

# Des marqueurs génomiques au service de la qualité de la viande

B. PICARD<sup>1,2</sup>, B. LEBRET<sup>3,4</sup>, I. CASSAR-MALEK<sup>1,2</sup>, L. LIAUBET<sup>5,6,7</sup>, C. BERRI<sup>8</sup>,  
E. LE BIHAN-DUVAL<sup>8</sup>, F. LEFEVRE<sup>9</sup>, J.-F. HOCQUETTE<sup>1,2</sup>, G. RENAND<sup>10,11</sup>

<sup>1</sup> INRA, UMR1213 Herbivores, F-63122 Saint-Genès-Champanelle, France

<sup>2</sup> Clermont Université, VetAgro Sup, UMR1213 Herbivores, BP10448, F-63000 Clermont-Ferrand, France

<sup>3</sup> INRA, UMR1348 PEGASE, F-35590 Saint-Gilles, France

<sup>4</sup> Agrocampus Ouest, UMR1348 PEGASE, F-35000 Rennes, France

<sup>5</sup> INRA, UMR1388 GenPhySE, F-31326 Castanet Tolosan, France

<sup>6</sup> Université de Toulouse INPT ENSAT, UMR1388 GenPhySE, F-31326 Castanet-Tolosan, France

<sup>7</sup> Université de Toulouse INPT ENVT, UMR1388 GenPhySE, F-31076 Toulouse, France

<sup>8</sup> INRA, UR83 Recherches Avicoles, F-37380 Nouzilly, France

<sup>9</sup> INRA, UR1037 Physiologie et Génomique des Poissons, F-35042 Rennes, France

<sup>10</sup> INRA, UMR1313 GABI, F-78352 Jouy-en-Josas, France

<sup>11</sup> AgroParisTech, UMR1313 GABI, F-75005 Paris, France

Courriel : brigitte.picard@clermont.inra.fr

Les connaissances sur l'organisation moléculaire des organismes vivants ont fortement progressé au cours des dernières années. Les méthodologies associées permettent aujourd'hui l'analyse simultanée de centaines, voire de milliers de gènes ou protéines. Leur application à l'étude de la physiologie des animaux d'élevage génère des avancées considérables sur la connaissance du déterminisme et de la maîtrise des qualités de la viande et des chairs de poisson.

La génomique est l'étude de la structure, de la fonction et de l'évolution des génomes (pour revue voir Picard *et al* 2012a). La connaissance des génomes et le développement des outils de séquençage ont permis l'essor de la génomique fonctionnelle ou expressionnelle. Elle s'intéresse au fonctionnement des génomes, grâce notamment à la possibilité d'analyser simultanément des milliers de polymorphismes génétiques, de transcrits (transcriptomique) ou de protéines (protéomique) sur des puces dédiées. Ces outils ont été mis en œuvre au cours des dernières années afin de révéler des gènes ou des protéines dont l'expression ou l'abondance est associée à un phénotype d'intérêt tel que la qualité de la viande. L'objectif de ces recherches est d'identifier des biomarqueurs de la qualité finale de la viande quantifiables du vivant de l'animal ou précocement *post-mortem* (*p.m.*) sur la carcasse, pour orienter les carcasses ou les pièces vers des procédés de transformation ou des circuits de distribution adaptés.

La quantification de ces biomarqueurs permettrait de prédire dès la naissance dans le cas de biomarqueurs SNP, ou au

cours de la croissance jusqu'à l'abattage dans le cas d'expression de gènes ou de protéines, la qualité ultérieure des viandes dont l'évaluation est actuellement coûteuse, invasive et/ou tardive, car réalisée sur échantillon prêt à être consommé (c'est-à-dire après maturation). Par ailleurs, l'utilisation de marqueurs d'expression permet d'appréhender les interactions entre facteurs génétiques et environnementaux qui concourent à l'élaboration de phénotypes complexes tels que la qualité de la viande (te Pas *et al* 2011). Ces connaissances permettraient d'adapter les conduites d'élevage au potentiel des animaux et de mieux utiliser les viandes selon leurs caractéristiques. Au cours des dernières années, ces technologies ont été mises en œuvre dans la plupart des filières de production de viandes (voir par exemple les synthèses de Hollung *et al* 2007, Wimmers *et al* 2010, Picard *et al* 2012b). L'objet de cet article est de faire le bilan pour chaque filière des connaissances acquises grâce aux études de génomique, de présenter certaines applications issues de ces travaux ainsi que les perspectives au regard de l'évolution actuelle des technologies à haut débit.

## 1 / Génomique structurale

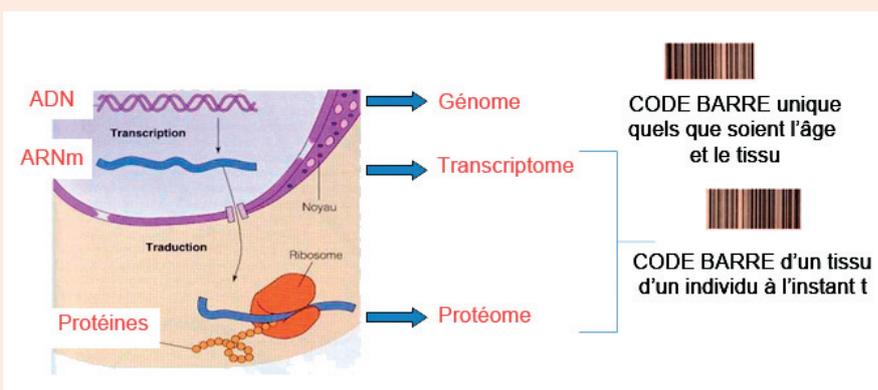
La variabilité génétique trouve en partie son origine dans le polymorphisme de très nombreux gènes impliqués plus ou moins directement dans les fonctions biologiques participant à l'expression des caractères. Si la majorité des mutations à l'origine de ces polymorphismes ont des effets non quantifiables car trop faibles, certaines peuvent toutefois être détectées si leur effet biologique sur le caractère est suffisamment marqué et si leur fréquence est suffisante dans la population étudiée. Ainsi, des gènes hébergeant une mutation dont l'effet sur le caractère est important, dénommés gènes majeurs, ont été mis en évidence dans quasiment toutes les espèces domestiques destinées à la production de viande. C'est par exemple le cas des mutations dans le gène *GDF8* des bovins (myostatine) qui, à l'état homozygote, ont pour conséquence le phénotype hypermusclé « culard » (Allais *et al* 2011). Sans aller jusqu'à des effets aussi extrêmes que rares, l'étude du déterminisme génétique des caractères montre qu'il existe une gamme de polymorphismes dont l'effet

est suffisamment marqué pour qu'ils soient détectés, et exploités en sélection animale.

La génomique structurale a pour objectif de détecter les régions génomiques présentant des mutations causales, en analysant la variabilité du caractère étudié conjointement au polymorphisme de marqueurs moléculaires répartis tout au long du génome. Les premiers programmes de détection de ces régions dénommées QTL (« *Quantitative Trait Locus* ») ont été mis en œuvre par analyse de liaison intra-famille avec des marqueurs microsatellites. Ces populations ressources sont généralement issues de croisements entre races ou lignées très différentes afin d'augmenter la probabilité de ségrégation des allèles (copie mutée ou non) au QTL. Une vingtaine d'expérimentations ont ainsi été mises en œuvre en production porcine permettant la détection de nombreux QTL des qualités de la viande (Hu *et al* 2007). Dans le cas des bovins, il n'existe au niveau mondial qu'un nombre réduit de populations ressources phénotypées pour la qualité de la viande, qui ont toutefois permis de détecter 14 QTL de la tendreté répartis sur 10 chromosomes (Hu *et al* 2007). Chez le poulet, une population ressource issue du croisement expérimental entre animaux contrastés pour la croissance a permis d'identifier les premiers QTL de qualité de la viande dans cette espèce en France (Nadaf *et al* 2007). Ainsi des QTL forts contrôlant la cinétique de chute de pH *p.m.*, déterminante pour les qualités technologiques et sensorielles, ont été identifiés sur les chromosomes 1 (pH 15 min.) et 4 (pH ultime). La localisation de tous ces QTL reste toutefois généralement très imprécise (plusieurs dizaines de centimorgans cM : unité de mesure de distance entre deux gènes liés) car l'analyse de liaison intra-famille exploite la ségrégation sur une seule génération et de ce fait les liaisons physiques entre marqueurs à l'origine des Déséquilibres de Liaison (DL, voir encadré) sont maintenues sur de grandes distances.

La disponibilité récente de puces à SNP (« *Single Nucleotide Polymorphism* ») à haute densité (BovineSNP50, Porcine SNP60 et PouleSNP60 d'Illumina avec plus de 50 000 marqueurs, soit 15 à 20 SNP par cM) permet d'entreprendre des analyses d'association directement dans les populations de production en exploitant le DL au niveau racial. Avec des parents nombreux et peu apparentés, on multiplie les possibilités de recombinaison dans les générations passées. Les segments chromosomiques conservés sont alors de taille réduite. De ce fait, en travaillant au niveau populationnel et en utilisant une forte densité en SNP, on peut espérer que des mutations causales se retrouvent suffisamment proches et

#### Encadré. Définitions.



**Le code génétique**, support de l'hérédité, propre à chaque individu et comparable à un code barre unique pour chacun, est porté par les gènes (ADN). L'analyse des gènes correspond à l'analyse du génome.

**L'information génétique** est décryptée dans un message spécifique sous forme d'un ARN messager (ARNm, appelé encore transcrit) lors de la transcription qui a lieu dans le noyau des cellules. Lors de la traduction, l'information contenue dans les ARNm est utilisée pour la synthèse des protéines. L'analyse de l'ensemble des messagers (transcriptome) correspond à la transcriptomique, l'analyse de l'ensemble des protéines (protéome) correspondant à la protéomique. Le profil en ARNm et protéines d'un individu est défini génétiquement, mais est soumis tout au long de sa vie à des variations liées à l'âge, l'activité physique, l'alimentation etc.

**La génomique structurale** s'intéresse à des régions sur l'ADN qui portent des mutations ayant des effets sur des caractères d'intérêt comme la qualité de la viande. Les régions hébergeant ces mutations causales sont désignées par le terme de QTL (« *Quantitative Trait Loci* »). Sur le génome, les mutations causales sont « noyées » parmi un très grand nombre de polymorphismes générés par autant de mutations qui ont changé un nucléotide sans affecter la synthèse protéique. Ces polymorphismes appelés SNP (« *Single Nucleotide Polymorphism* ») sont présents en très grand nombre dans le génome (plusieurs millions). Ils sont largement utilisés comme marqueurs du génome car sans effet sur les phénotypes et facilement mis en évidence par génotypage.

Les deux copies (allèles) d'une mutation (ou d'un SNP) ségrégent dans la population, c'est-à-dire sont transmises indépendamment l'une de l'autre à chaque génération. Pour les allèles de deux polymorphismes (mutation ou marqueur) situés sur deux chromosomes différents la ségrégation est forcément indépendante du fait du brassage des chromosomes lors de la méiose. Deux polymorphismes situés sur le même chromosome sont transmis conjointement tant que les recombinaisons chromosomiques lors des méioses successives sont peu fréquentes, c'est-à-dire lorsque les deux polymorphismes sont proches l'un de l'autre. Plus cette distance augmente plus la ségrégation devient indépendante. Le **Déséquilibre de Liaison** (DL) traduit cette probabilité d'association préférentielle entre deux allèles au niveau d'une population.

**Sélection Assistée par Marqueurs (SAM)** : lorsque des candidats à la sélection ont été génotypés pour un certain nombre de polymorphismes, il est possible de les choisir sur la seule information moléculaire en fonction des allèles présents. L'efficacité d'une sélection assistée par marqueurs dépend du degré de DL entre les marqueurs génotypés et les mutations causales à l'origine des QTL.

**La génomique fonctionnelle ou expressionnelle** s'intéresse au fonctionnement du génome, c'est-à-dire à la transformation du code génétique en ARNm ou protéines. Les protéines sont le produit final de l'expression des gènes. Un gène peut donner lieu à la formation d'une unique protéine ou bien de plusieurs formes d'une même protéine, dans ce cas on aura plusieurs protéines pour un seul gène. Dans certains cas, le gène peut être présent, mais la protéine absente.

en DL avec certains des marqueurs SNP de la puce. Les analyses d'association entre les SNP et les phénotypes enregistrés sur un grand nombre d'animaux

permettent ainsi de détecter et de cartographier finement (environ 3-4 cM) un nombre élevé de QTL, comme cela a déjà été démontré en production bovine laitière.

