

Contribution de la biologie moléculaire à la sélection animale: les marqueurs génétiques

Renaville R.*, Parmentier I.*, Falaki M.,
Gengler N.***, Cravador A.**** et Portetelle D*.**

*Unité de Biologie animale et microbienne, Faculté universitaire des Sciences agronomiques,
Avenue Maréchal Juin 13, 5030 Gembloux, Belgique

**Ecole Nationale d'Agriculture de Meknès, Département des Productions Animales,
B.P. S/40 Meknès, Maroc

***Unité de Zootechnie, Faculté universitaire des Sciences agronomiques, Passage des
Déportés 2, 5030 Gembloux, Belgique

**** Université d'Algarve, Campus de Gambelas, 8000 Faro, Portugal

1. INTRODUCTION

Avec la domestication des animaux de rente, les éleveurs ont cherché d'une part, à accroître les performances de leurs animaux en sélectionnant dans la population mise à leur disposition les sujets les plus performants pour la (les) caractéristique(s) recherchée(s) et d'autre part, à réduire l'impact des zoonoses en sélectionnant les animaux résistants. Toutefois, si cette approche de la sélection a permis inconsciemment de favoriser au sein de la population les génotypes intéressants pour les critères recherchés, il importe de garder en mémoire que la production et la santé animale résultent non seulement du potentiel génétique mais également d'interactions entre l'alimentation, le statut physiologique, les facteurs environnementaux et le savoir-faire de l'éleveur.

Dans ce contexte, le secteur laitier et bovin en particulier, a constitué l'un des principaux domaines d'investigation en matière de sélection. Ainsi, avec l'introduction de la technique de l'insémination artificielle et l'élaboration de méthodes statistiques de génétique quantitative performantes (BLUB, ...), la production laitière moyenne s'est accrue de plus de 3.000 kg de lait en Europe Occidentale, aux USA et au Canada depuis 1960. Dans certains troupeaux d'élite, la production moyenne par vache peut atteindre 15.000 kg de lait, certains individus pouvant atteindre même une production supérieure à 23.000 kg.

Cette stratégie de sélection toujours en vigueur actuellement présente toutefois certaines limites, dont notamment le fait que l'identification des animaux supérieurs se fait tardivement (après la première lactation des descendants soit après 3-5 ans) et que les schémas mis en place sont extrêmement coûteux et donc difficile à mettre en place au sein des races à faibles effectifs ou dans les pays en voie de développement confrontés à d'autres priorités.

Avec les progrès enregistrés en biologie et génétique moléculaires depuis une vingtaine d'années (structure de l'ADN, PCR, enzymes de restrictions, séquençage du génome, ...), il est maintenant possible de visualiser rapidement certains traits du patrimoine génétique des animaux de rente appelés « *marqueurs moléculaires* » ou « *locus marqueurs* ». Des efforts substantiels sont dès lors développés par différentes sociétés d'élevage pour identifier d'une part, les gènes à effets quantitatifs ou économiques (ou QTL/ETL pour Quantitative Traits

Locus/Economic Traits Locus), responsables de la variabilité phénotypique des animaux et d'autre part, les gènes associés aux zoonoses.

Plus particulièrement, les groupes de recherche visent à mettre en évidence des variations génétiques pouvant rendre compte d'une production différente au sein d'une population ou d'une maladie. Par définition, la variabilité génétique (ou polymorphisme) décrit un phénomène où deux ou plusieurs formes d'un gène particulier existent dans la nature. Chez les mammifères, les gènes, composés d'un grand nombre de nucléotides codant pour diverses molécules, sont présents sous forme de deux allèles pour un gène (un allèle pour chaque chromosome homologue) et peuvent présenter des variations affectant par exemple la structure de la molécule produite. Lorsque la présence ou l'absence d'un polymorphisme au niveau d'un gène candidat (ou marqueur génétique) pour le facteur recherché (par exemple, la production de protéines) est révélée au sein d'un échantillon représentatif de la population, l'étape suivante dans l'analyse consistera à démontrer son association avec le caractère recherché par l'emploi de modèle statistique élaboré. Dès que cette association est significativement démontrée, l'allèle intéressant du gène candidat peut alors être directement introduit dans des systèmes de sélection assistée par marqueurs (ou MAS ou *Marker Assisted Selection*) afin de "favoriser" sa fréquence au sein de la population.

Comme la sélection s'opère au niveau de l'ADN, ces systèmes de sélection assistée par marqueurs permettent une identification précoce, dès la naissance, d'animaux, au sein des deux sexes, qui présentent un potentiel génétique intéressant.

2. LES APPROCHES MÉTHODOLOGIQUES

La stratégie dans la sélection par marqueur génétique consiste à mettre en évidence ces variations au niveau génétique et à associer ces variations aux différences de production ou aux zoonoses qu'elles induisent.

La biologie moléculaire peut servir à caractériser et à identifier des traits liés à des gènes particuliers qui ont permis au bétail de produire (lait, viande, laine, ...), de résister aux maladies endémiques, de tolérer l'environnement, ou encore de survivre en se nourrissant de fourrages de mauvaise qualité.

Dès lors, la maîtrise de la connaissance du génome et conséquemment du potentiel des animaux joue un rôle primordial dans l'amélioration des productions animales tant au point de vue quantitatif que qualitatif ou préventif. La réalisation d'un tel objectif requiert toutefois le respect de règles précises se référant à l'échantillonnage, à l'évaluation statistique et au choix de la méthodologie.

