
Sélection assistée par marqueurs génétiques en spéculation laitière

PARMENTIER I., RENAUVILLE R., GENGLER N., MASSART S., BERTOZZI C., MORTIAUX F., BURNY A. & PORTETELLE D.

Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux, Département de Biochimie et Biologie appliquée, Unité de Biologie moléculaire et de Physiologie animale et Unité de Microbiologie, 2 Passage des Déportés, B-5030 Gembloux.

Introduction

L'axe somatotrope joue un rôle central dans le contrôle de la régulation des productions animales en général et de la production laitière en particulier. La mise en évidence de marqueurs génétiques, au niveau de cet axe, associés à des facteurs quantitatifs et qualitatifs de production laitière devrait réduire les coûts des programmes de sélection appliqués à ce jour et mieux les orienter. En conséquence, notre projet a pour objectif principal d'étudier les variations génétiques des gènes codant pour la protéine Pit-1 et pour le récepteur à l'hormone de croissance (GHR), intervenant au niveau de l'axe somatotrope, et de mettre en relation ces variations avec certaines caractéristiques de production laitière chez les bovins.

Matériel et méthode

Extraction d'ADN à partir de bulbes pileux

Vingt bulbes pileux sont mélangés à 30 μ l d'une solution 200 mM de NaOH et misent à ébullition 15 min.. Après ébullition, 30 μ l d'une solution 200 mM HCl et 100mM Tris-HCl, pH 8,5 sont ajoutés et mélangés.

Méthode ARMS (Amplification Refractory Mutation System) appliquée au gène Pit-1

Le mélange réactionnel est composé d' H_2O , de 75 mM de Tris-HCl (pH 9,0), de 200 mM $(NH_4)_2SO_4$ 0,1 % (W/V) Tween 20, de 3 mM de $MgCl_2$, de 20 pmole/50 μ l d'amorce, de 400 μ M de dNTP, de 100 ng/50 μ l d'ADN et de 1,2 U/50 μ l de polymérase [*Goldstar DNA Polymerase*, EUROGENTEC]. Le cycle de la réaction PCR est constitué d'une première phase de dénaturation de 3 min. à 96°C suivie de 35 cycles de 1 min. à 95°C, 1 min. à 65,2°C et de 1 min. à 72°C. La phase d'extension terminale a lieu à 72°C pendant 10 min. Les allèles observés sont mis en évidence à l'aide d'amorces spécifiques.

Méthode RFLP appliquée au gène GHR

Des aliquotes de dix μ g d'ADN génomique sont digérées pendant 4 heures par 100 U de l'enzyme de restriction TaqI. Les fragments obtenus sont séparés par électrophorèse sur gel d'agarose 0,8 % et transférés sous vide (appareil de transfert *Pharmacia*) sur membrane Nylon Hybond TM-N+ (*Amersham*). L'ADN est fixé en exposant les filtres pendant deux heures à une température de 80°C. Les filtres sont ensuite préhybridés, pendant un minimum de 3 heures à 65°C, dans une solution contenant 0,45 M NaCl, 45 mM citrate de sodium, pH 7,0 (ce qui correspond à une solution 1 \times SSC), du tampon Denhardt concentré 10 \times , 0,1% SDS et 200 μ g/ml d'ADN de sperme de saumon. L'hybridation est réalisée à 65°C dans une solution

identique à laquelle sont ajoutés $1,0 \times 10^8$ cpm d'une sonde GHR dénaturée marquée au deoxycytidine 5'-[α - 32 P] triphosphate (Amersham). Les filtres sont lavés 2×30 min. dans du $2 \times$ SSC contenant 0,1% SDS et 2×30 min. dans du $0,2 \times$ SSC contenant 0,1% SDS à 65°C .

Résultats et discussion

Méthode ARMS appliquée au gène Pit-1

La méthode ARMS permet de distinguer 3 profils polymorphiques (AA-AB-BB) au locus Pit-1. Les résultats de corrélation entre profils polymorphiques et caractères de production laitière, réalisés sur base d'un échantillon de 89 taureaux Holstein, nous font postuler un effet positif de l'allèle A sur la quantité de lait ($+131 \pm 49$ Kg ($P < 0.05$)) et de protéines ($+4,9 \pm 1,5$ Kg ($P < 0.05$)) produites et un effet négatif de l'allèle A sur le pourcentage en graisse ($-0,047 \pm 0,019$ Kg ($P < 0,01$)).

Méthode RFLP appliquée au gène GHR

Sept fragments de 7,4; 7,2; 6,7; 6,6; 6,4; 5,7 et 5,2 Kb désignés arbitrairement par A, A', B, C, D, E et F ont été mis en évidence. Ces différents fragments se combinent en huit profils polymorphiques : BC-BCD-CD-ABCD-ABC-CDEF-AA'BC-AB.

Les résultats de corrélation entre profils polymorphiques et caractères de production laitière, réalisés sur les données de 250 vaches Holstein, montrent que les vaches de profil BCD produisent 463 ± 243 Kg de lait ($P < 0.05$) et $17,31 \pm 6,80$ Kg de protéines totales ($P < 0.05$) en plus que les vaches à profil BC; les différences entre ABC et BC et entre ABC et BCD n'ont pas été significatives.

Conclusions et perspectives

Les résultats obtenus, bien que préliminaires, sont intéressants car ils associent certaines formes polymorphes des gènes Pit-1 et GHR à une meilleure production laitière.

Dans un avenir proche, nous réaliserons une étude à grande échelle de l'effet du polymorphisme des gènes Pit-1 et GHR sur les caractéristiques laitières des bovins de manière à confirmer que ces gènes seraient des candidats potentiels pour une sélection génétique d'animaux performants.

Références bibliographiques

1. Falaki M., Sneyers M., Prandi M., Massart S., Burny A., Portetelle D. & Renaville R., 1996, *Anim.Sci.*, **63**, 175-181
2. Renaville R., Vrech E., Gengler N, Falaki M, Prandi A., Massart S., Bertozzi C., Mortiaux F. & Portetelle D., 1996, *J. Anim. Sci.*, **74** (Suppl.1), 111.
3. Renaville R., Gengler N., Vrech E., Prandi A., Corradini C., Bertozzi C., Mortiaux F., Burny A. & Portetelle D., 1997, *J. Dairy Sci.*, in press.
4. Falaki M., Sneyers M., Prandi M., Massart S., Burny A., Portetelle D. & Renaville R., 1996, *Anim.Sci.*, **63**, 175-181

Financement

Cette recherche bénéficie du soutien d'un financement par le Ministère de l'Agriculture, section recherche (DG VI). Convention 5744 A, section 3.