Pour la production de viande, les premiers résultats de détection de QTL à l'aide de puces à SNP sont disponibles.

Trois études ont ainsi été publiées sur la cartographie fine de régions QTL des teneurs en androsténone et scatole sur 600 à 1 200 animaux dans quatre populations commerciales de porcs en Hollande, France et Norvège (Duijvestijn *et al* 2010, Le Mignon *et al* 2010, Grindflek *et al* 2011). Des analyses de détection de QTL réalisées en race Large White mettent en évidence un plus grand nombre de QTL par caractère pour les qualités de la viande que pour les performances d'engraissement ou d'abattage (Sanchez *et al* 2014). Chez le poulet, une étude de cartographie des QTL à l'aide de la puce Illumina 60 K a permis d'identifier de nombreuses régions candidates impliquées dans le contrôle de la qualité de la carcasse et de la viande d'une population Label à croissance lente (Allais *et al* 2014a).

Concernant la viande bovine, une première étude australienne a mis en évidence des SNP significativement associés à la teneur en Lipides IntraMusculaires (LIM) et à la force de cisaillement chez des jeunes bovins de diverses origines raciales, toutefois seuls 1/8 des SNP découverts furent validés lors de tests sur une population de même origine génétique (Bolormaa *et al* 2011). Il faut noter que ces recherches de QTL doivent être systématiquement complétées par des études de validation pour écarter les possibles « faux positifs » spécifiques à l'échantillonnage réalisé. En France, le projet national Qualvigène a permis le génotypage et le phénotypage de 3 349 jeunes bovins de races Charolaise, Limousine et Blonde d'Aquitaine. Une quarantaine de QTL de la note de tendreté et de la force de cisaillement ont été détectés en races Charolaise et Blonde d'Aquitaine, mais 8 seulement en race Limousine (Allais *et al* 2014b). La densité de la puce actuellement utilisée (1 SNP tous les 50 à 70 Kb) n'est toutefois pas suffisante pour analyser conjointement des animaux de différentes races puisque seuls les déséquilibres de liaison sur des distances inférieures à 10 Kb sont conservés entre races (Gautier *et al* 2007). De ce fait, les QTL et le panel de SNP utilisables pour une sélection sur marqueurs (SAM) sont spécifiques d'une population.

Pour préciser plus finement les régions QTL en utilisant conjointement les phénotypes de plusieurs races, il est désormais possible d'utiliser en production bovine une puce de plus forte densité, la puce BovineHD Illumina (777 609 SNP). Il est aussi possible d'utiliser une puce de moindre densité sur laquelle sont imputés les génotypes aux 777 609 SNP

si un nombre suffisant d'animaux représentatifs de chaque race ont été génotypés avec la puce HD (Druet et Georges 2010). En effet, il a été montré qu'à partir de 5 153 taureaux de diverses races génotypés avec la puce BovineHD, le taux d'erreur d'imputation de la puce Bovine SNP50 vers la puce BovineHD était inférieur à 2% pour la plupart des races bovines laitières et allaitantes exploitées en France (Hozé *et al* 2013). Cette possibilité représente une avancée majeure puisque les analyses d'association peuvent désormais se faire avec des marqueurs répartis tous les 4Kb et permettent d'obtenir des intervalles de détection de l'ordre du cM. Une telle analyse a été pratiquée sur l'ensemble des bovins à viande génotypés (54K comme HD) en Australie et a permis de détecter les QTL des aptitudes bouchères et des qualités de la viande en distinguant les QTL ayant pour origine une mutation chez un ancêtre de la sous-espèce *Bos taurus* ou *Bos indicus* (Bolormaa *et al* 2011).

Pour les caractères de qualité de viande qui sont généralement difficiles à mesurer, l'objectif de ces détectations de QTL réside plus dans la mise en évidence de mutations causales pour une sélection sur gène que dans la mise en place d'une sélection assistée par marqueurs ou sélection génomique. En effet une sélection sur marqueurs repose sur l'existence dans la population de DL entre marqueurs et mutations causales. Or, les DL sont affectés par les recombinaisons méiotiques au cours des générations et il faut régulièrement vérifier les associations entre marqueurs et phénotypes, ce qui est pratiquement impossible pour des caractères tels que les composantes de qualité de la viande chez les bovins. La mise en évidence des mutations causales suite aux détectations de QTL reste une opération délicate car le nombre de gènes candidats et surtout le nombre de mutations candidates à valider peut être très élevé. Heureusement, cette tâche peut être largement facilitée par la possibilité de séquencer à un prix devenu abordable le génome complet d'animaux (Meuwissen 2010). Par exemple, la disponibilité de plusieurs reproducteurs séquencés et dont on connaît le statut au QTL grâce à un nombre suffisant de descendants phénotypés et génotypés, permet d'entreprendre une analyse de concordance entre statut au QTL et génotype à chaque paire de base de nucléotides de la région du QTL et de ne retenir comme mutations causales candidates que les polymorphismes qui concordent chez plusieurs reproducteurs hétérozygotes au QTL. Une autre voie possible consiste à imputer sur la séquence complète toute la population de détection génotypée (54K ou HD) et à procéder à une analyse d'association directement sur tous les SNP de la séquence. Ces avancées dans les tech-

niques de séquençage et dans les méthodes d'analyses statistiques doivent permettre la mise en évidence d'un nombre croissant de mutations causales impliquées dans la variabilité génétique des qualités de la viande à partir des populations déjà phénotypées et génotypées.

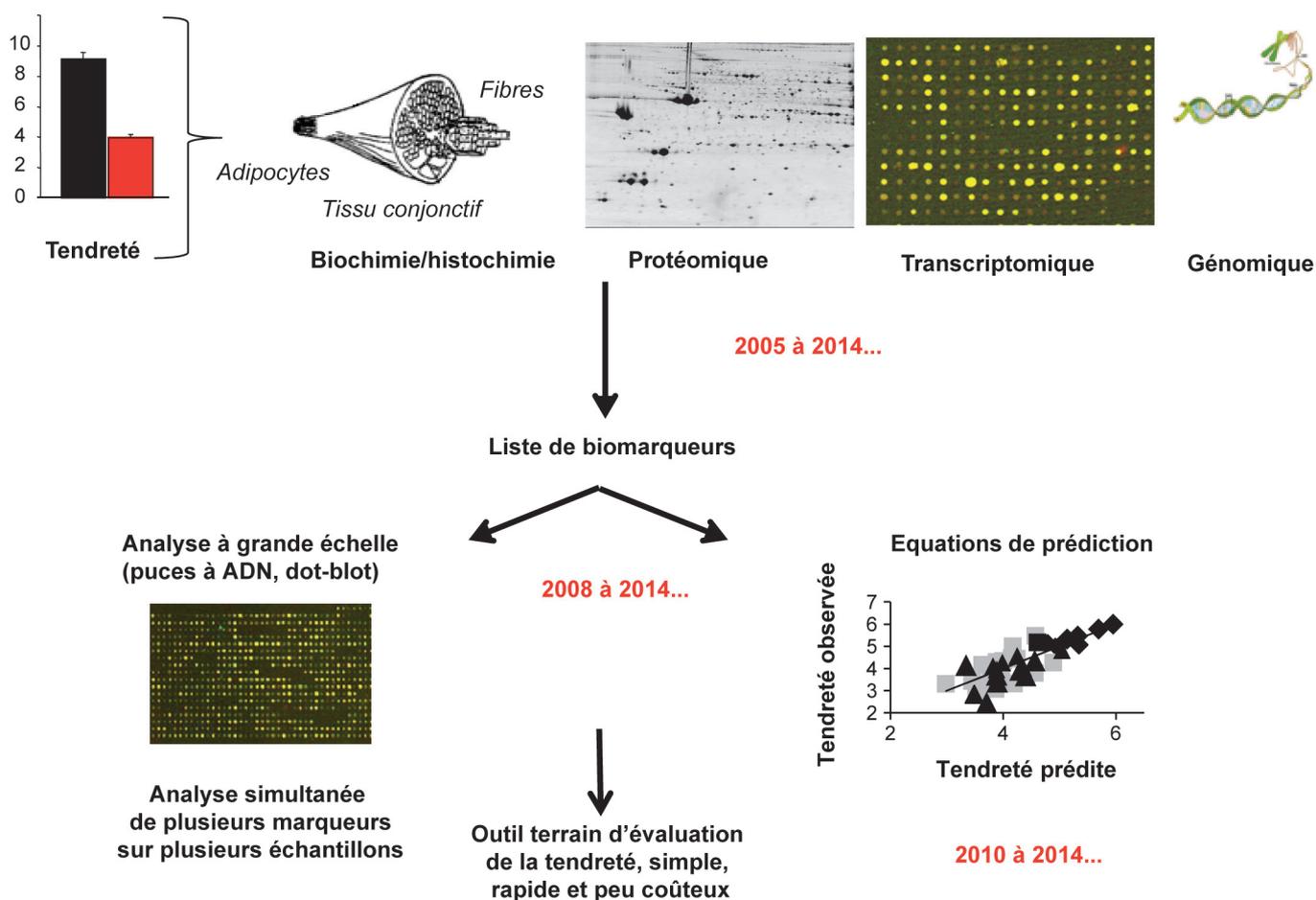
## 2 / Génomique expressionnelle : transcriptomique, protéomique

Dans toutes les espèces d'animaux de rente, des analyses de génomique expressionnelle ont été mises en œuvre pour identifier des gènes ou protéines reliés à des caractères d'intérêt comme les qualités de la viande. Les caractères ciblés et leurs facteurs de variation peuvent différer selon les filières, mais les démarches suivies sont assez similaires. Ce chapitre présente par espèce les stratégies développées et le bilan des résultats en fonction des objectifs de qualité recherchés.

### 2.1 / Le cas de la viande bovine : des biomarqueurs aux outils de phénotypage

Bien que les processus biologiques qui contrôlent la qualité de la viande bovine soient connus (Guillemin *et al* 2009) et qu'un certain nombre de QTL aient été déterminés, le contrôle de la variabilité de la tendreté demeure un défi majeur pour la filière bovine (Flamion *et al* 2013). Cette qualité présente une variabilité forte et non maîtrisée qui induit une insatisfaction des consommateurs et explique en partie la diminution de consommation de cette viande. Cette qualité ne peut être appréciée qu'après l'abattage par des mesures mécaniques ou par un jury d'analyse sensorielle. Aussi l'ensemble de la filière, des éleveurs, sélectionneurs jusqu'aux industriels, est en attente d'outils permettant d'estimer le potentiel de tendreté sur l'animal vivant ou la carcasse. La stratégie développée depuis une dizaine d'années a été *i)* de rechercher des marqueurs de tendreté (ARNm ou protéines) en comparant grâce aux outils de génomique des lots d'animaux extrêmes sur ce critère, *ii)* de valider la relation entre ces marqueurs et la tendreté sur des effectifs élevés d'animaux représentatifs de l'élevage bovin français, *iii)* d'analyser l'influence des facteurs de production sur l'expression de ces marqueurs, *iv)* d'approfondir l'analyse des fonctions biologiques impliquées dans l'élaboration de la tendreté, et *v)* d'utiliser l'ensemble des connaissances pour développer des outils de prédiction utilisables par la filière en particulier pour du phénotypage moléculaire (pour revue Picard *et al* 2012a) (figure 1).

