

Fréquence et effet sur la prolificité du gène ESR dans deux lignées Large White en France

C. LEGAULT (1), J. GRUAND (2), J. LEBOST (3), H. GARREAU (1), L. OLLIVIER (1), Lori A. MESSER (4), M.F. ROTHSCHILD (4)

(1) I.N.R.A., Station de Génétique Quantitative et Appliquée - 78352 Jouy en Josas Cedex,

(2) I.N.R.A., Station Expérimentale de Sélection Porcine - 86480 Rouillé

(3) I.N.R.A., Station de Recherches Porcines - 35590 Saint-Gilles

(4) Iowa State University, Department of Animal Science - Ames, Iowa 50011, USA

Fréquence et effet sur la prolificité du gène ESR dans deux lignées Large White en France

L'objet de l'étude était d'estimer la fréquence des allèles A et B au locus ESR (gène du récepteur d'oestrogène) et d'en vérifier les effets sur la prolificité dans deux lignées Large White français. Le premier échantillon comprend 55 animaux de la lignée hyperprolifique de l'INRA (LWH), dont 32 truies ayant produit 216 portées. L'échantillon témoin (LWT) comprend 47 animaux, dont 27 truies ayant produit 242 portées, provenant de troupeaux de l'INRA non sélectionnés pour la prolificité et représentatifs du Large White national. Le typage pour le gène ESR a été réalisé sur l'ensemble des 102 animaux et les 458 portées ont été analysées pour les effets lignée, numéro de portée et génotype ESR sur le nombre total de porcelets nés par portée (NT) et le nombre de nés vivants (NV). La fréquence de l'allèle B (qui est globalement de 0,49) ne diffère pas significativement entre lignées : respectivement 0,52 et 0,46 pour LWH et LWT. L'équilibre de Hardy-Weinberg est respecté dans les deux lignées. Les analyses de variance montrent une différence LWH-LWT très hautement significative, de respectivement 5,7 et 4,5 porcelets NT et NV. En revanche, l'effet recherché du génotype au locus ESR n'est jamais significatif, aussi bien dans l'analyse globale que dans les analyses par lignée. Cependant, un avantage non significatif des truies BB et AB sur les truies AA, de l'ordre de un porcelet/portée, est observé chez les jeunes truies (1ère et 2ème portée), tendance qui s'estompe chez les truies âgées. Ces données précisent le polymorphisme au locus ESR dans le Large White français, mais elles sont insuffisantes pour établir un effet significatif de ce locus sur la prolificité. Globalement, l'effet moyen de substitution de l'allèle B dans notre étude est estimé à 0,16 porcelet pour NT, chiffre très proche de celui qui peut être calculé d'après l'augmentation de fréquence du gène B en LWH, et très inférieur aux effets estimés dans des lignées synthétiques Meishan. Bien que notre étude diffère en ce que les effets troupeau-année-saison ne sont pas complètement pris en compte dans l'analyse, ce désaccord tend à accréditer l'hypothèse que le polymorphisme ESR examiné ici n'est pas directement impliqué dans la prolificité et que le typage effectué révèle seulement l'existence d'un gène de prolificité voisin de ESR. Des données plus nombreuses seraient cependant nécessaires pour confirmer cette présomption.

Frequency and effect on prolificacy of the ESR gene in two French Large White lines

The purpose of this study was to estimate the frequencies of the A and B alleles at the ESR (Estrogen receptor) locus, as well as their effects on prolificacy in two French Large White lines. The first sample included 55 individuals from the INRA hyperprolific line (LWH), of which there were 32 sows with 216 litter records. The second sample was a control (LWT) and included 47 individuals, of which there were 27 sows with 242 litter records. This sample originated from INRA experimental herds having undergone no selection on prolificacy, and may be considered as fairly representative of the French Large White breed. All individuals (102) were typed for ESR, and the litter records (458) were analysed for line, parity and ESR genotype effects on total number born (TNB) and number born alive (NBA). The B allele overall frequency was 0.49 and the difference between the 2 lines, 0.06 in favour of LWH, was not significant. There was no significant departure from the Hardy-Weinberg equilibrium in either line. Line effects on litter size were highly significant, the difference LWH-LWT being 5.7 and 4.5 piglets/litter for TNB and NBA respectively. ESR genotype however showed no significant effect on litter size in either line. Though no interaction was significant, there was an indication that the ESR gene might have a greater effect on early parities (1 and 2) compared to later ones, with an advantage of about 1 piglet/litter (TNB) for the BB and AB genotypes over AA. Overall our data, though showing an important polymorphism, are not sufficient to establish any significant effect of the ESR locus on prolificacy in the French Large White. Globally an average substitution effect of 0.16 piglet/litter (TNB) was estimated in our data. This is quite close to the figure which can be derived from the change observed in gene frequency between the two lines, if this change is attributed to the selection practiced. Our estimate however is much below previously reported effects in Meishan synthetic lines. Though our study differs in that the least squares model does not properly account for herd-year-season effects, this disagreement between different populations would suggest that the ESR polymorphism examined here is not directly involved in pig prolificacy. It might only reveal the existence of a prolificacy gene closely linked to ESR. However, more data would be needed to confirm this presumption.

