UNIVERSITÉ DE TOURS

ÉCOLE DOCTORALE SSBCV

Unité Mixte de Recherche Biologie des Oiseaux et Aviculture – Équipe Adaptation, Qualité et Sélection

THÈSE présentée par :

Frédéric HÉRAULT

soutenue le : **30 novembre 2021**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université de Tours**

Discipline/Spécialité : Sciences de la vie

Analyse du déterminisme génétique de la qualité de la viande de porc : une approche combinant génétique et génomique

THÈSE dirigée par :

Mme LE ROY Pascale	Directrice de Recherche, INRAE Centre Bretagne-Normandie
Mme LE BIHAN-DUVAL Élisabeth	Directrice de Recherche, INRAE Centre Val de Loire

RAPPORTEURS :

Mme LARZUL Catherine	Directrice de Recherche, INRAE Centre Occitanie-Toulouse
Mme GENIN Emmanuelle	Directrice de Recherche, INSERM UFR de médecine Brest

PRESIDENT du JURY :

M. MOREAU Thierry	Professeur, Université de Tours

JURY :

Mme CHARLIER Carole	Maître de Recherche FNRS, Université de Liège
Mme GENIN Emmanuelle	Directrice de Recherche, INSERM UFR de médecine Brest
Mme LARZUL Catherine	Directrice de Recherche, INRAE Centre Occitanie-Toulouse
Mme LE BIHAN-DUVAL Élisabeth	Directrice de Recherche, INRAE Centre Val de Loire
Mme LE ROY Pascale	Directrice de Recherche, INRAE Centre Bretagne-Normandie
M. FABRE Stéphane	Directeur de Recherche, INRAE Centre Occitanie-Toulouse
M. MONGET Philippe	Directeur de Recherche, INRAE Centre Val de Loire
M. MOREAU Thierry	Professeur, Université de Tours

INVITÉ :

M. CHEREL Pierre	Ingénieur de Recherche, INSERM SFR Necker Inserm US 24

Analyse du déterminisme génétique de la qualité de la viande de porc : une approche combinant génétique et génomique

Frédéric Hérault

2021

Des remerciements et des excuses !

Les remerciements ! C'est peut-être la partie la plus agréable et la plus difficile à écrire.

Avant toute chose, je tiens à remercier les membres du jury. Merci à **Catherine Larzul** et **Emmanuelle Genin** qui ont accepté d'être les rapportrices de cette thèse. Je remercie également **Carole Charlier**, **Stéphane Fabre**, **Philippe Monget** et **Thierry Moreau** d'avoir accepté d'examiner mon travail de thèse.

Merci également à l'école doctorale « Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant » d'avoir accepté mon inscription en thèse sur travaux, à **Cécile Berri** d'avoir accepté que je sois rattaché à l'Unité Mixte de Recherche Biologie des Oiseaux et Aviculture pour que je m'inscrive en thèse et à mes encadrants **Pascale Le Roy** et **Élisabeth Le Bihan-Duval**.

Je tiens à remercier l'INRA, le département de génétique animale et l'UMR GARen dont le directeur était **Christian Diot**, qui m'ont permis il y a maintenant 13 ans de reprendre mes études en master. Mon travail n'aurait pas eu cette saveur sans cette liberté qui m'a été donnée de reprendre un parcours universitaire pendant un an.

Merci également à **Pascale Le Roy** et **Marie Damon** qui m'ont accordé leur confiance, m'ont proposé un sujet de master et ont encadré et supporté un étudiant un peu plus âgé que la moyenne.

Après cette année de master, il m'était difficile d'envisager de m'arrêter là. J'ai eu la chance d'avoir autour de moi une équipe qui m'a soutenu dans mes ambitions et m'a permis de m'épanouir au travers des sujets que j'ai pu aborder. Je remercie donc encore Christian pour avoir consenti à faire évoluer mes missions du domaine technique à l'analyse de données génétiques et Pascale pour m'avoir guidé, accompagné et corrigé tout au long de mes travaux.

Un grand merci à **Florence Gondret** directrice de l'unité PEGASE qui m'a soutenu dans ce projet de thèse. Merci également à tous les membres présents et passés de l'UMR GARen devenue équipe GG (génétique et génomique) de l'UMR PEGASE. Je pense particulièrement à **Madeleine Douaire** qui m'a accueillie dans l'unité de génétique animale à Rennes en 1999. Et oui ça remonte au siècle dernier, c'est que je ne suis plus un perdreau de l'année ! Merci à **Sandrine Lagarrigue**, **Jean-Marc Fraslin**, **Frédéric Lecerf** et **Sophie Allais** les enseignants de l'équipe.

Merci à **Nicolas Bédère** pour les moments échangés et surtout pour ne pas avoir fui mon bureau comme de nombreux autre avant lui. Je commençais à me poser des questions...

Merci aux nombreux collègues et doctorants que j'ai croisés, pour les bons moments partagés et les nombreux fous rires. Vous êtes trop nombreux pour que je vous cite tous et puis j'en connais quelques-uns qui vont en profiter pour me dire que finalement ma formation à la communication bienveillante a porté ses fruits. Je m'en voudrais...

Merci aux deux Olivier, **Olivier Demeure** parti voir si l'herbe était plus verte ailleurs et **Olivier Filangi** informaticien vagabond et musicien ! Merci pour votre soutien, nos discussions et tous les moments partagés, passé et à venir. Merci les amis !

Je ne saurais finir sans remercier mes tout premiers collègues à Toulouse avec qui j'ai pris plaisir à découvrir le monde de la recherche et l'INRA. Merci à **Eric Oswald**, **Michèle Boury**, **Christian Diot**, **Sylvie Perès** et **Jean-Philippe Nougayrède**.

Enfin un grand merci à ceux qui partagent ma vie, pour avoir accepté toutes ces interruptions dans nos repas, nos soirées et mes réveils la nuit, parce que j'avais une phrase à écrire... Merci en particulier à mes enfants d'avoir supporté mes soirées à travailler lorsque j'étais en master ou sur ce document. J'ai compris Jaouen. Toi quand tu seras papa, tu ne reprendras pas tes études, tu t'occuperas de tes enfants !
Merci, à vous, même si vous êtes perdus pour la biologie :

- **Lénaïg** ! ! L'histoire ? Mais ce n'est intéressant que dans les livres, pas à la fac.
- **Jaouen** ! Socio et communication ? ! Tu ne trompes personne, tu as choisi une filière de glandeur !
- **Rozenn** ! Chimie : tu as presque identifié la bonne discipline, mais la biochimie cela aurait été mieux. Petite précision : les microsatellites ne sont pas des petits satellites que l'on introduit dans les cellules...
- **Katell** ! Alors là... Franchement ! Tu te diriges vers l'art et le design ? Sérieusement ? ? Du lard ou du cochon, tu as choisi l'art !
- **Loeiz** ! Au collège et déjà tous sauf la biologie...

J'ai dû rater quelque chose dans votre éducation.

Merci également à mes frères et mes parents, à ma famille et mes amis qui vont subir ma soutenance pour le simple plaisir de partager ce moment avec moi.

Voilà, à tous, je vous dis un grand merci pour avoir cru en ce projet et pour m'avoir poussé à le réaliser.

Je partage avec vous une pensée particulière pour **Morgane**.

Enfin, je ne pouvais pas finir ces remerciements sans avoir une pensée très émue pour **Jean-Cyrille** qui aurait aimé assister à ma soutenance. Malheureusement, j'ai trop tardé pour que cela se réalise. C'est un de mes grands regrets.

Les excuses ! Toutes mes excuses à tous ceux qui ont du lire le moindre de mes écrits ! Je ne suis pas capable d'écrire sans faire de fautes et pour ça, je vous présente mes plus plates excuses.

Résumé

La qualité des viandes est une caractéristique de première importance pour le consommateur ou pour l'industrie de transformation. Cependant, ces caractères (couleur, pH, pertes en eau...) ne peuvent être mesurés que *post-mortem* sur des collatéraux des candidats à la sélection. Dans ces circonstances, l'identification de nouveaux prédicteurs facilement mesurables en routine sur les candidats à la sélection ou de marqueurs génétiques associés à la qualité des viandes devrait permettre d'améliorer la précision des évaluations génétiques et donc la réponse à la sélection.

En se basant sur des données génétiques et génomiques, l'objectif des travaux présentés, visait à étudier le déterminisme génétique et les processus biologiques responsables de la variabilité de la qualité de la viande de porc et à fournir de nouveaux outils (prédicteurs biologiques, marqueurs génétiques) pour la sélection.

L'analyse des transcriptomes des muscles *longissimus dorsi* et *semimembranosus* a mis en évidence une forte spécificité du transcriptome musculaire. Ces différences, liées à l'activité myogénique post-natal, peuvent avoir des conséquences sur la structure et le développement des tissus et *in fine* sur la qualité des viandes. Ces particularités doivent donc être prises en compte dans le cadre d'analyses visant à caractériser l'architecture génétique de la qualité des viandes et à identifier des marqueurs biologiques utilisable en sélection.

L'analyse de la variabilité génétique de la quantité de transcrit dans le muscle *longissimus* a mis en évidence plusieurs transcrits fortement héritables et génétiquement corrélés aux caractères de qualités des viandes. De tels prédicteurs permettraient d'améliorer la précision des valeurs génétiques des candidats à la sélection et procureraient de ce fait un gain génétique plus rapide.

Enfin, les analyses génétiques ont permis d'affiner la localisation de nombreux QTL et d'identifier plusieurs gènes candidats dont le gène RB1 connu pour être impliqué dans la différentiation des cellules musculaires et localisé dans un QTL régulant à la fois l'épaisseur de la longe et l'expression de deux gènes impliqués dans le métabolisme des acides gras et la différentiation des cellules adipogéniques.

Mots clés : porc, qualité des viandes, QTL, génétique, génomique, expression génique.

Abstract

Analysis of the genetic determinism of pork meat quality : a study that combined genetic and genomic.

Meat qualities are of the utmost importance for both consumers and the processing industries. However, meat quality trait predictors (meat color, pH, drip loss...) imply *post-mortem* measurements on the relatives of selection candidates. In such a situation, using alternative, non-destructive, selection criteria easily measurable on selection candidates themselves or marker-assisted selection could improve the accuracy of breeding values estimation and then lead to greater genetic gain than phenotypic selection.

Using gene expression data, these studies aims to decipher genetic architecture regulating meat quality traits by identifying genes and pathways involved in the development and the variability of these traits to provide new tools, genetic or phenotypic markers associated with these traits, to improve meat quality traits through breeding selections.

Longissimus dorsi and *semimembranosus* transcriptome analysis shed light on dissimilar muscular transcriptome profile. This variability, related to post-natal myogenic activity, could affect muscle development and hence meat quality traits. Thus, skeletal muscle specificity should be considered to determine important features for meat quality traits and identify useful biomarkers of pork quality.

Genetic variability of transcript abundance analysis highlighted heritable *longissimus* transcripts genetically correlated with pig meat quality traits. Using those molecular phenotypes in breeding applications could be beneficial for the genetic improvement of meat quality traits.

Finally, genetic analyses allowed us to refine the location of previously identified QTL and pointed out several candidate genes among which RB1 gene, known to be involved in skeletal muscle cell differentiation, which is located in the same locus than a QTL associated with loin muscle depth variability and transcript abundance variability of two genes involved in lipid and fatty acid metabolic process and positive regulation of fat cell differentiation.

Key words : Pig, meat quality, QTL, genetic, genomic, gene expression.

Table des matières

Remerciements i

Résumé iii

Abstract iv

Table des matières v

Glossaire ix

Liste des figures xvii

Liste des tableaux xix

Introduction 1

Évolution de la consommation de viande : du besoin physiologique à la perception actuelle . . . 3
Les leviers ayant permis l'augmentation de la consommation de viande . . . 7
Des exigences de qualité . . . 9
Objectifs des travaux de thèse . . . 11
Bibliographie . . . 12

I Synthèse bibliographique 15

1 La qualité de la viande : un caractère complexe 21

Introduction . . . 23
1.1 La qualité : une tentative de définition . . . 23
1.2 Des acteurs aux attentes variées . . . 24
1.3 La qualité dans la filière viande de porc . . . 25
1.4 Les différentes composantes de la qualité de la viande . . . 26
Résumé du chapitre . . . 31
Bibliographie . . . 32

2 Du muscle ... 35
Introduction . . . 39
2.1 Anatomie du tissu musculaire . . . 39
2.2 Différents types de fibres musculaires . . . 52
Résumé du chapitre . . . 61
Bibliographie . . . 62

3 ... à l'élaboration des qualités sensorielles et technologiques des viandes 65
Introduction . . . 67
3.1 La transformation du muscle en viande . . . 67
3.2 Implication pour le développement de la qualité des viandes . . . 75
3.3 Des indicateurs de qualités . . . 79
Résumé du chapitre . . . 83
Bibliographie . . . 85

4 La qualité de la viande : un caractère multifactoriel 91
Introduction . . . 93
4.1 Les modes d'élevage . . . 93
4.2 L'alimentation . . . 94
4.3 Les conditions *péri-mortem* . . . 100
4.4 Les traitements technologiques . . . 107
Résumé du chapitre . . . 108
Bibliographie . . . 109

5 Les apports de la génétique 119
Introduction . . . 123
5.1 Les outils de la génétique . . . 123
5.2 État des lieux pour la filière porcine . . . 135
Résumé du chapitre . . . 143
Bibliographie . . . 144

II Analyse du déterminisme génétique de la qualité de carcasse et de la qualité de la viande de porc dans une population de type commerciale 151

6 Objectifs des travaux et démarche de la thèse 155
6.1 Rappel des objectifs des travaux de la thèse . . . 157
6.2 Le dispositif expérimental . . . 158
6.3 Démarche expérimentale . . . 170
Bibliographie . . . 173

7 Analyse comparative du transcriptome des muscles *semimembranosus* et *longissimus dorsi* 177
7.1 Présentation de l'article . . . 179
7.2 The Longissimus and Semimembranosus Muscles Display Marked Differences in Their Gene Expression Profiles in Pig . . . 183
Bibliographie . . . 199

