Cytométrie de flux	IgM ⁺ (lymphocytes B)	0 (0)	[0 - 0]
	Cytometric de nax	IgA	0,6 (0,1)	[0,4 - 0,7]
RI adaptative à	Anticorps totaux	lgG	0,6 (0,2)	[0,2 - 0,9]
médiation humorale	, without po totalax	IgM	0,3 (0,1)	[0,1 - 0,4]
	Anticorps spécifiques	IgG anti- <i>Mycoplasma</i> (IgG-Mh)	0,1 (0,1)	[0 - 0,2]
	/ intectips speemiques	Monocytes	0,3 (0,2)	[0 - 0,6]
	Numération formule sanguine	Neutrophiles	0,5 (0,2)	[0,1 - 0,8]
	rtameration formate sangame	Eosinophiles	0,8 (0,1)	[0,6 - 0,9]
		CD16 CD2 ⁺	0,3 (0,2)	[0 - 0,6]
		CD16 ⁺ CD2 ⁺	0,8 (0,1)	[0,6 - 0,9]
		CD16 ⁺ CD2 ⁻	0 (0,1)	[0 - 0,1]
		MHCII ⁻ CD172 ⁺	0,2 (0,2)	[0 - 0,5]
		MHCII [†] CD172 [†]	0,4 (0,2)	[0 - 0,7]
		MHCII ⁺ CD172 ⁻	0,3 (0,2)	[0 - 0,6]
	Cytométrie de flux	CD16 CD172 +	0,3 (0,2)	[0 - 0,6]
	eyeemeane ac max	CD16 ⁺ CD172 ⁺	0,2 (0,2)	[0 - 0,5]
RI innée		CD16 ⁺ CD172 ⁻	0,7 (0,2)	[0,3 - 1]
		CD16 ⁻ MHCII ⁺	0 (0,1)	[0 - 0,1]
		CD16 ⁺ MHCII ⁺	0,7 (0,1)	[0,5 - 0,8]
		CD16 [†] MHCII ⁻	0,1 (0,2)	[0 - 0,4]
		$TCR\gamma\delta^{\dagger}$ (Lymphocytes $T\gamma\delta$)	0,6 (0,1)	[0,4 - 0,7]
		IL1B	0,1 (0,1)	[0,1 - 0,2]
	Stimulation in vitro de sang total	IL8	0 (0)	[0 - 0]
	avec un mélange de PMA,	TNF	0 (0)	[0 - 0]
	ionomycine et LPS pendant 24	IL6	0,1 (0,1)	[0 - 0,2]
	heures ou avec un antigène viral	IL12	0,5 (0,2)	[0,1 - 0,8]
	pour l'interféron alpha (IFNA)	IFNA	0,6 (0,2)	[0,2 - 0,9]
	Test <i>in vitro</i> sur sang total	Phagocytose	0,6 (0,2)	[0,2 - 0,9]
Phase inflammatoire		Haptoglobine	0,5 (0,1)	[0,3 - 0,6]
aiguë	Protéines sériques	Protéine C réactive	0,1 (0,1)	[0 - 0,2]
<u> </u>		Taux de globules rouges	0,4 (0,1)	[0,2 - 0,5]
Autres paramètres		Hématocrite	0,5 (0,1)	[0,3 - 0,6]
sanguins	Numération formule sanguine	Indice de déviation des réticulocytes	0,5 (0,1)	[0,3 - 0,6]
5 .		Plaquettes	0,5 (0,1)	[0,3 – 0,6]

¹ND: non déterminé

univarié à l'aide du logiciel ASReml (Gilmour et al., 2004), en prenant en compte comme effets fixes l'âge au moment de la vaccination, le jour de vaccination, l'élevage de naissance et le jour des prélèvements et comme effets aléatoires la bande de contrôle et les effets génétiques directs. Pour l'estimation des héritabilités, un intervalle de confiance à 95% a été calculé.

1.4. Extraction des ARN et analyses du transcriptome

Des ARN totaux ont été extraits à partir des prélèvements réalisés avec des tubes PAXgene à l'aide du kit PAXgene Blood RNA Kit (Qiagen, France). La puce générique porcine enrichie en gènes de la RI (puce SLA-RI/NRSP8-13K) a été utilisée (Gao et al., 2010). Cinq microgrammes d'ARN sanguin ou d'un ARN de référence issu d'un mélange de tissus ont été respectivement marqués par du Cy3 ou du Cy5, directement au cours de la réverse transcription avec le kit $ChipShot^{TM}$ Direct Labeling System (Promega, USA). Après purification (ChipShot[™] Membrane Clean-Up System, Promega, USA), 750 ng des ADNc cibles marqués soit en Cy3 soit en Cy5 ont été mélangés et co-hybridés sur les puces. Les signaux d'hybridation ont été capturés avec un scanner Agilent DNA Microarray puis quantifiés avec le logiciel GenePixTM Pro software V6.0 (MDS Inc., Canada). Les niveaux différentiels d'expression entre échantillons ont été établis avec des tests statistiques disponibles dans la version 2.12.0 de Limma (Bioconductor, R 2.8.1, http://www.R-project.org).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Phénotypes de la RI étudiés

Un total de 54 paramètres couvrant un large éventail de mesures reliées aux RI innées et adaptatives a été enregistré (Tableau 1). Les populations cellulaires du sang ont été quantifiées par des numérations-formules sanguines et des sous-populations leucocytaires ont été caractérisées par cytométrie de flux. Les cellules associées à la RI innée correspondent aux lymphocytes $T\gamma\delta$ (LT $\gamma\delta$), monocytes, cellules natural killer, neutrophiles et éosinophiles. Les cellules impliquées dans la RI adaptative incluent les lymphocytes $T\alpha\beta$ $(LT\alpha\beta)$ CD4⁺ CD8⁺, CD4⁺ CD8⁻, CD4⁻ CD8⁺ et les lymphocytes B (LB). La RI innée est également caractérisée par la capacité phagocytaire, la production in vitro des cytokines IL1B, IL6, IL8, TNF, IL12, IFN α . S'ajoutent le dosage de deux protéines de la phase inflammatoire aiguë, l'haptoglobine et la protéine C réactive. La RI adaptative à médiation humorale est représentée par les mesures d'anticorps totaux (IgA, IgM et IgG) et spécifiques anti- $Mycoplasma\ hyopneumoniae\ (IgG-Mh).$ La RI adaptative à médiation cellulaire inclut, d'une part, le dosage de cytokines produites *in vitro* qui spécifient classiquement les voies Th1 (IL2 et IFN γ) ou Th2 (IL4 et IL10) et, d'autre part, la mesure de la prolifération non spécifique des cellules sanguines par des mitogènes variés (tableau 1).

2.2. Estimation des héritabilités

Les résultats des calculs montrent que les héritabilités sont estimées modérées à élevées (h²≥0,2) pour 42 paramètres des 54 inclus dans l'analyse (tableau 1). Des héritabilités significatives ont été observées pour des paramètres issus de dosages variés tels des dosages sériques, des comptages cellulaires, des mesures de protéines après stimulation in vitro. Cela suggère que les résultats ne sont pas biaisés vers un type particulier de mesure et que des paramètres associés à des volets distincts et complémentaires de la RI sont héritables. Nos résultats sont en accord avec d'autres études au cours desquelles des héritabilités ont été estimées (Edfors-Lilja et al., 1994; Wilkie et Mallard, 1999; Clapperton et al., 2008, 2009) et sont cohérents avec l'identification de QTLs pour des caractères comme le nombre de leucocytes (Edfors-Lilja et al., 1998 ; Wattrang et al., 2005), la réponse anticorps (Wimmers et al., 2008, 2009) et plus récemment les niveaux sériques des cytokines IL10 et IFN γ suite à une vaccination contre le virus de la grippe porcine (Lu et al., 2010).

Il est bien reconnu que la RI est fortement dépendante de l'environnement. Nos résultats, associés à ceux d'autres équipes, montrent toutefois que la part génétique de la RI se confirme. Le nombre croissant de données sur les estimations d'héritabilité et la détection de QTL suggère qu'un nombre significatif de paramètres à des positions distinctes de la complexe cascade de la RI sont contrôlés génétiquement.

2.3. Etude du transcriptome du sang total

Pour chaque paramètre, les animaux ont été classés par niveau de valeurs mesurées. Les animaux les plus extrêmes pour les valeurs élevées ou basses ont été choisis pour l'analyse du transcriptome des cellules sanguines. Comme indiqué dans la partie Matériel et Méthodes, les échantillons sanguins étudiés pour les analyses du transcriptome ont été récoltés en même temps que ceux destinés aux mesures phénotypiques de la RI, afin d'avoir une correspondance directe entre les mesures sur lesquelles des héritabilités sont estimées et les analyses du transcriptome. Un premier groupe de neuf paramètres a été analysé (Tableau 2).

Tableau 2 - Bilan des analyses du transcriptome des cellules du sang total pour neuf paramètres de la RI

	Nombre de porcs			Nombre de gènes différentiellement exprimés			
Phénotypes	Cuarra ralarra	Groupe valeurs	Total	Groupe valeurs basses	Groupe valeurs basses		
Fileliotypes	Groupe valeurs			>	<		
	fortes	basses		groupe valeurs élevées	groupe valeurs élevées		
GB	9	9	334	235	99		
PHAG	9	11	336	125	211		
IL10-PMAIONO	10	10	756	539	217		
IL2-PMAIONO	10	10	642	312	330		
TNF	7	7	0	0	0		
IFNG-PMAIONO	7	8	1009	606	403		
IgG-Mh	10	10	0	0	0		
TCRγδ⁺	10	10	0	0	0		
CD4 CD8	4	6	173	111	62		

Un nombre significatif de gènes a été trouvé différentiellement exprimé entre les groupes de valeurs élevées et basses pour les paramètres GB, PHAG, IL10-PMAIONO, IL2-PMAIONO et LT CD4 $^{-}$ CD8 $^{+}$; les analyses en cours indiquent une bonne pertinence biologique des gènes identifiés, avec une représentation significative de fonctions liées à l'immunité et à l'hématopoïèse. A l'inverse, aucune différence entre les deux groupes n'a été trouvée pour les paramètres TNF, IgG-Mh et TCR $\gamma\delta^{\dagger}$. Ces résultats préliminaires montrent que, pour une partie des paramètres de la RI, le transcriptome du sang sera informatif et que des profils d'expression génique pourraient être corrélés à des niveaux de mesures.

CONCLUSION

A notre connaissance, cette étude est la première étude à grande échelle qui rassemble des données sur autant de paramètres des RI innées et adaptatives pour une même

population d'animaux et qui combine des approches de génétique et de génomique fonctionnelle. Nos résultats confirment ceux d'autres laboratoires quant à un contrôle génétique significatif d'un nombre important de paramètres immuns, bien que l'environnement soit reconnu comme ayant une influence très forte sur la RI.

Des données préliminaires sur l'analyse du transcriptome du sang suggèrent que ce paramètre pourrait être un phénotype moléculaire prometteur pour affiner la caractérisation de la RI chez le porc, et que l'intégration des données de transcriptome et de génétique pourrait contribuer à identifier les gènes candidats impliqués dans le contrôle des paramètres de RI trouvés héritables.

L'analyse des corrélations phénotypiques et génétiques entre caractères immuns et de production est en cours. Les premiers résultats mettent en évidence des corrélations positives et négatives dont la signification biologique est à explorer plus avant. L'étape suivante sera l'étude des corrélations entre immunocompétence et résistance aux infections.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Clapperton M., Glass E.J., Bishop S.C., 2008. Pig peripheral blood mononuclear leucocyte subsets are heritable and genetically correlated with performance Animal, 2, 1575-1584.
- Clapperton M., Diack A.B., Matika O., Glass E.J., Gladney C.D., Mellencamp M.A., Hoste A., Bishop S.C., 2009. Traits associated with innate and adaptive immunity in pigs: heritability and associations with performance under different health status conditions. Genet Sel Evol, 41, 54.
- Edfors-Lilja I., Wattrang E., Magnusson U., Fossum C., 1994. Genetic variation in parameters reflecting immune competence of swine. Vet Immunol Immunopathol, 40, 1-16.
- Edfors-Lilja I., Wattrang E., Marklund L., Moller M., Andersson-Eklund L., Andersson L., Fossum C., 1998. Mapping quantitative trait loci for immune capacity in the pig. J Immunol, 161, 829-835.
- Gao Y., Flori L., Lecardonnel J., Esquerre D., Hu Z.L., Teillaud A., Lemonnier G., Lefevre F., Oswald I.P., Rogel-Gaillard C., 2010. Transcriptome analysis of porcine PBMCs after in vitro stimulation by LPS or PMA/ionomycin using an expression array targeting the pig immune response. BMC Genomics, 11, 292.
- Gilmour A.R., Cullis B.R., Welham S.J., Thomson R., 2004. ASReml reference manual 2nd edition, release 2.0 (draft 1.62). In: NSW Agriculture Biometrical Bulletin 3.
- Henryon M., Heegaard P.M.H., Nielsen J., Berg P., Juul-Madsen R., 2006. Immunological traits have the potential to improve selection of pigs for resistance to clinical ans subclinical disease. Animal Science, 82, 597-606.
- Joling P., Mok K.S., de Vries Reilingh G., Wever P.J., Cornelis R.S., Oskam J.P., Henken A.M., 1993. An evaluation of immune competence in different swine breeds. Vet Q, 15, 9-15.
- Lu X., Gong Y.F., Liu J.F., Wang Z.P., Hu F., Qiu X.T., Luo Y.R., Zhang Q., 2010. Mapping quantitative trait loci for cytokines in the pig. Anim Genet.
- Mallard B.A., Wilkie B., Kennedy B., Gibson J., Quinton M., 1998. Immune responsiveness in swine: eight generations of selection for high and low immune response in yorkshire pigs. Proc. Conference "6th WCGALP". pp. 257-264.
- Patterson H.D., Thompson R., 1971. Recovery of interblock information when block sizes are unequal. Biometrika, 58, 545–554.
- Wattrang E., Almqvist M., Johansson A., Fossum C., Wallgren P., Pielberg G., Andersson L., Edfors-Lilja I., 2005. Confirmation of QTL on porcine chromosomes 1 and 8 influencing leukocyte numbers, haematological parameters and leukocyte function. Anim Genet, 36, 337-345.
- Wilkie B.N., Mallard B.A., 1999. Selection for high immune response: an alternative approach to animal health maintenance? Vet Immunol Immunopathol, 72, 231-235.
- Wilkie B.N., Mallard B.A., 2000. Genetic aspects of health and disease resistance in pigs. In: R.F.E. Axford, S.C. Bishop, F.W. Nicholas &O.J. B. (Eds), Breeding for disease resistance in farm animals, 2nd edition, 379-396. CABI.
- Wimmers K., Murani E., Schellander K., Ponsuksili S., 2009. QTL for traits related to humoral immune response estimated from data of a porcine F2 resource population. Int J Immunogenet, 36, 141-151.
- Wimmers K., Jonas E., Schreinemachers H.J., Tesfaye D., Ponsuksili S., Tholen E., Juengst H., Schellander K., Phatsara C., 2008. Verification of chromosomal regions affecting the innate immunity in pigs using linkage mapping. Dev Biol (Basel), 132, 279-286.

Variabilité génétique des niveaux d'expression en ARN messagers du muscle squelettique à l'abattage Relation avec les caractères de qualité de viande

Pierre CHEREL (1), Marie DAMON (2), Annie VINCENT (2), Frédéric HERAULT (3), Pascale LE ROY (3)

(1) Hendrix Genetics RTC, 100, Avenue Denis Papin, F-45808 St Jean de Braye Cedex
(2) INRA, UMR SENAH, Domaine de la Prise, F-35590 Saint Gilles
(3) INRA, UMR génétique animale, 65, rue de St Brieuc, F-35042 Rennes Cedex

pierre.cherel@hendrix-genetics.com

Avec la collaboration technique de Jérôme GLENISSON (1), Laurent LETELU (1), José PIRES (1) et Martine FILLAUT (2)

Variabilité génétique des niveaux d'expression en ARN messagers du muscle squelettique à l'abattage : relation avec les caractères de qualité de viande

Une population à structure familiale de 305 animaux, femelles et castrats issus de deux générations de croisements entre les lignées mâles FRANCE-HYBRIDES FH016 et FH019, a fait l'objet d'une analyse systématique du transcriptome du muscle *Longissimus lumborum* prélevé au moment de l'abattage, associée à la mesure de caractères de qualité de viande sur la longe, en frais et après cuisson. L'analyse du transcriptome a été réalisée par hybridation sur micro-réseaux, en utilisant un répertoire spécifique de 15 000 sondes ADN 60-mer, ciblant les transcrits exprimés dans le muscle squelettique du porc en croissance. Ces données ont permis d'estimer l'héritabilité des niveaux d'expression pour chacun des ARN quantifiés, ainsi que des indications de corrélation génétique avec les caractères de qualité de viande. Les niveaux d'expression de 6 664 ARN ont été estimés comme héritables au seuil de 5% FDR (False Discovery Rate), dont 837 sont estimés comme fortement héritables. Nous avons par ailleurs observé un nombre élevé de transcrits dont le niveau d'expression est génétiquement corrélé au pH à 45 minutes (226), aux pertes en eau à la cuisson (120) et à la force de cisaillement mesurée sur la longe après cuisson (206). Les gènes représentés par les niveaux d'expression génétiquement corrélés au pH 45 minutes sont enrichis pour les fonctions moléculaires liées au transport transmembranaire de cations. Les utilisations potentielles de ces mesures de quantification d'ARN dans le cadre de programmes d'amélioration génétique de la qualité de la viande sont discutées.

Genetic variability of transcript abundance in pig skeletal muscle at slaughtering: relationship with meat quality traits

An experimental population of 305 pigs (females and barrows) was produced as an intercross between the FRANCE-HYBRIDES FH016 and FH019 sire lines and subjected to a systematic transcriptome analysis of *Longissimus lumborum* muscle samples obtained shortly after slaughter. Additionally, measurements of meat quality traits from fresh and cooked loins were gathered from the same animals. Transcriptome analysis was achieved by microarray hybridization, using a custom repertoire of 15,000 60-mer DNA probes targeting transcripts expressed in growing pig skeletal muscle. These data allowed us to estimate heritability of expression levels as measured for each of the quantified RNA species. The expression level of 6,664 RNA was estimated as heritable, with an FDR (False Discovery Rate) of 5%, and from those 837 were deemed highly heritable. We also observed a high number of transcripts where expression level was genetically correlated with pH measured at 45 minutes post mortem (226), water loss at cooking (120) and cooked loin shear force (206). Genes represented by transcript levels genetically correlated to the pH at 45 minutes were enriched for molecular functions associated to the transmembrane transport of cations. The potential uses of these RNA quantification measurements in meat quality genetic improvement programs were discussed.

INTRODUCTION

Les progrès des techniques d'analyse moléculaire du vivant, largement supportés et motivés par les progrès de la connaissance des génomes, permettent la quantification des ARN messagers présents dans les tissus animaux à grande échelle. Une variabilité génétique importante de ces mesures a été observée chez de nombreux organismes, dont la souris (Petretto et al., 2006), l'homme (Schadt et al., 2003), et le porc (Ponsuksili et al., 2010). Sous le nom de « génétique génomique » (Jansen et Nap, 2001), l'étude de cette variabilité génétique fait l'objet d'un intérêt fondamental, de par les connections directes existant entre ces phénotypes moléculaires et le matériel génétique chromosomique, dont les variations de structure définissent la variabilité génétique.

Dans le cas d'un programme de sélection orienté vers la production de viande, le tissu contribuant *a priori* le plus au produit final, la viande, et à ses attributs qualitatifs, est le muscle strié squelettique. Cette relation triviale, mais qui n'est pas exclusive (d'autres tissus peuvent contribuer aux caractères de qualité de viande: axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien, système nerveux central, tissu adipeux), permet de supposer l'existence de déterminants génétiques communs à la variabilité quantitative des niveaux d'expression d'ARN dans le muscle et à la qualité de la viande. Ceux-ci offriraient à leur tour la perspective d'utilisations concrètes pour l'amélioration génétique des caractères de qualité de viande, dans le cadre d'une sélection indirecte basée sur la mesure de ces quantités d'ARN.

Une population à structure familiale de 305 animaux a fait l'objet d'une analyse systématique du transcriptome du muscle *Longissimus lumborum* (LL) au moment de l'abattage, et de mesures détaillées de qualité de la viande. Une étude de la variabilité génétique de ces caractères est rapportée ici.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Population expérimentale

Les 305 animaux utilisés pour cette étude sont issus d'une population d'environ 1 000 animaux F2 constituée par deux générations successives de croisement à partir de deux lignées mâles (FH016, lignée de type Piétrain, FRANCE-HYBRIDES; FH019, lignée synthétique issue de fondateurs de type Hampshire, Duroc et Large White, FRANCE-HYBRIDES). Il s'agit plus précisément de quatre familles de demi-frères et pleinfrères, soit les issus de 4 mâles F1 et 15 femelles F1. La constitution de cette population expérimentale correspond à une stratégie d'optimisation de la détection de QTL. Il a été vérifié par génotypage qu'aucun des animaux utilisés dans les analyses présentées ici n'était porteur de l'allèle HAL n ou de l'allèle RN.

1.2. Mesures de qualité de viande

Le protocole de mesures de qualité de viande réalisé sur ces animaux a été détaillé par Laville *et al.* (2007). Brièvement, le pH à 45 minutes (PH45) a été mesuré en solution sur un broyat de muscle LL au 1/10^e dans une solution d'iodoacétate de sodium à 5 mM, le pH 24 heures (PH24) a été mesuré directement sur la carcasse dans le muscle LL au niveau de la dernière côte. La mesure de pertes en eau au stockage à 4°C (PES) se réfère au pourcentage de poids perdu lors du stockage

d'une côte de porc non désossée d'environ 5 cm d'épaisseur (365 g) à 4°C pendant 48 heures. La mesure de pertes en eau à la cuisson (PEC) se réfère au pourcentage de poids perdu par le même morceau de longe, lors d'une cuisson en chaleur sèche (exposition de 30 minutes à 240 °C; 30% de pertes). La force de cisaillement (FC) est la moyenne, pour chaque échantillon, des forces maximum enregistrées lors du cisaillement dans une cellule de Warner-Bratzler (lame V inversé 60°) de 10 cylindres de viande de 1 cm de diamètre découpés transversalement sur le même morceau après cuisson. Les mesures de potentiel glycolytique (PG) et lipides intramusculaires (LIM) ont été effectuées sur des prélèvements de LL réalisés 30 h après abattage. Un dosage enzymatique a été réalisé pour le PG. Les lipides ont été dosés par une extraction en solvants organiques. La valeur de luminance L* a été mesurée à l'aide d'un Minolta CR300 (Konica-Minolta, Roissy) sur une coupe de la longe 30 h après abattage.

1.3. Mesures d'expression ARN

1.3.1. Prélèvements

Des prélèvements d'environ 10 grammes du muscle LL ont été réalisés 15 minutes après l'abattage et congelés immédiatement. Les ARN totaux ont été extraits par broyage du tissu congelé dans le Trizol (Invitrogen, Cergy Pontoise) et utilisation du kit de purification RNA II (Machery-Nagel, Hoerd). La qualité et la concentration des ARN totaux extraits ont été vérifiées par électrophorèse (Agilent Analyser) et spectrométrie UV (Nanodrop, Thermo Scientific, Illkirch).