INTRODUCTION

Avec une pondération économique relative de l'ordre de 35 %, la taille de la portée à la naissance ou prolificité occupe actuellement la première place parmi les objectifs de sélection (DUCOS, 1994). Les efforts d'amélioration de ce caractère s'exercent selon deux voies complémentaires représentées par l'exploitation de la variabilité génétique intra-race et entre races : la sélection et les croisements. Ces efforts ont été couronnés de succès au cours de ces dernières années avec la généralisation de la gestion informatisée des populations sélectionnées, l'extension de l'insémination artificielle, le recours aux méthodes d'évaluation des reproducteurs les plus perfectionnées (comme le BLUP-modèle animal) et enfin, en matière de croisement, l'introduction de races exotiques comme la Meishan.

De nouvelles perspectives sont ouvertes par le développement récent de la génétique moléculaire et de la cartographie génétique (OLLIVIER et al, 1995) et par conséquent l'espoir d'identifier des gènes intervenant directement sur des caractères quantitatifs comme la prolificité. Un premier pas dans cette voie est la récente découverte dans une lignée américaine d'un gène (ESR : gène codant pour le récepteur d'oestrogène) ayant un effet favorable de l'ordre de 1,4 porcelet/portée (ROTHSCHILD et al., 1994). L'objet de la présente étude est d'estimer la fréquence des deux allèles A et B au locus ESR dans deux lignées Large White, puis d'en vérifier les effets sur la prolificité chez des truies de ces deux lignées au cours de leur carrière.

1. MATÉRIEL ANIMAL

L'étude porte sur des animaux Large White de la lignée hyperproliférique (LWH) sélectionnée par l'INRA à Rouillé (Vienne) depuis 1973, en comparaison avec des animaux-témoins Large White (LWT) en provenance de troupeaux expérimentaux INRA sans sélection sur la prolificité.

1.1. La lignée Large White hyperproliférique (LWH)

Le protocole LWH a déjà été décrit à plusieurs reprises (LEGAULT et GRUAND, 1976 ; LE ROY et al., 1987 ; BIDANEL et al., 1994). La lignée LWH est représentée par 32 truies de prolificité exceptionnelle détectées dans 28 élevages de sélection ou de multiplication par la voie informatique, avec un taux de sélection de 0,4 p.cent environ. Les truies hyperprolifériques sont rassemblées à la Station Expérimentale de Sélection Porcine (SESP) de l'INRA pour y poursuivre leur carrière. Inséminées systématiquement par des verrats LWH en service à la Station Expérimentale d'Insémination Artificielle (SEIA) de Rouillé, ces truies procréent une nouvelle génération de verrats LWH chaque année, selon le protocole mis en oeuvre en 1973. Un échantillon de 23 produits mâles des générations 1993 et 1994 a été ajouté aux 32 truies précédentes pour représenter génétiquement LWH.

1.2. Les témoins (LWT)

Les 27 truies de l'échantillon LWT sont nées et ont produit

dans l'élevage expérimental de l'INRA relevant de la Station de Recherches Porcines de St Gilles (SRP). Après avoir été constitué en 1979 par un large échantillonnage du Large White français de l'époque, ce troupeau destiné à produire des animaux expérimentaux est resté fermé génétiquement jusqu'en 1993, date des premières inséminations en provenance de l'extérieur. Tous les animaux de notre échantillon étant nés avant cette date, on peut considérer que leur niveau génétique moyen correspond à celui du Large White français en 1979. A ces 27 truies ont été ajoutés 20 animaux mâles, en provenance des élevages expérimentaux INRA des domaines de Bourges et du Magneraud, pour représenter génétiquement LWT.

