

Qualités sensorielles de la viande bovine

Identification de marqueurs génomiques

La tendreté, la jutosité et la saveur de la viande bovine présentent une grande variabilité qui ne peut être suffisamment expliquée par les critères biologiques utilisés jusqu'à présent. L'utilisation de techniques de génomique a permis de révéler une relation entre l'expression de plusieurs gènes et la qualité de la viande. En particulier, l'expression du gène DNAJA1 est fortement corrélée à la dureté de la viande en race Charolaise. Ceci ouvre de nouvelles perspectives pour identifier les bovins donnant une viande tendre.

BERNARD C.¹, CASSAR-MALEK I.², GENTES G.², DELAUAUD A.², DUNOYER N.², MICOL D.², RENAND G.³, HOCQUETTE J.-F.²

¹ Institut de l'Élevage, Service aptitudes et sélection des races allaitantes, 149 rue de Bercy, 75975 PARIS Cedex 12

² Inra UR1213 Unité de recherches sur les herbivores, Theix, 63122 SAINT-GENÈS-CHAMPANELLE

³ Inra UR337 Station de génétique quantitative et appliquée, 78352 JOUY-EN JOSAS

Le contrôle des qualités sensorielles de la viande bovine, et plus particulièrement de la tendreté, est devenu l'une des priorités de la filière. De nombreux facteurs influencent les qualités sensorielles de la viande (Hocquette et al., 2005), tels que les facteurs technologiques (conditions d'abattage des animaux, de maturation, de transformation et de cuisson de la viande) ou encore le mode d'élevage, le type génétique de l'animal et le type de morceau. L'ensemble des facteurs liés aux animaux ou au type de muscle influence les caractéristiques biologiques des muscles (teneurs en collagène, en lipides intramusculaires, en enzymes et en inhibiteurs enzymatiques, taille et type des fibres musculaires) et participe par conséquent à la grande variabilité des qualités de la viande bovine. De nombreuses recherches ont déjà été conduites afin d'expliquer cette variabilité, toutefois les caractéristiques biologiques étudiées jusqu'à présent expliquent au maximum 30% de la variabilité de la tendreté de la viande bovine (Renand et al., 2001). L'identification de nouvelles caractéristiques biologiques du muscle ayant une forte influence sur la qualité de la viande est donc un enjeu majeur pour la filière des animaux de boucherie, d'autant plus si ces critères peuvent être intégrés aux schémas de sélection des bovins reproducteurs. C'est pourquoi des recherches à objectif opérationnel sont menées afin d'identifier des marqueurs des qualités sensorielles de la viande bovine en mettant à profit les techniques de génomique qui permettent de révéler des gènes ou des processus moléculaires associés à la qualité de la viande.

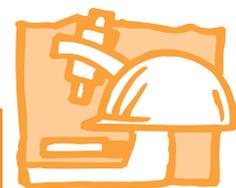
L'objectif de cette étude était d'identifier de nouveaux marqueurs génomiques des qualités sensorielles de la viande bovine grâce à l'analyse du transcriptome musculaire de taurillons Charolais issus d'une sélection divergente sur le potentiel de croissance musculaire, l'augmentation de la croissance musculaire étant considérée a priori comme favorable à l'amélioration de la tendreté. Des informations complémentaires concernant ce travail sont disponibles dans l'article de Bernard et al. (2007).

RESULTATS ET DISCUSSION

Modifications des profils d'expression génique associées aux qualités sensorielles

Les analyses différentielles des transcriptomes selon les critères de qualité ont révélé 112 gènes associés à la tendreté de la viande, 91 à la jutosité et 116 à la saveur. La fonction de 20% de ces gènes reste encore inconnue et aucun processus biologique n'est impliqué de façon majoritaire dans le déterminisme de la qualité de la viande.

Parmi ces gènes, 58 apparaissent différemment exprimés à la fois selon la tendreté de la viande, la jutosité et également la saveur : 33 montrent une sur-expression dans les muscles donnant les viandes les plus tendres, les plus juteuses et avec le plus de goût, et 9 sont sous-exprimés dans les mêmes échantillons. Les 16 gènes restants présentent des profils d'expression variables (sur-expression ou sous-expression) en fonction de l'âge des animaux ou du critère étudié.