8 Analyse de la variabilité génétique des transcrits dans le muscle *longissimus dorsi* en lien avec la qualité des viandes **201**
8.1 Présentation de l'article . . . 203
8.2 Genetic variability of transcript abundance in pig skeletal muscle at slaughter : Relationships with meat quality traits . . . 205
Bibliographie . . . 217

9 Cartographie de QTL affectant la qualité des carcasses et la qualité des viandes **219**
9.1 Présentation de l'article . . . 221
8.2 Combined GWAS and LDLA approaches to improve genome-wide quantitative trait loci detection affecting carcass and meat quality traits in pig . . . 223
Bibliographie . . . 234

10 Intégration d'informations phénotypiques et expressionnelles pour mieux appréhender le déterminisme génétique de la qualité des carcasses et des viandes **237**
10.1 Présentation de l'article . . . 239
9.2 Phenotypic and expression QTL integration allows the refinement of loci associated with pig carcass and meat quality traits . . . 242
Bibliographie . . . 273

11 Discussion générale **275**
11.1 Des transcriptomes musculaires très différenciés . . . 277
11.2 L'utilisation de phénotypes intermédiaires ou endophénotypes . . . 280
11.3 La cartographie génétique de QTL . . . 281
11.4 Une meilleure connaissance des gènes impliqués . . . 284
11.5 Vers toujours plus d'information . . . 285
11.6 La difficile identification du polymorphisme causal . . . 287
Bibliographie . . . 290

Conclusion **301**

Annexes **306**

Annexe A : Sites de mesure pour l'estimation du TMP. **307**

Annexe B : Ancrage des myofibrilles dans le costamère. **313**

Annexe C : Protéines impliquées dans l'ultrastructure des myofibrilles et myofibres. **315**

Annexe D : Métabolisme glycolytique et glycogenolytique. **319**

Annexe E : Sites de mesure du pH sur carcasse à l'abattoir. **321**

Annexe F : Caractéristiques de différentes lignées femelles et lignées mâles utilisées en sélection en France. **323**

Glossaire

A

a* Composante rouge de la couleur, sur un axe vert - rouge. 102
AB Agriculture Biologique. 23, 30
Actine Protéine contractile du sarcomère, il s'agit du composant principal du filament fin. 40
ADG Average Daily Gain. Gain Moyen Quotidien (GMQ). 159
ADN acide désoxyribonucléique. 126
ADNc acide désoxyribonucléique complémentaire. 167, 278
ADP Adénosine diphosphate. 51, 55
AGL Acides Gras Libres. 101
AGMI Acides Gras Mono Insaturés. 28, 94
AGPI Acides Gras Poly Insaturés. xiii, xiv, 28, 93
AGS Acides Gras Saturés. 28, 94
Alpha-tocophérol Vitamine E. Antioxydant liposoluble majeur jouant un rôle important dans la protection contre l'oxydation des membranes phospholipidiques constituant les cellules et leurs organites. 97
AMP Adénosine monophosphate. 55
ANR Agence Nationale de la Recherche. 11, 158
AOC Appellation d'Origine Contrôlée. 30
AOP Appellation d'Origine Protégée. 30
Apoptose L'apoptose, ou la mort cellulaire programmée, est le processus par lequel les cellules déclenchent leur autodestruction pour permettre le développement ou la survie des organismes multicellulaires. Contrairement à la nécrose qui est subie et provoque des réactions inflammatoires, l'apoptose est un processus organisé qui permet l'élimination propre des cellules endommagées. 73
Appertisation Méthode de conservation des aliments par stérilisation à la chaleur, dans des récipients hermétiquement clos. Inventée par Nicolas Appert aux alentours de 1800. 5
ARN acide ribonucléique. 125
ARNc acide ribonucléique complémentaire. 167
ASE Allele Specific Expression. 286
ASP Agence de la Sélection Porcine. 9
ATP Adénosine triphosphate. L'ATP est un nucléotide. L'hydrolyse de l'ATP est la principale source d'énergie pour la grande majorité des fonctions cellulaires. 47, 51, 54
ATPase Enzymes liées au métabolisme énergétique, qui hydrolysent ou synthétisent les molécules d'adénosine-triphosphate (ATP) tout en transférant des ions d'un côté à l'autre

de la membrane. L'hydrolyse de l'ATP est la principale source d'énergie pour la grande majorité des fonctions cellulaires. 47

B

b* Composante jaune de la couleur, sur un axe bleu - jaune. 102

Bande I La bande I (isotrope) est une bande claire visible en microscopie électronique dans la structure du sarcomère. Elle correspond à la région sarcomérique ne contenant que des filaments fins composés d'actine. 45, 46

Bande A La bande A (anisotrope) est une bande sombre visible en microscopie électronique dans la structure du sarcomère. Elle correspond à la localisation des filaments épais constitués de myosine. 45, 46

Bardière Tissu adipeux sous-cutané localisé sur le dos de l'animal. 93

Béta-oxydation Voie métabolique de dégradation des acides gras et de production d'énergie. 58

BF Back fat thickness. Épaisseur de gras dorsal. 159, 222, 240

BHW Boneless Ham Weight. Pourcentage du poids de muscle restant après avoir désossé le jambon par rapport au poids initial du jambon. 159

BP Biological Process. xi, 180

C

Ca^2+ Ion calcium. xv, 50

Calséquestrine La calséquestrine est une protéine qui stocke le calcium. Localisée dans le réticulum endoplasmique des cellules, en particulier dans le réticulum sarcoplasmique des cellules musculaires, elle permet de stocker de très grandes quantités d'ions calcium dans le réticulum endoplasmique. Concentration qui serait normalement toxique pour la cellule. 51

Cardiomyocyte Cellule musculaire composant le muscle cardiaque. Ces cellules sont de formes cylindriques et sont mononucléées. Leurs extrémités sont ramifiées. Les fibres contractiles qu'elles contiennent sont organisées en sarcomère. x, xvi, 41

CC Cellular Component. xi

CIRC Centre International de Recherche sur le Cancer. 6

CNIEL Centre National Interprofessionnel de l'Économie Laitière. xiii, 6

CO_2 Dioxyde de carbone. 104

Collatéral Les collatéraux sont les membres d'une famille descendant d'un même ancêtre. Ils sont frères, demi-frères, cousins... 10, 123, 136, 170, 277

COOKL Cook Loss. Perte de liquide à la cuisson. 105, 158, 203, 281

Corps dense Les corps denses ou plaques d'ancrages sont les points de fixation des faisceaux de protéines contractiles dans les cellules de muscle lisse. 40

CREDOC Centre de Recherche pour l'Étude et l'Observation des Conditions de vie. 6

CRISPR/Cas9 CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly InterspacedShort Palindromic Repeats) est un outil moléculaire d'édition du génome permettant de cibler une séquence ADN et d'en modifier le contenu. 289

CrP Phosphocréatine. 55

D

DEG Differentially Expressed Gene. Gène différentiellement exprimé. 180, 278

DFD Dark Firm Dry. 76, 80, 100

Diade Structure formée par la jonction d'un tubule T avec une citerne terminale du réticulum sarcoplasmique. Cette structure anatomique spécifique des cardiomyocytes est le lieu

de transmission du signal électrophysiologique provoquant les contractions musculaires. 42

DL Déséquilibre de liaison. 127, 131, 221, 240, 282, 288

DNAseq Séquençage d'ADN. 287

DRIPL Drip Loss. Perte de liquide au ressuage. 105, 158

DU Duroc. 135

E

ECLC Estimated Carcass Lean meat Content. Estimation du taux de viande maigre des carcasses. 159, 222

Endophénotype Un endophénotype ou phénotype intermédiaire ou biomarqueur est un caractère biologique mesurable (ARN messager, protéine) intermédiaire entre le gène et le phénotype complexe. 11, 126, 241

eQTL QTL d'expression de gène. 11, 126

EST Expressed Sequence Tag. Les EST sont de courtes portion de séquence (étiquettes, tag) d'ADN complémentaire. 167, 278, 286

F

FOM Fat-O-Meter. 159

FranceAgriMer Établissement national des produits de l'agriculture et de la mer. C'est un office agricole français ayant pour mission d'appliquer, en France, certaines mesures prévues par la politique agricole commune, et de réaliser des actions nationales en faveur des différentes filières agricoles. 6

G

g/j/hab gramme par jour par habitant. 5

Gène majeur Gène ayant un effet important sur la manifestation d'un caractère. 11

GENMASCQ Programme subventionné par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) dans le cadre du Programme National de Recherche en Alimentation (PNRA). GENMASCQ signifie : GENomics enabled Marker Assisted Selection and Certification of Quality in pork products; qualification et stratégies d'utilisation de la variabilité de la qualité de la viande de porc, caractérisée en génomique structurale et fonctionnelle, de l'amélioration génétique à la gestion de la production. 11, 158

Glutathione peroxidase (GPx) Enzyme antioxydante intracellulaire ayant une action de protection contre le stress oxydatif. La glutathione peroxidase permet la réduction des molécules oxydantes. 70, 96

GLYPO Potentiel glycolytique. Le potentiel glycolytique est une mesure permettant d'estimer le potentiel du muscle à réaliser le cycle du métabolisme anaérobie lactique ou métabolisme glycolytique *post-mortem*. Concrètement, cette mesure repose sur la mesure de la quantité de molécules de glycogène, de glucoses et de lactate stockées dans le muscle au moment de la mort de l'animal. 138, 158, 222

GMQ Gain Moyen Quotidien. ix, 9, 136, 162

GO Gene Ontology. Gene ontology est une base de données destinée à structurer les informations relatives aux fonctions des gènes. La gene ontology regroupe trois types de description : les processus biologiques (BP) dans lesquels sont impliqués les produit de ces gènes, les fonctions moléculaires (MF) des produit de ces gènes et les composants cellulaires (CC) dans lesquels interviennent les produit de ces gènes. 134, 180

GWAS Genome Wide Association Study. 132, 221, 239, 281

H

H^+ Ion hydrogène. 51, 69
HACCP Hazard Analysis and Critical Control Point. 27
HAL Le gène HAL est un gène majeur ayant un effet important sur la qualité de la viande. Il est associé à l'apparition du défaut de viande PSE. Il correspond au gène *RYR1*. 140, 277
Haplotype Un haplotype est une combinaison particulière d'allèles de différents loci situés sur un même chromosome et habituellement transmis ensemble. 131
HCr Half Carcass ruler. Mesure à l'aide d'une règle à la fente de la demi-carcasse. 159
HW Ham Weight. Poids du jambon non-désossé avec le pied. 159, 222
HWE Hardy-Weinberg Equilibrium. La loi de Hardy-Weinberg stipule que dans une population idéale : de taille infinie, en panmixie c'est-à-dire ou les croisements se font de manière aléatoire et où il n'existe ni sélection, ni mutation, ni migration, la fréquence des allèles et des génotypes demeure stable. 163

I

IC Indice de Consommation. 9, 136
IFIP Institut technique de recherche et de développement de la Filière Porcine. 9, 323
IGP Indication Géographique Protégée. 30
IMF Intra Muscular Fat content. 158, 222, 240
InDel Les InDels correspondent à des modifications ponctuelles du génome par disparition ou ajout d'un ou plusieurs acides nucléiques par rapport à une séquence de référence. 126
INRA Institut National de la Recherche Agronomique. 9
INRAE Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement. 9
IQV Indice de Qualité Technologique des Viandes. 136, 139, 277
ISO International Organization for Standardization. 23, 28
Isoforme Les isoformes d'une protéine sont les différentes formes que celle-ci peut prendre. 52
ITP Institut Technique du Porc. 9

K

kb kilobase. 127

L

L* Composante claire de la couleur entre 0 (noir) et 100 (blanc). 99, 102, 137, 139, 141, 277
LA Linkage Analysis. 129
LDLA Linkage Disequilibrium Linkage Analysis. 133, 221, 239, 281
Léiomyocyte Cellules musculaires composant le muscle lisse. Ces cellules sont fusiformes et mononucléées. Leurs filaments contractiles ne sont pas organisés en sarcomère contrairement aux cellules musculaires composant les muscles striés. 40
LF Landrace Français. 135, 136
Ligne M La ligne M est une ligne sombre visible en microscopie électronique dans la structure du sarcomère. Elle est située au centre du sarcomère. Il s'agit d'une structure protéique composée de myomésine et qui permet l'ancrage des filaments de myosine. 46
Ligne Z Structure protéique visible en microscopie électronique, qui délimite les sarcomères. De l'allemand zwischen, signifiant « entre ». 42, 45, 46
LIM Lipides Intramusculaires. 93
LM Muscle *longissimus dorsi*. 11, 54, 100, 167, 321
LMA Loin Muscle Area. Surface de muscle de la longe (noix de côtelette). 159
LMDEP Loin Muscle Depth. Épaisseur ou profondeur du muscle. 159, 222, 240, 285

lncRNA ARN long non-codant. 171, 241, 285
Locus Un *locus* (pluriel « *locus* » ou « *loci* ») est une position fixe sur un chromosome. 11, 123
LOINWT Loin Weight. Poids de la longe non-désossé. 159, 222
LR Last Rib. Mesure au niveau de la dernière côte. 159
LUMB Lumbar. Mesure au niveau des lombaires. 159
LW Large White. 10, 135
LWF Large White lignée Femelle. 136
LWM Large White lignée Mâle. 136