**Figure 1.** Illustration de la stratégie pour l'espèce bovine allant de la recherche de biomarqueurs, à leur validation, leur utilisation pour l'établissement d'équations de prédiction, jusqu'à la mise au point d'outils pour la filière.



a) Utilisation des outils de génomique pour la recherche de marqueurs de tendreté

Plusieurs analyses de génomique expressionnelle (protéomique et/ou transcriptomique) ont été réalisées (projets nationaux ANR-ApisGene et européen ProSafeBeef) pour mieux comprendre les mécanismes impliqués dans l'élaboration de la tendreté et identifier des marqueurs. Elles ont permis d'établir une liste de marqueurs biologiques de la tendreté de la viande bovine (Bouley *et al* 2004, Hocquette *et al* 2007, Chaze *et al* 2009). Les résultats issus de ces projets et de la bibliographie montrent que les marqueurs retenus sont impliqués dans les fonctions biologiques suivantes : métabolisme énergétique musculaire glycolytique et oxydatif, métabolisme du calcium, ultrastructure, contraction, stress oxydatif, protection cellulaire et apoptose. Une analyse bioinformatique a permis d'enrichir la liste de biomarqueurs d'environ 200 protéines candidates et d'illustrer les interactions entre ces différents marqueurs permettant ainsi de mieux comprendre les grandes fonctions biologiques impliquées dans la tendreté (Guillemin *et al* 2011a). La majorité des travaux a porté sur le muscle *Longissimus*

*Thoracis* (LT, entrecôte). Dans ce muscle, des protéines associées au type rapide glycolytique (phosphoglucose isomérase, glyceraldéhyde 3 phosphate déshydrogénase,  $\beta$  énonase, isoformes de la troponine T rapide, isoformes de chaîne lourde de myosine IIx...) sont moins abondantes chez les animaux donnant la viande la plus tendre. Au contraire, des protéines liées au type lent oxydatif comme la chaîne lourde de myosine lente, plusieurs enzymes mitochondriales comme la succinate déshydrogénase ou la sous unité 1 de la cytochrome b-c1, sont plus abondantes dans les muscles LT les plus tendres (Picard *et al* 2012b, Ouali *et al* 2013). Des protéines impliquées dans le métabolisme et les flux de calcium telles que la parvalbumine (Bouley *et al* 2004) ou l'annexine A6 (Bjarnadottir *et al* 2012) ont également été identifiées comme marqueurs de tendreté, en accord avec le rôle important que joue le calcium dans la maturation de la viande (Ouali 1992). L'accumulation *p.m.* de calcium dans le sarcoplasme active les calpaïnes qui interviennent dans la dégradation de protéines myofibrillaires, induisant une désorganisation de l'ultrastructure. Hollung *et al* (2007) ont ainsi montré que 48 heures après

abattage, la teneur en fragments de protéines structurales telles que l'actine, la myosine, la troponine T et des enzymes métaboliques était positivement corrélée avec la tendreté. Des protéines de la famille des (Hsp) ont été révélées comme marqueurs de la tendreté au niveau du transcrite ou de la protéine dans différentes expérimentations (Hsp40, Hsp27, Hsp20,  $\alpha$ -B crystalline, Hsp70) (Picard *et al* 2011, Hocquette *et al* 2012, Picard *et al* 2012b, Carvalho *et al* 2014). Les Hsp en particulier Hsp 27 sont impliquées dans le maintien de l'organisation ultrastructurale des muscles interagissant avec les myofilaments (Lomiwes *et al* 2014). Les Hsp sont également impliquées dans la régulation de l'apoptose (mort cellulaire programmée). Selon la théorie de Ouali *et al* (2006), l'activité anti-apoptique des Hsp pourrait ralentir le processus de mort des cellules en phase *p.m.* précoce et améliorer ainsi la tendreté. En accord avec cette théorie, d'autres protéines en lien avec l'apoptose ont été identifiées comme marqueurs de tendreté : la galectine-1 (Bjarnadottir *et al* 2012), Park7 (Picard *et al* 2012b). Des protéines associées à la réponse au stress oxydant, telles que la super oxyde dismutase (SOD1) ou la peroxiredoxine 6 (PRDX6) ont également été proposées

comme marqueurs de la tendreté (Jia *et al* 2009, Guillemain *et al* 2012).

L'analyse de différents muscles et races fait apparaître des spécificités des marqueurs selon ces deux facteurs (Chaze *et al* 2009, Guillemain *et al* 2012, Picard *et al* 2013). Par exemple, (Morzel *et al* 2008) rapportent une relation positive entre l'abondance de la protéine Hsp27 et la tendreté chez des taurillons de race Blonde d'Aquitaine ; au contraire Bernard *et al* (2007) montrent une relation négative entre l'abondance des ARN messagers et la tendreté chez des taurillons Charolais. De la même façon, chez des taurillons de race Blonde d'Aquitaine et Limousine, les protéines MyHC IIx et LDH-B (isoformes spécifiques du caractère rapide glycolytique) sont associées positivement à la tendreté de la viande dans le muscle *Semitendinosus* (Rond de gîte) qui est un muscle de type rapide glycolytique. Au contraire, dans le *Longissimus thoracis* (entrecôte) qui est de type plus oxydatif, ces deux protéines sont associées négativement à la tendreté de la viande. Cette inversion a été observée pour d'autres protéines telles que les Hsp de faible poids moléculaire (Picard *et al* 2014). Ces résultats suggèrent que l'évolution de la tendreté d'une viande serait fonction de certains mécanismes associés aux propriétés contractiles et métaboliques des muscles et d'autres mécanismes qui en sont indépendants.

Des analyses comparatives ont été conduites principalement chez des taurillons et des bœufs charolais dans différentes conditions d'élevage (projet MUGENE) et chez des taurillons de différentes races et recevant différents régimes alimentaires (projet européen ProSafeBeef). Aussi, les programmes en cours cherchent à valider la relation entre l'abondance relative de marqueurs et la tendreté sur de larges effectifs de bovins représentatifs des systèmes de production français : vaches, génisses, bœufs, taurillons des races à viande, mixtes et laitières. Un intérêt particulier est porté aux vaches, qui représentent la majorité de la viande bovine consommée en France. Le lien entre l'expression de ces protéines et la tendreté est en cours de validation, notamment dans des dispositifs faisant varier les facteurs d'élevage. Ainsi, le niveau d'expression de la protéine Hsp40 codée par le gène *DNAJ1*, est plus élevé chez les jeunes bovins mais aussi dans les muscles oxydatifs (Cassar-Malek *et al* 2011). Les protéines de la famille des Hsp de faible poids moléculaire (Hsp27, Hsp20 et  $\alpha$ -B cristalline) sont aussi plus abondantes chez les taurillons que chez les bœufs alors que l'inverse est observé pour les protéines de la famille des Hsp70 (Hsp70/GRP75). Par ailleurs, en race Charolaise, l'abondance de différentes protéines liées aux caractéristiques con-

tractiles et métaboliques et dont la relation avec la tendreté a été validée varie selon le muscle considéré (LT vs ST) que le type d'animal (taurillons vs bœufs) (Guillemain *et al* 2011b). Cette démarche est actuellement complétée pour différents biomarqueurs en fonction de différents facteurs de production (combinaison type d'animal et conditions d'alimentation) afin de pouvoir *in fine* définir les pratiques d'élevage les plus appropriées aux types d'animaux utilisés afin de maximiser l'expression de leur potentiel de tendreté de la viande.

#### b) Le développement d'outils d'analyse à grande échelle

Partant de la liste de biomarqueurs identifiés et des connaissances sur le contrôle de leur expression, la démarche consiste à élaborer des outils permettant de quantifier à grande échelle ces marqueurs au niveau des transcrits ou des protéines.

*Au niveau des transcrits* : Plus de 3 000 gènes (correspondant à 13 409 sondes oligonucléotidiques) impliqués dans la biologie du muscle ou la qualité de la viande ont été sélectionnés à partir d'études génétiques, protéomiques ou transcriptomiques, ou de publications scientifiques et regroupés sur une puce à ADN (puce GENOTEND commercialisée par la société Hybrigenics, Hocquette *et al* 2012). Autant que possible, plusieurs sondes ont été utilisées pour chaque gène (par exemple 17 sondes pour le marqueur *DNAJ1*). Cet outil a été utilisé pour analyser le transcriptome de deux muscles de valeur bouchère différente sur une centaine de taurillons et bœufs charolais et une centaine de taurillons limousins. Les résultats ont validé l'expression du gène *DNAJ1* comme marqueur négatif de la tendreté (Bernard *et al* 2007). Ils ont aussi révélé la relation de groupes de gènes avec la tendreté sensorielle ou la force de cisaillement (familles des Hsp, métabolismes énergétique et lipidique), la flaveur et la jutosité. En particulier, un groupe de quatre gènes de Hsp a permis d'expliquer 40% de la variabilité de la tendreté dans le groupe de taurillons. Ce groupe a été validé par analyse de régression multiple sur d'autres groupes d'animaux (taurillons et bœufs). Ainsi, il permet de prédire la tendreté de 3 des 4 groupes d'animaux du dispositif expérimental charolais indiquant que les marqueurs de tendreté peuvent être spécifiques d'une ou plusieurs populations (Hocquette *et al* 2012). Cet outil a d'ores et déjà été utilisé avec succès par différentes équipes étrangères pour prédire la qualité de la viande de bovins (au Portugal, Royaume-Uni et en Allemagne) ou de dromadaires (en Arabie Saoudite) et a notamment permis d'étudier l'effet de la

nature des lipides alimentaires sur la composition en acides gras de la viande bovine en liaison avec sa valeur nutritionnelle (Hiller *et al* 2012).

*Au niveau des protéines* : Une première démarche pour mesurer l'abondance de protéines marqueurs a consisté à développer un outil, le dot-blot : il s'agit de déposer les extraits protéiques sur une membrane et d'hybrider celle-ci avec un anticorps spécifique de la protéine recherchée, après vérification de la spécificité de l'anticorps et définition des conditions optimales d'utilisation par la technique de western-blot. Ainsi, environ 50 anticorps ont été testés (Guillemain *et al* 2011b). Une fois validée, cette technique a été utilisée pour quantifier l'abondance des protéines d'intérêt simultanément sur une centaine d'échantillons. Son utilisation a permis d'établir des équations de prédiction de la tendreté à partir de l'abondance relative des protéines considérées (Picard *et al* 2013). L'objectif est d'étendre cette démarche à d'autres marqueurs de qualité tels que l'adiposité des carcasses et des viandes, ce qui est en cours en partenariat avec l'AOP Maine Anjou.

D'un point de vue pratique, l'approche transcriptomique permet d'analyser un plus grand nombre de gènes (plusieurs milliers) comparativement à la protéomique (plusieurs dizaines de protéines). Au stade de la recherche des biomarqueurs, le coût de l'analyse transcriptomique par échantillon est plus élevé même si le coût par gène analysé est plus faible par rapport à la protéomique. Un point délicat de la transcriptomique est aussi la difficulté des prélèvements de muscle qui doivent être rapides et stériles pour éviter la dégradation des ARNs même si des progrès technologiques sont réalisés pour résoudre cette difficulté. Au stade de la validation des biomarqueurs pour leur application ultérieure en industrie, des méthodes rapides sont utilisées (RT-PCR temps réel ou Dot-Blot pour les marqueurs identifiés par transcriptomique ou protéomique, respectivement). Il faut noter que le niveau d'expression de l'ARNm n'est pas nécessairement lié à la quantité de la protéine correspondante. Dans certains cas des phénomènes d'épissage alternatif peuvent conduire à la synthèse de plusieurs isoformes d'une même protéine pour un seul ARNm (Picard *et al* 2011). Enfin, les modifications post-traductionnelles que subissent les protéines peuvent aussi conduire à des isoformes de protéines d'intérêt pour une qualité. L'analyse au niveau des protéines a été retenue dans la filière bovine pour le développement d'un outil de terrain peu coûteux, simple d'utilisation et rapide. Un premier prototype est en cours de développement pour l'évaluation de la tendreté.

## 2.2 / Identification et validation de biomarqueurs des qualités technologiques et sensorielles de la viande de porc

Le porc est la principale viande consommée aux niveaux mondial, européen et français, sous forme de viande fraîche ou de produits transformés. La qualité de la viande de porc comporte donc des dimensions technologiques et sensorielles incluant elles-mêmes plusieurs composantes : évolution *p.m.* du pH, pertes en eau, couleur, teneur en LIM, tendreté, jutosité, flaveur etc. (Lebret et Faure 2015, ce numéro). Comme pour les autres espèces, ces caractéristiques résultent d'interactions complexes entre le type génétique des animaux, leurs conditions d'élevage et d'abattage et les procédés de transformation des viandes. Si de nombreux facteurs contrôlant la qualité ont été identifiés, sa variabilité reste toutefois élevée, motivant la recherche de biomarqueurs de la qualité. Ceci a été entrepris en considérant soit un caractère d'intérêt dans un dispositif différentiel (par exemple : teneur en LIM, déstructuration, force de cisaillement...), soit simultanément plusieurs composantes dans un dispositif induisant une variabilité progressive de qualité. Si la plupart des études concernent le muscle *Longissimus Lumborum* (LL, longe), le *Semi-Membranosus* (SM, jambon) a également été étudié en raison de l'importance de la production de jambon cuit et sec.