2.1. L'échantillonnage

De part l'aspect multigénique des régulations contrôlant les productions animales, la nature et l'importance numérique de l'échantillonnage constitue l'élément clé permettant de lier les informations moléculaires aux données phénotypiques des animaux.

De nombreuses contraintes existent à l'observation des caractères quantitatifs pris en considération dans l'approche sélection par marqueurs génétiques. La plus importante est sans conteste le coût associé à la réalisation de ces observations lequel soit ne permet pas l'acquisition des données de terrain (malheureusement souvent le cas dans les pays en voie de

développement), soit réduit le nombre d'informations collectées (par exemple: moins de contrôles laitiers au cours d'une lactation), ou soit limite le nombre de paramètres étudiés (par exemple, peu d'informations sur les données de fertilité). Une autre problématique est soulevée par la qualité (le problème des données manquantes constitue un véritable dilemme pour les statisticiens généticiens) et la fiabilité (la précision des données transmises n'est pas toujours au rendez-vous) des données récoltées.

C'est quelques considérations rappelées, il s'avère que, quelque soit la méthodologie adoptée (marqueur positionnel ou gène candidat), le mâle de part sa descendance nombreuse est beaucoup plus informatif que la femelle.

Par ailleurs, on cherchera à travailler à partir soit, d'un échantillon constitué de lignées correctement établies comprenant un nombre de descendants significativement suffisants par géniteur soit, à partir d'un échantillon le plus représentatif de la population. Enfin, cet échantillon devra être le plus important possible et constituer d'animaux d'origine géographique la plus large possible afin d'éviter que des particularités locales n'affectent l'interprétation des résultats.

2.2. L'analyse statistique et évaluation génétique

Grâce à l'accroissement des possibilités informatiques, on assiste actuellement à de grandes transformations dans les approches et méthodes utilisées (recherches sur le développement de méthodes statistiques, d'algorithmes de calculs et de logiciels d'évaluation et de prédiction des mérites des animaux) afin de mieux estimer le potentiel génétique des animaux pour un caractère donné. De même, il existe une forte tendance vers de meilleurs utilisation des résultats des évaluations génétiques à travers une diversification des caractères analysés, un raffinement des résultats, une extension vers des effets non-additifs, l'intervention de la consanguinité (pas seulement comme élément excluant certains accouplement mais comme facteur ayant une influence dépressive sur les caractères économiquement intéressants) et une utilisation des informations moléculaires de plus en plus nombreuses. L'intégration de tous ces paramètres dans les programmes d'évaluation génétique devrait permettre à terme une gestion optimale des accouplements (Gengler & Druet, 2000).

Par ailleurs, l'application des nouvelles méthodes et technologies à la sélection des géniteurs lors de l'accouplement des femelles, aspect trop souvent négligé jusqu'à présent, pourrait optimiser et même doubler le gain génétique annuel par une meilleure sélection des géniteurs disponibles (Dematawewa et Berger, 1998)

Actuellement, l'analyse statistique théorique de l'évaluation génétique des animaux de rente est encore très loin d'une théorie unifiée permettant de résoudre les problèmes liés à l'identification des ETL/QTL et surtout, de leur intégration dans les méthodes d'évaluation. Différents modèles sont donc proposés pour prédire le phénotype des futurs animaux. Celui actuellement développé au laboratoire par Gengler & Druet (2000) s'articule autour d'une équation de prédiction élargie (par rapport à la moyenne des parents pour leurs valeurs génétiques additives):

$$\Delta p_i = \frac{\hat{a}_{iS} + \hat{a}_{iD}}{2} + \hat{d}_{iS,iD} + \hat{a}_F F_i + \sum \hat{q}_{a_i} + \sum \hat{q}_{d_i}$$

Dans cette équation Δp_i représente la supériorité phénotypique attendue pour le descendant i qui s'explique par les valeurs génétiques additives polygéniques du père \hat{a}_{iS} et de

la mère \hat{a}_{i_D} , éventuellement par l'effet de la dominance parentale (interaction père x mère) \hat{d}_{i_S, i_D} , par la réduction de la productivité due à la consanguinité ($\hat{\kappa}_F$ est l'estimation de la dépression du phénotype due à la consanguinité, F_i est la consanguinité de i) et par une somme des effets additifs ($\sum \hat{q}_{a_i}$) et de dominance ($\sum \hat{q}_{d_i}$) des ETL/QTL combinés et attendus chez i .

Enfin, l'utilisation optimale des données provenant de la génétique moléculaire et quantitative permettra grâce aux technologies de la communication (INTERNET) permettra d'informer et d'aider le sélectionneur dans le choix de ses accouplements comme représenté à la figure 1.