M

MAF Minor Allele Frequency. Fréquence des allèles minoritaire. 163
Maturation La phase de maturation de la viande correspond à l'étape pendant laquelle les protéines musculaires se dégradent permettant à la viande d'acquérir l'ensemble de ses caractéristiques : texture, couleur, goût... 67
Mb mégabase. 126
MCOLOR Meat Color. Mesure de la couleur de la viande. 222
MCOLOR-b Meat Color b*. Mesure de la composante jaune de la couleur de la viande. 159
MCOLOR-a Meat Color a*. Mesure de la composante rouge de la couleur de la viande. 159, 203, 240, 281
MCOLOR-L Meat Color L*. Mesure de la composante claire de la couleur de la viande. 159
MF Molecular Function. xi
MH Malignant Hyperthermia syndrome. 141, 240
MIAME Minimum Information About a Microarray Experiment. Les recommandations MIAME décrivent l'ensemble des informations complémentaires (méta-données) devant accompagner le dépôt de données d'expressions obtenues à partir d'hybridation de puce ADNc. Les recommandations les plus importantes peuvent être consulté sur le site https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/info/MIAME.html. 167
MPa Megapascal. 107, 108
mQTL QTL relatif à la quantité de métabolite. 126
MS Meishan. 135
MyHC Myosine Heavy Chain. Chaîne lourde de myosine. 47, 52
MyLC Myosine Light Chain. Chaîne légère de myosine. 47
Myoblaste Cellule souche à l'origine de la formation des myofibres. 45
Myocyte Cellule musculaire. 40
Myofibrille Éléments contractiles constituant les myofibres. Les myofibrilles sont composées d'une succession de sarcomères qui sont les unités contractiles du muscle. 43
Myofilament Les myofilaments sont les filaments contractiles. Ils sont principalement constitués d'actines pour les filaments fins ou de myosines pour les filaments épais. 40
Myosine Protéine motrice du sarcomère, il s'agit du composant principal du filament épais. 40

N

NGS Next Generation Sequencing. 286

O

OCHA Observatoire CNIEL des Habitudes Alimentaires. 6
OGM Organismes Génétiquement Modifiés. 30
Omega 3 Acides Gras Poly Insaturés essentiel. L'acide gras principal du groupe $\omega 3$ est l'acide alpha-linolénique (C18:3 (n-3); ALA). 95

Omega 6 Acides Gras Poly Insaturés essentiel. L'acide gras principal du groupe ω6 est l'acide linoléique (C18:2 (n-6); AL). 95

OP Optical Porbe. 159

P

pH Potentiel hydrogène. Le pH mesure l'acidité ou la basicité d'un produit. 29, 68, 99

pH1 pH1 ou pHi. pH mesuré dans la première heure après l'abattage. Cette mesure permet de définir la vitesse de chute du pH. 69, 76, 82, 141, 321

pH24 pH24 ou pHu. pH mesuré 24 heures après l'abattage qui définit l'amplitude de la chute du pH. 69

pH45 pH45. pH mesuré 45 minutes après l'abattage. Cette mesure permet de définir la vitesse de chute du pH. 69, 158, 203, 281

pHi pH initial ou pH1. pH mesuré dans la première heure après l'abattage. Cette mesure permet de définir la vitesse de chute du pH. 69, 104

pHu pH ultime ou pH24. pH mesuré 24 heures après l'abattage qui définit l'amplitude de la chute du pH. 69, 76, 82, 93, 99, 136, 137, 139, 142, 159, 179, 222, 277, 321

Pi Phosphate inorganique. 51

PI Piétrain. 135

Pléiotrope Un gène pléiotrope est un gène ayant un effet sur plusieurs caractères. 239

Post–génomique Discipline de la biologie qui étudie le niveau d'expression des gènes (transcriptomique) et la quantité de protéine (protéomique) produite au niveau cellulaire. 11

pQTL QTL relatif à la quantité de protéine. 126

PRE Pouvoir de Rétention en Eau. 29, 75, 93, 137, 139, 141, 277

PRKAG3 Gène codant pour une sous-unité γ de l'($AMPK$). Un polymorphisme au niveau du codon 200 provoquant la substitution d'une arginine par une glutamine est associé à l'apparition du défaut de viande acide. xv, 140

Protéomique La protéomique est l'étude de la quantité de protéines produites par une cellule ou un tissu. Elle repose sur la quantification des protéines produites par la traduction des ARN messagers. On parle alors de protéome. xiv, 11

PSE Pale Soft Exsudative. xv, 76, 80, 101, 140

PSS Porcine Stress Syndrome. 140

Q

QTL Quantitative Trait Loci. xi, xiii, xiv, 11, 124, 126

R

Reactive Nitrogen Species (RNS) Les RNS sont des molécules oxydantes. Ce sont des co-produits du métabolisme cellulaire. Ces molécules se présentent sous forme ionique (peroxynitrite ($ONOO^-$)) ou non-ionique (nitric oxide ($NO^\bullet$)). Ce sont des molécules instables possédant un ou plusieurs électrons libres ce qui les rend chimiquement très réactives. Elles vont rapidement réagir en oxydant les molécules environnantes (protéines, lipides) pour retrouver un état stable. Le point noir représente l'électron libre du radical. 70

Reactive Oxygen Species (ROS) Les ROS sont des molécules oxydantes. Ce sont des co-produits du métabolisme cellulaire. Ces molécules se présentent sous forme de radicaux libres (superoxide ($O_2^{\bullet -}$) ou hydroxyl radical ($OH^\bullet$)) ou sous forme non-radicale (peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)). Ce sont des molécules instables possédant un ou plusieurs

électrons libres ce qui les rend chimiquement très réactives. Elles vont rapidement réagir en oxydant les molécules environnantes (protéines, lipides) pour retrouver un état stable. Le point noir représente l'électron libre du radical. 70

Récepteur á la dihydropyridine Les récepteurs à la dihydropyridine sont des canaux transmembranaires transporteurs d'ion calcium (Ca^{2+}) potentiel-dépendant. Ils sont localisés dans les tubules T et sont activés lorsque la membrane sarcoplsamique est dépolarisée par une onde d'excitation musculaire. xv, 50

Récepteur de la ryanodine Les récepteurs de la ryanodine sont des canaux transmembranaires transporteurs d'ion calcium (Ca^{2+}). Ils sont localisés dans les citernes du réticulum sarcoplasmique et sont activés suite au changement de conformation et à l'activation des RDHP. 50

Ressuage Le ressuage est l'étape durant laquelle une carcasse fraiche est laissée à l'air libre pour se débarrasser de son humidité tissulaire de surface. Il s'agit en quelque sorte du temps de séchage d'une carcasse. 104

RFN Red Soft Non-exudative. 80

Rhabdomyocyte Les rhabdomyocytes ou myofibres sont les cellules musculaires du muscle squelettique. xvi, 43, 45

Rigor mortis La *rigor mortis* ou rigidité cadavérique correspond à un état de raideur de la musculature causé par des transformations biochimiques irréversibles affectant les fibres musculaires au cours de la phase *post-mortem* précoce. 67

RIN RNA Integrity Number. Il s'agit d'une mesure basée sur l'analyse d'un électrophorégramme qui permet de rendre compte de la qualité des ARN totaux. Cette mesure prend une valeur entre 0 et 10. La valeur 10 équivaut à un ARN non-dégradé et la valeur 0 équivaut à un ARN entièrement dégradé. La valeur du RIN doit être au moins égale à 8 pour effectuer une mesure du niveau d'expression des gènes. 167

RN Le gène RN est un gène majeur ayant un effet important sur la qualité de la viande. Il est associé au défaut de viande acide. Il correspond au gène *PRKAG3*. 140, 277

RNAseq Séquençage d'ARN messager. 286

RSE Red Soft Exudative. 80

RYR1 Gène codant pour des canaux de transport transmembranaire du calcium localisés dans la paroi du réticulum sarcoplasmique. Un polymorphisme provoquant la substitution d'une arginine par une cystéine au niveau du codon 615 provoque un dysfonctionnement de ces canaux transporteurs d'ion calcium et est associé à l'apparition du défaut de viande PSE (Pale Soft Exsudative). xii, 140

S

Sarcolemme Membrane plasmique des cellules musculaires. xvi, 41, 45, 48, 317

Sarcomère Unité contractile primordiale des cellules de muscles striés. x, xii, 42, 45, 46, 49, 71, 316

Sarcoplasme Cytoplasme des cellules musculaires. 41, 45, 50, 317

SHEAR-cook Méthode physique permettant de mesurer la force nécessaire au cisaillement d'une pièce de viande cuite. 158, 203, 281

SHEAR-raw Méthode physique permettant de mesurer la force nécessaire au cisaillement d'une pièce de viande crue. 105, 158, 222

SHOU Shoulder. Mesure au niveau de l'épaule. 159

SM Muscle *semimembranosus*. 11, 105, 167, 321

SNP Single Nucleotide Polymorphism. 126

STEC Shiga toxin–producing *Escherichia coli*. 27

STG Spécialité Traditionnelle Garantie. 30

Syncytium Cellule multinucléée formée par la fusion de plusieurs cellules. 43

T

TALEN Les TALEN (Transcription activator-like effector nucleases) sont des outils moléculaires d'édition du génome permettant de cibler une séquence ADN et d'en modifier le contenu. 289

Tétanos physiologique Contraction maximale d'un muscle, produite par une fréquence de stimulation élevée. 53

Tissu nodal Le tissu nodal ou tissu cardionecteur est constitué par un groupe de cardiomyocytes dont le rôle est de stimuler la contraction automatique et autonome du myocarde. 41

TMP Taux de Muscle des Pièces. 26, 136

Transcriptomique La transcriptomique est l'étude du niveau d'expression des gènes au niveau d'une cellule ou d'un tissu. Elle repose sur la quantification des ARN messagers produits pendant la transcription du génome. On parle alors de transcriptome. xiv, 11

Triade Structure formée par la jonction d'un tubule T avec les citernes terminales du réticulum sarcoplasmique le jouxtant. Cette structure anatomique spécifique des rhabdomyocytes est le lieu de transmission du signal électrophysiologique provoquant les contractions musculaires. 45, 50

Tubule transversal Un tubule transversal est une invagination du sarcolemme, permettant de conduire le potentiel d'action musculaire jusqu'au centre des myofibres. x, xv, xvi, 41, 45, 50

TVM Teneur en Viande Maigre. 9, 26, 136

U

UPRA Unité nationale de sélection et de Promotion des Races Agréées. 9

US Ultra sonnic record. Mesure par échographie. 159

V

VNTR Variable Number of Tandem Repeats. 126

Z

ZFN Les ZFN (Zinc-finger nucleases) sont des outils moléculaires d'édition du génome permettant de cibler une séquence ADN et d'en modifier le contenu. 289

Zone H La zone H est une région claire visible en microscopie électronique dans la région centrale du sarcomère. Elle est localisée au centre de la bande A et contient la ligne M. Elle correspond à la région de la bande A ou seuls les filaments de myosine sont présents. 46

Liste des figures

1 Évolution du régime alimentaire des hommes au cours de l'histoire. 4
2 Évolution de la hauteur au garrot des bœufs d'Europe centrale et d'Europe de l'Est. 8

1.1 Attentes du consommateur en matière de qualité alimentaire. 25
1.2 Relation entre les qualités des viandes et les signes de qualité alimentaire. 31

2.1 Les différents types de muscles. 39
2.2 Structure du muscle lisse. 40
2.3 Structure et contraction de la cellule musculaire du muscle lisse. 41
2.4 Structure d'un cardiomyocite. 42
2.5 Structure du muscle squelettique. 43
2.6 Structure d'une myofibre ou rhabdomyocyte. 45
2.7 Structure d'un sarcomère. 46
2.8 Structure d'un filament d'actine. 47
2.9 Structure d'un filament de myosine. 48
2.10 Liaison des myofibrilles à la membrane plasmique 49
2.11 Mécanisme de contraction des sarcomères. 50
2.12 Cycle de contraction de la myosine. 52
2.13 Stade actif et contraction des fibres rapides et lentes. 53
2.14 Puissance de tension des fibres rapides, intermédiaires et lentes. 54
2.15 Renouvellement des ATP en fonction du métabolisme énergétique. 56
2.16 Caractéristiques biologiques des muscles rouges et blancs. 61

3.1 Installation de la *rigor mortis* en fonction du temps et du métabolisme énergétique *post-mortem*. 68
3.2 Transformation du muscle en viande : résumé des processus en jeu. 74
3.3 Relation entre la cinétique de chute du pH et la qualité de la viande. 77
3.4 Relation entre la structure et le métabolisme du muscle, ses caractéristiques biochimiques et les qualités sensorielles de la viande. 80
3.5 La cinétique de chute du pH *post-mortem* comme indicateur de la qualité des viandes. 81
3.6 Gamme de couleurs pour l'estimation de la couleur de la viande 82

4.1 Mécanisme de peroxydation des lipides. 97
4.2 Mécanisme d'action de la vitamine E. 98

4.3 Mécanisme d'action du sélénium et de la vitamine E au niveau cellulaire. 98
4.4 Effet du refroidissement accéléré sur les critères de qualité de la viande. 106
4.5 Effet de la suspension des carcasses. 107

5.1 Déterminisme génétique des caractères complexes : relation entre le nombre de gènes impliqués et leurs effets sur le caractère. 124
5.2 Le déséquilibre de liaison. 128
5.3 Principe de l'analyse de liaison. 130
5.4 Représentation du profil de vraisemblance dans la cartographie d'intervalle. . . . 131
5.5 Principe de l'analyse d'association. 132
5.6 Représentation des résultats d'une GWAS : le manhattan plot. 133
5.7 De la cartographie de QTL aux gènes candidats. 135
5.8 Pondérations accordées aux objectifs de sélections des populations sélectionnées de manière collective en France au début des années 2000. 137
5.9 Évolution de l'index moyen par année de naissance pour l'Indice de Qualité des Viandes (IQV) de 1998 à 2002 et de 2006 à 2010 dans 4 grandes populations d'animaux en sélection collective en France. 139
5.10 Représentation des QTL impactant la perte en eau au ressuage enregistrés dans Pig QTLdb. 140

6.1 Procédure de qualification et de filtration des génotypes. 166
6.2 Procédure de qualification et de filtration des données d'expression géniques. . . 169
6.3 Représentation synthétique de la démarche expérimentale et des résultats obtenus. 172

11.1 Différence de significativité des tests d'hypothèse dans les analyses GWAS et LDLA. 283
11.2 Représentation des effets possibles des variants en fonction de leur localisation dans la structure génomique. 289