Les viandes déstructurées (perte de l'aspect fibreux au profit d'une masse molle, sans structure apparente) constituent un important défaut de qualité et entraînent des pertes économiques importantes en industrie. Une analyse transcriptomique réalisée avec des micro-réseaux d'ADNc de muscles SM présentant ou non ce défaut à l'abattage, a mis en évidence la surexpression de la tropomoduline 4 impliquée dans la dégénérescence de cardiomyocytes chez la souris, et des enzymes de la cascade du métabolisme glycolytique dans les muscles déstructurés (Damon *et al* 2006b). En parallèle, l'analyse protéomique a montré une réduction de la solubilité et de la protéolyse *p.m.* des protéines myofibrillaires et de la teneur en Hsp de faible poids moléculaire (Hsp27,  $\alpha$ -B cristalline) dans les muscles déstructurés (Laville *et al* 2005). Une moindre solubilité des protéines et de l'abondance de Hsp 27 et de protéines du métabolisme oxydatif ont également été observées dans le SM de porcs de génotype *nn* au locus RyR1, conduisant au défaut « PSE » (viandes pâles, molles et exsudatives, Lebret et Faure 2015, ce numéro), comparativement à des porcs *NN* (Laville *et al* 2009). Ces résultats suggèrent que les protéines chaperonnes

comme les Hsp de faible poids moléculaire pourraient constituer des marqueurs du défaut PSE. Outre l'identification de protéines dont l'abondance est associée à un caractère, les modifications post-traductionnelles des protéines peuvent être exploitées pour mieux comprendre le déterminisme biologique des caractères de qualité et potentiellement en identifier des biomarqueurs. Huang *et al* (2011) ont ainsi montré qu'une diminution rapide du pH est associée à un niveau élevé de phosphorylation des protéines 1 h *p.m.* mais bas 24 h *p.m.*, l'inverse étant observé en cas de diminution lente du pH. Par ailleurs, (Lametsch *et al* (2011) rapportent un niveau de phosphorylation supérieur des enzymes clé de la glycogénolyse et de la glycolyse dans le muscle de porcs porteurs de l'allèle RN-, conduisant au défaut des viandes acides, comparativement à des animaux non porteurs.

La teneur en LIM, associée positivement à la qualité sensorielle, présente une variabilité importante entre et au sein de certaines populations porcines, dans la race Duroc par exemple. Afin de mieux comprendre le déterminisme biologique des LIM et contribuer à l'établissement de schémas génétiques favorables, les profils transcriptomiques et protéomiques du LL de deux groupes d'une même population et présentant un taux moyen de LIM contrasté au stade d'abattage (1,36 vs 4,58%) ont été comparés (Liu *et al* 2009). L'écart en LIM est associé à la variation d'expression de gènes et de protéines impliqués dans les métabolismes glucidique et protéique, la communication cellulaire, le transport des métabolites et la capacité de réponse à des stimuli. De plus, l'expression différentielle de gènes impliqués dans la régulation de l'adipogenèse observée plus précocement (70 kg) dans le LL des mêmes animaux confirme le rôle des gènes régulant le développement adipocytaire dans la variabilité du taux de LIM (Liu *et al* 2009). De même, Damon *et al* (2006a) ont mis en évidence une corrélation positive entre le niveau de la protéine FABP4 (« *Fatty Acid Binding Protein* » adipocytaire) et le nombre d'adipocytes intramusculaires ( $R^2 = 0,47$ ,  $P < 0,05$ ) ainsi qu'avec la teneur en LIM ( $R^2 = 0,65$ ,  $P < 0,0001$ ). Ainsi, le développement adipocytaire détermine en partie le taux de LIM chez le porc, et la protéine FABP4 en est un marqueur moléculaire. Une surabondance de protéines du métabolisme lipidique dont FABP4 a également été observée dans des échantillons de muscle LL présentant une faible Force de Cisaillement (FC) comparativement à des échantillons de FC élevée (Laville *et al* 2007). L'analyse transcriptomique de ces tissus a permis d'identifier 63 gènes associés à la variation de FC (Lobjois *et al* 2008). L'intégration des données protéomiques

et transcriptomiques suggère que la régulation du métabolisme lipidique expliquerait les faibles FC (viande tendre) alors que les mécanismes contrôlant la morphologie des fibres musculaires expliqueraient mieux les FC élevées (Laville *et al* 2007).

Dans le cadre du programme européen Q-Porkchairs 2007-2012, un dispositif expérimental incluant deux races contrastées (Basque : race locale à croissance lente, forte adiposité et qualité sensorielle élevée vs. Large White : race conventionnelle à croissance rapide et faible adiposité), élevées dans différents systèmes d'élevage influençant eux-mêmes la qualité des produits, a été construit pour étudier les mécanismes biologiques déterminant l'adiposité corporelle et la qualité de la viande et identifier des biomarqueurs par des approches transcriptomique et protéomique (Lebret *et al* 2011). L'adiposité supérieure des porcs de race Basque est associée à une sur-expression dans le tissu adipeux, dès 35 kg, de gènes et de protéines impliqués dans la réponse inflammatoire, en accord avec des résultats obtenus chez l'Homme en cas d'adiposité élevée ou d'obésité, et à une activité métabolique (notamment lipogénique) supérieure chez l'animal jeune qui diminue fortement avec l'âge (Gondret *et al* 2012, Vincent *et al* 2012). L'analyse transcriptomique a montré que les différences de physiologie musculaire et de qualité de viande entre races sont associées à des différences dans les processus métaboliques, la structure et l'organisation du muscle squelettique, la matrice extra-cellulaire, les lysosomes et la protéolyse (Damon *et al* 2012). Chez les porcs de race Basque, le système d'élevage extensif comparativement au système conventionnel induit une sur-expression de gènes relatifs à la structure du muscle ( $\gamma$  filamine, nébuline...), à la réponse thermique et au stress environnemental (Hsp de faible poids moléculaire) (Lebret *et al* 2013a). Par ailleurs, l'analyse du protéome sarcoplasmique musculaire a révélé que l'oxydation des protéines pendant la maturation et la cuisson des viandes, qui peut altérer la tendreté et la qualité technologique, est limitée par l'abondance de protéines du système antioxydant (« *selenium binding-protein* », SuperOxide Dismutase (SOD) mitochondriale) et de protéines contenant du fer (isoformes de myoglobine, sérotransferrine) (Promeyrat *et al* 2011). Selon D'Alessandro *et al* (2011), la surabondance d'enzymes antioxydantes dans le muscle *p.m.* protégerait les enzymes protéolytiques (cathepsines, calpaïnes), favorisant ainsi l'attendrissement de la viande.

Des corrélations calculées entre le niveau d'expression des gènes quantifié par transcriptomique et plusieurs caractéristiques

tères technologiques et sensoriels ont permis d'identifier de nombreux biomarqueurs de qualité. Ces associations ont été confirmées par RT-PCR, méthode plus rapide et moins onéreuse pour quantifier le niveau d'expression des gènes, donc mieux adaptée au développement ultérieur d'outils, puis validées sur d'autres animaux ( $n = 50$ ) du même dispositif expérimental (Damon *et al* 2013). Soixante corrélations impliquant 26 gènes et 8 caractères : pH ultime (pHu), pertes en eau, couleur :  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $h^\circ$  (angle de teinte), LIM, FC, tendreté ont ainsi été validées ( $R^2 \leq 0,46$ ,  $P < 0,05$  ; tableau 1). Des modèles de régression multiple incluant entre 3 et 5 gènes et expliquant jusqu'à 59% de la variabilité de ces caractères ont également été établis. Enfin, une validation externe des biomarqueurs réalisée sur 100 porcs commerciaux (croisés Duroc  $\times$  Landrace  $\times$  Yorkshire) a permis de valider 19 associations entre le niveau d'expression des gènes et des caractères de qualité ( $R^2 \leq 0,24$ ,  $P < 0,05$ ) dont le pHu (6), les pertes en eau (4), la luminance (5) la teinte (2), la teneur en LIM (1) et la tendreté (1) (Lebret *et al* 2013b). Parmi ces biomarqueurs figurent ANKRD1 (« *ankyrin repeat domain protein 1* », impliquée dans la structure du muscle et le métabolisme du calcium) associé au pHu, en accord avec Ponsuksili *et al* (2009), CA3 (« *carbonic anhydrase III* ») associée négativement à la teneur en LIM, ou FOS (« *FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog* », impliqué dans le transport du calcium et la transcription) associé positivement au pHu et négativement aux pertes en eau, à la luminance et à la teinte rouge sombre (Damon *et al* 2013). Ainsi, ce dispositif expérimental original a permis d'identifier et de valider des biomarqueurs de qualité technologique et sensorielle de la viande de porc. La considération de classes (niveaux) de qualité et de combinaisons de marqueurs associées est dorénavant envisagée afin de développer des outils moléculaires permettant de classer rapidement après abattage les carcasses ou pièces selon leur niveau prédit de qualité technologique ou sensorielle (Lebret *et al* 2014).

### 2.3 / Le cas du poulet : recherche des biomarqueurs du métabolisme impliqués dans l'élaboration de la qualité des viandes

Parmi les caractéristiques musculaires à cibler pour améliorer la qualité, les réserves en glycogène *in vivo* constituent un déterminant majeur. *Via* leur effet sur le pH ultime, elles influencent à la fois les propriétés technologiques mais aussi sensorielles de la viande. Afin de mieux appréhender les mécanismes moléculaires impliqués dans les variations de glycogène musculaire, des analyses combinées

**Tableau 1.** Validation interne de biomarqueurs de qualité de viande chez le porc (d'après Damon *et al* 2013).

Corrélations significatives ( $P < 0,05$ ) entre les caractères de qualité et l'expression (quantifiée par RT-PCR) de gènes identifiés comme biomarqueurs de qualité ( $n = 50$  pour l'identification et  $n = 50$  pour la validation interne).

Caractère de qualité	Nombre de gènes	R <sup>2</sup> maximum (%) <sup>(1)</sup>
pHu	10	46
Perte en eau	14	26
Luminance (L*)	11	30
Indice de rouge (a*)	4	15
Angle de teinte (h°)	10	38
Teneur en LIM	6	22
Force de cisaillement	1	8
Tendreté (note sensorielle)	4	14

<sup>(1)</sup> R<sup>2</sup> : coefficient de détermination, valeur maximale obtenue entre l'expression d'un gène et le caractère considéré.

de génomique expressionnelle et de génomique structurale (recherche de QTL) ont été réalisées dans le cadre du programme QUALVIVOL (ANR 2006-2010). Les analyses ont été réalisées sur une population issue d'un croisement de type F2 entre des lignées maigre et grasse sélectionnées de manière divergente sur l'adiposité abdominale, mais se différenciant par ailleurs par leurs réserves en glycogène musculaire et la qualité de leur viande (Sibut *et al* 2008). La comparaison du transcriptome musculaire d'animaux issus de ce croisement et divergeant pour la teneur en glycogène a permis l'identification de plusieurs marqueurs physiologiques ou voies métaboliques susceptibles de réguler le turnover glucidique dans le muscle (Sibut *et al* 2011). Parmi les gènes identifiés, certains joueraient un rôle *via* les voies de signalisation dépendantes de l'AMP cyclique ou encore de l'AMP. En particulier, un rôle central du complexe « *AMP-activated protein* » kinase (AMPK), dont le niveau d'activation par phosphorylation est inversement lié aux teneurs en glycogène musculaire *in vivo* (Sibut *et al* 2008), a été révélé. Il a été observé que l'activation de la voie AMPK et la réduction des réserves en glycogène musculaire peuvent être aussi induites par un apport limité en protéines dans la ration, avec pour conséquence l'amélioration de la qualité de la viande (Jlali *et al* 2012). L'identification des acteurs moléculaires clés (ou biomarqueurs) qui contrôlent la qualité des viandes est une étape essentielle dans la compréhension du contrôle physiologique de ce type de caractère et dans l'exploration de nouvelles stratégies d'élevage pour améliorer la compétitivité de la filière volaille de chair. Afin d'aller plus loin, l'INRA de Nouzilly a récemment mis en place une sélection divergente sur le pH ultime du filet. Au bout de 6 générations de sélection, le pH moyen des deux lignées (pHu+ et pHu-) diverge de 0,5 points correspondant à un différentiel de réserves en glycogène d'environ 20% et des différences de

qualité technologiques et sensorielles très marquées entre lignées (Le Bihan-Duval *et al* 2013). Parmi les critères de qualité significativement affectés par la sélection citons la couleur, l'exsudat, le rendement technologique, mais aussi la texture après cuisson et la sensibilité à l'oxydation au cours du stockage. En plus d'avoir permis de démontrer la possibilité et l'efficacité d'une sélection sur le pH ultime et plus généralement les qualités sensorielles et technologiques de la viande chez le poulet, ces lignées constituent un modèle unique pour la réalisation d'études de génomique structurale et fonctionnelle qui doivent à terme permettre le développement d'outils d'aide à la sélection ou à l'amélioration des conditions d'élevage.