1.3.2. Quantification ARN

Un répertoire de 15 000 sondes ADN 60-mer a été sélectionné de manière à quantifier le nombre le plus large possible de transcrits connus pour s'exprimer dans le muscle squelettique, tout en maximisant l'informativité du répertoire pour ce type de prélèvement, et ce en utilisant les séquences consensus (contigs) de transcrits disponibles (SIGENAE version 8, une à deux sondes par séquence contig). En pratique, ce répertoire a été mis en œuvre par hybridation (65°C, 15 h) sur une puce Agilent 15k d'ARN complémentaire marqué en fluorescence (Cy3) par transcription in-vitro de l'ADN complémentaire produit par réverse transcription de 2 µg d'ARN total pour chaque échantillon (Low RNA input linear amplification kit, Agilent Technologies). L'hybridation a été réalisée en utilisant un seul échantillon marqué pour chaque puce. L'acquisition des images a été réalisée sur un scanner Agilent G2505B, et les mesures de quantification ont été réalisées par analyse de l'image de chaque puce par le logiciel Agilent Feature Extraction Software v9.5.

1.3.3. Annotation

L'identification des transcrits associés à chaque sonde a été réalisée par recherche d'homologies de séquence entre la séquence de la sonde utilisée et les bases de données existantes pour le transcriptome du porc (cDNA Ensembl Sscrofa 9, RefSeq NCBI Sus Scrofa), à défaut pour le transcriptome d'espèces proches (Bos taurus, Homo sapiens). La qualité de l'identification a été déterminée par le contrôle de critères de similarité calculé à partir des sorties standard du programme BLAST (Altschul et al., 1990). L'annotation de la sonde a été validée pour des homologies de séquence présentant un minimum de 18 paires de base consécutives dans l'alignement, ainsi que 85 % d'identité avec la séquence de la sonde. Le nombre de sondes annotées est de 13 361 (89%) dont 12 235 sont associées à un gène connu. Ces 12 235

sondes représentent 9 012 gènes différents (soit une redondance moyenne de 1,36 sonde par gène).

1.3.4. Analyse fonctionnelle

L'analyse fonctionnelle des gènes estimés héritables et génétiquement corrélés aux caractères a été réalisée en utilisant le logiciel WebGestalt V2 (Zhang et al., 2005; Duncan et al., 2010). Il permet de définir des familles de catégories fonctionnelles dont l'abondance est associée spécifiquement à une liste de gènes d'intérêt. L'analyse a été effectuée en utilisant les noms de gènes des orthologues humain afin de calculer l'enrichissement en termes standardisés tels que définis dans l'ontologie génique de référence Gene Ontology (GO) pour les trois classes de termes définissant des processus biologiques, des fonctions moléculaires et des composants cellulaires (BP: biological process; MF: molecular function; CC : cellular component). L'identification de termes enrichis est basée sur un test hypergéométrique avec pour annotation de référence 10 908 sondes représentant 7 934 gènes orthologues humains. Cette référence comporte 6058 gènes possédant un terme BP, 6 310 gènes possédant un terme MF et 6 208 gènes possédant un terme CC.

1.3.5. Traitement des données

Les données brutes de 13 000 sondes ont été transformées par une fonction logarithme de base 2, puis centrées par échantillon par la médiane des niveaux d'expression de l'échantillon.

1.4. ANALYSE DES PARAMETRES GENETIQUES

1.4.1. Héritabilités et corrélations génétiques

Pour chacune des sondes d'hybridation utilisées, ont été réalisées une analyse univariée pour l'estimation de l'héritabilité du niveau d'expression en ARN, et des analyses bivariées pour l'estimation des corrélations génétiques entre le niveau d'expression en ARN et chacun des phénotypes de qualité de viande analysés.

Le modèle mixte utilisé comprenait, outre un effet aléatoire animal individuel, les effets fixes de la série d'abattage (pour tous les caractères) et du sexe (pour la quantité de lipides intramusculaires). Le poids de côtelette découpé a été utilisé comme covariable pour les analyses de la force de cisaillement et des pertes en eau au stockage et à la cuisson. Le jeu de données présentant un risque de confusion entre les effets famille et les lots de traitement des puces, un effet fixe pour le lot d'hybridation a été systématiquement utilisé. Le logiciel ASReml 2.0 (Gilmour et al., 2006) a été utilisé pour réaliser les estimations de paramètres génétiques, en utilisant une méthodologie REML. Le pedigree utilisé comprenait 3 générations d'ascendants en plus des animaux mesurés. Les phénotypes de qualité de viande disponibles pour l'ensemble des animaux de la population (de 750 à 1000 animaux selon les caractères) ont été utilisés pour les analyses bivariées.

1.4.2. Estimation de la proportion de transcrits héritables

La probabilité d'estimer une héritabilité non nulle en l'absence de variabilité génétique a été obtenue empiriquement par distribution des estimées obtenues à partir de 3 000 séries de données simulées à partir de la même structure de données mais sans variabilité génétique. Un seuil de False Discovery Rate (FDR) a été calculé pour interpréter les résultats du grand nombre d'analyses réalisé, avec le logiciel R/qvalue, selon la méthodologie développée par Storey et Tibshirani (2003).

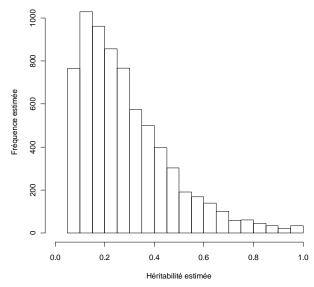
2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Estimation de l'héritabilité des niveaux d'expression en ARN

Dans le cadre des analyses univariées, nous avons estimé des valeurs d'héritabilité non nulles au seuil de 5% FDR pour 7 009 sondes (6 664 contigs), soit une proportion de transcrits héritables de 54 % pour les 13 000 sondes analysées, correspondant à une valeur seuil d'héritabilité de 0,067. La médiane des valeurs d'héritabilités pour ces 7 009 sondes est de 0,24 avec 855 sondes (837 contigs) pour lesquelles l'héritabilité est supérieure à 0,50. La distribution des valeurs d'héritabilité estimées non nulles est présentée dans la figure 1.

Des études réalisées chez la levure (Brem et Kruglyak, 2005), ont montré que plus de 60% des transcrits, dans des populations en ségrégation, montraient une héritabilité d'au moins 0,69. Les données disponibles chez l'homme indiquent que respectivement 59% et 71% des concentrations en transcrits mesurés dans le sang et le tissu adipeux sont héritables, avec pour les transcrits héritables, une héritabilité moyenne de 0,30 (Emilsson *et al.*, 2008). Des données produites chez la souris (Petretto *et al.*, 2006) estiment à 0,14 la médiane des valeurs d'héritabilité estimées pour l'ensemble des niveaux d'expression des ARN mesurés dans le tissu adipeux.

Figure 1 - Distribution des héritabilités¹ des mesures de quantification des ARN messagers²



¹Erreurs-standards entre 0,17 et 0,32, avec une médiane de 0,24

La quantification des proportions de transcrits héritables reste évidemment dépendante d'une part du répertoire utilisé (ici spécifique du tissu analysé, avec une expression de la quasitotalité des gènes du répertoire utilisé), et d'autre part du traitement appliqué aux données, avec une large influence des procédures de centrage par échantillon sur la variabilité individuelle. Néanmoins, nos résultats montrent que, à l'image de ce qui a été observé dans d'autres espèces, il existe chez le porc un grand nombre de transcrits dont la quantification à partir des ARN du muscle squelettique à l'abattage est moyennement à fortement héritable. Nous avons par ailleurs observé que les valeurs d'héritabilité estimées sont peu corrélées au niveau d'expression moyen (-0.12) et à l'écart-type moyen de la mesure (+0.14).

² 7 009 sondes (6 664 contigs) avec une héritabilité non nulle (FDR 5%)

2.2. Estimation des corrélations génétiques entre niveau d'expression ARN et caractères de qualité de viande

Les estimations de corrélations génétiques entre niveau d'expression et phénotype ont été réalisées uniquement pour les transcrits montrant une variabilité génétique non nulle. La taille limitée du jeu de données conduit à des estimations très imprécises des corrélations génétiques (rA), avec une médiane des erreurs standards de 0,55 (rA(ARN,PH24)). Néanmoins, ces erreurs standards sont moins grandes pour les transcrits les plus héritables (médiane de 0,40 pour les transcrits associés à une héritabilité supérieure à 0,5, (rA(ARN,PH24)) et montrant les valeurs de corrélations génétiques les plus élevées avec un caractère donné. Nous avons donc particulièrement examiné la distribution des corrélations génétiques des niveaux d'expression d'ARN les plus héritables aux différentes mesures instrumentales de la qualité de la viande.

Tableau 1 – Transcrits¹ héritables² par niveau de corrélation génétique³ avec les caractères de qualité de viande.

	h ² > 0,5	rA> 0,7 ou <-0,7 h ² >0,5	rA>0,9 ou <-0,9 h ² >0,5
PH45	631	226	63
PH24	795	17	1
PES	793	40	4
PEC	828	120	21
FC	841	205	44
L*	799	10	0
LIM	847	33	3
PG	836	2	0

¹ Nombre de sondes par classe de paramètres génétiques

Ainsi que présenté dans le tableau 1, les mesures de pH 45 mn, force de cisaillement de la viande cuite et pertes en eau à la cuisson montrent une proportion importante de transcrits génétiquement corrélés au caractère. Par contre, les mesures de luminance L*, de pH ultime et de potentiel glycolytique montrent peu de transcrits dont la quantification est génétiquement corrélée au caractère.

Le déterminisme génétique des mesures d'expression dans le muscle à l'abattage reflèterait donc d'abord celui de la physiologie du muscle au même moment (pH 45 mn), mais aussi celui de caractères beaucoup plus distants, observés lors de l'utilisation de la viande, comme les pertes en eau lors de la cuisson ou la tendreté instrumentale de la viande après cuisson.

2.3. Analyse fonctionnelle des transcrits génétiquement corrélés aux caractères de qualité de viande

La liste des gènes annotés correspondants aux sondes pour lesquelles le niveau d'expression a été estimé héritable (h² > 0,5) et génétiquement corrélé (rA > 0,7) aux caractères PH45, PEC, FC a été soumise à une évaluation de l'enrichissement en catégories fonctionnelles. Une hiérarchie des fonctions moléculaires associées aux transcrits dont le niveau d'expression est génétiquement corrélé au pH 45 mn est illustrée dans la figure 2. Toutes les catégories GO identifiées avec un facteur d'enrichissement supérieur à 2,5 parmi les transcrits génétiquement corrélés aux caractères PH45, PEC et FC sont présentées dans le tableau 2. L'analyse fonctionnelle des transcrits génétiquement corrélés au caractère PH45 met en évidence un enrichissement des fonctions moléculaires associées au transport transmembranaire de cations, aux activités couplées à l'hydrolyse d'ATP, ainsi qu'au maintien de l'intégrité structurelle du ribosome. On pourra donc supposer l'existence d'une variabilité génétique commune à ces fonctions biologiques et au caractère PH45.

Tableau 2 – Analyse fonctionnelle des transcrits héritables et génétiquement corrélés aux caractères de qualité de viande. Présentation de l'ensemble des termes GO identifiés avec un facteur d'enrichissement supérieur à 2,5

	N ¹	N A. ²	N H. ³	cl. GO⁴	N cl. ⁵	Référence G0:	Description du terme GO	E ⁶
PH45	226	220	159	BP	116	0015674	Transport de cations divalents et trivalents inorganiques	2,9
				MF	126	0005261	Activité canal de transport de cations	3,4
						0005216	Activité canal de transport ionique	3,0
						0022838	Activité canal de transport, spécifique d'un substrat	2,9
						0046873	Activité de transport transmembranaire d'ions métalliques	2,6
						0003735	Intégrité structurale du ribosome	2,6
						0022803	Activité de transport transmembranaire passif	2,8
				СС	113	0005840	Ribosome	2,8
PEC	120	105	89	BP	76	0051049	Régulation du transport	2,9
						0044092	Régulation négative de fonctions moléculaires	2,6
						0006066	Processus métabolique des alcools	2,5
FC	205	182	148	BP	118	0043062	Organisation des structures extracellulaires	3,8
						0006979	Réponse au stress oxydant	2,8
				MF	116	0008017	Adhésion des microtubules	6,0
						0015631	Adhésion de la tubuline	4,3

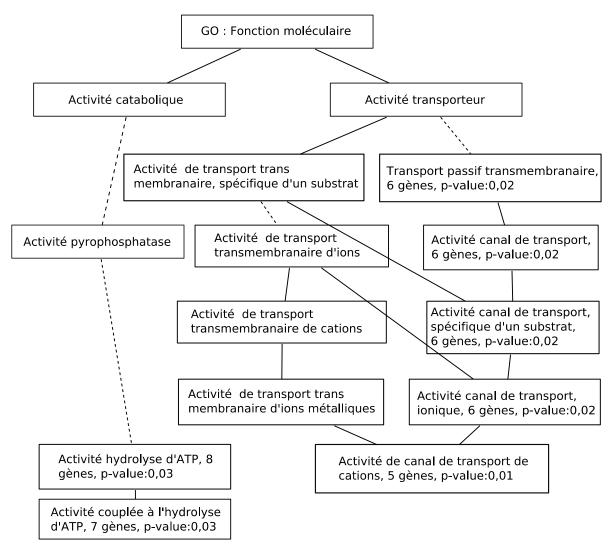
² Estimée héritabilité supérieure ou égale à 0,5 dans l'analyse bivariée ARNphénotype.

³ Erreur standard des estimées des corrélations génétiques inférieure ou égale à 0,5

N ¹	N A.²	N H. ³	cl. GO ⁴	N cl. ⁵	Référence G0:	Description du terme GO	E ⁶
					0016879	Activité ligase, formation de liaisons carbone-hydrogène	2,8
					0016881	Activité ligase, formation de liaisons acides aminés-acides	2,7
					0019787	Activité ligase, conjugaison de protéines	2,6
			CC	110	0005578	Matrice protéique extracellulaire	2,6
					0044433	Composant de vésicule cytoplasmique	3,0

¹ Nombre de sondes pour lesquelles ont été estimées $h^2 > 0.5$ et rA > 0.7

Figure 2 – Hiérarchie de termes GO enrichis au sein de la classe MF (fonctions moléculaires) parmi les transcrits dont le niveau d'expression est génétiquement corrélé au pH 45 minutes¹



 $^{^{1}}$ 226 sondes avec $h^{2} > 0.5$ et rA > 0.7

² Nombre de sondes héritables et corrélées au caractère pour lesquelles on dispose d'une annotation

³ Nombre de sondes héritables, corrélées au caractère et pour lesquelles on dispose de l'identification de l'orthologue humain et du nom de gène HUGO

⁴ Classe de termes GO, BP: processus biologique; MF: fonction moléculaire; CC: composant cellulaire

⁵ Nombre de gènes différents représentés dans la liste

⁶ Facteur d'enrichissement de la liste des gènes analysés pour le terme GO cité

Utilisations possibles en sélection

L'intérêt d'un critère de sélection d'une héritabilité h'², utilisé pour la sélection d'un caractère différent, d'une héritabilité h², n'est avéré que lorsque la corrélation génétique rA entre les deux caractères vérifie rA * h' > h (Ollivier, 2002). Dans le cas d'une sélection pour un caractère de qualité de la viande d'une héritabilité de 0,25, une illustration en serait l'utilisation d'une mesure d'abondance en un ARN messager particulier, d'une héritabilité supérieure à 0,5 et d'une corrélation génétique avec l'objectif de sélection supérieure à 0,7. Les techniques de quantification des ARN messagers permettant aisément de quantifier plusieurs ARN différents simultanément, l'intérêt serait de combiner l'information apportée par plusieurs d'entre eux.

Le tissu musculaire du porc est particulièrement accessible au prélèvement. Cet avantage est évident lors de l'abattage, mais peut être étendu à l'animal vivant, par l'utilisation de techniques de biopsies légères (20 mg).

Les mesures réalisées sur des candidats à la sélection pourraient augmenter considérablement la précision des estimations de valeur génétique pour les caractères de qualité de viande, qui, par définition, ne peuvent être mesurés que sur des animaux abattus, apparentés aux candidats.

CONCLUSION

Cette étude a permis d'observer l'existence d'une variabilité génétique importante pour de très nombreux phénotypes moléculaires caractérisant les concentrations de différents ARN messagers, tels qu'observables dans le tissu musculaire squelettique du porc à l'abattage, par une technique d'hybridation sur puce.

Une proportion non nulle de ces niveaux d'expression en ARN est génétiquement corrélée aux mesures instrumentales de qualité de viande, et ce, au moins pour les caractères les plus proches de la physiologie du muscle à l'abattage, comme le pH à 45 mn, ou influencés par celle-ci, comme la mesure expérimentale de tendreté de la viande cuite ou les pertes en eau à la cuisson.

Des données ou des études complémentaires seraient nécessaires pour pouvoir réaliser une estimation plus précise de ces corrélations génétiques, si possible dans les populations sélectionnées, et par là les possibilités d'utilisation de ces mesures de quantité d'ARN en sélection. Des mesures du même type, effectuées *in vivo* sur des candidats à la sélection, et sous réserve de paramètres génétiques favorables, offriraient un avantage considérable en termes d'efficacité de la sélection pour la qualité de la viande.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été réalisée dans le cadre du projet GENMASCQ, financé par l'Agence Nationale pour la Recherche dans le Programme National de Recherches en Alimentation, édition 2006. Les auteurs remercient le personnel d'ORLEANS VIANDES, Fleury-les-Aubrais, pour son aide à la réalisation des mesures de qualité de viande.

- Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J., 1990. Basic local alignment search tool. J. Mol. Biol., 215, 403-410.
- Brem R.B., Kruglyak L., 2005. The landscape of genetic complexity across 5,700 gene expression traits in yeast. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A, 102, 1572-1577.
- Duncan D., Prodduturi N., Zhang B., 2010. WebGestalt2: an updated and expanded version of the Web-based Gene Set Analysis Toolkit. BMC Bioinformatics, 11, 10.
- Emilsson V., Thorleifsson G., Zhang B., Leonardson A.S., Zink F., Zhu J., Carlson S., Helgason A., Walters G.B., Gunnarsdottir S., Mouy M., Steinthorsdottir V., Eiriksdottir G.H., Bjornsdottir G., Reynisdottir I., Gudbjartsson D., Helgadottir A., Jonasdottir A., Styrkarsdottir U., Gretarsdottir S., Magnusson K.P., Stefansson H., Fossdal R., Kristjansson K., Gislason H.G., Stefansson T., Leifsson B.G., Thorsteinsdottir U., Lamb J.R., Gulcher J.R., Reitman M.L., Kong A., Schadt E.E., Stefansson K., 2008. Genetics of gene expression and its effect on disease. Nature, 452, 423-428.
- Gilmour A.R., Gogel B.J., Cullis B.R., Thompson R., 2006. ASReml User Guide Reference 2.0. VSN International Ltd.
- Jansen R.C., Nap J.P., 2001. Genetical genomics: the added value from segregation. Trends Genet., 17, 388-391.
- Laville E., Sayd T., Terlouw C., Chambon C., Damon M., Larzul C., Leroy P., Glenisson J., Cherel P., 2007. Comparison of sarcoplasmic proteomes between two groups of pig muscles selected for shear force of cooked meat. J. Agric. Food Chem., 55, 5834-5841.
- Ollivier L., 2002. Eléments de génétique quantitative. INRA Eds, 184 p.
- Petretto E., Mangion J., Dickens N.J., Cook S.A., Kumaran M.K., Lu H., Fischer J., Maatz H., Kren V., Pravenec M., Hubner N., Aitman T.J., 2006. Heritability and tissue specificity of expression quantitative trait loci. PLoS. Genet., 2, e172.
- Ponsuksili S., Murani E., Phatsara C., Schwerin M., Schellander K., Wimmers K., 2010. Expression quantitative trait loci analysis of genes in porcine muscle by quantitative real-time RT-PCR compared to microarray data. Heredity, 105, 309-317.
- Schadt E.E., Monks S.A., Drake T.A., Lusis A.J., Che N., Colinayo V., Ruff T.G., Milligan S.B., Lamb J.R., Cavet G., Linsley P.S., Mao M., Stoughton R.B., Friend S.H., 2003. Genetics of gene expression surveyed in maize, mouse and man. Nature, 422, 297-302.
- Storey J.D., Tibshirani R., 2003. Statistical significance for genomewide studies. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A, 100, 9440-9445.
- Zhang B., Kirov S., Snoddy J., 2005. WebGestalt: an integrated system for exploring gene sets in various biological contexts. Nucleic Acids Res., 33, W741-W748.

Variation de la qualité de la viande de porc selon la race : Basque ou Large White et le système d'élevage : conventionnel, alternatif ou extensif

Bénédicte LEBRET (1, 2), Marie DAMON (1, 2), Florence GONDRET (1, 2), Louis LEFAUCHEUR (1, 2), Isabelle LOUVEAU (1, 2),
Armelle PRUNIER (1, 2), Nathalie BONHOMME (1, 2), Patrick ECOLAN (1, 2), Joanna WYSZYNSKA-KOKO (1, 2),
Jacques LEPETIT (†) (3), Karine METEAU (4), Sophie BARTHELEMY (5), Pierre-Yves POLLET (5), Jean-Yves DOURMAD (1, 2)

(1) INRA, UMR1079 Systèmes d'Elevage et Nutrition Animale et Humaine, 35590, Saint-Gilles
(2) Agrocampus Ouest, UMR1079 Systèmes d'Elevage et Nutrition Animale et Humaine, 35000, Rennes
(3) INRA, UR370 Qualité des Produits Animaux, Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle
(4) INRA, UE 1206 Elevage Alternatif et Santé des Monogastriques, Le Magneraud, 17700 Surgères
(5) Filière Porc Basque, 64430 Les Aldudes

Benedicte.Lebret@rennes.inra.fr

Variation de la qualité de la viande de porc selon la race : Basque ou Large White et le système d'élevage : conventionnel, alternatif ou extensif

Dans le cadre du programme de recherche européen Q-Porkchains visant à proposer des marqueurs de qualité de la viande de porc, nous avons évalué la qualité de la viande de deux races contrastées : Large White (LW) et Basque (B), produites dans différents systèmes d'élevage : conventionnel (C), alternatif sur litière avec courette (L) et extensif sur parcours (E).

Deux répétitions expérimentales, incluant chacune 5 groupes de 10 porcs mâles castrés (BL, BC, BE, LWL et LWC) ont été réalisées. La race et le système d'élevage influencent considérablement les performances de croissance, la composition corporelle et la qualité de la viande. Les porcs B ont une vitesse de croissance réduite, en particulier les BE, et des carcasses plus grasses à l'abattage à 145 kg, en particulier les BL et BC, comparés aux LWL et LWC. Les porcs BE ont une viande (longe) plus rouge et un pH ultime plus élevé que les LWL et LWC, les porcs BL et BC étant intermédiaires. La teneur en lipides intramusculaires est plus basse chez les LWL et LWC et la plus élevée chez les BL et BC. La force de cisaillement de la viande cuite est plus élevée chez les LW comparés aux BL et BC. La viande des porcs B présente beaucoup moins de pertes en eau et est jugée plus tendre et plus juteuse que celle des porcs LW, le système d'élevage influençant peu ces caractères intra-race. Ces résultats confirment l'importance de la race et dans une moindre mesure du système d'élevage dans la détermination de la qualité de la viande, et constituent une base favorable pour l'identification de marqueurs de qualité de viande.

Pork quality variation in pig breeds: Large White or Basque and production system: conventional, alternative or extensive

Within the European FP6 Q-Porkchains research program, which is aimed at identifying markers of pork quality, the quality of pork from two pure breeds of pigs, Large White (LW) and Basque (local breed), reared in different production systems (conventional (C), alternative on bedding with outdoor access (L) and extensive outdoor (E)), was evaluated.