2. TYPAGE MOLÉCULAIRE DU GÈNE ESR

Les échantillons de sang prélevés sur les 102 animaux de cette étude ont d'abord été expédiés au Laboratoire de Génétique moléculaire du domaine INRA du Magneraud pour l'extraction de l'ADN. Puis, les échantillons d'ADN ont été expédiés à l'Université d'Etat de l'Iowa où le typage du gène ESR a été effectué selon la méthode décrite par ROTH-SCHILD et al (1994). Ce typage permet de distinguer deux variants A et B et trois génotypes AA, AB, BB. Rappelons que ces variants correspondent à des fragments d'ADN de longueur variable obtenus après coupure de la molécule par une enzyme de restriction. Il s'agit donc d'un polymorphisme de longueur de fragments de restriction (RFLP).

3. ANALYSE STATISTIQUE

3.1. Fréquences géniques

L'équilibre de Hardy-Weinberg et les différences de fréquences géniques entre lignées ont été testés par les Chi-2 classiques.

3.2. Prolificité

Les deux variables représentatives de la prolificité, le nombre de porcelets nés et nés vivants par portée ont été soumises à différentes analyses de variance en utilisant la procédure GLM (General Linear Model) du logiciel SAS (Statistical Analysis System). Ces analyses ont été appliquées successivement à l'ensemble des données (458 portées), à la lignée LWH (216 portées) et à la lignée LWT (242 portées).

Dans la première analyse, le modèle utilisé prend en compte trois effets fixés et les effets d'interaction :

- lignée : deux niveaux (LWH et LWT).
- classe d'âge de la truie avec trois niveaux : jeunes truies regroupant les portées d'ordre 1 et 2, truies adultes regroupant les portées d'ordre 3 et 4, truies âgées regroupant les portées d'ordre 5 à 10.
- génotype au locus ESR avec trois niveaux : AA, AB et BB.

Dans les deux dernières analyses, seuls les effets classe

d'âge, génotype ESR et l'interaction génotype-classe d'âge ont été pris en compte.

4. RÉSULTATS

4.1. Comparaison des fréquences géniques.

La distribution des 102 porcs typés pour le génotype ESR est présentée dans le tableau 1. Avec une fréquence proche de 0,50 dans l'ensemble de l'échantillon, la fréquence de l'allèle B ne diffère pas significativement selon la lignée : 0,52 dans la lignée LWH contre 0,46 dans la lignée LWT. On voit

aussi que, globalement, l'équilibre de Hardy-Weinberg au locus ESR est respecté dans ces lignées.

4.2. Résultats de l'analyse de la variance.

Les résultats de l'analyse de variance globale sont rassemblés dans le tableau 2. Le tableau 3 donne les valeurs moyennes globales estimées et la figure 1 les moyennes obtenues dans chaque lignée. On notera en premier lieu l'absence d'effets d'interaction significatifs. Les résultats des analyses par lignée, non montrés ici, confirment l'absence d'interaction génotype-classe d'âge dans les deux lignées. On notera également la supériorité très hautement significa-

Tableau 1 - Distribution des génotypes au locus ESR dans les deux lignées

Lignée / échantillon	n	Génotype ESR			Fréquence du variant B
		AA	AB	BB	
Large White hyperprolifique (LWH)					
- truies hyperprolifiques	32	7	18	7	0,50
- produits de truies hyperprolifiques x verrats LWH	23	4	13	6	0,54
Total LWH	55	11	31	13	0,52
Témoin Large White (LWT)					
- truies SRP	27	4	17	6	0,54
- autres témoins	20	9	8	3	0,35
Total LWT	47	13	25	9	0,46
Total	102	24	56	22	0,49
Équilibre de Hardy-Weinberg attendu		(24,5)	(51)	(26,5)	

Tableau 2 - Résultats de l'analyse de variance

Facteurs de variation	Degrés de liberté	Seuil de signification du test F (valeurs de probabilité)	
		Nés totaux	Nés vivants
Lignée (L)	1	0,0001	0,0001
Classe d'âge (A)	2	0,10	0,23
Génotype ESR (G)	2	0,81	0,27
Interaction (L*A)	2	0,73	0,16
Interaction (L*G)	2	0,65	0,87
Interaction (A*G)	4	0,81	0,92
Résiduelle	444	-	-

tive de la lignée LWH sur la lignée LWT. En revanche, l'effet recherché du génotype au locus ESR n'est jamais significatif, aussi bien dans l'analyse globale que dans les analyses par

lignée. Cependant, la figure 1 révèle une différence de l'ordre de 1 porcelet/portée en faveur des génotypes AB et BB chez les jeunes truies, tendance qui s'estompe chez les truies âgées.

