

GENES BOVINS ET QUALITE DES VIANDES : PRESENTATION DU PROGRAMME EUROPEEN GEMQUAL

H. LEVEZIEL¹, V. AMARGER¹, D. DELOURME¹, R. JULIEN¹, G. RENAND², R. JAILLER³, J.F. HOCQUETTE³

¹Unité de Génétique Moléculaire Animale, UMR1061, INRA/Université de Limoges, Limoges ; ²Station de Génétique Quantitative et Appliquée, INRA, Jouy-en-Josas ; ³Unité de Recherches sur les Herbivores, INRA, Theix

Introduction

Le programme européen GemQual (**Genetics of meat Quality**) a pour objectif l'identification de gènes contrôlant une partie de la variabilité des caractéristiques de qualité des viandes bovines. Il est coordonné par John Williams (Roslin Institute, Edimbourg, Ecosse), regroupe 9 partenaires issus de 5 pays (Danemark, Espagne, France, Italie, Royaume Uni) et le site internet www.gemqual.org donne accès à l'ensemble des informations. Il repose d'une part sur l'élevage de lots d'animaux non apparentés, représentatifs des races à viande étudiées, et sur la collecte après leur abattage de données relatives aux qualités des carcasses et des viandes. Il repose d'autre part sur la mise en évidence et l'utilisation de polymorphismes de type mutations ponctuelles (appelés SNP pour « Single Nucleotide Polymorphism »), dans ou à proximité de gènes d'intérêt (aussi nommés gènes « candidats ») choisis sur la base des connaissances de leur fonction physiologique. Après analyse génétique (génotypage) des animaux pour les polymorphismes considérés, l'examen statistique des données visera à détecter l'existence de relations entre la présence de certains allèles et les caractéristiques phénotypiques mesurées (on parle d'associations dans ce type d'étude sur des populations).

Matériel et méthodes

Animaux : au total 16 races sont examinées, dont les races Charolaise et Limousine en France. Pour chaque race, 30 taurillons non apparentés ont été conduits dans des conditions aussi « standardisées » que possible. La période de finition est au moins de 4 mois avec un régime riche en céréales (contenant environ 80% d'orge) distribué à volonté. Ce régime de finition est peu utilisé en France. Les animaux sont abattus entre 13 et 17 mois à un poids correspondant à 90% du poids adulte de la femelle de la race (soit respectivement 630 et 570 kg pour les Charolais et Limousins).

Mesures : de nombreuses mesures sont réalisées par l'un ou l'autre des partenaires, soit au moment de l'abattage (pH, perte en eau), soit de manière différée sur des échantillons musculaires congelés (couleur, texture, analyse sensorielle, teneur en lipides, composition en acide gras, métabolisme du muscle, type de fibres, activité des protéases ...).

Choix des gènes : les gènes candidats étudiés sont retenus sur la base des connaissances biologiques disponibles et aussi en tenant compte des résultats de projets conduits selon d'autres approches (recherche de QTL, analyse du transcriptome) ou chez d'autres espèces de mammifères.

Recherche de polymorphismes SNP : pour chaque gène, une analyse bio-informatique est réalisée à partir des informations de séquences disponibles dans les bases de données, en particulier issues des programmes de séquençage systématique d'étiquettes bovines (ou ESTs pour « Expressed Sequences Tags ») ou du projet génome humain. Cette analyse conduit au choix de 2 à 4 paires d'amorces pour amplifier, par PCR et à partir d'ADN génomique, des fragments d'environ 200 à 400 paires de bases. Ces fragments sont analysés par électrophorèse SSCP (« Single Strand Conformation Polymorphism ») dans le but d'identifier des profils différents, parmi quelques échantillons issus des diverses races, et indiquant la possible existence de variation dans les séquences d'ADN. Les fragments ainsi repérés sont alors soumis à un séquençage afin de déterminer les mutations ponctuelles et donc les polymorphismes SNP.

Résultats

Le programme a débuté en février 2001 pour une durée de 56 mois. Les équipes se sont réunies à deux reprises, à Rome en septembre 2001 et à Theix en février 2002. Le tableau 1 précise la liste des 16 races étudiées et le calendrier prévisionnel d'abattage. Mis à part au Royaume-Uni, le recrutement des animaux s'est déroulé comme programmé et 195 des 480 individus ont été ou seront abattus en 2002.

Tableau 1 : Contribution des partenaires, races étudiées, dates prévisionnelles d'abattage et effectifs.

Pays	Races	Dates d'abattage	Effectif
Danemark.	Holstein, Red Cattle, Simmental	Oct-Nov 2002	45
		Oct-Nov 2003	45
Espagne	Asturiana de los Valles, Avileña , Casina, Pirenaica	Mai-Juin 2002	60
		Mai-Juin 2003	60
Italie	Marchigiana, Piemontesa	Juin-Juillet 2002	30
		Juin-Juillet 2003	30
France	Charolais, Limousin	Fév-Juin 2002	60
Royaume Uni	Aberdeen Angus, Hereford, Highland, Jersey, South Devon	2003	150

En France, tous les animaux ont été abattus, en 10 séries, entre février et juin 2002, et les prélèvements ont été réalisés selon un protocole commun élaboré par les partenaires dans le cadre du programme. A noter que l'abattage d'un animal

non expérimental a eu lieu début février, lors de la réunion GemQual à Theix, pour s'assurer en pratique de la faisabilité du protocole. Pour atteindre les objectifs annoncés en terme de poids, les taurillons Charolais et Limousins ont été abattus à 14 et 15 mois respectivement, ce qui est jeune pour ces deux races à viande de maturité physiologique tardive (Tableau 2), mais le régime de finition riche en énergie a permis d'atteindre un état d'engraissement correct. Les Charolais avaient des carcasses plus grasses et un rendement en carcasse plus faible que les Limousins. Par ailleurs, le pH du muscle *longissimus thoracis* était plus élevé à 3 h *post-mortem* chez les Charolais, mais plus faible à 24 h. Le pH ultime, mesuré à 48 h, et les pertes en eau pendant 48 h étaient similaires entre les deux races.

