

**DES AVANCEES EN GENOMIQUE FONCTIONNELLE ET POSITIONNELLE CHEZ
LES BOVINS A VIANDE : PROGRAMMES EN COURS ET POTENTIALITES**
**HOCQUETTE J.F.¹, BOICHARD D.², CASSAR-MALEK I.¹, LAVILLE E.³, RENAND G.²,
LEVEZIEL H.⁴, PICARD B.¹**
¹ INRA, UR1213 Herbivores, Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle, France

² INRA, UR337, Station de Génétique Quantitative et Appliquée, 78350 Jouy-en-Josas, France

³ INRA, UR370, Qualité des Produits Animaux, Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle, France

⁴ INRA, Université de Limoges, UMR1061 Génétique Moléculaire Animale, 87000 Limoges, France

Introduction

Bien que nécessitant encore de nombreux développements méthodologiques, les approches de génomique représentent une véritable révolution qui confère une capacité d'investigation inégalée car elles permettent d'étudier la totalité du génome d'un individu ou d'analyser simultanément tous les produits d'expression de ses gènes. Ainsi, la génomique est porteuse de nombreux enjeux en raison de ses diverses applications dans les sciences de la vie, notamment en médecine. Les enjeux en élevage n'en sont pas moins importants que ce soit en génétique ou physiologie animales. La génomique ouvre de nouvelles perspectives pour de nombreux programmes sur le métabolisme, la santé, le bien-être des animaux ou la qualité des produits, en raison du très grand nombre de gènes, protéines ou métabolites analysés conjointement. Cette synthèse se propose de dresser un état des lieux des progrès réalisés dans le domaine de la production de viande bovine et de dégager les principales perspectives. D'une façon générale, les processus physiologiques dépendent le plus souvent de l'expression de nombreux gènes qui agissent en interaction. C'est particulièrement vrai dans le cas de la qualité de la viande, notamment sa tendreté dont le déterminisme est multifactoriel. En effet, la tendreté de base est liée aux caractéristiques du tissu conjonctif alors que la tendreté de la fraction myofibrillaire dépend des caractéristiques contractiles et métaboliques des fibres musculaires et des phénomènes de protéolyse qui surviennent au cours de la maturation. De nombreux facteurs liés à l'animal (âge, race, génotype, sexe) ou au mode d'élevage (vitesse de croissance, alimentation) ou encore les facteurs technologiques *post-mortem* induisent des modifications des caractéristiques du muscle et par conséquent des variations de tendreté et de qualité des viandes. Toutefois, moins d'un tiers de la variabilité des qualités sensorielles est expliqué par la variabilité des caractéristiques musculaires de l'animal vivant (Renand et al., 2001). L'identification de nouveaux indicateurs biologiques par les techniques de génomique ainsi que leur régulation par les facteurs d'élevage constituent donc une priorité de recherche pour maîtriser la qualité de la viande. En génétique animale, l'objectif est de disposer d'un ensemble de marqueurs pour améliorer la sélection d'animaux ayant le potentiel de produire une viande de qualité élevée et constante.

I - Une meilleure connaissance des génomes
Les avancées récentes de la connaissance du génome bovin

Le génome bovin, comme celui de tous les mammifères, est de grande taille, 2 fois 3 milliards de paires de bases nucléotidiques, répartis sur 30 paires de chromosomes. Cette très grande taille a longtemps dissuadé la communauté scientifique d'espérer disposer de données complètes de séquence. En effet, le séquençage est resté longtemps l'apanage de génomes de petite taille et le coût énorme du séquençage du génome humain rendait inenvisageable la réalisation d'un travail identique chez le bovin. Du début des années 90 jusqu'au début des années 2000, la stratégie utilisée pour caractériser le génome a reposé sur trois idées : i) la construction de cartes à des échelles de plus en plus résolutive, permettant de se repérer sur le génome; ii) la construction de cartes comparées entre espèces, tirant parti de la conservation des génomes entre espèces et permettant ainsi d'inférer précisément la structure du génome bovin à partir de l'information sur d'autres génomes, en particulier ceux mieux connus de la souris et de l'homme; iii), le séquençage ciblé sur des zones d'intérêt, en particulier les gènes exprimés.

Cette période a ainsi vu le développement de milliers de marqueurs génétiques, principalement de type microsatellite, permettant de construire des cartes génétiques ; de cartes d'irradiation (RH), une technologie permettant de cartographier des séquences les unes par rapport aux autres de façon efficace, peu coûteuse et très résolutive ; la construction de banques de fragments d'ADN de taille variable, jusqu'à 200 kb, permettant d'étudier une grande région en tant que telle, en particulier par séquençage ; puis de cartes physiques, en positionnant les uns par rapport aux autres plusieurs dizaines de milliers de fragments du génome de 100 à 200 kb, de façon chevauchante et couvrant ainsi tout le génome (Schibler et al, 2004 ; Snelling et al, 2007). D'un point de vue comparatif, les analyses de peinture chromosomique vers les années 1995 donnaient déjà une bonne image macroscopique des synténies entre espèces. La résolution a été considérablement améliorée par les cartes d'irradiation qui ont permis de positionner plusieurs milliers de gènes entre eux dans différentes espèces (voir par exemple Gautier et al, 2003). Au début des années 2000, tous ces outils étaient disponibles et permettaient de rechercher les gènes responsables de la variabilité des caractères, avec l'approche génétique classique suivante : 1) recherche d'une association entre des marqueurs génétiques et le phénotype

dans un dispositif expérimental adapté ; 2) développement de marqueurs complémentaires dans la région et cartographie fine des gènes recherchés ; 3) recherche des gènes candidats dans la région, par analyse comparée entre espèces.

La disponibilité de larges ressources de séquençage, la mobilisation de crédits importants, et surtout la diminution drastique du coût du séquençage a permis d'envisager le lancement de programmes de séquençage de génomes complets pour un nombre croissant d'espèces. Par sa forte communauté scientifique internationale compétente et impliquée et du fait de l'existence d'excellents outils préparatoires (en particulier cartes physiques et RH), le génome bovin a été l'un des premiers grands génomes d'animal domestique à être séquencé, après le poulet et le chien. Le financement a été en grande partie américain (NIH, Etat du Texas, USDA). Une première séquence a été diffusée durant l'été 2006 par le Baylor College of Medicine de Houston. Par la suite, la profondeur de séquençage (c'est-à-dire le rapport entre le nombre de bases séquencées et le nombre de bases du génome) a été augmentée pour dépasser 7X (ce qui signifie qu'en moyenne une séquence particulière est présente 7 fois dans la base de données). Par ailleurs, la qualité de l'assemblage s'est progressivement améliorée, de sorte que les versions suivantes du génome ont été de qualité croissante. A ce jour, la qualité de séquence est assez bonne, même s'il subsiste encore de nombreux trous et erreurs d'assemblage. L'arrivée de cet outil extraordinaire modifie profondément les méthodes de travail, fournit d'emblée des informations qu'il fallait laborieusement générer auparavant et fait donc gagner beaucoup de temps et d'efforts. Elle permet également des analyses bioinformatiques très fouillées de la structure du génome, seul ou en comparaison avec d'autres espèces, et permet souvent de découvrir des phénomènes jusqu'alors inconnus.