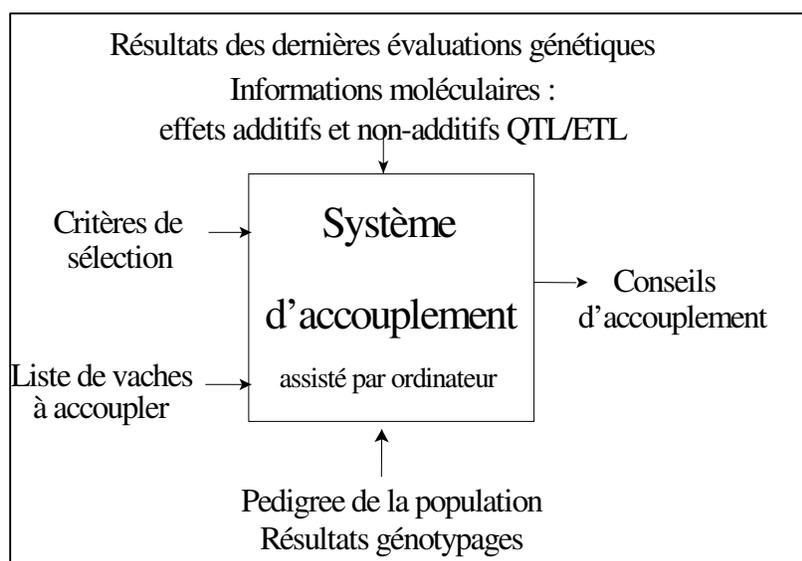


Figure 1: Schéma représentant l'intégration des informations disponibles dans un système d'accouplement assisté par ordinateur (adapté de Gengler & Druet, 2000)

2.3. Le choix de la méthodologique

Parmi l'ensemble des possibilités technologiques offertes par la biologie moléculaire, seules deux méthodes sont plus particulièrement développées actuellement pour mettre en évidence les gènes susceptibles d'être associés aux productions animales ou à des zoonoses, à savoir l'approche par analyse de liaison d'un marqueur à un QTL et l'approche du gène candidat marqueur. Ces deux approches moléculaires ont recours à la technique du PCR afin de disposer de quantités suffisantes d'ADN à partir d'une faible quantité de tissu nucléé (cellules sanguines (globules blancs chez les mammifères), follicules pileux, sperme, cellules embryonnaires, ...)

2.3.1. La technique PCR

La technique PCR (pour Polymerase Chain Reaction) est une méthode permettant d'amplifier *in vitro* des séquences d'ADN par répétition de réactions d'élongation en présence

d'une ADN polymérase et d'amorces nucléotidiques spécifiques. Son principe repose sur la répétition des trois processus suivants (figure 2):

- la dénaturation (séparation) des deux brins d'ADN à température élevée (environ 95°C) afin d'obtenir des molécules d'ADN monocaténaire;
- l'hybridation (fixation) d'oligonucléotides (amorces) complémentaires d'une séquence de l'ADN monocaténaire cible (la température est alors ramenée à une valeur située entre 40°C et 65°C afin de permettre une bonne fixation des amorces);
- la réaction d'élongation par une ADN polymérase thermostable (la Taq polymérase) à partir des oligonucléotides, réalisée à la température optimale de 72°C

Les produits de ce premier cycle servent de substrat pour le second et ainsi de suite. A chaque cycle, le nombre de copies du fragment d'ADN est doublé.

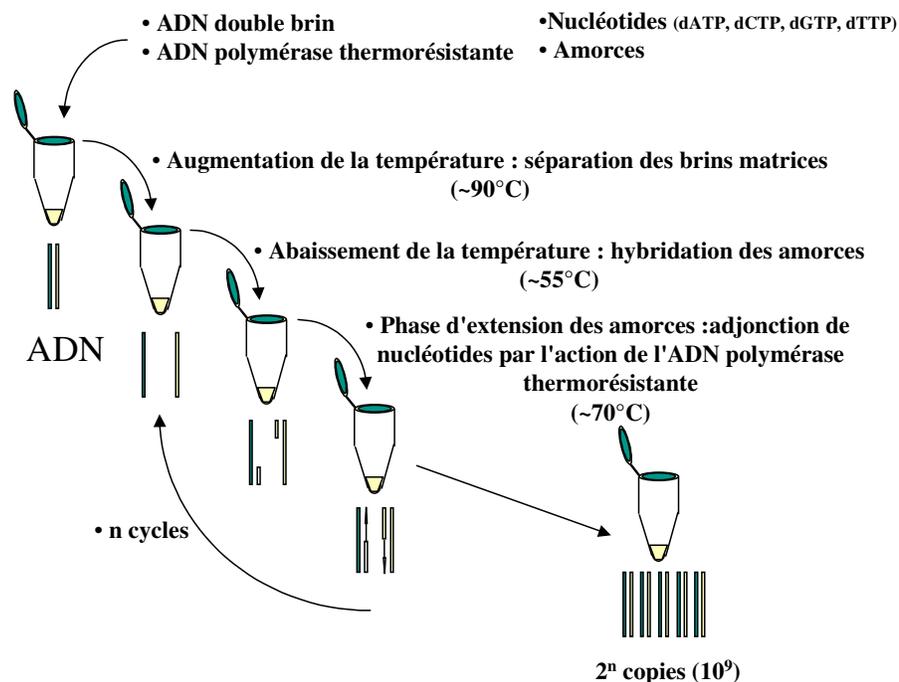


Figure 2: Représentation schématique de l'amplification PCR de l'ADN

2.3.2. L'approche par analyse de liaison d'un marqueur à un QTL

Cette technique se base sur un ensemble de marqueurs de l'ADN, essentiellement les microsatellites (actuellement, on en a identifié ± 10.000 chez le bovin), dont certains ségrègent dans la population en association avec le paramètre recherché ou QTL.