Notre objectif étant d'identifier des gènes régulés de façon similaire pour les trois critères de qualité et ce quel que soit l'âge des animaux, nous nous sommes préférentiellement intéressés aux 33 gènes sur-exprimés et aux 9 gènes sous-exprimés. Une classification hiérarchique des données d'expression de ces gènes a permis d'en regrouper 19 qui présentaient des profils d'expression similaires dans les muscles donnant les viandes les plus tendres, les plus juteuses et ayant le plus de goût quel que soit l'âge des animaux (données non montrées). De plus, 5 gènes sous-exprimés qui présentaient les différentiels d'expression les plus élevés entre les muscles à l'origine des viandes les plus extrêmes ont été associés à l'analyse. Ainsi, seuls 24 des gènes différentiellement exprimés ont été retenus pour une analyse de corrélation. Les corrélations calculées sur l'ensemble des 25 taurillons sont rapportées dans le tableau 1. Dix huit des 19 gènes sur-exprimés sont fortement corrélés à la fois à la jutosité et à la flaveur des viandes et expliquent jusqu'à 30% de leur variabilité. Parmi les gènes associés à la flaveur, le gène PRKAG1 code pour une des trois isoformes de la sous-unité gamma de la protéine kinase AMP dépendante. Cette protéine est impliquée dans le métabolisme des acides gras et joue un rôle important dans la régulation de l'expression des gènes liés au métabolisme du glucose. Bien que son implication dans la qualité de la viande bovine reste encore méconnue, des études réalisées chez le porc (Milan et al., 2000) ont permis de mettre en évidence qu'une mutation dominante (RN-) dans le gène PRKAG3 codant pour une autre isoforme avait un impact négatif notamment sur la tendreté de la viande. La fonction biologique des autres gènes identifiés (notamment CACNA1C qui correspond à une sous-unité d'un canal calcique) reste à préciser.

L'étude des corrélations a également permis de révéler qu'un seul gène sous-exprimé (DNAJA1) est inversement corrélé à la tendreté et explique à lui seul 43% de sa variabilité (figure 1). Ce gène code pour une protéine chaperonne, membre de la famille des « heat shock protéines », Hsp40. Cette protéine intervient dans l'entrée des protéines dans la mitochondrie et inhibe le mécanisme d'apoptose en interaction avec une autre protéine chaperonne, Hsp70. Cette activité anti-apoptotique pourrait ainsi ralentir le processus de mort cellulaire et la maturation de la viande (Ouali et al. 2006), processus favorable à son atten-

MATERIEL ET METHODES

Animaux et échantillons musculaires

Cette étude a été réalisée sur des taurillons de 15 mois (n = 13) ou de 19 mois (n = 12) et sur des bœufs de 30 mois (n = 23) de race Charolaise, issus de taureaux sélectionnés de façon divergente sur leur potentiel de croissance musculaire. Les animaux ont été élevés dans deux systèmes de production différents : système intensif à l'élevage (taurillons) ou engraissement au pâturage (bœufs). Ils ont été abattus à l'abattoir du Centre Inra de Clermont-Ferrand/Theix. Le jour de l'abattage, les poids de la carcasse et des dépôts adipeux internes ont été mesurés. Le muscle *Longissimus thoracis* a été prélevé dans les 10 min suivant l'abattage et les échantillons destinés à l'analyse du transcriptome ont été congelés dans l'azote puis stockés à -80 °C jusqu'à leur analyse. Le lendemain, la 6^e côte a été disséquée et la composition de la carcasse (muscle et dépôt adipeux) a été estimée selon l'équation de prédiction de Robelin et Geay (Robelin et Geay, 1975). Des prélèvements spécifiques du muscle ont été réalisés pour l'analyse sensorielle.

Étude transcriptomique

L'analyse du transcriptome musculaire de l'ensemble des taurillons a été réalisée à l'aide de puces oligonucléotidiques comportant 5418 séquences spécifiques de gènes musculaires humains et murins. À partir de chaque échantillon musculaire, les ARN totaux ont été extraits, rétro-transcrits en ADNc, marqués avec un fluorochrome (cyanine 3) et hybridés simultanément avec une référence marquée en cyanine 5 sur 4 puces. Celles-ci ont ensuite été scannées (Affymetrix 428 array scanner) et les images obtenues ont été analysées en utilisant le logiciel Genepix Pro 6.0.

Analyses sensorielles et classification

Le muscle a été conservé sous vide, à 4 °C pendant 14 jours. À l'issue de cette maturation, les steaks ont été tranchés (15 mm d'épaisseur) puis congelés rapidement. Après décongélation (> 24 h), ils ont été grillés à une température à cœur de 55 °C et soumis à un jury de dégustation de 10 personnes. Celui-ci a attribué une note de 1 à 10 pour chaque critère de qualité (tendreté, jutosité et flaveur). Les 25 taurillons ont ensuite été classés selon ces notes pour chacun des critères de qualité et 4 animaux (2 par groupe d'âge) présentant les notes les plus extrêmes ont été sélectionnés pour réaliser les analyses différentielles des transcriptomes.

