

Déterminisme génétique de la teneur en lipides intramusculaires dans une population F2 Duroc x Large White

Marie-Pierre SANCHEZ⁽¹⁾, Pascale LE ROY⁽¹⁾, Hugues GRIFFON⁽²⁾, Jean-Claude CARITEZ⁽²⁾,
Xavier FERNANDEZ⁽³⁾, Christian LEGAULT⁽¹⁾ et Gilles GANDEMER⁽⁴⁾

⁽¹⁾ INRA, Station de Génétique Quantitative et Appliquée, Domaine de Vilvert, 78 352 Jouy-en-Josas Cedex

⁽²⁾ INRA, Domaine Expérimental du Magneraud, 17 700 Surgères

⁽³⁾ ENSA Toulouse, Laboratoire de Zootechnie et Qualités des Produits Animaux,
BP 107, Avenue de l'Agrobiopole, 31 326 Castanet Tolosan

⁽⁴⁾ INRA, Laboratoire des Interactions des Molécules Alimentaires, BP 71627, 44 316 Nantes Cedex 3

Déterminisme génétique de la teneur en lipides intramusculaires dans une population F2 Duroc x Large White

L'objectif de cette étude est de rechercher un gène à effet majeur sur la teneur en lipides du muscle *longissimus dorsi* en race Duroc. Pour cela, 775 descendants F2 ont été obtenus à partir d'un croisement entre des verrats Duroc et des truies Large White. Une analyse de ségrégation a été réalisée sur les données normalisées (corrigées pour l'asymétrie de la distribution) et non-normalisées. Dans les 2 cas, nous mettons en évidence un allèle récessif avec un effet majeur sur la teneur en lipides intramusculaires. Toutefois, quand les données sont normalisées, la statistique de test est beaucoup moins significative et la différence entre les moyennes des homozygotes extrêmes est légèrement plus faible. En effet, le risque de commettre une erreur en concluant à la présence d'un gène majeur est inférieur à 10⁻⁸% pour les données non-normalisées et à 2% pour les données normalisées. De plus, la différence du taux de lipides intramusculaires entre les moyennes des homozygotes extrêmes est égale à 1,8% pour les données non-normalisées et à 1,4% pour les données normalisées, ce qui correspond à 2,5 et 1,7 écarts-types phénotypiques, respectivement. Ces résultats montrent que l'analyse de ségrégation, réalisée sur des données non normalisées, peut conduire à une surestimation de l'effet du gène, voire à la détection d'un faux gène majeur. Par ailleurs, les valeurs de l'héritabilité, calculées dans notre étude, sont discutées en faveur de la présence des allèles en ségrégation.

Genetic determinism of intramuscular fat in a F2 Duroc x Large White population

The aim of this study is to search for a major gene affecting intramuscular fat of *longissimus dorsi* in Duroc pigs. Phenotypic measurements were performed on 775 F2 individuals of a cross between Duroc and Large White pigs. A segregation analysis was performed on normalised (corrected for the skewness of the distribution) or non-normalised data. A recessive allele having a major effect on intramuscular fat was displayed in both cases. However, the test statistic is much less significant and the difference between extreme homozygous is slightly lower when data are normalised. Significance level of the test statistic was lower than 10⁻⁸% for non-normalised data and 0.02 for normalised data. In addition, the difference between means of extreme homozygous was 1.8% for non-normalised data and 1.4% for normalised data, what it corresponds to 2.5 and 1.7 phenotypic standard deviation, respectively. Thus, these results suggest that segregation analysis, performed on non-normalised data, can lead to an overestimation of the gene effect and even to the detection of a false major gene. In addition, heritability estimates of intramuscular fat are discussed in favour of the presence of alleles in segregation.

