

Analyse génétique de la réponse à l'ACTH chez le porc, relation avec des caractères de robustesse

Pierre MORMEDE (1), Elena TERENINA (1), Laure GRESS (1), Yvon BILLON (2), Stéphane FERCHAUD (3), Catherine LARZUL (1)

(1) INRA, UMR1388 GenPhySE, Chemin de Borde Rouge, Auzeville CS 52 627, 31326 Castanet-Tolosan, France

(2) INRA, UE1372 GenESI, INRA Le Magneraud, BP 52, 17700 Surgères, France

(3) INRA, UE1372 GenESI, La Gouvanière, Venours, 86480 Rouillé, France

pierre.mormede@toulouse.inra.fr

Avec la collaboration de toute l'équipe technique de l'Unité Expérimentale GenESI du Magneraud (2) et de Rouillé (3), ainsi que Raphaël COMTE (INRA, UMR1348 Pegase, F-35590 Saint-Gilles, France)

Analyse génétique de la réponse à l'ACTH chez le porc, relations avec des caractères de robustesse

L'axe corticotrope est une composante majeure des régulations métaboliques et des mécanismes biologiques de l'adaptation. L'activité de l'axe corticotrope et sa fonction sont fortement influencées par des facteurs génétiques. Les expériences présentes ont été conçues pour tester l'hypothèse que la sélection génétique pour un axe corticotrope plus actif peut améliorer la robustesse des porcs. Les expériences ont été faites avec des porcs Large White en race pure. Nous avons d'abord confirmé que la réponse du cortisol à l'ACTH est hautement héritable ($h^2 = 0,68 \pm 0,12$) dans cette population et peut donc être utilisée pour réaliser une expérience de sélection divergente. Dès la deuxième génération, de grandes différences dans le caractère de sélection ont été obtenues (concentration plasmatique de cortisol post-ACTH : 84,8 vs 127,5 ng/ml dans les lignées basse et haute, respectivement, $P < 10^{-16}$), mais aussi dans les caractères de reproduction (35% de spermatozoïdes en plus par éjaculat ($P = 3.10^{-4}$), un taux de mise bas de 11 points de plus ($P > 0,10$) et 1,5 porcelet vivant de plus par portée ($P = 0,06$) dans la lignée haute de reproducteurs G1). Les concentrations élevées de cortisol ont eu une influence négative sur la croissance en post-sevrage (418 vs 394 g/jour, $P = 0,0013$) et en engraissement (799 vs 754 g/jour, $P < 0,0001$), mais favorable sur la composition de carcasse (TVM : 58,8 vs 60,4%, lignée basse vs lignée haute, $P < 0,001$). Ces résultats confirment que l'axe corticotrope a des effets contrastés sur les caractères fonctionnels et de production. Ils devront être confirmés dans la 3^e génération de sélection en cours et un bilan global sera réalisé avant de pouvoir proposer le test à l'ACTH comme critère de sélection pour obtenir des animaux plus robustes.

Genetic analysis of the response to ACTH in pigs, relationships with robustness traits

The adrenocortical axis is a major component of metabolic regulation and biological adaptation processes. Its activity and functions are strongly influenced by genetic factors. The present experiments were designed to address the hypothesis that genetic selection for a more active adrenocortical axis could improve robustness. They were carried out with purebred Large White pigs. We first confirmed that the cortisol response to ACTH is highly heritable ($h^2 = 0.68 \pm 0.12$) in this population and can therefore be used for a divergent selection experiment. As early as the second generation of selection, large differences were obtained in the selection trait (post-ACTH plasma cortisol concentration: 84.8 vs 127.5 ng/mL in the low and high lines, respectively, $P < 10^{-16}$); differences were also obtained in several reproduction traits (35 % more sperm per ejaculate ($P = 3.10^{-4}$), 11 points higher pregnancy rate ($P > 0.10$), and 1.5 more piglets born alive per litter ($P = 0.06$) in the high line). Higher cortisol concentrations had a negative influence on growth rate during both post-weaning (418 vs 394 g/jour, $P = 0.0013$) and fattening (799 vs 754 g/jour, $P < 0.0001$) but improved carcass composition (lean%: 58.8 vs 60.4, low vs high line $P < 0,001$). These results confirm that the adrenocortical axis activity has a contrasted influence on functional and production traits. They have to be confirmed in the third generation for a comprehensive evaluation of the interest of selecting a more active adrenocortical axis to obtain animals that are more robust.