### 2.4 / Recherche de biomarqueurs de la qualité chez les poissons

L'application des outils de la génomique pour l'identification de biomarqueurs de la qualité est moins avancée chez les poissons. La texture de la chair, qualité essentielle pour la transformation des produits crus et la consommation des produits cuits, est principalement déterminée par des facteurs biologiques tels que la structure musculaire, et la teneur et la composition en protéines. En ce qui concerne la texture, la qualité recherchée est une chair ferme, avec une bonne tenue et de bonnes capacités de rétention d'eau contrairement à la viande. Ces propriétés étant surtout liées à la nature et aux propriétés des protéines, le niveau d'expression des gènes codant pour ces protéines ou l'analyse des protéines elles-mêmes apparaissent particulièrement pertinents pour identifier des biomarqueurs de qualité.

Les premières applications de la protéomique à la qualité de la chair des poissons ont porté sur l'évolution *p.m.* du protéome musculaire en relation avec la baisse de fermeté des filets. Chez la

morue, la dégradation des protéines musculaires est plus limitée que chez les mammifères (11 spots dont l'intensité varie en 2D-PAGE après 8 jours *p.m.*) et ces protéines n'ont pas encore été identifiées (Kjaersgard et Jessen 2003) ce qui illustre la difficulté des approches protéomiques pour des espèces où peu de données de génomique sont disponibles. Plus récemment, le suivi de l'évolution des protéines musculaires de truite 5 jours *p.m.* par SDS-PAGE, en relation avec la texture, a montré que le niveau de fermeté est corrélé à la fois avec le niveau d'expression de protéines myofibrillaires ( $\alpha$ -actinine, actine, MyLC 1 et 2, fragment de MyHC) et de protéines sarcoplasmiques (Godiksen *et al* 2009). Les approches protéomiques ont donc permis d'identifier de nouvelles cibles de la protéolyse *p.m.* et d'éclairer les implications probables des différents systèmes protéolytiques dans l'élaboration de la qualité de la chair.

La comparaison de poissons présentant des phénotypes extrêmes de texture, Mou (F-) ou Ferme (F+), a été très récemment abordée chez les salmonidés par analyse du transcriptome musculaire. Chez le saumon Atlantique, des régressions positives ont été observées entre la fermeté et des gènes codants pour des composants du protéasome, des protéines mitochondriales, des protéines de stress et des protéines du métabolisme lipidique. Des régressions négatives, un peu plus faibles, ont été mesurées avec des gènes codant pour des protéines du métabolisme glucidique et des protéines myofibrillaires (Larsson *et al* 2012). Chez la truite arc-en-ciel, l'analyse du transcriptome musculaire de poissons extrêmes pour le phénotype de fermeté met en avant l'importance des systèmes protéolytiques et des protéines du tissu conjonctif (Lefèvre *et al* résultats non publiés).

Il est bien démontré dans toutes les espèces qu'un stress au moment de l'abattage a des répercussions sur la qualité finale des produits (Terlouw *et al* 2015, ce numéro). Les principales conséquences sont une accélération des processus d'évolution *p.m.*, une altération de la couleur des filets et de leur fermeté. Des modifications du protéome musculaire associées à un stress ont été rapportées. Un stress de 15 min. juste avant l'abattage chez la truite arc-en-ciel, associé à une intense activité musculaire, affecte à la fois les protéines impliquées dans le métabolisme musculaire (triose-phosphate isomérase, énolase, pyruvate déshydrogénase) et les protéines de structure (desmine, cap-Z, fragment de MyHC) (Morzel *et al* 2006). Chez le saumon Atlantique, un stress de confinement de 40 min modifie l'abondance de 27 spots protéiques correspondant à des protéines de structure (actine, MyLC, MyHC,

tropomyosine) et des enzymes du métabolisme énergétique (créatine kinase, énolase, phosphoglycérate kinase), suggérant un métabolisme *p.m.* accéléré (Veiseth-Kent *et al* 2010). Un stress de confinement de 15 min appliqué à des truites sélectionnées pour leur faible (LR) ou forte (HR) réactivité au stress, conduit à une augmentation de l'intensité de spots protéiques (desmine, MyLC3, myeloperoxydase, malate déhydrogénase, apolipoprotéine A1, une Nme, et une parvalbumine), mais sans différence entre les deux lignées. Une analyse multidimensionnelle des données de protéomique et des paramètres de texture montre que la desmine et la FABP-H sont positivement corrélées avec la fermeté des filets crus, tandis que la myeloperoxydase et l'apolipoprotéine A1 lui sont négativement corrélées (figure 2). La fermeté de la chair cuite est quant à elle positivement corrélée à l'apolipoprotéine A1, Nme et une parvalbumine (Lefèvre *et al*, données non publiées).

En conclusion, l'identification de biomarqueurs de qualité de la chair, bien

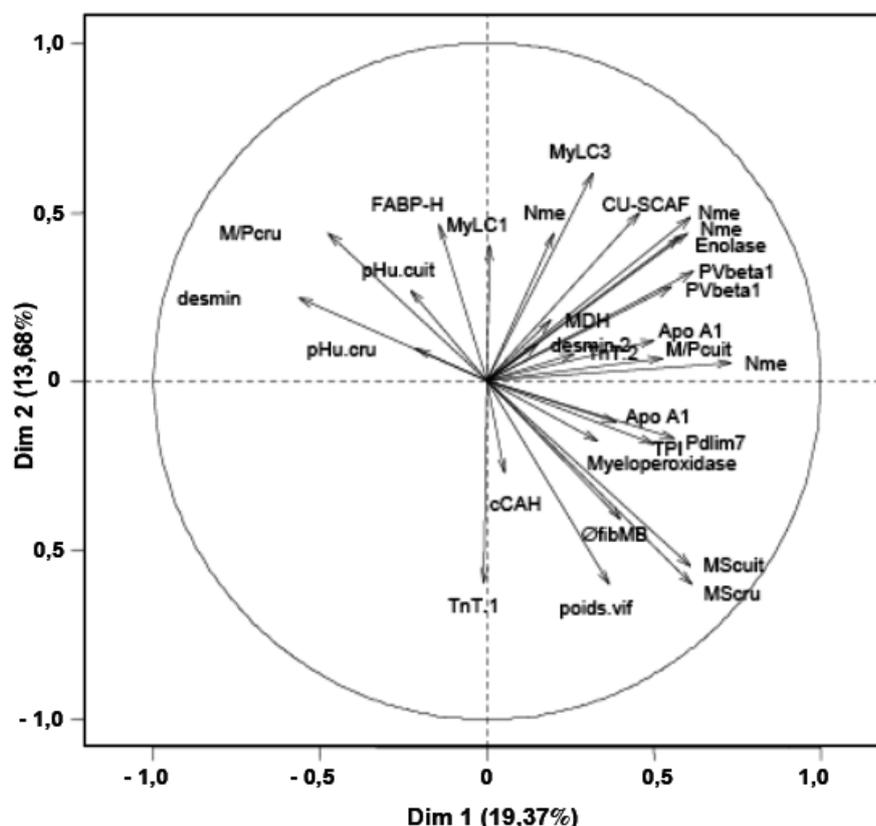
que moins avancée chez les poissons que chez les animaux terrestres, suggère certains déterminismes biologiques spécifiques au poisson. Les approches transcriptomique et protéomique sont complémentaires, l'analyse du transcriptome permettant d'étudier l'implication de protéines non solubles (protéines matricielles) et donc non accessibles par l'approche protéomique par électrophorèse.

### 3 / e-QTL : combinaison de la génomique structurale et expressionnelle

La stratégie développée jusqu'à récemment visait à intégrer des informations génétiques et phénotypiques pour rechercher des QTL expliquant la variabilité phénotypique (par exemple des QTL de la tendreté) ou bien à comparer des informations phénotypiques et d'expression pour identifier des gènes régulés. Une nouvelle stratégie consiste à rechercher parmi les gènes différentiellement exprimés ceux qui sont localisés dans des

**Figure 2.** Illustration des corrélations entre des données de protéomique et les caractéristiques des poissons et de leur chair dans le cadre d'une étude portant sur « Sélection génétique sur la réponse au stress et au stress à l'abattage : conséquences sur le protéome musculaire et lien avec la qualité de la chair chez la truite arc-en-ciel ».

Analyse en composante principale des spots différentiellement abondants et des autres paramètres mesurés. M/P: Force max/poids échantillon, MS: teneur en Matières Sèches, pHu: pH de la chair à 48 h *p.m.*, MyLC: Chaîne Légère de Myosine, PV: ParValbumin, DH: deshydrogénase, ØfibMB: diamètre moyen des fibres du muscle blanc, FABP: Fatty Acid Binding Protein, cCAH: cytoplasmic Carbonic AnHydrase, TnT: troponin T.



régions QTL pour le phénotype étudié. Dans ce cas, ces gènes peuvent être proposés comme gènes candidats positionnels et expressionnels pour expliquer les effets du QTL. Une autre stratégie est d'identifier des e-QTL c'est-à-dire des régions QTL impliquées dans la régulation génétique de l'expression de certains gènes (le niveau d'expression est alors considéré comme une mesure phénotypique). Dans ce cas, l'idéal est d'étudier des profils transcriptomiques à partir de données obtenues par les puces, mais une approche ciblée peut aussi s'envisager en analysant l'expression d'un gène candidat particulier.

*Chez le porc* : Dans le cadre d'un programme de recherche portant sur la tendreté de la viande, il a été possible de localiser sur le génome, 12 gènes régulés en fonction de la force de cisaillement dans quatre régions chromosomiques d'intérêt (QTL) sur les chromosomes 2, 6 et 13. Ceci a conduit à proposer des gènes candidats positionnels et fonctionnels pour expliquer les effets observés de ces QTL (Lobjois *et al* 2008). Il est à noter que la moitié de ces gènes sont soit inconnus, soit n'auraient pas été proposés par la recherche de gènes candidats sur l'hypothèse de fonction associée attendue. Ceci souligne donc l'intérêt d'allier des approches génétiques et expressionnelles pour élargir le champ de nos connaissances. Pour aller encore plus loin dans l'intégration des données d'expression et des données génétiques, une famille F2 de 57 porcs a été choisie pour rechercher des e-QTL. Les génotypes des 57 individus ont été obtenus avec 170 marqueurs microsatellites et les profils d'expression (micro-réseaux de 9000 ADNc multitissus, Bonnet *et al* 2008) obtenus à partir des 57 longues correspondantes. Au total, 272 gènes ont été identifiés comme étant génétiquement régulés par 335 e-QTL (Liaubet *et al* 2011). La moitié de ces e-QTL sont organisés en clusters sur les chromosomes 1, 2, 10, 13, 16 et 18 suggérant qu'un ou plusieurs gènes localisés dans la région génomique du cluster peuvent être responsables de la variabilité d'expression des gènes ayant des e-QTL co-localisés. Parmi les e-QTL identifiés, la plupart sont des *trans*-e-QTL (cas où les gènes sont localisés loin de leur région régulatrice), les autres (au nombre de 18) étant des *cis*-e-QTL (cas où le gène co-localise avec sa région e-QTL). A titre d'exemple, le cluster de 31 e-QTL localisé sur le chromosome 1 contient un *cis*-e-QTL régulant l'expression du gène *COQ4*, mais qui pourrait aussi réguler indirectement les 30 autres gènes du cluster dont les expressions corrélaient presque toutes avec celle de *COQ4*. Le gène *COQ4* code une des protéines du complexe des Coenzymes Q impliqué dans la chaîne respiratoire mitochondriale (Turunen *et*

*al* 2004, Casarin *et al* 2008). Chez le porc, plusieurs QTL régulant la croissance et l'adiposité ont d'ailleurs la même localisation que ce cluster de e-QTL (Rohrer et Keele 1998, de Koning *et al* 1999, Bidanel *et al* 2001, Sanchez *et al* 2006) suggérant que le cluster de e-QTL situé sur le chromosome 1 porcin pourrait réguler la physiologie musculaire en modulant le fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale et les processus de mort cellulaire. La région génomique sur le chromosome 1 est donc une région à effet pléiotropique, une région qui affecte plusieurs phénotypes d'intérêt en modifiant l'expression de plusieurs gènes. Le polymorphisme causal reste toutefois à identifier. Parmi les 272 gènes dont l'expression est régulée par au moins un e-QTL, 5 gènes (*ACOXI*, *FKBP8*, *LDHA*, *NEB*, *SEPWI*) sont aussi des gènes dont l'expression est corrélée avec la force de cisaillement sur viande cuite au sein du même dispositif expérimental (Lobjois *et al* 2008). Il n'est pas identifié de *cis*-e-QTL pour ces gènes. Une approche réseau de gènes (de co-expression) a également été développée afin d'explorer les fonctions biologiques que régulent ces 335 e-QTL et rechercher comment identifier des groupes de gènes partageant des fonctions communes en lien avec un phénotype d'intérêt, ici le pH ultime (Villa-Vialaneix *et al* 2013). Ainsi 20 gènes ont un niveau d'expression corrélé avec le pH ultime et un des clusters semble plus impliqué dans la régulation de ce phénotype. Parmi ces 20 gènes, *GPI* (« glucose phosphate isomerase », enzyme de la glycolyse) est localisé dans le cluster de gènes corrélés aux variations de pHu avec la plus forte valeur de centralité, ce qui rend ce gène particulièrement intéressant. D'un point de vue génétique, il n'y a pas de *cis*-e-QTL identifié et son expression est régulée par deux QTL sur les chromosomes 5 et 8. Une étude similaire effectuée sur 326 porcs provenant de 4 familles F2 et analysée avec les mêmes 170 marqueurs microsatellites a identifié 9 765 transcrits dont l'expression était significativement héritable, parmi lesquels 1 174 présentaient une héritabilité supérieure à 0,5 (Cherel *et al* 2012). Les auteurs ont également calculé des corrélations génétiques entre l'expression des transcrits et des phénotypes d'intérêt.