Two experimental replicates, each involving 5 groups of 10 castrated males (BC, BL, BE, LWL, LWC), were undertaken. Breed and production system differences were observed with respect to growth performance, carcass composition and meat quality. The B pigs, in particular BE, had a lower growth rate and a higher carcass fatness at slaughter at 145 kg body weight, especially for BL and BC compared with LWL and LWC. Loin meat from BE pigs was redder and exhibited a higher ultimate pH compared with LWL and LWC, the BL and BE being intermediate. Intramuscular fat content was lower in LWL and LWC and highest in BL and BC. Shear force of cooked meat was highest in LW pork compared with BL and BC. Meat from B pigs had much lower drip and was judged more tender and juicy compared with meat from LW. Within breed, these traits were less influenced by the production system. Altogether, these results confirm the influence of pig breed and production system in the determination of pork quality, and are of high interest for the further identification of markers of pork quality.

INTRODUCTION

La qualité sensorielle et technologique des viandes porcines résulte d'interactions complexes entre le potentiel génétique, les conditions de production et d'abattage des porcs, et les procédés de transformation des viandes. Bien que plusieurs facteurs de variation de la qualité soient maintenant bien établis (gènes à effet majeur, conditions d'abattage), celle-ci présente toujours une variabilité importante. D'autre part, les caractéristiques biologiques conduisant à une qualité sensorielle élevée ne sont pas clairement identifiées. Un des objectifs du programme de recherche européen Q-Porkchains (www.q-porkchains.org) est d'identifier des marqueurs de la qualité sensorielle et technologique des viandes porcines et de produire des outils d'évaluation précoce de la qualité. Dans ce cadre, nous avons construit un dispositif expérimental induisant une variabilité importante de qualité, basé sur l'utilisation d'animaux de races pures contrastées : Large White (conventionnelle) et Basque, race locale génétiquement « distante » d'autres races européennes (Laval et al., 2000) et fournissant des produits qualité sensorielle élevée. Ces animaux étaient élevés dans différents systèmes d'élevage influençant eux-mêmes la qualité (Guéblez et al., 2002; Alfonso et al., 2005; Lebret et al., 2006, 2008). Le but est de relier les caractéristiques phénotypiques des tissus musculaires et adipeux et des viandes avec l'expression de gènes et de protéines afin de 1) mieux comprendre l'origine des différences qualitatives entre races et systèmes d'élevage et 2) identifier des marqueurs de la qualité sensorielle et technologique. Cet article présente le dispositif expérimental et les résultats de croissance, de composition corporelle et de qualité de la viande fraîche des porcs Basque et Large White élevés en système alternatif, conventionnel ou extensif. Les relations entre ces caractères et l'expression des gènes et des protéines, ainsi que les comparaisons d'expression génique entre races, sont présentés par ailleurs (Wyszynska-Koko et al., 2009a, 2009b; Damon et al., 2011; Salmi et al., 2011; Vincent et al., 2011). Des résultats complémentaires sur les jambons transformés en produits secs seront présentés ultérieurement.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Animaux et systèmes d'élevage

Deux répétitions expérimentales (R1 et R2) ont été réalisées successivement, chacune incluant 50 porcs mâles castrés de race pure Basque (B, n=30) ou Large White (LW, n=20). Pour les deux répétitions, les porcs B provenaient de deux élevages naisseurs de la Filière Basque (Anhaux et Lantabat, 64). Les porcs LW provenaient des élevages expérimentaux INRA GEPA (Le Magneraud, 17) en R1 et SENAH (Saint-Gilles, 35) en R2. A chaque répétition, 30 porcelets B (3 frères dans 10 portées issues de 6 pères différents provenant des deux élevages naisseurs) ont été transférés vers l'élevage expérimental SENAH à l'âge de 7 à 8 semaines et placés en quarantaine (7 semaines). Concernant les LW, en R1, 30 porcelets (3 frères dans 10 portées issues de 9 pères différents) ont été transférés de GEPA vers SENAH à l'âge de 7 semaines et également placés en quarantaine. En R2, les porcelets LW étaient issus de 7 portées de pères différents (SENAH).

Dans chaque race, à environ 35 kg de poids vif (PV), deux (voire quatre pour les LW en R2) porcelets étaient choisis intra-portée sur la base de leurs PV et croissance depuis la

naissance et/ou en quarantaine et placés en système d'élevage alternatif (L: litière, 1,3 m²/porc avec libre accès à une courette extérieure couverte, 1,1 m²/porc; porcs/race/répétition: porcs **BL** et **LWL**) ou conventionnel (C: caillebotis, 1,0 m²/porc; n=10 porcs/race/répétition: porcs BC et LWC). Les deux systèmes étaient situés dans le même bâtiment de l'élevage expérimental SENAH. Par ailleurs, des demi-frères de portée des porcs B (porcelets de la bande précédente, provenant de 6 pères dont 4 en commun avec les BL et BC en R1, et de 7 pères dont 5 en commun avec les BL et BC en R2) étaient transférés des deux élevages naisseurs vers un élevage d'engraissement en système extensif de la Filière Basque (E: parc 2,5 ha avec cabane, altitude 650 m, situé à Banca, 64; n=10 dans un groupe de 40 en R1, n=10 dans un groupe de 30 en R2; porcs BE). Afin que tous les animaux soient abattus sur la même période, et en tenant compte de différences de vitesses de croissance entre races et entre systèmes estimées d'après la bibliographie (Guéblez et al., 2002; Alfonso et al., 2005), les porcs BE ont été mis en expérience 3 mois avant les porcs BL et BC, et les porcs LWL et LWC deux mois après les porcs BL et BC.

Les porcs L et C recevaient un aliment « croissance » entre 35 et 75 kg (2,29 Mcal EN/kg, 18,0% protéines brutes, 0,83% lysine digestible) puis un aliment « finition » à partir de 75 kg (2,14 Mcal EN/kg, 15,0% protéines brutes, 0,64% lysine digestible). Leur alimentation était plafonnée à 2,5 kg/j/porc (35-110 kg) puis 3,0 kg/j/porc (110-145 kg).

Les porcs BE dont la période de croissance-finition (35-145 kg) s'étalait de mars à janvier (R1) ou avril à février (R2) avaient accès aux ressources du parc (herbe, glands, châtaignes) et recevaient un aliment standard (2,25 Mcal EN/kg, 15,5% protéines brutes, 0,84% lysine digestible): 1,4 à 2,6 kg/j/porc (35-110 kg), 2,3 kg/j/porc (110-130 kg), puis 2,0 kg/j/porc (130-145 kg). Les porcs BL, BC, LWL et LWC étaient pesés toutes les semaines, et les porcs BE ont été pesés 3 fois au cours de la période de croissance-finition.

1.2. Mesures en abattoir, caractéristiques des carcasses

Les porcs BL, BC, LWL et LWC ont été abattus à l'abattoir de SENAH en 4 séries d'abattage par répétition, incluant chacune des porcs des 4 traitements (race x système) choisis sur la base de leur poids vif. Les porcs BE ont été abattus à l'abattoir de St-Jean-Pied-de-Port (64) en une série d'abattage par répétition. Les conditions de pré-abattage et d'abattage ont été standardisées au maximum entre les deux sites : mise à jeun de 36 h avant abattage (pratique de la filière Basque) et abattage après anesthésie électrique à bas voltage.

Du sang a été collecté (EDTA) à la saignée, centrifugé immédiatement et conservé à -20°C jusqu'à détermination des teneurs plasmatiques en ACTH et cortisol par RIA et de l'activité créatine kinase (spectrophotométrie), comme décrit précédemment (Lebret *et al.*, 2006).

Les poids de carcasse chaude et des pannes ont été enregistrés, ainsi que le poids du tube digestif vide et de son contenu pour les porcs abattus à St-Gilles.

L'épaisseur de lard dorsal (sans couenne) a été déterminée à la fente, entre les 4è et 5è vertèbres lombaires (site utilisé par la Filière Basque).

Les lésions (≥ 2 cm) ont été dénombrées sur chaque carcasse. Le lendemain de l'abattage, la carcasse froide a été pesée puis la demi-carcasse droite a été découpée selon le schéma de découpe pratiqué par la Filière Basque.

1.3. Critères de qualité de viande

Trente minutes après la saignée, sur la demi-carcasse droite, du muscle *Longissimus* (**LM**; longe, au niveau de la dernière côte) a été prélevé, congelé immédiatement dans l'azote liquide et stocké à -80°C pour détermination ultérieure du pH 30 minutes (après broyage dans une solution iodoacétate), du lactate et du potentiel glycolytique (**PG**) par spectrophotométrie, comme décrit précédemment (Lebret *et al.*, 2006). Trente-cinq minutes après la saignée, du muscle *Semimembraneux* (**SM**; jambon, face interne, 1-2 cm de profondeur) a été prélevé et conservé pour détermination du pH 35 min, du lactate et du PG comme décrit ci-dessus.

Le lendemain de l'abattage, après élimination du tissu autour du prélèvement effectué la veille, un échantillon des muscles LM et SM a été prélevé et congelé à -80°C pour la détermination du pH ultime comme décrit ci-dessus.

Une tranche des muscles LM (1ère vertèbre lombaire) et SM a été prélevée et placée 1h30 à 4°C sous lumière artificielle avant détermination de la couleur (moyenne des déterminations en 3 sites représentatifs de la tranche des coordonnées L*: luminance (ou clarté), a*: indice sur l'axe vert-rouge; b*: indice sur l'axe bleu-jaune; C*: saturation (terne à vif) et h°: angle de teinte (rouge pourpre à orangé); chromamètre Minolta CR 300).

Ces tranches ont ensuite été parées et broyées ; une fraction a été mise sous vide et conservée à -20°C avant détermination de la teneur en lipides (extraction à froid par solvants, Lebret et al., 2006). La seconde fraction (muscle LM) a été lyophilisée puis broyée pour déterminer la teneur en collagène total et de la thermosolubilité du collagène comme décrit précédemment (Lebret et al., 2001). Sur le LM, une autre tranche a été prélevée (2ème vertèbre lombaire) ; après élimination des muscles adjacents mais sans parage, la tranche (100±10 g) a été placée 48h à 4°C (sac plastique) pour déterminer les pertes en eau (Honikel, 1998).

1.4. Mesures mécaniques de texture et évaluation sensorielle de la viande

Le lendemain de l'abattage, sur chaque demi-carcasse gauche, la section de longe comprise entre les 2ème/3ème et 6ème/7ème (porcs LW) ou 7ème/8ème (porcs B) sous-dernières côtes a été prélevée, parée et laissée à maturer à 4°C pendant 3 jours. A J4, cette pièce a été désossée; le muscle LM mis sous vide, refroidi en plongeant le sac dans de l'alcool préalablement placé à-20°C (congélation plus rapide) puis stocké à -20°C avant analyse de la texture par des mesures mécaniques (INRA QuaPA). Les échantillons ont été décongelés, recoupés en pièces de 8 X 4 cm dans le sens des fibres, pesés, mis sous vide, chauffés au bain-marie (70°C, 50 min) et pesés à nouveau pour déterminer les pertes à la cuisson.

Après refroidissement à température ambiante, l'énergie de rupture et la contrainte maximale de cisaillement de la viande ont été déterminées sur des sections rectangulaires de 1 X 1 X 3 cm parallèles au sens des fibres (valeur moyenne établie à partir de 10 déterminations par échantillon), à l'aide d'une cellule Warner-Bratzler (Instron), selon les recommandations de Honikel (1998). Suite au prélèvement de longe gauche effectué le lendemain de l'abattage pour les mesures de texture, la partie restante (côté cranial) a été conservée sur 3 porcs représentatifs de chaque traitement, laissée maturer jusqu'à J4 puis désossée, mise sous vide et congelée à -20°C en vue de l'entraînement du jury d'analyses sensorielles.

Le lendemain de l'abattage, sur la demi-carcasse droite, la pièce de longe située entre les 2ème/3ème et 9ème/10ème sous-dernières côtes (soit adjacente, côté cranial, aux prélèvements déjà réalisés) a été parée puis laissée à maturer à 4°C pendant 3 jours. A J4, ce morceau a été désossé, pesé, mis sous vide et congelé à -20°C. L'ensemble des rôtis (pour entraînement du jury et tests sensoriels) ont été transportés vers le laboratoire d'analyses sensorielles INRA EASM (Le Magneraud, 17). Les tests sensoriels ont été réalisés par deux jurys de 12 personnes expérimentées pour la dégustation de viande, selon la norme AFNOR-NFV09105. Préalablement, deux séances d'entraînement par jury ont été effectuées avec des rôtis issus de l'expérience. Cinq rôtis (un par traitement) ont été testés par séance, en présentation monadique.

Après décongélation lente (48h à 4°C), une tranche a été prélevée côté caudal pour évaluation visuelle du produit cru. Les cinq tranches (une par traitement) ont été présentées (face interne de la coupe) simultanément, pour notation de : l'intensité et l'homogénéité de couleur rouge et du persillé sur une échelle continue bornée de 0 (absence) à 10 (très intense).

Les rôtis ont été cuits au four en chaleur sèche (250°C, 10 min) puis en chaleur humide (100°C jusqu'à 80°C à cœur, soit environ 55 min de cuisson au total, selon le poids et l'épaisseur du rôti). Les échantillons de viande ont été évalués pour les caractères : odeur de porc, tendreté, jutosité, fibreux, farineux, texture grasse, flaveur globale, flaveur de porc, sur une échelle bornée de 0 à 10. La moyenne des notes obtenues par échantillon pour chaque critère (visuel ou dégustation) a ensuite été calculée.

1.5. Analyses statistiques

L'ensemble des données collectées a été soumis à une analyse de variance incluant les effets du traitement (=race X système d'élevage; n=5) de la répétition (n=2) et de l'interaction traitement X répétition (proc glm, SAS). Les données de concentrations hormonales plasmatiques ont été analysées après une transformation logarithmique, pour suivre une distribution normale. Les moyennes des moindres carrés ont été calculées et comparées (Bonferonni) en cas d'effet significatif du traitement.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Croissance des animaux

Comme attendu, les porcs B présentent une vitesse de croissance très inférieure à celle des LW et sont nettement plus âgés à l'abattage, en particulier les porcs BE (Tableau 1). Sur l'ensemble de la période expérimentale, les porcs BL et BC ont une vitesse de croissance réduite d'environ 46% relativement aux porcs LWL et LWC, et les porcs BE ont une vitesse de croissance réduite d'environ 36% relativement aux porcs BL et BC. Ces écarts entre traitements, notamment entre BE d'une part et BL et BC d'autre part, sont plus marqués en croissance (35-75 kg) et en fin d'expérience (110-145 kg) qu'en début de finition (75-110 kg). Ces résultats sont conformes aux différences bien établies de potentiel de croissance entre races B et LW (Guéblez et al., 2002 ; Alfonso et al., 2005).

Les différences de conduite alimentaire entre porcs BL et BC d'une part et BE d'autre part, qui recevaient des apports inférieurs à ceux des porcs BL et BC en période de croissance (-25%) puis à partir de 110 kg (-20 jusqu'à -30%) expliquent les écarts de croissance et d'âge à l'abattage observés entre ces trois traitements.

Ceci indique également que les ressources alimentaires disponibles sur le parc associées aux rations d'aliment standard apportées ne couvrent pas de façon satisfaisante les besoins des porcs BE, ces besoins étant supérieurs à ceux des porcs BL et surtout BC en raison des conditions d'élevage extensives (activité physique plus élevée, thermorégulation).

Concernant les systèmes L et C, nous ne notons pas de différences intra-race (BL vs BC ou LWL vs LWC) sur les performances de croissance, contrairement à des résultats antérieurs obtenus sur des animaux croisés issus de lignée synthétique ou croisés Duroc (Lebret *et al.*, 2006; 2010). Ceci peut s'expliquer par le plafonnement des apports alimentaires dans la présente étude, contrairement aux travaux antérieurs où les animaux étaient alimentés à volonté.

Des résultats équivalents ont été obtenus sur les deux répétitions, excepté l'âge en début d'expérience légèrement supérieur pour les porcs BE en R2 comparé à R1 (113 vs 99 j), toutefois cet écart s'est réduit ensuite. Par ailleurs, la vitesse

de croissance moyenne des 5 traitements sur la période 110-145 kg était plus faible en R2 comparé à R1 (479 vs 525 g/j, *P*<0,05) et s'explique en partie par une moindre croissance des porcs BE en R2 comparé à R1 sur cette période (175 vs 298 g/j, interaction T*R non significative).

A l'abattage, le poids vif moyen des porcs BC est réduit par rapport au LWC, alors que les porcs BL, BE et LWL présentent des poids intermédiaires.

On note aussi une interaction traitement X répétition significative : en R2, le poids vif des porcs BE (133,5 kg) est inférieur à celui des porcs BL (147,3 kg) et LWC (148,0 kg), alors qu'en R1, les porcs BE ont poids d'abattage (150,0 kg) non différent de celui des autres groupes. Ceci résulte de la croissance légèrement plus faible des porcs BE en R2 comparé à R1 en finition, et traduit la variabilité des conditions de production auxquelles sont soumis les animaux en système extensif, même lorsqu'il s'agit du même élevage.

Tableau 1 - Performances de croissance et composition corporelle

	1	Traitement : race X système d'élevage ¹						cation ²	
	B L	ВС	BE	LW L	LW C	ETR	Т	R	T*R
Nombre d'animaux	20	20	20	19	20		ı	ı	
Croissance - finition 35-145 kg									
Poids vif initial, kg	35,3	34,8	35,7	37,8	38,5	5,4	ns	ns	ns
Age initial, j	106 b	106 b	106 b	84 a	84 a	5	***	ns	***
Poids vif final, kg	146,3 ab	139,9 a	141,8 ab	144,7 ab	148,0 b	8,2	*	ns	**
Age final, j	312 b	319 b	423 c	230 a	228 a	17	***	ns	ns
Consommation alimentaire, kg/j	2,67	2,36	2,10	2,81	2,80	-	-	-	-
Vitesse de croissance, g/j	544 b	498 b	335 a	756 c	772 c	86	***	ns	ns
Indice de consommation, kg/kg	4,90	4,72	5,73	3,80	3,72	-	-	-	-
Carcasses									
Poids chaud, kg	118,9	114,4	113,9	113,9	118,3	6,8	ns	ns	*
Rendement, %	81,3 c	81,8 cd	80,4 bc	78,7 a	79,9 b	1,2	***	ns	ns
Ep. lard dorsal 4/5 VL, mm	50,6 c	46,2 c	38,9 b	24,4 a	23,9 a	5,1	***	ns	*
Pannes, kg (données brutes)	4,86 c	4,63 c	3,90 b	1,88 a	2,00 a	0,61	***	*	***
Pertes ressuage, % ⁴	1,63 a	1,70 a	-	1,97 b	1,99 b	0,18	***	***	ns
Jambon, % demi-carcasse	25,8 a	25,9 a	27,7 b	28,4 b	28,3 b	0,9	***	ns	*
Longe, % demi-carcasse	18,0 a	17,8 a	17,7 a	23,7 b	22,7 b	0,9	***	**	ns
Bardière, % demi-carcasse	15,8 c	15,0 c	11,2 b	8,0 a	8,1 a	1,4	***	ns	***

¹ Traitement= race X système d'élevage (BL: Basque Litière, BC: Basque Caillebotis, BE: Basque Extensif, LWL: Large White Litière, LWC: Large White Caillebotis)

2.2. Caractéristiques des carcasses

Concernant le poids de carcasse, les différences entre traitements ne sont pas significatives, et atténuées par rapport à celles constatées sur le poids vif.

Cependant on observe une interaction traitement X répétition : le poids de carcasse des porcs BE (107,3 kg) est inférieur à celui des porcs BL et LWC en R2, et à celui de tous les traitements dont BE (120,6 kg) en R1. Le rendement de carcasse varie beaucoup selon le traitement : il est plus élevé pour les porcs B que pour les porcs LW, et plus bas pour les porcs LWL comparés aux LWC.

Ces écarts s'expliquent par un poids de tractus digestif vide, et surtout de contenu digestif supérieur chez les LW en particulier lorsqu'ils sont élevés sur litière, comparativement aux porcs B (contenu digestif : 3,09 vs 2,45 kg pour les LWL et LWC; 1,06 et 0,95 kg pour les BL et BC, P<0,001). Ceci résulte en grande partie d'un contenu du gros intestin plus important chez les LWL comparativement aux LWC (1,78 vs 1,28 kg) et aux BL (0,64kg) et BC (0,55 kg) suite aux effets cumulés d'une digestion probablement plus lente chez les LW, et de la consommation de litière par les LWL pendant la nuit de jeûne en élevage avant le transport, comme observé précédemment (Lebret et al., 2006).

² ETR: écart-type résiduel. T: Traitement (n=5); R: Répétition (n=2); ***: P<0,001; **: P<0,01; *: P<0,05; ns: P>0,05. Sur une même ligne, les moyennes des moindres carrés affectées d'une lettre différente diffèrent significativement (P<0,05)

³ Unité expérimentale=groupe

⁴ Non déterminé sur porcs BE

L'adiposité des carcasses varie très fortement selon la race et le système d'élevage, les porcs BL et BC présentant une épaisseur de lard dorsal doublée relativement aux LWL et LWC, les BE se situant en position intermédiaire. Des écarts similaires sont observés sur le poids brut de panne et sur le pourcentage de panne relativement au poids vif (P<0,001, données non présentées), et se retrouvent logiquement pour la proportion de bardière dans la carcasse. A l'inverse, les proportions de jambon et de longe sont plus élevées chez les LWL et LWC relativement aux BL et BC. Les BE présentent une proportion de jambon proche de celle des LW et de longe équivalente aux BL et BC. Une interaction traitement X répétition est observée sur les critères d'adiposité, les porcs BE présentant une épaisseur de lard dorsal, un poids de panne et un pourcentage de bardière inférieurs en R2 par rapport à R1, qui peut s'expliquer par le poids de carcasse plus faible des porcs BE en R2. Les différences majeures d'adiposité entre races confirment les résultats de Guéblez et al. (2002) et Alonso et al. (2005). Concernant les effets du système d'élevage sur l'adiposité, la moindre consommation alimentaire des porcs BE comparativement aux porcs BL et BC, explique vraisemblablement leur moindre adiposité. Par contre, nous n'observons pas de différence significative entre les porcs élevés sur litière ou sur caillebotis, pour chacune des races. Des études antérieures ont rapporté des porcs plus gras en système L (Lebret et al., 2006) ou une adiposité équivalente entre systèmes L et C (Lebret et al., 2010).

Dans le cas présent, le niveau alimentaire similaire entre systèmes L et C peut expliquer l'absence de différence d'adiposité.

Plus globalement, ces résultats montrent à nouveau que l'influence des conditions d'élevage sur la croissance et l'adiposité résulte de l'interaction de différents facteurs tels que la conduite alimentaire, les conditions climatiques et l'activité physique (Lebret, 2008).

2.3. Indicateurs du comportement en phase pré-abattage

Le niveau d'ACTH plasmatique (log) ne varie pas selon le traitement, alors que celui du cortisol (log) est légèrement plus faible chez les porcs BE relativement aux LWC, et intermédiaire chez les porcs BL, BC et LWL (Tableau 2). Dans nos conditions expérimentales, la réactivité des animaux aux changements d'environnement en phase pré-abattage ne dépend donc pas du système d'élevage, et varie également très peu selon la race. Par contre, le nombre de lésions sur carcasse et l'activité créatine kinase, marqueur de l'activité musculaire, plus élevés chez les porcs BE en particulier en R1, indiquent une activité physique en phase pré-abattage plus importante pour ces animaux. Malgré des conditions standardisées au maximum entre les deux sites d'abattage, les conditions de transport (durée, parcours) différentes entre les porcs BE et les autres, expliquent probablement ces résultats.