Les microsatellites, ou les polymorphismes de répétitions de séquences simples (single sequence repeat (SSR) polymorphisms), sont actuellement utilisés dans la construction de cartes génétiques de plusieurs espèces (projets BovMap, PigMap, ...). La popularité de ces marqueurs trouve son origine dans le haut niveau de polymorphisme dans la longueur des répétitions en tandem, observé au niveau de plusieurs loci de microsatellites, et dans l'utilisation de la réaction PCR pour mettre en évidence facilement ce polymorphisme. Outre ce polymorphisme observé dans la longueur des répétitions, les microsatellites présentent

également d'autres avantages comme marqueurs génétiques, en particulier, en suivant une ségrégation mendélienne; ils sont relativement bien conservés et peuvent être utilisés directement dans les espèces apparentées. Enfin, les répétitions de dinucléotides, en particulier (dCdA)_n/(dGdT)_n, sont très abondantes dans beaucoup d'espèces de mammifères et sont répandues assez uniformément tout le long du génome.

Après avoir constitué une banque d'ADN à partir d'animaux appartenant à des familles représentatives pour le facteur recherché, la stratégie consiste à isoler les régions chromosomiques de plus en plus précises contenant le QTL d'intérêt à l'aide de batteries de microsatellites jusqu'au moment où celui-ci peut être identifié. Brièvement, cette approche peut être décomposée de cette manière :

- 1) identification grâce aux marqueurs de régions contenant le QTL (avec un intervalle de 10 à 20 cM),
- 2) localisation plus précise du QTL dans ces régions (avec un intervalle de ± 5 cM),
- 3) identification de marqueurs proches du QTL (1-2 cM d'intervalle),
- 4) identification du gène QTL de la région.

Figure3: A FAIRE

2.3.2. Gène candidat marqueur

La seconde stratégie consiste à identifier les gènes candidats marqueurs en se basant sur les connaissances du phénomène physiologique associé à la production étudiée. Par cette approche, on cherche à identifier au sein de la population le polymorphisme, défini comme la résultante de variations dans la séquence de l'ADN, se traduisant soit par l'apparition de différents phénotypes, soit par des modifications des profils de restriction (par ex.: l'allèle B du gène de la kappa-caséine est associé à une production fromagère accrue). Ces variations alléliques peuvent résulter de phénomènes plus ou moins complexes tels que la mutation, l'insertion/déletion, le réarrangement chromosomiques,

Plusieurs techniques ont été développées pour détecter un polymorphisme au niveau du génome des animaux. On peut citer de manière non exhaustive:

2.3.2.1. L'hybridation moléculaire du « Southern blotting »

Cette technique permet de repérer ou de rechercher une molécule d'ADN dans une population hétérogène. Le principe est de faire réagir les molécules cibles rendues simple brin et fixées à une membrane d'hybridation en nylon ou nitrocellulose avec la séquence d'ADN connue et purifiée marquée par un traceur radioactif par exemple. Lorsque la sonde reconnaît son homologue dans la population de molécules cibles, elle se fixe à celui-ci et l'hybride devient marqué par la présence de la sonde. Les hybrides sont repérés en plaçant la membrane au contact d'un film autoradiographique. Si la molécule d'ADN a été préalablement digérée par des enzymes de restriction (ciseaux moléculaires), les fragments générés, séparés selon leur taille, peuvent engendrer un profil de restriction spécifique de l'individu.

1.3.2.2. Le polymorphisme de longueur de restriction des fragments de restriction après amplification PCR (PCR-RFLP)

Des fragments de restriction peuvent présenter lors de leur séparation sur gel d'acrylamide ou d'agarose des longueurs différentes suite à des mutations apparaissant sur une séquence d'ADN reconnue par une enzyme de restriction. Dès lors, par cette méthode, l'ADN des animaux étudiés sera digéré par une ou plusieurs enzymes de restriction et le polymorphisme généré permettra de caractériser ces individus.

La simplicité et la rapidité de cette méthode en a fait une des techniques de choix pour identifier des marqueurs génétiques au sein de la population. Les différentes étapes de cette stratégie sont illustrés à la figure 4.