Le séquençage du génome d'une espèce comprend généralement le séquençage profond d'un individu de référence (en l'occurrence une femelle de race Hereford) mais aussi le séquençage partiel d'autres individus. La comparaison de ces séquences avec l'individu de référence donne accès à une variabilité de séquence et donc à un grand nombre de polymorphismes. Cette démarche a été utilisée chez les bovins : la base de données dbSNP rassemble une grande partie des SNP détectés, environ 2,2 millions aujourd'hui. De plus, plusieurs dizaines de milliers de ces SNP ont été validés par génotypage sur un panel de référence, afin de vérifier leur existence réelle et d'estimer les fréquences alléliques dans différentes populations. Plus récemment, tirant parti des énormes potentialités et du faible coût de séquençage de la méthode Solexa, un consortium a développé et validé de nouveaux marqueurs SNP (Van Tassell et al., 2008).

En parallèle se sont développées différentes technologies de génotypage. Celles disponibles actuellement, développées par Illumina et Affymetrix, s'apparentent beaucoup dans leur concept aux puces d'expression. Ces puces permettent de génotyper plusieurs dizaines de milliers (chez l'homme des centaines de milliers) de polymorphismes simultanément. La première puce disponible pour le bovin dès 2004, développée par Affymetrix, permettait de génotyper 10 000 SNP. La puce Illumina disponible en 2008 permet de génotyper 54 000 SNP à un coût moindre. Cette puce est actuellement l'outil standard sur le marché et elle est utilisée par la majorité des généticiens bovins de par le monde. Elle ouvre des perspectives considérables en génétique, par exemple pour la localisation fine de gènes d'intérêt, la sélection assistée par marqueurs ou la sélection génomique, l'analyse de la structure des populations ou l'analyse de la diversité.

La recherche de marqueurs génétiques utilisables en sélection

Depuis l'apparition des premières cartes génétiques (début des années 1990) jusqu'à l'incorporation d'informations moléculaires dans les programmes de sélection (début des années 2000), les avancées sur la connaissance du génome bovin ont été mises à profit avec efficacité pour l'amélioration des populations laitières. Ces démarches n'ont pas pu être entreprises aussi aisément pour la production de viande car il est plus difficile de disposer des structures familiales appropriées, du fait d'une moindre utilisation de l'insémination artificielle, et aussi parce que le recueil de performances n'est pas systématique, voire pratiquement absent pour les qualités des viandes. En conséquence, toute perspective d'identification de gènes et de polymorphismes d'intérêt pouvant à terme fournir les outils moléculaires venant appuyer les programmes de sélection passe par la mise en place de protocoles expérimentaux spécifiques.

En Europe, plusieurs équipes dont celles de l'INRA ont proposé en 1999 un projet européen qui consistait en une démarche exploratoire, reposant sur une approche gènes candidats et visant à identifier des gènes et polymorphismes contrôlant une partie de la variabilité des caractéristiques de qualité des viandes. Le programme GeMQual (Genetics of Meat Quality) a ainsi été mis en place en 2001. D'une part, des lots de 30 taurillons non apparentés et représentatifs de chacune des 15 races étudiées ont été engraisés afin de collecter des mesures phénotypiques relatives aux qualités des carcasses et des viandes. D'autre part, la mise en évidence de SNP dans ou à proximité de gènes choisis sur la base des connaissances de leur fonction physiologique a été entreprise. Au final, la recherche d'associations entre les polymorphismes et les performances phénotypiques a porté sur 372 SNPs (répartis dans 155 gènes), 972 animaux (434 taurillons + 538 parents) et 107 phénotypes. Diverses méthodes statistiques ont conduit au repérage de 149 associations significatives qui impliquent 33 gènes, situés sur 17 chromosomes, et 87 SNPs différents. Le nombre d'associations par gène varie de 1 à 19, une dizaine de gènes donnant lieu à la majorité (110) d'entre elles ; le nombre d'associations par SNP variant de 1 à 12. La majorité des associations se rapporte à la composition en acides gras des viandes (64), aux qualités sensorielles (32) ou à la tendreté (21). Quelques associations se rapportent à la croissance (13) ou à la couleur des viandes (8). Le dépouillement de cette masse d'informations, notamment l'analyse des données prenant en compte les haplotypes, n'est pas encore terminé. Toutefois, à l'issue de ce programme qui a mobilisé globalement une trentaine de scientifiques, plusieurs remarques générales peuvent être faites : (i) Les résultats montrent qu'il existe une variabilité importante des phénotypes mesurés, entre races et surtout entre animaux intra race. En particulier pour les caractéristiques peu ou pas soumises à sélection (adiposité des animaux, composition des lipides, tendreté). Le classement des animaux et des races varie selon les critères. Des marges d'amélioration sont donc possibles, soit par

croisement entre races, soit par sélection intra race. (ii) La recherche de marqueurs génétiques utilisables en sélection est un processus long et délicat : les premiers résultats obtenus par le programme GeMQual sont moins nombreux qu'espérés et cela s'explique sans doute non seulement par les effectifs examinés mais surtout parce qu'il n'est pas évident que les combinaisons alléliques soient les mêmes dans toutes les races. Après avoir repéré quelques pistes d'intérêt, l'identification des mutations directement responsables des phénotypes, dites mutations causales, nécessitera encore des investigations approfondies. Les situations les plus pertinentes à explorer devront de toute façon être validées, comme toute autre situation repérée dans les programmes qui constituent de premiers "cribles" du génome.