Liste des tableaux

1 Consommation journalière de viande en France entre la fin du XVIIIème siècle et la seconde moitié du XXème siècle. 5

1.1 Apports nutritionnels pour 100 g de viande. 28

2.1 Caractéristiques des trois types de muscles composant le système musculaire. . . 44
2.2 Caractéristiques biologiques des quatre types de fibres musculaires. 60

3.1 Tri et débouchés des viandes selon les défauts constatés. 83

5.1 Corrélations génétiques entre caractères de qualité de viande et caractères de production. 138
5.2 Héritabilité des caractères de qualité de viande. 139

6.1 Description et résumé des mesures de qualité des viandes. 161
6.2 Description et résumé des mesures de croissance et de qualité des carcasses. . . . 162
6.3 Résumé des étapes de filtration effectuées sur les génotypages. 165

Introduction



Sommaire

Évolution de la consommation de viande : du besoin physiologique à la perception actuelle **3**
Les leviers ayant permis l'augmentation de la consommation de viande **7**
Des exigences de qualité **9**
Objectifs des travaux de thèse **11**
Bibliographie **12**

Figures

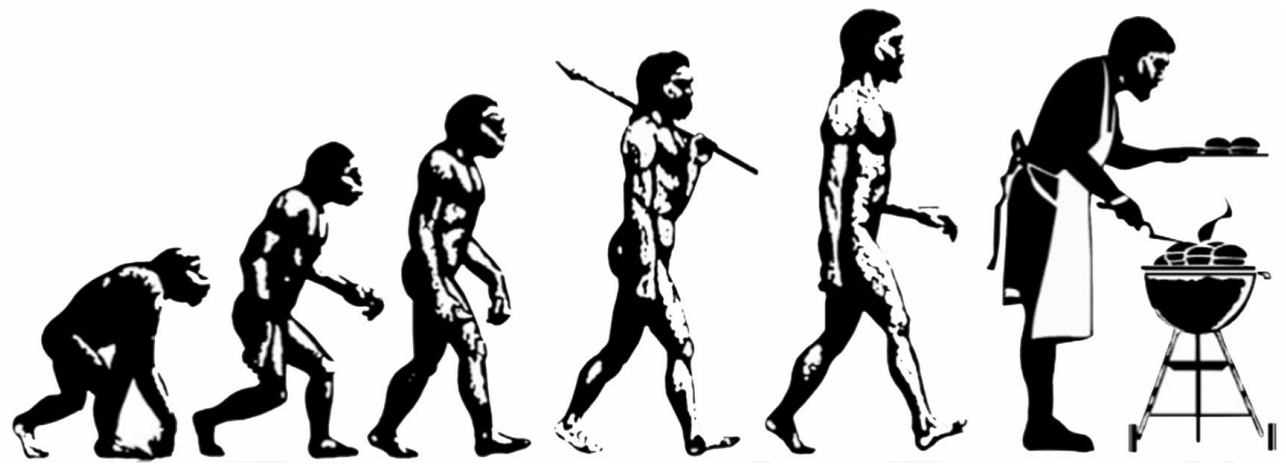
1 Évolution du régime alimentaire des hommes au cours de l'histoire. 4
2 Évolution de la hauteur au garrot des bœufs d'Europe centrale et d'Europe de l'Est. 8

Tableaux

1 Consommation journalière de viande en France entre la fin du XVIIIème siècle et la seconde moitié du XXème siècle. 5

Évolution de la consommation de viande

De l'assouvissement d'un besoin physiologique à la perception actuelle.



Auteur inconnu, https ://stainlessmasterpieces.com/image/catalog/Blog/bbq-evolution-2x1.jpg

Du charognage à la chasse. De tout temps, le régime alimentaire de l'homme a comporté une part d'alimentation d'origine animale. Les premiers hominidés, dont notre très lointaine ancêtre « Lucy » (*Australopithecus* - 4,2 à 2 millions d'années avant le présent), se nourrissaient principalement de végétaux. Leur régime alimentaire était majoritairement composé de feuilles, de racines, de fruits ou de baies. Il pouvait leur arriver de consommer également des insectes ou de petits animaux.

Plus tard, au cours du paléolithique inférieur (2,5 millions d'années à 300 000 ans avant le présent), les premiers « vrais hommes » (genre *Homo*) s'adonnèrent au charognage (*Homo habilis* - 2,3 à 1,5 millions d'années avant le présent). Cependant, la consommation de viande continue de ne représenter qu'une part minoritaire de leur régime alimentaire.

C'est avec le développement progressif de leur capacité à chasser de petites proies puis, en groupe, des proies plus conséquentes (chevaux, cerf, rhinocéros) qu'*Homo ergaster* (2,2 à 1 millions d'années avant le présent) et *Homo erectus* (1,9 millions d'années à 300 000 ans avant le présent) commencent à augmenter la part d'alimentation carnée dans leur régime alimentaire (Birlouez, 2012; Beauchamp, 2008). La chasse permet alors à nos ancêtres d'augmenter la quantité de protides et dans une moindre mesure, le gibier étant peu gras, la part de lipides dans leur ration alimentaire. Il est admis que cette alimentation plus riche comportant de la viande et des graisses animales aurait représenté un avantage évolutif pour l'*Homo erectus* en favorisant un début de développement cérébral.

Au paléolithique moyen (400 000 à 30 000 ans avant le présent), *Homo neandertalensis* continue de varier son régime alimentaire en développant des techniques de pêche, techniques qui continueront de se développer au paléolithique supérieur (35 000 à 10 000 ans avant le présent) avec *Homo sapiens* (Beauchamp, 2008).

La proportion de produits carnés dans l'alimentation humaine n'a cessé de croître sur cette période. Elle a même pu devenir majoritaire dans certaines régions (cf figure 1 « Évolution du régime alimentaire des hommes au cours de l'histoire » - page suivante) (Birlouez, 2012).

L'apparition de l'agriculture et de l'élevage change la donne. Au Néolithique (14 000 à 5 000 avant le présent), l'apparition de l'agriculture puis de l'élevage bouleverse les habitudes

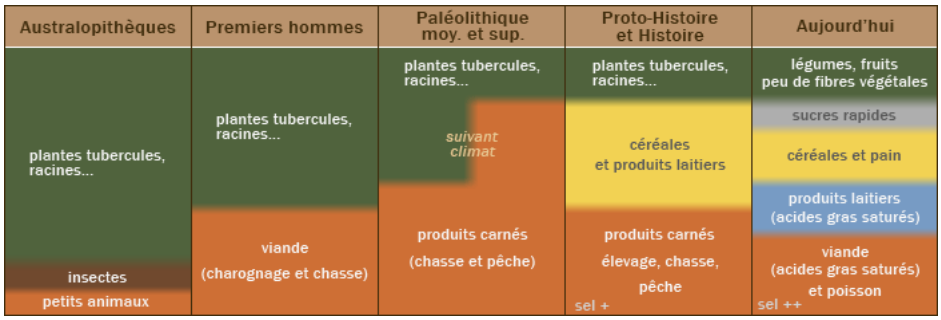


FIGURE 1 – **Évolution du régime alimentaire des hommes au cours de l'histoire** (Hominidés.com consulté le 12 mai 2020).

alimentaires des hommes. L'homme passe du statut de prédateur (chasseurs-cueilleurs) au statut de producteur. L'agriculture permet de fournir régulièrement une nourriture riche. La culture de céréales fournit des aliments riches en glucides et la domestication des caprins (12 000 avant le présent), ovins (10 500 à 8500 avant le présent) et bovins (10 000 avant le présent) permet de fournir du lait. La domestication du porc, quant à elle, remonte à 9 000 ans.

Les besoins alimentaires étant pour une partie assurés par l'agriculture, les besoins de recours à la cueillette et à la chasse, deux activités aléatoires et dangereuses, diminuent. La diminution du recours à la chasse va de fait induire une diminution de la consommation de viande. La part d'aliments carnés dans l'alimentation humaine diminue alors en faveur des céréales et des produits à base de lait (cf figure 1 « Évolution du régime alimentaire des hommes au cours de l'histoire » - ci-dessus) (Birlouez, 2012).

Le droit de chasse : la consommation de viande devient un marqueur social. Du paléolithique à l'époque médiévale, la consommation de viande a été essentiellement basée sur le produit de la chasse et de la pêche. Au Moyen Âge et jusqu'à la fin du XVIIIème siècle (sous l'Ancien Régime), le droit de chasse est un privilège seigneurial. Il est de ce fait réservé aux « possédants ». Seule une mince frange de la société consomme de la viande de manière régulière. La consommation de viande devient alors un marqueur social, signe de puissance et de pouvoir. La classe dominante représentée par la noblesse consomme essentiellement du gibier et du porc tandis que le reste de la population se nourrit de céréales et de végétaux (Birlouez, 2012).

À l'époque médiévale, l'élevage n'a pas pour seul but de pourvoir à la production de produits carnés. À l'exception du porc, les animaux ne sont pas élevés pour la consommation de viande. Le bétail répond à plusieurs fonctions complémentaires. Le gros bétail, chevaux, mulets, ânes ou bovins, représentent une force de traction et de travail. Le bétail fournit également des produits indispensables tels que la laine, le cuir ou la fumure nécessaire à l'enrichissement des cultures. Les produits alimentaires issus de l'élevage sont le lait (bovin, ovin et caprin), les œufs et la basse-cour. La viande et la graisse sont fournies en grande partie par l'élevage de porcs. Les autres viandes, à l'exception du cheval dont la consommation est taboue (jusqu'en 1866) (Moriceau, 2005b), ne sont généralement consommées qu'à la fin de la carrière de travail ou de production de l'animal. À ce titre, le bétail est un élément essentiel à la vie de la société. Au même titre que la consommation de viande, la possession de bétail marque le statut social de l'individu (Moriceau, 2005c).

Contrairement au gros bétail, qui est l'apanage des classes dominantes, au cours de la période médiévale le porc est élevé par une large partie de la population. Le porc ne nécessite pas d'effort particulier pour son alimentation. Nul besoin de pâturages ou de fourrages pour le nourrir. Le porc se nourrit de la « glandée » en forêt ou de sous-produits d'autres productions tel que le son, le petit-lait... Ce qui explique qu'il ait été longtemps le principal pourvoyeur de

viandes et graisses animales de la classe paysanne (Moriceau, 2005d).

Comme je ne rédige pas une thèse en histoire sur la consommation de viande, je vais me permettre de faire un raccourci et accélérer un peu !

Les révolutions agricole puis industrielle rendent la viande plus accessible. C'est au cours du XVIIIème siècle que l'évolution des techniques de culture et une meilleure intégration de l'élevage dans l'agriculture permettent un accroissement des rendements agricoles. L'alimentation du bétail s'améliore. C'est également à cette période que Robert Bakewell (1725-1795), éleveur et propriétaire terrien, anglais, pose les bases d'une amélioration génétique des animaux.

L'élevage d'animaux de boucherie se développe pour répondre à la croissance des populations urbaines et aux besoins de nourriture qui en découlent. La viande issue de l'élevage passe alors de sous produit terminal à un objectif de production, tandis que le lait, le beurre et le fromage deviennent des sous-produits de l'élevage. Des régions se spécialisent alors dans l'engraissement d'animaux de bouche. La Basse-Normandie et le Limousin fournissent alors 80 % des besoins de la capitale (Moriceau, 2005b).

L'évolution des productions agricoles (culture et élevage) permet d'améliorer sensiblement l'alimentation des classes populaires. La consommation de produits d'origine animale augmente. On estime qu'à la fin du XVIIIème siècle la consommation de viande en France était de 52 g/j/hab (gramme par jour par habitant) (Lepage, 2002).

Au début du XIXème siècle, la révolution industrielle et l'apparition de l'industrie alimentaire modifient l'offre alimentaire et de ce fait changent les modes de consommation : invention de la conserve (appertisation) puis du premier réfrigérateur en 1851 (Bellemain *et al.*, 2017).

La possibilité de conserver les aliments plus longtemps, associée à l'élévation du niveau de vie, font que la consommation de viande augmente régulièrement. Ainsi, la consommation de viande en France a été multipliée par 5 entre 1800 et 1985 (cf tableau 1 « Consommation journalière de viande en France entre la fin du XVIIIème siècle et la seconde moitié du XXème siècle » - ci-dessous). L'évolution globale de la consommation de viande a été similaire dans la plupart des pays industrialisés. Cependant, ces chiffres moyens de consommation de viande ne doivent pas occulter le fait qu'une grande disparité existe dans la population. Ainsi, jusque dans les années 50, certaines classes sociales (ouvriers et ruraux) ne consomment pas de la viande tous les jours. Comme le montre le tableau 1, la consommation de viande augmente de manière très importante dans les années 50 à 70, jusqu'à atteindre une consommation bi-quotidienne, répondant à une forte croissance économique et une nette augmentation du niveau de vie (Birlouez, 2012). La consommation de viande reflète alors la réussite sociale de celui qui en consomme !

Période	1789 -1812	1834 - 1844	1885 - 1894	1920 - 1925	1950	1974	1985
g/j/hab	52	62	110	115	164	243	>275

TABLEAU 1 – **Consommation journalière de viande en France entre la fin du XVIIIème siècle et la seconde moitié du XXème siècle** (Lepage, 2002).

Sur cette période (fin du XVIIIème siècle à la fin du XXème siècle), la viande de porc représente, suivant les pays considérés, la première ou deuxième viande la plus consommée en Europe (Lepage, 2002; Fouquet, 1970). Sur cette période, en France, la consommation de viande de porc aurait représenté entre 33 et 40 % de la consommation totale de viande, se qui en fait la deuxième viande la plus consommée derrière le bœuf jusque dans les années 70. Depuis, la viande de porc est la viande la plus consommée en France devant le bœuf. La consommation de

volaille n'a cessé de croître depuis les années 70 et représente depuis les années 2010 la deuxième viande la plus consommée de France derrière le porc et devant le bœuf (FranceAgriMer, 2019a). En Allemagne, la viande de porc est la viande la plus consommée devant le bœuf depuis la fin du XIXème siècle. Ce qui fait du porc et du bœuf les deux viandes les plus consommées en Europe jusque dans les années 1970, loin devant le veau, le mouton ou le cheval (Lepage, 2002).