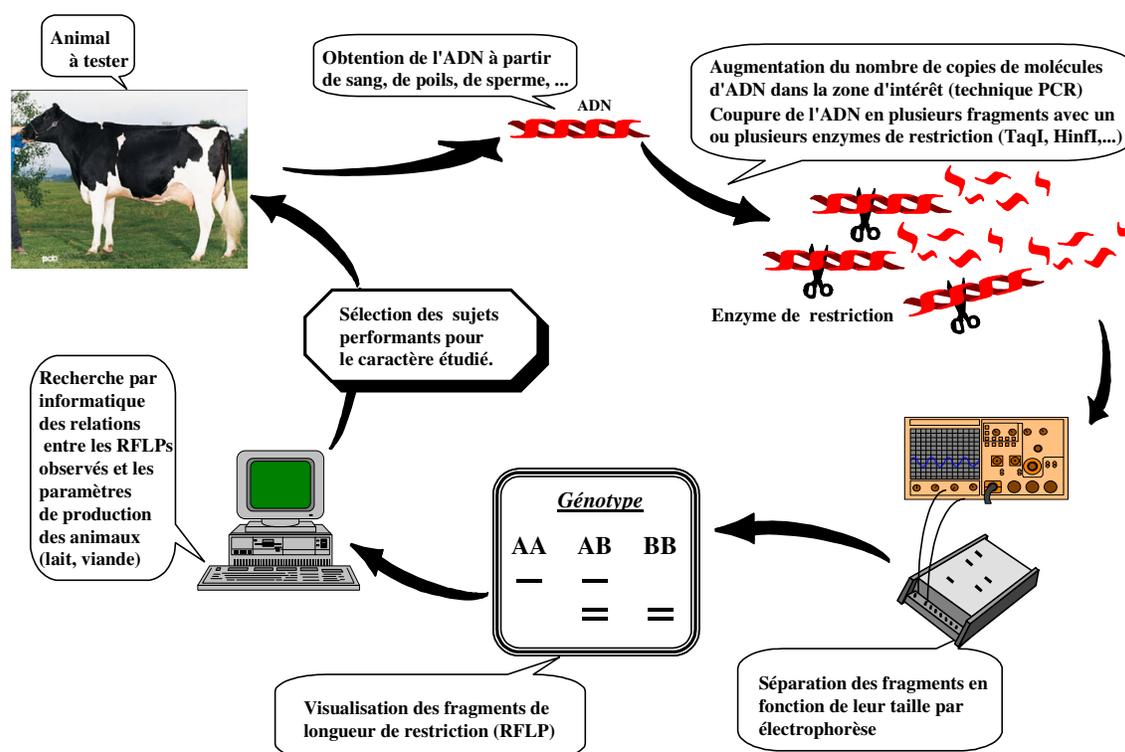


Figure 4: Différentes étapes conduisant à l'identification d'un marqueur génétique par PCR-RFLP

2.3.2.3. L'électrophorèse de l'ADN simple brin (SSCP)

La technique SSCP est basée sur le comportement électrophorétique d'un fragment d'ADN simple brin dans un gel d'acrylamide non dénaturant. En effet, des structures secondaires dues à des appariements de bases au sein de la molécule peuvent se former dans une molécule d'acide nucléique simple brin. Ces structures secondaires dépendent de la séquence propre au brin d'ADN et donnent une conformation particulière à chaque type de molécule monocaténaire. En pratique, après amplification PCR du fragment d'ADN d'intérêt, celui-ci est dénaturé par chauffage à 94°C et ensuite refroidit rapidement dans la glace afin d'empêcher la réassociation des molécules simples brins entre elles. Il en résulte la formation de structure

secondaire stable par des réassociations au niveau des zones de séquences complémentaires. Les fragments ainsi obtenus sont ensuite séparés par électrophorèse. Deux bandes seront observées chez l'animal homozygote car deux molécules d'ADN simple brin complémentaires ont des conformations complémentaires légèrement différentes. L'animal hétérozygote présentera 4 bandes.

2.3.2.4. Le polymorphisme de longueur de fragments amplifiés (AFLP)

Le principe de cette méthode repose sur l'amplification sélective de fragments de restriction générés à partir d'un échantillon d'ADN génomique ensuite séparés en condition dénaturante sur gel de polyacrylamide. En pratique, l'ADN est digéré par deux enzymes de restriction coupant respectivement au niveau d'un site rare et d'un site fréquent. Des adaptateurs, spécifiques des sites de restriction utilisés, sont ensuite fixés aux extrémités des fragments de restriction obtenus. Une pré-amplification PCR est réalisée à l'aide d'amorces définies d'après la séquence des adaptateurs mais auxquelles une extension d'une base a été introduite. Le produit de cette pré-amplification servira de matrice pour l'amplification sélective à l'aide d'amorces présentant cette fois une extension de trois bases. Les produits de l'amplification sélective sont ensuite séparés sur gel de polyacrylamide.

2.3.2.5. Le polymorphisme d'ADN par amplification aléatoire (RAPD)

Si aucune séquence précise d'ADN est ciblée pour identifier un polymorphisme au niveau du génome, il est possible d'utiliser des amorces constitués de manière aléatoire de 6 à 9 bases. Ces amorces vont ensuite se fixer sur l'ADN cible au hasard et la nature des produits d'amplification obtenus est inconnue. Toutefois, ces fragments peuvent être caractérisés par séquençage permettant de redéfinir des amorces spécifiques permettant d'amplifier spécifiquement les fragments ainsi identifiés.

3. MARQUEURS GENETIQUES ET PRODUCTION LAITIÈRE.

Quel que soit la production animale envisagée (lactation, croissance, reproduction, ...), celle-ci est sous la dépendance d'un nombre variable de gènes qu'il importe d'identifier afin de déterminer leurs effets majeurs et/ou mineurs sur la fonction iologique étudiée. Compte tenu de son impact économique, l'étendue de son cheptel et l'importance des données de production disponibles, les efforts des chercheurs se sont naturellement essentiellement focalisés à l'heure actuel sur la production laitière des bovins au détriment des autres espèces (bovin à viande, ovin, caprin, porc, ... et des autres spéculations (par exemple: la croissance, l'indice de consommation, ...)). C'est pourquoi, nous nous focaliserons uniquement à ce domaine.

3.1. Marqueurs positionnels associés à un QTL

De nombreuses équipes de recherche de part le monde cherchent à identifier des QTL par analyse de liaison d'un marqueur génotypique. C'est ainsi qu'en production laitière bovine, plusieurs QTL ont été ainsi mis en évidence par cette technologie (tableau 1) sans que toutefois, le/les gène(s) candidat(s) n'aient été nécessairement identifiés.

