

M.-H. PINARD-VAN DER LAAN

INRA, Laboratoire de Génétique Factorielle,  
78352 Jouy-en-Josas cedex

e-mail : Marie-Helene.Pinard@dga.jouy.inra.fr

## 7 - Utilisation des marqueurs génétiques

# La recherche de QTL à l'aide de marqueurs : projets et résultats chez le mouton et la poule

**Résumé.** L'état d'avancement de plusieurs projets de recherche de QTL chez le mouton et la poule est présenté. L'originalité des caractères étudiés et des dispositifs mis en place est soulignée. Ces projets concernent la résistance à différentes maladies, la reproduction et diverses caractéristiques de production. Il s'agit souvent de caractères nouveaux qui ne sont pas encore pris en compte dans la sélection, mais pour lesquels la mise en évidence de marqueurs peut déboucher sur des perspectives d'application.

Grâce aux avancées considérables de la biologie moléculaire et aux efforts combinés de plusieurs laboratoires dans différents pays, les dernières années ont vu des progrès significatifs dans l'obtention des marqueurs et l'établissement des cartes dans de nombreuses espèces. Ces outils maintenant disponibles stimulent la création et l'exploitation de nombreux projets de détection de QTL. A l'INRA, à côté des deux grands projets " généralistes " chez le porc (PiGMap) et les bovins (BoVMaP), divers projets, souvent plus ciblés, existent pour d'autres espèces, essentiellement la poule et le mouton, et certains d'entre eux aboutissent déjà à quelques résultats.

## 1 / Originalité des caractères et des dispositifs

### Des caractères originaux

Les projets développés à l'INRA visant à la recherche de QTL sont divers, tant par les caractères étudiés que par le type de dispositif et le matériel animal utilisés. Ils sont en effet souvent le résultat d'une conjonction, à un moment donné, entre un intérêt particulier pour un caractère et un matériel original existant ou créé pour l'étude de ce caractère. On peut citer l'exemple de la résistance à la tremblante chez le mouton (projet 2, tableau 1) ou au portage de salmonelles chez la poule (projet 4) qui correspondent à des problèmes émergents de santé animale et publique et qui peuvent être justement étudiés dans des populations dont l'intérêt est ainsi souligné. A la différence des projets généralistes, beaucoup de projets sont axés sur un caractère. Ils seront donc sans doute peu informatifs pour les autres caractères, mais sont conçus pour

maximiser les chances de trouver des QTL du caractère choisi. C'est ce qui fait la valeur de chacun de ces dispositifs.

Les caractères étudiés sont originaux et répondent souvent à une demande d'amélioration, non plus de la productivité, mais de la qualité sous diverses formes : qualité du produit ou qualité sanitaire. L'intérêt pour ces critères nouveaux vaut autant pour le sélectionneur que pour le consommateur. Augmenter la résistance aux maladies, par exemple, peut permettre d'améliorer l'image du produit (moins de traitements, souci de bien-être des animaux), tout en réduisant les coûts (intérêt économique et réponse aux risques d'interdiction d'additifs). L'utilisation des marqueurs en sélection est justement attendue pour des caractères dont la mesure est coûteuse et dont l'héritabilité est souvent modérée, comme la résistance aux maladies, la reproduction et des caractéristiques de qualité.

### Des stratégies de recherche de QTL multiples

Beaucoup de dispositifs de recherche de QTL prennent la suite de travaux déjà bien avancés sur des populations (par exemple, les moutons INRA401, projet 1), des caractères sélectionnés (par exemple, l'efficacité alimentaire, projet 8, ou l'engraissement, projet 9, chez la poule). Des générations de sélection et la caractérisation souvent approfondie des populations peuvent être ainsi valorisées par la recherche de QTL et ouvrir de nouvelles perspectives quant à la compréhension des mécanismes sous-tendant les caractères (co)-sélectionnés.

