

## Apport des nouvelles biotechnologies aux programmes d'amélioration génétique du porc

Jean-Pierre BIDANEL (1), Juliette RIQUET (2), Patrick CHARDON (3), François HATEY (2),  
Pascale LE ROY (1), Denis MILAN (2)

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

(2) I.N.R.A. – Laboratoire de Génétique Cellulaire, BP 27, 31326 Castanet-Tolosan

(3) I.N.R.A. - C.E.A. – Laboratoire de Radiobiologie et d'Etude du Génome, 78352 Jouy-en-Josas

### Apport des nouvelles biotechnologies aux programmes d'amélioration génétique du porc

Cet article évoque l'impact actuel et potentiel des biotechnologies de la reproduction et de la génétique moléculaire dans les programmes d'amélioration génétique du porc. Les changements importants opérés ces dix dernières années en liaison avec le développement de l'insémination artificielle sont tout d'abord détaillés. L'impact des biotechnologies de l'embryon est pour l'instant limité au transport et à la cryoconservation de matériel génétique. La production d'embryons in vitro et le clonage permettraient de diffuser plus rapidement et à plus grande échelle les gènes des meilleurs reproducteurs, mais les performances de ces techniques devront être améliorées avant de pouvoir envisager leur utilisation. La transgénèse est également évoquée, même si son utilisation en élevage est très peu probable dans un avenir proche. La génétique moléculaire a quant à elle permis d'améliorer considérablement notre connaissance de la structure du génome et d'identifier de nombreux locus à effets quantitatifs pour les principaux caractères d'intérêt. Des programmes de cartographie fine visent à identifier les mutations à l'origine des variations observées. Les grands programmes de génomique fonctionnelle actuellement développés peuvent contribuer à atteindre cet objectif. Les informations moléculaires sont actuellement utilisées chez le porc pour caractériser la diversité génétique, contrôler les filiations et à des fins de certification. L'utilisation à des fins de sélection, pour l'instant modeste, devrait s'accroître avec l'amélioration des connaissances sur les QTL. Des perspectives futuristes combinant les biotechnologies de l'embryon et une sélection basée sur les informations moléculaires sont également évoquées.

### Impact of new biotechnology on breeding programmes in pigs

In this paper, we discuss the current and potential impact of reproductive biotechnology and molecular genetics in pig breeding programmes. The important changes related to the development of artificial insemination over the ten last years are detailed first. The impact of embryo biotechnology has until now been limited to the cryopreservation and transport of genetic stocks. In vitro embryo production and cloning would allow genes from the best breeding animals to be disseminated faster and on a larger scale, but the results of these techniques have to be improved for their use to be considered. Genetic modification techniques are also mentioned, although their use is very unlikely in the near future. Molecular genetics has allowed our knowledge of the genome structure to be dramatically improved and many quantitative trait loci (QTL) affecting most traits of interest to be mapped. Fine mapping programmes aim at identifying mutations underlying the observed trait variations. The large functional genomics programmes currently under way may contribute to reach this goal. Molecular information is currently used in pigs for the characterization of genetic diversity, parentage control and attestation. Its use for selection is currently modest, but should increase with increasing QTL knowledge. Futuristic prospects combining embryo biotechnology and selection based on molecular information are also mentioned.

## INTRODUCTION

On regroupe généralement sous le terme de biotechnologies animales un ensemble de techniques mises au point à partir des connaissances acquises sur le génome, la reproduction et le développement embryonnaire. Les biotechnologies de la reproduction incluent des techniques comme l'insémination artificielle, le transfert d'embryons, le sexage et la cryoconservation de gamètes et d'embryons, la fécondation in vitro, le clonage ou la transgénèse. La génétique moléculaire désigne des techniques issues de l'analyse de la structure du génome (sélection ou introgression de gènes directe ou assistée par marqueurs, contrôle de filiation, étude et gestion de la diversité génétique, ...) ou de l'étude de son fonctionnement (biopuces, ...).

A l'exception notable de l'insémination artificielle, l'impact des biotechnologies dans les filières animales, en particulier dans les programmes d'amélioration génétique, est jusqu'à présent resté assez modeste. Quelques développements récents méritent toutefois être mentionnés, en particulier l'utilisation du transfert embryonnaire (COLLEAU et al., 1998) et la mise en place d'une sélection assistée par marqueurs (BOICHARD et al., 2002) chez les bovins laitiers ou la sélection contre la sensibilité à la tremblante chez les ovins (BARILLET et al., 2002). Chez le porc, l'éradication, dans un premier temps à l'aide de marqueurs (COURREAU et al., 1985), puis d'une sonde moléculaire (FUJII et al., 1991), de l'allèle au locus Hal responsable de la sensibilité au stress dans certaines populations, la mise au point récente d'un typage de l'allèle RN- (MILAN et al., 2000) et la détection des anomalies chromosomiques (DUCOS et al., 2002a) constituent les principales applications des biotechnologies dans les programmes d'amélioration génétique.

Les possibilités d'application de ces nouvelles technologies pour l'amélioration génétique des espèces d'élevage sont pourtant nombreuses, que ce soit pour permettre une meilleure connaissance de la valeur génétique des reproducteurs, accroître la diffusion des gènes améliorateurs ou mieux gérer la diversité génétique (VALIN, 2001). Leur utilisation réelle dépendra toutefois d'éléments techniques et économiques comme leur caractère opérationnel à grande échelle, leur coût et leur intérêt zootechnique, sanitaire et génétique, mais également de leur image et de leur acceptabilité par la société. Cet article a pour objectif d'analyser l'impact potentiel des biotechnologies de la reproduction et de la génomique dans les programmes d'amélioration génétique du porc. Nous n'évoquerons par contre pas les progrès réalisés dans d'autres disciplines comme la métrologie ou l'informatique, qui jouent également un rôle essentiel et très complémentaire de celui des biotechnologies dans l'amélioration de l'efficacité des programmes d'amélioration génétique (LE ROY, 2002). Pour ne citer que quelques exemples, on peut mentionner le rôle essentiel de l'informatique dans le développement de la biologie moléculaire et ses applications, de la traçabilité des animaux et des produits, de l'épidémiologie ou encore l'intérêt des techniques d'acquisition automatique de données ou d'images.

## 1. IMPACT DES BIOTECHNOLOGIES DE LA REPRODUCTION

Une revue très détaillée des biotechnologies de la reproduction porcine figure dans l'article de MERMILLOD et al., (2003) lors de ces mêmes journées. Nous limiterons de ce fait notre présentation aux applications actuelles et potentielles de ces technologies pour l'amélioration génétique du porc.

### 1.1. Impact des technologies de la semence

#### 1.1.1. Insémination artificielle

L'insémination artificielle (IA) est une technique relativement ancienne, qui s'est développée dès les années 1940 chez les bovins laitiers. Son utilisation à grande échelle chez le porc est beaucoup plus récente, puisqu'elle n'a débuté en France et dans de nombreux autres pays qu'à la fin des années 1980. Le taux d'utilisation de l'IA en France est actuellement de l'ordre de 65 %. L'IA, réalisée pour l'essentiel sous forme de semence fraîche chez le porc, a permis d'augmenter sensiblement le taux de reproduction des meilleurs verrats. En dissociant la production de la mise en place de la semence, elle a d'autre part grandement facilité l'utilisation d'un même verrot dans plusieurs élevages et ainsi permis d'établir les connexions génétiques entre élevages nécessaires à la mise en place d'une évaluation génétique de type « BLUP modèle animal ». L'IA contribue à accroître les intensités de sélection réalisables, directement par son effet sur le taux de reproduction des verrats, et indirectement en permettant de comparer des animaux, non plus uniquement intra-bande de contrôle, mais dans l'ensemble de la population. L'emploi du BLUP – modèle animal permet par ailleurs d'utiliser les performances de l'ensemble des apparentés contrôlés de chaque animal et ainsi d'accroître la précision de l'estimation des valeurs génétiques. L'IA a en particulier fortement contribué au succès des programmes d'« hyperprolificité » (LEGAULT et GRUAND, 1976 ; HERMENT et al., 1994) en France.

En matière de diffusion du progrès génétique, l'IA permet à un plus grand nombre d'éleveurs d'accéder à des verrats de haut niveau génétique. Dans le cas de schéma de croisement à 3 voies, l'IA peut même permettre l'accès à des verrats de race pure directement issus des noyaux de sélection. Enfin, l'IA a profondément modifié les stratégies commerciales des organisations de sélection porcine, le commerce des verrats ayant dans une large mesure été remplacé par des redevances sur les doses de semence vendues.

D'autre part, l'IA permet de réduire sensiblement les risques sanitaires en limitant les mouvements de reproducteurs entre élevages et en facilitant le contrôle de la qualité sanitaire des reproducteurs, même si elle ne constitue pas une barrière sanitaire parfaitement étanche.

A l'inverse, un emploi irraisonné de l'IA, en particulier l'utilisation à grande échelle de quelques verrats exceptionnels, peut se traduire par une réduction importante de variabilité génétique. Ce phénomène est malheureusement loin d'être

exceptionnel et a notamment conduit à une réduction importante de variabilité génétique dans les principales populations porcines françaises (Maignel et al., 1997 ; Maignel et Labroue, 2001). D'autre part, l'IA constitue un vecteur potentiel de diffusion d'anomalies génétiques d'autant plus important que la capacité de diffusion d'un reproducteur est élevée. L'espèce bovine a ainsi été confrontée ces dernières années à la diffusion à grande échelle de plusieurs anomalies, avec des conséquences économiques parfois importantes (Ducos et al., 2002b). Des situations similaires, quoique de plus faible ampleur, se sont produites chez le porc pour des translocations réciproques. Une recherche systématique des anomalies connues ou détectables chez les reproducteurs destinés à être utilisés à grande échelle permet de limiter les risques. Elle doit néanmoins être complétée par la mise en place de programmes de surveillance permettant de repérer rapidement et d'éviter la diffusion à grande échelle d'une anomalie. C'est dans ce but qu'a été initié en France un projet d'observatoire des anomalies génétiques (Ducos et al., 2002b). Centré dans un premier temps sur l'espèce bovine, cet observatoire devrait à l'avenir étendre ses activités à d'autres espèces dont le porc.