Le rapport à la consommation de viande change. Si au début de l'histoire de l'humanité la chasse répond à un pur besoin alimentaire et physiologique, au cours des siècles qui ont suivi, l'image de la viande et son statut de « nourriture des puissants » en font un marqueur social très fort. Outre la réponse à un besoin physiologique en protéines et lipides, la consommation de viande répond également à un besoin d'image. Consommer de la viande devient un signe extérieur d'ascension sociale et de réussite. Montaigne le soulignait déjà au XVIème siècle : « *La cherté donne goût à la viande* ». Il ne s'agit plus seulement de remplir son assiette : « Gagner son pain quotidien », mais également d'en imposer, de « gagner son bifteck ». De ce fait, la consommation de viande, en France et dans les pays industrialisés, a continué d'augmenter régulièrement jusque dans la fin des années 90. Depuis, celle-ci tend à baisser légèrement en France comme dans une partie des pays industrialisés (FranceAgriMer, 2019a; Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE), 2020).

Dès le début des années 1970, la question de la qualité des produits alimentaires commence à émerger dans un contexte de production de veaux et de poulets « aux hormones », suivie dans les années 85 à 2000 par la crise de « la vache folle » : crise sanitaire et économique. C'est le début d'une crise de confiance entre le consommateur et la chaîne de production et de transformation (Bellemain *et al.*, 2017). Plus récemment (octobre 2015), le classement par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) de la consommation de viandes ou de charcuteries comme probablement cancérigène pour l'Homme pointe du doigt les potentiels méfaits sur la santé d'une trop grande consommation de viande (Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 2015; Bouvard *et al.*, 2015).

Ces différentes crises ou classements sanitaires aboutissent dès le début des années 90 à une évolution de l'image de la viande. Sa consommation est remise en question dans une partie de la société. C'est notamment le cas dans les classes aisées qui sont les premières à diminuer leur consommation de viande. Il ne s'agit donc pas d'une limitation financière due au coût de la viande, mais bien d'une remise en cause du statut de la viande. L'image autrefois positive de la consommation de viande se retrouve confrontée à l'image négative des productions animales, et en particulier de la production de viande, au travers de leur impact sur la santé du consommateur, l'environnement ou le bien-être animal.

Face à cette remise en cause des modèles de productions animales et de la qualité des produits générés, une partie de la population se tourne vers des régimes alimentaires alternatifs (végétarisme, végétalisme et véganisme) ou des modes de consommation de viande plus sélectifs (flexitarisme). Les flexitariens, à la différence des végétariens, végétaliens ou végans, ne rejettent pas la consommation de viande, mais prônent une diminution de celle-ci. Dans une enquête du Centre de Recherche pour l'Étude et l'Observation des Conditions de vie (CREDOC) réalisée pour FranceAgriMer et l'Observatoire CNIEL des Habitudes Alimentaires (OCHA) en 2018 en France, Angleterre, Allemagne et Espagne portant sur le « panorama de la consommation végétarienne en Europe », 5,6 % de la population de ces pays se déclarait végétarien, végétalien ou végan. Les flexitariens quant à eux représenteraient une part beaucoup plus importante de la population : 19 % de la population anglaise, 20 % en France, 23 % et 26 % en Espagne et en Allemagne, sans différence de répartition dans les classes d'âge.

La principale raison justifiant la réduction de consommation de viande par les flexitariens relève de considérations relatives à la santé : manger moins de viande pour être en bonne santé, mais en manger pour éviter les carences. Le deuxième argument relève de considérations

éthiques, principalement en rapport avec le bien-être animal, et englobe les conditions d'élevage, de transport et d'abattage (FranceAgriMer, 2019b).

Le flexitarisme pourrait se définir comme une consommation plus raisonnée de la viande en privilégiant la qualité à la quantité. « Manger moins de viande, mais en manger mieux et de meilleure qualité ! »

Les leviers ayant permis l'augmentation de la consommation de viande

Une conjonction de facteurs. En France, la consommation de viande a plus que quintuplé depuis la fin du XVIIIème siècle (cf tableau 1 « Consommation journalière de viande en France entre la fin du XVIIIème siècle et la seconde moitié du XXème siècle » - page 5). Cette croissance n'a pu se faire que par la conjonction de multiples facteurs qui ont permis l'augmentation du niveau de vie des populations et de diminuer le coût de la viande et ainsi rendre celle-ci plus accessible.

- Des facteurs économiques :
  - au niveau social, par une augmentation du niveau de vie ;
  - au niveau technologique, par une amélioration des modes de conservation de la nourriture (augmentation des capacités de stockage dans le temps) et une amélioration des transports (rapidité) le tout induisant une baisse des coûts marchands.

  Ces premiers facteurs ont pu bénéficier des apports de la révolution industrielle (Bellemain *et al.*, 2017).
- Des facteurs liés à l'élevage : l'objectif de l'élevage évolue, produire de la viande devient un but en soi.
  - augmentation du cheptel ;
  - modification des pratiques d'élevage : qualité de l'alimentation, castration, âge de mise à la reproduction des femelles... ;
  - sélection des animaux.

Ces facteurs ont ainsi permis d'augmenter les volumes de viande produits en un temps donné entre autres par une augmentation du rendement de carcasse et une diminution du temps nécessaire avant abattage.

Les facteurs liés aux pratiques d'élevage. Une pression sélective mettant en jeu les différentes forces évolutives (dérive génétique, migration, sélection, mutation) s'est exercée sur les animaux d'élevage dès le début de la domestication, il y a de cela plusieurs milliers d'années. Il n'est qu'à observer les différentes évolutions morphologiques de ceux-ci au cours du temps ou la diversité de races existantes pour s'en rendre compte (Rognon *et al.*, 2009). L'évolution de la taille des bovins ou des porcs au cours des différentes périodes de l'histoire en est un exemple. Les bovins et les porcs de l'âge de fer sont de petite taille. Celle des bovins va croître au cours des siècles jusqu'à la fin de l'Empire romain. Cette période marque la fin de l'augmentation de la taille de ces animaux et le retour à des animaux de petite taille au cours de la période médiévale. Depuis, la taille des bovins n'a pas cessé de croître (cf figure 2 « Évolution de la hauteur au garrot des bœufs d'Europe centrale et d'Europe de l'Est » - page suivante) (Duval et Clavel, 2018). Concernant les porcs, une augmentation de la taille adulte entre l'âge de fer et la période romaine a également été observée. Cette période a été suivie d'une diminution de la taille des porcs adultes au IVème siècle. Une nouvelle période de croissance a eu lieu entre le

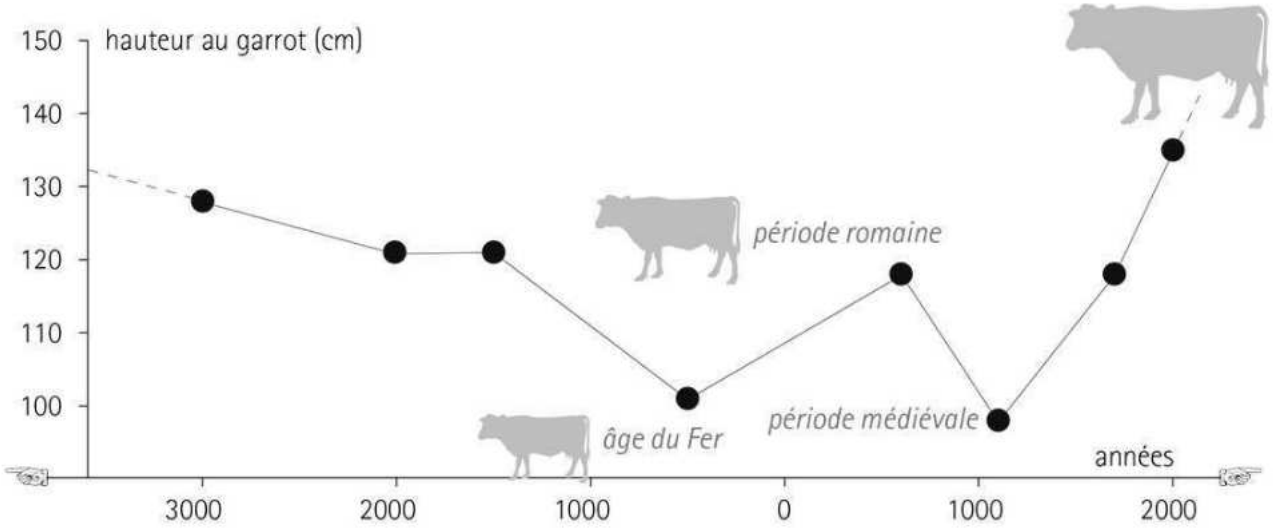


FIGURE 2 – **Évolution de la hauteur au garrot des bœufs d'Europe centrale et d'Europe de l'Est** (Duval, 2017).

VIIème et le Xème siècle, suivie d'une stabilité jusqu'au XIIIème siècle. À partir du XIIIème siècle, la taille des porcs adultes recommence à augmenter (Duval, 2015).

Il est cependant difficile pour ces périodes précoces, jusqu'à la fin du Moyen Âge, d'identifier les facteurs ayant conduit à ces différences de stature. On peut y voir les effets de la place faite à l'élevage au cours de ces différentes périodes : priorité faite aux cultures ou aux troupeaux. Ces différentes priorités jouant *in fine* sur la qualité de l'alimentation fournie aux animaux et sur le choix des animaux que l'on conserve pour la reproduction. Si la priorité est donnée aux cultures, l'alimentation des troupeaux sera de moindre qualité ce qui aura un effet sur la croissance et la stature des individus. Ainsi, de la fin du Moyen Âge au début du XVIIIème siècle, le bétail est décrit comme petit et chétif (Moriceau, 2005a). Lorsque la place de l'élevage redevient importante, alors l'alimentation fournie permet un développement optimum des individus. De plus, l'éleveur mettra un soin particulier à choisir les individus qu'il va conserver pour la reproduction, choix effectué sur des caractéristiques morphologiques selon l'adage « tel père tel fils », incluant éventuellement des animaux provenant d'autres races ou régions.

Les apports de la sélection génétique des animaux. Cependant, on peut considérer que c'est seulement au cours du XVIIIème siècle que la sélection génétique des animaux a débuté. Robert Bakewell, propriétaire et éleveur anglais, utilise la consanguinité pour améliorer ses troupeaux ovins sur des critères adaptés à la production de viande : précocité et vitesse d'engraissement. Il crée ainsi la race ovine New Leicester. Ces travaux ont été à l'origine de la création des livres généalogiques, livres qui vont permettre le contrôle des races (Jussiau *et al.*, 1999). Par la suite, à la fin du XIXème siècle, les premiers contrôles sur performances sont initiés par des associations d'éleveurs. C'est le cas notamment pour le contrôle laitier en ferme qui débute en 1895 au Danemark, ou le contrôle de la croissance et de la qualité de carcasse des porcs qui débute en 1907 également au Danemark (Jussiau *et al.*, 2013).

Il faut attendre la moitié du XXème siècle pour que les concepts de génétique quantitative développés par J.L. Lush (1896-1982) soient appliqués à la sélection des animaux d'élevage. Dans son ouvrage « Animal breeding plans », publié en 1937, il aborde alors les notions d'héritabilité (au sens génétique $h^2 = \sigma^2_A/\sigma^2_P$), de valeur génétique et de méthodes de sélection (Jussiau *et al.*, 2013).

Cela se traduit en France par l'adoption de la loi sur l'élevage en 1966 portant sur l'amélioration de la qualité et des conditions d'exploitation du cheptel bovin, porcin, ovin et caprin.

Cette loi fonde l'organisation de l'amélioration génétique des animaux d'élevage en France et organise entre autres le contrôle de performances, le contrôle de filiation, le calcul des valeurs génétiques et l'agrément des reproducteurs. Cette loi a permis la mise en place de structures mutualisées dédiées à la sélection animale. L'organisation au niveau de l'amélioration génétique du porc a reposé principalement sur trois entités :

- l'Unité nationale de sélection et de Promotion des Races Agréées (UPRA) porcine, remplacée par l'Agence de la Sélection Porcine (ASP) en 1994, chargée de la gestion des livres généalogiques et des informations zootechniques ;
- l'Institut Technique du Porc (ITP), remplacé par l'Institut technique de recherche et de développement de la Filière Porcine (IFIP) depuis 2006, chargé entre autres de l'organisation du contrôle des performances. Ces mesures étant effectuées en ferme ou bien dans des stations de contrôle individuel ;
- le département de Génétique Animale de l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), devenue l'Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE) depuis le 1er janvier 2020, chargé de la gestion des bases de données nationales et des évaluations génétiques des animaux (Bidanel *et al.*, 2020).

Depuis, la production de viande porcine française a connu un essor considérable. En 50 ans, la France est passée d'une production familiale et traditionnelle à une production encadrée techniquement et organisée. La production française insuffisante pour subvenir aux besoins nationaux dans les années 60 est maintenant devenue excédentaire. Les outils mis en place dans le cadre de la loi sur l'élevage ont conduit à un accroissement de la production porcine. Les efforts de sélection chez le porc ont porté plus particulièrement sur des caractères de production ou de reproduction. Ces efforts ont permis une très nette amélioration des caractères liés à la production de viande telle que la Teneur en Viande Maigre (TVM) et le Gain Moyen Quotidien (GMQ) ou l'Indice de Consommation (IC), mais ils ont également permis d'accroître la production au travers de l'amélioration de la prolificité des animaux, contribuant ainsi à une augmentation des volumes de production et permettant à la France de dépasser ses besoins et de devenir excédentaire (Bidanel *et al.*, 2020).

L'augmentation de la production et la sélection d'animaux « maigres » ont permis de répondre à la demande croissante du consommateur pour une viande maigre. Cependant, comme nous l'avons vu précédemment, malgré une offre quantitative à prix attractif, la consommation de viande tend à baisser. Le consommateur qui peut désormais accéder à une viande à prix attractif, exprime ses exigences en matière de qualité de produit. Cette exigence nouvelle de la part du consommateur conditionne son acte d'achat, et doit donc être prise en compte par la filière porcine.