Tableau 2 - Indicateurs du comportement en phase pré-abattage

		Traitement : race X système d'élevage ¹						Signification ²			
	BL	ВС	BE	LW L	LW C	ETR	Т	R	T*R		
Lésions sur carcasse, n	0,25 a	1,65 ab	2,60 b	0,27 a	0,15 a	1,9	***	***	*		
Concentrations plasmatiques											
Log ACTH, pg/ml	1,50	1,45	1,49	1,31	1,41	0,41	ns	*	ns		
Log Cortisol, ng/ml	1,61 ab	1,62 ab	1,40 a	1,63 ab	1,65 b	0,28	*	ns	*		
Créatine Kinase, U/ml	1,04 a	1,18 a	1,96 b	1,43 ab	1,36 a	0,63	***	ns	*		

^{1, 2} Cf tableau 1.

2.4. Critères de qualité de viande

Les critères de qualité de viande varient fortement selon la race et le système d'élevage des animaux. Concernant la longe, les porcs BE présentent des valeurs de pH 30 min et surtout de pH 24 h plus élevées comparativement aux porcs BL et BC et surtout aux porcs LWL et LWC (Tableau 3).

La couleur de la viande est également très dépendante du traitement, les porcs BE présentant une viande plus sombre (L* inférieure), un indice de jaune inférieur et par suite une teinte (h°) plus rouge que les porcs BL et BC, les porcs LWL et LWC présentant les viandes les plus claires et les moins rouges, alors que la valeur de l'indice a* n'est pas différente entre les traitements. Les pertes en eau en phase de maturation sont équivalentes pour les 3 groupes de porcs B et très nettement plus faibles que celles des LW.

La plus faible teneur en lactate musculaire (30 min p.m.) est observée chez les porcs BE en accord avec les différences (inversées) de pH 30 min. Le potentiel glycolytique (PG) est nettement plus faible chez les porcs B relativement aux LW mais ne dépend pas du système d'élevage intra-race.

Ainsi, l'activité physique pré-abattage supérieure des porcs BE relativement aux porcs BL et BC se traduit logiquement par un pH 24h plus élevé (0,13 unités en moyenne) mais n'est pas

associée à un PG p.m. inférieur, comparativement aux autres traitements. On peut émettre l'hypothèse que le PG en phase d'élevage était plus élevé chez les BE, comme généralement observé chez des porcs élevés en système extensif surtout en saison froide (Lebret 2008), mais que ces animaux ont eu une consommation supérieure en glycogène musculaire en phase pré-abattage en relation avec leur activité physique plus élevée, conduisant à des valeurs de PG p.m. équivalentes entre les porcs BE, et BL ou BC. Ceci suggère aussi que le PG n'est pas le seul déterminant du pH 24h et que les propriétés métaboliques et/ou le pouvoir tampon du muscle interviennent également dans la détermination du pH ultime.

La teneur en lipides intramusculaires (LIM) dépend fortement de la race et du système d'élevage, avec les teneurs les plus basses pour les LWL et LWC, intermédiaires pour les BE et les plus élevées pour les BC et BL. Ces variations suivent assez logiquement celles de l'adiposité corporelle.

La teneur en collagène total du LM est légèrement plus élevée chez les LW en particulier les LWC relativement aux BE, et surtout aux BL et BC. La solubilité thermique du collagène est plus faible chez les porcs B relativement au LW, indépendamment du système d'élevage, et peut s'expliquer en partie par l'âge à l'abattage plus élevé des porcs B, sans toutefois de différence entre les BE et les BC ou BL.

Tableau 3 - Critères de qualité du muscle Longissimus (longe)

	Traitement : race X système d'élevage ¹						Signifi	cation ²	
	B L	ВС	BE	LW L	LW C	ETR	Т	R	T*R
pH 30 min	6,52 ab	6,48 a	6,63 b	6,42 a	6,40 a	0,16	***	***	ns
pH 24 h	5,57 a	5,58 a	5,71 b	5,47 a	5,47 a	0,13	***	ns	ns
Couleur L*	51,6 bc	51,2 b	48,1 a	53,8 c	53,6 bc	2,8	***	ns	ns
a*	9,7	9,6	9,3	9,1	8,7	1,5	ns	ns	ns
b*	6,9 b	6,5 b	4,9 a	7,2 b	6,7 b	1,0	***	***	ns
C*	11,9	11,6	10,5	11,7	11,0	1,7	ns	*	ns
h°	35,3 b	34,5 b	27,8 a	38,3 c	37,7 c	2,8	***	**	ns
Pertes en eau 1-3 j, %	1,1 a	0,9 a	0,6 a	2,7 b	2,7 b	1,0	***	ns	ns
Lactate, μg/g	40,9 ab	43,2 b	30,4 a	49,3 b	47,3b	13,3	***	**	ns
Potentiel glycolytique, µg eq. lactate/g	138 a	136 a	136 a	173 b	164 b	18	***	*	*
Lipides intramusculaires, %	4,07 c	3,79 bc	3,28 b	2,15 a	2,32 a	0,9	***	ns	ns
Collagène, %	0,42 a	0,43 a	0,45 ab	0,47 ab	0,50 b	0,09	*	***	ns
Solubilité du collagène, % ³	9,5 a	9,1 a	9,0 a	12,2 b	11,8 b	1,7	***	ns	ns
Mesures de texture sur viande cuite									
Pertes en eau à la cuisson, %	17,9 ab	19,0 b	17,2 a	23,3 c	22,7 c	1,8	***	ns	ns
Energie de rupture, J	0,22 a	0,23 a	0,26 ab	0,30 c	0,29 bc	0,04	***	ns	ns
Contrainte maximale de cisaillement, N/cm²	22,7 a	24,6 a	30,3 b	31,7 b	30,6 b	5,2	***	ns	ns

^{1, 2} Cf tableau 1.

Les mesures mécaniques de texture mettent en évidence une dureté supérieure de la viande cuite des porcs LWL et LWC relativement aux porcs BL et BC, les porcs BE présentant des valeurs intermédiaires voire proche de celles des LW pour la contrainte maximale de cisaillement. Les relations modérées entre les mesures mécaniques de texture et la teneur ou la solubilité du collagène du LM (énergie de rupture : r=0,21, P<0,05 avec la teneur en collagène et r=0,22, P<0,05 avec la solubilité; contrainte maximale de cisaillement: r=0,19, P=0,06 avec la teneur en collagène et r=0,10, ns avec la solubilité) montrent que la composante collagénique influence peu la texture de la viande. A l'inverse, les mesures de texture sont fortement et négativement corrélées avec la teneur en LIM (r=-0,49, P<0,001 avec l'énergie de rupture et r=-0,44, P<0,001 avec la contrainte maximale de cisaillement) confirmant la contribution importante dans certains dispositifs expérimentaux de la teneur en LIM dans la détermination de la qualité sensorielle de la viande (De Vol et al., 1988).

Par ailleurs, les pertes en eau à la cuisson varient fortement selon les traitements avec des pertes réduites pour les porcs BE, BL et BC relativement aux LWL et LWC, comme observé pour les pertes en eau *p.m.* Ce résultat contribue également à expliquer les différences observées entre traitements sur les mesures de texture de la viande.

Dans le muscle SM, l'influence du traitement sur le pH 35 min n'atteint pas le seuil de signification (P=0,07), alors que le pH 24 h des porcs BE est nettement plus élevé que celui des porcs autres groupes de porcs comme observé dans le LM (Tableau 4). La couleur du SM varie également fortement selon le traitement, avec une luminance plus faible chez les B, surtout BE, que chez les LW. L'indice a* est plus élevé dans les 3 groupes B relativement au LW et l'indice b* plus faible chez les BE relativement aux 4 autres traitements. Ceci conduit à une viande de couleur plus vive (C*) chez les BL et BC

relativement aux LWL et LWC, les BE étant en position intermédiaire, et à une viande d'un rouge plus sombre pour les BE comparé aux porcs BL et BC, et surtout aux LWL et LWC. Les différences de couleur du SM entre traitements confirment, et sont mêmes accentués par rapport à ceux observés dans le LM.

La teneur en lactate varie significativement à l'inverse du pH 35 min avec la teneur la plus faible pour les BE et la plus élevée pour les LWC. Comme dans le LM, le PG est plus faible pour les BL, BC et BE par rapport aux LWL et LWC, sans différence significative entre systèmes d'élevage.

De même, il apparaît que le PG n'est pas le seul déterminant du pH 24 h, en accord avec Scheffler *et al.* (2009). Enfin, la teneur en LIM est plus élevée chez les BL, BC et BE que chez les LWL et LWC, sans différence entre groupes intra-race B, contrairement aux résultats obtenus dans le LM.

2.5. Qualité sensorielle de la viande

L'analyse sensorielle met en évidence des différences d'aspect de la viande entre traitements (Figure 1).

Les porcs BE ont une viande de couleur rouge plus intense que les porcs BL et BC, et surtout que les porcs LWL et LWC, en accord avec les valeurs observées de h° et L*.

La viande des porcs LWL et LWC apparait de couleur plus homogène que celle des B, toutefois les écarts sont relativement réduits.

La viande des porcs B (surtout BC) est plus persillée que celle des LW (en particulier des LWL) en accord avec les variations de LIM observées entre traitements. Le persillé est jugé plus homogène pour la viande des porcs B que celle des LW, suggérant que le persillé relativement important de la viande des porcs B n'est pas associé à une répartition inégale des lipides, qui pourrait avoir un impact négatif sur l'acceptabilité des produits par les consommateurs.

³ Solubilité thermique du collagène, en pourcentage du collagène total

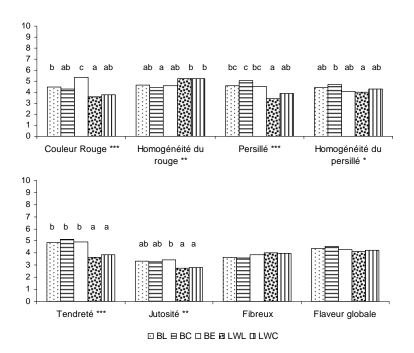
Tableau 4 - Critères de qualité du muscle Semimembraneux (jambon)

	Traitement : race X système d'élevage ¹						Signifi	cation²	
	B L	ВС	BE	LW L	LW C	ETR	T	R	T*R
pH 35 min	6,52	6,47	6,54	6,45	6,41	0,16	ns	ns	ns
pH 24 h	5,63 a	5,59 a	5,83 b	5,48 a	5,50 a	0,18	***	ns	ns
Couleur L*	47,0 a	47,3 a	44,7 a	51,9 b	52,2 b	2,9	***	***	*
a*	14,2 b	13,5 b	13,4 b	10,8 a	9,9 a	1,8	***	ns	ns
b*	8,0 b	7,7 b	6,2 a	7,8 b	7,2 ab	1,3	***	**	ns
C* (saturation) : terne -> vif	16,3 b	15,6 b	14,7 ab	13,3 a	12,3 a	2,1	***	ns	ns
h° (angle de) teinte	29,2 b	29,6 b	24,8 a	35,7 c	36,1 c	2,5	***	***	ns
Lactate, μg/g	44,8 ab	48,4 ab	37,4 a	48,6 ab	51,8 b	14,4	*	***	ns
Potentiel glycolytique, µg eq. lactate/g	139 a	139 a	123 a	164 b	161 b	19,2	***	ns	ns
Lipides intramusculaires, %	4,37 b	4,12 b	3,90 b	2,02 a	2,28 a	1,2	***	ns	*

^{1, 2} Cf tableau 1.

A la dégustation, les viandes des porcs B sont jugées plus tendres que celles des LW, sans différence entre systèmes d'élevage intra-race. Des différences sont également observées sur la jutosité, la viande des porcs BE étant plus juteuse que celle des LWL et LWC, les viandes des porcs BL et BC étant très proches de celle des BE.

Les analyses ne montrent pas de différences entre traitements pour les autres caractères sensoriels : odeur de porc, fibreux, farineux, texture grasse, flaveur globale, flaveur de porc. Les variations de tendreté entre traitements, liées surtout à la race, sont associées aux différences de propriétés physicochimiques: teneur en LIM (r=0,56, P<0,001), pertes en eau (r=-0,42, P<0,001), h° (r=-0,38, P<0,001) et mécaniques: énergie de rupture (r=-0,55, P<0,001) force de cisaillement (r=-0,44, P<0,001) des viandes, alors que la composante collagénique a peu d'effet, comme observé pour les mesures mécaniques de texture. Les variations de jutosité sont corrélées, bien que moins fortement, aux mêmes caractères (LIM, pertes en eau, couleur, mesures de texture), ainsi qu'à la tendreté (r=0,61, P<0,001).



Traitement: **** : P<0,001; **: P<0,01; *: P<0,05; Répétition: ns; TXR: ns. Intra caractère, les données affectées d'une lettre différente différent significativement (P<0,05)

Figure 1 - Evaluation sensorielle : aspect de la viande et dégustation

Les effets favorables de la race B comparativement à la race LW sur les critères de qualité de viande (pH, couleur, pertes en eau, LIM, mesures mécaniques de texture) et les caractères sensoriels (persillé, tendreté, jutosité) confirment les résultats de Guéblez et al. (2002) et Alfonso et al. (2005) et répondent à notre objectif de générer une variabilité élevée de qualité dans ce dispositif expérimental. Intra-race, le système d'élevage

influence la qualité pour la race B essentiellement, avec des différences entre les porcs BE d'une part et BL et BC d'autre part pour la plupart des caractères (pHu plus élevé, couleur rouge sombre). Ceci résulte des conditions d'élevage extensives (conduite alimentaire, activité physique, conditions de logement,...) associées aux conditions pré-abattage un peu différentes (transport notamment) des porcs BE comparé aux

porcs BL et BC. Par contre, on note très peu de différences entre systèmes L et C intra-race B ou LW, à l'inverse d'une étude antérieure où la viande des porcs L présentait des pertes en eau et une teneur en LIM supérieures, ainsi qu'un pHu inférieur associé à un PG accru dans le muscle SM notamment (Lebret et al., 2006). Toutefois, dans une comparaison ultérieure des systèmes L et C, seul l'effet sur les LIM avait été retrouvé (Lebret et al., 2010). Ceci met à nouveau en évidence le déterminisme multifactoriel des composantes de la qualité de viande, et leur variabilité selon les génotypes ou les conditions d'élevage (climat, conduite alimentaire...) considérés.

CONCLUSION

L'ensemble de ces résultats met en évidence des différences très importantes de croissance, composition corporelle et qualité de la viande entre porcs de race Basque et Large White et selon le système d'élevage des animaux, en particulier entre le système extensif Basque d'une part, et l'élevage alternatif sur litière-courette, ou sur caillebotis d'autre part.

La variabilité élevée obtenue sur de nombreux paramètres biochimiques, physico-chimiques et sensoriels de la viande constitue une base favorable pour la mise en évidence de marqueurs de qualité de la viande, et permettra par ailleurs d'approfondir nos connaissances sur la construction biologique de la qualité des produits carnés.

REMERCIEMENTS

Nous remercions chaleureusement toutes les personnes qui ont contribué à la conception ou à la réalisation de ce travail : C. Larzul (INRA), M.J. Mercat et H. Lenoir (IFIP), J.P. Chapart (Ligéral), G. Bordagaray, P. Sainte-Marie et M. Oçafrain (éleveurs), J. Mogabure et le personnel de l'abattoir de Saint-Jean-Pied-de-Port (64), P. Oteiza, N. Cardet et le personnel de l'entreprise P. Oteiza (Les Aldudes, 64), le personnel de l'élevage, de l'abattoir et des laboratoires de l'UMR INRA SENAH (Saint-Gilles, 35) et des laboratoires de l'UR INRA QuaPA (Theix, 63).

Les auteurs remercient la participation de la Communauté Européenne, 6è PCRD, pour le Projet Intégré Q-PORKCHAINS FOOD-CT-2007-036245.

Les résultats et conclusions de cet article sont sous la seule responsabilité des auteurs et ne reflètent pas nécessairement la position de la Communauté Européenne.

- Alfonso L., Mourot J., Insausti K., Mendizabal J.A., Arana A., 2005. Comparative description of growth, fat deposition, carcass and meat quality characteristics of Basque and large White pigs. Anim. Res., 54, 33-42.
- Damon M., Wyszynska-Koko J., Guernec G., Lebret B., 2011. Utilisation de données d'expression génique pour prédire la qualité de viande chez le porc. Journées Rech. Porcine, 43, 47-48.
- DeVol D.L., McKeith, F.K., Bechtel P.J., Novakofski F.K., Shanks R.D., Carr T.R., 1988. Variation in composition and palatability traits and relationships between muscle characteristics and palatability in a random sample of pork carcasses. J. Anim. Sci. 66, 385-395.
- Guéblez R., Labroue F., Mercat M.J., 2002. Performances de croissance, carcasse et qualité de viande de quatre races locales. Techni-Porc, 25, 5-15.
- Honikel K.O., 1998. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. Meat Sci., 49, 447-457.
- Laval G., Iannuccelli N., Legault C., Milan D., Groenen M.A.M., Giuffra E., Andersson L., Nissen P.H., Jargensen C.B., Beeckmann P., Geldermann H., Foulley J.L., Chevalet C., Ollivier L., 2000. Genetic diversity of eleven European pig breeds. Genet. Sel. Evol., 32, 187-203.
- Lebret B., Juin H., Noblet J., Bonneau M., 2001. The effects of two methods of increasing age at slaughter on carcass and muscle traits and meat sensory quality in pigs. Anim. Sci., 72, 87-94.
- Lebret B., Meunier-Salaün M.C., Foury A., Mormède P., Dransfield E., Dourmad J.Y., 2006. Influence of pig rearing conditions on performance, behavioural, and physiological responses of pigs to preslaughter handling, carcass traits, and meat quality. J. Anim. Sci., 84, 2436-2447.
- Lebret B., 2008. Effects of feeding and rearing systems on growth, carcass composition and meat quality in pigs. Animal, 2, 1548-1558.
- Lebret B., Prunier A., Bonhomme N., Foury A., Mormède P., Dourmad J.Y., 2010. Physiological traits and meat quality of pigs as affected by genotype and housing system. Meat Sci. (2010), doi:10.1016/j.meatsci.2010.11.025
- Salmi B., Larzul C., Damon M., Lefaucheur L., Mourot J., Laville E., Gatellier P., Meteau K., Lanoë D., Lebret B., 2011. Analyse multivariée de la variabilité de la qualité de viande de porc selon la race et le système d'élevage. Journées Rech. Porcine, 43, 51-52.
- Scheffler T., Gerrard D., 2009. Glycogen and lactate content do not fully explain differences in pork ultimate pH. Proc. 55th International Congress of Meat Science and Technology, 16-21 August 2009, Copenhagen, Denmark. Paper PE1.63, 5 p.
- Vincent A., Louveau I., Wyszynska-Koko J., Lebret B., Damon M., 2011. Comparaison de l'expression des gènes du tissu adipeux entre les porcs Large White et Basque. Journées Rech. Porcine, 43, 53-54.
- Wyszyńska-Koko J., Damon M., Lebret B., 2009. Transcriptomic analysis of Longissimus muscle to select genes correlated to drip loss in pork. Proc. 55th International Congress of Meat Science and Technology, 16-21 August 2009, Copenhagen, Denmark. Paper PE1.39, 4 p.
- Wyszyńska-Koko J., Lebret B., Damon M., 2009. Microarray analysis of differential genes expression patterns in Longissimus muscle of Large White and Basque pigs. Proc. 55th International Congress of Meat Science and Technology, 16-21 August 2009, Copenhagen, Denmark. Paper PE1.40, 6 p.

Utilisation de données d'expression génique pour prédire la qualité de viande chez le porc

Marie DAMON (1,2), Joanna WYSZYNSKA-KOKO (1,2), Grégory GUERNEC (3), Bénédicte LEBRET (1,2)

(1) INRA, UMR1079 Systèmes d'Elevage et Nutrition Animale et Humaine, F-35590 Saint-Gilles (2) Agrocampus Ouest, UMR1079 Systèmes d'Elevage et Nutrition Animale et Humaine, F-35000 Rennes (3) INRA, UR1037 SCRIBE, F-35000 Rennes

 ${\it Marie.Damon@rennes.inra.fr}$

Avec la collaboration de Annie VINCENT (1), Nathalie BONHOMME(1), Patrick ECOLAN (1) et le personnel de l'élevage et de l'abattoir (1)

Using gene expression data to predict pork quality

Availability of biomarkers for pork quality is essential to control its variability and predict meat quality. In this study, two pure pig breeds, Large White (conventional, n=20) and Basque (local breed, high sensory pork quality, n=30) reared in different production systems, were investigated for eight meat quality traits: colour (lightness: L*, redness: a*), ultimate pH, drip loss, intramuscular fat content, shear force, sensory tenderness and juiciness. Not only should a biomarker for meat quality be correlated with a meat quality trait but it should also be useful in predicting it; accordingly, we developed predictive models for each of these eight traits. Two linear statistical methods (regression and sparse PLS) and a nonparametric method (random forest) were applied on gene expression data obtained on 50 *Longissimus* muscle samples. Within each statistical model, the number of factors (or predictors) chosen was the one that minimized the predicted residual error. Afterward, for each trait, the model with the minimum error between the three statistical methods was selected as the best predictive model. Lists of four to eleven predictors, which explained between 36% and 86% of the variability observed, were found for seven of the eight meat quality traits considered. The choice of predictors for the eighth trait, meat juiciness, was not successful. These models remain to be validated on meat samples from other pork chains before they can be considered for use in the development of actual tools for predicting pork quality.

INTRODUCTION

La qualité de la viande de porc résulte d'interactions complexes entre le potentiel génétique, les conditions de production et d'abattage des animaux et les procédés de transformation des produits. Si l'influence de plusieurs facteurs est bien établie (ex. gènes à effet majeur, conditions pré-abattage), leurs effets interactifs sont moins décrits, entraînant une hétérogénéité de la qualité de viande. Améliorer la qualité et réduire sa variabilité nécessitent de mieux connaître les phénomènes biologiques qui gouvernent les caractéristiques tissulaires et leurs conséquences sur la qualité. De plus, la mise en évidence de nouveaux marqueurs de la qualité et le développement d'outils d'évaluation précoce permettraient d'optimiser l'utilisation des viandes (produits frais / transformés,...).

Au cours de ces dix dernières années, l'analyse de l'expression génique à grande échelle (technologie des puces à ADN) a été largement utilisée chez les animaux d'élevage pour essayer de mieux comprendre les mécanismes biologiques qui sous-tendent l'établissement des phénotypes (Davoli et Braglia, 2007; Hu et al., 2009).

En revanche, l'utilisation des niveaux d'expression des gènes comme mesure phénotypique permettant de mieux prédire des caractères quantitatifs n'est pas encore très répandue (Robert-Granié *et al.*, 2009). Cette étude s'inscrit dans le programme européen Q-Porkchains qui vise à identifier des marqueurs de qualité des viandes porcines, afin de mieux évaluer le niveau de qualité et maîtriser sa variabilité.