De nombreux autres programmes ont été conduits pour mieux connaître le déterminisme génétique de la qualité des viandes bovines et tenter d'identifier des outils moléculaires pour la sélection (revue de Renand et al., 2003). Les plus fortes mobilisations eurent lieu dès les années 90 aux USA et en Australie, mais des projets au Canada, en Nouvelle Zélande, et plus récemment en Allemagne ou en Ecosse peuvent être mentionnés. Ils reposaient tous sur des protocoles de croisement, et de ce fait la transposition des résultats obtenus (publiés ou non), ne pouvait s'appliquer directement dans nos races. De plus, le fait d'avoir des protocoles conduits dans conditions souvent éloignées (mode d'élevage, races étudiées, et caractéristiques de cuisson lors des analyses sensorielles) de celles rencontrées en France accentue encore le besoin de validation de ces résultats pour savoir s'ils sont réellement exploitables en sélection.

D'ailleurs, de tels programmes de validation intra race ont été mis en place en Australie (Cooperative Research Centre for the Cattle and Beef Industry) et aux Etats Unis (Carcass Merit Project). Ils ont porté à chaque fois sur plus de 7000 animaux mais de fait ont concerné un nombre limité de marqueurs ou de régions du génome. Des publications, voire même des dépôts de brevets, sont issus de ces travaux, et des tests génétiques ont été commercialisés à l'étranger pour certains marqueurs réputés améliorer le persillé ou la tendreté de la viande bovine (revue de Hocquette et al., 2007b).

En France, le programme QUALVIGENE, porté par l'UNCEIA, financé par le Ministère de la recherche (ANR), APIS-GENE, le FNE et l'Office de l'Elevage, et mis en place en 2003, a pour premier objectif de valider dans les principales races à viande françaises la pertinence de tout test ADN visant à améliorer la qualité des viandes bovines. QUALVIGENE s'appuie sur 3 349 taurillons, issus de 114 pères, engraisés puis abattus dans des conditions contrôlées en races Blonde d'Aquitaine, Charolaise, et Limousine. Ce programme a mobilisé 24 partenaires de la profession, de l'Institut de l'élevage ou de l'Inra. Au total, 98 phénotypes concernant les aptitudes bouchères, les caractéristiques musculaires et les mesures de qualité de la viande ont été collectés, l'ensemble des informations étant réuni dans une base de données consolidée fin 2007. L'analyse de la variabilité de ces données a permis d'estimer, pour la première fois en France, les paramètres génétiques des qualités de la viande bovine mettant en évidence dans nos races l'existence d'une variabilité génétique non négligeable (Renand et al., 2006b, 2007). Les ADNs des taurillons et de leurs parents disponibles (6150 individus au total) ont été génotypés dans un premier temps pour 48 marqueurs (27 SNPs et 21 microsatellites) correspondant à 12 gènes et 1 région chromosomique répartis sur 9 chromosomes. Pour la tendreté, ont été considérés les gènes *CAPNI*, *CAST* et *LOX*, et pour le persillé les gènes *DGATI*, *FABP4*, *LEP*, *RORC* et *TG*, ainsi qu'une région du chromosome 5 (BTA5). Pour la croissance musculaire, ce sont les gènes *GDF8*, *IGF1*, *MYF5* et *POMC*. Les données sont en cours d'analyse, mais l'existence d'un polymorphisme consistant est confirmée pour ces marqueurs dans les 3 races. Il apparaît ainsi que l'utilisation de 4 SNPs pour un gène donné permet d'atteindre un taux d'hétérozygotie chez les pères supérieur à 80 %. Il doit être noté qu'au moins un marqueur du gène *CAST*, cité dans un brevet australien, ne révèle aucun polymorphisme dans nos races, ce qui confirme l'obligation de faire des validations dans nos populations. Les données sont en cours d'analyse. Des résultats préliminaires confirment les effets favorables de la mutation Q204X du gène *GDF8* sur les caractéristiques musculaires en Charolais (Renand et al., 2006a), tandis que l'implication des gènes *DGATI* et *TG* dans la détermination du taux de lipides intramusculaires n'est pas vérifiée (Renand et al., 2007) alors que ces gènes ont été brevetés par des équipes étrangères.

Le programme QUALVIGENE a aussi permis, pour la première fois en France, d'entreprendre une détection de QTL des qualités des carcasses et de la viande grâce au génotypage de 147 marqueurs microsatellites, constituant un criblage du génome complet (genome scan), dans les 6 familles comportant les effectifs les plus importants. Les résultats sont en cours de dépouillement. Mais d'ores et déjà, l'utilisation des nouveaux outils de génotypage aujourd'hui disponibles, dits "à haut débit" et permettant l'analyse en parallèle de 54 000 SNPs, devrait permettre de grandement améliorer notre puissance de détection tout en gagnant en précision sur la localisation des QTLs. Actuellement, les réflexions théoriques portent sur la définition de la meilleure stratégie à employer afin d'optimiser l'efficacité et le coût des investigations.

Si les marqueurs génétiques constituent la forme d'outils appropriée à la sélection, leur détection demeure difficile et il ne sera sans doute pas toujours possible de "disséquer" pleinement le déterminisme génétique des caractères considérés. Alors, la puissance des méthodologies de la génomique offre l'espoir de détecter des marqueurs "biologiques" qui pourraient être utilisés de manière combinée et complémentaire. Reposant sur le recueil de phénotypes de plus en plus finement décrits, ils serviraient d'outils de prédiction d'une performance (comme la tendreté de la viande) et seraient par exemple basés sur la mesure de l'expression de gènes au niveau des transcrits ou des protéines. C'est pourquoi de nombreux travaux de génomique fonctionnelle abordent l'étude du muscle et de ses caractéristiques biologiques.

II - Une meilleure compréhension de la biologie musculaire

Les approches de génomique fonctionnelle

La stratégie mise en œuvre est d'identifier les gènes ou les protéines différenciellement exprimés entre des animaux extrêmes sans connaissance *a priori* des processus impliqués. (revue de Cassar-Malek et al., 2008). Les différentes

études de transcriptomique réalisées chez le bovin ont suivi les évolutions technologiques des puces à ADN. Ainsi, des collections d'ADNc ont été préparées à partir des gènes exprimés dans le foie, l'intestin, l'embryon, l'endomètre, l'utérus, les ovaires, ou dans plusieurs tissus bovins mélangés dans le but de préparer des puces utilisables quel que soit le tissu. Des chercheurs coréens, australiens et français ont contribué à cet effort international en préparant des collections d'ADNc de muscles seuls ou mélangés avec des tissus adipeux pour maximiser la probabilité d'étudier des gènes impliqués dans le développement musculaire et l'accumulation de lipides dans la viande (revue de Hocquette et al., 2007b). Aujourd'hui, les équipes utilisent de plus en plus des microarrays dont la performance technique est supérieure. Ainsi, pour étudier le muscle de bovin, Bernard et al. (2007) ont utilisé des puces oligonucléotidiques de gènes musculaires humains et murins tandis que l'INRA (CRB Gadie) produit et distribue une puce de 22 000 oligonucléotides bovins issus de différentes origines. Différentes sociétés multinationales (ex : Affymetrix, Agilent) proposent des puces pan-génomiques pour les espèces d'intérêt domestiques dont le bovin.