INTRODUCTION

La prise en compte de nouvelles contraintes, comme la durabilité de l'élevage ou le bien-être des animaux, fait évoluer les objectifs de sélection vers la recherche d'animaux plus robustes et adaptés à des conditions d'élevage moins optimales. Le concept de robustesse fait référence à la capacité d'exprimer un potentiel élevé de production dans une grande variété d'environnements. La prise en compte des caractères dits fonctionnels dans les objectifs de sélection (survie des nouveau-nés, qualité du système locomoteur, résistance aux maladies et au stress, par exemple) est une stratégie qui peut être efficace pour améliorer le bien-être des animaux d'élevage et réduire les pertes de production.

L'inclusion plus large de ces caractères dans les schémas de sélection classique ou génomique suppose qu'ils puissent être mesurés de façon très précise sur de larges populations (phénotypage à haut débit) et que les objectifs de sélection soient clairement définis. Ces nouvelles perspectives posent des questions théoriques comme la balance entre les caractères de production et d'adaptation, les stratégies de phénotypage ou l'architecture génétique des caractères qui contribuent à la robustesse (Mormede, 2015).

L'axe corticotrope est au cœur des processus d'adaptation et joue un rôle important dans les régulations métaboliques. Il pourrait ainsi contribuer à la robustesse des animaux (Mormede *et al.* 2011b). Il existe par ailleurs une grande variabilité individuelle dans son fonctionnement, dont une part importante est d'origine génétique (Mormede *et al.* 2011a). Il pourrait ainsi représenter un levier intéressant pour la sélection d'animaux plus robustes (Mormede et Terenina, 2012).

Afin d'explorer de façon plus approfondie l'influence de l'activité corticotrope sur les paramètres fonctionnels et de production, nous avons initié une expérience de sélection génétique divergente chez le porc Large White, basée sur la réponse de glande surrénale à l'ACTH, qui représente l'une des principales sources de variabilité génétique du fonctionnement corticotrope, et qui présente une héritabilité élevée ($h^2 = 0,68 \pm 0,12$; Larzul *et al.*, 2015). Nous reportons ici les premiers résultats obtenus, principalement sur les première et deuxième générations (G1 et G2).

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. Dispositif expérimental

Les expériences ont été réalisées sur des animaux de race pure Large White du troupeau expérimental de l'INRA, unité expérimentale GenESI, Le Magneraud, 17700 Surgères. Suite à une première étude portant sur l'analyse génétique de la réponse à l'ACTH (Larzul *et al.*, 2015), la semence des sept verrats présentant les réponses à l'ACTH les plus faibles et des sept verrats présentant les réponses les plus élevées a été congelée et utilisée pour inséminer 62 truies fondatrices (G0). Les 393 descendants (génération 1, G1) ont été testés pour leur réponse à l'ACTH à l'âge de six semaines. Les animaux présentant les réponses extrêmes (37 femelles et 8 mâles faibles, 38 femelles et 8 mâles élevés) ont été sélectionnés pour fonder une deuxième génération (G2), dont les 760 descendants ont été testés pour leur réponse à l'ACTH. Les animaux présentant les réponses extrêmes (44 femelles et 9 mâles faibles, 40 femelles et 9 mâles élevés) ont été sélectionnés pour fonder une troisième génération (G3) en

cours de phénotypage. A chaque génération, la population expérimentale a été répartie sur 3 bandes d'élevage. Les animaux sont nourris *ad libitum* avec des aliments standards (9,7 MJ EN/kg ; 16% de protéines brutes ; 0,47% de phosphore total ; 0,72% de potassium, en engraissement). Le protocole expérimental a été accepté par le Comité d'Ethique en Expérimentation Animale Poitou-Charentes (décision en date du 21/01/2013).