Nous avons utilisé des porcs de races contrastées (Basque et Large White) élevés dans différents systèmes de production afin de disposer d'une grande variabilité de qualité (Lebret et al., 2011). Nous avons centré l'étude sur 8 critères importants de qualité : la couleur (L*, a*), le pH ultime, les pertes en eau, la teneur en lipides intramusculaires (LIM), la force de cisaillement, la tendreté et la jutosité.

Dans un premier temps, nous avons recherché des gènes dont l'expression est fortement corrélée à un ou plusieurs critères de qualité. Cependant, considérant qu'un biomarqueur de qualité ne doit pas seulement expliquer une part de la variabilité du caractère mais surtout permettre de la prédire, nous avons ensuite utilisé différentes méthodes prédictives afin de sélectionner un modèle minimisant l'erreur de prédiction, pour chacun des 8 caractères étudiés.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

Cinquante porcs mâles castrés de race pure Basque (B, n=30) ou Large White (LW, n=20) élevés en système d'élevage

conventionnel (caillebotis n=10 porcs/race), alternatif (litière avec libre accès à une courette extérieure, n=10 porcs/race) ou extensif Basque (n=10 porcs B) ont été abattus au poids de 150 kg. Trente min post-mortem (p.m.), du muscle Longissimus (LL) a été prélevé pour analyses transcriptomiques. Le lendemain, le pH ultime et la couleur (L*, a*) ont été déterminés, et du muscle LL prélevé pour détermination de la teneur en LIM et des pertes en eau (1-3 j p.m.). Après 4 j de maturation, du muscle LL a été prélevé, mis sous vide et congelé pour détermination de la force de cisaillement après cuisson, ainsi que de la tendreté et de la jutosité par un jury d'analyse sensorielle (Lebret et al., 2011).

1.2. Mesure des expressions géniques

Les ARN totaux ont été extraits au Trizol puis les échantillons et la référence (pool des 50 échantillons) ont été marqués au Cy3 ou Cy5, respectivement, avec le kit Low RNA Input Linear Amplification (Agilent) et hybridés une nuit à 65°C sur une puce à ADN 15K muscle spécifique (Agilent). L'acquisition des images a été réalisée avec le scanner Agilent G2505B. Les quantifications des signaux bruts ont été obtenues à l'aide du logiciel Feature Extraction Software (Agilent v9.5). Un filtrage sur l'intensité des spots, une élimination des valeurs aberrantes par la méthode des écart-réduits et une normalisation par spot et par lame (Lowess) ont ensuite été effectués. Après élimination des gènes de faible variance (agrégation par k-means) et des gènes sans annotation valide (homologie de séquence ≤ 85% et/ou moins de 18 pb consécutives), 3501 sondes ont été conservées pour établir les modèles de prédiction.

1.3. Analyses statistiques

1.3.1. ANOVA

Les données de qualité de viande et d'expression génique ont été ont été corrigées par une analyse de variance (ANOVA) en cas d'effet significatif du groupe d'animaux (5 modalités) ou de la série d'hybridation (6 modalités).

1.3.2. Analyses de prédiction

Deux méthodes linéaires, la régression et la sparse PLS (Lê Cao et al., 2008, package mixOmics R) et une méthode non paramétrique (forêts aléatoires, Liaw et Wiener, 2002) ont été comparées pour sélectionner le meilleur modèle de prédiction.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Pour chacun des critères nous avons déterminé à l'aide des trois méthodes (régression, sparsePLS et forêts aléatoires) et en utilisant la procédure du « leave one out », le meilleur

modèle (i.e. combinaison de gènes prédicteurs) qui minimisait l'erreur de prédiction en test. Ensuite, nous avons comparé les 3 analyses et conservé le modèle prédictif qui présentait la plus faible erreur de prédiction. Ainsi, nous avons pu établir pour 7 des caractères de qualité étudiés, un modèle prédictif comportant entre 4 et 11 gènes prédicteurs et expliquant entre 36 et 86% de la variabilité du caractère (Tableau 1). En revanche, nous ne sommes pas parvenus à déterminer de modèle de prédiction pour la jutosité.

Pour ce critère, un modèle de prédiction avec une répartition en classes pourrait être étudié.

Tableau 1 - Modèles de prédiction de la qualité de la viande de porc

Mesures de qualité	Nombre de prédicteurs	R ² (%)	Méthode utilisée
Tendreté	7	86	Régression
pHu	6	60	Forêts aléatoires
a*	11	52	Forêts aléatoires
L*	9	52	Forêts aléatoires
Force de cisaillement	8	51	Forêts aléatoires
LIM	6	44	Forêts aléatoires
Pertes en eau	4	36	Forêts aléatoires

CONCLUSION

Ces analyses confirment la complexité de l'élaboration de la qualité de viande, puisque plusieurs gènes sont nécessaires pour prédire les caractères phénotypiques actuellement évalués. Après la validation de nos résultats par qPCR, ces modèles devront être testés et validés dans d'autres dispositifs expérimentaux avant de pouvoir être considérés comme de nouveaux outils de tri de la qualité des carcasses. A plus long terme, des études combinant plusieurs critères de qualité de viande seraient nécessaires pour définir un véritable index prédictif de la qualité de viande.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les personnes de la Filière Porc Basque et des unités INRA SENAH, EASM et QuaPA qui ont participé à l'étude. Les auteurs remercient la participation de la Communauté Européenne, 6è PCRD, pour le Projet Intégré Q-PORKCHAINS FOOD-CT-2007-036245. Les résultats et conclusions de cet article sont sous la seule responsabilité des auteurs et ne reflètent pas nécessairement la position de la Communauté Européenne.

- Davoli R., Braglia S., 2007. Molecular approaches in pig breeding to improve meat quality. Brief. Funct. Genomic Proteomic. 6, 313-321.
- Hu X., Gao Y., Feng C., Liu Q., Wang X., Du Z., Wang Q., Li N., 2009. Advanced technologies for genomic analysis in farm animals and its application for QTL mapping. Genetica. 136, 371-386.
- Lebret B., Damon M., Gondret F., Lefaucheur L., Louveau I., Prunier A., Bonhomme N., Ecolan P., Wyszynska-Koko J., Lepetit J., Méteau K., Dourmad J.Y., 2011. Variation de la qualité de la viande de porc selon la race : basque ou Large White et le système d'élevage : conventionnel, alternatif ou extensif. Journées Rech. Porcine, 43, 39-46.
- Lê Cao K.A.; Rossouw D., Robert-Granié C., Besse P., 2008. A Sparse PLS for Variable Selection when Integrating Omics Data. Stat. Appl. Genet. Mol. Biol., 7(1), Article 35.
- Liaw A., Wiener M., 2002. Classification and Regression by randomForest. R. News 2, 18-22.
- Robert-Granié C., Lê Cao K.A., Sancristobal M., 2009. Predicting qualitative phenotypes from microarray data the Eadgene pig data set. BMC Proc. 16(3), Suppl 4:S13.

Construction d'un modèle de prédiction de la force de cisaillement de la viande de porc cuite à partir de données d'expression génique

Grégory GUERNEC (1), Marie DAMON (2), Annie VINCENT (2), Frédéric HERAULT (3), Pierre CHEREL (4) et Pascale LE ROY (3)

(1) INRA, UR1037 SCRIBE, 35000 Rennes, France

(2) INRA, UMR SENAH, 35590 Saint-Gilles, France

(3) INRA, UMR Génétique Animale, 65 rue de St Brieuc, 35000 Rennes, France

(4) Hendrix Genetics, 100 avenue Denis Papin, 45800 St Jean de Braye, France

Gregory.Guernec@rennes.inra.fr

Avec la collaboration technique de Jérôme GLENISSON (4) et José PIRES (4)

Construction of a predictive model of shear force of cooked pig meat using high-throughput expression data

Pork quality is highly variable and the availability of relevant predictors of fresh meat quality at slaughter is critical to optimize carcass use and improve its valuation. High throughput gene expression studies have been widely used to describe biological mechanisms underlying variation of several traits but data are scarce regarding their use as tools for the development of biomarkers. In this study, exhaustive trancriptomics analysis of 300 Longissimus muscles (collected at slaughter) was achieved by microarray hybridization, using a custom repertoire of 15,000 60-mer DNA probes, targeting transcripts expressed in pig skeletal muscle. This study describes the method applied for selecting informative and robust predictors of shear force of cooked meat using mRNA levels. In particular, the minimal number of predictors included in the model was defined using a statistical framework for prediction. Finally, an optimal model with 7 predictors was established but will have to be validated using qPCR before it can be considered an effective tool to predict pork tenderness.

INTRODUCTION

Le tri et un classement des carcasses de porc demeurent nécessaires pour mieux maîtriser la variabilité de la qualité de viande et optimiser l'utilisation des carcasses et des pièces de découpe par les abattoirs et les transformateurs. Cela implique (1) une évaluation précoce de défauts qui sont visibles uniquement après découpe ou transformation et (2) de disposer d'outils de prédiction faciles à mettre en œuvre.

La tendreté est un critère important pour les consommateurs (Maltin *et al.*, 2003).

Or, si des relations ont été établies entre des profils d'expression génique (Lobjois et al., 2008) ou protéique (Laville et al., 2007) et la tendreté estimée par la mesure expérimentale de la force de cisaillement de la viande cuite (WBcuit), elle demeure difficile à prédire du fait d'interactions complexes entre les différentes composantes du tissu musculaire.

La méthodologie présentée vise à prédire au mieux le WBcuit en tirant profit de la mesure simultanée de l'expression d'un grand nombre de gènes (technologie microarray).

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Animaux, prélèvements et mesure du WBcuit

Les 325 animaux de cette étude sont issus d'une population F2 constituée à partir de deux lignées mâles de FRANCE-HYBRIDES (FH016, lignée de type Piétrain, FH019, lignée synthétique de type Hampshire, Duroc, et Large White) et indemnes des allèles HAL n ou RN.

Dix grammes de muscle *Longissimus* sont prélevés 15 minutes après l'abattage puis congelés. Ces échantillons sont cuits pendant 30 min (chaleur sèche, au four) à 240°C. La force de cisaillement (WB) est estimée par la force maximale à la rupture avec une lame de Warner-Bratzler (Lobjois *et al.*, 2008).

1.2. Acquisition et traitement des données d'expression

Les ARN totaux sont extraits au Trizol puis les échantillons sont marqués au Cy3 avec le kit Low RNA Input Linear Amplification (Agilent) et hybridés une nuit à 65°C sur une puce à ADN 15K muscle spécifique (Agilent). L'acquisition des images est réalisée en utilisant le scanner Agilent G2505B.

Les quantifications des signaux brutes sont obtenues à l'aide du logiciel Feature Extraction Software (Agilent v9.5).

Un filtrage sur l'intensité des spots et une détection des valeurs aberrantes par la méthode des écart-réduits sont effectués. Les données manquantes sont imputées par la méthode des k plus proches voisins. Après élimination des gènes de faible variance (agrégation par k-means) et des gènes sans annotation valide (homologie de séquence ≤ 85% et/ou moins de 18 pb consécutives), 3371 gènes sont conservés. Après vérification de la symétrie de la distribution du WBcuit, 276 échantillons sont conservés.

1.3. Construction du modèle de prédiction

Un modèle prédictif sans biais est établi au moyen d'une validation croisée par k découpages aléatoires du fichier de départ en échantillons d'apprentissage (participant à la construction du modèle) et de test (participant à sa validation). La recherche du modèle optimal est effectuée par comparaison de plusieurs modèles statistiques.

Le problème de la grande dimensionnalité (p gènes variables >> n lames individus) spécifique aux données de transcriptomique exclut l'utilisation directe des techniques classiques de régression. Deux autres approches ont donc été choisies : Partial Least Square (PLS, Wold *et al.*, 1983) et Random Forest (RF, Breiman 2001). La méthode PLS conserve l'hypothèse de linéarité et vise à maximiser conjointement la variance des prédicteurs et la corrélation existant entre ces derniers et la variable à prédire.

Cette approche a de plus été choisie pour déterminer dans un premier temps le nombre optimal de prédicteurs par minimisation de l'erreur test. L'analyse RF est basée sur l'agrégation d'arbres binaires de décision et privilégie l'hypothèse de non linéarité. Les gènes candidats résultant de la réunion des prédicteurs sélectionnés par les 2 approches sont inclus dans un modèle linéaire.

Trois modèles sont ensuite établis par minimisation de 3 critères d'optimalité distincts : AIC, BIC et erreur Test. Ces modèles sont évalués en fonction de leur capacité à minimiser les erreurs Test, d'Apprentissage et relative aux lames atypiques et comparés à des modèles faisant intervenir des mesures de qualité de viande classiquement déterminées à l'abattoir (modèles phénotypiques).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Nombre de variables prédictives

Seize échantillons sont identifiés comme atypiques. Les 260 lames restantes sont aléatoirement réparties en 2 sousgroupes : test (35%) et apprentissage (65%).

Cette opération réitérée 20 fois permet une estimation sans biais des erreurs associées aux modèles. L'approche PLS suggère un minimum en test atteint pour N=3 prédicteurs. Les 20 modèles PLS et RF générés fournissent alors une liste de 67 prédicteurs potentiels à affiner.

2.2. Modèle optimal de prédiction du WBcuit

Les critères d'optimalité de 3 modèles linéaires sont comparés (Figure 1) :

- -le modèle 1 (31 prédicteurs) minimise l'AIC
- -le modèle 2 (14 prédicteurs) minimise le BIC
- -le modèle 3 (7 prédicteurs) minimise l'erreur Test.

Puis, les performances du modèle 3 choisi (R2 ajusté=0,19) sont comparées à celles de 2 modèles phénotypiques sélectionnés à 4 (modèle 4) et 2 (modèle 5) prédicteurs. Le modèle 4 est établi à partir des mesures de la couleur rouge (a*), du pH 30 min, du potentiel glycolytique et du taux de muscle. Le modèle 5 est établi à partir des mesures de la couleur rouge (a*) et du potentiel glycolytique. L'estimation des erreurs associées montre que le modèle 3 est le seul modèle « génotypique » (modèles 1, 2 et 3) à proposer une erreur test comparable à celles observées avec les modèles « phénotypiques » (modèles 4 et 5).

Il semble donc le plus intéressant en termes de prédiction. Un tel modèle pourrait par exemple inclure la mesure des transcrits des gènes SEPT7, ST3GAL6, RARB, NRG4, DISP1 B3GNT5 et DCXR.

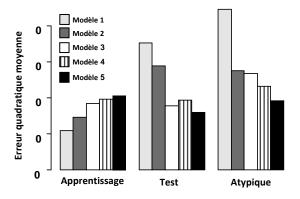


Figure 1 - Caractéristiques des modèles proposés

CONCLUSION

Après validation par qPCR, la combinaison à 7 prédicteurs pourrait constituer un outil de prédiction du WBcuit, mesure instrumentale de la tendreté de la viande.

Cet outil reste perfectible en robustesse mais serait pertinent pour les acteurs de la filière, car utilisable au stade du classement des carcasses à l'abattage

REMERCIEMENTS

Cette étude a été réalisée dans le cadre du projet GENMASCQ, financé par l'Agence Nationale pour la Recherche dans le Programme National de Recherches en Alimentation, édition 2006.

- Breiman L., 2001. Random Forests. Machine Learning 45, 5-32.
- Laville E., Sayd T., Terlouw C., Chambon C., Damon M., Larzul C., Leroy P., Glénisson J., Chérel P., 2007. Comparison of sarcoplasmic proteomes between two groups of pig muscles selected for shear force of cooked meat. J. Agric. Food Chem. 55, 5834-5841.
- Lobjois V., Liaubet L., SanCristobal M., Glénisson J., Fève K., Rallières J., Le Roy P., Milan D., Cherel P., Hatey F., 2008. A muscle transcriptome analysis identifies positional candidate genes for a complex trait in pig. Anim. Genet. 39, 147-162.
- Maltin C., Balcerzak D., Tilley R., Delday M., 2003. Determinants of meat quality: tenderness. Proc. Nutr. Soc., 62, 337-347.
- Wold S., Martens H., Wold H., 1983. The multivariate calibration problem in chemistry solved by the PLS method. In: Proc. Conf. Matrix Pencils Lecture Notes in Mathematics 973, 286-293.

Analyse multivariée de la variabilité de la qualité de viande de porc selon la race et le système

Btissam SALMI (1), Catherine LARZUL (1), Marie DAMON (2), Louis LEFAUCHEUR (2), Jacques MOUROT (2), Elisabeth LAVILLE (3), Philippe GATELLIER (3), Karine METEAU (4), Denis LALOË (1), Bénédicte LEBRET (2)

(1) INRA, UMR1313, GABI; AgroParisTech, UMR1313, GABI; 78352 Jouy-en-Josas, France
(2) INRA, UMR1079 SENAH, 35590 Saint-Gilles, France.
(3) INRA, UR QuAPA, Theix, 63122 St-Genès-Champanelle, France.
(4) INRA, EASM, Le Magneraud, 17700 Surgères, France.

btissam.salmi@jouy.inra.fr

Multivariate analysis of variation in pork quality attributable to breed and rearing system

Pig meat quality traits were recorded in 50 castrated animals from Large White (LW) and Basque breed (B) raised in three different rearing systems: indoor, extensive and outdoor (only for B).

Traits were classified into 9 groups: transcriptomic and proteomic data, sensory, technological, chemical, fatty acids, muscle fiber, proteolysis and slaughter reactivity traits. Multivariate analyses (i.e. between- and within-class Multiple Factor Analysis (MFA)), were performed on all traits. Five classes were defined by combining breed and rearing system. Most of the variability was due to the within-class variation (67%). According to our results, variables that discriminated the five classes were the same as those discriminating individuals. However, among classes, variables were differentially structured.

INTRODUCTION

La qualité de viande de porc dépend de l'effet de plusieurs facteurs et de leurs interactions (gènes à effets majeurs, conditions d'élevage et d'abattage, processus de transformation de viande, ...). Cependant, la qualité présente toujours une variabilité importante, comme dans le cas des caractéristiques biologiques contrôlant la qualité sensorielle qui ne sont pas clairement identifiés.

L'amélioration de la qualité de viande implique une meilleure connaissance des phénomènes biologiques qui régissent les caractéristiques tissulaires et leur impact sur la qualité. Cette étude a pour objectif de relier les caractéristiques phénotypiques des tissus musculaires et des viandes avec l'expression des gènes et des protéines en analysant les variations existant entre races et systèmes d'élevage.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Animaux et systèmes d'élevage

Cinquante porcs mâles castrés de race pure Basque (B, n=30) ou Large White (LW, n=20) ont été placés en trois systèmes d'élevage différents : un système conventionnel (C : 10 LW et 10 B), un système alternatif (L : 10 LW et 10 B) et un système extensif (E : 10 B); ainsi, cinq classes de races x système d'élevage ont été identifiées.

Les animaux ont été abattus au poids vif moyen de 150 Kg dans deux abattoirs différents : expérimental (les porcs C et L) ou commercial (les porcs E).

Un large nombre de mesures de qualité de viande ont été prises au niveau du muscle *Longissimus lumborum* et du sang collecté à l'abattage. Ces mesures ou variables ont été classées en neuf groupes distincts: transcriptomiques (15k Agilent muscle micro-array), protéomiques, sensorielles (flaveur, jutosité, ...), technologiques (pH, couleur, force de cisaillement...), chimiques (teneur en protéines et en eau), composition d'acides gras, protéolyse, fibres musculaires (type et taille des fibres) et de réactivité à l'abattage (teneur plasmatique en ACTH et cortisol).

1.2. Analyses statistiques

Une analyse multivariée a été utilisée afin d'intégrer l'ensemble des variables. D'abord, une analyse en composantes principales (ACP) a été utilisée pour estimer de manière globale les corrélations entre l'ensemble des variables. Ensuite, des ACP partielles intra- et inter-classes de race x système d'élevage ont été effectuées afin d'identifier les variables discriminant les cinq classes (variabilité inter-classes) et de comparer les structures de ces variables au sein de chaque classe (variabilité intra-classes).

Afin de pouvoir analyser les groupes de variables et de remédier au problème de leur différence de structure, on a utilisé l'analyse factorielle multiple (AFM; Escofier et Pagès (1994)) qui consiste en une ACP pondérée incluant des ACP partielles correspondant aux neuf groupes de variables. L'ensemble de ces analyses a été effectué à l'aide du package ADE4 du logiciel R (Chessel, D., Dufour, A.B., et Thioulouse, J. (2004); Ihaka et Gentleman (1996)).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de notre étude montrent que la variabilité entre les cinq classes de race x système d'élevage est assez importante (33% de la variabilité totale). Les projections des trois premières composantes des ACP partielles inter- et intraclasses sur les trois premiers axes de l'ACP globale montrent une forte corrélation entre les trois premières composantes de l'ACP inter-classes et ceux de l'ACP globale.

En revanche, la corrélation entre les premiers axes de l'ACP intra-classes et ceux de l'ACP globale a été très faible.

Ces premiers résultats suggèrent que les variables discriminant les cinq classes de race x système d'élevage discriminent également les individus. Cependant, intra-classe, les variables sont structurées de manière différente.

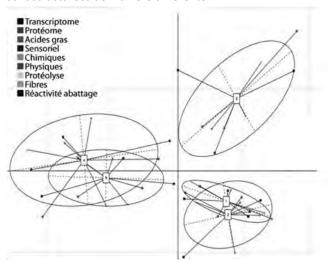


Figure 1 - Graphique des résultats de l'AFM (Axes factoriels 1 et 2). Consensus et représentations partielles des projections des cinq classes de race x systèmes d'élevage en fonction des neuf groupes de variables (B conventionnel (1), B alternatif (2), B extensif(3), LW conventionnel(4), LW alternatif (5)).

2.1. Analyse inter-classes

Les deux premiers axes factoriels de l'AFM résument 90,6% de la variance totale entre-classes.

Les résultats de l'AFM ont permis une comparaison globale des cinq classes de race x systèmes d'élevage en considérant les neuf groupes de variables et l'analyse de leur structure entreclasses, et on en déduit que le premier axe discrimine les races, alors que le deuxième axe discrimine les systèmes d'élevage (Figure 1). L'étude des corrélations des groupes de variables avec les deux premiers axes factoriels a montré que le premier axe est principalement expliqué par les variables transcriptomiques, chimiques, technologique et de composition en acides gras. Cependant, les variables de réactivité à l'abattage contribuent principalement au deuxième axe.

2.2. Analyse intra-classes

Les groupes de variables ont été structurés de manière différente selon les classes de race x système d'élevage. Dans le système conventionnel, les groupes de variables discriminant les individus des deux races ont été relativement similaires (variables chimiques, sensorielles et de protéolyse). Dans le système alternatif, les variables technologiques discriminaient les animaux LW, cependant, les variables sensorielles et protéomiques discriminaient les animaux B. Concernant les animaux B élevés en système extensif, les variables technologiques, de protéolyse et transcriptomiques étaient les variables qui discriminaient fortement les individus de cette classe.

CONCLUSION

Les résultats de la présente étude montrent que les analyses multivariées peuvent avoir un grand intérêt dans l'évaluation globale des différences existant entre des classes d'individus par rapport à un grand nombre de variables incluant des caractéristiques de muscle et de viande qui sont réparties en groupes. Ce genre d'analyse pourrait également être utilisé pour souligner les différentes corrélations entre les groupes de variables.

REMERCIEMENTS

Ces résultats ont été obtenus dans le projet européen Q-Porkchains (http://www.q-porkchains.org/).

Nous tenons à remercier l'Union européenne dans le cadre du 6^{ème} programme-cadre et les responsables du projet pour le financement de cette étude. Le contenu de cet article reflète uniquement l'avis des auteurs; l'Union européenne n'est responsable d'aucune utilisation qui peut être faite des informations contenues dans cet article.