Des exigences de qualité

La qualité : une attente aux contours variés. La qualité d'un produit peut être définie comme l'appréciation du produit faite par l'utilisateur en fonction de ses besoins ou attentes. Dans le cadre de la production de viande, l'expression de ces besoins ou attentes peut être formulée par le consommateur ou par l'industriel qui utilise la viande en tant que matière première. Les critères associés à la qualité du produit peuvent donc être variés. Pour l'industrie (abattage, découpe, transformation), les critères relatifs à l'aspect sanitaire ou à la conformation et la composition de la carcasse sont importants. On parlera alors de qualité de la carcasse.

La qualité des viandes recouvre des aspects plus larges et intéresse transformateurs et consommateurs. Le transformateur attend une viande de grande qualité sanitaire, mais exprime également des attentes au niveau de la qualité technologique des viandes, c'est-à-dire

la capacité de celle-ci à être transformée. Le consommateur quant à lui projette ses attentes en terme de qualité sanitaire bien sûr, mais également en terme de qualité nutritionnelle, qualité sensorielle (couleur, texture, flaveur) et même de qualité d'image. Cette dernière recouvre toute une gamme d'attentes relatives aux conditions d'élevage, au bien-être animal et à l'impact environnemental de l'ensemble de la filière (Lebret, 2004). Cette qualité d'image, que nous pourrions appeler qualité « éthique », est d'ailleurs la première raison invoquée par les personnes ne consommant plus de viande (végétarien, végétalien et végan), tandis que les personnes ayant réduit leur consommation de viande (flexitarien) citent des motivations relatives à l'éthique en deuxième position derrière des motivations de santé humaine : « Il vaut mieux manger moins de viande pour être en bonne santé » (FranceAgriMer, 2019b; Mano *et al.*, 2018).

Cette exigence nouvelle de la part du consommateur conditionne l'acte d'achat. Elle se doit donc d'être prise en compte par l'ensemble de la filière afin d'offrir à la vente un produit répondant aux exigences de qualité recherchée par le consommateur.

Une sélection sur la qualité de la carcasse qui a impacté la qualité des viandes. Longtemps, la qualité de la production de viande porcine a été vue par le prisme de la qualité de carcasse, aboutissant à la sélection d'animaux « maigres ». De ce point de vue, la sélection a été efficace puisque, comme le montre une expérimentation menée par Tribout *et al.* (2004) dans le début des années 2000 dans la race Large White (LW), la TVM et l'épaisseur de lard dorsal ont évolué de manière significative en 20 ans avec une augmentation de la première et une diminution de la seconde. Cependant, cette sélection, basée sur la croissance et le rendement de carcasse en muscle, s'est faite au détriment de la qualité des viandes de porc (Tribout *et al.*, 2004; Lonergan *et al.*, 2001; Schwab *et al.*, 2006).

La qualité de la viande est un caractère complexe. Celle-ci revêt un aspect important pour la transformation par l'industriel et pour la satisfaction du consommateur. Il est donc nécessaire de conjuguer les exigences de qualité des différents acteurs. D'une part les éleveurs/producteurs qui recherchent un animal possédant une forte croissance et des rendements de carcasse élevés, d'autre part les industriels et consommateurs qui recherchent une viande de haute qualité technologique et sensorielle.

La qualité technologique d'une viande se définit comme la capacité que possède la viande à subir des transformations. Cette capacité, qui influence le rendement de transformation de la matière première (rendement de cuisson, rendement de tranchage...), est primordiale pour l'industrie de la charcuterie qui transforme plus de 70 % de la production porcine en une multitude de produits cuit ou sec. La qualité sensorielle, quant à elle, tient compte de la flaveur, la couleur, l'odeur et l'aspect du produit. Ces caractéristiques sont déterminantes dans l'acte d'achat du consommateur. Ces deux composantes de la qualité ont donc un impact économique important. La maîtrise de la qualité de la viande de porc est donc devenue dans les années 80, une des préoccupations majeures de la filière porcine (Lebret, 2004).

Améliorer la qualité des viandes. La qualité des viandes est le résultat d'une interaction entre des facteurs environnementaux tels que la conduite d'élevage, le transport ou les conditions d'abattage, et des facteurs génétiques. Il est possible d'améliorer la qualité de la viande de porc en optimisant les conditions d'élevage et les conditions péri-abattage. Cependant, malgré de nombreuses études s'intéressant aux facteurs de risque, la qualité de la viande demeure hétérogène.

L'héritabilité des critères de qualité de la viande de porc est faible à moyenne (0,10 à 0,30) (Ciobanu *et al.*, 2011). L'obtention d'un progrès génétique par sélection est donc possible. Cependant, il n'existe pas à l'heure actuelle de prédicteur fiable de la qualité de la viande mesurable *in vivo*. La sélection ne peut donc se faire que par un contrôle sur performance effectué sur des collatéraux des candidats à la sélection. La qualité de la viande de porc est donc

un caractère sur lequel le gain de progrès génétique attendu par l'application d'une sélection génique ou d'une sélection assistée par marqueurs pourrait en théorie être substantiel (Elsen, 2011, 2000).

L'étude de la variabilité génétique d'un caractère peut conduire à l'identification de *locus* contrôlant ce caractère (Quantitative Trait Loci (QTL)). Cependant, la détection des polymorphismes causaux des effets observés reste un problème majeur du fait de la taille des QTL détectés qui peuvent comporter plusieurs centaines de gènes chacun. L'utilisation conjointe de données phénotypiques et de données d'expression génique devrait permettre de préciser les mécanismes sous-jacents aux caractères étudiés et ainsi permettre d'affiner la position de la région d'intérêt. Les outils de post–génomique (transcriptomique, protéomique) offrent via ces phénotypes intermédiaires (ou endophénotypes) la possibilité d'accéder à une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires sous-jacents à la construction de la qualité. Ainsi, l'identification de nouveaux prédicteurs de la qualité des viandes (biomarqueurs mesurables *in vivo*) devrait permettre d'améliorer notablement la réponse à la sélection. Enfin, la fixation de génotypes favorables à des *loci* influençant fortement la qualité de la viande (gène majeurs ou QTL) pourrait permettre d'homogénéiser les caractéristiques de la viande produite. Il serait alors plus facile d'optimiser les conditions environnementales afin d'obtenir au final un produit le plus homogène possible pour le transformateur et le consommateur.

Objectifs des travaux de thèse.

C'est dans ce contexte que se positionnent les travaux de cette thèse. Ils visent à mieux comprendre le déterminisme génétique des caractères de la qualité de la viande de porc. Ces travaux s'appuient sur les données issues du programme ANR GENMASCQ (`https://anr.fr/Projet-ANR-06-PNRA-0025`) et visent à mieux appréhender les processus biologiques conduisant à la variabilité des facteurs de qualité et à fournir de nouveaux outils (prédicteurs biologiques de la qualité, marqueurs génétiques) pour la sélection et le contrôle de ces caractères.

La première partie de ce document présentera les différents aspects de la qualité de la viande de porc (Chapitre 1 « La qualité de la viande : un caractère complexe » - page 21), l'anatomie des tissus musculaires (Chapitre 2 « Du muscle .. » - page 35) et les processus *post–mortem* conduisant à la transformation des muscles en viande (Chapitre 3 « ... à l'élaboration des qualités sensorielles et technologiques des viandes » - page 65). Différents facteurs influençant la qualité des viandes seront ensuite présentés (Chapitre 4 « La qualité de la viande : un caractère multifactoriel » - page 91). Enfin, le chapitre intitulé « Les apports de la génétique » (Chapitre 5 - page 119) présentera les approches de génétique quantitative permettant l'analyse de la variabilité génétique des caractères complexes ainsi que les évolutions génétiques de la qualité des viandes dans la filière porcine.

Dans une deuxième partie, après une présentation du dispositif expérimental et des données générées dans le cadre du programme GENMASCQ, je présenterai les résultats des analyses génétiques et transcriptomiques réalisées. L'intérêt de celles-ci réside dans une approche combinant une détection de QTL basée sur des mesures physico-chimiques associées à la qualité de viande et une détection de QTL d'expression de gène (eQTL) basée sur des données issues de l'analyse du transcriptome de deux muscles majeurs pour la valorisation de la carcasse du porc : le muscle *longissimus dorsi* (LM) qui représente la longe et les produits vendus en découpe de viande fraîche ; le muscle *semimembranosus* (SM) qui représente les viandes transformées (jambon).

Bibliographie

J. Beauchamp : La vie des hommes de la Préhistoire, oct. 2008. URL https://www.u-picardie.fr/beauchamp/conferences/La_vie.html. Consulté le 13 mai 2020. 3

V. Bellemain, K. Boquet, T. Galichet, K. Gouello, A. Martin, D. Nairaud et J.-P. Boutonnet : *Une petite histoire de l'alimentation française - Auteur Véronique Bellemain - Quae.com*. Hors-Collection. Quae, quae édn, 2017. ISBN 978-2-7592-2719-8. URL http://www.quae.com/fr/r5170-une-petite-histoire-de-l-alimentation-francaise.html. 5, 6, 7

J.-P. Bidanel, P. Silalahi, T. Tribout, L. Canario, A. Ducos, H. Garreau, H. Gilbert, C. Larzul, D. Milan, J. Riquet, S. Schwob, M.-J. Mercat, C. Hassenfratz, A. Bouquet, C. Bazin et J. Bidanel : Cinquante années d'amélioration génétique du porc en France : bilan et perspectives. *INRAE Productions Animales*, 33(1):1–16, jan. 2020. ISSN 2273-7766. URL https://hal.inrae.fr/hal-02569226. 9

E. Birlouez : La viande dans les cultures alimentaires : du désir au tabou. *Médecine & Nutrition*, 48(4):38–42, 2012. ISSN 0398-7604, 2110-5405. URL https://doi.org/10.1051/mnut/201248406. 3, 4, 5

V. Bouvard, D. Loomis, K. Z. Guyton, Y. Grosse, F. E. Ghissassi, L. Benbrahim-Tallaa, N. Guha, H. Mattock et K. Straif : Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *The Lancet Oncology*, 16(16):1599–1600, déc. 2015. ISSN 14702045. URL https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)00444-1. 6

D. C. Ciobanu, S. M. Lonergan et E. J. Huff-Lonergan : Genetics of Meat Quality and Carcass Traits. *In The Genetics of the pig*, p. 355–390. CABI, 2nd édn, 2011. ISBN 978-1-84593-756-0. 10

C. Duval : *Évolution et diversité de la forme du cochon entre l'Âge du Fer et la période moderne en Gaule et en France. Régionalisme, acquisitions zootechniques et implications historiques.* Thèse de doctorat, Université François – Rabelais de Tours, 2015. 8

C. Duval : La taille du bétail est loin d'être un détail. Lire les paysages économiques et culturels à travers la morphologie animale. *Les nouvelles de l'archéologie*, -(148):56–61, sept. 2017. ISSN 0242-7702. URL https://doi.org/10.4000/nda.3730. 8

C. Duval et B. Clavel : Bœufs gaulois et bœufs français : morphologies animales et dynamiques économiques au cours de La Tène et des périodes historiques. *Gallia. Archéologie*

des Gaules, 75(75):141–171, déc. 2018. ISSN 0016-4119. URL https://doi.org/10.4000/gallia.3904. 7

J.-M. Elsen : Sélection et introgression assistées par marqueurs. *INRA Productions Animales*, 2000. URL https://hal.inrae.fr/hal-02691053. 11

j. M. Elsen : Sélection sur gènes et sélection assistée par marqueurs. *INRA Productions Animales*, 24(4), 2011. URL https://prodinra.inra.fr/ft?id={D5505805-03B1-4202-BD0F-899638AFB77B}&original=true. tex.ids= elsen_SelectionGenesSelectionAssisteeParMarqueurs_2011a. 11

A. Fouquet : L'évolution de la demande viande en quantité et en qualité. *Économie rurale*, 85(1):165–176, 1970. URL https://doi.org/10.3406/ecoru.1970.4261. 5

FranceAgriMer : Consommation des produits carnés en 2018. Rap. tech., FranceAgriMer, 2019a. URL https://www.franceagrimer.fr/fam/content/download/62489/document/STA-VIA-Consommation%20des%20produits%20carn%C3%A9s%20en%202018.pdf. 6

FranceAgriMer : Panorama végétarisme en Europe.pdf. Rap. tech., FranceAgriMer, oct. 2019b. URL https://www.franceagrimer.fr/fam/content/download/62309/document/11_Synth%C3%A8se%20Panorama%20v%C3%A9g%C3%A9tarisme%20en%20Europe.pdf. 7, 10

R. Jussiau, L. Montméas et J.-C. Parot : L'élevage des temps modernes : permanences et mutations. *In L'élevage en France : 10 000 ans d'histoire*, p. 202–205. Educagri Editions, 1999. ISBN 978-2-84444-066-2. 8

R. Jussiau, J. Rigal et A. Papet : Introduction. *In Amélioration génétique des animaux d'élevage*, p. 6–13. Educagri Editions, 2013. ISBN 978-2-84444-929-0. 8

B. Lebret : Conséquences de la rationalisation de la production porcine sur les qualités des viandes. *INRA Productions Animales*, 17(2):79–91, 2004. URL https://hal.inrae.fr/hal-02675693. 10

Y. G. Lepage : Evolution de la consommation d'aliments carnés aux XIXe et XXe siècles en Europe occidentale. *Revue belge de Philologie et d'Histoire*, 80(4):1459–1468, 2002. URL https://doi.org/10.3406/rbph.2002.4680. 5, 6

S. M. Lonergan, E. Huff-Lonergan, L. J. Rowe, D. L. Kuhlers et S. B. Jungst : Selection for lean growth efficiency in Duroc pigs influences pork quality. *Journal of Animal Science*, 79(8):2075–2085, août 2001. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/2001.7982075x. 10