1.2. Test de sélection

Après le sevrage à quatre semaines d'âge, deux ou trois portées ont été mélangées dans chaque loge de post-sevrage, les animaux des deux lignées étant séparés. A l'âge de 6 semaines, les porcelets ont reçu une injection intramusculaire de synacthène® (ACTH 1-24, en G1, 222 µg/animal) ou d'ACTH 1-39 de porc (en G2 et G3, 333 µg/animal). Les peptides ont été synthétisés par Pepscan Presto B.V. (Lelystad, Pays-Bas) et dilués dans du sérum physiologique pour un volume d'injection de 1 ml par animal. Une prise de sang est réalisée au confluent jugulaire avec un dispositif Vacutainer® dans des tubes héparinés, immédiatement avant et une heure après l'injection d'ACTH, alors que les animaux sont maintenus sur le dos. Le sang est centrifugé, le plasma aliquoté et conservé à -20 °C. La concentration plasmatique de cortisol est mesurée par dosage immunologique à l'aide de l'analyseur automatique AIA-2100 (Tosoh Bioscience, San Francisco, CA, USA). Le critère de sélection est la concentration plasmatique de cortisol mesurée une heure après l'injection intramusculaire d'ACTH.

1.3. Phénotypage

1.3.1. Reproduction mâle et femelle

Les caractéristiques du sperme de verrats G1 et G2 ont été analysées à plusieurs reprises. Les éjaculats ont été évalués dans les minutes qui suivent la collecte selon : volume, concentration, nombre de spermatozoïdes totaux (photométrie, Accucel IMV), % de spermatozoïdes mobiles (microscopie) et motilité (Bishop *et al.*, 1954 ; Ferchaud *et al.*, 2009).

Les performances de reproduction ont été mesurées chez les truies G1 et G2 : fertilité, nombre et viabilité des porcelets, poids individuel à la naissance et au sevrage.

1.3.2. Performances de croissance

Chez les animaux femelles G2 (156 de la lignée basse et 182 de la lignée haute), les performances de croissance ont été mesurées en post-sevrage (4 à 10 semaines d'âge) et en engraissement (10 à 22 semaines d'âge). Le gain moyen quotidien (GMQ) en post-sevrage a été calculé comme le rapport $(P10s - P4s) / (\text{âge à la mesure de P10s} - \text{âge à la mesure de P4s})$ et le GMQ en engraissement de la même façon avec les mesures à 10 et 22 semaines. L'épaisseur de lard a été mesurée en fin de période d'engraissement avec un échographe Honda HS1500 sonde linéaire. La valeur retenue est la moyenne des mesures au niveau du cou, du dos et du rein, réalisées à 4 cm de chaque côté de la colonne vertébrale.

1.3.3. Caractéristiques de carcasse

Les femelles G2 non conservées pour la reproduction (93 de la lignée basse et 130 de la lignée haute) ont été abattues à un âge moyen de 180 jours pour un poids de carcasse froide moyen de 86,1 kg. La composition de carcasse a été déterminée par acquisition et analyse d'image au niveau de la jonction jambon-longue (Image Meater). Le pourcentage de viande maigre (TMP)

a été calculé à partir des mesures d'épaisseur de gras (G3 et G4) et de muscle (M3 et M4) avec la formule (Blum *et al.*, 2014) :

$$TMP = 60,12 - 0,487 G3 - 0,133 G4 + 0,111 M3 + 0,036 M4$$

G3 est l'épaisseur minimale de gras (couenne incluse), recouvrant le muscle *gluteus medius*, G4 est l'épaisseur moyenne de gras (couenne incluse) recouvrant quatre vertèbres lombaires, M3 est l'épaisseur minimale de muscle, entre l'extrémité antérieure du muscle *gluteus medius* et la partie dorsale du canal médullaire, M4 est l'épaisseur moyenne de muscle recouvrant quatre vertèbres lombaires (voir Blum *et al.*, 2014 et le site web Image meater).

Le pH a été mesuré le lendemain de l'abattage (pH 24h) au niveau du jambon et de la longe avec un pH mètre Hanna HI 99163.