Suivant les connaissances a priori du déterminisme génétique, les objectifs attendus ou simulés, mais aussi les moyens disponibles, différents types

de dispositifs de taille variable ont été mis en œuvre : utilisation de la variabilité génétique (naturelle ou créée dans la cas de lignées synthétiques) au sein de populations (projets 1, 2 et 5), croisements de type backcross (projets 4, 6 et 7) ou F2 (projets 3 et 6) entre populations de phénotypes extrêmes ou encore croisements de type F2 entre lignées divergentes (projets 8 et 9).

Beaucoup de protocoles sont lourds, en temps, conditions et coût de mesures, lorsqu'il s'agit par exemple de mesures de résistance à des maladies ou de mesures de qualité. Un compromis est toujours inévitable entre la taille et la puissance du dispositif. Plusieurs équipes ont également réfléchi sur différentes stratégies pour essayer de réduire les coûts de typage, comme une première étape de typage sur les extrêmes afin de sélectionner des marqueurs à utiliser par la suite (projets 8 et 9). L'aide de la génétique comparée peut également être envisagée dans les cas où plusieurs gènes impliqués dans le contrôle du/des caractère(s) d'intérêt sont conservés entre plusieurs espèces. On peut citer le cas de la résistance à la tremblante ou à la salmo-

nelle, où des comparaisons peuvent être établies entre certaines espèces domestiques comme le mouton ou la poule (pour la salmonelle) et l'Homme ou la souris.

Plus généralement, une caractéristique commune à tous ces projets est l'effort de synergie entre équipes de disciplines différentes (génétique, physiologie, pathologie..), ce qui non seulement valorise au mieux les dispositifs, mais aussi favorise plusieurs approches menées en collaboration pour étudier le déterminisme génétique.

## 2 / Premiers résultats obtenus

Les principaux projets en cours et visant la recherche de QTL chez le mouton et la poule au sein de l'INRA sont résumés dans le tableau 1 ; ils concernent trois grandes fonctions.

**Tableau 1.** Dispositifs de détection de QTL chez le mouton et la poule.

n° Réf. / Espèce / Race / lieu	Caractères étudiés	Type de dispositif	Avancement	Contact et collaboration <sup>(1)</sup>
<b>Résistance aux maladies</b>				
1 / Ovins / INRA 401 / INRA Bourges	Résistance à la salmonellose - Croissance - Carcasse - Laine	30 familles demi-frères x 40 = 1200 total	Données quantitatives collectées 40 marqueurs typés	JM. Elsen (SAGA), PII, LGBC
2 / Ovins / Romanov / INRA Langlade	Résistance à la tremblante	2 familles demi-frères x 100 = 200 total + familles (Irlande)	Familles en cours de constitution	JM. Elsen (SAGA), PII, LGBC Université Dublin (Irlande)
3 / Poule / Leghorn x Fayoumi / INRA + AFSSA	Résistance à la coccidiose ( <i>E. Tenella</i> )	6 familles de 143 F2 = 860 F2 total	Données quantitatives collectées	MH. Pinard-van der Laan (LGF), LGC, VIM, AFSSA, SYSAAF
4 / Poule / Résistant x sensible / INRA + IAH (GB)	Résistance au portage de salmonelles	BC (BackCross) = 400 total	Lignées à croiser en cours de mesure	C. Beaumont (SRA), SAGA, LGC, PII, IAH (GB), McGill University (Canada)
<b>Reproduction</b>				
5 / Ovins / Lacaune / INRA Langlade	Taux ovulation	12 familles demi-frères x 25 = 300 total	Données quantitatives collectées	L. Bodin (SAGA), LGBC, OVITEST
<b>Production</b>				
6 / Ovins / Texel x Romanov / INRA Langlade	- Croissance - Carcasse - Viande	3 familles x (90 F2 + 60 BC) = 450 total	3/4 animaux produits 1/2 des phénotypes mesurés Début génotypage	JM. Elsen (SAGA), LGBC, Liège
7 / Ovins / Sarde x Lacaune / Sardaigne	- Lait, - Laine - Reproduction - Résistance parasitisme	10 familles demi-frères x 90 = 900 total	Familles produites Mesures en cours	F. Barillet (SAGA), LGBC, PAP, ENVT, PRMD, IZCS (Sardaigne)
8 / Poule / RIR (Sélection) / INRA Jouy	Efficacité alimentaire - Morphologie - Thermogénèse	4 familles = 100 mâles + 450 femelles F2 total	Données quantitatives collectées F0, F1, mâles F2 typés (femelles F2 en cours)	M. Tixier-Boichard (LGF), LGC, LGA
9 / Poule / Chair (sélection) / INRA Tours	Engraissement - Croissance - Poids gras abdominal, filet	5 familles = 586 F2 total	Données quantitatives collectées 200 marqueurs typés sur les 5 pères	M. Douaire (LGA), LGC, SRA, ISA-Beauvais, Université Jérusalem