Les protéines constituent le produit final de l'expression des gènes. Alors que les puces à ADN permettent potentiellement d'analyser l'expression de la quasi-totalité des gènes, les techniques de protéomique ne permettent que d'étudier les protéines les plus abondantes dans des conditions expérimentales précises. Pour remédier à ces problèmes, il est parfois nécessaire de travailler sur des fractions subcellulaires obtenues par des protocoles d'extraction différentiels (Laville et al., 2007) et/ou de répéter les expérimentations dans des conditions différentes de pH pour détecter plus de protéines (Chaze et al., 2008). Toutefois, l'étude du protéome est d'une extrême importance car la protéine peut être absente même quand le gène est présent. De plus, une protéine peut exister sous différentes "isoformes" que les puces à ADN ne peuvent généralement pas distinguer. Ces "isoformes" sont les produits de modifications post-traductionnelles ou peuvent résulter de l'épissage alternatif des ARNm. Une bonne illustration en est les isoformes de troponine T qui sont codées par 3 gènes différents caractéristiques des type cardiaque, lent et rapide et pour lesquelles 17 isoformes (6 lentes et 11 rapides) ont été révélées dans le muscle de bovin (Bouley et al., 2005).

Etude du développement musculaire

La myogenèse se produit au cours de plusieurs phases temporellement distinctes : la prolifération des cellules précurseurs (myoblastes) avant 180 jours de vie fœtale, la fusion des myoblastes en cellules différenciées multinucléées (myotubes) et la différenciation de ces cellules en fibres musculaires au cours du dernier tiers de gestation. L'analyse du transcriptome (Sudre et al., 2003) et du protéome (Chaze et al., 2008) chez les bovins a permis de caractériser certains profils d'expressions de gènes et de protéines régulés au cours du développement du tissu musculaire. Ainsi, Sudre et al (2003) ont confirmé l'importance physiologique du stade 180 jours p.c. comme transition ontogénique et la régulation de l'expression de nombreux gènes au cours de la période de différenciation. Cette étude a aussi permis l'identification des gènes (*Leu5*, *Trip15*, *Siat8*...) régulés pendant la myogenèse mais dont le rôle reste à élucider dans ce processus développemental. Par ailleurs, l'analyse du protéome du muscle *semitendinosus* (ST) a mis en évidence 248 protéines différenciellement exprimées au cours de la myogenèse. L'analyse en classification hiérarchique des trois premiers stades de gestation a révélé plusieurs clusters d'expression relatifs pour la plupart à la prolifération et la mort cellulaire (Chaze et al., 2008). Ces résultats suggèrent que la balance entre prolifération cellulaire et apoptose est primordiale pour le contrôle du nombre total de fibres musculaires. De plus, de nouveaux marqueurs potentiels spécifiques de la régulation du nombre total de fibres (protéines *WARS* et *DJI*) ou de la prolifération des différentes générations de myoblastes (*CLIC4* pour les myoblastes primaires, *HnRNPk* pour les myoblastes secondaires) ont été identifiés. Le dernier tiers de vie fœtale est surtout marqué par un nombre conséquent de changement d'isoformes des protéines contractiles et métaboliques (chaînes légères de myosine, troponine T lentes ou rapides ou encore les énoles alpha et bêta) (Chaze et al., 2008). Une cartographie protéique très riche du muscle ST a ainsi pu être établie au cours de la vie fœtale (Chaze et al., 2006) venant compléter la cartographie faite sur muscle adulte (Bouley et al., 2004a). Ces données de modifications du protéome musculaire de bovin au cours de la vie fœtale constituent une référence pour des études de la myogenèse dans d'autres types de bovins mais aussi dans d'autres d'espèces pour des études de biologie comparée.

Profil de l'expression des gènes et des protéines en fonction du potentiel de croissance musculaire

L'hypertrophie musculaire a un impact économique fort car elle permet d'accroître la production de viande. Chez le bovin, un développement musculaire important est parfois positivement lié à la tendreté de la viande mais pas à sa flaveur. En accord avec des études cellulaires précédentes, des analyses transcriptomiques réalisées sur les muscles *rectus abdominis* (oxydatif) et *semitendinosus* (glycolytique) de jeunes taureaux sélectionnés sur leur différence de potentiel de croissance musculaire montrent que la sélection sur la vitesse de croissance diminue l'activité oxydative des muscles. De même, certains gènes impliqués dans la structure musculaire ou la régulation cellulaire sont plus exprimés chez les taurillons à faible potentiel de croissance (Sudre et al., 2005). Plus récemment, une sur-expression de 2/3 des gènes de la glycolyse a été mise en évidence dans le muscle *longissimus thoracis* chez les taurillons à fort potentiel de croissance. De plus, le niveau d'expression de gènes (*FGF6*, *PLD2*) connus pour leur implication dans les phénomènes d'hypertrophie musculaire chez les rongeurs a été corrélé à l'augmentation de la masse musculaire des taurillons indépendamment de leur masse grasse. Enfin, il semblerait que les gènes dont l'expression est modifiée par la sélection génétique soient en majorité différents de ceux associés aux qualités sensorielles des viandes, suggérant que la sélection n'aurait pas de conséquence majeure sur les qualités de la viande issue des animaux étudiés (Bernard et al., 2008). Au

contraire, certaines protéines telles que les isoformes de Troponine T apparaissent comme de bons marqueurs de l'hypertrophie musculaire et de la tendreté de la viande, indiquant qu'il n'y a pas opposition entre l'augmentation de la masse musculaire et l'amélioration de cette qualité sensorielle (Bouley et al., 2004b et 2005).

Des études ont aussi été entreprises chez les animaux dits « culards » caractérisés par une plus grande masse musculaire et une faible teneur en gras dans la carcasse et dans le muscle en raison de mutations du gène de la myostatine. La myostatine est un régulateur négatif de la croissance des muscles. Ainsi, tout mécanisme visant à réduire ou supprimer son action induit une forte croissance musculaire. Après la description de la mutation en race Blanc Bleu Belge (Grobet et al, 1997), plusieurs mutations ont été décrites dans différentes races. A chaque fois, la mutation rend le gène inactif et les animaux sont culards (Grobet et al, 1998). Une comparaison du transcriptome musculaire d'animaux culards ou non culards a souligné l'importance de gènes impliqués notamment dans le tissu conjonctif et dans le métabolisme énergétique et lipidique du muscle (Cassar-Malek et al., 2007) et dans les processus d'apoptose (Chelh et al., 2008).