1.4. Analyses statistiques

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel R avec des modèles linéaires qui incluent, selon les variables analysées, la lignée (basse / haute), le sexe et la bande d'élevage comme effets fixes et l'âge au moment de la mesure en covariable. Pour les données de carcasse, on a pris en compte la série d'abattage ($n = 5$) et le poids de carcasse froide a été introduit en covariable. Dans la figure et les tableaux sont données les moyennes avec leurs erreurs-standards.

2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

2.1. Réponse au test de sélection

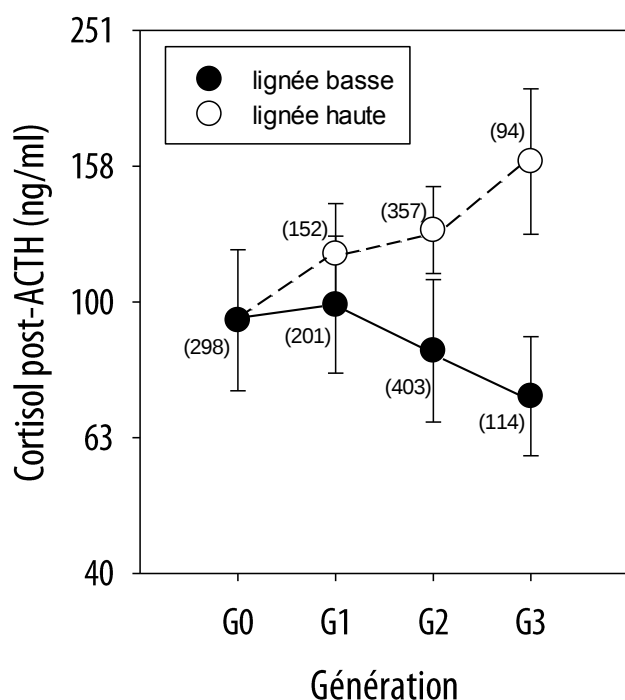


Figure 1 – Evolution du caractère de sélection (concentration plasmatique de cortisol une heure après injection d'ACTH) dans les premières générations

Concentration plasmatique de cortisol une heure après injection d'ACTH dans la population initiale (G0) et dans les lignées sélectionnées à réponse basse et élevée au cours des générations successives (G1 à G3). Entre parenthèses, nombre d'animaux pour chaque point.

Les concentrations plasmatiques de cortisol mesurées une heure après injection d'ACTH sont représentées dans la Figure 1. Conformément à l'héritabilité élevée estimée précédemment (Larzul *et al.*, 2015), la divergence entre lignées s'est opérée rapidement, avec un rapport de 2,22 en G3 entre les concentrations mesurées une heure après ACTH dans les deux lignées.

2.2. Paramètres de reproduction

2.2.1. Reproduction mâle

Les reproducteurs mâles G1 de la lignée haute ont présenté des concentrations et un nombre total de spermatozoïdes plus élevés que ceux de la lignée basse. Les autres caractéristiques de l'éjaculation et du sperme n'étaient pas différentes entre lignées (Tableau 1). Les mêmes résultats ont été obtenus en G2 : concentration 391 (G2-) vs 477 (G2+) $10^6/\text{ml}$ ($P < 0,05$) et nombre total par éjaculat 58 vs 76.10^9 ($P < 0,005$). Ces résultats sont en accord avec le rôle des hormones glucocorticoïdes dans la fonction testiculaire (Hazra *et al.*, 2014).

Tableau 1 – Paramètres de reproduction mâle en G1

	G1-	G1+	P
N verrats // N collectes	5 // 55	4 // 44	
Latence d'éjaculation (s)	175 ± 127	141 ± 71	0,11
Durée d'éjaculation (s)	400 ± 138	423 ± 98	0,29
Volume (ml)	230 ± 56	239 ± 56	0,41
Concentration ($10^6/\text{ml}$)	357 ± 163	444 ± 167	0,012
N total spermatozoïdes (10^9)	73,8 ± 28,9	97,3 ± 31,4	3.10^{-4}
Mobilité (%)	0,90 ± 0,03	0,89 ± 0,04	0,28
Motilité (u.a.)	3,60 ± 0,41	3,51 ± 0,41	0,28
Viabilité (%)	0,92 ± 0,03	0,91 ± 0,03	0,22

G1- lignée basse et G1+ lignée haute ; u.a. = unités arbitraires.