INTRODUCTION

Chez le porc, la teneur en lipides intramusculaires (LIM) est considérée comme l'un des facteurs biologiques influençant les qualités organoleptiques de la viande (FERNANDEZ et al., 1999). Par des techniques d'analyse de ségrégation dans des pedigrees complexes appliquées à des données concernant des animaux sino-européens, JANSSE et al. (1997) ont postulé l'existence d'un gène, noté *MI*, à effet majeur sur ce caractère. Les résultats de cette étude montrent la ségrégation d'un allèle récessif (nommé « *imf* » pour « intramuscular fat ») augmentant fortement le taux de LIM et d'origine Meishan, race chinoise connue par ailleurs pour sa teneur élevée en LIM (GANDEMER et al., 1990). Parmi les races porcines, les populations Duroc ont la particularité de présenter de fortes teneurs en LIM (BOUT et al., 1990) tout en ayant les performances de croissance et de composition corporelle des races dites « industrielles » (YOUNG, 1992). Cette caractéristique fait de la race Duroc une ressource génétique tout à fait intéressante pour l'amélioration du taux de LIM. Afin de tester l'hypothèse de la présence de l'allèle récessif *imf* dans la race Duroc et, dans l'affirmative, de documenter les effets du gène *MI* sur les performances de production, un programme expérimental a été mis en place à l'INRA en 1998. Cette communication rapporte les premiers résultats obtenus quant à l'estimation de la variabilité génétique du taux de LIM dans un croisement F2 entre les races Duroc et Large White.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. Animaux

Un total de 204 animaux de race Duroc provenant du troupeau de sélection de SELPA S.A. (117 mâles et 87 femelles) a fait l'objet d'une biopsie à 70 kg de poids vif (TALMANT et al., 1989) en vue de doser les lipides dans le muscle *longissimus dorsi* (au niveau de la dernière côte). Les lipides ont été extraits du muscle suivant la méthode de FOLCH et al. (1957). Les extraits ont été transméthylés (MORRISON et SMITH, 1964) en présence d'un étalon interne (l'acide heptadécanoïque). La teneur en lipides du muscle a été estimée à partir de la quantité d'esters méthyliques déterminée par chromatographie en phase gazeuse d'après la quantité d'étalon interne ajouté. Parmi les animaux Duroc, 8 mâles présentant de fortes teneurs en LIM (de 3,3 à 5,8 %) ont été choisis pour être accouplés à 37 truies Large White de l'élevage porcin du Domaine INRA du Magneraud (Surgères, Charente Maritime). Sous l'hypothèse de l'existence de l'allèle *imf* dans la population Duroc utilisée, ces 8 verrats avaient une forte probabilité d'être de génotype homozygote récessif *imf/imf* alors que les truies Large White étaient supposées être homozygotes « normales » *IMF/IMF*. Au total, 345 descendants F1 ont été produits et soumis à une biopsie en cours d'engraissement (à 70 kg) pour le dosage des LIM. Parmi eux, 10 verrats et 32 cochettes, présentant des valeurs faibles à moyennes du taux de LIM (de 0,8 à 3,4 %) et supposés être hétérozygotes *IMF/imf*, ont été choisis au hasard pour produire la génération suivante. Au total, 775 animaux F2 ont été produits en 3 séries, correspondant à 3 portées successives d'une même truie. Chaque série a été conduite

sur 4 bandes de contemporains. Tous les animaux F2 ont été soumis à une mesure du taux de LIM à partir d'un échantillon prélevé par biopsie à 70 kg de poids vif. Dans ce croisement de seconde génération, si notre hypothèse est vraie, nous devrions observer la ségrégation des allèles au gène *MI*, la population F2 étant constituée de $1/4$ d'animaux homozygotes récessifs *imf/imf* présentant de fortes valeurs de LIM et de $3/4$ d'animaux homozygotes dominants ou hétérozygotes présentant de faibles valeurs de LIM.

1.2. Analyses statistiques

1.2.1. Effets de milieu

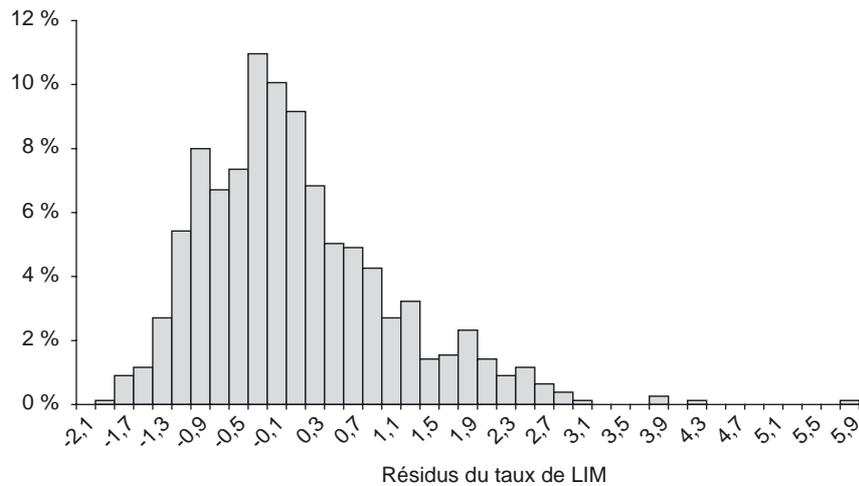
Les effets du milieu sur le taux de LIM ont été étudiés en utilisant la procédure GLM de SAS (SAS Institute, 1992). Dans chaque génération, les effets de la bande d'engraissement (16 niveaux en race Duroc, 4 en F1 et 12 en F2), du sexe (femelle ou mâle entier en Duroc et F1 et femelle ou mâle castré en F2) et du poids vif au moment de la biopsie ont été testés. Seul le poids vif au moment de la biopsie n'avait pas d'effet significatif sur le taux de LIM, cette covariable a donc été exclue du modèle. Les autres effets du modèle se sont révélés très significatifs et ont été pris en compte dans la suite des analyses.