Chez le mouton Texel également « hypermusclé », certains types de muscles comme le *vastus medialis* n'expriment pas d'hypertrophie. L'analyse protéomique de 4 types de muscles a montré que l'augmentation de la masse musculaire s'accompagne d'une plus grande expression d'enzymes du métabolisme énergétique, de protéines régulatrices du stress oxydant et de la transferrine, un indicateur d'hypoxie. La protéine alpha-1-antitrypsine est la seule qui soit différentielle entre les deux haplotypes (culard et non culard) quel que soit le type de muscle (Hamelin et al., 2006). Le gène responsable du caractère « hypermusclé » du mouton Texel est encore la myostatine. L'Université de Liège et l'INRA ont identifié la mutation responsable de ce caractère. Cette mutation perturbe la fabrication de la protéine myostatine en créant un site cible illégitime pour des microARNs sur les ARNs transcrits entraînant leur dégradation. Le gène de la myostatine s'exprime donc bien mais les ARN sont dégradés et la protéine myostatine ne peut donc pas être synthétisée normalement, ce qui entraîne l'hypertrophie musculaire observée (Clop et al., 2006). Cette étude a donc révélé un type de régulation génétique aux conséquences phénotypiques majeures. En fait, ce mécanisme est un exemple d'un processus cellulaire général appelé 'RNA interference'. Il s'agit notamment d'un mécanisme de défense naturel de la cellule face à une infection virale : la dégradation dans la cellule du (ou des) ARN du virus bloque la propagation de l'agent infectieux. La manipulation *in vivo* de ce processus cellulaire se développe de façon très active aux Etats-Unis comme une stratégie simple et rapide pour découvrir de nouvelles cibles pharmacologiques au niveau de gènes responsables de certaines pathologies. Certains auteurs prédisent que l'inactivation expérimentale de gènes en laboratoire par ce mécanisme permettra d'étudier chez les bovins la fonction biologique des gènes identifiés par les approches de génomique fonctionnelle (Sellner et al., 2007).

Mise en évidence de nouveaux marqueurs de la qualité de la viande

Il est bien connu que le principal facteur de variation de la tendreté de la viande bovine est le type de muscle plus que la race ou le type d'animal. Des études transcriptomiques sur les différences entre deux types de muscles de bovins ont mis en évidence quelques gènes d'intérêt pour la biologie du muscle, certains étant liés aux propriétés contractiles ou métaboliques du muscle. Les différences entre les types musculaires semblent dépendre du stade de développement (Sudre et al., 2003) et du type génétique des animaux (Sudre et al., 2005).

Certains acteurs de l'industrie de la viande bovine recherchent les gènes qui identifieraient les animaux ayant un fort potentiel à accumuler de la graisse intramusculaire afin de produire une viande persillée. C'est ainsi que des résultats japonais et australiens sur les races « Noire japonaise » et « Holstein » ont mis en évidence des gènes associés au persillé de la viande (Wang et al., 2005), l'un d'entre eux (*A-FABP*) étant aussi identifié en France (Jurie et al., 2007). Ces résultats peuvent aider à la mise en œuvre de stratégies de production en vue de maîtriser le développement adipeux intramusculaire aux différentes étapes de la croissance des animaux.

L'objectif du programme MUGENE (financé par l'ANR et APIS-GENE) est d'identifier de nouveaux marqueurs des qualités sensorielles de la viande bovine par des approches de génomique (Hocquette et al., 2007a). Le niveau d'expression d'un grand nombre de gènes et de protéines a été analysé dans le muscle *longissimus thoracis* ainsi que les caractéristiques biochimiques de ce muscle issu de taurillons Charolais. Les transcriptomes et les protéomes des muscles ont été comparés sur la base des qualités sensorielles et de la force de cisaillement de la viande cuite au grill (55°C). Parmi les marqueurs identifiés, certains indicateurs du métabolisme oxydatif ou du métabolisme des acides gras dans les muscles semblent associés à une meilleure saveur (cytochrome-c oxydase, PRKAG1) ou à une meilleure tendreté (citrate synthase, apoBEC, apolipoprotéine, isoforme lente de la chaîne lourde de myosine, et chaîne bêta de l'ATP synthase) de la viande. Un résultat majeur est l'identification d'une relation négative entre l'expression du gène *DNAJ1* et la tendreté sensorielle de la viande après 14 jours de maturation à la fois chez les taurillons étudiés mais aussi chez des bœufs de race Charolaise (Bernard et al. 2007). Ce gène code pour une protéine chaperone de la famille des « heat shock » protéines (hsp40). Le niveau d'expression d'autres protéines de stress (notamment *HSPB1* codant pour l'Hsp27) est positivement corrélé à la force de cisaillement que ce soit au niveau des ARNm ou des protéines. Ces protéines ont une activité anti-apoptotique et pourraient ainsi ralentir le processus de mort cellulaire et par suite la maturation de la viande, obérant alors l'attendrissement du muscle après l'abattage.

En accord avec ces résultats, Morzel et al. (2008) ont montré avec le muscle *Semitendinosus* de taurillons Blonds d'Aquitaine que l'abondance de la succinate déshydrogénase (SDH, enzyme du métabolisme oxydatif) apparaît comme le meilleur prédicteur de la tendreté initiale et globale de la viande expliquant respectivement 66% et 58% de leur variabilité. De plus, les teneurs en HSP27 dans le muscle frais et des fragments de cette protéine dans le muscle au cours de la maturation, expliquent jusqu'à 91% de la variabilité de la tendreté sensorielle (Morzel et al., 2008).

Toutefois, une étude réalisée sur plusieurs races bovines à viande (Charolaise et Limousine) et rustique (Salers) a montré que les marqueurs potentiels de la tendreté semblent différents entre races. En effet, des différences d'expression pour plusieurs protéines (parvalbumine, *MLC2*, *ACBP*) ayant un lien avec le métabolisme du calcium, ont été retrouvées entre groupes de tendreté pour les deux races à viande mais pas en race Salers (Bouley et al., 2004b).

L'analyse protéomique est aussi utilisée pour suivre les modifications des protéines au cours de la maturation de la viande (Bendixen et al., 2005). Ce sont les Hsp et les enzymes des métabolismes énergétique et protéique dont le niveau d'expression est le plus affecté au cours des 24 premières heures qui suivent l'abattage chez le bovin (Jia et al., 2007). D'autres études ont apporté des éléments de compréhension pour certains problèmes de qualité de viande telle que la viande PSE (Laville et al., 2005) ou la viande de porc à coupe sombre ou claire (Sayd et al., 2006).