### 1.1.2. Congélation de la semence

En permettant de dissocier temporellement la production de la mise en place de la semence, la congélation en assouplit les conditions d'utilisation. Son utilisation à grande échelle chez le porc est à l'heure actuelle limitée par un coût supérieur et une utilisation plus difficile que celle de la semence fraîche (Mermillod et al., 2003). La congélation n'en constitue pas moins un outil extrêmement utile de conservation et de gestion de la variabilité génétique, même s'il ne permet pas de conserver l'intégralité du génome d'un individu. Elle est de ce fait la principale technique utilisée dans les programmes de cryoconservation des populations menacées d'extinction (Labroue et al., 2000). L'IA congelée est également un outil extrêmement précieux pour gérer les risques, notamment sanitaires, associés à la création d'une lignée originale ou pour apporter de la souplesse dans le transport de matériel génétique sur de grandes distances.

### 1.1.3. Sexage de la semence

Le tri des spermatozoïdes porteurs des chromosomes X et Y permettrait d'accroître sensiblement l'efficacité économique des schémas d'amélioration génétique du porc. Dans les noyaux de sélection, la répartition optimale entre sexes dépend à la fois d'éléments relatifs à l'optimisation de la sélection et à la diffusion de reproducteurs. Le sex-ratio optimal sera par exemple généralement en faveur des femelles dans les lignées maternelles et sera plus équilibré dans les lignées mâles. Ceci étant, le principal gain que permettrait le sexage de la semence se situe au niveau des étages de multiplication et de production. En multiplication, les reproducteurs commercialisés ne concernant qu'un seul des 2 sexes. L'autre sexe engendre souvent un surcoût pour le multiplicateur. Le sexage de la semence permettrait d'éviter ce surcoût et de réduire l'effectif de femelles de race pure en multiplication. A l'étage de production, le sexage de la semence permettrait de produire une majorité d'animaux du sexe écono-

miquement le plus intéressant (sexe femelle actuellement en France). La technique de sexage de la semence à l'heure actuelle la plus performante utilise la cytométrie de flux pour trier les spermatozoïdes en fonction de leur quantité d'ADN. Elle permet de trier les spermatozoïdes de façon satisfaisante, mais avec une altération de la qualité de la semence et un débit incompatible avec une utilisation à grande échelle (Mermillod et al., 2003).

## 1.2. Impact des technologies de l'embryon

Trois grandes familles de techniques sont aujourd'hui disponibles. La plus ancienne, la transplantation embryonnaire, utilise des embryons collectés *in vivo*, le plus souvent en liaison avec un traitement de superovulation. Dans le second cas, les embryons obtenus à partir d'ovocytes prélevés *in vivo*, maturés et fécondés *in vitro* sont transplantés après une phase de développement *in vitro* compatible avec leur transfert dans l'utérus. Enfin, le clonage, qui consistait dans un premier temps à diviser un embryon à un stade précoce de son développement, désigne aujourd'hui les animaux produits par la technique de transfert nucléaire. Les applications de ces trois familles de techniques seront évoquées successivement.

### 1.2.1. La transplantation embryonnaire

La transplantation embryonnaire s'est développée depuis le début des années 80 chez les bovins et occupe actuellement une place importante dans les programmes de sélection. Elle permet notamment, en augmentant le nombre de descendants par femelle, d'intensifier la sélection des mères des taureaux d'insémination et, dans les schémas laitiers, de produire les taureaux à partir de jeunes mères (Colleau et al., 1998). Chez le porc, son utilisation est restée très limitée, pour des raisons à la fois techniques et génétiques.

La collecte des embryons reste le plus souvent réalisée après abattage ou par laparotomie, car les techniques moins lourdes (endoscopie ou collecte non-chirurgicale) sont encore expérimentales et non opérationnelles à grande échelle. De même, le transfert nécessitait jusqu'à récemment le recours à la chirurgie. Des techniques de transfert non chirurgical expérimentées ces dernières années ont toutefois donné des résultats prometteurs (Hazeleger et Kemp, 2001). Enfin, les difficultés de cryoconservation des embryons porcins, résolues uniquement ces dernières années grâce aux techniques de vitrification (Berthelot et al., 2000 ; Dobrinsky, 2001), rendaient nécessaires la synchronisation des truies donneuses et receveuses.

Sur le plan génétique, l'intérêt de la transplantation embryonnaire en vue d'accroître le nombre de descendants par femelle est très limité compte tenu de la fertilité et de la prolificité naturelles élevées des truies, du coût et de la faible augmentation du nombre de descendants par femelle. La collecte d'embryons et leur vitrification à des fins de conservation apparaissent par contre extrêmement intéressantes dans la mesure où elles permettent, contrairement à la congélation de semence, de disposer de l'ensemble du patrimoine génétique d'un individu.

Le principal intérêt du transfert d'embryons chez le porc est probablement sanitaire. Le transfert d'embryons est en effet une méthode à très faible risque sanitaire (THIBIER, 2001), qui peut être utilisée pour constituer des élevages exempts de maladies infectieuses ou assainir un élevage contaminé.

### 1.2.2. La production d'embryons *in vitro*

Déjà utilisée commercialement chez les bovins (COLLEAU et al., 1998), la production d'embryons *in vitro* est techniquement beaucoup moins avancée chez le porc (MERMILLOD et al., 2003). Si ces problèmes techniques étaient résolus, il serait théoriquement possible d'accroître de façon substantielle le nombre de descendants par femelle et par voie de conséquence les intensités de sélection sur la voie mère-fille. Ainsi, un abaissement du taux de sélection des femelles de 25 à 10 % permettrait, en supposant un taux de sélection de 5 % chez les mâles, un gain de progrès génétique pour la croissance d'environ 15 % (VISSCHER et al., 2000). Des études plus approfondies restent toutefois nécessaires afin d'évaluer l'intérêt économique de la technique en comparant le gain génétique au surcoût de production des femelles et son impact sur la variabilité génétique ou les risques de diffusion d'anomalies.

Des scénarios futuristes utilisant à grande échelle la production d'embryons *in vitro* ont également été proposés à des fins de diffusion du progrès génétique (VISSCHER et al., 2000). L'un d'entre eux consisterait à créer des « élevages d'embryons » où l'on produirait *in vitro* des embryons croisés issus des meilleurs reproducteurs des élevages de sélection. Ceux-ci seraient ensuite implantés dans des truies receveuses avec de très bonnes aptitudes de reproduction. Outre son intérêt sanitaire du fait d'une réduction des mouvements d'animaux, un schéma de ce type permettrait aux organisations de sélection de mieux contrôler la production des reproducteurs parentaux et réduirait sensiblement le retard génétique de l'étage de production par rapport aux noyaux de sélection. Un tel scénario n'est envisageable que si la production d'embryons *in vitro* et leur transfert devenaient des techniques simples avec un coût inférieur au gain réalisé sur la valeur génétique des reproducteurs. Il pourrait dans un premier temps être utilisé à une échelle plus réduite afin d'obtenir des reproducteurs grand-parentaux croisés pour la production de truies parentales issues d'un croisement à 3 voies.

### 1.2.3. Le clonage

Le clonage consiste à remplacer le génome d'une cellule receveuse, le plus souvent un ovocyte, par celui d'une autre cellule dite « donneuse ». Depuis la naissance de la célèbre brebis « Dolly » en 1997, on sait que la cellule donneuse peut être une cellule différenciée et qu'il est donc théoriquement possible de créer la copie génétique conforme d'un animal adulte (WILMUT et al., 1997). Les recherches menées depuis lors montrent que ce n'est pas totalement le cas et qu'un clone est génétiquement moins proche de l'animal donneur que ne le sont deux vrais jumeaux. Ce phénomène a plusieurs explications : 1) l'ADN mitochondrial du clone est celui de l'ovocyte

receveur et non celui de la cellule donneuse ; 2) la cellule donneuse peut avoir subi des mutations lors de sa différenciation ; 3) l'expression de l'ADN est modifiée par des phénomènes épigénétiques, notamment de méthylation, qui pourraient expliquer les malformations et le faible taux de survie des clones (RIDEOUT et al., 2001).

Le clonage a suscité ces dernières années de nombreuses controverses et pose des problèmes éthiques graves, notamment vis à vis de son application chez l'homme. Les éléments évoqués ci-après se limitent à des aspects techniques, qui ne sont bien entendu pas les seuls arguments à considérer. Malgré ces restrictions, les limites techniques actuelles et les problèmes éthiques qu'il soulève, le clonage laisse entrevoir la possibilité d'obtenir plusieurs copies génétiquement identiques (ou du moins très proches), des meilleurs reproducteurs. L'utilisation du clonage dans les noyaux de sélection n'a, à notre connaissance, pas été étudiée de façon approfondie. Il peut permettre d'accroître le nombre de candidats issus des meilleurs reproducteurs, notamment sur la voie femelle et donc d'obtenir à court terme un meilleur progrès génétique. Les effets à plus long terme sont moins évidents, dans la mesure où la diminution du nombre de reproducteurs risque de se traduire par une réduction accrue de la variabilité génétique. La création d'un clone peut également permettre d'éviter les pertes associées à une réforme prématurée des meilleurs reproducteurs. Enfin, le remplacement dans le cadre d'un contrôle de collatéraux, des pleins-frères ou demi-frères des candidats actuellement utilisés par des clones permettrait d'accroître sensiblement la précision de l'estimation de la valeur génétique de ces candidats.