Tableau 1: Localisation chromosomique des principaux QTL associés à la production laitière

Paramètres	Localisation chromosomique des principaux QTL
Production (lait, protéines, matières grasses)	1, 2, 5, 6, 7, 9, 10, 12, 13, 14, 16, 18, 20, 23

Protéines	1, 6, 14
Matières grasses	1, 20
Cellules somatiques	7, 14, 22, 23
Type laitier	1, 4, 5, 7, 14, 23
Longévité	2, 14, 21, 23

Le grand nombre de localisation chromosomique démontre bien le caractère multigénique du contrôle de la spéculation laitière et du danger que peu représenter la sélection sur un seul paramètre. Toutefois, convaincu de l'importance des informations déjà disponibles par l'approche des marqueurs positionnels, certains centres de sélection examinent à l'heure actuel la possibilité d'appliquer cette stratégie pour réaliser une pré-sélection de leurs animaux.

3.2. Gènes candidats marqueurs

Actuellement, en spéculation laitière, les investigations se focalisent essentiellement sur les gènes candidats marqueurs codant pour les protéines du lait, pour des molécules de l'axe somatotrope et pour les cellules somatiques.

Compte tenu de l'importance économique des produits lactés transformés, la mise en évidence de variations génétiques au niveau des protéines du lait a été investiguée depuis plusieurs années. A ce jour, plusieurs variations génétiques ont été rapportées (tableau 2) et on a démontré par exemple, le rôle positif et significatif du variant B de la κ -caséine sur la production d'un lait favorable à la production de fromages. En effet, ce variant permet d'accroître la production de fromage, réduit le temps de coagulation, accroît la fermeté du caillé et induit une meilleure stabilité à la chaleur. Toutefois, il est malheureux de constater que si une sélection pour ce variant B de la κ -caséine doit être encouragée compte tenu de son importance économique pour l'industrie fromagère, il n'existe actuellement aucun incitant financier pour l'éleveur à orienter la génétique de son troupeau dans cette direction.

Tableau 2: Variants génétiques associés aux protéines du lait

Protéines du lait	Variant génétique
α_{S1} -caséine	A, B, D, E, F
α_{S2} -caséine	A, B, C, D
β -caséine	A1, A2, A3, B, C, D, E
κ -caséine	A, B, C, E
β -lactoglobuline	A, B, C, D, E, F, G, H, W, X
α -lactalbumine	A, B, C

Le second domaine d'investigation actuel des gènes candidats marqueurs est représenté par l'"axe somatotrope" (figure 5).

Le rôle de l'axe somatotrope est bien connu en spéculation laitière. En effet, l'utilisation de la BST (somatotropine ou GH) est largement répandue afin d'accroître la productivité du lait, notamment aux USA.

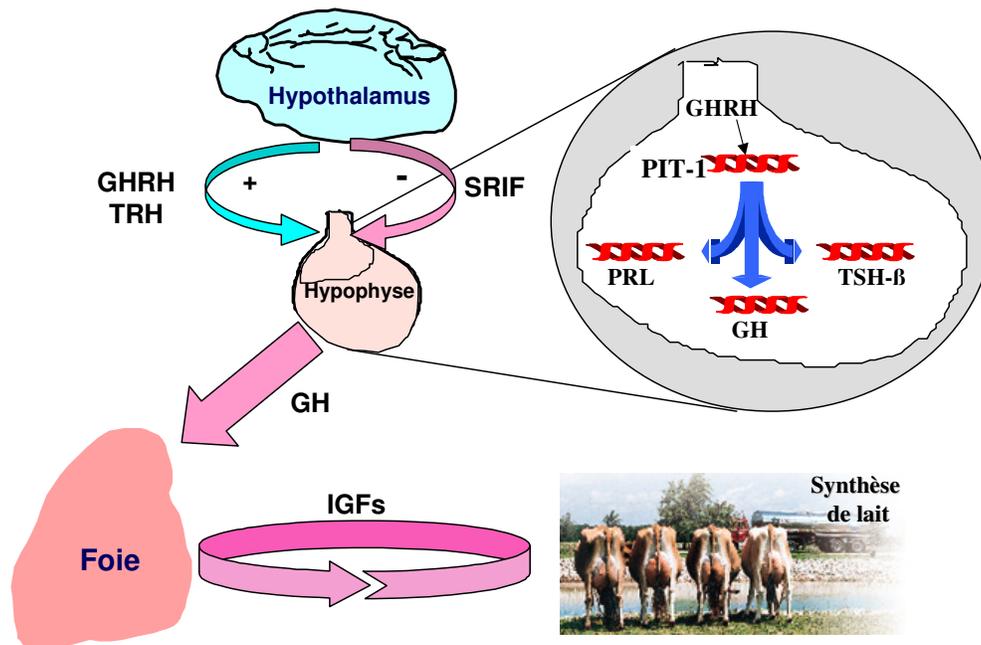


Figure 5: Représentation schématique des principaux facteurs intervenant au niveau de l'axe somatotrope (Pit-1 = facteur de transcription hypophysaire Pit-1; GHRH = somatocrine; TRH = thyrotropine; SRIF = somatostatine; PRL = prolactine; TSH-β= forme β de la thyrostimuline; IGFs = insulin-like growth factors)

Dans notre laboratoire, nous focalisons actuellement nos efforts sur un gène de l'hypophyse et dénommé Pit-1 (Renaville *et al.*, 1997). Situé sur le chromosome 1 au niveau duquel un QTL a été décrit, ce gène Pit-1 présente la particularité de contrôler notamment le gène de la somatotropine (régulatrice de l'intensité de la production laitière), le gène de la TSH (hormone régulant l'activité de la thyroïde et par voie de conséquence le métabolisme de l'animal) et le gène de la prolactine (facteur responsable de l'initiation de la lactation). Au niveau de ce gène Pit-1, nous avons mis en évidence un polymorphisme (figure 6).