J.-Y. Mano, M. A. Axelos, J.-L. Peyraud, P. Dupraz, I. Veissier, B. Allès, F. Pierre, A. Judas et C. Roturier : Consommer de la viande : des enjeux et des impacts multiples. *Viandes et Produits Carnés*, 2018. URL https://viandesetproduitscarnes.com:443/index.php/fr/955-consommer-de-la-viande-des-enjeux-et-des-impacts-multiples. 10

J.-M. Moriceau : Des caractéristiques physiques : médiocrité et rusticité. *In Histoire et géographie de l'élevage français, du Moyen Âge à la Révolution.*, p. 101–110. Fayard, fév. 2005a. ISBN 2.213.62332.5. 8

J.-M. Moriceau : Du gros bétail. *In Histoire et géographie de l'élevage français, du Moyen Âge à la Révolution.*, p. 111–146. Fayard, fév. 2005b. ISBN 2.213.62332.5. 4, 5

J.-M. Moriceau : Il n'est richesse que des bêtes. *In Histoire et géographie de l'élevage français, du Moyen Âge à la Révolution.*, p. 17–45. Fayard, fév. 2005c. ISBN 2.213.62332.5. 4

J.-M. Moriceau : Le menu bétail : un élevage plus démocratique ? *In Histoire et géographie de l'élevage français, du Moyen Âge à la Révolution.*, p. 147–175. Fayard, fév. 2005d. ISBN 2.213.62332.5. 5

Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) : Production agricole - Consommation de viande - OCDE Data, mai 2020. URL http://data.oecd.org/fr/agroutput/consommation-de-viande.htm. Consulté le 18 mai 2020. 6

Organisation Mondiale de la Santé (OMS) : Le Centre international de Recherche sur le Cancer évalue la consommation de la viande rouge et des produits carnés transformés, oct. 2015. URL http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/cancer-red-meat/fr/. Consulté le 25 mai 2020. 6

X. Rognon, E. Vila et E. Verrier : L'évolution des espèces animales suite à la domestication, conséquences pour les ressources génétiques. *Comptes Rendus de l'Académie d'Agriculture de France*, 94:13–24, 2009. URL https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01193377. 7

C. R. Schwab, T. J. Baas, K. J. Stalder et J. W. Mabry : Effect of long-term selection for increased leanness on meat and eating quality traits in Duroc swine. *Journal of Animal Science*, 84(6):1577–1583, juin 2006. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/2006.8461577x. 10

T. Tribout, J.-C. Caritez, J. Gogué, J. Gruand, M. Bouffaud, Y. Billon, C. Péry, H. Griffon, S. Brenot, M. H. L. Tiran, F. Bussières, P. L. Roy et J.-P. Bidanel : Estimation, par utilisation de semence congelée, du progrès génétique réalisé en France entre 1977 et 1998 dans la race porcine Large White : résultats pour quelques caractères de production et de qualité des tissus gras et maigres. *In 36ème Journées de la Recherche Porcine en France*, p. 275–282, Paris, 2004. URL http://www.journees-recherche-porcine.com/texte/2003/03txtGenetique/g0303.pdf. 10

Première partie

Synthèse bibliographique

Table des matières

1 La qualité de la viande : un caractère complexe 21

Introduction . . . 23

1.1 La qualité : une tentative de définition . . . 23

1.2 Des acteurs aux attentes variées . . . 24

1.2.1 Éleveurs . . . 24

1.2.2 Industriels . . . 24

1.2.3 Consommateurs . . . 25

1.3 La qualité dans la filière viande de porc . . . 25

1.3.1 La qualité de la carcasse . . . 26

1.3.2 La qualité des viandes . . . 26

1.4 Les différentes composantes de la qualité de la viande . . . 26

1.4.1 La qualité sanitaire ou hygiénique . . . 26

1.4.2 La qualité nutritionnelle . . . 28

1.4.3 La qualité technologique . . . 28

1.4.4 La qualité sensorielle . . . 29

1.4.5 La qualité d'image . . . 30

Résumé du chapitre . . . 31

Bibliographie . . . 32

2 Du muscle ... 35

Introduction . . . 39

2.1 Anatomie du tissu musculaire . . . 39

2.1.1 Différents types de muscles . . . 39

2.1.2 La structure du muscle strié squelettique . . . 44

2.1.3 La contraction musculaire . . . 49

2.2 Différents types de fibres musculaires . . . 52

2.2.1 Propriété contractile et capacité de travail . . . 52

2.2.2 Le métabolisme énergétique du muscle . . . 54

2.2.3 Muscles « blancs » ou « rouges » ? . . . 59

Résumé du chapitre . . . 61

Bibliographie . . . 62

3 ... à l'élaboration des qualités sensorielles et technologiques des viandes 65
Introduction . . . 67
3.1 La transformation du muscle en viande . . . 67
3.1.1 Installation de la *rigor mortis* ou rigidité cadavérique . . . 67
3.1.2 Le stress oxydatif . . . 69
3.1.3 La maturation de la viande : la protéolyse *post-mortem* . . . 70
3.2 Implication pour le développement de la qualité des viandes . . . 75
3.2.1 Effet sur la qualité technologique des viandes : le pouvoir de rétention d'eau (PRE) . . . 75
3.2.2 Effet sur les qualités sensorielles des viandes . . . 76
3.2.3 Quel lien avec la structure du muscle ? . . . 78
3.3 Des indicateurs de qualités . . . 79
3.3.1 La mesure du pH . . . 80
3.3.2 L'estimation de la couleur . . . 81
3.3.3 Conséquence pour les débouchés des viandes . . . 82
3.3.4 Le cas particulier de la viande déstructurée . . . 82
Résumé du chapitre . . . 83
Bibliographie . . . 85

4 La qualité de la viande : un caractère multifactoriel 91
Introduction . . . 93
4.1 Les modes d'élevage . . . 93
4.2 L'alimentation . . . 94
4.2.1 L'effet du rationnement . . . 94
4.2.2 Modification du taux et de la composition en lipides . . . 95
4.2.3 Supplémentation en antioxydant . . . 96
4.2.4 Modification du taux de glycogène musculaire . . . 99
4.3 Les conditions *péri-mortem* . . . 100
4.3.1 La mise à jeun . . . 100
4.3.2 Le mélange des groupes sociaux . . . 101
4.3.3 Le transport . . . 102
4.3.4 L'attente en stabulation à l'abattoir . . . 103
4.3.5 Les techniques d'étourdissement . . . 103
4.3.6 Les procédures *post-mortem* . . . 104
4.4 Les traitements technologiques . . . 107
Résumé du chapitre . . . 108
Bibliographie . . . 109

5 Les apports de la génétique 119
Introduction . . . 123
5.1 Les outils de la génétique . . . 123
5.1.1 Les bases de la génétique quantitative . . . 123
5.1.2 Deux niveaux d'information indispensables . . . 125
5.1.3 L'approche positionnelle : cartographie génétique de QTL . . . 127
5.1.4 L'approche fonctionnelle : le gène candidat fonctionnel . . . 133

5.1.5 Des approches non-exclusives 134
5.2 État des lieux pour la filière porcine 135
5.2.1 Les objectifs de sélection 135
5.2.2 Évolution génétique des caractères sélectionnés 136
5.2.3 L'identification de gènes causaux relatifs à la qualité des viandes 140
Résumé du chapitre 143
Bibliographie 144

CHAPITRE 1

La qualité de la viande : un caractère complexe



Sommaire

Introduction **23**
1.1 La qualité : une tentative de définition **23**
1.2 Des acteurs aux attentes variées **24**
1.2.1 Éleveurs 24
1.2.2 Industriels 24
1.2.3 Consommateurs 25
1.3 La qualité dans la filière viande de porc **25**
1.3.1 La qualité de la carcasse 26
1.3.2 La qualité des viandes 26
1.4 Les différentes composantes de la qualité de la viande **26**
1.4.1 La qualité sanitaire ou hygiénique 26
1.4.1.1 Les risques biologiques 27
1.4.1.2 Les risques chimiques 27
1.4.1.3 La maîtrise du risque sanitaire 27
1.4.2 La qualité nutritionnelle 28
1.4.3 La qualité technologique 28
1.4.4 La qualité sensorielle 29
1.4.5 La qualité d'image 30
Résumé du chapitre **31**
Bibliographie **32**

Figures

1.1 Attentes du consommateur en matière de qualité alimentaire. 25
1.2 Relation entre les qualités des viandes et les signes de qualité alimentaire. . . 31

Tableaux

1.1 Apports nutritionnels pour 100 g de viande. 28

Introduction

Longtemps, la préoccupation première de la filière « viande » a été de produire en quantité suffisante afin de répondre à la demande de consommation et ainsi de subvenir aux besoins de l'alimentation humaine. Lorsque cet approvisionnement a été garanti, les préoccupations du consommateur et donc de la filière se sont tournées vers des aspects plus qualitatifs.

La qualité des viandes est un caractère complexe. Les critères de jugement de la qualité sont par essences variables, car ils dépendent de « qui » s'exprime.

Après une définition de la qualité des produits alimentaires, ce chapitre abordera les attentes des différents acteurs (de l'éleveur au consommateur) et détaillera les différentes composantes de la qualité des viandes.

1.1 La qualité : une tentative de définition

La qualité d'un produit. La qualité d'un produit correspond à l'ensemble des caractéristiques qui font que l'utilisateur de celui-ci va décréter que ce produit est « bon ». C'est-à-dire, ce qui fait que ce produit corresponde à ses attentes, qu'il remplisse l'ensemble des critères ou caractéristiques que dans son idée il lui associe. La qualité d'un produit se définit donc comme la capacité du produit à répondre aux attentes ou aux besoins de l'utilisateur aussi variés, soient-ils ! Les caractéristiques attendues peuvent être objectives et mesurables mais également subjectives et renvoyer à des notions personnelles telles que le bon ou le beau.

La qualité d'un produit peut se définir de manière objective dans le sens ou elle peut s'appuyer sur des normes ou des certifications. Cependant, la notion de qualité englobe également des aspects qui peuvent être implicites, voire subjectifs : « La qualité que je suis en droit d'attendre ! », ce qui rend le concept de qualité très personnel et dépendant notamment du profil de l'utilisateur ou du consommateur.

La qualité des produits alimentaires. S'agissant de produits de consommation alimentaires, la qualité peut se formuler autour de plusieurs axes formalisés par les « 4 S » et les « 2 R ». Les « 4 S » correspondent aux attentes en terme de *Sécurité* sanitaire et hygiénique des aliments, de *Santé* sur le plan des apports nutritionnels, de *Satisfaction* organoleptique ou de *Saveur* et de *Service* pour ce qui est de la facilité de préparation et du prix. Les « 2 R » quant à eux représentent la *Régularité* du produit, c'est-à-dire la constance de qualité ou d'absence de « mauvaise » surprise et le *Rêve*, qui est un terme qui regroupe tous les aspects psychologiques associés au produit avec en particulier l'image de l'élevage, les contraintes environnementales, le bien-être animal... (Lebret, 2004).

Les attentes des différents acteurs différeront en fonction de leur rôle ou niveau d'intervention dans la filière : production, transformation, distribution, consommation. Ces attentes pourront s'appuyer sur des critères objectifs définis par l'application de normes ou certifications spécifiques à cette filière tels que la certification Agriculture Biologique (AB) ou la norme ISO 22000 (International Organization for Standardization) pour ce qui concerne la sécurité sanitaire des aliments. Ces attentes pourront également dépendre de critères subjectifs puisqu'elles découleront entre autres des habitudes alimentaires, habitudes qui peuvent relever d'une région géographique ou d'une ethnie, ou des interdits alimentaires qui relèveront d'aspects religieux, philosophiques ou de santé.

1.2 Des acteurs aux attentes variées

S'agissant de la qualité des produits carnés, les différents intervenants peuvent être regroupés en trois catégories, chacun ayant ses propres attentes et donc sa propre définition de la qualité (Lebret et Picard, 2015) :

- les éleveurs ;
- l'industrie ;
- les consommateurs.

Les principales attentes de ces trois catégories vont être passées en revue.

1.2.1 Éleveurs

Les éleveurs ont une place particulière dans cette liste dans le sens où ils ne sont pas les utilisateurs du produit, mais les producteurs. Ils sont cependant les premiers concernés par la qualité des produits carnés, car ils se doivent de fournir un produit correspondant aux attentes de leurs acheteurs afin d'optimiser la valeur commerciale de leurs animaux. À l'exception des éleveurs qui font de la transformation et de la vente « à la ferme » et sont en lien direct avec les attentes des consommateurs, les éleveurs se doivent de produire des animaux correspondant aux attentes des filières de l'industrie agro-alimentaire et en premier lieu aux attentes des « abatteurs ». De ce point de vue, outre la qualité sanitaire des animaux, la qualité du produit correspond principalement à la qualité de carcasse des animaux et plus exactement à la teneur en muscle de la carcasse étant donné qu'il s'agit de la partie valorisée de la carcasse (Lebret et Faure, 2015).

1.2.2 Industriels

Les industries agro-alimentaires pour la filière viande peuvent se distinguer en trois sous-catégories : les *« abatteurs »*, les *« transformateurs »* et les *« distributeurs »*. Dans tous les cas, ces acteurs sont à des positions intermédiaires de la chaîne qui va de l'éleveur au consommateur. Ils seront donc concernés par la qualité au titre d'utilisateurs du produit et de producteurs d'un produit ce qui implique qu'ils doivent exprimer leurs attentes en tant qu'utilisateurs du produit et tenir compte des attentes de leurs clients.

Outre la mise à mort de l'animal, le rôle de l'*abatteur* est de fournir des pièces de découpe pour les acteurs de la vente de produits frais ou pour l'industrie de transformation. Ces préoccupations au niveau de la qualité, en tant qu'utilisateur, concerneront donc les aspects sanitaires, mais également les aspects de qualité de carcasse lui permettant de valoriser au mieux son produit. En tant que producteur, il doit porter une attention particulière aux qualités attendues par ces acheteurs à savoir garantir la qualité de la viande et non plus de la carcasse (Lebret et Faure, 2015).