Expression du gène DNAJA1

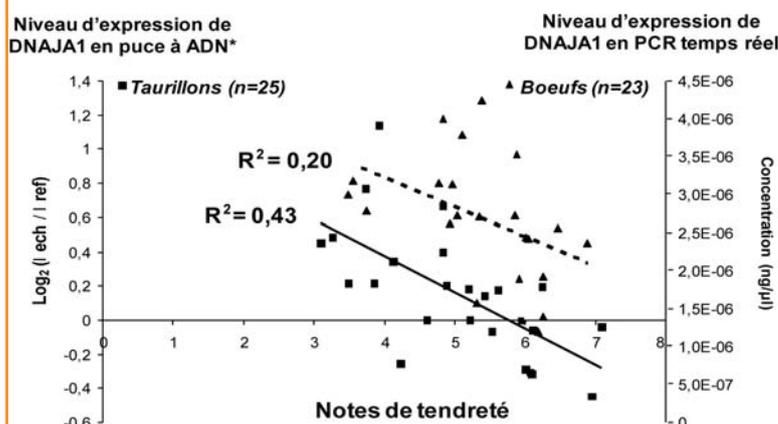
Le niveau d'expression du gène DNAJA1 dans le muscle *Longissimus thoracis* des 23 bœufs Charolais a été déterminé par RT-PCR en temps réel en utilisant le LightCycler FastStart DNA Master SYBR Green I kit (Roche Diagnostics) et un couple d'amorces spécifique du gène, dessiné à partir du logiciel Primer 3. L'efficacité de la réaction de PCR a été calculée à partir d'une gamme de dilution au 1/10 d'ADNc purifiés. L'intégrité et la spécificité du produit de PCR ont été déterminées grâce à l'établissement d'une courbe de dissociation.

Analyses statistiques

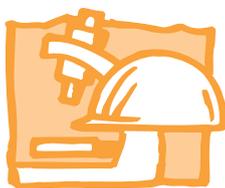
Dans un premier temps, les gènes différentiellement exprimés en fonction de chaque critère de qualité ont été identifiés à partir de la comparaison des transcriptomes des taurillons présentant les notes les plus extrêmes. Pour cela, l'outil statistique SAM (Significance Analysis of Microarray, Tusher et al., 2001) a été utilisé.

Ensuite, le pourcentage de variabilité des qualités sensorielles expliqué par les niveaux d'expression des gènes précédemment identifiés ou par les caractéristiques musculaires a été déterminé sur l'ensemble des 25 taurillons grâce à une étude de corrélation en utilisant le logiciel Statistica (Statsoft, France).

Figure 1
RELATION ENTRE LA TENDRETÉ DE LA VIANDE ET LE NIVEAU D'EXPRESSION DU GÈNE DNAJA1 DU MUSCLE *LONGISSIMUS THORACIS* DÉTERMINÉ PAR PUCE À ADN (pour les taurillons Charolais) OU PAR PCR EN TEMPS RÉEL (pour les bœufs Charolais)



*Le niveau d'expression de DNAJA1 en puce à ADN est représenté par le rapport des intensités de fluorescence dans l'échantillon (I ech) et la référence (I ref). Les données ne sont pas comparables entre les boeufs et les taurillons car elles ont été obtenues par des techniques différentes.



drissement dans les jours suivant l'abattage de l'animal. L'analyse du niveau d'expression de DNAJA1 dans le muscle *Longissimus thoracis* de 23 bœufs confirme la relation négative et significative du niveau d'expression de ce gène avec la tendreté de la viande (Figure 1, $r^2 = 0,20$). L'expression de ce gène constitue donc un bon candidat pour être un marqueur négatif de la tendreté en race Charolaise. Ces résultats ont fait l'objet d'un dépôt de brevet (EP06300943.5, 12 septembre 2006). D'autres analyses sont cependant envisagées afin de valider la relation entre l'expression de DNAJA1 et la tendreté de la viande sur un plus large effectif de bovins à viande (Charolais, Limousins, etc). Ces travaux pourraient déboucher sur la mise au point d'un test de routine simple, utilisable à l'échelle industrielle, permettant d'identifier les bovins ayant un potentiel à produire une viande tendre.

CONCLUSION

L'analyse du transcriptome du muscle *Longissimus thoracis* de taurillons Charolais a permis de mettre en évidence de nouveaux marqueurs biologiques des qualités sensorielles de la viande bovine. En particulier, le gène DNAJA1 semble être un bon marqueur négatif de la tendreté de la viande Charolaise puisque des analyses réalisées chez des bœufs de même race ont confirmé la relation existant entre l'expression de ce gène et les notes de tendreté des viandes. Il serait intéressant d'analyser l'expression de ce gène dans d'autres races bovines françaises.