Tableau 3 - Valeurs des estimées des moindres carrés

Facteurs de variation		Effectifs	Nés totaux	Nés vivants
Lignée	LW Hyper	216	16,52	14,63
	LW Témoin	242	10,84	10,14
Classe d'âge	1 - 2	118	13,16	12,20
	3 - 4	116	14,16	12,82
	5 - 10	224	13,72	12,13
Génotype ESR	AA	82	13,53	12,28
	AB	267	13,68	12,12
	BB	109	13,84	12,75
Moyenne générale		458	13,52	12,14

DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSION

Avant de tirer des conclusions générales des résultats précédents, il faut souligner les faibles effectifs mis en oeuvre et l'absence de dispositif expérimental planifié permettant une prise en compte rigoureuse des effets troupeau-année-saison dans l'analyse des données de prolificité. L'hétérogénéité génétique du témoin Large White est également à noter, puisque cet échantillon a été constitué à partir de 3 troupeaux INRA créés à des dates variables à partir du Large White national.

Le premier enseignement de cette étude est de révéler le polymorphisme existant au locus ESR au sein du Large White français. En effet, la fréquence globale de l'allèle B est proche de 50 %, avec une différence entre lignées faible et non significative (tableau 1). Au terme de 15 générations de sélection, les verrats de la lignée LWH expriment une supériorité génétique de l'ordre de 1,4 porcelet/portée (BIDANEL et al, 1994), qui n'est accompagnée ici d'aucune augmentation significative de la fréquence de l'allèle B. Notons que le progrès observé en LWH est très proche de la valeur attendue connaissant l'intensité de sélection appliquée dans le choix des truies hyperprolifiques ($i = 3$, comme indiqué plus haut), sur la base de 4 portées en moyenne ($n = 4$), avec les valeurs classiques de $h^2 = 0,10$ et $t = 0,15$ pour respectivement l'héritabilité et la répétabilité du caractère sélectionné. Avec les mêmes paramètres il est également possible d'estimer l'effet du gène en fonction du changement de fréquence génique observé, si on suppose que ce changement est dû à la sélection pratiquée, en utilisant l'expression classique :

$$\alpha = [\Delta q / i q (1 - q)] \sigma$$

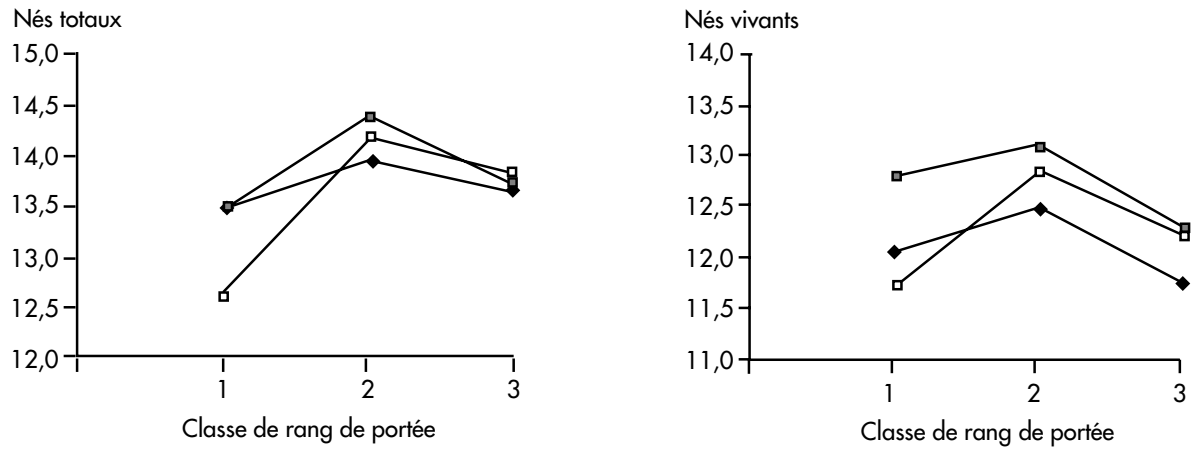
où α est l'effet de substitution de l'allèle considéré, q sa fréquence initiale, Δq le changement de fréquence, i l'intensité de sélection et σ l'écart type du critère de sélection (OLLIVIER, 1981). Sachant que σ est ici le produit de l'écart-type de la taille de portée (soit 3 porcelets) par $\sqrt{[1 + (n-1)t]/n}$, on obtient $\alpha = 0,14$ porcelet né/portée.