- Chessel D., Dufour A.B., Thioulouse J., 2004. The ade4 package. I: One-table methods. R News, 4, 5-10.
- Escofier B., Pagès J., 1994. Multiple Factor Analysis (Afmult Package). Comput. Stat. Data Anal., 18, 121-140.
- Ihaka R., Gentlman R., 1996. R: A language for data analysis and graphics. J. Comp. Graph. Stat., 5, 299-314.

Comparaison de l'expression des gènes du tissu adipeux entre les porcs Large White et Basque

Annie VINCENT (1,2), Isabelle LOUVEAU (1,2), Joanna WYSZYNSKA-KOKO (1,2), Bénédicte LEBRET (1,2), Marie DAMON (1,2)

(1) INRA, UMR 1079 SENAH, 35590 Saint-Gilles; (2) AgroCampus-Ouest, UMR 1079 SENAH, 35000 Rennes

Annie.vincent@rennes.inra.fr

Avec la collaboration technique de Nathalie BONHOMME (1,2), Patrick ECOLAN (1,2), Sandrine TACHER (1,2), Christine TREFEU (1,2) et le personnel de l'élevage et de l'abattoir (1,2)

Gene expression in subcutaneous adipose tissue: differences between Large White and Basque pigs

Body fat accumulation influences the economical value and product quality in pig production. To enhance our knowledge of the mechanisms underlying fat accumulation, subcutaneous adipose tissue gene expression was studied in two extreme pure breeds of pigs: Large White (LW; conventional, high lean meat content) and local Basque pigs (B; low growth performance and high fat content) (Q-PorkChains European Program). All phenotypic analyses were performed on pigs with live weight of 35 kg and 145 kg. For transcriptomics analysis, a custom microarray with 15 028 oligonucleotides (Agilent) was developed, targeting transcripts expressed in pig adipose tissue. Comparison of gene expression in adipose tissue of LW and B pigs revealed that 1108 and 1474 genes were differentially expressed at 35 kg and 145 kg, respectively (adjusted p value <0,1). To highlight breed-specific differences, we focused our investigations on the 359 genes that were common to both stages. Some genes related to lipid and oxidative metabolisms were expressed more in LW than in B pigs. The finding that genes known to be involved in the immune response were over-expressed in B pigs compared with LW pigs support the notion that adipose tissue may play a significant role in the regulation of the immune system. Further gene ontological investigations should improve our knowledge on mechanisms related to fat accumulation.

INTRODUCTION

La maîtrise du développement des tissus adipeux chez le porc est un objectif important pour la production porcine et un équilibre doit être trouvé pour valoriser au mieux les carcasses et améliorer la qualité. La génétique et les conditions d'élevage sont connues pour modifier les dépôts de lipides (Lebret et Mourot, 1998).

Néanmoins, les connaissances sur les mécanismes impliqués dans l'accumulation des lipides restent insuffisantes. Dans ce contexte, l'expression des gènes du tissu adipeux sous-cutané (TASC) a été étudiée en comparant le porc Basque (B), race locale, au porc Large White (LW), race conventionnelle. Le porc B est un modèle d'étude intéressant car il se caractérise par une croissance lente et une forte aptitude à déposer les lipides (Alfonso et al., 2005).

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Animaux et échantillons

Des porcs mâles castrés de race LW ou B ont été élevés dans des conditions standards sur caillebotis au sein de l'élevage expérimental de l'UMR SENAH. Un premier groupe d'animaux (n=5 par race) a été abattu à 35 kg de poids vif (90 jours d'âge pour les porcs LW et 120 jours d'âge pour les porcs B). Un second groupe d'animaux (n=10 par race) a été abattu à 145 kg de poids vif (229 jours d'âge pour les porcs LW et 319 jours d'âge pour les porcs B). Des échantillons de TASC dorsal

ont été prélevés, immédiatement congelés dans l'azote liquide puis conservés à -70°C jusqu'à la réalisation des analyses.

1.2. Mesures des caractéristiques du tissu adipeux

La mesure d'épaisseur de lard dorsal (réglette) a été réalisée après l'abattage par mesure à la fente de la demi-carcasse entre les 3^{ème} et 4^{ème} avant-dernières côtes. Les diamètres adipocytaires ont été mesurés sur coupe histologique de TASC.

1.3 Analyse du transcriptome

Les ARN totaux ont été extraits (Trizol, Invitrogen) puis purifiés sur colonnes (Nucleospin RNAII, Macherey-Nagel).

La quantification des ARN a été réalisée par spectrophotométrie (Nanodrop) et leur qualité a été vérifiée à l'aide du Bioanalyseur 2100 (Agilent). Pour mesurer ensuite l'expression des gènes, une puce ADN porcine synthétisée à façon (Agilent) qui comporte 15028 oligonucléotides ciblant des gènes exprimés dans les tissus adipeux, a été utilisée. Les échantillons ont été marqués au Cy3 et la référence (mélange d'ARN des échantillons) a été marquée au Cy5 (kit Low RNA Input Linear Amplification, Agilent).

Après hybridation, les puces ont été scannées sur scanner Agilent. Le prétraitement des données brutes, la normalisation et les analyses statistiques ont été réalisés avec le logiciel R (LIMMA). Les valeurs de p ont été corrigées selon la procédure de Benjamini-Hochberg pour les tests multiples et un seuil de 10% a été retenu. Une analyse de variance a été réalisée à chaque stade (35 kg et 145 kg) pour tester l'effet de la race.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Caractéristiques tissulaires

Les mesures d'épaisseur de lard dorsal réalisées aux deux stades d'abattage confirment les différences importantes d'adiposité entre les porcs LW et B (Tableau 1).

La plus forte adiposité des porcs B est associée à un diamètre adipocytaire plus élevé (P < 0,001) aux deux stades.

2.2. Différentiel d'expression des gènes

L'analyse des données du transcriptome des porcs de 35 kg et 145 kg montre que l'expression des gènes dans le TASC diffère entre les porcs LW et B (Tableau 1).

Pour les animaux de 35 kg, 1108 gènes sur un total de 15028 sont exprimés différemment entre LW et B (valeur de p corrigée Benjamini-Hochberg).

Pour les animaux de 145 kg, 1474 gènes différentiels sont mis en évidence entre les deux races (valeur de p corrigée BH). Sur l'ensemble de ces gènes, l'effet race est retrouvé à la fois à 35 kg et 145 kg pour 359 gènes, avec des valeurs d'expression relative similaires aux 2 stades.

Parmi les gènes fortement surexprimés chez les porcs LW (expression relative > 2), nous trouvons des gènes du métabolisme lipidique (élongation et transport des acides gras : ELOV3, FABPH), de l'oxydation mitochondriale (NADH deshydrogénase, ATP synthase, isocitrate deshydrogénase) et du métabolisme glucidique (PGM1). Une expression importante des gènes mitochondriaux dans le tissu adipeux chez le porc est également rapportée par Chen et al. (2006).

La mise en évidence d'une surexpression de gènes associés à la réponse immunitaire chez les porcs B (interleukine 6, gènes du complexe majeur d'histocompatibilié) renforce l'idée selon laquelle le TASC jouerait un rôle significatif sur le système immunitaire (Gabler et Spurlock, 2008 ; Galic *et al.*, 2010).

CONCLUSION

Nos résultats montrent que les différences d'adiposité entre les porcs LW et B sont associées à des différences d'expression de gènes.

Il semblerait que l'expression des gènes du métabolisme oxydatif et lipidique soit plus élevée chez les porcs LW que chez les porcs B quelque soit le stade considéré.

L'analyse fonctionnelle en ontologies géniques de l'ensemble des gènes différentiels devraient permettre de mieux appréhender les mécanismes impliqués dans l'adiposité chez le porc.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient la participation de la Communauté Européenne, 6è PCRD, pour le Projet Intégré Q-PORKCHAINS FOOD-CT-2007-036245.

Les résultats et conclusions de cet article sont sous la seule responsabilité des auteurs et ne reflètent pas nécessairement la position de la Communauté Européenne.

Les auteurs remercient F. Moreews (équipe SIGENAE, INRA) pour l'annotation de la puce ADN et F. Gondret pour la mesure du diamètre adipocytaire.

Tableau 1 - Caractéristiques du tissu adipeux sous-cutané des porcs LW et B

		35 kg		145 kg				
	(n=5 / rad	ce)	(n=10 / race)				
	LW	В	р	LW	В	р		
ELD (mm)	7,4	13,4	0,03	18,2	46,6	<0,001		
Diam. adip. (μm)	33,7	52,8	<0,001	68,3	92,61	<0,001		
Gènes différentiels	110	08	0,1*	1474 0,1*				
Gènes communs aux 2 stades		359						

ELD; épaisseur de lard dorsal, *; valeur de p corrigée Benjamini-Hochberg.

- Alfonso L., Mourot J., Insausti K., Mendizabal J.A., Arana A., 2005. Comparative description of growth, fat deposition, carcass and meat quality characteristics of Basque and Large White pigs. Anim. Res., 54, 33-42.
- Chen C. H., Lin E C., Cheng W.T.,Sun H.S., Mersmann H.J., Ding S.T., 2006. Abundantly expressed genes in pig adipose tissue: An expressed sequence tag approach. J. Anim. Sci. , 84, 2673–2683.
- Gabler N.K., Spurlock M.E., 2008. Integrating the immune system with the regulation of growth and efficiency. J. Anim. Sci., 86(E. Suppl.), E64-E74.
- Galic S., Oakhill J.S., Steinberg G.R., 2010. Adipose tissue as an endocrine organ. Mol. Cell. Endrocrinol., 316, 129-139.
- Lebret B., Mourot J., 1998. Caractéristiques et qualité des tissus adipeux chez le porc. Facteurs de variation non génétiques. INRA Prod. Anim., 11(2), 131-134.

Influence de l'utilisation de l'acide linoléique conjugué (CLA) dans les régimes sur la qualité et la composition en acides gras de la viande de porc

Núria TOUS (1), Rosil LIZARDO (1), Maria FONT (2), Marina GISPERT (2), Enric ESTEVE-GARCIA (1)

IRTA-Nutrició de Monogastrics, Ctra. de Reus-El Morell km 3,8, 43120 Constantí, Espagne
 IRTA-Qualitat del Producte, Finca Camps i Armet, 17121 Monells, Espagne

enric.esteve@irta.cat

Avec la collaboration de J. AGUILO, A. MIQUEL, A. QUINTANA, A. ROSSELL, M.J. BAUTISTA et A. PEREZ

The influence of dietary conjugated linoleic acid (CLA) on meat quality and tissue fatty acid (FA) composition of finishing pigs

The effects of CLA inclusion (4%) in the finishing pig diets on growth performance, carcass and meat quality and the fatty acid (FA) composition of subcutaneous (backfat), muscular (LM: Longissimus lumborum; SM: Semimembranosus) and hepatic tissues was evaluated. Sixteen gilts (70 kg) were randomly assigned to a control diet (T: 4% sunflower oil) or a test diet containing 4% of a commercial oil containing 56% CLA. Gilts were fed those diets for 54 days and slaughtered at 115.1 ± 4.9 kg live weight. Carcass quality parameters were measured and samples of backfat, LM and SM muscles and liver were collected for analysis. CLA tended to reduce backfat depth at the last 3rd-4th lumbar vertebrae (P=0.08) and significantly reduced perirenal fat (P<0.05) but did not have any effect on intramuscular fat content. CLA also increased liver weight (P<0.05) without affecting its lipid content, and significantly affected the FA composition of all tissues. Meanwhile, saturated FA were increased in all tissues, monounsaturated FA were decreased only in subcutaneous and LM tissues and polyunsaturated FA in the liver and SM in response to dietary CLA. CLA isomers were only found in pigs fed the experimental diet and, among CLA, the 9c, 11t CLA isomer exhibited the highest deposition. In conclusion, the dietary CLA seemed to affect lipid metabolism and the composition and quality of fat depots in pigs without affecting the percentage of intramuscular fat.

INTRODUCTION

D'après l'étude de Corino et al. (2005), l'incorporation d'acide linoléique conjugué (CLA) dans les régimes réduirait le gras total du porc, tout en augmentant le gras intramusculaire (GRIM) ce qui aurait un intérêt majeur pour la qualité de la carcasse et de la viande de porc. En fait le CLA correspond à un mélange de différents isomères de l'acide linoléique, lesquels semblent avoir des propriétés différentes. Le CLA entraînerait également une augmentation des acides gras saturés (AGS) aux dépens des mono-insaturés (AGMI) aussi bien dans le tissu adipeux (TA) que dans le GRIM par une inhibition de l'activité de l'enzyme stearoyl-CoA désaturase (Bee et al., 2008). Ainsi, on a décidé d'incorporer du CLA dans les régimes pour étudier ses effets sur la composition corporelle, la qualité de la viande et la composition en AG de certains tissus de l'animal.

1. MATERIEL ET METHODES

Seize cochettes croisées Landrace x Duroc d'environ 70 kg de poids vif (PV) sont logées individuellement et nourries *ad libitum* avec des régimes à base d'orge, manioc et tourteau de soja pendant 54 jours. Les animaux sont répartis au hasard entre le traitement témoin (T) contenant 4% d'huile de tournesol et le traitement avec 4% de l'huile contenant du CLA

(Loders Croklaan, Wormerveer, Netherlands), lequel contient environ 56% d'un mélange 50:50 des isomères *cis-9,trans-11* et *trans-10,cis-12*. Les porcs sont abattus à un PV de 115.1 ± 4.9 kg et des mesures de qualité de la carcasse et de la viande sont réalisées. Des échantillons de foie, des muscles *Longissimus lumborum* (LM) et *Semimembranosus* (SM) et du gras sous-cutané de bardière sont prélevés. Les lipides de ces tissus sont extraits au chloroforme-méthanol et la composition en acides gras (AG) déterminée par chromatographie en phase gazeuse. Toutes les données sont analysées statistiquement selon la procédure GLM de SAS® et les moyennes séparées par un test de Student-Newman-Keuls.

2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

L'utilisation du CLA n'entraîne aucune modification de la consommation alimentaire, de la vitesse de croissance, du poids de carcasse ou du contenu en GRIM du LM (Tableau 1). Les épaisseurs de gras tendent à diminuer et la TVM à augmenter (P<0,15). Le poids du foie augmente tandis que celui du gras périrénal diminue (P<0,01); une tendance de diminution du poids de la bardière ou de la poitrine s'observe également (P<0,15) avec le CLA. Les résultats sur les performances ou le GRIM sont en désaccord tandis que ceux sur le TA sous-cutané confirmeraient les conclusions de l'étude

de Corino *et al.* (2005). La teneur en lipides du TA sous-cutané diminue (P<0,01) avec le CLA mais pas celle des autres tissus (Tableau 2). Concernant la composition en AG, le tissu, le régime ou l'interaction tissu X régime affectent chacun des AG considérés (P<0,001). Le CLA entraîne une augmentation du taux des AGS, l'acide palmitique en particulier dans tous les tissus (P<0,001). Cet effet ne s'observe pas sur l'acide stéarique dans les muscles.

Tableau 1 - Influence du CLA des régimes de finition sur les performances et la qualité des carcasses des porcs⁽¹⁾

	Rég	imes	Stati	stique
	Т	CLA	Rég.	ETR
Consommation				
Alimentaire, kg/j	3,16	3,20	NS	0,262
Gain moyen				
quotidien, kg	0,82	0,82	NS	0,063
Poids de carcasse,				
kg	93,5	95,2	NS	4,16
Gras 1, mm ⁽²⁾	31,1	26,6	0,07	4,45
Gras 2, mm ⁽²⁾	24,1	21,3	0,15	3,59
TVM, % ⁽²⁾	47,9	50,4	0,14	3,22
GRIM LM, % ⁽¹⁾	2,11	1,93	NS	0,47
Foie, kg	1,55	1,72	*	0,13
Gras périrénal, kg	0,94	0,74	**	0,14
Bardière, kg	3,26	2,94	0,15	0,41
Poitrine, kg	7,86	7,45	0,08	0,44

⁽¹⁾ T: témoin; CLA: acide linoléique conjugué; ETR: écart type résiduel; GRIM: gras intramusculaire du LM.

Les teneurs en acide oléique et AGMI diminuent avec l'inclusion du CLA (P<0,001) dans le TA sous-cutané et le muscle LM mais pas dans le SM ou le foie. A l'exception du muscle LM, les AGPI et plus particulièrement l'acide linoléique sont plus élevés dans les tissus des animaux témoins (P<0,001), en relation avec l'incorporation d'huile de tournesol. Néanmoins, la diminution des AGPI dans le TA sous-cutané est importante et doit être en relation avec le CLA. Dans le TA sous-cutané et les muscles des animaux nourris au CLA on retrouve beaucoup plus d'isomères CLA que dans ceux des témoins (P<0,001). Parmi les 2 isomères du régime, le *cis-9,trans-11* s'accumule plus dans les tissus que le *trans-10,cis-12*, en accord avec Bee *et al.* (2008). On observe également une importante accumulation d'autres isomères d'acide linoléique dans les tissus des animaux nourris avec le CLA.

CONCLUSION

L'incorporation de CLA dans les régimes du porc en finition entraîne une réduction du contenu en lipides du TA souscutané et du poids de gras périrénal mais n'a aucune influence sur le GRIM. La composition en AG de tous les tissus est très fortement affectée par le CLA. Outre l'accumulation des isomères de CLA, celui-ci entraînerait une augmentation des AGS et une diminution des AGMI. Cependant, vu les résultats sur les AGPI il semblerait que le CLA pourrait affecter différemment le métabolisme des lipides selon le tissu, voire même entre différents muscles.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient l'INIA pour l'attribution de la bourse d'études de Núria Tous et la société Molimen (S.Cugat del Vallés, Espagne) pour la fourniture du CLA. Cette étude se déroule dans le cadre du projet MICINN – AGL2007-65898-CO2-02 (IP: E.Esteve-García).

Tableau 2 - Influence du CLA dans les régimes sur la composition en AG de certains tissus des porcs abattus à 115 kg PV (1)

	TA Sous-	TA Sous-cutané		Longissimus lumborum		Semimembranosus		Foie		que
	Témoin	CLA	Témoin	CLA	Témoin	CLA	Témoin	CLA	Effets	ETR
Lipides, %	74,3 ^a	68,4 ^b	2,06 ^d	1,95 ^d	2,07 ^d	2,02 ^d	3,44 ^c	3,47 ^c	T, T*R	0,92
C16:0	21,2 ^b	25,1 ^a	21,7 ^b	23,4 ^a	20,0 ^c	23,6°	12,7 ^e	14,2 ^d	T, R, T*R	1,39
C18:0	13,0 ^d	17,1 ^c	11,2 ^e	11,0 ^e	10,3 ^e	11,6 ^e	25,9 ^b	28,0 ^a	T, R, T*R	1,73
C18:1 n-9	36,0 ^a	28,0°	33,8 ^{ab}	25,9 ^d	32,9 ^{ab}	31,2 ^{bc}	11,4 ^e	9,6 ^e	T, R, T*R	3,08
C18:2 n-6	19,5 ^{abc}	10,9 ^e	16,3 ^{bc}	15,5 ^{cd}	18,7 ^{ab}	13,0 ^{de}	20,2 ^a	17,2 ^{bc}	T, R, T*R	2,86
C20:4 n-6	0,44 ^e	0,35 ^e	3,63 ^{cd}	4,00°	4,24 ^c	2,97 ^d	19,4ª	13,7 ^b	T, R, T*R	1,30
c9,t11 CLA ⁽²⁾	0,48	3,10	0,00	1,31	0,01	0,80	0,03	1,42	T, R, T*R	0,56
t10,c12 CLA ⁽²⁾	0,33	2,00	0,00	0,62	0,00	0,43	0,02	0,64	T, R, T*R	0,32
AGS ⁽³⁾	36,8 ^{bc}	48,8 ^a	34,9 ^d	37,1 ^{cd}	32,1 ^e	38,7 ^{bc}	40,5 ^b	46,8ª	T, R, T*R	2,89
AGMI ⁽³⁾	40,7 ^{ab}	33,5 ^b	42,3 ^a	36,6 ^b	41,4 ^a	41,2 ^a	14,5°	14,6°	T, R, T*R	3,27
AGPI ⁽³⁾	21,7 ^{cd}	12,8 ^e	22,5 ^d	22,8 ^{cd}	26,2 ^c	18,7 ^d	44,7 ^a	35,6 ^b	T, R, T*R	3,17
CLA (3)	1,00 ^d	7,71 ^a	0,00 ^e	3,24 ^{bc}	0,12 ^d	2,12 ^{cd}	0,08 ^d	4,14 ^b	T, R, T*R	1,16

⁽¹⁾ CLA: acide linoléique conjugué; ETR: écart type résiduel du modèle; T: effet tissu; R: effet régime; T*R: interaction tissu X régime; Les moyennes suivies d'une lettre sont significativement différentes à P<0,001.</p>

- Bee G., Jacot S., Guex G., Biolley C., 2008. Effects of two supplementation levels of linseed combined with CLA or tallow on meat quality traits and fatty acid profile of adipose and different muscle tissues in slaughter pigs. Animal, 2, 800-811.
- Corino C., Pastorelli G., Rossi R., Musella M., Mourot J., 2005. L'acide linoléique conjugué (ALC ou CLA) en nutrition porcine. Journées Rech. Porcine, 37, 217-223.

 $^{^{(2)}}$ Gras 1, Gras 2 : épaisseurs de gras entre les $3^{\rm ème}$ et $4^{\rm ème}$ vertèbres lombaires et $3^{\rm ème}$ et $4^{\rm ème}$ dernières côtes; TVM: taux de viande maigre déterminé d'après l'équation : TVM=61,56-0,878 Gras1+0,156 Longe.

⁽²⁾ Isomères de l'acide linoléique(LA) incorporés dans le régime CLA.

AGS, AGMI, AGPI : acides gras saturés, mono-insaturés et poli-insaturés moins la somme des différents isomères de l'acide linoléique (CLA).

Analyse rapide par spectroscopie proche infrarouge des acides gras des tissus adipeux du porc charcutier

Guillaume CHESNEAU (1), Jacques MOUROT (2), Philippe DOUZENEL (3), Elodie LAHAYE (3), Guillaume MAIRESSE (1), Olivier SIRE (3)

(1) Valorex, La Messayais, 35210 Combourtillé, France
(2) INRA, UMR 1079 SENAH, 35590 Saint-Gilles, France
(3) Université de Bretagne Sud, LIMATB, Campus de Tohannic, 56000 Vannes, France

g.chesneau@valorex.com

Rapid Analysis of Fatty Acids in Pork Fat using Near Infrared Reflectance Spectroscopy

To accelerate the development of strategies to improve the nutritional quality of pork meat trough n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) enrichment and the ability to follow, control and certify this nutritional quality demand a simple, quick and inexpensive tool for determining fatty acid profile. The feasibility of using near-infrared spectroscopy (NIR) for the prediction of the fatty acid profile in pork fat was tested. Forty (40) pigs were fed two different diets; 8 pigs were fed a control diet (commercial diet, 4% lipids) and 32 pigs were fed a n-3 PUFA enriched diet (extruded linseed supplementation at a 6% level) from 50 kg through to 110 kg BW. Different fat tissues were collected from different carcass sites. Fatty acid compositions were obtained using Gas Chromatography (conventional method) and infrared spectra using different market NIR Spectrometers. The regression method employed was Partial Least Squares (PLS). The best calibration results were found using spectrometers with no remote probe. They allowed the determination of saturated, mono, poly-unsaturated fatty acids with reasonable accuracy, regardless of fat tissue site. The content of n-3 PUFA in backfat was highly predictable (r²=0.92, RMSEP=0.3) with NIR technology as C22:5n-3 compared to the other long-chain n-3 PUFA. The use of a fiber-optic probe in the assessment of infrared spectra could impair the prediction of saturated fatty acids (SFA) even if the quality of prediction of fatty acids of interest, such as C18:3n-3 (r²=0.91, RMSEP=0.6), total monounsaturated (r²=0.86, RMSEP=1.2) and poly-unsaturated (r²=0.94, RMSEP=1.0) fatty acids, was good.