Les résultats de l'étude statistique d'association entre formes alléliques et caractères de production laitière réalisée sur les animaux issus du troupeau canadien, montrent un effet positif de l'allèle A sur les quantités de lait et de protéines (respectivement, effet additif $\alpha = +44.3$ kg et $\alpha = +1.3$ kg) et négatif sur la quantité de matières grasses (effet additif $\alpha = -0.5$ kg). Cette valeur peut apparaître faible mais elle représente le tiers du progrès génétique annuel maximum atteint aux USA par les schémas de sélection traditionnels (de 100 à 150 kg de lait pour une génération)

D'autres polymorphismes associés aux paramètres de la production laitière ont été décrits dans la littérature, comme par exemple une association entre la production de lait et le pourcentage de matières grasses au niveau du gène de la somatocrine (GHRH), de la somatotropine (GH), du récepteur de la GH et de l'IGF-I. Ces investigations sur les gènes de l'axe somatotrope en sont à leur début mais les perspectives résultant des premières observations sont des plus encourageantes. Il sera important de vérifier ces observations sur

un échantillonnage le plus vaste possible mais surtout de réaliser les analyses sur les animaux ayant participé aux études sur les marqueurs positifs et de comparer les résultats acquis selon les deux stratégies. Enfin, il importera également de définir les interactions possibles entre tous les gènes investigués.

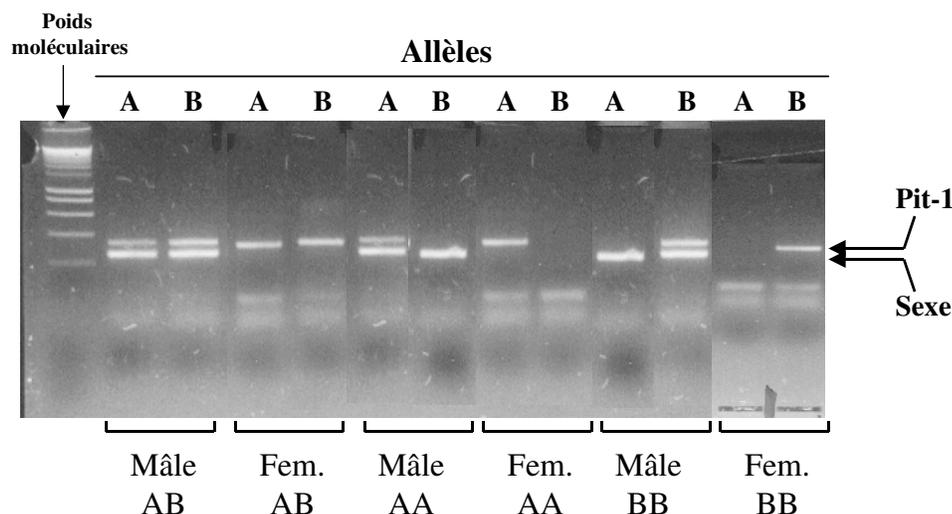


Figure 6: Profils des fragments de restriction du gène Pit-1 obtenus après amplification la technique PCR-RFLP. Lors de la même analyse, le sexe de l'animal a été déterminé. Cette combinaison d'analyse trouve toute son importance dans la caractérisation et le sexage des embryons.

3. MARQUEURS GENETIQUES ET ZOONOSE.

Identifier les animaux résistants ou sensibles aux zoonoses et rechercher des marqueurs génétiques permettant de les caractériser puis de les sélectionner est un des objectifs prioritaires des pays du sud particulièrement confrontés à la problématique des maladies endémiques et au coût des soins à apporter aux animaux infectés par celles-ci (Hawken *et al.*, 1998).

L'identification de marqueurs génétiques se base de la connaissance des mécanismes biologiques d'infection et de défense immunitaire impliqués dans les pathologies étudiées et sur la connaissance de plus en plus précise du génome des animaux, celui du bovin en premier lieu. De même, comme pour les caractères de production, les résistances génétiques aux principales maladies infectieuses sont sous l'influence d'un déterminisme polygénique.

Connu pour sa résistance au multiparasitisme et notamment à la trypanosome bovine, le N'Dama est particulièrement étudié afin d'y identifier les gènes associés à cette tolérance (Mattioli *et al.*, 2000) qui malheureusement non toujours pas répertoriés. Les travaux de Missohou *et al.* (1998) ont toutefois montré que le mouton sénégalais trypanotolérant

Djallonke homozygote pour l'allèle C de la transferrine présentait le taux de cellules compactées le plus faible alors que l'animal hétérozygote CD avait les taux les plus élevés (ce qui est associé à un état infectieux). Ceci pourrait constituer une piste à investiguer. La résistance à d'autres parasites comme le nématode parasitaire *Haemonchus contortus* a fait l'objet d'investigations et des marqueurs associés à cette résistance ont été identifiés chez le mouton Red Maasai d'Afrique orientale (Gogolin-Ewens et al., 1990).