D'autres études semblent toutefois nécessaires pour compléter ces résultats et ainsi mieux comprendre les relations existant entre les gènes identifiés et les qualités sensorielles de la viande bovine.

Tableau 1
CORRÉLATIONS ENTRE LES NOTES DE TENDRETÉ, DE JUTOSITÉ ET DE FLAVEUR DES VIANDES ET LES NIVEAUX D'EXPRESSION DES GÈNES SUR OU SOUS-EXPRIMÉS POUR LES 25 TAURILLONS

	Tendreté	Jutosité	Flaveur
Gènes sur-exprimés			
CPT1B	0,37	0,44*	0,42*
Xlkd1	0,42*	0,47*	0,43*
NDUFB4	0,34	0,45*	0,43*
JMJD1B	0,38	0,48*	0,52**
LAMA3	0,40*	0,44*	0,44*
FLJ12193	0,50*	0,50*	0,52**
Npm3	0,51**	0,47*	0,47*
Cyp2c50	0,33	0,40*	0,47*
TRIM55	0,44*	0,47*	0,47*
Cbr2	0,50*	0,43*	0,44*
C:6970	0,45*	0,52**	0,54**
PRRX2	0,28	0,40*	0,41*
OTOR	0,45*	0,49*	0,48*
CACNA1C	0,40*	0,55**	0,52**
Ireb2	0,41*	0,43*	0,50*
PRKAG1	0,31	0,39	0,47*
NID1	0,23	0,38	0,38
MPDZ	0,18	0,39	0,44*
CGREF1	0,40*	0,47*	0,48*
Gènes sous-exprimés			
PDK4	-0,27	-0,21	-0,34
DNAJA1	-0,66**	-0,34	-0,40*
CSRP3	-0,31	-0,51**	-0,61**
CRYAB	-0,39	-0,36	-0,47*
THOC3	0,04	-0,14	-0,12

* $|r| \geq 0,40$; $P < 0,05$; ** $|r| \geq 0,51$; $P < 0,01$

REMERCIEMENTS

L'expérimentation a été réalisée avec des animaux élevés et sélectionnés dans l'Unité expérimentale du département de Génétique Animale à Bourges. Cette étude a bénéficié d'un soutien financier de l'ANR et d'APIS-GENE (pour le financement du projet MUGENE du programme AGENAE/GENANIMAL) ainsi que du Commissariat à l'Aménagement et au développement économique du Massif central. L'Inra remercie APIS-GENE et l'Institut de l'Élevage pour le cofinancement de la bourse de thèse et du salaire de Carine Bernard. Les auteurs remercient le personnel de l'unité 533 de l'Inserm de Nantes pour leur aide technique et leurs conseils en bioinformatique, Bruno Meunier et Pierrick Gautier pour leur participation aux analyses bioinformatiques ainsi que les membres de l'Unité de Recherches sur les Herbivores et de l'abattoir de Theix pour leur aide technique à ce travail.

B I B L I O G R A P H I E

BERNARD C., CASSAR-MALEK I., LE CUNFF M., DUBROEUCQ 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.

HOCQUETTE J-F., CASSAR-MALEK I., LISTRAT A., JURIE C., JAILLER R., PICARD B., 2005. Evolution des recherches sur le muscle des bovins et la qualité sensorielle de leur viande. I. Vers une meilleure connaissance de la biologie musculaire. *Cahiers Agric.*, Vol 14 (3), 283-289.

MILAN D., JEON J.T., LOOFT C., AMARGER V., ROBIC A., THELANDER M., ROGEL-GAILLARD C., PAUL S., IANNUCELLI N., RASK L., RONNE H., LUNDSTROM K., REINSCH N., GELLIN J., KALM E., ROY PL., CHARDON P., ANDERSSON L., 2000. A mutation in PRKAG3 associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle. *Science* 288, 1248-1251.

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(1), 44-58.

RENAND G., PICARD B., TOURAILLE C., BERGE P., LEPETIT J., 2001. Relationships between muscle characteristics and meat quality traits of young Charolais bulls. *Meat Sci.*, 59, 49-60.

ROBELIN J., GEAY Y., 1975. Estimation de la composition des carcasses de jeunes bovins à partir de la composition d'un morceau monocoostal prélevé au niveau de la 11ème côte. *Ann Zootech.*, 24, 391-402.

TUSHER V.G., TIBSHIRANI R., CHU G., 2001. Significance analysis of microarrays applied to the ionizing radiation response. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98, 5116-5121.