<sup>(1)</sup>Laboratoires INRA : SAGA (Station d'Amélioration Génétique des Animaux), LGBC (Laboratoire de Génétique Biochimique et Cytogénétique), LGF (Laboratoire de Génétique Factorielle), LGC (Laboratoire de Génétique Cellulaire), SRA (Equipe Génétique Avicole de la Station de Recherches Avicoles), LGA (Laboratoire de Génétique Animale INRA-ENSAR Rennes), PII (Pathologie Infectieuse et Immunologie), VIM (Virulogie et Immunologie Moléculaires), PAP (Pathologie Aviaire et Parasitologie), PRMD (Physiologie de la Reproduction de Mammifères Domestiques).

Autres : AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, SYSAAF : Syndicat des Sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français, ENVT : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

## Résistance aux maladies

Les maladies étudiées sont de type bactérien (résistance à la salmonellose chez le mouton, projet 1, résistance au portage de salmonelles chez la poule, projet 4), à prions (résistance à la tremblante chez le mouton, projet 2) et parasitaire (résistance à la coccidiose chez la poule, projet 3).

Le degré d'avancement de ces projets varie depuis le choix des lignées à croiser (projet 4) jusqu'à un typage en cours (projet 1). Ce dernier projet (salmonellose ovine, INRA 401) fait exception dans la mesure où d'autres caractères de production ont pu être mesurés, car tous les animaux n'ont pas subi d'épreuves pathogènes pouvant modifier leur développement, voire conduire à la mort. C'est sur des caractéristiques de la laine et des caractères bouchers que des régions pouvant contenir des QTL ont été identifiées pour le moment (Allain *et al* 1998, Moreno 1999).

En ce qui concerne la salmonellose, la piste «gènes candidats», tels que Nramp ou des QTL trouvés chez la souris, peut être intéressante sous réserve, avec cette approche, que ces régions soient conservées et qu'il s'agisse du même caractère de résistance contrôlé par ces gènes. Dans le cas de la résistance au portage de salmonelles chez la poule, il y a une double transposition de la souris à la poule, et de la résistance à la salmonellose à la résistance au portage, ce qui justifie la mise en place d'un croisement adapté exactement à l'espèce et au caractère (projet 4).

## Reproduction

Un projet visant d'abord la recherche d'un gène majeur d'ovulation est en cours chez le mouton (projet 5). Une recherche plus globale pourra être menée avec les outils développés dans le cadre du projet 7 présenté ci-après et utilisant la même race Lacaune.

## Production

Deux projets plutôt généralistes sont menés chez le mouton (projets 6 et 7), notamment le projet 7, réalisé en Sardaigne, où il est prévu de mesurer de nombreux caractères de production mais aussi de résistance au parasitisme, et ceci sur un nombre important d'animaux. Deux projets chez la poule sont plus ciblés, car ils dérivent d'expériences de sélection sur des caractères originaux: efficacité alimentaire et thermogénèse (projet 8) et engraissement (projet 9).