Avec le développement des connaissances en immunologie, de nouvelles perspectives apparaissent dans la mise en évidence de marqueurs génétiques. C'est ainsi que parmi les molécules impliquées dans les mécanismes de l'interface entre hôte et pathogène, les recherches se focalisent sur les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité, le CMH, car elles contrôlent les mécanismes de présentation antigénique et de déclenchement des réponses immunitaires cellulaires et humorales de l'hôte. Par exemple, sachant que la santé de la glande mammaire peut représenter jusque 25 % des causes d'élimination des vaches laitières, plusieurs groupes cherchent à associer molécules du CMH et nombre de cellules somatiques (indicateurs de la santé de la glande). Si un QTL associé au nombre de cellules somatiques a été localisé sur les chromosomes 5, 22 et 23 ($P < 0.005$) (Heyen *et al.* 1998), on ignore encore actuellement le/les gène(s) marqueurs directement impliqué(s). Le polymorphisme du locus DRB3.2 de l'antigène leucocytaire bovin de classe II (BoLa), pourrait être associé au risque potentiel de développer une mammite (Sharif *et al.* 1998.). Burvenich et al (1999) notaient une augmentation des taux d'IGF-I mais aussi ceux du TNF α dans le cas de mammites à *E. coli*. Un polymorphisme est connu pour ces deux facteurs (Dietz et al., 1997). Par ailleurs, les gènes codant pour DRB3.2 et TNF α sont situés sur le chromosome 23 (où un QTL est observé) et sont caractérisés par leur faible taux de recombinaisons génétiques (Heyen et al., 1998).

Malgré ces quelques résultats encourageant, il est clair que, compte tenu de l'importance économique de paramètre santé sur les productions animales, des efforts substantiels devront être entrepris pour accroître nos connaissances dans le domaine afin d'identifier des marqueurs génétiques permettant une sélection des sujets résistants.

4. CONCLUSIONS

Toutes les données de la littérature concordent pour admettre que l'utilisation des marqueurs génétiques en sélection animale va s'intensifier. L'application de l'approche moléculaire de la sélection afin de conjuguer les gènes conférant une résistance que l'on trouve dans le bétail des pays en voie de développement aux gènes encourageant une plus grande production (aspect quantitatif et/ou qualitatif) des pays industrialisés pourrait un jour donner les meilleurs animaux possibles aussi bien pour les régions tropicales que pour les régions tempérées.

Toutefois, si aujourd'hui, on a déjà recours à une sélection basée sur certains marqueurs de façon à introduire ces caractéristiques génétiques dans des races ou lignées moins performantes, il importe de ne pas oublier que la production animale est le fruit non seulement du potentiel génétique mais aussi de l'alimentation, du bien-être animal et du savoir-faire de l'éleveur.

En plus de l'identification des gènes associés à la production, l'avantage majeur d'une sélection assistée par marqueur génétique est représenté par la possibilité de sélectionner dans

les deux sexes dès la naissance les animaux jugés intéressants pour le/les caractère(s) recherché(s). Toutefois, une sélection par marqueur génétique devra toujours s'inscrire au moins dans un premier temps, dans les programmes actuels de sélection massale. Par ailleurs, le sélectionneur devra toujours avoir à l'esprit que d'une part, la plupart des productions animales sont multigéniques et qu'il est dangereux de les résumer à un ou à un petit groupe de gènes et d'autre part, que le fait pour l'éleveur de disposer d'un animal au génome "bien organisé" pour les paramètres recherchés ne le dispense pas de nourrir correctement ces animaux et de leur procurer tous les soins requis pour permettre à cette génétique de s'exprimer correctement.

- Certains résultats présentés dans ce document ont été obtenus dans le cadre d'un programme de recherche financé d'une part par le *Ministère des Classes Moyennes et de l'Agriculture, DG6, Recherche et Développement* (Convention S5859-section 2) et d'autre part, par *Semex-Alliance, Guelph, Canada*
- N. Gengler est actuellement « Chargé de Recherches au Fonds National de la Recherche Scientifique »

Bibliographie (doit encore être complétée)

RENAVILLE R., GENGLER N., VRECH E., PRANDI A., MASSART S., CORRADINI C., BERTOZZI C., MORTIAUX F., BURNY A. & PORTETELLE D. Pit-1 Gene polymorphism, Milk Production and Conformation Traits for Italian Holstein-Friesian Bulls. *J. Dairy Sci* (1997) **80**, 3431-3438.

PARMENTIER I., PORTETELLE D., GENGLER N., PRANDI A., BERTOZZI C., VLEURICK L., GILSON R. & RENAVILLE R. Candidate gene markers associated with somatotropic axis and milk selection. *Dom. Anim. Endocrinol.* (1999), **17**:138-149

GENGLER N. & DRUET T. Impact of biotechnology on animal breeding and genetic progress. In "*Biotechnology in animal husbandry*", Renaville R. & Burny A. (eds.), Kluwer academic publishing, (2000) in press.

DEMATAWEWA C.M.B. & BERGER P.J. Break-even cost of cloning in genetic improvement of dairy cattle. *J Dairy Sci.* (1998) **81**, 1136-1147.

HAWKEN R.J., BEATTIE C.W. & SCHOOK L.B. Resolving the genetics of resistance to infectious diseases. *Rev. Sci. Tech.* (1998) **17**, 17-25.