INTRODUCTION

La Spectroscopie Proche Infra-Rouge (Near InfraRed Reflectance Spectroscopy, NIR) est une technique analytique permettant des analyses multicomposantes simultanées. Elle est utilisée actuellement dans de nombreux domaines d'application (production végétale, alimentation animale, agroalimentaire, pharmacie, pétrochimie, etc...) et notamment dans l'acquisition de critères de qualité des viandes tels que la composition chimique (lipides, humidité,...) et les paramètres technologiques (pH, perte en eau,...) (Prieto et al., 2009). Elle a l'avantage d'être rapide, précise, non invasive et nécessite par ailleurs peu voire aucune préparation des échantillons, contrairement aux méthodes conventionnelles. La méthode conventionnelle pour la détermination du profil en acides gras de la viande consiste en l'extraction des lipides des tissus, suivie d'une méthylation des acides gras et enfin de la quantification des esters méthyliques d'acides gras par Chromatographie en Phase Gazeuse. Pour accélérer le développement de la production de viande à valeur nutritionnelle améliorée notamment par leur composition en acides gras polyinsaturés, AGPI n-3) et mettre en place, suivre et contrôler cette qualité de façon rapide, fiable et à moindre coût, la faisabilité analytique d'une détermination des acides gras des tissus adipeux du porc par spectroscopie proche

infrarouge a été testée. En effet, dans une stratégie d'amélioration du profil nutritionnel de la viande de porc via l'apport d'AGPIn-3, aucune étude n'a encore permis de mettre en évidence une prédiction fiable des teneurs de ces acides gras par Spectroscopie Proche Infrarouge.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental et analyses de référence.

Afin d'accroitre la variabilité des profils en acides gras des tissus, l'analyse a porté sur des porcs recevant un régime commercial standard (lipides = 4% lipides) ou un régime enrichi en AGPIn-3 par l'ajout de 6% de graines de lin extrudées de même valeur énergétique brute. Quarante porcs charcutiers (50 kg) ont été mis en production. Trente-deux porcs ont reçu l'aliment enrichi en AGPI n-3 et 8 autres l'aliment standard. Les deux aliments sont iso-énergie brute. Les porcs ont été abattus à un poids d'environ 110 kg et les tissus adipeux ont été prélevés et congelés, dans l'attente des analyses. Sept tissus adipeux ont été testés : couche inférieure et supérieure de la bardière, mouille, panne, gras de jambon externe, gras de gorge et gras du cou. Le profil en acides gras de ces échantillons a été déterminé par Chromatographie en Phase Gazeuse après extraction des lipides et méthylation.

1.2. Analyses NIR

Les spectres infrarouges ont été acquis au laboratoire, en duplicat sur des tissus non broyés avec six appareillages commerciaux. Ces appareils diffèrent par le mode d'acquisition des spectres (par transmission ou par réflexion), mais également par la présence ou non d'une sonde équipée d'une fibre optique et permettant une mesure déportée.

1.3. Analyses statistiques

Le développement des modèles de calibration a été réalisé à l'aide du logiciel Unscrambler selon la méthode de Régression des Moindres Carrés Partiels (PLS1) sur l'ensemble des tissus. Afin d'améliorer la linéarité entre l'absorbance et les concentrations en acides gras, une correction de diffusion (MSC, Multiplicative Scatter Correction) a été utilisée comme pré-traitement mathématique des spectres. L'évaluation des modèles de prédiction a été réalisée par validation croisée. L'évaluation de la qualité des prédictions est effectuée à partir du coefficient de corrélation de la régression (R²) et du RMSEP (erreur quadratique moyenne de la prédiction).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats ne seront présentés que pour un seul tissu (couche externe de la bardière) dans la mesure où le choix du tissu adipeux affecte peu la qualité des calibrations. En outre seuls seront présentés les résultats obtenus sur 2 appareils de mesure en réflexion (gamme spectrale de 500 à 2500nm), l'un équipé d'une sonde déportée et l'autre sans sonde, sachant que le mode d'acquisition des spectres n'a pas d'effet sur la qualité des calibrations.

Globalement, le mode d'acquisition des spectres par sonde déportée induit une baisse dans la qualité des prédictions pour certains acides gras, comme les acides gras saturés et ce quel que soit l'appareil utilisé.

Nos résultats indiquent qu'il est possible de déterminer le profil en acides gras des tissus gras de porc par l'utilisation de spectromètres infrarouges, notamment pour les principales familles d'acides gras (acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés n-3 et n-6) (Tableau 1).

Ces résultats sont conformes à de précédentes études (Perez-Marin *et al.*, 2009).

Tableau 1 - Prédiction du profil en acides gras de la couche supérieure de la bardière à partir de son spectre infrarouge.

				Avec sonde déportée		Sans sonde déportée	
Acides gras (% des acides gras totaux)	Moyenne	Ecart-type	Min-Max	R²	RMSEP	R ²	RMSEP
AGS	35,74	2,06	30,72-39,56	0,48	1,52	0,91	0,62
AGMI	41,95	3,35	36,32-49,39	0,86	1,19	0,97	0,58
AGPI	22,31	4,03	14,34-29,67	0,94	1,00	0,94	1,00
AGPIn-6	14,81	2,09	11,94-19,05	0,78	0,92	0,85	0,81
C18:2n-6	14,37	2,04	11,39-18,55	0,79	0,88	0,93	0,54
AGPIn-3	6,75	2,48	1,80-9,87	0,94	0,58	0,95	0,51
C18:3n-3 (ALA)	5,22	2,06	1,16-7,89	0,91	0,45	0,97	0,34
C20:5n-3 (EPA)	0,12	0,04	0,03-0,23	0,51	0,03	0,47	0,03
C22:5n-3 (DPA)	0,22	0,07	0,09-0,33	0,85	0,03	0,90	0,02
C22:6n-3 (DHA)	0,04	0,02	0,00-0,08	0,47	0,01	0,81	0,01

AGS = Acides gras saturés ; AGMI = Acides gras monoinsaturés, AGPI = Acides gras polyinsaturés

Cependant, contrairement aux travaux réalisés par Gonzales-Martin *et al.* (2003), nos résultats montrent qu'il est possible de prédire de manière fiable les teneurs en AGPIn-3 et notamment en C18:3n-3. Cette différence est probablement liée à la gamme de variation plus grande des teneurs en C18:3n-3 de notre étude (moyenne = 5,22% des acides gras totaux, min. =1,16%, max.=7,89%, pour la bardière) par rapport à celle utilisée par Gonzales-Martin *et al.* (2003) (moyenne = 1,38%, min. = 0,13%, max.=1,14%). Concernant les AGPIn-3 à longues chaînes, la qualité des prédictions des teneurs en EPA (r^2 =0,51, RSME = 0,03) et en DHA (r^2 =0,47, RMSE=0,01) est insuffisante. Néanmoins, il parait possible de prédire certains acides gras quantitativement minoritaires comme le DPA.

CONCLUSION

Les premiers résultats de cette étude, bien qu'obtenus sur une base de données restreinte, montrent la faisabilité d'une prédiction des acides gras des tissus adipeux du porc par Spectroscopie Proche Infrarouge.

Des travaux sont actuellement en cours afin d'élargir la base de données et accroitre la robustesse et la fiabilité des calibrations.

A terme, la filière porcine devrait pouvoir se doter d'une telle technologie pour la mesure in situ et en temps réel de la composition en acides gras.

- Prieto N, Roehe R., Lavin P., Batten G., Andrés S., 2009. Application of near infrared reflectance spectroscopy to predict meat and meat products quality: a review. Meat Sci., 83, 175-186.
- Perez-Marin D., De Pedro Sanz E., Guerrero-Ginel J.E., Garrido-Varo A., 2009. A feasibility study on the use of near-infrared spectroscopy for prediction of the fatty acid profile in live Iberian pigs and carcasses. Meat Sci., 83, 627-633.
- Gonzales-Martin I., Gonzales-Perez C., Hernandez-Mendez J., Alvarez-Garcia N., 2003. Determination of fatty acids in the subcutaneous fat of Iberian breed swine by near infrared spectroscopy (NIRS) with fibre-optic probe. Meat Sci. 65, 713-719.

Effet de la durée d'incorporation d'antioxydants végétaux dans un régime alimentaire riche en acides gras n-3 sur la peroxydation des lipides dans le tissu adipeux et les produits transformés de porc

Jacques MOUROT (1), Marisela ARTURO-SCHAAN (2, Martine FILLAUT (1), Gwenola ROBIN (1), Roland FORET(2)

(1) INRA, UMR 1079 SENAH, 35590 Saint Gilles, France
(2) Groupe CCPA, 35150 Janzé, France
Jacques.Mourot@rennes.inra.fr

Influence of plant antioxidant inclusion length in a pig diet supplemented with n-3 fatty acid on lipid peroxidation in pork and pork products.

The improvement in the nutritional quality of pork and pork products due to n-3 fatty acid (FA) incorporation in pig diets is an emerging strategy. Therefore, it is important to protect these fatty acids from peroxidation to preserve the sensory properties of these products. The addition of vitamin E to feed has already proven its value but also has some limitations. It is possible to extend the vitamin E action by adding plant antioxidants (PA) to the feed. The goal of this study was to investigate the effects of the length of time these PA are incorporated into a pig diet supplemented with n-3 fatty acids on the fat tissue composition and the preservation of these fatty acids in manufactured dry sausages. Over a period of 2 months, three groups of 8 pigs received the same diet enriched in n-3 FA. The control diet did not contain any PA in the feed. The second diet contained PA from the beginning through to the end of the study. In the last diet, PA was added to the feed 10 days before slaughter. Fatty acids were analysed on adipose tissue sampled at slaughter and on dry sausage manufactured from the meat of these animals. Lipoperoxidation potential (MDA) was measured in the dry sausages. The results showed that the n-3 FA percentage was higher for pigs receiving PA for 10 days pre-slaughter. Moreover, in the dry sausages the MDA was significantly lower in the PA supplemented groups compared to the control group (p<0,01).

INTRODUCTION

L'incorporation de graines lin, source d'acides gras n-3 (AG n-3), dans l'aliment du porc permet d'augmenter notablement la teneur en AG n-3 de la viande et des produits (Guillevic et al. 2009) et d'améliorer ainsi leur valeur nutritionnelle (Mourot, 2010). Ces acides gras sont toutefois susceptibles de présenter un risque accru de peroxydation qui peut altérer les qualités sensorielles, en particulier lors de la fabrication de produits secs (Musella et al. 2009). L'ajout de vitamine E et d'antioxydants végétaux (AOV) dans l'aliment permet de réduire fortement la peroxydation des AG et de conserver les qualités sensorielles des produits secs enrichis en AG n-3 (Mairesse et al. 2010). Les AOV (très souvent des polyphénols) permettent de régénérer l'action de la vitamine E.

Si, chez les ruminants, ils semblent présenter un intérêt in vivo vis-à-vis de la santé animale ainsi que, post-mortem, pour la préservation de l'oxydation des acides gras, chez le porc l'action semble principalement post-mortem (rapport ANR LIPIVIMUS, 2010).

De ce fait, on peut se poser la question de savoir si les AOV doivent être introduits dans l'aliment en même temps que l'enrichissement en AG n-3 ou si une période d'incorporation plus courte peut aussi permettre de préserver efficacement les AG n-3 lors de la transformation.

1. MATERIEL ET METHODES

24 porcs mâles castrés, répartis en 3 lots de 8, ont reçu à partir de 50 kg de poids vif et pendant 2 mois un régime identique enrichi en AG n-3 via l'introduction de graines de lin extrudées (Tradi-Lin®). La teneur globale en lipide était de 3,6 %, apportant 7,5 g de C18:3 n-3 (ALA) et 80 mg de vitamine E/kg d'aliment. Un lot a reçu ce régime sans apport d'AOV (lot AOVO). Un autre lot a reçu ce régime supplémenté avec des AOV (2 g/kg d'aliment; lot AOV2). Le dernier lot a reçu le régime AOV0 pendant 50 jours puis un régime contenant des AOV (4 g/kg) les 10 jours précédant l'abattage (lot AOV4). Les animaux étaient élevés en loge individuelle et recevaient une alimentation ad libitum avec un relevé des consommations et une pesée chaque semaine. A l'abattage, un échantillon de tissu adipeux (TA) du dos a été prélevé pour détermination des lipides totaux et analyses des acides gras par chromatographie en phase gazeuse. Des saucissons ont été fabriqués à partir de la viande de ces animaux (Plate forme de la Lande du Breuil, 35000 Rennes). Des prélèvements ont été réalisés lors de la fabrication au jour JO puis toutes les 2 semaines. Le séchage a duré 12 semaines. Le profil en acides gras a été réalisé ainsi que la mesure du MDA (malondialdéhyde, indicateur de la peroxydation des AG) par HPLC selon le protocole rapporté par Mairesse et al. (2010).

Les résultats ont été testés par analyse globale de variance avec l'effet régime comme facteur principal, puis les moyennes ont été comparées deux à deux par le test de Bonferonni.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Composition en acides gras

La consommation alimentaire et les performances de croissance des porcs sont identiques entre les régimes (GMQ de 1,06; 1,02 et 1,03 kg respectivement pour AOV0, AOV2 et AOV4). La teneur en lipides totaux du TA du dos est de 66 % pour les lots AOV0 et AOV2 et de 70 % pour AOV4 (NS). La composition en AG du TA du dos (tableau 1) montre un pourcentage en AGPI et en AG n-3 supérieur dans le lot AOV4 (p<0,01), ainsi que des teneurs supérieures en C18:3 n-3 (ALA, p<0,001) et les dérivés à longue chaine C22:5 n-3 (DPA, p<0,05) et C22:6 n-3 (DHA, p<0,001), comparativement aux lots AOV0 et AOV2.

Tableau 1 - Effet des régimes sur la composition en acides gras du TA du dos (en % des AG identifiés)

lot	AOV0	AOV2	AOV4	rsd	effet
AGS	39,9	39,0	38,9	1,5	NS
AGM	39,0a	40,0ab	37,5b	1,8	P<0,04
AGPI	21,0a	21,0a	23,6b	1,9	p<0,01
C18:2 n-6	12,9a	12,9a	14,5a	1,2	p<0,02
C18:3 n-3	5,4a	5,5a	6,44b	0,52	p<0,001
C20:5 n-3	0,11	0,12	0,13	0,03	NS
C22:5 n-3	0,21a	0,24a	0,26a	0,03	p<0,05
C22:6 n-3	0,03a	0,03a	0,05b	0,01	p<0,001
n-3	7,03a	7,06a	8,09b	0,63	p<0,004
LA / ALA	2,37a	2,35a	2,24a	0,01	p<0,05

N=8 par lot. Les valeurs en ligne avec une lettre identique ne sont pas différentes au seuil de 5%

Tableau 2 - Effet des régimes sur la composition en acides gras du saucisson sec (en % des AG identifiés)

	AOV0	AOV2	AOV4	Rsd	effet
AGS	36,4	35,6	36,1	1,2	NS
AGM	39,0	38,5	37,1	1,8	NS
AGPI	24,6	25,9	26,8	2,8	NS
C18:2 n-6	10,5a	10,9a	12,1b	0,4	P<0,001
C18:3 n-3	4,17a	4,54b	5,01c	0 ,17	P<0,001
C20:5 n-3	0,94	1,38	0,89	0,48	NS
C22:5 n-3	0,26	0,29	0,30	0,04	NS
C22:6 n-3	0,03	0,02	0,04	0,02	NS
n-3	8,85	9,59	9,80	1,42	NS
LA/ALA	2,53a	2,39b	2,40b	0,03	P<0,001

N=6 par lot. Les valeurs en ligne avec une lettre identique ne sont pas différentes au seuil de 5%

Avant le séchage, la teneur en lipide de chaque mêlée était de 20%. En fin de séchage, ces teneurs sont de 39% pour le lot AOV0, 41% pour AOV2 et 43% pour AOV4, ces valeurs n'étant pas différentes entre elles en raison de fortes variations individuelles. La composition en AG du saucisson en fin de séchage (tableau 2) montre un pourcentage en C18:2 n-6 et en ALA supérieur dans le lot AOV4 (p<0,001). ALA est également différent entre AOV2 et AOV4. Les effets ne sont pas mis évidence pour les dérivés de ALA comme c'était le cas pour le TA.

2.2. Mesure du MDA dans le saucisson sec

La quantité de MDA (figure 1) retrouvée dans les saucissons est inférieure pour les lots recevant les AOV par rapport au lot sans AOV (p<0,01). La différence entre AOV4 et AOV2 n'est pas significative en raison des variations individuelles importantes entre les saucissons. La peroxydation est donc plus faible alors que le pourcentage d'AG n-3 est supérieur dans ce lot, ce qui confirme l'intérêt d'enrichir les régimes à teneur élevée en ALA avec des antioxydants (Mairesse et al. 2010).

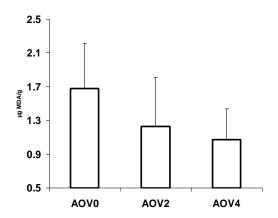


Figure 1 - Comparaison de la teneur en MDA (μg/g) dans les saucissons secs en fonction de l'origine des régimes.

CONCLUSION

Cette étude confirme l'efficacité des antioxydants végétaux ajoutés à l'aliment pour protéger la viande et les produits transformés de la peroxydation des AGPI, en particulier ceux de la famille n-3. Un apport limité dans le temps de ces AOV semble avoir un effet similaire à celui d'un apport en continu à l'introduction des AG n-3. Ces premiers résultats seront à confirmer par d'autres études, mais un apport durant une période raccourcie pourrait présenter un avantage économique dans le coût de l'aliment.

- Guillevic M., Kouba M., Mourot J. 2009. Effect of a linseed diet on lipid composition, lipid peroxidation and consumers evaluation of fresh meat and French cooked pork meats. Meat Sci., 81, 612-618.
- Mairesse G., Benet M., Meteau K., Juin H., Durand D., Mourot J. 2010. L'ajout d'antioxydants végétaux dans l'alimentation des porcs permet-il de limiter la péroxydation des viandes enrichies en acides gras poly-insaturés n-3 ? Journées Rech. Porcine, 42, 197-203.
- Mourot J. 2010 Modification des pratiques d'élevage : conséquences pour la viande de porc. Cah Nut Diet, 45, 320-326.
- Musella M., Cannata S., Rossi R., Mourot J., Baldini P, Corino C. 2009. Influence of n-3 PUFA from extruded linseed on fresh and dry-cured ham quality of slaughtered pigs at 160 kg liveweight: n-3 PUFA from extruded linseed influences fatty acid composition and sensory characteristics of dry-cured ham from heavy pigs. J. Anim. Sci., 87, 3578-3588.

Acceptabilité par le consommateur de jambon sec issu de porcs mâles entiers, de femelles ou de mâles castrés

Patrick CHEVILLON (1), Pierre LE STRAT (2), Jean Luc VENDEUVRE (2), Eric GAULT (1), Thierry LHOMMEAU (1),
Michel BONNEAU (3), Jacques MOUROT (3)

(1) IFIP, La Motte au Vicomte, 35651 Le Rheu, France
 (2) IFIP, 7 avenue du Général de Gaulle, 94704 Maisons-Alfort, France
 (3) INRA, UMR 1079 SENAH, 35590 Saint Gilles, France

patrick.chevillon@ifip.asso.fr

Consumer acceptability of dry-cured hams from entire male pigs, gilts or barrows

The aim of this study was to assess the consumer acceptability of hams dry-cured for more than seven months, processed from barrows, gilts or two groups of entire males exhibiting skatole levels lower than 0.11 μ g/g of pure fat and androstenone levels ranging from 0.5 to 0.7 μ g/g (group 1A) or from 1.5 to 2.3 μ g/g (group 1B). The subset of 40 hams included in this study was selected from a larger population, and chosen for their higher carcass weight and backfat thickness.

The yields of dry-cured hams from entire males were 3.3% and 2.2% lower compared to barrows and gilts, respectively.

Consumer acceptability of dry-cured hams did not differ significantly between barrows, gilts and the two groups of entire males. However, consumer acceptability of dry-cured hams processed from entire males with higher androstenone and/or skatole levels remains to be investigated.

The levels of boar taint compounds seemed to be slightly reduced after processing.

Regarding fatty acid composition of the dry-cured hams, there were few differences between groups. The levels of polyunsaturated fatty acids (PUFA) tended to be higher in the dry-cured ham fat of entire males as compared to gilts and barrows.

INTRODUCTION

La production de mâles entiers semble être vouée à s'intensifier en Europe sous la pression d'associations militantes pour le bien être animal mais également pour des raisons économiques et environnementales, les mâles entiers ayant une meilleure efficacité alimentaire (Quiniou *et al,* 2010).

Cette étude a pour principal objet d'évaluer l'acceptabilité par le consommateur de jambons secs de qualité supérieure (plus de 7 mois de sèche) issus de mâles entiers caractérisés par leur niveaux en composés malodorants (scatol et androsténone) par comparaison à des femelles ou des mâles castrés issus du même élevage.

Les rendements de fabrication, l'évolution des composés malodorants en cours de transformation ainsi que les profils d'acides gras sur le produit final, ont été établis selon le genre sexuel.

1. MATERIEL ET METHODES

Un total de 20 mâles entiers, 10 femelles et 10 mâles castrés ont été retenus parmi 160 porcs de l'élevage expérimental de Romillé (truies LW*LR, verrats LW*P, 155 jours d'âge). Les critères de tri des 40 animaux retenus pour la transformation, en jambon sec ont été les poids de carcasses et les épaisseurs de lard G2 les plus élevés.

Des mesures des composés malodorants (androsténone et scatol) dans le gras, ont été réalisées sur le gras des 20 jambons de mâles entiers et ont été reconduites sur une sélection de 10 jambons secs de mâles entiers après 8 mois de séchage (5 jambons dont les valeurs initiales étaient faibles et 5 jambons dont les valeurs initiales étaient élevées).

102 consommateurs (56 % de femmes et 44 % d'hommes, TEST consommateur réalisé à A.BIO.C) ont dégusté 4 lots de 5 jambons secs sélectionnés parmi les 40 disponibles selon le genre sexuel et les teneurs en composés malodorants pour les 2 lots sélectionnés de mâles entiers (LOT 1A et 1B de mâles entiers, LOT 2 de femelles et LOT 3 de mâles castrés).

Le lot 1A de mâles entiers se caractérise par des valeurs plutôt faibles en androsténone (comprises entre 0,5 et 0,7 μ g/g de gras pur des jambons bruts) et assez faibles en scatol (0,09 μ g/g de gras pur ou moins).

Le lot 1B de mâles entiers se caractérise par des valeurs élevées en androsténone (comprises entre 1,5 et 2,3 μ g/g de gras pur, Graphique 1) mais assez faibles en scatol et équivalentes au lot 1A.