Des phases de typage ont commencé. Pour un caractère lié à l'efficacité alimentaire (projet 8), une région a été identifiée chez les mâles; il existe une région homologue chez l'Homme et portant un gène candidat. Dans le cas du caractère culard venant du Texel dans le croisement (projet 6), un bon candidat est le gène de la myostatine. Pour l'engraissement chez la poule (projet 9), une recherche de QTL est menée en parallèle avec l'étude des gènes de la lipogénèse, candidats fonctionnels pour ce caractère.

## 3 / Problèmes rencontrés

### Couverture du génome et marqueurs utilisés

A priori, l'ensemble des marqueurs disponibles couvre suffisamment le génome pour permettre les premières étapes de recherche de QTL. Chez la poule, par exemple, parmi les 600 microsatellites utilisables actuellement, un réseau de 200 marqueurs permet de couvrir tout le génome, avec une distance moyenne d'environ 20 cM. Mais, une fois qu'une région aura été identifiée comme pouvant contenir un QTL, d'autres techniques devront souvent être mises en œuvre pour affiner la recherche. Un jeu de marqueurs utilisé au départ peut ainsi s'avérer insuffisant par rapport aux objectifs souhaités (projet 1).

Toutes les équipes ont utilisé les microsatellites, mais d'autres ont essayé en plus des marqueurs RFLP, ALVE, AFLP, SSCP dans des gènes candidats (exemples : 6, 8, 9).

### Informativité des familles

Logiquement, un manque d'informativité a été rapporté plutôt dans le cas de croisement entre lignées ayant la même origine, et notamment dans le projet 8, où il est à noter un apport intéressant des AFLP.

### Analyse des résultats

Les programmes disponibles semblent être pour l'instant satisfaisants. Des améliorations sont toutefois souhaitées pour pouvoir s'adapter à un nombre plus grand de situations, par exemple: une version multicaractère de QTLMAP ainsi qu'une version non paramétrique, une prise en compte de mélanges pleins frères/soeurs - demi frères/sœurs, ...

## 4 / Applications et perspectives

Certains caractères étudiés peuvent potentiellement être intéressants comme modèle biologique. C'est le cas du modèle «efficacité alimentaire» (projet 8), qui peut contribuer à l'étude du métabolisme énergétique chez les oiseaux, et peut-être un modèle d'une anomalie génétique humaine. L'étude du déterminisme génétique de la résistance à la tremblante (projet 2) intéresse également la biologie fondamentale.

Les perspectives d'applications, dans la sélection animale, des résultats de recherche de QTL sont réelles. Mais des travaux supplémentaires de validation des résultats devront souvent être réalisés. Surtout lorsque le matériel d'étude est expérimental ou est un croisement, il est nécessaire d'abord de rechercher si une variabilité correspondante existe dans la population commerciale d'application, puis de mesurer les effets de ces régions sur le caractère, mais aussi sur les autres caractères économiques importants. Par exemple, il est prévu de valider les

résultats du croisement Lacaune x Sarde (projet 7) dans plusieurs races pures, ce qui nécessite une constitution de familles de type «Weller» et un stockage d'ADN. Dans le projet salmonellose ovine (1), une validation des zones trouvées est en cours dans des familles complémentaires; mais on attend aussi une validation du modèle "réponse à une vaccination" vers une "résistance après inoculation avec la souche virulente".

Quand il n'y a pas d'hypothèse a priori sur le nombre et l'effet des gènes impliqués, les applications envisagées par les équipes sont plutôt la sélection assistée par marqueurs, avec les réserves et les travaux supplémentaires évoqués ci-dessus. Lorsqu'il y a hypothèse forte d'un gène à effet important (par exemple, projet 6), la possibilité d'une introgression est à considérer.