1.2.2. Estimation de l'héritabilité

Dans une population, la ségrégation des allèles en un locus à effet quantitatif affecte les estimations des paramètres génétiques. Ainsi, l'obtention d'une valeur d'héritabilité forte est-elle souvent associée à l'existence d'un gène à effet majeur sur le caractère (LE ROY et ELSEN, 1991). Bien que nous nous intéressions ici à une population d'animaux croisés, nous avons donc pensé intéressant d'estimer le coefficient d'héritabilité du taux de LIM. Pour cela nous avons employé une procédure REML appliquée à un modèle animal avec le logiciel VCE (NEUMAIER et GROENEVELD, 1998). Cette méthode permet la prise en compte de l'ensemble de l'information généalogique disponible. Pour ce même pedigree, nous avons considéré différents jeux de données prenant en compte soit l'ensemble des mesures (Duroc, F1 et F2), soit des sous-ensembles concernant les différents types génétiques (Duroc ou F1 ou F2). Outre les effets de milieu cités précédemment, le modèle d'analyse prenait en compte les effets aléatoires de la portée de naissance et de la valeur génétique additive de l'animal.

1.2.3. Analyse de ségrégation

Les données concernant les animaux F1 et F2, corrigées au préalable pour les effets de milieu à l'aide de la procédure SAS-GLM, ont ensuite été soumises à une analyse de ségrégation (ELSTON et STEWART, 1971). Le principe de cette méthode est de maximiser la vraisemblance des données sous différentes hypothèses d'hérédité d'un caractère dans le but de retenir celle qui explique le mieux les observations. Les hypothèses mises en présence ici sont l'hypothèse d'un déterminisme mixte (un gène majeur + des polygènes : H1) et l'hypothèse d'un déterminisme polygénique (H0) du taux de LIM. De plus, l'analyse de ségrégation fournit des estimations des

Figure 1 - F2 : distribution du taux de lipides intramusculaires corrigée pour les effets de milieu

paramètres décrivant le modèle explicatif retenu et éventuellement, des probabilités des génotypes pour chaque animal.

Pour réaliser cette analyse de ségrégation, le pedigree a été simplifié en considérant l'échantillon comme un ensemble de familles de demi-frères, issus d'un même père, indépendantes (descendants F2 issus de parents F1). Par ailleurs, la distribution du taux de LIM est très asymétrique (figure 1). L'analyse de ségrégation étant peu robuste à l'asymétrie des distributions (DEMENAIS et al., 1986), les données ont été soumises conjointement à l'analyse de ségrégation à une transformation de type Box-Cox (McLEAN et al., 1976) qui normalise les distributions intra-génotype. Dans le but de comparer les deux types de résultats, l'analyse de ségrégation a également été effectuée, comme dans l'étude de JANSS et al. (1997), sans normalisation des données.