Le clonage permettrait également de diffuser à plus grande échelle les gènes des meilleurs reproducteurs présents dans les noyaux de sélection. L'utilisation de clones des meilleurs verrats de race pure dans les élevages de multiplication et, le cas échéant, de production, et de clones des meilleures truies de race pure en multiplication permettrait de réduire les écarts génétiques entre les différents étages de la filière. De plus, les performances de reproduction des clones en multiplication permettraient d'accroître la précision de l'évaluation génétique sur la prolificité ou les aptitudes maternelles des truies. Le clonage peut également être envisagé sur des truies ou des verrats croisés afin d'accroître le niveau génétique moyen des animaux diffusés. Cependant, les gains génétiques ainsi réalisés devront être mis en regard du coût du clonage.

Un des intérêts souvent évoqué du clonage est la possibilité de réduire la variabilité phénotypique d'un caractère. Un lot de clones sera certes plus homogène qu'un ensemble d'animaux non apparentés pris au hasard dans une population. Cependant, le gain d'homogénéité est en général relativement faible. Sous l'hypothèse d'une identité génétique parfaite des clones, l'écart type phénotypique d'un caractère ayant une hérédabilité de 0,5 sera réduit de 29 %. Pour une hérédabilité de 0,25, la réduction n'est plus que de 13 %. Par rapport à un lot de pleins-frères, la réduction n'est plus que de 18 % et 7 %, respectivement. Cette réduction de variabilité peut néanmoins être mise à profit pour

augmenter la puissance de dispositifs expérimentaux (COLLEAU et al., 1998).

C'est toutefois en association avec la transgénèse, à partir de modifications génétiques contrôlées des cellules donneuses en culture que le clonage a suscité un grand intérêt des milieux scientifiques ces dernières années. Le clonage permet en effet d'envisager l'insertion d'un transgène en un site précis du génome par recombinaison homologe, offrant ainsi de nouvelles perspectives d'utilisation de la transgénèse qui sont évoquées dans le paragraphe suivant.

### 1.3. La transgénèse

Plus encore que le clonage, la transgénèse pose de graves problèmes éthiques qui dépassent largement le cadre de cet article et que nous n'évoquerons pas. L'utilisation d'animaux génétiquement modifiés est interdite en élevage, tout au moins en Europe, et ne semble pas à l'ordre du jour. Des résultats potentiellement intéressants ont certes été obtenus, comme le transfert d'un gène de phytase de rat chez le porc, qui permettrait aux porcs transgéniques de rejeter une quantité nettement réduite de phosphore (GOLOVAN et al., 2001), mais leur utilisation suscite d'importantes controverses.

Sur un plan purement génétique, il convient néanmoins de souligner que l'utilisation d'un transgène nécessite au préalable toute une série de tests permettant de prouver l'innocuité et l'intérêt économique du transgène : vérification de la stabilité et de la transmission du transgène, étude des effets phénotypiques du transgène sur l'ensemble des caractères d'intérêt, innocuité pour l'animal et le consommateur. Une fois l'ensemble de ces tests réalisés, l'utilisation d'un transgène peut être, sur un plan purement technique, raisonnée de façon similaire à celle d'autres gènes à effets majeurs.

Si l'utilisation en élevage, notamment pour la production de viande, ne nous semble pas pouvoir être envisagée dans un proche avenir, de nombreuses autres applications de la transgénèse animale sont actuellement à l'étude et peuvent déboucher sur des applications pratiques : production de molécules à intérêt pharmaceutique ou industriel, don d'organes pour des xénogreffes, ... Nous ne les détaillerons pas. Par contre, il semble important de mentionner l'intérêt de la transgénèse en tant qu'outil d'étude du génome, en particulier pour tester des gènes candidats positionnels. Il est en effet possible d'agir sur l'expression d'un gène, notamment de l'invalider, afin de vérifier ses effets sur les caractères étudiés.

## 2. IMPACT DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE

Comme indiqué en introduction, les techniques de la biologie moléculaire sont directement issues des recherches menées sur la structure du génome et de celles, plus récentes sur son fonctionnement. Nous présenterons dans un premier temps les principaux progrès réalisés dans la connaissance du génome du porc, puis évoquerons leur impact actuel et futur dans les programmes d'amélioration génétique.

## 2.1. Amélioration de la connaissance du génome

### 2.1.1. Les outils de cartographie du génome

L'objectif ultime de la génétique moléculaire est de connaître de façon complète la structure des génomes et leur fonctionnement. Même si ce but ultime est encore lointain, il n'apparaît plus totalement inaccessible, tant les progrès réalisés dans la connaissance du génome ont été considérables. Les premières études de polymorphismes protéiques dans les années 1970 ont permis de mettre en évidence et de localiser quelques gènes responsables de la variabilité de caractères d'intérêt. Le gène Hal, responsable du syndrome d'hyperthermie maligne chez le porc, a ainsi été localisé génétiquement en 1976 (RASMUSEN et al., 1976). La mutation causale de ce gène n'a toutefois été identifiée que 15 ans plus tard (FUJII et al., 1991). Ces premiers travaux ont également mis en évidence les limites de cette approche dont le caractère trop ponctuel ne pouvait permettre que des progrès par à coups. De vastes programmes de mise au point d'outils génériques pour l'étude des génomes ont alors été entrepris. Des outils puissants d'analyse de liaison génétique, de localisation de fragments d'ADN anonymes ou de gènes sur les chromosomes, d'étude des homologues entre les génomes de différentes espèces ont été développées depuis le début des années 1990.

Les premiers efforts des travaux de cartographie ont porté sur la réalisation de cartes génétiques à l'aide de marqueurs de l'ADN, anonymes, polymorphes et balisant l'ensemble du génome : les microsatellites, qui sont des répétitions d'un même motif de deux paires de bases nucléiques (TG), avec un polymorphisme lié au nombre de répétitions de ce motif. Ils ont l'avantage d'être très abondants (50 000 à 100 000 chez les mammifères), très polymorphes, bien répartis sur le génome et de permettre une analyse semi-automatisée. Des cartes génétiques complètes, comprenant plus de 1000 marqueurs, sont actuellement disponibles chez les principales espèces d'élevage, dont le porc (ROHRER et al., 1994 ; 1996 ; ARCHIBALD et al., 1995). Ces cartes, qui décrivent les positions relatives, en unités de recombinaison, des marqueurs sur des groupes de liaison, ont été complétées par des cartes chromosomiques, qui permettent de localiser les marqueurs et les gènes sur les chromosomes (YERLE, 2000 ; <http://www.toulouse.inra.fr/lgc/pig/cyto/cyto.htm>). Les cartes génétiques ont rapidement permis de mettre en évidence des gènes majeurs et de localiser les principaux gènes responsables de la variation des caractères d'intérêt (souvent appelés QTL pour l'anglais « Quantitative Trait Locus ») : le criblage du génome à l'aide de marqueurs microsatellites permet actuellement en quelques mois de localiser ces gènes dans un intervalle génétique de quelques centimorgans. Si ces cartes permettent également de mettre en place des programmes de sélection assistée par marqueurs (voir ci-dessous), leur densité est insuffisante pour localiser de façon précise les QTL et ils n'apportent aucune information sur le contenu en gènes de la région identifiée. Dans le cadre de la cartographie du gène RN, 5 années ont ainsi été nécessaires entre la localisation du gène sur le chromosome 15 porcin (MILAN et al., 1995) et l'identification de la mutation causale (MILAN et al., 2000).

En réitérant la démarche retenue lors du développement des cartes génétiques, de nouveaux outils de cartographie de haute définition de l'ensemble du génome sont actuellement développés dans le cadre du grand programme transversal d'Analyse Génétique des Animaux d'Élevage (AGENAE ; voir le paragraphe 2.1.3) et de collaborations internationales : (1) des cartes génétiques de haute densité à l'aide de marqueurs bi-alléliques (SNP) dont la fréquence dans le génome est estimée à 1 tous les 100 à 1000 paires de bases, (2) le découpage du génome sous forme de fragments de 150 000 paires de bases caractérisés et ordonnés le long du génome (contigs de BAC), (3) la réalisation de cartes d'hybrides d'irradiation, de 10 à 20 fois plus résolutive que les cartes génétiques, permettant de positionner les uns par rapport aux autres l'ensemble des marqueurs disponibles (microsatellites, gènes), qu'ils soient ou non polymorphes, (4) la réalisation de cartes comparées entre les génomes des animaux domestiques et les génomes humain et murin, espèces modèles pour la recherche de gènes candidats, (5) in fine le séquençage du génome.