Il est à noter que d'autres projets sont en cours à l'INRA, en dehors du Département de Génétique

animale. De nouveaux projets, non cités ici, sont également prévus, concernant des thèmes émergents comme le comportement, ou concernant d'autres espèces comme la caille et les caprins. Dans l'espèce caprine, outre le marquage du gène du cornage, des protocoles de recherche des marqueurs de la vitesse de traite et des caractéristiques des poils ont été mis en place. Au plan international également, il y a eu une explosion de projets aussi divers par l'espèce et le caractère que par la taille des dispositifs. Parce que, justement, ces projets diffèrent le plus souvent par leur objectif, ils ne sont pas en concurrence directe. Une complémentarité est également à rechercher, lorsqu'elle peut être fructueuse, entre les différentes stratégies d'étude du génome (approche gènes candidats, recherche de QTL, génomique fonctionnelle). Il est donc souhaitable, dans les années à venir, que les résultats des uns et des autres puissent contribuer globalement à la connaissance des déterminismes génétiques et à l'amélioration génétique des animaux.

## Références

Les numéros des références sont ceux attribués aux différents projets présentés dans le tableau 1.

(1) Allain D., Lantier I., Elsen J.M., François D., Brunel J.C., Weisbecker J.L., Schibler L., Vaiman D., Cribiu E., Gautier A., Berthon P., Lantier F., 1998. A design aiming at detecting QTL controlling wool traits and other traits in the INRA401 sheep line. In: Proceedings of the 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Armidale (AUS), January 12-16, vol. 24, 51-54.

(4) Beaumont C., Protais J., Guillot J.F., Colin P., Proux K., Millet N., Pardon P. 1999. Genetic resistance to mortality of day-old chicks and carrier-state of hens after inoculation with *Salmonella enteritidis*. *Avian Pathology*, 28, 131-135.

(5) Bodin L., Elsen J.M., Poivey J.P., San Cristobal-Gaudy M., Belloc J.P., Eychenne F., 1998. Hyper-prolificacy in the French Lacaune sheep breed; a possible major gene. In: Proceedings of the 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Armidale (AUS), January 12-16, vol. 27, 11-14.

(8) Bordas A., Tixier-Boichard M., Mérat P., 1992. Direct and correlated responses to divergent selection for residual food intake in Rhode Island Red laying hens. *British Poultry Science*, 33, 741-754.

(2) Elsen J.M., Amigues Y., Schelcher F., Ducrocq V., Andreoletti O., Eychenne F., Vu Tien Khang J., Poivey J.P., Lantier F., Laplanche, J.L., 1999. Genetic susceptibility and transmission factors in scrapie: detailed analysis of an epidemic in a closed flock of Romanov. *Archives of Virology*, 144, 431-445.

(9) Leclercq B., 1998. Genetic selection of meat-type chickens for high or low abdominal fat content. In: B. Leclercq, C.C. Whitehead (eds), *Leanness in Domestic Birds*, 25-40. Butterworths, London, UK.

(6) Marcq F., El Barkouki S., Elsen J.M., Grobet L., Royo L., Leroy P.L., Georges M., 1998. Investigating the role of myostatin in the determinism of double muscling characterizing Belgian Texel sheep. XXVI International Conference on Animal Genetics, Auckland, New Zealand, August 9-14, 1998. *Animal Genetics*, 29, suppl. 1, 52 (abstract).

(1) Moreno C., 1999. Recherche de gènes à effet quantitatif liés à des marqueurs moléculaires dans la souche ovine INRA401. Mémoire de DEA, INA-PG.

(3) Pinard-van der Laan M.-H., Monvoisin J.-L., Péry P., Hamet N., Thomas M., 1997. Comparaison of outbred lines of chickens for resistance to experimental infection with coccidiosis (*Eimeria tenella*). *Poultry Science*, 77, 185-191.