Ces approches génétiques (e-QTL) et computationnelles (réseaux de co-expression) sont développées pour décortiquer la complexité de l'architecture génétique qui régule les caractères de qualité de la viande. Les gènes identifiés comme ayant une « importance » particulière comme les *cis*-e-QTL ainsi que les gènes ayant une forte centralité dans les réseaux du fait que leur niveau d'expression est corrélé avec un phénotype d'intérêt, font de ces gènes des biomarqueurs. C'est une

façon de prioriser une série de gènes pour mener ensuite des études plus fines : suivre les variations de leurs expressions non seulement dans des dispositifs génétiques pour affiner l'identification de QTL et aller à l'identification de mutations causales (voir les exemples chez le poulet), mais aussi sur des dispositifs expérimentaux ou en production.

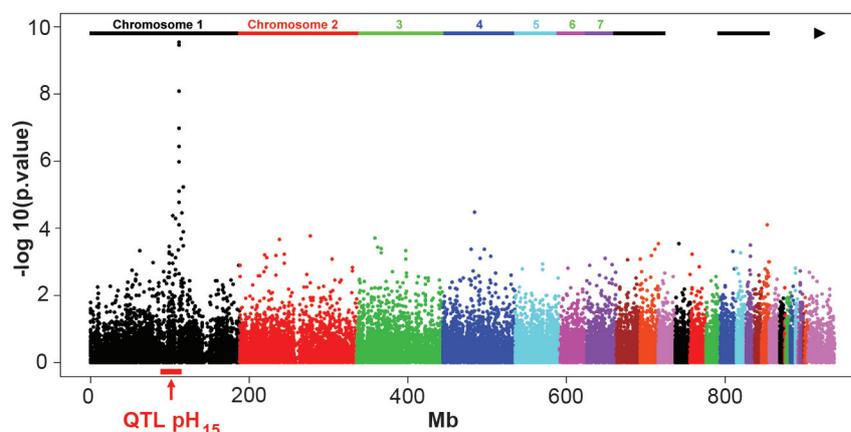
Chez le porc, trois articles sur les 15 présents dans la base « Pubmed », incomplets sur ce sujet en 2014, concernent l'identification de mutations régulant l'expression de 5 gènes par analyses d'associations. Seul l'article de Ma *et al* (2014) mène à une analyse fonctionnelle et concerne le gène *PHGK1* impliqué dans la régulation du métabolisme du glucose. Actuellement, les projets e-QTL en cours d'étude chez le porc exploitent la puissance combinée de puces 60K SNP et de puces d'expression de 60K transcrits.

*Chez le poulet* : Le développement d'études conjointes de génomique expressionnelle, avec l'analyse du transcriptome musculaire, et de génomique positionnelle pour la détection de QTL a conduit à l'identification d'un polymorphisme causal ou marqueur génétique régulant la coloration de la viande. Il s'agit du gène *BCMO1* codant pour la  $\beta$ ,  $\beta$ -carotène 15,15'-monooxygénase 1, enzyme clé de la conversion du  $\beta$ -carotène (pigment jaune d'origine alimentaire) en vitamine A (Le Bihan-Duval *et al* 2011). Cette découverte a nécessité plusieurs étapes avec *i*) la primo-détection puis le raffinement d'une région QTL contrôlant la coloration jaune et rouge du filet au sein du croisement F2 entre souches à croissance lente ou rapide, *ii*) l'analyse bio-informatique et l'identification d'un gène candidat fonctionnel et positionnel, *iii*) la quantification du niveau d'expression du gène et la détection d'un *cis*-e-QTL, *iv*) le séquençage des régions régulatrices et l'identification de mutations candidates, et *v*) la confirmation du rôle fonctionnel de deux SNP par une approche de type gène rapporteur. L'ensemble de ces résultats, qui ont conduit à la mise au point d'un test moléculaire utilisable en sélection, a fait l'objet d'un dépôt de brevet international (Le Bihan-Duval *et al* 2010) et d'une offre commerciale d'INRA transfert. Ce résultat est notable car, dans le domaine des productions animales, l'identification d'une mutation causale associée à un QTL reste assez rare, toutes espèces de rente confondues. Concernant la qualité des viandes, les mutations les plus connues sont les gènes majeurs *HAL* (Halothane) et *RN* (Rendement Napole) identifiés chez le porc comme responsables des défauts de qualité « PSE » et « viandes acides », respectivement. L'approche e-QTL utilisée en poulet montre l'intérêt de cette démarche qui,

dans ce cas, a validé le gène candidat et orienté la recherche des mutations candidates au sein du promoteur, raccourcissant ainsi l'étape souvent très laborieuse de cartographie fine. L'identification de mutations associées à un caractère d'intérêt ouvre de larges champs d'application pour la recherche, mais aussi pour la sélection commerciale, notamment pour des caractères difficiles et coûteux à mesurer, comme c'est le cas pour la qualité de la viande. L'inconvénient des approches e-QTL est leur coût, puisqu'elles considèrent un grand nombre d'individus qui doivent être à la fois génotypés et phénotypés au niveau du transcriptome. Une récente étude chez le poulet a montré l'intérêt pour l'identification des gènes candidats d'une approche de génomique ciblée sur un QTL. Dans ce cas, on se réduit à la comparaison du profil transcriptomique (mesuré sur une puce) de deux groupes d'animaux se différenciant sur leur génotype prédit au QTL. Appliquée à 24 animaux de génotypes homozygotes extrêmes (12 *QQ* et 12 *qq*) pour un QTL contrôlant la valeur du pH à 15 min *p.m.*, cette approche a montré que les gènes différemment exprimés (au niveau musculaire) étaient tous localisés dans la région QTL étudiée (figure 3). En partant d'un large intervalle de confiance (de plus de 50 cM), l'analyse a permis de cibler une zone très réduite (environ 200kb) contenant 4 gènes candidats (Nadaf *et al* 2014).

*Chez le bovin* : L'approche e-QTL va se décliner en une approche « p-QTL » qui vise à localiser les QTL qui participent au contrôle de la variabilité de l'abondance de protéines. Cette stratégie va être appliquée sur les quelques dizaines de protéines qui ont été identifiées comme biomarqueurs pertinents de la qualité en particulier la tendreté de la viande. En effet grâce à la mise au point d'une puce (cf. § 2.2/a), l'abondance d'un grand nombre de protéines pourra être quantifiée simultanément et à grande échelle sur les populations expérimentales du projet Qualvigène (plus de 1 000 animaux de chacune des 3 principales races à viande) déjà phénotypées pour la tendreté et qui seront génotypées avec la puce BovineSNP50.

**Figure 3.** Manhattan plot représentant les « p-values » associées aux différentiels d'expression pour chaque sonde de la puce (repositionnée sur le génome) issus de la comparaison du transcriptome musculaire de génotypes homozygotes extrêmes (12 *QQ* et 12 *qq*) pour un QTL contrôlant la valeur du pH à 15 min *p.m.* Le signal est hautement enrichi au niveau du QTL (Nadaf *et al* 2014).



## Conclusion

Au cours de ces quinze dernières années des avancées considérables dans la connaissance des mécanismes génétiques et biologiques qui gouvernent l'établissement des différentes composantes de la qualité des viandes ont été possibles grâce à différentes études génomiques mises en œuvre dans le cadre de programmes nationaux ou internationaux. Les résultats démontrent clairement que, quelle que soit l'espèce étudiée, les qualités des viandes sont dépendantes de processus biologiques complexes associés à un grand nombre de biomarqueurs. Les études génomiques ont permis aux scientifiques d'avoir une vision intégrée des différents mécanismes d'élaboration de la qualité et de leurs interactions. Les principales retombées de ces connaissances sont tout d'abord une amélioration des possibilités de prédiction de la qualité des viandes, associée au développement de méthodes rapides de prélèvement tissulaire sur les chaînes d'abattage puis d'analyse des échantillons. Un autre type d'application réside dans la mise au point d'outils d'aide à la sélection. Les applications sont encore limitées dans ce domaine, mais l'exemple du test génétique de la

coloration des viandes développé chez le poulet est encourageant. Plus généralement, l'identification de biomarqueurs bénéficiera aux études sur le contrôle de la qualité par les facteurs d'élevage et contribuera en ce sens à l'élaboration de stratégies de production innovantes et adaptées aux objectifs des filières. Les recherches en génomique se poursuivent dans la plupart des laboratoires français qui étudient la qualité des viandes. Elles bénéficient des récents développements technologiques au niveau du séquençage à haut débit (puce SNP, RNAseq...), mais aussi des efforts de l'INRA pour mettre en place des plateformes d'analyses à haut débit, l'objectif à terme étant de proposer aux professionnels des différentes filières des outils moléculaires efficaces pour maîtriser en amont la qualité de leur production.

## Remerciements

Les auteurs remercient l'ensemble des participants aux différents projets qui ont donné lieu à ces résultats et tous les financeurs qui ont permis la réalisation de ces recherches. Ce texte s'appuie sur l'article de Picard *et al* 2012 paru dans le Numéro Spécial Viandes et Produits Carnés des JSMTV 2012.

## Références

- Allais S., Hennequet-Antier C., Berri C., Chabault M., d'Abbadie F., Demeure O., Le Bihan-Duval E., 2014a. Fine mapping of QTL for carcass and meat quality traits in a slow-growing line. In: 10<sup>th</sup> World Congr. Genetics Appl. Livest. Prod. Vancouver, Canada. <http://prodinra.inra.fr/record/269066>
- Allais S., Levéziel H., Hocquette J.F., Journaux L., Rousset S., Denoyelle C., Journaux L., Renand G., 2014b. Fine mapping of quantitative

trait loci underlying sensory meat quality traits in three French beef cattle breeds. *J. Anim. Sci.*, 92, 4329-4341.

Allais S., Journaux L., Levéziel H., Payet-Duprat N., Raynaud P., Hocquette J.F., Lepetit J., Rousset S., Denoyelle C., Bernard-Capel C., Renand G., 2011. Effects of polymorphisms in the calpastatin and  $\mu$ -calpain genes on meat tenderness in 3 French beef breeds. *J. Anim. Sci.*, 89, 1-11.

Bernard C., Cassar-Malek I., Le Cunff M., Dubroeuq H., Renand G., Hocquette J.F., 2007. New indicators of beef sensory quality revealed by expression of specific genes. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 5229-5237.