### 2.1.2. Détection et cartographie fine de gènes

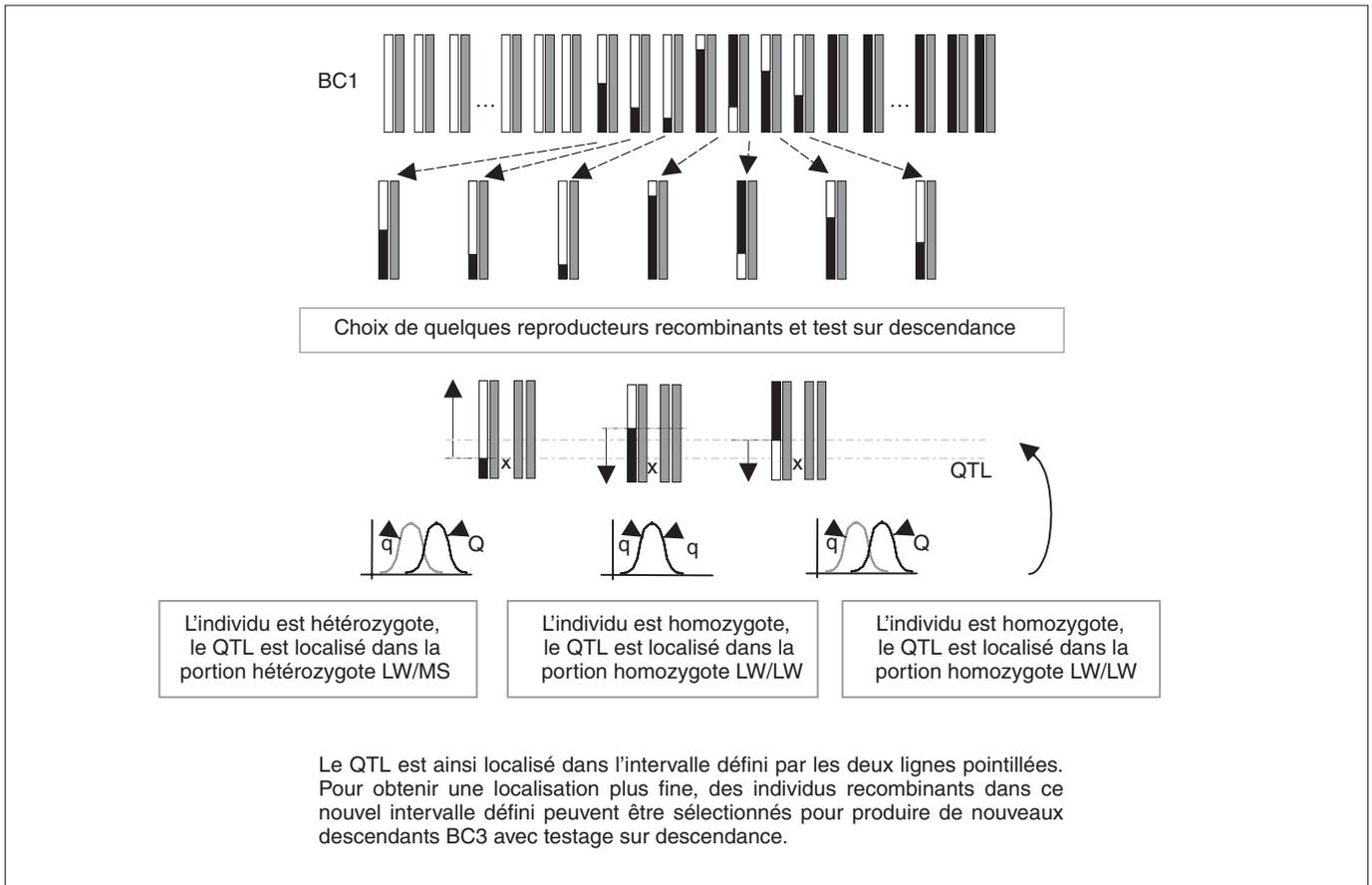
La détection de QTL est dans tous les cas basée sur la ségrégation conjointe d'un QTL et de marqueurs proches en déséquilibre de liaison avec le QTL. La position du QTL et ses effets sur la distribution du caractère analysé sont ensuite estimés à partir de la position et des effets « apparents » des marqueurs sur les caractères. Deux types de stratégies ont été utilisés pour détecter des QTL : l'approche « gène candidat » et la recherche systématique de QTL sur l'ensemble du génome. La première approche consiste à rechercher des polymorphismes dans des gènes candidats, dont on suppose pour des raisons généralement fonctionnelles qu'ils affectent le caractère étudié, et à estimer les effets de ces polymorphismes. Elle peut être très puissante, car les marqueurs de gènes candidats sont souvent très proches de la mutation fonctionnelle et on peut génotyper un grand nombre d'animaux contrôlés en élevage. Les polymorphismes détectés peuvent exceptionnellement correspondre à la mutation causale, mais il sera difficile de le démontrer car les polymorphismes proches sont en déséquilibre de liaison avec celle-ci. À l'inverse, de fausses associations peuvent aisément être détectées du fait d'une mauvaise structure de données, d'un modèle statistique inadéquat ou de déséquilibres de liaison avec des locus non liés. Plusieurs associations ont néanmoins été mises en évidence par ce type d'approche, par exemple pour les locus ESR (ROTHSCHILD et al., 1996) ou H-FABP (GERBENS et al., 2000).

Les programmes de recherche systématique de QTL utilisent des réseaux de marqueurs régulièrement espacés sur le génome pour détecter les régions chromosomiques affectant les caractères d'intérêt. Leur principal avantage est leur capacité à détecter l'ensemble des gènes en ségrégation dans la population étudiée ayant un effet moyen ou important sur les caractères analysés, à condition que les marqueurs soient informatifs et couvrent l'ensemble du génome, que la taille du dispositif soit appropriée et que le modèle génétique soit correct. Par contre, ils impliquent des coûts de génotypage élevés et localisent les QTL de façon peu précise. Les marqueurs et les QTL étant dans la plupart des cas en équilibre de liaison

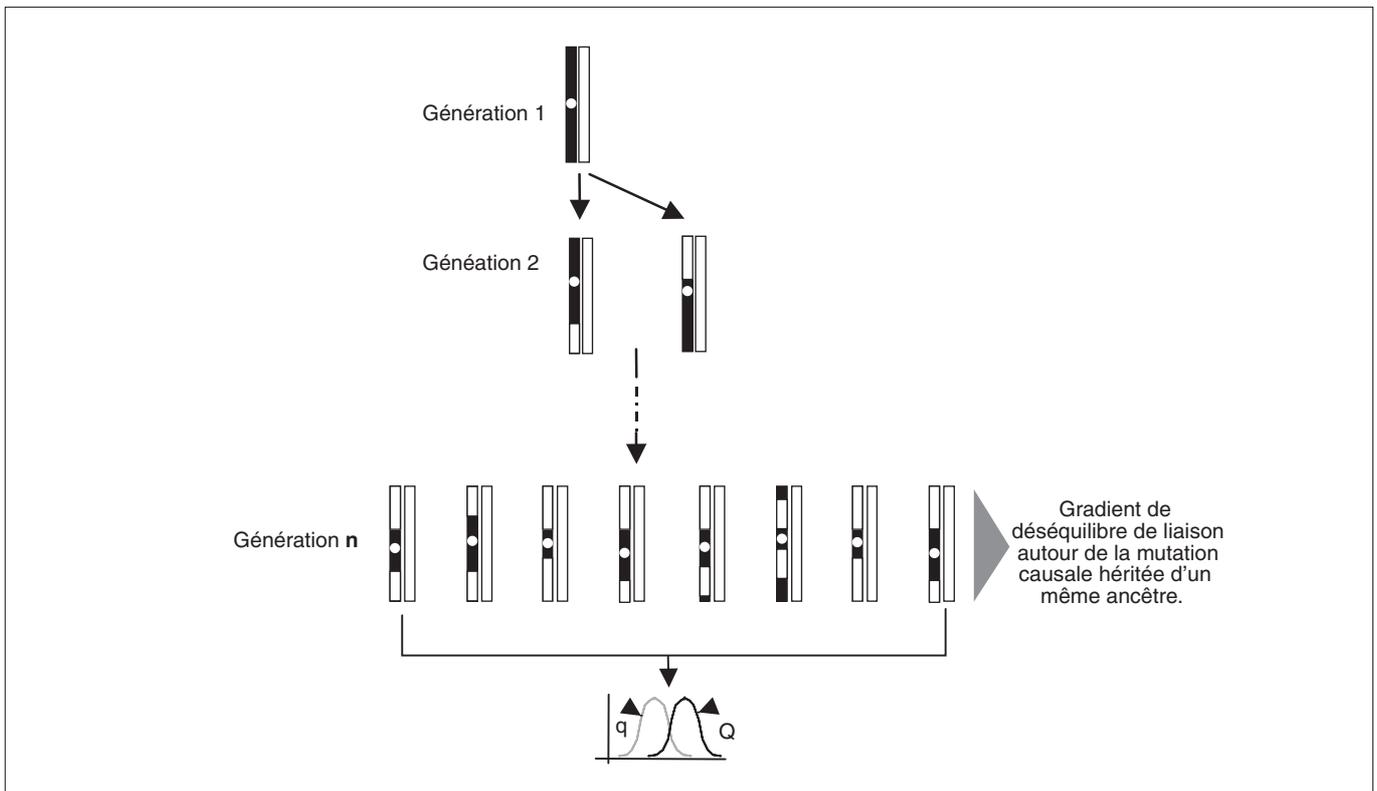
dans les populations animales, les programmes de détection de QTL tirent parti des déséquilibres de liaison existant intra-famille ou dans des populations croisées F2 ou « backcross ». C'est cette dernière option qui a été retenue dans la grande majorité des programmes porcins. Un bilan de ces programmes a permis de montrer le nombre important de QTL affectant les caractères les plus étudiés (BIDANEL et ROTH-SCHILD, 2002). De nombreux QTL ont ainsi été détectés pour la vitesse de croissance ou la composition de carcasse. Plusieurs QTL ont également été identifiés ou suggérés pour les caractères de reproduction et de qualité, mais en nombre plus restreint et à partir d'un nombre plus limité d'expériences. Enfin, un nombre très limité de résultats a été obtenu sur des mesures comportementales et neuroendocriniennes (DESAUTES et al., 2002), la qualité des aplombs (ANDERSSON-EKLUND et al., 2000), la capacité immunitaire (EDFORS-LILJA et al., 1998 ; 2000) ou la résistance aux maladies (REINER et al., 2002), malgré le grand intérêt d'une approche moléculaire de la variabilité génétique de ces caractères.