Ces indications sur les fréquences géniques sont confirmées par les résultats de l'analyse des tailles de portée, qui ne fait apparaître aucun effet significatif du génotype au locus ESR sur le nombre de nés totaux ou nés vivants par portée. On peut de plus noter que, en combinant les fréquences globales des 3 génotypes (tableau 1) et les valeurs génotypiques (tableau 3), on obtient une valeur de l'effet de substitution de 0,16 porcelet né/portée, très voisine de la valeur α donnée ci-dessus. L'ensemble de ces résultats nous amène à conclure que ESR est sans effet notable sur la prolificité dans le Large White français. Toutefois, l'avantage de l'ordre de un porcelet/portée des jeunes truies BB et AB, avantage qui s'estompe avec l'âge (voir figure 1), va dans le sens des résultats de ROTHCHILD et al (1995) portant essentiellement sur des lignées synthétiques Meishan. L'effet de substitution de 1,15 porcelet estimé par ces auteurs en première portée est cependant hautement significatif et nettement supérieur à la valeur trouvée ici. Nos résultats sont plutôt à rapprocher de ceux de SOUTHWOOD et al (1995) qui ne trouvent aucune association significative entre ESR et la taille de portée dans trois lignées Large White britanniques. Tout semble donc indiquer que d'autres gènes que ESR interviennent sur le déterminisme de la prolificité.

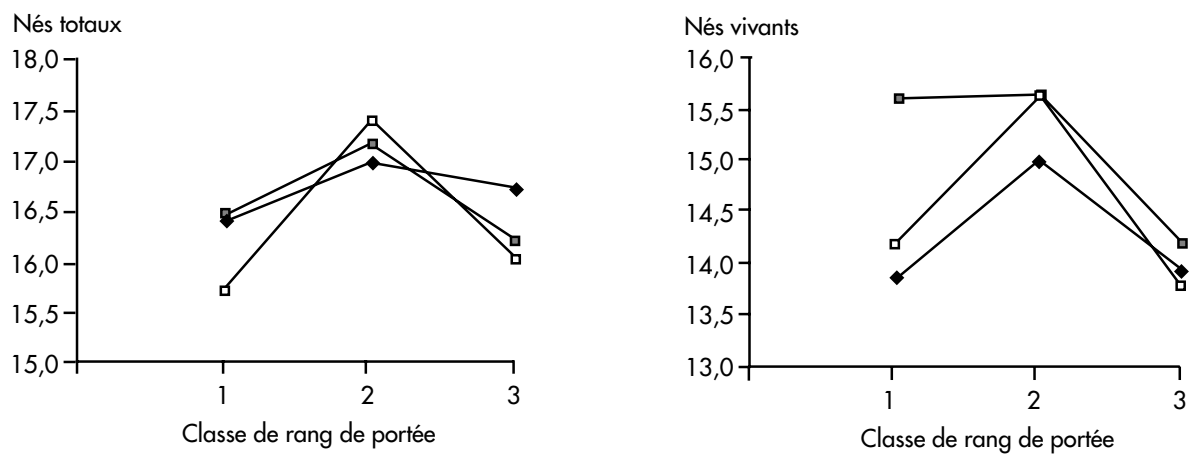
Cette étude qui se limite à la race Large White mériterait d'être étendue à d'autres races maternelles comme le Landrace et les lignées sino-européennes. En outre, l'analyse