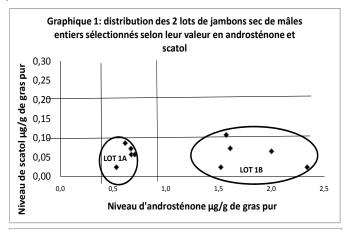
2. RESULTATS

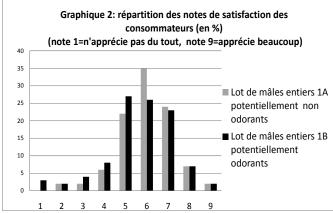
Lors du séchage, le rendement de séchage final du lot de jambons de mâles entiers est inférieur de 3,3 points % par rapport au lot de jambons de mâles castrés et inférieur de 2,2 points % par rapport au lot de jambons de femelles.

L'impact économique est donc considérable sur des produits sel sec de qualité obtenus après plus de 7 mois de sèche.

L'épaisseur de lard plus faible des jambons de mâles entiers lors de la mise au sel semble être le principal critère explicatif du rendement de séchage (corrélation de 0.61).

Pour la production de jambons secs de qualité provenant de mâles entiers, il serait indispensable d'adapter le mode d'alimentation des animaux et la génétique de façon à produire des mâles avec davantage de gras de couverture du jambon.





Les résultats des dégustations organisées en laboratoire d'analyse sensorielle (A.BIO.C) ne mettent pas significativement en évidence un refus catégorique par les consommateurs des jambons secs de mâles entiers (Lot 1B et 1A) par rapport aux femelles et mâles castrés, dans la catégorie de risque d'odeur testée (moyenne de 2 µg d'androsténone par g de gras pur et moins de 0,20 µg de scatol par g de gras pur).

A l'inverse, Banon *et al* (2003) avaient montré des différences d'appréciation à partir de 2 µg/g en androsténone.

La distribution des notes de satisfaction (score de 1 à 9) est légèrement moins favorable pour le lot 1B de mâles entiers potentiellement le plus odorant (Graphique 2).

Les limites maximales en scatol et androsténone du gras du jambon frais des mâles entiers, au-delà desquelles l'acceptabilité des produits est affectée, nécessitent d'être établies.

Il serait pertinent de tester le jambon sec de mâles entiers avec un outil de mesure étalonné, c'est-à-dire un jury entrainé dont la perception et la sensibilité au scatol et à l'androsténone est connue.

Le risque d'oxydation des gras potentiellement plus élevé des mâles entiers n'a pas été significativement établi dans cette étude contrairement à la bibliographie (Mourot et Lebret, 2009).

Au travers de l'étude conduite, il semble que l'on puisse observer une légère réduction des composés malodorants lors du procédé de transformation en jambon sec, liée à une réduction en particulier du composé androsténone.

Pour le scatol il est difficile de conclure sur une éventuelle réduction lors du procédé sel sec, les valeurs initiales en scatol des jambons de l'étude étant basses.

CONCLUSIONS

Le risque d'insatisfaction du consommateur de jambons secs issus de mâles entiers n'a pas été mis en évidence dans cette étude, dans la limite en composés odorants mesurés dans le gras de 2 μ g/g de gras pur en androsténone et moins de 0,10 μ g/g en scatol.

Quelques tendances observées et la bibliographie nous conduisent à la prudence, et incitent à conduire des études complémentaires sur jambons bruts potentiellement plus odorants (teneurs en androsténone et/ou en scatol plus élevées) que l'échantillon testé.

Afin de limiter la perte de rendement significative de séchage ainsi que le risque d'oxydation potentiellement plus élevé des acides gras polyinsaturés (AGPI) des mâles entiers, il semblerait intéressant de tester des types génétiques conduisant à des épaisseurs de lard plus élevées et/ou de veiller à l'alimentation des porcs mâles entiers, en particulier, la teneur de l'aliment en acides gras polyinsaturés.

Cependant cela resterait une piste de travail toute relative car le phénomène collatéral de cette application (élever des porcs entiers plus gras) serait vraisemblablement d'accentuer justement le taux de scatol et androsténone et donc probablement l'apparition des défauts sensoriels sur ces jambons, condition qui serait de nouveau à valider par rapport aux qualités de jambons de porcs castrés existantes.

REMERCIEMENTS

Aux personnels de l'Abattoir et de la Salaison, les laboratoires INRA et AGROSCOPE ayant participé à ce programme de recherche appliquée financé par INAPORC.

- Banon S., Gil M.D., Garrido M.D., 2003. The effects of castration on the eating quality of dry-cured ham. Meat Science 65, 1031-1037.
- Quiniou N., Courboulay V., Salaün Y., Chevillon P., 2010. Conséquences de la non castration des porcs mâles sur les performances de croissance et le comportement: comparaison avec les mâles castrés et les femelles. JRP 2010.
- Mourot J., Lebret B. 2009. Modulation de la qualité de la viande de porc par l'alimentation. INRA Prod Anim, 22, 33-40.

Paramètres génétiques et effet du génotype halothane pour la consommation moyenne journalière résiduelle chez le porc Piétrain en croissance

Romain SAINTILAN (1,2), Isabelle MEROUR (3), Sandrine SCHWOB (3), Joël BIDANEL (3), Pierre SELLIER (1,2), Hélène GILBERT (1,2)

> (1) INRA, UMR1313, GABI, F-78350 Jouy-en-Josas (2) AgroParisTech, UMR1313, GABI, F-75231 Paris 05 (3) IFIP-Institut du porc, F-35651 Le Rheu

> > romain.saintilan@jouy.inra.fr

Genetic parameters and halothane genotype effect of residual feed intake in Piétrain growing pigs

Data from the French national genetic evaluation program were used, which included a subset on the Piétrain breed in which the halothane allele (n) was known to be segregating. A total of 2,312 Piétrain animals were tested between 2002 and 2009 in three central stations: 176 were homozygous halothane negative (NN), 470 were heterozygous (Nn) and 1666 were homozygous halothane positive (nn). Individual feed intake of animals raised in group pens (maximum 12 animals per pen), each equipped with a single-place electronic feeder, was recorded. The data set was used to estimate heritability (h^2) of residual feed intake (RFI) and growth, carcass and meat quality traits, as well as the genetic correlations between these traits, taking into account the effect of the halothane genotype. Variance and covariance components were estimated using REML methodology. RFI and food conversion ratio (FCR) appeared to be heritable traits ($h^2 = 0.40 \pm 0.06$ and 0.47 ± 0.07 , respectively) with a genetic correlation of 0.85 ± 0.04 between the two traits. Improving feed efficiency through selection for a lower RFI would improve FCR and reduce average daily feed intake (ADFI) with few impacts on growth, carcass and meat quality traits. Halothane genotype did not affect RFI but did affect FCR, possibly due to the compensation of the effects of halothane genotype on the traits used to compute RFI. Selection for lower RFI in the growing pig is not expected to change the frequency of the halothane genotypes in the Piétrain breed.

INTRODUCTION

L'objectif de cette étude est d'estimer les paramètres génétiques pour la consommation moyenne journalière résiduelle (CMJR) et les caractères de production majeurs mesurés en station de contrôle de performances chez le Piétrain en croissance, et de quantifier les effets du génotype halothane sur ces caractères. La consommation moyenne journalière résiduelle est la différence entre consommation moyenne journalière mesurée et consommation moyenne journalière prédite à partir des besoins de production et d'entretien de l'animal (Kennedy et al., 1993). La CMJR est une alternative pour mesurer l'efficacité alimentaire habituellement estimée par l'indice de consommation (IC).

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Données

Entre 2002 et 2009, 2312 femelles Piétrain de race pure ont été contrôlées dans les trois stations publiques de contrôle de performances durant la période de croissance (de 35 kg à 107 kg de poids vif en moyenne).

Le génotype halothane - NN (176 animaux, 7,6 %), Nn (470, 20,3%) et nn (1666, 72,1 %) - était déterminé à partir d'un test ADN, ou déduits à partir du génotype des parents.

La consommation moyenne journalière (CMJ), le gain moyen quotidien (GMQ) et l'indice de consommation (IC) ont été calculés. Les porcs ont été abattus dans deux abattoirs commerciaux (SOCOPA, Evron pour la station d'Argentré et COOPERL, Montfort-sur-Meu pour les stations du Rheu et de Mauron). Le rendement de carcasse (RDT), le taux de muscle des pièces (TMP) estimé d'après l'équation de (Daumas, 2008) et l'épaisseur de lard dorsal (LARD : moyenne de trois mesures à la fente au rein, au dos et au cou) ont été mesurés 24 h post mortem, ainsi que des caractères de qualité de la viande , le temps d'imbibition (IMB) et la clarté de la viande (L*) du muscle gluteus superficialis, le pH ultime (pHu) du muscle semimembranous. La combinaison de ces trois caractères (Gueblez et al., 1990) permet d'estimer un indice de qualité de la viande (IQV). Une transformation logarithmique de IMB a été appliquée pour normaliser la distribution : IMB*= Log (IMB + 1). La consommation moyenne journalière a été prédite par régression multiple de la CMJ sur les variables GMQ, LARD, TMP, RDT et poids métabolique moyen (estimé à l'aide de la formule décrite par Noblet et al. (1999)) (R2=78%), permettant d'estimer la CMJR comme le résidu de cette régression.

1.2. Analyses statistiques

Les paramètres génétiques ont été estimés par la méthode REML (Patterson et Thompson, 1971) utilisée par le logiciel WOMBAT (Meyer, 2006).

Un effet aléatoire de la portée de naissance a été inclus dans le modèle pour tous les caractères (1846 niveaux), et un effet aléatoire de la date d'abattage (279 niveaux) uniquement pour les caractères de qualité de la viande. Le génotype halothane de l'animal a été intégré en tant qu'effet fixe dans le modèle. Le fichier des pédigrées (6799 animaux) remonte à cinq générations d'ancêtres des animaux contrôlés. Les contrastes entre les moyennes par génotype halothane pour chacun des caractères ont été estimés à partir du logiciel PEST (Groeneveld et Kovac, 1990) appliqué à un modèle animal monocaractère en utilisant les estimées des composantes de variance obtenues avec WOMBAT.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Paramètres génétiques

L'héritabilité estimée pour la CMJR (0,40 ± 0,06, tableau 1) est dans la zone supérieure des valeurs rapportées dans la littérature (Hoque et Suzuki, 2009).

La CMJR est corrélée positivement, au niveau génétique, avec la CMJ (rg = + 0,49) et, de façon particulièrement marquée, avec l'IC (rg = + 0,85). Ces corrélations élevées ont également été reportées par Cai et al. (2008) et par Gilbert et al. (2007) en race Large White. Les corrélations génétiques entre les caractères de production et la CMJR sont proches de zéro pour le GMQ et le TMP, faiblement négative pour le LARD et faiblement positive pour le RDT. Les corrélations génétiques entre la CMJR et les paramètres de qualité de la viande sont

plus faibles que celles rapportées précédemment en race Large White (Gilbert *et al.,* 2007).

2.2. Effets du génotype halothane

Aucun effet significatif du génotype halothane n'a été mis en évidence pour la CMJR (tableau 1). Cette absence d'effet semble due à des effets opposés du génotype halothane sur les caractères servant à calculer la CMJR. Les animaux nn présentent des plus faibles CMJ et GMQ que les animaux Nn et NN (P < 0,001) mais il n'y a pas de différence significative entre les animaux Nn et NN pour ces deux caractères.

Les effets favorables, bien connus, de l'allèle de sensibilité à l'halothane sur le RDT, le LARD et le TMP sont confirmés dans notre étude, de même que les effets délétères de cet allèle sur les caractères de qualité de la viande, à l'exception du pH ultime.

CONCLUSION

La CMJR des animaux Piétrain en croissance est modérément héritable et n'est pas affectée par le génotype halothane de l'animal.

Une sélection pour améliorer l'efficacité alimentaire en se basant sur la CMJR n'affecterait pas la fréquence de l'allèle de sensibilité à l'halothane dans la population Piétrain alors qu'une sélection basée sur l'IC entraînerait une augmentation de la fréquence de cet allèle dans cette même population.

Tableau 1 - Héritabilités des caractères (h^2) et corrélations génétiques (r_g) avec la CMJR, écarts types phénotypiques (σ_p) et contrastes 2 à 2 entre les trois génotypes halothane (en unité du caractère).

Caractère	CMJR	CMJ	GMQ	IC	TMP	LARD	RDT	IMB*	L*	IQV	pΗ _u
	(g)	(g)	(g)	(kg / kg)	(%)	(mm)	(%)	Log (10sec+1)	(point)	(point)	(point)
h²	0,40	0,54	0,58	0,47	0,48	0,37	0,49	0,12	0,21	0,27	0,23
r _g		0,49	-0,06	0,85	0,01	-0,16	0,15	0,18	-0,31	0,16	0,08
σ_{p}	113	196	84	0,17	1,9	2,7	1,1	0,64	3,9	2,3	0,16
NN - nn	4	79***	9	0,08***	-2,2***	1,4***	-1,0***	0,86***	-2,4***	0,82***	-0,018
NN - Nn	3	4	-11	0,05**	-0,8***	0,3	-0,3**	0,53***	-0,2	0,33	-0,004
Nn - nn	1	75***	21***	0,03**	-1,5***	1,1***	-0,7***	0,33***	-2,2***	0,48***	-0,014†

 $Erreurs\ standards\ des\ h\'{e}ritabilit\'{e}s:0,04\ \grave{a}\ 0,07\ ;\ erreurs\ standards\ des\ corr\'{e}lations\ g\'{e}n\'{e}tiques:0,04\ \grave{a}\ 0,12,\ ***P<0,001\ ;\ *P<0,01\ ;\ *P<0,05\ ;\ †P<0,10\ ;\ *P<0,10\ ;\ *$

- Cai W., Casey D., Dekkers J., 2008. Selection response and genetic parameters for residual feed intake in yorkshire swine. J. Anim. Sci., 86, 287-298.
- Daumas G., 2008. Taux de muscle des pièces et appréciation de la composition corporelle des carcasses. Journées Rech. Porcine, 40, 61-68.
- Gilbert H., et al., 2007. Genetic parameters for residual feed intake in growing pigs, with emphasis on genetic relationships with carcass and meat quality traits. J. Anim. Sci. 85, 3182-3188.
- Groeneveld E., Kovac M., 1990. A generalized computing procedure for setting up and solving mixed linear models. Journal of Dairy Science, 73, 513-531.
- Gueblez R., le Maitre C., Jacquet B., Zert P., 1990. Nouvelles équations de prédiction du rendement technologique de la fabrication du "Jambon de paris". Journées Rech. Porcine, 22, 89-95.
- Hoque M. A., Suzuki K., 2009. Genetics of residual feed intake in cattle and pigs: A review. Asian-Australasian J. Anim. Sci., 22, 747-755.
- Kennedy B., van der Werf J., Meuwissen T., 1993. Genetic and statistical properties of residual feed intake. J. Anim. Sci., 71, 3239-3250.
- Meyer K., 2006. "Wombat" digging deep for quantitative genetic analyses by restricted maximum likelihood. Proceedings of the 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, 13-18 August, 2006, 27-14.
- Noblet J., Kareg C., Dubois S., van Milgen J., 1999. Metabolic utilization of energy and maintenance requirements in growing pigs: Effects of sex and genotype. J. Anim. Sci., 77, 1208-1216.
- Patterson, H. D., Thompson R., 1971. Recovery of inter-block information when block size are unequal. Biometrika, 58, 545-554.

Évaluation génétique pour la survie périnatale et la variabilité du poids à la naissance dans le Programme canadien pour l'amélioration génétique des porcs

Laurence MAIGNEL (1), Stefanie WYSS (1), Nicole DION (2), Murray DUGGAN (3), Brian SULLIVAN (1)

- (1) Centre Canadien pour l'Amélioration des Porcs, Ferme Expérimentale Centrale, Edifice #54, 960 avenue Carling, Ottawa, Ontario, K1A 0C6, Canada
 - (2) Sogéporc, La Coop fédérée, 2055, 5e rue, St-Romuald, Quebec, G6W 5M6, Canada
 - (3) Fast Genetics, #2-2175 Airport Drive, Saskatoon, Saskatchewan, S7L 7E1, Canada

laurence@ccsi.ca

Genetic evaluation for piglet perinatal survival and piglet birth weight variability in the Canadian Swine Improvement Program

Selection for increased litter size has been very efficient in the past 15 years in the Canadian dam line populations, mostly thanks to the use of BLUP selection on total number born. Other sow productivity traits such as perinatal piglet survival and individual birth weights have been collected and evaluated in recent years as a means to facilitate the selection of piglet survival from birth to weaning. Specific data adjustments and statistical models were developed to provide accurate genetic evaluations and the predictive value of estimated breeding values (EBVs) for perinatal survival was checked *via* the analysis of daughter records of two groups of boars with either high or low EBVs for this trait. Other potential traits include birth weight homogeneity and average birth weight. Based on the amount of data collected, significant genetic gains could be achieved in these traits using proper selection indices.

INTRODUCTION

La sélection sur la taille de portée a été particulièrement efficace dans les lignées maternelles canadiennes au cours des quinze dernières années, avec par exemple près de 2,1 porcelets supplémentaires par portée en race Yorkshire et 1,8 en race Landrace. Au cours des dernières années, d'autres caractères de reproduction ont également été mesurés et évalués, tels que la survie périnatale des porcelets et la variabilité du poids à la naissance, dans le but de faciliter la sélection pour la survie et la croissance des porcelets jusqu'au sevrage (Canario et al., 2010)

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Données disponibles

Les données collectées par les éleveurs canadiens sur les portées issues de truies de race pure et centralisées dans la base de données du Centre Canadien pour l'Amélioration des Porcs (CCAP) sont exploitées dans les évaluations génétiques nationales. Depuis plusieurs années, certains éleveurs collectent, sur une base volontaire, des informations complémentaires telles que les poids individuels des porcelets à la naissance et le nombre de porcelets vivants après 24 heures. Ces données sont incluses dans les évaluations génétiques, pour fournir aux éleveurs des outils de sélection sur ces caractères jugés importants parmi les qualités

maternelles des truies. La grande majorité des 120 éleveurs bénéficiant des évaluations génétiques collectent les données de survie jusqu'à 24 heures. Les éleveurs fournissant des poids de porcelets à la naissance ont pesé au total plus de 380 000 porcelets depuis 2003.

1.2. Méthodes

1.2.1. Survie périnatale

La survie périnatale est calculée comme le rapport entre le nombre de porcelets vivants après 24 heures (NVIV24) et le nombre de porcelets nés totaux (NTOT). Le ratio ainsi obtenu ne suit pas une distribution normale, une forte proportion de portées ayant une mortalité nulle ou faible. On procède à une transformation logarithmique, ainsi qu'un ajustement linéaire et quadratique pour la taille de portée à la naissance. Le caractère évalué est le taux de mortalité périnatale transformé et ajusté pour la taille de portée (TMPaj), considéré comme un caractère de la truie, et calculé comme suit :

 $TMPaj = \log\{100 - [(NVIV24/NTOT) - a - bNTOT - cNTOT^2] + 10\}$ où a, b et c sont des facteurs d'ajustement spécifiques à la race.

Le modèle statistique utilisé dans l'évaluation génétique inclut l'âge de la truie intra-rang de portée et la consanguinité des truies et des porcelets, le rang de portée, le groupe contemporain le type de saillie, ainsi que l'effet d'environnement permanent et la valeur génétique de la truie.

L'héritabilité et la part de variance liée à l'environnement permanent sont égales à 0,06 et 0,07, respectivement (Robinson et Quinton, 2002).

1.2.2. Variabilité du poids à la naissance

La variabilité du poids à la naissance est également considérée comme un caractère de la truie, quantifié par l'écart-type intra-portée du poids à la naissance. Le modèle statistique utilisé dans la procédure d'évaluation génétique est le même que celui utilisé pour la survie périnatale. L'héritabilité et la part de variance liée à l'environnement permanent sont égales à 0,12.

2. RESULTATS

2.1. Statistiques générales

Le Tableau 1 présente les statistiques générales concernant les portées nées de truies de race pure entre 2000 et 2010 et enregistrées dans la base de données du CCAP.

Tableau 1 - Statistiques générales pour les portées issues de truies Yorkshire et Landrace entre 2000 et 2010

	Race de la truie	Nb de portées	Moyenne	Ecart- type
NTOT	Yorkshire	404 980	12,02	3,69
(porc./portée)	Landrace	255 887	11,32	3,29
NVIV	Yorkshire	298 418	11,42	3,66
(porc./portée)	Landrace	186097	10,90	3,29
NVIV24	Yorkshire	328 103	10,61	3,56
(porc./portée)	Landrace	212 300	10,27	3,24
MPN	Yorkshire	14 736	1379	244
(g)	Landrace	12 026	1559	262
ETPN	Yorkshire	14 736	274	87
(g)	Landrace	12 026	289	98

NTOT=Nés Totaux; NVIV=Nés vivants; NVIV24=vivants à 24h; MPN=Moyenne du poids à la Naissance; ETPN=Ecart-Type du Poids à la Naissance

2.2. Valeur prédictive des valeurs génétiques : exemple de la survie périnatale

La valeur prédictive des valeurs génétiques (VG) pour la survie périnatale estimées en janvier 2007 pour les verrats de race Yorkshire a été étudiée. Ces VG variaient de -7,4 à +6,9 % pour les 429 verrats actifs à cette date. Parmi ces verrats, deux groupes ont été considérés : celui des 'Top20' constitué des 20 verrats avec les plus fortes VG (en moyenne +3,5%) et celui des 'Bottom20' contenant les 20 verrats avec les plus faibles

VG (en moyenne -5,1%). Les performances (postérieures à janvier 2007) des filles issues de ces deux groupes de verrats ont été comparées. La Figure 1 montre la distribution de la survie périnatale chez les deux groupes de truies concernées.

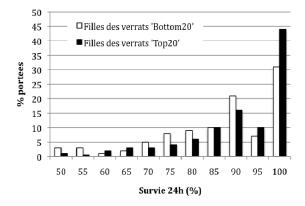


Figure 1 - Distribution des portées des truies issues de verrats extrêmes pour la valeur génétique pour la survie périnatale des porcelets

Une différence significative de 3,9% a été mise en évidence entre les deux groupes de truies (87,1% vs. 91,0%) pour la survie périnatale. Dans la Figure 1, les truies issues des verrats 'Top20' ont beaucoup plus de portées avec 100% de survie périnatale que les truies issues de verrats 'Bottom20' (44% vs. 31%) et moins de portées avec des mortalités élevées.

2.3. Relations entre homogénéité et survie

Jusqu'à présent, aucune relation significative n'a pu être mise en évidence entre la survie périnatale et l'homogénéité du poids à la naissance à partir des données centralisées au CCAP. Cependant, il existe au moins un lien phénotypique entre le poids moyen à la naissance et la survie.

CONCLUSION

Les données collectées par les éleveurs de porcs canadiens ont permis la mise en place de nouvelles évaluations génétiques pour des caractères sur lesquels la sélection pourrait être efficace malgré leur héritabilité relativement faible.

La valeur prédictive des VG pour la survie périnatale des porcelets a été démontrée, et on disposera prochainement d'un historique suffisant pour procéder à la même analyse sur l'homogénéité du poids à la naissance.

Davantage de données sont nécessaires pour explorer les relations entre les caractéristiques du poids à la naissance et la survie périnatale et tester de nouvelles approches pour analyser la survie comme un caractère du porcelet affecté par des effets génétiques directs et maternels.

- Canario L., Lundgren H., Haandlykken M., Rydhmer L., 2010. Genetics of growth in piglets and the association with homogeneity of body weight within litters. J. Anim. Sci., 88(4), 1240-1247.
- Robinson J.A.B. et Quinton V.M., 2002. Genetic parameters of early neo-natal piglet survival and number of piglets born. Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France. 30, 39-42.