La localisation des QTL restant en général peu précise, des programmes de cartographie fine sont actuellement développés afin de l'améliorer. Une première solution consiste à accroître le nombre de marqueurs dans les régions chromosomiques d'intérêt. Même si elle permet un certain gain de précision, cette approche est vite limitée par le nombre d'événements de recombinaison existant dans la population étudiée, qui ne peut être accru qu'en augmentant le nombre d'animaux. On peut montrer que la meilleure solution n'est alors pas de produire de nouveaux animaux F2 ou « backcross », mais de réaliser plusieurs générations d'intercroisements ou de croisements en retour vers l'une des populations grand-parentales. Une variante consiste à sélectionner les individus porteurs de recombinaisons dans l'intervalle de localisation d'un QTL et à les croiser en retour vers l'une des populations grand-parentales pour tester sur descendance la présence ou non d'une ségrégation au QTL (figure 1). Ce type de dispositif a permis de réduire la taille de l'intervalle de localisation d'un QTL situé sur le chromosome 4 (ANDERSSON et al., 1994) à environ 3 centimorgans (ANDERSSON, communication personnelle). Il est actuellement utilisé à l'INRA pour la cartographie fine de QTL situés sur les chromosomes 1, 2 et 7.

Une approche alternative consiste à tirer parti des événements de recombinaison ancestraux, afin de s'abstraire du temps nécessaire à la production de générations supplémentaires. Cette approche est basée sur l'hypothèse qu'au sein d'un isolat génétique (comme une race ou une lignée), des individus porteurs d'un même allèle au QTL ont tous hérité cet allèle d'un ancêtre commun. Le chromosome original (dans lequel cette mutation est apparue) est transmis au cours des générations, aux événements de recombinaison près. À la n<sup>ème</sup> génération, la recherche d'une portion chromosomique identique chez des animaux présentant le phénotype associé à cette mutation permet de définir la région où rechercher le gène impliqué. Plus le nombre de générations séparant les différents animaux issus d'un même fondateur est important, plus le segment chromosomique identique par descendance (IBD) contenant le gène sera petit (figure 2).



**Figure 1** - Stratégie de cartographie fine de QTL, par réalisation de croisements en retour combinée au testage sur descendance des verrats recombinants sélectionnés : en gris chromosome LW maternel, en noir chromosome LW paternel et en blanc chromosome MS ; BC1 et BC3 correspondent aux 1<sup>ère</sup> et 3<sup>ème</sup> générations de Back Cross.



**Figure 2** - Cartographie fine de QTL par recherche d'un segment chromosomique identique porteur de la mutation (○) entre différents individus hétérozygotes au QTL ayant reçu cet allèle d'un ancêtre commun.

L'étape ultime de la cartographie d'un QTL est l'identification du gène impliqué, voire de la mutation causale. Lorsque l'intervalle de localisation est restreint, une recherche de gènes candidats positionnels est réalisée. Les candidats sont choisis en tenant compte des données fonctionnelles disponibles pour ces gènes et de la localisation de ceux-ci dans l'intervalle de cartographie du QTL. Des mutations dans les séquences codantes ou les régions régulatrices de ces gènes seront recherchées. L'étude du déséquilibre de liaison entre ces mutations et le caractère pourra alors permettre de confirmer ou d'exclure ces polymorphismes candidats. Il est important de noter qu'un polymorphisme en total déséquilibre de liaison avec la mutation causale ne sera exclu avec certitude que par des études fonctionnelles de constructions transgéniques porteuses des différents variants alléliques identifiés. L'exemple du gène RN illustre bien l'intérêt d'une recherche aussi exhaustive que possible des mutations dans les séquences codantes et régulatrices d'un gène. Au moins une mutation complémentaire a en effet été mise en évidence dans la séquence codante du gène. Cette mutation s'est avérée avoir des effets, certes moins importants que ceux de l'allèle RN-, mais suffisants pour être potentiellement intéressants (CIOBANU et al., 2001 ; MILAN et al., non publié). Cette recherche de polymorphisme devrait à l'avenir constituer un axe majeur des études de caractérisation de la diversité génétique (voir le paragraphe 2.2.3)

### 2.1.3. La génomique fonctionnelle

La génomique fonctionnelle est basée sur l'exploitation de données d'expression des gènes dans un tissu, à un stade particulier ou dans des conditions physiologiques particulières. Dans une cellule, l'information portée par l'ADN est transcrite sous forme d'ARN puis traduite en protéines. Des programmes d'étude globale de l'expression des gènes à l'échelle des ARN (programmes transcriptomes) ou des protéines (programmes protéomes) sont actuellement mis en place. Ils constituent en France un des volets majeurs du programme AGENAE. Ce projet de génomique animale, initié par l'INRA, a pour objectif de développer des recherches génériques (cartographie des génomes, répertoire de transcrits, diversité génétique) et des actions de recherche finalisées chez les bovins, les porcins, la poule et la truite ([www.toulouse.inra.fr/lgc/agenae/programme.htm](http://www.toulouse.inra.fr/lgc/agenae/programme.htm)). Chez les mammifères, on estime que seulement 5 % du génome correspondrait à de l'ADN codant, avec un nombre de gènes qui serait compris entre 10 000 et 50 000, mais des processus complexes de transcription de l'ARN, liés à l'existence de plusieurs promoteurs et de sites de polyadénylation, à des épissages alternatifs..., aboutissent à la fabrication de différents ARN messagers à partir d'un seul gène. En outre, si le contenu en ADN du noyau de toutes les cellules d'un organisme est équivalent, on estime que chaque type cellulaire n'exprime que 10% des gènes (gènes nécessaires à sa fonction). Les approches transcriptome permettent donc (1) de cibler l'étude des génomes à la seule portion codante, (2) de cibler les tissus responsables de l'expression du caractère étudié, et (3) de prendre en compte l'existence d'une variabilité dans les produits de l'expression des gènes non identifiable au niveau de l'ADN.

Les différentes technologies d'étude du transcriptome développées (HATEY, 2000) nécessitent toutes : (1) la sélection d'un tissu, voire d'un type cellulaire, (2) l'extraction de la population des ARN transcrits dans ces cellules, et (3) la synthèse sous forme d'ADN d'un brin complémentaire synthétique de ces ARN (ADNc). Différentes techniques permettent ensuite de comparer deux à deux des populations d'ARN correspondant à des situations physiologiques ou pathologiques très différentes (phénotypes extrêmes - TOSSER-KLOPP 1997 et al., ; CLOUSCARD-MARTINATO et al., 1998). D'autres techniques d'étude systématique ont pour objectif d'identifier « tous » les gènes exprimés dans un type cellulaire, et de pouvoir ainsi visualiser dans leur ensemble des cascades de signalisation et les interactions entre gènes. La technique actuellement la plus utilisée est l'analyse systématique de l'expression des gènes à l'aide de génothèques ordonnées : son principe est de fixer sur un support (membranes, lames de verres...) des sondes ADN représentatives de chaque gène d'un génome (ou d'une sélection de gènes correspondant à une fonction physiologique particulière) ; ce sont les « puces à ADN ». La population d'ADNc issue de l'échantillon étudié est alors hybridée sur ce support : les signaux d'hybridation obtenus permettent d'identifier les transcrits présents dans le tissu, et l'intensité de ces signaux permet de déterminer le niveau d'expression du gène. Dans les années à venir, l'exploitation des données du transcriptome et l'utilisation de ces technologies combinée aux approches de cartographie génétique devraient permettre de progresser dans la cartographie et l'identification de certains QTL (voir 3.2.6).

## 2.2. Utilisation de l'information moléculaire dans les programmes d'amélioration génétique

Les possibilités d'utilisation des informations moléculaires dans les programmes d'amélioration génétique sont très diverses : aide à l'évaluation génétique, à la sélection des reproducteurs et à la gestion des accouplements, caractérisation et gestion de la diversité génétique, contrôle de filiation, certification... Nous présenterons les apports actuels et potentiels des connaissances sur la structure, puis le fonctionnement du génome, puis nous évoquerons les problèmes liés à l'appropriation et aux risques juridiques liés à l'arrivée de ces nouvelles connaissances sur le génome.

### 2.2.1. Sélection

L'intérêt d'une utilisation d'informations moléculaires dans les programmes de sélection dépend de plusieurs facteurs, en particulier des populations que l'on cherche à améliorer, de la variabilité génétique des caractères et de la précision avec laquelle les effets des allèles aux QTL sont estimés. Lorsque les allèles favorables au(x) QTL ont une fréquence nulle dans la population que l'on cherche à améliorer, ces allèles peuvent être utilisés en les y introduisant par croisements en retour successifs ; c'est l'objet des programmes d'introgession, qui seront évoqués au paragraphe suivant. Lorsque les allèles favorables sont présents dans la population à améliorer, on cherchera à accroître leur fréquence en utilisant une sélection génotypique (si le gène est connu) ou

assistée par marqueurs (seuls des marqueurs liés au QTL sont connus).