2.2.2. Reproduction femelle

La fertilité des truies a également été plus élevée dans la lignée haute que dans la lignée basse, même si les différences ne sont pas toujours significatives du fait du nombre limité de portées disponibles. Le Tableau 2 donne les résultats de la G1. En G2, on a observé trois retours en chaleurs (sur un total de 78 inséminations), tous dans la lignée basse. Le nombre total de porcelets nés par portée a été de 13,07 en lignée basse et 13,61 en lignée haute, et respectivement 12,18 et 12,94 pour les nés vivants.

La légère différence de poids à la naissance observée chez les porcelets G2 n'a pas été retrouvée en G3 (1,37 kg en lignée basse et 1,34 en lignée haute). Il n'y a pas de différence de poids au sevrage en G2 et une légère différence à 21 jours en G3 (6,45 vs 6,23 kg, $P < 0,10$).

Ces résultats montrent que les caractères de reproduction mâle et femelle sont influencés le plus souvent de façon favorable par une activité plus élevée de l'axe corticotrope.

Tableau 2– Paramètres de reproduction femelle en G1

	G1-	G1+	P
TRUIES			
Inséminées	44	40	
Gestantes 30 jours	38 (86,4%)	39 (97,5%)	
Nombre portées	37 (84,1%)	38 (95,0%)	
Nés totaux / portée	13,4 ± 4,1	14,8 ± 3,3	0,12
Nés vivants / portée	11,4 ± 3,4	12,9 ± 3,3	0,058
Poids de portée (kg)	17,1 ± 4,6	17,8 ± 3,3	0,47
PORCELETS			
Nombre total	357	403	
Poids naissance (kg)	1,42 ± 0,31	1,33 ± 0,28	3.10 ⁻⁵
Poids sevrage (kg)	8,07 ± 1,66	7,95 ± 1,24	0,29

G1- lignée basse et G1+ lignée haute. Pour le nombre de gestantes et de portées, les taux de succès sont mentionnés entre parenthèses.

2.3. Paramètres de croissance

Comme indiqué ci-dessus, le poids des porcelets au sevrage à 4 semaines était identique dans les deux lignées. Les animaux de la lignée basse ont présenté une croissance plus élevée en post-sevrage et en engraissement, avec une épaisseur de lard plus importante en fin d'engraissement (Tableau 3).

Ces résultats sont cohérents avec les données de la littérature qui montrent qu'une réponse élevée à l'ACTH chez les jeunes porcelets s'accompagne d'une croissance et d'une efficacité alimentaire plus faibles (Hennessy et Jackson, 1987).

2.4. Caractéristiques de carcasse

A l'abattage (Tableau 3), les animaux de la lignée G2 basse étaient plus jeunes de 1,6 jour à poids égal et avaient une carcasse plus grasse (- 1,6 point de TVM). Ils avaient une épaisseur de gras plus élevée en G3 (+ 2 mm) mais pas en G4. Par contre, leur épaisseur de muscle était plus faible en M3 (- 5 mm) comme en M4 (- 3 mm). Ces résultats n'étaient pas attendus, le cortisol favorisant plutôt l'accumulation de graisse aux dépens des protéines (voir par exemple Foury *et al.*, 2005, 2007).

Le pH à 24 h n'a pas été différent entre lignées, ni le prix moyen des carcasses (106,7 ± 11,6 vs 108,4 ± 11,3 €).