Bidanel J.P., Milan D., Iannuccelli N., Amigues Y., Boscher M.Y., Bourgeois F., Caritez J.C., Gruand J., Le R.P., Lagant H., Quintanilla R., Renard C., Gellin J., Ollivier L., Chevalet C., 2001. Detection of quantitative trait loci for

- growth and fatness in pigs. *Genet. Select. Evol.*, 33, 289-309.
- Bjarnadóttir S.G., Hollung K., Hoy M., Bendixen E., Codrea M.C., Veiseth-Kent E., 2012. Changes in protein abundance between tender and tough meat from bovine longissimus thoracis muscle assessed by isobaric tag for relative and absolute quantitation (iTRAQ) and 2-dimensional gel electrophoresis analysis. *J. Anim. Sci.*, 90, 2035-2043.
- Bolormaa S., Porto N.L.R., Zhang Y.D., Bunch R.J., Harrison B.E., Goddard M.E., Barendse W., 2011. A genome-wide association study of meat and carcass traits in Australian cattle. *J. Anim. Sci.*, 89, 2297-2309.
- Bonnet A., Iannuccelli E., Hugot K., Benne F., Bonaldo M., Soares M., Hatey F., Tosser-Klopp G., 2008. A pig multi-tissue normalised cDNA library: large-scale sequencing, cluster analysis and 9K micro-array resource generation. *BMC Genomics*, 9, 17.
- Bouley J., Meunier B., Culioli J., Picard B., 2004. Analyse protéomique du muscle de bovin appliquée à la recherche de marqueurs de la tendreté de la viande. *Renc. Rech. Rum.*, 87-89.
- Carvalho M.E., Gasparin G., Poleti M.D., Rosa A.F., Balieiro J.C.C., Labate C.A., Nassu R.T., Tullio R.R., Regitano L.C.d.A., Mourão G.B., Coutinho L.L., 2014. Heat shock and structural proteins associated with meat tenderness in Nellore beef cattle, a *Bos indicus* breed. *Meat Sci.*, 96, 1318-1324.
- Casarin A., Jimenez-Ortega J.C., Trevisson E., Pertegato V., Doimo M., Ferrero-Gomez M.L., Abbadi S., Artuch R., Quinzii C., Hirano M., Basso G., Ocana C.S., Navas P., Salviati L., 2008. Functional characterization of human COQ4, a gene required for Coenzyme Q(10) biosynthesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 372, 35-39.
- Cassar-Malek I., Guillemain N., Hocquette J.F., Micol D., Bauchart D., Picard B., Jurie C., 2011. Expression of DNAJA1 in bovine muscles according to developmental age and management factors. *Animal*, 5, 867-874.
- Chaze T., Hocquette J.F., Meunier B., Renan G., Journaux L., Capel C., Picard B., 2009. Recherche de marqueurs de tendreté de la viande de jeunes bovins de races à viande par analyse protéomique. *Renc. Rech. Rum.*, 151-154.
- Cherel P., Héroult F., Vincent A., Le Roy P., Damon M., 2012. Genetic variability of transcript abundance in pig skeletal muscle at slaughter: Relationships with meat quality traits. *J. Anim. Sci.*, 90, 699-708.
- D'Alessandro A., Marrocco C., Zolla V., D'Andrea M.Z.L., 2011. Meat quality of the longissimus lumborum muscle of Casertana and Large White pigs: Metabolomics and proteomics intertwined. *J. Proteomics*, 75, 610-627.
- Damon M., Denieul K., Vincent A., Bonhomme N., Wyszynska-Koko J., Lebreton B., 2013. Associations between muscle gene expression pattern and technological and sensory meat traits highlight new biomarkers for pork quality assessment. *Meat Sci.*, 95, 744-754.
- Damon M., Louveau I., Lefaucheur L., Lebreton B., Vincent A., Leroy P., Sanchez M.P., Herpin P., Gondret F., 2006a. Number of intramuscular adipocytes and fatty acid binding protein-4 content are significant indicators of intramuscular fat level in crossbred Large White X Duroc pigs. *J. Anim. Sci.*, 84, 1083-1092.
- Damon M., Vincent A., Cherel P., Frank M., Le Roy P., 2006b. Transcriptomic analysis of destructured ham. In: 1<sup>st</sup> Conf. Pig Genomics, Lodi, Italy, p44; <http://prodinra.inra.fr/record/27794>
- Damon M., Wyszynska-Koko J., Vincent A., Héroult F., Lebreton B., 2012. Comparison of muscle transcriptome between pigs with divergent meat quality phenotypes identifies genes related to muscle metabolism and structure. *PLoS One*, 7, e33763.
- de Koning D.J., Janss L.L., Rattink A.P., van Oers P.A., de Vries B.J., Groenen M.A., van der Poel J.J., de Groot P.N., Brascamp E.W., van Arendonk J.A., 1999. Detection of quantitative trait loci for backfat thickness and intramuscular fat content in pigs (*Sus scrofa*). *Genetics*, 152, 1679-1690.
- Druet T., Georges M., 2010. A Hidden Markov Model Combining Linkage and Linkage Disequilibrium Information for Haplotype Reconstruction and Quantitative Trait Locus Fine Mapping. *Genetics*, 184, 789-798.
- Duijvesteijn N., Knol E., Merks J., Crooijmans R., Groenen M., Bovenhuis H., Harlizius B., 2010. A genome-wide association study on androstenone levels in pigs reveals a cluster of candidate genes on chromosome 6. *BMC Genetics*, 11, 42.
- Flamion N., Dockès A.C., Guerrier J., Pinard D., 2013. Intégrer des critères de qualité de viande dans les objectifs de sélection en bovins allaitants. *Viandes Prod. Carnés*, 29, 6-8.
- Gautier M., Faraut T., Moazami-Goudarzi K., Navratil V., Foglio M., Grohs C., Boland A., Garnier J.G., Boichard D., Lathrop G.M., Gut I.G., Eggen A., 2007. Genetic and haplotypic structure. *Europ. African Cattle Breeds. Genetics*, 177, 1059-1070.
- Godiksen H., Morzel M., Hyldig G., Jessen F., 2009. Contribution of cathepsins B, L and D to muscle protein profiles correlated with texture in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food Chem.*, 113, 889-896.
- Gondret F., Guevel B., Com E., Vincent A., Lebreton B., 2012. A comparison of subcutaneous adipose tissue proteomes in juvenile piglets with a contrasted adiposity underscored similarities with human obesity. *J. Proteomics*, 75, 949-961.
- Grindflek E., Lien S., Hamland H., Hansen M., Kent M., van Son M., Meuwissen T., 2011. Large scale genome-wide association and LDLA mapping study identifies QTLs for boar taint and related sex steroids. *BMC Genomics*, 12, 362.
- Guillemain N., Bonnet M., Jurie C., Picard B., 2011a. Functional analysis of beef tenderness. *J. Proteomics*, 75, 352-365.
- Guillemain N., Cassar-Malek I., Hocquette J.F., Jurie C., Micol D., Lustrat A., Leveziel H., Renan G., Picard B., 2009. La maîtrise de la tendreté de la viande bovine: identification de marqueurs biologiques. *INRA Prod. Anim.*, 22, 331-344.
- Guillemain N., Jurie C., Cassar-Malek I., Hocquette J.F., Renan G., Picard B., 2011b. Variations in the abundance of 24 protein biomarkers of beef tenderness according to muscle and animal type. *Animal*, 5, 885-894.
- Guillemain N., Jurie C., Renan G., Hocquette J.F., Micol D., Lepetit J., Leveziel H., Picard B., 2012. Different phenotypic and proteomic markers explain variability of beef tenderness across muscles. *Int. J. Biology*, 4, 26-38.
- Hiller B., Hocquette J.F., Cassar-Malek I., Nuernberg G., Nuernberg K., 2012. Dietary n-3 fatty acid effects on gene expression in bovine longissimus muscle as assessed by microarray / qRT-PCR methodology. *Br. J. Nutr.*, 108, 858-863.
- Hocquette J.F., Bernard-Capel C., Vidal V., Jesson B., Leveziel H., Renan G., Cassar-Malek I., 2012. The GENOTEND chip: a new tool to analyse gene expression in muscles of beef cattle for beef quality prediction. *BMC Vet. Res.*, 8, 135.
- Hocquette J.F., Bernard C., Cassar-Malek I., Lepetit J., Micol D., Jurie C., Meunier B., Renan G., Picard B., 2007. Mise en évidence de marqueurs de tendreté de la viande bovine par des approches de génomique fonctionnelle (projet MUGENE). *Renc. Rech. Rum.*, 117-120.
- Hollung K., Veiseth E., Jia X., Faergestad E.M., Hildrum K.I., 2007. Application of proteomics to understand the molecular mechanisms behind meat quality. *Meat Sci.*, 77, 97-104.
- Hozé C., Fouilloux M.N., Venot E., Guillaume F., Dassonville R., Fritz S., Ducrocq V., Phocas F., Boichard D., Croiseau P., 2013. High-density marker imputation accuracy in sixteen French cattle breeds. *Genet. Sel. Evol.*, 45 33.
- Hu Z.L., Fritz E.R., Reedy J.M., 2007. Animal QTLdb: a livestock QTL database tool set for positional QTL information mining and beyond. *Nucleic Acids Res.*, 35, D604-D609.
- Huang H., Larsen M.R., Karlsson A.H., Pomponio L., Nanni C.L., Lametsch R., 2011. Gel-based phosphoproteomics analysis of sarcolemmal proteins in post-mortem porcine muscle with pH decline rate and time differences. *Proteomics*, 11, 4063-4076.
- Jia X., Veiseth-Kent E., Grove H., Kuziora P., Aass L., Hildrum K.I., Hollung K., 2009. Peroxiredoxin-6-A potential protein marker for meat tenderness in bovine longissimus thoracis muscle. *J. Anim. Sci.*, 87, 2391-2399.
- Jlali M., Gigaud V., Métayer-Coustard S., Sellier N., Tesseraud S., Le Bihan-Duval E., Berri C., 2012. Modulation of glycogen and breast meat processing ability by nutrition in chickens: Effect of crude protein level in 2 chicken genotypes. *J. Anim. Sci.*, 90, 447-455.
- Kjaersgard I.V.H., Jessen F., 2003. Proteome analysis elucidating post-mortem changes in cod (*Gadus morhua*) muscle proteins. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 3985-3991.
- Lametsch R., Larsen M.R., Essén-Gustavsson B.J.W.M., Lundström K., Lindahl G., 2011. Post-mortem changes in pork muscle protein phosphorylation in relation to the RN genotype. *J. Agric. Food Chem.*, 59, 11608-11615.
- Larsson T., Mørkøre T., Kolstad K., Østbye T.K., Afanasyev S., Krasnov A., 2012. Gene expression profiling of soft and firm atlantic salmon fillet. *PLoS One*, 7, e39219.
- Laville E., Sayd T., Sante-Lhoutellier V., Morzel M., Labas R., Franck M., Chambon C.,