2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

2.1. Héritabilité du taux de LIM

Les coefficients d'héritabilité estimés sont présentés dans le tableau 1. La valeur obtenue en considérant l'ensemble des mesures de LIM (Duroc, F1 et F2) se révèle beaucoup plus élevée que les estimées intra-génération, l'estimée la plus faible étant observée en considérant uniquement les performances des animaux F2. D'après la moyenne de la littérature, l'héritabilité du taux de LIM est estimée voisine de 0,50 (HOVENIER et al., 1993). Le résultat obtenu ici sur des données concernant un mélange de populations ou des popula-

tions croisées est bien sûr à prendre avec beaucoup de précautions. Toutefois, il peut révéler l'existence d'effets de dominance forts qui sont à rapprocher de l'hypothèse de la ségrégation des allèles *imf* et *IMF* au locus *M1*. La faible valeur d'héritabilité obtenue sur la génération F2 serait alors le reflet de la moindre ressemblance entre pleins frères découlant de la ségrégation des trois génotypes, et donc des deux phénotypes, intra-portée. A l'inverse, la forte valeur obtenue sur l'ensemble des données serait le reflet de l'hétérogénéité entre familles dans une population où les trois génotypes sont représentés chez les parents.

2.2. Analyse de ségrégation

Les résultats de l'analyse de ségrégation sur les données normalisées ou non-normalisées suggèrent, dans les deux cas, la présence d'un allèle récessif à effet majeur sur la teneur en LIM (tableau 2). Toutefois, la correction des distributions pour l'asymétrie affecte très fortement la valeur du rapport de vraisemblance et, dans une moindre mesure, l'estimation de l'effet du gène. En effet, sans cette correction, le rapport de vraisemblance est 7 fois plus élevé et la différence entre les moyennes des animaux homozygotes extrêmes augmente de 0,4 %. La différence est de 1,8 % pour les données non-normalisées (2,5 écart-types intra-génotype) et de 1,4 % (1,7 écart-type intra-génotype) pour les données normalisées. Ces résultats confirment la difficulté d'appliquer une analyse de ségrégation à l'étude d'un caractère dont la distribution est fortement asymétrique. En effet, il est difficile devant ces résultats de conclure définitivement à l'existence d'un gène

Tableau 1 – Estimations de l'héritabilité pour le taux de lipides intramusculaires en fonction des performances prises en compte dans le calcul (pedigree composé de 1564 individus)

Performances prises en compte	Nombre de performances	$h^2 \pm$ erreur standard
Duroc	204	0,21±0,11
F1	345	0,27±0,16
F2	775	0,11±0,05
Duroc+F1+F2	1324	0,58±0,08

Tableau 2 – Résultats de l'analyse de ségrégation : estimées du maximum de vraisemblance des paramètres et conclusion du test d'hypothèse

Paramètres (1)	Sans transformation Box-Cox		Avec transformation Box-Cox	
	H0	H1	H0	H1
μ_0	-0,04		-0,19	
$\mu_{IMF/IMF}$		-0,36		-0,47
$\mu_{IMF/imf}$		-0,34		-0,40
$\mu_{imf/imf}$		1,42		0,95
$\mu_{imf/imf} - \mu_{IMF/IMF}$ (en σ_p)		2,5		1,7
h^2	0,11	0,18	0,12	0,18
$P_{IMF/IMF}$		0 %		0 %
$P_{IMF/imf}$		100 %		100 %
Rapport de vraisemblance Significatif au risque de Conclusion	83,0 < 10^{-10} Déterminisme mixte		11,9 0,02 Déterminisme mixte	

(1) μ_0 : moyenne sous H0 ; $\mu_{IMF/IMF}$, $\mu_{IMF/imf}$ et $\mu_{imf/imf}$: moyennes des génotypes « IMF/IMF », « IMF/imf » et « imf/imf » sous H1, respectivement ; σ_p : écart-type phénotypique ; h^2 : hérédité ; $P_{IMF/IMF}$ et $P_{IMF/imf}$: fréquences des reproducteurs de génotype « IMF/IMF » et « IMF/imf », respectivement.

majeur tant le rapport de vraisemblance est affecté par la normalisation des données. A l'inverse, il est certain comme le montrent DEMENAI et al. (1986) que cette transformation des données a pour effet direct d'affecter fortement la puissance de la statistique de test employée. Le rapport de vraisemblance restant significatif au risque de 2 % après normalisation des données, nous concluons donc en retenant l'hypothèse d'un déterminisme mixte du taux de LIM mais en soulignant que ce résultat demande à être confirmé, par exemple en utilisant des informations portant sur des marqueurs moléculaires. En effet, la ségrégation des allèles aux marqueurs doit permettre dans un tel contexte d'améliorer la robustesse de l'analyse en identifiant mieux asymétrie et mélange de distributions.