Génomique, élevage et nutrition

Dans le cadre de la durabilité des systèmes d'élevage, contrôler les performances zootechniques des animaux constitue un enjeu économique majeur. Dans ce contexte, les techniques de génomique permettent un autre regard sur les liens moléculaires entre la nutrition et la physiologie et notamment sur les interactions entre gènes et nutriments. Une étude australienne a mis en évidence qu'après 114 jours de sous-nutrition, de nombreux gènes correspondant à des protéines de structure ou de la matrice extracellulaire ou encore à des enzymes du métabolisme énergétique sont sous-exprimés indiquant une atrophie relative des fibres musculaires rapides glycolytiques (Lehnert et al., 2006). Des bœufs conduits au pâturage ont des muscles plus oxydatifs que des bœufs recevant de l'ensilage de maïs à l'auge. Une analyse transcriptomique dans les muscles de ces animaux (revue de Cassar-Malek et al., 2008) a révélé une expression différentielle du gène de la sélénoprotéine W (anti-oxydant) sous exprimée chez les animaux conduits au pâturage. Une analyse complémentaire a précisé que la différence d'expression est liée au régime et non pas au déplacement des animaux. La sélénoprotéine constituerait donc un indicateur potentiel de la conduite des animaux au pâturage.

III Applications potentielles des résultats et des travaux de génomique

Amélioration de la sélection: la SAM et la sélection génomique

La connaissance des gènes responsables de la variabilité génétique des caractères d'intérêt, ou tout au moins de leur position, permet d'opérer une sélection sur la base de l'information de polymorphisme disponible. Ainsi, si une mutation causale est connue, la sélection des reproducteurs sur la base des allèles favorables induit un progrès génétique sur le caractère considéré. Dans une certaine mesure, cette sélection s'affranchit de la connaissance du phénotype mesuré sur le candidat à la sélection ou ses descendants, même si très généralement, une information phénotypique sur la population reste essentielle. L'intérêt de cette sélection sur la base de l'information moléculaire est d'autant plus important que le phénotype est coûteux ou tardif à obtenir, voire non mesurable sur l'animal vivant ou incompatible avec le statut de reproducteur, ou peu informatif comme pour les caractères peu héréditaires. Elle est donc cruciale pour la qualité de la viande, dont la mesure précise est complexe et nécessite l'abattage de l'animal.

Même lorsque la mutation causale n'est pas identifiée, la sélection sur des marqueurs proches peut conduire au même résultat. On appelle marqueur tout polymorphisme génétique situé à proximité de la mutation causale sur le génome et tendant donc à être transmise avec elle entre parent et descendant. La disponibilité d'un très grand nombre de marqueurs SNP couvrant tout le génome permet, avec des dispositifs adaptés et de grande taille, de localiser très précisément les gènes d'intérêt et déterminer des combinaisons d'allèles marqueurs associés aux allèles favorables de ces gènes. Sélectionner sur ces combinaisons de marqueurs conduit alors au même résultat que de sélectionner directement sur l'allèle favorable. On parle alors de sélection assistée par marqueurs (SAM). L'efficacité et la généralité de cette approche dépendent de nombreux facteurs. Le principal est la stabilité de l'association marqueurs-gène d'intérêt (ou QTL) entre la population de référence dans laquelle cette association est mise en évidence et la population soumise à la sélection. Si l'efficacité intra race ne pose généralement pas de problème dès lors que les marqueurs sont suffisamment proches du QTL, la généralisation des résultats à différentes races peut s'avérer difficile, nécessitant alors l'utilisation de populations de référence spécifique de chaque race. Une population de référence est constituée d'un grand nombre d'individus, généralement avec une structure familiale définie, caractérisés à la fois d'un point de vue marqueurs et d'un point de vue phénotypique. Elle est très coûteuse à obtenir, même si potentiellement elle réduit le coût de la sélection ensuite. Les projets MUGENE ou QUALVIGENE constituent des populations de référence de ce type.

La SAM est d'autant plus efficace qu'elle repose sur l'utilisation de QTL expliquant la majeure partie de la variabilité génétique. Il n'en demeure pas moins que la variabilité dite « polygénique » due à un grand nombre de gènes expliquant chacun un petit effet n'est pas prise en compte par les programmes de type SAM. Pour contourner cet écueil, on a l'habitude de combiner toute l'information disponible, phénotypique, généalogique et moléculaire dans un modèle intégrant des gènes individualisés mais aussi une composante polygénique.

Une approche nouvelle, dite "sélection génomique" (Meuwissen et al, 2001) se développe actuellement, surtout chez les bovins laitiers. Elle utilise l'ensemble de l'information des marqueurs de tout le génome pour prédire statistiquement la valeur génétique globale. Elle ne fait référence à aucune connaissance sur des QTL individuels mais cherche à prédire la valeur génétique à partir d'un modèle « boîte noire », comme le faisait le modèle polygénique classique à partir des performances et des généalogies. Le modèle de prédiction est construit à partir d'une grande population de référence (phénotypée et génotypée) à partir de laquelle on déduit une formule que l'on applique aux candidats génotypés. Bien

qu'il soit encore trop tôt pour conclure sur son efficacité, la sélection génomique se développe très rapidement du fait de son coût réduit en comparaison des méthodes classiques de contrôle sur descendance et de la précision importante qu'elle semble apporter, au moins à la première génération. Tous les résultats montrent cependant qu'un contrôle de performances reste essentiel car la qualité de la prédiction décroît rapidement avec le nombre de générations et la formule de prédiction doit constamment être remise à jour à partir de phénotypes récents.

Vers une meilleure description des phénotypes ?

Les techniques de génomique se sont considérablement développées générant des quantités croissantes de données qu'il faut maintenant stocker et interpréter par association avec des données phénotypiques.

Le premier problème qui se pose est donc la création et la gestion de bases de données. La difficulté est plus importante pour les données phénotypiques paradoxalement moins nombreuses mais plus diverses que les données moléculaires. Les chercheurs ont donc besoin aujourd'hui de référentiels de mesures relatives à la qualité des muscles et des viandes avec des méthodes standardisées et reproductibles. Ce style de démarche a été initié en Australie dans le cadre de la base de données du « Meat Standards Australia » qui est un modèle de prédiction de la qualité de la viande bovine. Une démarche plus modeste a été plus récemment engagée en France (projet BIF-BEEF).