Tableau 3 – Paramètres de croissance et de qualité de carcasse en G2

	G2-	G2+	P
CROISSANCE, N	156	182	
GMQ post-sevrage (g/jour)	418 ± 69	394 ± 67	
GMQ engraissement (g/jour)	799 ± 87	754 ± 88	
Epaisseur de lard ultrasons (cm)	1,53 ± 0,21	1,35 ± 0,18	2.10 ⁻¹²
CARCASSE, N	93	130	
TMP	58,8 ± 2,2	60,4 ± 2,0	7.10 ⁻⁴
G3 (mm)	16,2 ± 3,3	14,2 ± 3,3	4.10 ⁻⁵
M3 (mm)	68,4 ± 5,9	73,4 ± 6,7	2.10 ⁻⁹
G4 (mm)	22,7 ± 2,5	22,2 ± 3,0	0,24
M4 (mm)	52,5 ± 4,2	55,5 ± 4,8	2.10 ⁻⁸
pH jambon	5,80 ± 0,16	5,81 ± 0,24	0,57
pH longe	5,89 ± 0,16	5,86 ± 0,20	0,30

G2- lignée basse et G2+ lignée haute.

CONCLUSION

Ces premiers résultats sur la sélection génétique de la réponse de la glande surrénale à l'ACTH confirment l'héritabilité élevée de ce caractère. Les deux lignées obtenues permettront d'évaluer de façon précise les conséquences de cette sélection sur les réponses adaptatives aux situations d'élevage (stress de chaleur, stress d'abattage, ...), les caractères fonctionnels tels que la reproduction et la survie des nouveau-nés, ainsi que sur les caractères de production (croissance, efficacité alimentaire, composition de carcasse et qualité de viande). Les données préliminaires présentées ici montrent que la sélection pour une activité corticotrope plus élevée a un effet plutôt favorable sur les caractères de reproduction et la composition de carcasse, et une influence défavorable sur la croissance. Ces résultats seront à confirmer sur la G3 afin de pouvoir tirer un bilan global.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bishop M.W.H., Campbell R.C., Hancock J.L., Walton A., 1954. Semen characteristics and fertility in the bull. J. Agric. Sci., 44, 227-248.
- Blum Y., Monziols M., Causeur D., Dumas, G., 2014. Recalibrage de la principale méthode de classement des carcasses de porcs en France. Journées Rech. Porcine, 46, 39-44.
- Ferchaud S., Furstoss V., Guillouet P., 2009. Évolution de la durée de carrière et de la production spermatique des verrats de CIA, étude comparative 1991-1997 et 2001-2007. Journées Rech. Porcine, 41, 253-256.
- Foury A., Devillers T., Sanchez M.P., Griffon H., Le Roy P., Mormede P., 2005. Stress hormones, carcass composition and meat quality in Large White x Duroc pigs. Meat Sci., 69, 703-707.
- Foury A., Geversink N.A., Gil M., Gispert M., Hortos M., Furnols M.F.I., Carrion D., Blott S.C., Plastow G.S., Mormede P., 2007. Stress neuroendocrine profiles in five pig breeding lines and the relationship with carcass composition. Animal, 1, 973-982.
- Hazra R., Upton D., Jimenez M., Desai R., Handelsman D. J., Allan C. M., 2014. In vivo actions of the Sertoli cell glucocorticoid receptor. Endocrinology, 155, 1120-1130.
- Hennessy D.P., Jackson P.N., 1987. Relationship between adrenal responsiveness and growth rate, Manipulating Pig Production: proceedings of the Inaugural Conference of the Australasian Pig Science Association (A.P.S.A.), 23-25 November 1987, Albury, NSW, Australia, p. 23.
- Image Meater : <http://www.uniporc-ouest.com/documentation-technique/classement-des-animaux/image-meater.html>.
- Larzul C., Terenina E., Foury A., Billon Y., Louveau I., Merlot E., Mormede P., 2015. The cortisol response to ACTH in pigs, heritability and influence of corticosteroid-binding globulin. Animal, *in press*.
- Mormede P., 2015. Contribution de la génétique à la robustesse et au bien-être des animaux d'élevage. Bulletin des GTV, 77, 43-48.
- Mormede P., Foury A., Barat P., Corcuff J. B., Terenina E., Marissal-Arvy N., Moisan M. P., 2011a. Molecular genetics of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity and function. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1220, 127-136.
- Mormede P., Foury A., Terenina E., Knap P. W., 2011b. Breeding for robustness: the role of cortisol. Animal, 5, 651-657.
- Mormede P., Terenina E., 2012. Molecular genetics of the adrenocortical axis and breeding for robustness. Domest. Anim. Endocrinol., 43, 116-131.