De nombreux travaux ont cherché à quantifier le gain de progrès génétique lié à l'utilisation d'informations moléculaires dans des programmes de sélection. Même si les résultats obtenus dépendent en partie des hypothèses de départ et de la structure des programmes, ils ont permis d'aboutir à un certain nombre de conclusions. Ainsi, pour les caractères faisant déjà ou pouvant aisément faire l'objet d'un contrôle de performances, l'information moléculaire ne remplacera en général pas la sélection phénotypique, mais viendra la compléter en permettant d'accroître la précision de l'estimation de la valeur génétique des reproducteurs et/ou de réduire l'intervalle de génération. Lorsque la mesure du phénotype est difficile ou impossible à grande échelle, une sélection sur les seules informations moléculaires peut s'avérer extrêmement efficace. La vérification périodique de cette efficacité au niveau phénotypique reste toutefois absolument nécessaire. De telles situations sont susceptibles de se présenter (et se présentent déjà dans des espèces autres que le porc) dans le cas d'une sélection pour la résistance à une maladie, le comportement ou les qualités sensorielles de la viande.

Dans le cas d'une sélection utilisant à la fois les informations phénotypiques et moléculaires, l'apport des informations moléculaires dépend (GODDARD et HAYES, 2002) : 1) du gain de précision qu'elles permettent ; 2) de la proportion de la variance génétique expliquée par les QTL identifiés ; 3) de la précision avec laquelle les effets des QTL sont estimés. Le gain de précision sera faible si celle-ci est déjà élevée grâce aux seules informations phénotypiques. L'apport sera ainsi beaucoup plus important pour des caractères faiblement héritables, ne s'exprimant que dans un sexe (reproduction, aptitudes maternelles, longévité, ...) ou mesurables uniquement sur apparentés (qualité de la viande) que pour les caractères de croissance et de composition corporelle.

Le gain de progrès génétique est approximativement proportionnel à la proportion de variance génétique expliquée par les QTL identifiés (GODDARD et HAYES, 2002), mais dépend également de la fréquence des allèles favorables : il sera plus important si les allèles favorables ont une fréquence initiale réduite (LARZUL et al., 1997) ; il diminuera par contre avec la variance génétique liée au QTL lorsque les allèles favorables approcheront la fixation. La précision avec laquelle les effets des allèles seront estimés dépend uniquement du nombre d'animaux contrôlés par génotype si le gène est connu, mais dépend également des caractéristiques de marqueurs et de la liaison entre marqueurs et QTL si le gène n'est pas connu. Si la densité de marqueurs est faible, ils seront en général relativement éloignés et en équilibre de liaison avec le QTL. On ne pourra alors raisonner qu'intra-famille et les événements de recombinaison réduiront progressivement l'efficacité de la sélection. Avec une forte densité de marqueurs, il devient par contre possible de trouver des marqueurs en déséquilibre de liaison avec le QTL et ainsi se rapprocher de la situation idéale où le génotype au QTL est connu.

En effet, si la connaissance de la mutation causale n'est pas indispensable à une sélection de l'allèle favorable au QTL, elle la simplifie grandement, comme ont pu le montrer les exemples des gènes Hal et RN. Elle permet d'une part d'éliminer l'incertitude dans la détermination du génotype au QTL liée au risque de perte d'une association marqueur(s) – QTL du fait des recombinaisons. D'autre part, la détermination du génotype au QTL devient directement réalisable dans l'ensemble des populations porcines. Enfin, elle permet dans tous les cas, même lorsque l'allèle favorable est dominant comme dans le cas de l'allèle de non-sensibilité au locus Hal, de fixer celui-ci avec certitude. Ces avantages, combinés aux avantages qu'offre l'inventaire exhaustif des polymorphismes du gène responsable des variations observées (voir le paragraphe 2.1.2) et, sur un autre plan, aux possibilités de brevets, expliquent le développement important des travaux de cartographie fine et de clonage positionnel.

La réponse à long terme à une sélection assistée par marqueurs nécessite également une certaine attention. En effet, le gain d'efficacité lié aux informations moléculaires diminuera lorsque les allèles favorables seront proches de la fixation. De plus, l'accroissement de la précision de la sélection risque de se traduire par une réduction plus importante de variabilité génétique que des méthodes moins précises si rien n'est fait pour limiter cette évolution. Différentes méthodes peuvent toutefois être utilisées pour limiter la perte de variabilité génétique.

Chez le porc, l'héritabilité moyenne à forte des caractères de croissance et de composition corporelle, combinée à l'absence de résultats clairement établis pour les caractères faiblement héritables, se traduit actuellement par une utilisation relativement modeste des informations moléculaires. Celle-ci concerne en effet essentiellement les locus Hal et RN, quelques gènes candidats (ESR) dans un nombre limité de populations et, à une échelle très modeste, des marqueurs de QTL dans des croisements entre la race Meishan et les races européennes. Une meilleure caractérisation des QTL, notamment pour la reproduction, les aptitudes maternelles, la qualité et la résistance aux maladies, à l'aide de marqueurs proches en déséquilibre de liaison et l'identification des gènes permettra à l'avenir de mieux tirer parti de ces informations moléculaires.

### 2.2.2. Introgression

Lorsque l'allèle favorable d'un QTL est absent d'une population, il peut y être introgressé par croisements en retour successifs. Le génotype au QTL peut être déterminé directement si la mutation causale est connue, à l'aide de marqueurs flanquants dans le cas contraire. Les marqueurs peuvent également être utilisés pour récupérer plus rapidement le génotype de la population receveuse pour les régions autres que celle du QTL. Dans la plupart des cas, l'évaluation de l'intérêt et l'optimisation d'un dispositif d'introgression nécessiteront également de considérer les coûts liés aux moindres pressions de sélection réalisées sur le reste du génome. L'introgression peut être généralisée au cas de plusieurs QTL ; on parle alors chez les plantes de construction de génotype. Il pourrait ainsi être intéressant d'introgresser les

allèles européens aux QTL des chromosomes 1, 2, 4 et X, qui ont des effets favorables sur la croissance et la composition corporelle, dans une population Meishan.

### 2.2.3. Caractérisation et gestion de la variabilité génétique

Les nouvelles connaissances acquises sur le génome du porc peuvent également être utilisées pour caractériser la variabilité génétique intra- et entre populations porcines. Les premiers programmes de caractérisation de la variabilité ont été réalisés à l'aide de marqueurs neutres (LAVAL et al., 2000 ; SAN CRISTOBAL-GAUDY et al., 2002). Ces travaux pourront à l'avenir porter sur les régions codantes du génome. Les résultats obtenus pourront notamment constituer des éléments d'aide au choix des populations sur lesquelles faire porter les priorités des programmes de conservation, servir de base de référence à la mise en place de programmes de vérification de l'origine raciale d'un animal ou d'une pièce de viande (voir ci-après), ou encore permettre d'identifier des polymorphismes d'intérêt, en particulier dans les régions chromosomiques où des QTL ont été détectés (voir le paragraphe 2.1.2).

Intra-population, l'utilisation de marqueurs peut également aider à préserver la variabilité génétique. CHEVALET (1992) montre à partir de simulations que des gains sur le taux d'hétérozygotie de 12 % et 19 %, respectivement, peuvent être obtenus après 20 générations dans une population de taille effective de 25 reproducteurs à l'aide de 2 ou 3 marqueurs par chromosome.

### 2.2.4. Prédiction des performances en croisement – gestion des accouplements

Les porcs sont actuellement sélectionnés en race pure en vue d'une utilisation en croisement. Si ce mode de sélection donne des résultats globalement satisfaisants, il ignore le fait que plusieurs caractères d'intérêt majeur présentent des effets non additifs importants. Des méthodes comme la sélection récurrente permettent de tirer parti de la variabilité des effets non additifs. Nécessitant jusqu'à présent un contrôle sur descendance, ces méthodes ont été peu utilisées chez le porc, car trop pénalisantes en terme d'intervalle de génération. L'utilisation de marqueurs génétiques pourrait permettre d'identifier des régions du génome contribuant aux effets d'hétérosis et/ou de planifier les accouplements pour maximiser l'hétérozygotie sur l'ensemble ou des régions spécifiques du génome sans avoir recours à un contrôle sur descendance.

### 2.2.5. Contrôle de généalogie – traçabilité – certification

L'utilisation de méthodes d'évaluation génétique prenant en compte les performances de l'ensemble des apparentés des animaux évalués (BLUP – modèle animal) nécessite de disposer de généalogies de qualité. Les éleveurs y sont de plus en plus sensibles et hésitent de moins en moins à tenter des actions en justice en cas d'erreur avérée. Différents laboratoires de génotypage, dont LABOGENA, proposent des contrôles de filiation à partir d'un ou deux jeux de marqueurs microsatellites analysables simultanément sur séquen-

ceurs automatiques (Y. AMIGUES, communication personnelle ; NECHTELBERGER et al., 2001). Les tests ainsi proposés permettent de détecter plus de 95 % des incompatibilités parentales (le plus souvent en porc, seules les incompatibilités père - descendant sont testées).

Ces mêmes marqueurs, complétés le cas échéant par quelques marqueurs supplémentaires, pourraient également être utilisés à des fins de traçabilité individuelle des animaux ou de produits dérivés comme la viande. La faisabilité d'une telle approche, qui s'apparente aux tests utilisés en médecine légale, a été établie dans le cas des bovins par SAN CRISTOBAL-GAUDY et al. (2000). Elle nécessite de disposer d'un échantillon d'ADN de l'animal dont l'origine est irréfutable. Ceci pourrait par exemple être obtenu grâce au prélèvement, puis au stockage par l'abattoir de l'ensemble oreille / boucle d'identification de tout animal abattu.