Le second problème est la nécessité d'un système d'ontologie. Une démarche internationale intitulée « Animal Trait Ontology » a été initiée en ce sens. L'un de ses objectifs est de faciliter les comparaisons d'information entre les espèces dont les modèles de laboratoire et les espèces agronomiques.

Le troisième problème est de caractériser les phénotypes rapidement à moindre coût et de façon standard afin de tirer partie du flux croissant de données de génomique. Il s'agit du phénotypage à haut débit en cours de développement chez la souris. Toutefois, l'appréciation des différents critères de la qualité de la viande (que ce soit par analyse sensorielle, mesure mécanique, composition en acides gras ou autre) restera complexe, laborieuse et onéreuse. En l'absence de phénotypes faciles à acquérir, la mise au point d'outils de génomique fonctionnelle à haut débit de routine peut considérablement aider à caractériser le muscle ou la viande. Ainsi, dans le cadre du projet GENOTEND, une puce à ADN est en cours de conception avec la plupart des gènes connus pour avoir un effet sur les caractéristiques du muscle et la qualité de la viande, ces gènes étant issus d'études physiologiques classiques ou des travaux récents de génomique. Cet outil a deux applications potentielles : (i) pour le physiologiste, il permettra de mieux comprendre la variabilité biochimique des caractéristiques du muscle, (ii) pour le généticien, l'objectif est de relier la variabilité du génotype aux différences d'expression des gènes musculaires. A plus long terme, nous envisageons d'autres outils complémentaires de génomique à haut débit (puces à anticorps, spectrométrie de masse (LC/ESI-MS/MS), approches de métabolomique). A l'échelle de la recherche, les généticiens peuvent utiliser ces données d'expression comme de nouveaux phénotypes. Elles présentent des avantages déterminants dans l'identification des gènes et mutations en cause. De plus, elles orientent sur les voies métaboliques en cause et donc les gènes candidats. Elles permettent de discriminer entre des groupes de phénotypes similaires mais de déterminisme différent, un problème fréquemment rencontré en cartographie de QTL. Les données d'expression peuvent permettre de préciser le phénotype et de concentrer l'étude sur des groupes homogènes, dont la différence est liée uniquement au QTL recherché (Schadt et al, 2003). Enfin, elles peuvent améliorer la résolution de la cartographie des gènes qui dépend, entre autres, de la différence phénotypique entre génotypes (Ytournal et al, 2008). En effet, l'expression de certains gènes impliqués dans la construction de la différence phénotypique entre génotypes peut montrer des différences beaucoup plus marquées que l'écart macroscopique entre phénotypes classiques. Une fois les gènes et mutations correspondants identifiés, leur utilisation en sélection est simple. L'utilisation des données d'expression à différents niveaux (ARNm, protéines, métabolites) pourrait aussi aider à prédire le phénotype d'intérêt, par exemple pour la caractérisation du produit et son orientation sur un marché segmenté ou sa certification. D'autres auteurs (Kadarmideen et al., 2006) proposent d'utiliser les phénotypes d'expression directement en sélection, à la place ou en complément des informations phénotypiques classiques et de polymorphisme. Cette proposition peut apporter une réponse attractive lorsque le phénotype est difficile à mesurer ou peu informatif. Mais en pratique, elle doit surmonter les difficultés techniques importantes posées par la définition du tissu analysé (nature, stade physiologique), son accès sur l'animal vivant, la logistique de ce contrôle de performance et son coût. Toutes ces perspectives d'avenir s'appuient fortement sur des approches d'intégration (ou d'association de données) quel que soit le niveau : association SNP-phénotype ou SNP-expression, expression-biochimie du muscle, prédiction de la qualité de la viande, etc. Dans tous les cas, les notions de base de données, de population de référence, de référentiels de mesures et d'outils mathématiques ou statistiques seront au cœur de ces nouvelles voies de recherche.

Conclusion

Au vu des résultats décrits ci-dessus, il apparaît que les progrès en génomique notamment bovine ont été spectaculaires ces dernières années. Le séquençage du génome bovin ainsi que la commercialisation à des coûts raisonnables de puces à SNPs ou de puces d'expression à très haut débit constituent une véritable révolution à la fois pour les généticiens et les physiologistes. En génétique, les méthodes d'estimation de la valeur génétique, combinant généalogies, génotypes et phénotypes, doivent être revisitées et ces différentes méthodes doivent s'enrichir les unes les autres en exploitant au mieux les nouveaux outils en "omics" (transcriptomique, protéomique, métabolomique). En physiologie, les chercheurs ont jusqu'à présent surtout publié des listes de gènes musculaires régulés par les facteurs d'élevage ou associés à la qualité de la viande sans vue d'ensemble. Mais le grand défi actuel de la biologie est bien de rendre compte du

phénotype en termes d'interactions entre les protéines des systèmes vivants. Cette question est centrale pour la qualité de la viande (en particulier bovine) dont le déterminisme est vraiment multifactoriel. Les chercheurs australiens sont les plus avancés car ils ont développé le modèle de prédiction de la qualité de la viande (le "Meat Standards Australia") le plus complet à ce jour. Pour en améliorer sa pertinence, leur ambition est d'intégrer dans ce modèle les nouveaux marqueurs génétiques et génomiques en cours de validation. Cette vision intégrative est au cœur des enjeux d'aujourd'hui.