Les estimations de l'hérédité résiduelle sont identiques avec ou sans normalisation des données : 0,18 dans les deux cas. Il est à noter que cette valeur se rapproche de celle obtenue précédemment sur les données concernant les animaux F1 chez lesquels nous n'attendons pas de ségrégation des phénotypes porteurs ou non porteurs de IMF.

Les fréquences des génotypes dans la population des reproducteurs F1 ont également été estimées. Avec ou sans normalisation des données, il apparaît que 100 % des parents F1 sont hétérozygotes. Les grands-parents étaient donc homozygotes extrêmes. Les grands-pères Duroc étaient probablement *imf/imf* et les grands-mères Large White *IMF/IMF*. Ce qui ne signifie pas pour autant que les allèles étaient fixés dans les 2 races car les verrats Duroc ont été choisis sur la base de leur forte teneur en LIM et les quelques animaux F1 présentant de fortes teneurs en LIM n'ont pas été retenus comme reproducteurs.

En ce qui concerne les effets du gène détecté, en race Meishan la teneur en lipides du long dorsal des animaux

portant 2 copies de l'allèle récessif était de 2,1 % supérieure à celle des animaux ayant 1 ou aucune copie de cet allèle (JANSS et al., 1997). Cette valeur, obtenue sans transformation des données, est proche de celle que nous obtenons (1,8 %). Il se pourrait donc que l'allèle récessif, détecté ici en race Duroc, soit le même que celui mis en évidence en race Meishan. Par ailleurs, le polymorphisme de 2 gènes candidats : A-FABP et H-FABP (« Adipocyte » et « Heart Fatty Acid Binding Protein », respectivement), situés respectivement sur les chromosomes 4 et 6, a été étudié en association avec la teneur en LIM d'une population Duroc et des animaux sino-européens avec lesquels JANSS et al. (1997) ont mis en évidence le gène majeur *MI* (GERBENS et al., 1998, 1999, 2000). Une association avec le gène H-FABP a été mise en évidence dans les 2 races, mais elle expliquait une différence de seulement 0,4 % entre les génotypes. L'association avec le gène A-FABP a, quant à elle, été mise en évidence uniquement en race Duroc et elle expliquait une différence de 1 % de la teneur en LIM. Il faut toutefois souligner la très faible fiabilité de ces études d'associations qui ne vérifient en aucune façon la transmission génétique des caractères étudiés. A l'inverse, plusieurs études génétiques récentes mettent en évidence une coségrégation entre des marqueurs situés sur les chromosomes 4 ou 6, et également 2 ou 7, et la teneur en LIM (DE KONING et al., 1999 ; BIDANEL et al., 2000 ; OVILO et al., 2000 ; RATTINK et al., 2000 ; GRINDFLEK et al., 2001). Ces études impliquent des croisements avec des animaux Meishan ou Duroc, excepté celle d'OVILO et al. (2000) qui a été réalisée à partir d'un croisement entre des porcs Ibériques et Landrace. Toutefois, dans tous les cas, la différence de teneur en LIM entre les animaux de génotypes différents était inférieure à 1 %. Le fait que ces différentes études n'aient pas encore permis de localiser le locus majeur *MI* sur le génome du porc nous incite également à accepter avec prudence l'hypothèse de l'existence du gène majeur *MI*.

CONCLUSION

Un allèle récessif à effet majeur sur la teneur en LIM est vraisemblablement présent en race Duroc. Les animaux de génotype *imf/imf* présentent en moyenne une teneur en LIM supérieure de 1,8 g / 100 g de muscle par rapport aux animaux porteurs de l'allèle dominant *IMF*. Les résultats présentés dans cette étude sont donc encourageants en vue d'augmenter la teneur en LIM par de nouvelles stratégies de sélection. De plus, plusieurs études montrent que des régions chromosomiques, situées sur les chromosomes 2, 4, 6 et 7 sont impliquées dans le déterminisme génétique de la teneur en LIM. La prochaine étape, actuellement en cours, est de génotyper les animaux de notre étude pour des marqueurs situés dans ces régions afin de voir si des associations entre des allèles marqueurs et les