Les marqueurs microsatellites, notamment ceux utilisés dans le cadre des programmes de caractérisation de la diversité génétique entre populations, peuvent également être employés pour déterminer l'origine raciale d'un animal ou d'une pièce de viande. Ils peuvent également, dans une certaine mesure, être utilisés pour vérifier l'utilisation ou non d'une race ou d'une lignée donnée dans un plan de croisement. L'approche utilisée est de type probabiliste, mais peut être extrêmement puissante si les marqueurs permettent de bien caractériser les particularités génétiques de chaque population.

Les vérifications a posteriori décrites ci-dessus peuvent être envisagées dans le cadre d'actions en justice, mais également dans le cadre d'une vérification par échantillonnage du respect d'un cahier des charges. Plus qu'une éventuelle origine raciale, les cahiers des charges comportent chez le porc des clauses relatives à l'absence d'allèles défavorables tels que Haln ou RN- dans des plans de croisement. Si l'on peut le cas échéant envisager le génotypage systématique des verrats parentaux, en particulier des verrats d'IA, il apparaît beaucoup plus difficile de l'envisager, pour des raisons de coût, sur les truies parentales. Une alternative peut alors être de garantir une fréquence allélique inférieure à un seuil donné en mettant en place une stratégie d'échantillonnage appropriée des animaux à typer.

### 2.2.6. Apports de la génomique fonctionnelle

Les approches d'étude fonctionnelle (transcriptome et/ou protéome) vont dans les années à venir apporter une masse importante de données issues d'études spatio-temporelles d'expression des gènes et permettre progressivement d'appréhender une fonction métabolique dans son ensemble. En cartographie fine de QTL, une des retombées essentielles de ces approches devrait être la définition de phénotypes plus « fins » pour la mesure de certains caractères. Actuellement, une des étapes critiques dans la cartographie fine d'un QTL est de pouvoir définir le génotype d'un animal au vu de son phénotype. Dans le cas de la cartographie du gène RN, la définition d'un petit intervalle chromosomique dans lequel rechercher le gène a été largement facilitée par l'intégration de données issues d'études physiologiques : le gène RN a

par exemple un effet de 0,7 écart type phénotypique sur le rendement technologique du jambon, mais de 6 écarts types sur la mesure du potentiel glycolytique. L'utilisation de cette dernière mesure a permis de définir avec précision le génotype des animaux.

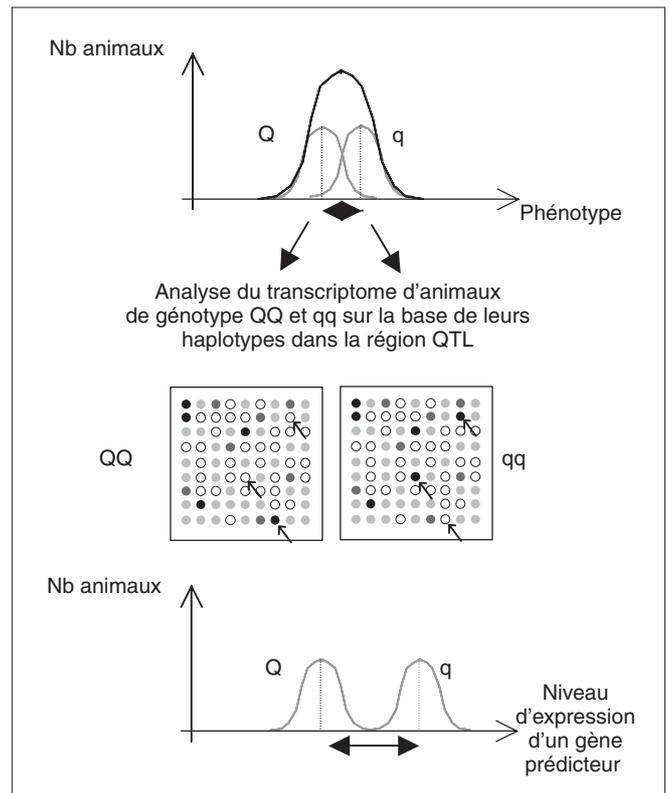
Pour la cartographie fine d'un QTL, l'hybridation sur des membranes génériques (représentant l'ensemble des gènes d'un organisme) d'échantillons d'ARN d'un tissu cible issus d'animaux sélectionnés sur la base de leurs haplotypes dans la région du QTL, devrait permettre de mettre en évidence un petit nombre de gènes dont l'expression varie en fonction du génotype au QTL. La mesure du niveau d'expression de ces gènes pourra alors être utilisée comme un nouveau caractère (figure 3). L'utilisation de cette stratégie implique cependant que le QTL recherché induise des différences de niveau d'expression de certains gènes dans la cascade métabolique où il intervient.

A terme, une bonne connaissance du génome et des grandes fonctions métaboliques des espèces animales pourra permettre de définir des sous-ensembles de gènes utilisables comme prédicteurs de certaines fonctions. Il serait alors envisageable, par exemple, de réaliser une puce à ADN contenant les gènes clés du système immunitaire ; à partir d'un échantillon sanguin, une extraction d'ARN serait réalisée pour être hybridée sur cette biopuce. Le profil des signaux obtenus, comme une photo d'identité, permettrait alors de caractériser en temps réel l'état immunologique de l'animal.

### 2.2.7. Propriété intellectuelle – brevetabilité

Un des problèmes majeurs auquel sont confrontées les recherches en génomique concerne la propriété intellectuelle des résultats de ces recherches. De nombreux débats ont accompagné les avancées des connaissances sur le génome. Les divergences restent profondes entre les tenants de la brevetabilité, qui considèrent notamment que les retombées financières des brevets favorisent la recherche (ROTH-SCHILD, 2002) et ses opposants, qui considèrent que les résultats des recherches sur l'ADN ne sont pas des inventions, mais des découvertes, et ne peuvent pas à ce titre faire l'objet de brevets. La directive européenne n° 98/44 relative à la protection juridique des inventions biotechnologiques reconnaît que les inventions portant sur la séquence totale ou partielle d'un gène est brevetable dans la mesure où elles répondent aux critères habituellement applicables aux inventions, à savoir la nouveauté, l'activité inventive et l'application industrielle. A l'inverse, le comité consultatif national d'éthique s'est toujours positionné contre la brevetabilité. Ces débats se situent de plus dans un contexte où une proportion importante des chercheurs et des moyens de recherche sont d'origine publique, ce qui peut notamment conduire à des conflits d'intérêt.

Cette nouvelle donne n'est pas sans conséquence pour les organisations de sélection, dans la mesure où : 1) les redevances liées aux brevets peuvent accroître de façon importante le coût des programmes d'amélioration génétique ; 2) la possibilité d'usage exclusif d'une invention protégée



**Figure 2** - Principe d'utilisation des données de transcriptome, pour préciser les effets du QTL et prédire le génotype des animaux au QTL.

peut conférer un avantage concurrentiel important. Certaines organisations ont de ce fait adopté des stratégies très actives de rachat des droits liés aux brevets. De telles stratégies nécessitant une veille technologique active et des moyens importants, leur généralisation devrait conduire à des concentrations ou des accords entre organisations de sélection.

### 2.2.8. Utilisation conjointe des biotechnologies de la reproduction et de l'information moléculaire

L'apport des informations moléculaires pour la sélection a jusqu'à présent été évoqué dans le cadre de la structure actuelle des programmes de sélection. L'utilisation combinée des biotechnologies de la reproduction et des informations moléculaires peut la modifier profondément en permettant une réduction importante de l'intervalle de génération.

La « vélogénétique » proposée par GEORGES et MASSEY (1991), consisterait à récupérer des ovocytes sur de très jeunes femelles, voire sur des embryons avant la naissance, de les faire maturer et de les fertiliser in vitro, puis de les réimplanter dans des femelles receveuses. L'opération, répétée sur plusieurs générations, conduirait à un intervalle de génération de 3 à 6 mois sur la voie femelle. Des marqueurs génétiques seraient utilisés pour sélectionner les jeunes animaux ou les embryons sur lesquels récolter les ovocytes ou pour sélectionner les embryons à réimplanter.

La « whizzogénétique » proposée par HALEY et VISSCHER (1998) repose sur les mêmes techniques que la « vélogéné-

tique », mais en laissant les embryons en culture jusqu'aux stades de différenciation cellulaire permettant une méiose in vitro. Les étapes de réimplantation des embryons et de collecte des ovocytes deviendraient inutiles et il serait ainsi possible de conduire un programme de sélection entièrement en laboratoire, tout au moins jusqu'à l'étape de commercialisation de la lignée ainsi créée.