Références bibliographiques

- Bendixen E., 2005. *Meat Sci.*, 71, 138-149.
- Bernard C., Cassar-Malek I., Le Cunff M., Dubroeuq H., Renand G., Hocquette J.F., 2007. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 5229-5237.
- Bernard C., Cassar-Malek I., Renand G., Hocquette J.F., 2008. 59th EAAP Meeting, Vilnius, Poster 17 page 24.
- Bouley J., Chambon C., Picard B., 2004a. *Proteomics*, 4, 1811-1824.
- Bouley J., Meunier B., Chambon C., De Smet S., Hocquette J.F., Picard B., 2005. *Proteomics*, 5, 490-500.
- Bouley J., Meunier B., Culioli J., Picard B., 2004b. *Renc. Rech. Ruminants*, 11, 87-89.
- Cassar-Malek I., Picard B., Bernard C., Hocquette J.F., 2008. *Aust. J. Exp. Agr.*, 48, 701-710.
- Cassar-Malek I., Passelaigue F., Bernard C., Léger J., Hocquette J.F., 2007. *BMC Genomics*, 8, 63.
- Chaze T., Bouley J., Chambon C., Barboiron C., Picard B., 2006. *Proteomics*, 6, 2571-2575.
- Chaze T., Meunier B., Jurie C., Chambon C., Picard B., 2008, *Proteomics*, sous presse.
- Chelh I., Meunier B., Picard B., Reecy J., Chavalier C., Hocquette J.F., Cassar-Malek I. 2008. 3rd International Congress of Myology. May 26-30th, Marseille. PW5-061.
- Clop A., Marcq F., Takeda H., Pirottin D., Tobin J., Bibé B., Bouix J., Caiment F., Elsen J.M., Eychenne F., Larzul C., Laville E., Meish F., Milenkovic D., Tordoir X., Charlier C., Georges M., 2006. *Nat. Genet.*, 38, 813-818.
- Gautier M., Hayes H., Eggen A., 2003. *Mamm. Genome*, 14, 711-721.
- Grobet L., Poncelet D., Royo Martin L.J., Brouwers B., Pirottin D., Michaux C., Ménéssier F., Zanotti M., Dunner S., Georges M., 1998. *Mamm. Genome*, 9, 210-213.
- Grobet L., Royo Martin L.J., Poncelet D., Pirottin D., Brouwers B., Riquet J., Schoeberlein A., Dunner S., Ménéssier F., Massabanda J., Fries R., Hanset R., Georges M., 1997. *Nat. Genet.*, 17, 71-74.
- Hamelin M., Sayd T., Chambon C., Bouix J., Bibé B., Milenkovic D., Leveziel H., Georges M., Clop A., Marinova P., Laville E., 2006. *J. Anim. Sci.*, 84, 3266-3276.
- Hocquette J.F., Bernard C., Cassar-Malek I., Lepetit J., Micol D., Jurie C., Meunier B., Renand G., Picard B., 2007a. *Renc. Rech. Ruminants*, 14, 117-120.
- Hocquette J.F., Lehnert S., Barendse W., Cassar-Malek I., Picard B., 2007b. *Animal*, 1, 159-73.
- Jia X.H., Ekman M., Grove H., Faergestad E.M., Aass L., Hildrum K.I., Hollung K., 2007. *J. Proteome Res.*, 6, 2720-2731.
- Jurie C., Cassar-Malek I., Bonnet M., Leroux C., Bauchart D., Boulesteix P., Pethick D.W., Hocquette J.F., 2007. *J Anim Sci.*, 85, 2660-2669.
- Kadarmideen H.N., von Rohr P., Janss L.L.G., 2006. *Mamm. Genome*, 17, 548-564.
- Laville E., Sayd T., Santé-Lhoutellier V., Morzel M., Labas R., Franck M., Monin G., 2005. *Meat Sci.*, 70, 167-172.
- Laville E., Sayd T., Terlouw C., Chambon C., Damon M., Larzul C., Le Roy P., Glénisson J., Chérel P., 2007. *J. Agr.Food Chem.*, 55, 5834-5841.
- Lehnert S.A., Byrne K.A., Reverter A., Natrass G.S., Greenwood P.L., Wang Y.H., Hudson N.J., Harper G.S., 2006. *J. Anim. Sci.*, 84, 3239-3250.
- Meuwissen T.H.E., Hayes B.J., Goddard M.E., 2001. *Genetics*, 157, 1819-1829.
- Morzel M., Terlouw C., Chambon C., Micol D., Picard D., 2008. *Meat Sci.*, 78, 297-304.
- Renand G., Bonnot A., Levéziel H., Payet N., Malafosse A., Hocquette J.F., Lepetit J., Rousset S., Denoyelle C., Dodelin V., 2007. *Renc. Rech. Ruminants*, 14, 113-116.
- Renand G., Larzul C., Le Bihan-Duval E., Le Roy P., 2003. *INRA Prod. Anim.*, 16, 159-173.
- Renand G., Levéziel H., Payet N., Hocquette J.F., Lepetit J., Denoyelle C., Dodelin V., Malafosse A., 2006a. *Viandes Prod. Carnés*, Hors série, p.133-134.
- Renand G., Malafosse A., Ménéssier F., Levéziel H., Hocquette J.F., Lepetit J., Rousset S., Denoyelle C., Dodelin V., 2006b. 8th World Congr. Genet. Applied Livest. Prod., comm. N° 13-02.
- Renand G., Picard B., Touraille C., Berge P., Lepetit J., 2001. *Meat Sci.*, 59, 49-60.
- Sayd T., Morzel M., Chambon C., Franck M., Figwer P., Larzul C., Le Roy P., Monin G., Chérel P., Laville E., 2006. *J. Agr. Food Chem.*, 54, 2732-2737.
- Schadt E.E., Monks S.A., Drake T.A., Lusk A.J., Che N., Colinayo V., Ruff T.G., Milligan S.B., Lamb J.R., Cavet G., Linsley P.S., Mao M., Stoughton R.B., Friend S.H., 2003. *Nature*, 422, 297-302.
- Schibler L., Roig A., Mahe M.F., Save J.C., Gautier M., Taourit S., Boichard D., Eggen A., Cribiu E.P., 2004. *Genet. Sel. Evol.*, 36, 105-122.
- Sellner E.M., Kim J.W., McClure M.C., Taylor K.H., Schnabel R.D., Taylor J.F., 2007. *J. Anim. Sci.*, 85, 3148-3158. 2007.
- Snelling W.M., Chiu R., Schein J.E., Hobbs M., Abbey C.A., Adelson D.L., et al., 2007. *Genome Biol.*, 8, r165.
- Sudre K., Leroux C., Piétu G., Cassar-Malek I., Petit E., Listrat A., Auffray C., Picard B., Martin P., Hocquette J.F., 2003. *J. Biochem.*, 133, 745-756.
- Sudre K., Cassar-Malek I., Listrat A., Ueda Y., Leroux C., Jurie C., Auffray C., Renand G., Martin P., Hocquette J.F., 2005. *Meat Sci.*, 70, 267-277.
- Van Tassell C.P., Smith T.P.L., Matukumalli L.K., Taylor J.F., Schnabel R.D., Taylor Lawley C., Haudenschild C.D., Moore S.M., Warren W.C., Sonstegard T.S., 2008. *Nat. Methods*, 5, 247-252.
- Wang Y.H., Byrne K.A., Reverter A., Harper G.S., Taniguchi M., McWilliam S.M., Mannen H., Oyama K., Lehnert. S.A., 2005. *Mamm. Genome*, 16, 201-210.
- Ytournal F., Gilbert H., Boichard D., 2008. *INRA Prod. Anim.*, 21, 147-158.