Tableau 2 : Caractéristiques des taurillons des races Charolaise et Limousine abattus à Theix (*** : P<0,001 ; ** : P<0,01).

Mesures	Charolais	Limousin
Vitesse de croissance (kg/j)	1.53 ± 0.244	1.46 ± 0.165
Age à l'abattage (mois)	15.1 ± 0.71	14.0 ± 0.75***
Poids vif à l'abattage (kg)	634 ± 40.0	565.4 ± 30.3***
Poids de carcasse chaude (kg)	380 ± 27.0	354 ± 20.3***
Rendement en carcasse (% ; Poids de carcasse / poids vif vide)	66.9 ± 1.36	68.6 ± 1.08***
Dépôt adipeux de la carcasse (% du poids vif vide)	14.4 ± 1.34	13.1 ± 1.87**
pH du muscle <i>longissimus thoracis</i> à 3 heures	6.56 ± 0.278	6.24 ± 0.249***
pH du muscle <i>longissimus thoracis</i> à 24 heures	5.57 ± 0.170	5.90 ± 0.233***
pH du muscle <i>longissimus thoracis</i> à 48 heures	5.55 ± 0.102	5.59 ± 0.176
Perte en eau en 48 h (%)	3.30 ± 1.233	3.58 ± 0.961

En plus de l'ADN génomique des taurillons, celui des parents a également été isolé afin de faciliter l'analyse génétique ultérieure. Une liste de gènes d'intérêt a été élaborée par les partenaires : elle comporte actuellement plus de 450 gènes retenus pour leur implication dans le développement, la différenciation et la croissance du muscle, dans le contrôle de sa composition, de sa texture et des métabolismes glucidiques ou lipidiques, et dans sa transformation en viande lors de la maturation. Cette liste est enrichie en permanence et servira à la sélection d'environ 300 gènes devant faire l'objet d'une recherche de polymorphismes. A ce jour, 194 d'entre eux ont été répartis entre les quatre laboratoires engagés dans l'identification de SNP. Le tableau 3 donne à titre d'exemple la situation pour quelques gènes étudiés à Limoges.

Tableau 3 : Caractéristiques moléculaires des gènes étudiés (amplifiés et de polymorphismes identifiés).

Gène	Séquence Humaine ^a	Structure humaine ^b	Séquences bovines ^c	Nombre de fragments amplifiés	Nombre de polymorphismes
CAST	NM_006936	36 exons	AF159246 + 18 EST	3	1
LPL	XM_044682	10 exons	M16966 + 10 EST	4	6
MC5R	NM_005913	1 exon	AJ002024	4	2
PAI-1	NM_000602	9 exons	X16383 + 9 EST	3	6
PRKAG3	NM_017431	13 exons	7 EST	5	7
RYR1	U48508	105 exons	6 EST	3	1

^a numéro d'accèsion de la séquence génomique humaine de référence ; ^b nombre d'exons chez l'homme ; ^c pour les séquences bovines, numéro d'accèsion de la séquence d'ADNc et/ou nombre d'EST, répertoriées dans Genbank.

Conclusion

Au cours de la première année, deux lots de 30 taurillons de race Charolaise et Limousine ont été élevés et abattus à Theix. Les partenaires ont élaboré un protocole détaillé pour les prélèvements et les méthodes de mesure et d'analyse. Ils ont défini une stratégie pour identifier des SNP et les travaux sont engagés à Limoges pour environ cinquante gènes. Les efforts durant les deux années à venir porteront essentiellement sur la recherche de polymorphismes. Ensuite, la détermination des génotypes de tous les animaux pour tous les SNP identifiés devra être réalisée. Enfin, l'analyse des associations possibles entre génotypes et performances sera conduite et elle devrait révéler des gènes dont l'étude plus approfondie sera à entreprendre. En définitive le programme GemQual assurera l'acquisition de données détaillées sur la qualité des viandes dans 16 races européennes et permettra d'identifier des polymorphismes pour plusieurs centaines de gènes d'intérêt. Par ailleurs, il peut être indiqué que ce programme se place en complète synergie avec d'autres projets en cours, consacrés, soit à l'analyse de la variabilité de l'expression des gènes dans diverses situations selon une approche de génomique fonctionnelle (comparaison de génotypes ou de régimes alimentaires), soit à l'analyse de la coségrégation des marqueurs génétiques et des performances dans des familles de taille importante selon une approche de détection de QTL (expérience du Vachotron).

Remerciements

Nous remercions (i) les personnes qui ont contribué à la constitution des lots d'animaux, (ii) l'équipe « Bovins en Croissance » de l'URH (Theix) qui a conduit leur élevage et réalisé les prélèvements de sang (H. Tournadre, S. Rudel, P. Faure). (iii) l'équipe de l'abattoir du Centre INRA de Clermont-Ferrand/Theix, (iv) Labogena (Y. Amigues ; Jouy-en-Josas) pour les extractions d'ADN, et (v) A. Delavaud (URH) pour les prélèvements et les mesures de pH et de perte en eau. Le programme GemQual bénéficie du soutien financier de l'Union Européenne (QLK5 CT 2000-147).