allèles au gène majeur existent. Enfin, si l'existence de ce gène majeur se confirme, il faudra déterminer si la viande des animaux de génotype homozygote récessif présente effectivement de meilleures qualités organoleptiques d'une part, et si cet allèle a des effets pléiotropiques sur la composition corporelle des animaux d'autre part.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été menée dans le cadre de l'AIP INRA « Caractéristiques biologiques et qualités de la viande de porc ». Les auteurs tiennent à remercier l'ensemble des participants au groupe de travail INRA « Qualités des viandes porcines » pour la richesse des discussions ayant mené à la réalisation de ce projet.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BIDANEL J.P., MILAN D., IANNUCELLI N., et al., 2000. J. Rech. Porcine en France, 32, 369-383.
- BOUT J., GIRARD J.P., SELLIER P., RUNAVOT J.P., 1990. J. Rech. Porcine en France, 22, 29-34.
- DE KONING D.J., JANSS L.L.G., RATTINK A.P., VAN OERS P.A.M., DE VRIES B.J., GROENEN M.A.M., VAN DER POEL J.J., DE GROOT P.N., BRASCAMP E.W., VAN ARENDONK J.A.M., 1999. Genetics, 152, 1679-1690.
- DEMENAI F., LATHROP M., LALOUEL J.M., 1986. Am. J. Hum. Genet., 38, 228-234.
- ELSTON R.C., STEWART J., 1971. Human hered., 21, 523-542.
- FERNANDEZ X., MONIN G., TALMANT A., MOUROT J., LEBRET B., 1999. Meat Science, 53, 67-72.
- FOLCH J., LESS M., SLOANE-STANLEY G.R., 1957. J. Biol. Chem., 226, 497-509.
- GANDEMER G., PICHOU D., BOUGUENNEC B., CARITEZ J.C., BERGE P., BRIAND E., LEGAULT C., 1990. J. Rech. Porcine en France, 22, 101-110.
- GERBENS F., JANSEN A., VAN ERP A.J.M., HARDERS F., MEUWISSEN T.H.E., RETTENBERGER G., VEERKAMP J.H., TE PAS M.F.W., 1998. Mamm. Genome, 9, 1022-1026.
- GERBENS F., VAN ERP A.J.M., HARDERS F., VERBURG F.J., MEUWISSEN T.H.E., VEERKAMP J.H., TE PAS M.F.W., 1999. J. Anim. Sci., 9, 1022-1026.
- GERBENS F., DE KONING D.J., HARDERS F.L., MEUWISSEN T.H.E., JANSS L.L.G., GROENEN M.A.M., VEERKAMP J.H., VAN ARENDONK J.A.M., TE PAS M.F.W., 2000. J. Anim. Sci., 70, 552-559.
- GRINDFLEK E., SZYDA J., LIU Z., LIEN S., 2001. Mamm. Genome, 12, 299-304.
- GROENEVELD E., KOVAC M., 1990. J. Dairy Sci., 73, 2221-2229.
- HOVENIER R., KANIS E., VAN ASSELDONK T., WESTERINK N.G., 1993. Pig News and Information, 14 (1), 17N-25N.
- JANSS L.L.G., VAN ARENDONK J.A.M., BRASCAMP E.W., 1997. Genetics, 145, 395-408.
- LE ROY P., ELSEN J.M., 1991. 2nd International Workshop on Major Genes for Reproduction in Sheep, Toulouse, 16-18 juillet 1990, Les Colloques n°57, 431-440, INRA Ed., Paris.
- MACLEAN C.J., MORTON N.E., ELSTON R.C., YEE S., 1976. Biometrics, 32, 695-699.
- MORRISON W.R., SMITH L.M., 1964. J. Lip. Res., 5, 508-608.
- NEUMAIER A., GROENEVELD E., 1998. Genet. Sel. Evol., 30, 3-26.
- OVILO C., PEREZ-ENCISO M., BARRAGAN C., CLOP A., RODRIGUEZ C., OLIVER M.A., TORO M.A., NOGUERA J.L., 2000. Mamm. Genome, 11, 344-346.
- RATTINK A.P., DE KONING D.J., FAIVRE M., HARLIZIUS B., VAN ARENDONK J.A.M., GROENEN M.A.M., 2000. Mamm. Genome, 11, 656-661.
- SAS Institute, SAS/STAT, User's Guide : Statistics (Version 6). SAS Institute Inc., Cary, NC, 1992.
- TALMANT A., FERNANDEZ X., SELLIER P., MONIN G., 1989. In : Proceedings of the 35th Int. Cong. of Meat Sci. and Technol., Copenhagen, Danemark, 1129-1131.
- YOUNG L.D., 1992. J. Anim. Sci., 70, 2030-2037.