Figure 1 - Estimées des valeurs génotypiques

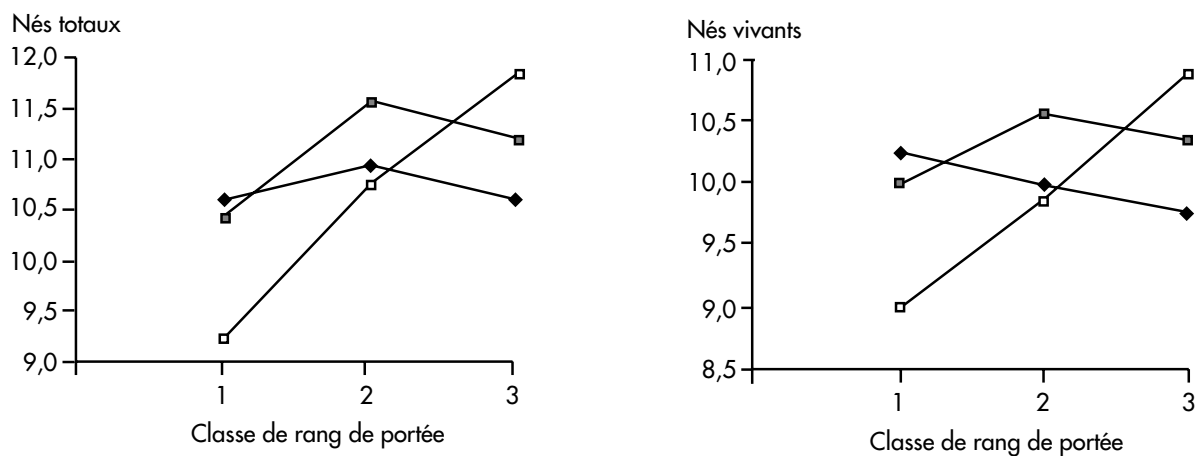
Ensemble des truies



Truies hyperprolifiques



Truies témoins



Génotypes :

—□— AA

—◆— AB

—□— BB

rigoureuse des effets du génotype au locus ESR reste à faire selon un dispositif expérimental établi de manière à mieux prendre en compte les effets du milieu et l'ensemble des relations de parenté entre individus.

Bien que les conclusions de cette étude s'appuient sur un nombre de truies très limité et un modèle d'analyse qui ne prend pas totalement en compte les effets troupeau-année-saison, la discordance observée entre les lignées américaines et notre échantillon Large White français suggère que le polymorphisme au locus ESR étudié ici ne serait pas directement impliqué dans la prolificité. Ce typage ESR pourrait seulement révéler l'existence d'un gène de prolificité étroitement lié à ESR. Comme le suggèrent ROTHSCCHILD

et al (1995), une cartographie détaillée du voisinage immédiat de ESR devrait permettre de mieux préciser le phénomène.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient J.C. CARITEZ et J. GOGUÉ respectivement responsables des unités expérimentales porcines du Magneraud et de Galle pour leur participation aux prises de sang, Germaine BURGAUD de l'unité de génétique moléculaire du Magneraud pour les extractions d'ADN et D. MILAN du Laboratoire de Génétique Cellulaire de Toulouse pour le conditionnement des échantillons et leur expédition à l'Université d'Iowa.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BIDANEL J.P., GRUAND J., LEGAULT C., 1994. Proc. 5th World Congr. Genet. Appl. Livestock Prod., 17, 512-515.
- DUCOS A., 1994. Thèse. Institut National Agronomique Paris-Grignon, 177p.
- LE ROY P., LEGAULT C., GRUAND J., OLLIVIER L., 1987. Génét. Sél. Evol., 19, 351-364.
- LEGAULT C., GRUAND J., 1976. Journées Rech. Porcine en France, 8, 201-206.
- OLLIVIER L., 1981. Eléments de génétique quantitative. Masson, Paris, 152 p.
- OLLIVIER L., GELLIN J., MILAN D., POPESCU P., VAIMAN M., YERLE M., 1995. Journées Rech. Porcine en France, 27, 127-134.
- ROTHSCCHILD M.F., JACOBSON C., VASKE D.A., TUGGLE C.K., SHORT T., SASAKI S., ECKARDT G.R., McLAREN D.G., 1994. Proc. 5th World Congr. Genet. Appl. Livestock Prod., 21, 225-228.
- ROTHSCCHILD M.F., VASKE D.A., TUGGLE C.K., MESSER L.A., McLAREN D.G., SHORT T.H., ECKARDT G.R., MILEHAM A.J., PLASTOW G.S., 1995. 46ème Réunion Annuelle de la Fédération Européenne de Zootechnie, Prague, 4-7 septembre 1995, 8p.
- SOUTHWOOD O.I., VAN DER STEEN H.A.M., MILEHAM A.J., CUTHBERT-HEAVENS D., 1995. 46ème Réunion Annuelle de la Fédération Européenne de Zootechnie, Prague, 4-7 septembre 1995, 4p.