- Monin G., 2005. Characterisation of PSE zones in semimembranosus pig muscle. *Meat Sci.*, 70, 167-172.
- Laville E., Sayd T., Terlouw C., Blinet S., Pinguet J., Fillaut M., Glenisson J., Cherel P., 2009. Differences in pig muscle proteome according to HAL genotype : implication for meat quality defects. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 4913-4923.
- Laville E., Sayd T., Terlouw C., Chambon C., Damon M., Larzul C., Leroy P., Glenisson J., Cherel P., 2007. Comparison of sarcoplasmic proteomes between two groups of pig muscles selected for shear force of cooked meat. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 5834-5841.
- Le Bihan-Duval E., Chabault M., Baéza E., Boulay M., Berri C., 2013. Genetic control of meat quality traits in standard intensively and alternative farmed broilers. *Eur. Symp. Quality Poult. Mea*, Bergamo, Italy, 8p.
- Le Bihan-Duval E., Nadaf J., Berri C., Duclos M., Pitel F., 2010. Marqueurs génétiques pour la coloration de la viande. In: INRA Editions, EP2161345A1, Paris, France, p38 + annexes.
- Le Bihan-Duval E., Nadaf J., Berri C., Pitel F., Graulet B., Godet E., Leroux S., Demeure O., Lagarrigue S., Duby C., Cogburn L., Beaumont C., Duclos M.J., 2011. Detection of a Cis eQTL controlling BMCO1 gene expression leads to the identification of a QTG for chicken breast meat color *PLoS ONE* 6, 10p.
- Le Mignon G., Iannuccelli N., Robic A., Billon Y., Bidanel J., Larzul C., 2010. Fine Mapping Of Quantitative Trait Loci For Androstenone And Skatole Levels In Pig. 9<sup>th</sup> WCGALP, 1-6 August, Leipzig, Germany.
- Lebret B., Damon M., Gondret F., Lefaucheur L., Louveau I., Prunier A., Bonhomme N., Ecolan P., Wyszynska-Koko J., Lepetit J., Méteau K., Barthélémy S., Pollet P.Y., Dourmad J.Y., 2011. Variation de la qualité de la viande de porc selon la race : Basque ou Large White et le mode d'élevage : conventionnel, alternatif ou extensif. *Journ. Rech. Porcine*, IFIP I. (Ed). Paris, France, 39-46.
- Lebret B., Denieul K., Damon M., 2013a. Muscle transcriptome profiles highlight biomarkers of pig production system and high meat quality. *Int. Congr. Meat Sci. Technol. (ICOMST)*. Izmir, Turkey, 33.
- Lebret B., Denieul K., Vincent A., Bonhomme N., Wyszynska-Koko J., Kristensen L., Young J.F., Damon M., 2013b. Identification par transcriptomique de biomarqueurs de la qualité de la viande de porc. *Journ. Rech. Porcine.*, 97-102.
- Lebret B., Faure J., 2015. La viande et les produits du porc : comment satisfaire des attentes qualitatives variées ? In : Numéro spécial, Le muscle et la viande. Picard B., Lebret B. (Eds). INRA Prod. Anim., 28, 111-114.
- Lebret B., Vincent A., Faure J., 2014. Muscle biomarkers to differentiate pork quality categories based on industry and consumer demands. *Ann. Meet.Eur. Assoc. Anim. Prod.*, Copenhagen, Denmark, p440.
- Liaubet L., Lobjois V., Faraut T., Tircazes A., Benne F., Iannuccelli N., Pires J., Glénisson J., Robic A., Le R.P., Sancristobal M., Cherel P., 2011. Genetic variability of transcript abundance in pig peri-mortem skeletal muscle: eQTL localized genes involved in stress response, cell death, muscle disorders and metabolism. *BMC Genomics*, 12, 548.
- Liu J., Damon M., Guitton N., Guisle I., Ecolan P., Vincent A., Cherel P., Gondret F., 2009. Differentially-expressed genes in pig Longissimus muscles with contrasting levels of fat, as identified by combined transcriptomic, reverse transcription PCR, and proteomic analyses. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 3808-3817.
- Lobjois V., Liaubet L., SanCristobal M., Glénisson J., Fève K., Rallières J., Le R.P., Milan D., Cherel P., Hately F., 2008. A muscle transcriptome analysis identifies positional candidate genes for a complex trait in pig. *Anim. Genetics*, 39, 147-162.
- Lomiwes D., Farouk M.M., Wiklund E., Young O.A., 2014. Small heat shock proteins and their role in meat tenderness: A review. *Meat Sci.*, 96, 26-40.
- Ma J., Yang J., Zhou L., Ren J., Liu X., Zhang H., Yang B., Zhang Z., Ma H., Xie X., Xing Y., Guo Y., Huang H., 2014. A splice mutation in the PHKG1 gene causes high glycogen content and low meat quality in pig skeletal muscle. *PLoS Genetics*, 23.
- Meuwissen T., 2010. Use of whole genome sequence data for QTL mapping and genomic selection. *World Congr. Genet. Appl. Anim. Prod.*, Leipzig, Germany.
- Morzel M., Chambon C., Lefevre F., Paboeuf G., Laville E., 2006. Chemical oxidation decreases proteolytic susceptibility of skeletal muscle myofibrillar proteins. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 2997-3001.
- Morzel M., Terlouw C., Chambon C., Micol D., Picard B., 2008. Muscle proteome and meat eating qualities of *Longissimus thoracis* of "Blonde d'Aquitaine" young bulls: A central role of HSP27 isoforms. *Meat Sci.*, 78, 297-304.
- Nadaf J., Berri C., Dunn I., Godet E., Le Bihan-Duval E., De Koning D.J., 2014. An expression QTL of closely linked candidate genes affects pH of meat in chickens. *Genetics*, 196, 867-874.
- Nadaf J., Gilbert H., Pitel F., Berri C.M., Fève K., Beaumont C., Duclos M.J., Vignal A., Porter T.E., Simon J., Aggrey S.E., Cogburn L.A., Le Bihan-Duval E., 2007. Identification of QTL controlling meat quality traits in an F2 cross between two chicken lines selected for either low or high growth rate. *BMC Genomics*, 8, 155.
- Ouali A., 1992. Proteolytic and physicochemical mechanisms involved in meat texture development. *Biochimie*, 74 251-265.
- Ouali A., Gagaoua M., Boudida Y., Becila S., Boudjellal A., Herrera-Mendez C.H., Sentandreu M.A., 2013. Biomarkers of meat tenderness: Present knowledge and perspectives in regards to our current understanding of the mechanisms involved. *Meat Sci.*, 95, 854-870.
- Ouali A., Herrera-Mendez C.H., Coulis G., Becila S., Boudjellal A., Aubry L., Sentandreu M.A., 2006. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Sci.*, 74, 44-58.
- Picard B., Berri C., Lebret B., Lefèvre F., Liaubet L., Damon M., Le Bihan-Duval E., Cassar Malek I., Hocquette J.F., Renand G., 2012a. Génomique et viande : quelles avancées, quelles applications ? In : Numéro spécial, Viande Prod. Carnés JSMTV Caen, France, 127, 134.
- Picard B., Cassar-Malek I., Guillemin N., Bonnet M., 2011. 4.32 - Quest for novel muscle pathway biomarkers by proteomics in beef production. *Compreh. Biotechnol. (Second Edition)*. Moo-Young M. (Ed). Academic Press, Burlington, 395-405.
- Picard B., Gagaoua M., Micol D., Cassar-Malek I., Hocquette J.F., Terlouw E.M.C., 2014. Inverse relationships between biomarkers and beef tenderness according to contractile and metabolic properties of the muscle. *J. Agric. Food chem.*, 62, 9808-9818.
- Picard B., Lefèvre F., Lebret B., 2012b. Meat and fish flesh quality with proteomic applications. *Anim. Frontiers*, 2, 18-25.
- Picard B., Micol D., Cassar-Malek I., Denoyelle C., Renand G., Hocquette J.F., Capel C., Journaux L., 2013. Biomarkers of beef tenderness, towards analytical tools. *Ann. Meet. Europ. Assoc. Anim. Prod.*, Nantes, France, 564.
- Ponsuksili S., Murani E., Phatsara C., Schwerin M., Schellander K., Wimmers K., 2009. Porcine muscle sensory attributes associate with major changes in gene networks involving CAPZB, ANKRD1, and CTBP2. *Funct. Integr. Genomics*, 9, 455-471.
- Promeyrat A., Sayd T., Laville E., Chambon C., Lebret B., Gatellier P., 2011. Early post-mortem sarcoplasmic proteome of porcine muscle related to protein oxidation. *Food Chem.*, 127, 1097-1104.
- Rohrer G.A., Keele J.W., 1998. Identification of quantitative trait loci affecting carcass composition in swine: II. Muscling and wholesale product yield traits. *J. Anim. Sci.*, 76, 2247-2254.
- Sanchez M.P., Riquet J., Iannuccelli N., Gogué J., Billon Y., Demeure O., Caritez J.C., Burgaud G., Fève K., Bonnet M., Péry C., Lagant H., Le Roy P., Bidanel J.P., Milan D., 2006. Effects of quantitative trait loci on chromosomes 1, 2, 4, and 7 on growth, carcass, and meat quality traits in backcross Meishan × Large White pigs. *J. Anim. Sci.*, 84, 526-537.
- Sanchez M.P., Tribout T., Iannuccelli N., Bouffaud M., Servin B., Tenghe A., Dehais P., Muller N., Schneider M.P., Mercat M.J., Rogel-Gaillard C., Milan D., Bidanel J.P., Gilbert H., 2014. A genome-wide association study of production traits in a commercial population of Large White pigs: evidence of haplotypes affecting meat quality. *Genet. Sel. Evol.*, 46, 12.
- Sibut V., Hennequet-Antier C., Le Bihan-Duval E., Marthey S., Duclos M., Berri C., 2011. Identification of differentially expressed genes in chickens differing in muscle glycogen content and meat quality. *BMC Genomics*, 12, 13.
- Sibut V., Le Bihan-Duval E., Tesseraud S., Godet E., Bordeaux T., Cailleau-Audouin E., Chartrin P., Duclos M.J., Berri C., 2008. Adenosine monophosphate-activated protein kinase involved in variations of muscle glycogen and breast meat quality between lean and fat chickens. *J. Anim. Sci.*, 86, 2888-2896.
- te Pas M.F.W., Hoekman A.J.W., Smits M.A., 2011. Biomarkers as management tools for industries in the pork production chain. *J. Chain Network Sci.*, 11, 155-166.

Terlouw E.M.C., Cassar-Malek I., Picard B., Bourguet C., Deiss V., Arnould C., Berri C., Duval E., Lefèvre F., Lebret B., 2015. Stress en élevage et à l'abattage : impacts sur les qualités des viandes. In : Numéro spécial, Le muscle et la viande. Picard B., Lebret B. (Eds). INRA Prod. Anim., 28, 169-182.

Turunen M., Olsson J., Dallner G., 2004. Metabolism and function of coenzyme Q. Biochim. Biophys. Acta (BBA) - Biomembranes, 1660, 171-199.

Veiseth-Kent E., Grove H., Faergestad E.M., Fjaera S.O., 2010. Changes in muscle and blood plasma proteomes of Atlantic salmon (*Salmo salar*) induced by crowding. Aquaculture, 309, 272-279.

Villa-Vialaneix N., Liaubet L., Laurent T., Chereil P., Gamot A., SanCristobal M., 2013. The structure of a gene co-expression network reveals biological functions underlying eQTLs. PLoS One, 8, e60045.

Vincent A., Louveau I., Gondret F., Lebret B., Damon M., 2012. Mitochondrial function, fatty acid metabolism and immune system are relevant features of pig adipose tissue development. Physiol. Genomics, 44, 1116-1124.

Wimmers K., Murani E., Ponsuksili S., 2010. Pre- and postnatal differential gene expression with relevance for meat and carcass traits in pigs – a review. Anim. Sci. Papers Reports, 28, 115-122.

## Résumé

Le séquençage et l'annotation du génome des principaux animaux producteurs de viande ou de chair, ont permis l'essor des études de génomique au cours de la dernière décennie. Les techniques utilisées concernent d'une part la détection de mutations sur des régions du génome (QTL : « *Quantitative Trait Loci* »). Cette approche dite de génomique structurale a permis la détection de gènes majeurs (mutations ayant un effet majeur sur un caractère), comme le gène « culard » chez le bovin et le mouton, les gènes halothane et « Rendement Napole » chez le porc. Des QTL associés à une qualité, comme la vitesse de chute de pH chez le poulet, ont été identifiés. D'autre part, le niveau d'expression des gènes mesuré au travers de l'abondance relative d'ARN messagers et de protéines est analysé respectivement dans les études de transcriptomique et de protéomique. Des protéines ou des ARN messagers dont l'abondance est associée à une composante de qualité de viande, ont été identifiés chez le porc, le bovin, le poulet et la truite. Ils constituent des biomarqueurs d'intérêt pour la compréhension et la maîtrise des qualités d'intérêt pour chaque espèce. Le développement en cours d'outils d'évaluation de la qualité à destination des acteurs des filières permettra des applications sur l'animal vivant pour l'évaluation de son potentiel de qualité et l'adaptation de la conduite d'élevage à ce potentiel. Sur la carcasse, ils serviront à orienter sa destination bouchère ou celle des pièces ou morceaux de découpe. Ces biomarqueurs seront également utiles pour fournir des mesures phénotypiques pour la sélection génomique appliquée à la qualité de la viande.

## Abstract

### *Genomic markers usable for meat quality assessment*

Sequencing and annotation of the genomes of the main animals producing meat or flesh, have enabled the development of genomic studies in the last decade. The techniques developed allow the detection of mutations in the genome called QTL (Quantitative Trait Loci). These approaches allowed the detection of major genes (mutations with a major effect on a character) such as the "double muscling" gene in cattle and sheep, RN halothane gene in pigs. QTL associated with quality, such as the speed of post-mortem pH decrease in chickens, have been revealed. Transcriptomics and proteomics allow respectively the analysis of relative abundance of mRNA and protein. Proteins or mRNA whose abundance is associated with meat quality traits have been detected in pigs, cattle, chickens and trout. They are potential biomarkers for understanding and controlling qualities of interest for each species. The ongoing development of tools for quality evaluation will allow applications on the live animal especially for the adaptation of the breeding system to its quality potential. Applied to carcasses it will help to orientate the destination of carcasses or cuts. These biomarkers will also be useful to provide phenotypic measures for application in genomic selection applied to meat quality.

PICARD B., LEBRET B., CASSAR-MALEK I., LIAUBET L., BERRI C., LE BIHAN-DUVAL E., LEFÈVRE F., HOCQUETTE J.-F., RENAND G., 2015. Des marqueurs génomiques au service de la qualité de la viande. In : Numéro spécial, Le muscle et la viande. Picard B., Lebret B. (Eds). INRA Prod. Anim., 28, 183-196.