## CONCLUSION

Les progrès considérables réalisés dans le domaine des biotechnologies animales ces dernières années laissent envisager ou entrevoir des évolutions importantes dans la façon dont les populations animales seront gérées et améliorées dans le futur. Ils soulèvent également un certain nombre d'interrogations de la part des chercheurs, des milieux professionnels et des citoyens. Celle de l'acceptabilité de certaines avancées comme la transgénèse ou le clonage n'en est pas la moindre, comme peuvent l'illustrer les débats et les prises

de position parfois très vifs dans l'opinion. Si les autres techniques, en particulier celles issues des progrès de la génétique, ne suscitent pas la même passion, elles n'en nécessitent pas moins explications et débats afin d'éviter tout amalgame et de permettre à chacun de se faire une opinion en toute connaissance de cause. Les apports potentiels de ces techniques sont considérables ; elles peuvent et doivent permettre aux filières animales de proposer aux consommateurs des produits plus sûrs, plus sains et répondant mieux à la diversité de leurs attentes grâce à une meilleure caractérisation et une meilleure utilisation de la diversité des populations animales, des outils de gestion et d'amélioration plus efficaces permettant de tirer parti d'une plus grande variété de caractères et de fonctions. Pour ce faire, il apparaît essentiel de bien raisonner leur emploi afin de limiter certains risques comme celui d'une perte de diversité génétique et de veiller collectivement à ce que ces techniques ne soient pas confisquées au profit de quelques-uns, mais restent accessibles à l'ensemble des acteurs des filières animales.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANDERSSON L., HALEY C.S., ELLEGREN H., KNOTT S.A., JOHANSSON M., ANDERSSON K., ANDERSSON-EKLUND L., EDFORS-LILJA I., FREDHOLM M., HANSSON I., HAKANSSON J., LUNDSTRÖM K., 1994. *Science*, 263, 1771-1774.
- ANDERSSON-EKLUND L., UHLHORN H., LUNDEHEIM N., DALIN G., ANDERSSON L., 2000. *Genet. Res.*, 75, 223-230.
- ARCHIBALD A.L., BROWN J.F., COUPERWHITE S et al., 1995. *Mammalian Genome*, 6, 157-175.
- BARILLET F., ANDREOLETTI O., PALHIÈRE I., et al., 2002. 7<sup>th</sup> World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France, Communication n° 13-20.
- BERTHELOT F., MARTINAT-BOTTE F., LOCATELLI A., TERQUI M., 2000. *Journées Rech. porcine en France*, 32, 433-437.
- BIDANEL J.P., ROTHSCHILD M.F., 2002. *Pig News and Information*, 23, 39N-53N.
- BOICHARD D., FRITZ S., ROSSIGNOL M.N., BOSCHER M.Y., MALAFOSSE A., COLLEAU J.J., 2002. 7<sup>th</sup> World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France, Communication n° 22-03.
- CHEVALET C., 1992. *INRA Prod. Anim.*, numéro hors série «Génétiq. quantitative», 295-297.
- CIOBANU D.C., BASTIAANSEN J., MALEK M., HELM J., WOOLLARD J., PLASTOW G.S., ROTHSCHILD M.F., 2001. *Genetics*, 159, 1151-1162.
- CLOUSCARD-MARTINATO C., MULSANT P., ROBIC A., BONNET A., GASSER F., HATEY F., 1998. *Anim. Genet.*, 29, 98-106.
- COLLEAU J.J., HEYMAN Y., RENARD J.P., 1998. *INRA Prod. Anim.*, 11, 41-56.
- COURREAU J.F., SELLIER P., BOULARD J., BRETON T., GOUILLEUX P., GUERIN G., 1985. *Journées Rech. porcine en France*, 17, 95-104.
- DESAUTES C., BIDANEL J.P., MILAN D., IANNUCELLI N., AMIGUES Y., BOURGEOIS F., CARITEZ J.C., RENARD C., CHEVALET C., MORMEDE P., 2002. *J. Anim. Sci.*, 80, 2276-2285.
- DOBRINSKY J.R., 2001. *Theriogenology*, 56, 1333-1344.
- DUCOS A., PINTON A., BERLAND H.M., SÉGUELA A., BRUB-BARONNAT C., BONNET N., DARRE R., 2002a. *Journées Rech. porcine*, 34, 269-275.
- DUCOS A., EGGEN A., DARRE R., BOICHARD D., 2002b. *Rencontres Rech. Ruminants*, 9, 85-91.
- EDFORS-LILJA I., WATTRANG E., MARKLUND L., MOLLER M., ANDERSSON-EKLUND L., ANDERSSON L., FOSSUM C., 1998. *J. Immunol.*, 160, 829-835.
- EDFORS-LILJA I., WATTRANG E., ANDERSSON L., FOSSUM C., 2000. *Anim. Genet.*, 31, 186-193.
- FUJII J., OTSU K., ZORZATO F., DE LEON S., KHANNA V.K., WEILER J.E., O'BRIEN P.J., MACLENNAN D.H., 1991. *Science*, 253, 448-451.
- GEORGES M., MASSEY J.M., 1991. *Theriogenology*, 35, 151-159.
- 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.*, 78, 552-559.
- GODDARD M.E., HAYES B. J., 2002. 7<sup>th</sup> World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France, Communication n° 22-01.
- GOLOVAN S.P., MEIDINGER R.G., AJAKAIYE A., COTTRILL M., WIEDERKEHR M.Z., BARNEY D., PLANTE C., POLLARD J., FAN M.Z., HAYES M.A., LAURSEN J., HJORTH J.P., HACKER R.R., PHILLIPS J.P., FORSBERG C.W., 2001. *Nature Biotechnology*, 19, 741-745.
- HALEY C.S., VISSCHER P.M., 1998. *J. Dairy Sci.*, 81, 85-97.
- HATEY F., 2000. *INRA Prod. Anim.*, numéro hors série «Génétiq. moléculaire : principes et application aux populations animales », 153-160.
- HAZELEGER W., KEMP B., 2001. *Theriogenology*, 56, 1321-1331.
- HERMENT A., RUNAVOT J.P., BIDANEL J.P., 1994. *Journées Rech. porcine en France*, 26, 315-320.
- LABROUE F., LUQUET M., GUILLOUET P., BUSSIÈRE J.F., GLODECK P., WEMHEUER W., GANDINI G., PIZZI F., DELGADO J.V., POTO A., OLLIVIER L., 2000. *Journées Rech. porcine en France*, 32, 419-427.

- LARZUL C., MANFREDI E., ELSEN J.M., 1997. *Genet. Sel. Evol.*, 29, 161-184.
- LAVAL G., IANNUCCELLI N., LEGAULT C., MILAN D., FOULLEY J.L., CHEVALET C., OLLIVIER L., 2000. *Journées Rech. porcine en France*, 32, 397-402.
- LEGAULT C., GRUAND J., 1976. *Journées Rech. porcine en France*, 8, 201-206.
- LE ROY P., 2002. 7<sup>th</sup> World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France, Communication n° 03-06.
- MAIGNEL L., PHOCAS F., BIDANEL J.P., 1997. *Journées Rech. porcine en France*, 29, 343-352.
- MAIGNEL L., LABROUE F., 2001. *Journées Rech. porcine en France*, 33, 111-117.
- MERMILLOD P., GUILLOUET P., BERTHELOT F., MARTINAT-BOTTE F., PLAT M., TERQUI M., 2003. *Journées Rech. porcine en France*, 35, 323-338.
- MILAN D., LE ROY P., WOLOSZYN N., CARITEZ J.C., ELSEN J.M., SELLIER P., GELLIN J., 1995. *Genet. Sel. Evol.*, 27, 195-199.
- MILAN D., ANDERSSON L., LOOFT C., AMARGER V., ROBIC A., ROGEL-GAILLARD C., IANNUCCELLI N., CARITEZ J.C., YERLE M., GEL-LIN J., ELSEN J.M., CHARDON P., LE ROY P. 2000 *Journées Rech. porcine en France*, 32, 357-360.
- NECHTELBERGER D., KALTWASSER C., STUR I., MEYER J.N., BREM G., MUELLER M., MUELLER S., 2001. *Anim. Biotech.*, 12, 141-144.
- RASMUSEN B.A., CHRISTIAN L.L., 1976. *Science*, 191, 947-948.
- REINER G., MELCHINGER E., KRAMAROVA M., PFAFF E., BUTTNER M., SAALMULLER A., GELDERMANN H., 2002. *J. General Virology*, 83, 167-172.
- RIDEOUT W.M. III, EGGAN K., JAENISCH R., 2001. *Science*, 293, 1093-1098.
- ROHRER G.A., ALEXANDER L.J., HU Z., SMITH T.P.L., KEELE J.W., BEATTIE C.W., 1994. *Genetics*, 136, 231-245.
- ROHRER G.A., ALEXANDER L.J., HU Z., SMITH T.P.L., KEELE J.W., BEATTIE C.W., 1996. *Genome Res.*, 6, 371-391.
- ROTHSCHILD M.F., 2002. 7<sup>th</sup> World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France, Communication n° PS-03.
- ROTHSCHILD M.F., JACOBSON C., VASKE D., TUGGLE C., WANG L., SHORT T., ECKARDT G., SASAKI S., VINCENT A., MC LAREN D., SOUTHWOOD O., VAN DER STEEN H., MILEHAM A., PLASTOW G., 1996. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 93, 201-205.
- SAN CRISTOBAL-GAUDY M., RENAND G., AMIGUES Y., BOSCHER M.Y., LEVEZIEL H., BIBE B., 2000. *INRA Prod. Anim.*, 13, 269-276.
- SAN CRISTOBAL-GAUDY M., CHEVALET C., HALEY C.S. et al., 2002. 7<sup>th</sup> World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France, Communication n° 26-14.
- THIBIER M., 2001. *Theriogenology*, 56, 1365-1481.
- TOSSER-KLOPP G., BENNE F., BONNET A., MULSANT P., GASSER F., HATEY F., 1997. *Mamm. Genome*, 8, 250-254.
- VALIN C., 2001. *Prospective Génétique Animale*. Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, février 2001, 75 pages + annexe.
- VISSCHER P.M., PONG-WONG R., WHITTEMORE C.T., HALEY C.S., 2000. *Livest. Prod. Sci.*, 65, 57-70.
- WILMUT I., SCHNIEKE A.E., MCWHIR J., KIND A.J., CAMPBELL K.H.S., 1997. *Nature*, 385, 810-813.
- YERLE M., 2000. *INRA Prod. Anim.*, numéro hors série « Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales », 87-93.