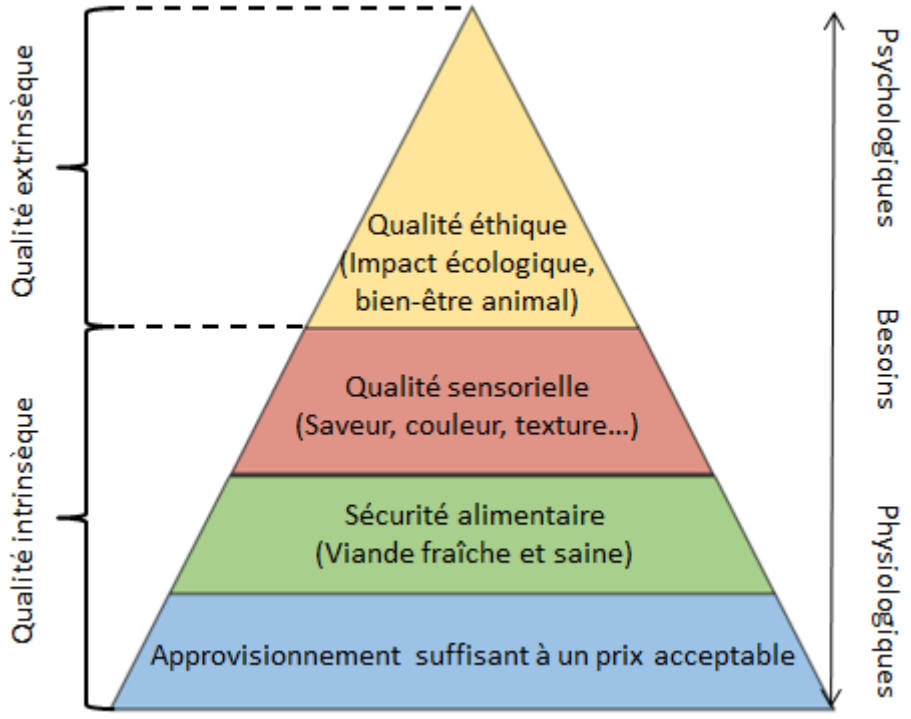
Le *transformateur* quant à lui s'intéresse aux qualités de la viande sous deux points de vue. Du point de vue de l'utilisateur, il va plus particulièrement se préoccuper des qualités technologiques de la viande, c'est-à-dire la capacité de celle-ci à subir une transformation. Du point de vue du producteur, il va s'attacher à garantir des qualités de viandes correspondant aux attentes des consommateurs (Lebret et Faure, 2015).

Le *distributeur* quant à lui va porter une attention particulière aux attendus des consommateurs, mais a également des attentes concernant le temps et les conditions de conservation et de stockage par exemple. La qualité globale du produit sera estimée par rapport à ce qu'il pourra en tirer financièrement et en terme d'image (Becker, 2002).

1.2.3 Consommateurs

Les attentes du consommateur concernent une grande variété d'attributs de la qualité de la viande, que ce soient les qualités intrinsèques de la viande en tant qu'aliment (nutritionnelle, sanitaire, sensorielle) ou bien les qualités extrinsèques relatives à l'image de la production de viande. Ces aspects sont au cœur des attentes des consommateurs et deviennent donc des préoccupations des industriels de l'agro-alimentaire. Pour une partie d'entre elles, ces attentes sont implicites, en particulier en ce qui concerne la qualité sanitaire des aliments. Le consommateur attend de l'industrie agro-alimentaire qu'elle produise une alimentation assurant un niveau de qualité sanitaire et nutritionnelle suffisant (Lebret et Faure, 2015; Becker, 2002).

L'importance relative de ces différentes attentes du consommateur dépend bien évidemment du contexte économique et social dans lequel le consommateur se situe. Elles ont donc évolué dans le temps, mais sont également variables en fonction des conditions socio-économiques des régions considérées. Ainsi, comme l'illustre la figure 1.1 « Attentes du consommateur en matière de qualité alimentaire », ci-dessous, la première des préoccupations est la disponibilité en quantité et à un prix acceptable de la viande. Cette exigence permet de répondre à un besoin physiologique de nourriture. Lorsque ce besoin de base est rempli, d'autres préoccupations sont exprimées, telles que les besoins de sécurité alimentaire, les attentes en matière de qualités sensorielles ou encore les préoccupations philosophiques et éthiques (écologie, bien-être animal) (Purslow, 2017).



.

FIGURE 1.1 – **Attentes du consommateur en matière de qualité alimentaire** (sous la forme d'une pyramide des besoins). Adapté de Purslow (2017) & Lebret et Picard (2015)

1.3 La qualité dans la filière viande de porc

Comme nous venons de le voir, deux aspects de la qualité sont évoqués dans la filière viande : *la qualité des carcasses* qui importe aux producteurs et aux abatteurs et *la qualité des viandes* qui est une préoccupation des industriels de la transformation et des consommateurs.

1.3.1 La qualité de la carcasse

La qualité des carcasses relève de mesures et de caractéristiques objectives. Elle comprend principalement deux aspects : l'aspect sanitaire et la composition de la carcasse. La qualité sanitaire se rapporte à la présence ou non d'éléments pathogènes (essentiellement bactériens). La composition de la carcasse correspond principalement au poids relatif de muscle et de gras dans celle-ci (Lebret, 2004; Lebret et Faure, 2015).

La pesée et le classement des carcasses sont régis par des réglementations et textes spécifiques européens ou nationaux. Elle s'effectue sur une carcasse dont certaines pièces anatomiques ont déjà été retirées, notamment la panne qui correspond au tissu adipeux abdominal. Le classement des carcasses est déterminé par une estimation du TVM, c'est-à-dire une estimation du pourcentage de viande maigre. Ce critère, appelé Taux de Muscle des Pièces (TMP) en France, correspond au taux de muscle des 4 principales pièces que sont le jambon, la longe, l'épaule et la poitrine. Ce TMP ou TVM est calculé à partir de mesures d'épaisseurs de gras et de muscle à différentes positions anatomiques dépendant de l'outil de mesure utilisé. Ces mesures peuvent s'effectuer de manière manuelle à l'aide d'une réglette ou bien de manière plus automatique avec des appareils à ultrasons ou des analyses d'image (voir Annexe A : Sites de mesure pour l'estimation du TMP - page 307) (Daumas, 2006; FranceAgriMer, 2016).

La qualité des carcasses revêt une importance particulière pour la filière puisque ce critère détermine, avec le poids de la carcasse, la base de calcul du paiement des éleveurs (Lebret et Picard, 2015).

1.3.2 La qualité des viandes

La qualité des viandes est une préoccupation majeure des transformateurs et des consommateurs. Elle recouvre des aspects qui peuvent être évalués de manière objective, car quantifiables tels que la qualité sanitaire, nutritionnelle, technologique ou sensorielle (au moins pour la texture) et des aspects, qui seront évalués de manière plus subjective, parmi lesquels on retrouve la qualité sensorielle pour la flaveur et la qualité d'image qui concerne le point de vue citoyen du consommateur sur l'éthique de l'élevage, le bien-être animal ou l'impact environnemental des productions animales.

Ces différents aspects seront évoqués plus en détail dans la section suivante.

1.4 Les différentes composantes de la qualité de la viande

Comme évoqué ci-dessus, la qualité des viandes regroupe cinq aspects différents :

- la qualité sanitaire ou hygiénique ;
- la qualité nutritionnelle ;
- la qualité technologique ;
- la qualité sensorielle ;
- la qualité d'image.

Chacun de ces aspects, qui pour la plupart peuvent être évalués de manière objective, va maintenant être évoqué.

1.4.1 La qualité sanitaire ou hygiénique

La qualité sanitaire a déjà été évoquée. Il s'agit de garantir un approvisionnement en viande ne mettant pas en danger la santé humaine. Concernant la viande, les risques sanitaires se

situent à deux niveaux : les *risques biologiques* et les *risques chimiques*. Dans ces deux cas, l'évaluation de la qualité sanitaire s'appuie sur des mesures ou observations objectives. Il s'agit de respecter des critères et des seuils imposés par la législation.

1.4.1.1 Les risques biologiques

Les risques biologiques sont dus à la présence d'éléments pathogènes dans la viande crue. Ces éléments pathogènes peuvent être de différents types :

- virus tel que le virus de l'hépatite E que l'on peut retrouver dans le foie des animaux (le porc notamment) et qui peut traverser la barrière d'espèce ;
- parasites avec par exemple *Taenia solium* ;
- prions ;
- bactéries : *Campylobacter*, *Clostridium*, *Escherichia coli* STEC (Shiga toxin–producing *Escherichia coli*), *Staphylococus*, *Listeria*, *Salmonella*...

La consommation de viande cuite peut dans certains cas limiter le risque d'infection alimentaire. Cependant, en cas de cuisson insuffisante ou en présence de bactéries pouvant sporuler (*Clostridium*), la cuisson ne peut empêcher l'infection alimentaire voire l'intoxication alimentaire si des bactéries produisant des toxines (salmonelle, *Escherichia coli* entéropathogènes, staphylocoques, *Clostridium*...) sont présentent dans l'aliment consommé. Les risques de présence d'éléments pathogènes dans la viande, ne tient pas seulement au risque de présence de ceux-ci dès l'élevage, mais également au risque de contamination par des personnes manipulant la viande (Warriner et Namvar, 2017).

1.4.1.2 Les risques chimiques

Les risques de contamination chimique de la viande recouvrent un large panel de substances. Ce panel va des éléments provenant du processus d'élevage (résidus de médicament vétérinaire ou de pesticide) aux contaminants environnementaux (métaux lourds) en passant par les contaminants apportés par les processus de transformation (cuisson, emballage...). Dans la plupart des cas, ces résidus ou polluants chimiques se retrouvent principalement dans le foie, les reins ou le tissu adipeux. S'agissant des résidus médicamenteux, la principale cause de présence de résidus dépassant la limite maximale autorisée dans la viande est le non-respect du temps d'attente entre la dernière administration du médicament et l'abattage de l'animal. La présence de résidus médicamenteux représente un risque sanitaire (effet toxique ou allergisant), mais a également un impact économique, les résidus de médicaments pouvant avoir un effet sur le mode de conservation ou de transformation du produit lorsque celui-ci met en jeu des procédés de fermentation (Moreno et Lanusse, 2017).

1.4.1.3 La maîtrise du risque sanitaire

Afin de maîtriser la qualité sanitaire des viandes et ainsi de remédier à ces risques, les services vétérinaires réalisent des contrôles systématiques *ante* et *post-mortem* (site du Ministère de l'agriculture et de l'alimentation). Parallèlement, la démarche HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point), « Analyse des risques et points critiques pour leur maîtrise », a été imposée dans les abattoirs en France ainsi qu'aux États-Unis en 1996. L'objectif de cette démarche est d'identifier les risques biologiques, chimiques, physiques ou allergènes liés à la production agro-alimentaire afin d'en contrôler l'incidence par l'élimination du risque ou sa réduction à un niveau acceptable (Lebret, 2004; Warriner et Namvar, 2017). Cette démarche a

été renforcée par la création en 2005 de la norme ISO 22000 relative à la sécurité des denrées alimentaires.

1.4.2 La qualité nutritionnelle

La qualité nutritionnelle d'un aliment correspond à sa capacité à apporter les nutriments indispensables au consommateur. Au même titre que la qualité sanitaire, la qualité nutritionnelle de la viande peut être évaluée de manière objective par la quantification des divers éléments la composant. La qualité nutritionnelle de la viande tient dans son apport en protéines à haute valeur biologique, c'est-à-dire contenant les acides aminés essentiels. Ces acides aminés essentiels ne peuvent être synthétisés par l'homme. La consommation de viande garantie également des apports en lipides, vitamines (A, B, C, D, E) et minéraux (Lebret et Picard, 2015).

Comme l'illustre le tableau 1.1 « Apports nutritionnels pour 100 g de viande », la teneur en protéines et la composition en acides aminés de celle-ci est relativement constante d'une espèce à l'autre, ce qui n'est pas le cas pour les lipides ou micro nutriments. En moyenne, 100 g de viande fournissent 20 g de protéines et 8 g de lipides. Comparée à d'autres sources de protéines, la viande est l'aliment apportant le plus d'acides aminés essentiels devant les œufs et le lait. La quantité ainsi que la composition des lipides en Acides Gras Saturés (AGS), Acides Gras Mono Insaturés (AGMI) et Acides Gras Poly Insaturés (AGPI) est extrêmement variable d'une espèce à l'autre. Le bœuf et le mouton étant les deux viandes les plus grasses, et la dinde et le poulet les viandes les plus maigres. Enfin, la viande est une source importante de vitamines et particulièrement de vitamine B12 présente exclusivement dans les aliments d'origine animale, et de minéraux essentiels tels que le fer, le zinc ou le sélénium, nutriments dont la quantité et la biodisponibilité sont plus importantes que dans les autres sources d'aliments (Pereira et Vicente, 2017).

	Bœuf	**Poulet**	**Porc**	**Dinde**	**Mouton**	**Lapin**	**Canard**	**Moyenne**
Énergie (kcal)	234	111	143	119	243	136	132	160
Protéines (g)	18,7	20,3	21,4	21,8	17,5	20	18,3	20
Lipides (g)	17,1	2,7	5,7	2,9	18,7	5,5	5,9	8
AGS (g)	6,9	0,7	1,9	0,9	8,1	1,7	2,3	3
AGMI (g)	7,4	0,8	2,6	0,6	7,6	1,5	1,5	3
AGPI (g)	0,6	0,7	0,6	0,8	1,5	1,1	0,7	1

Tableau 1.1 – **Apports nutritionnels pour 100 g de viande** d'après Pereira et Vicente (2017). AGS (Acides Gras Saturés) ; AGMI (Acides Gras Mono Insaturés) ; AGPI (Acides Gras Poly Insaturés))

1.4.3 La qualité technologique

La qualité technologique des viandes concerne en premier lieu les transformateurs. Leurs besoins correspondent à un approvisionnement homogène en viande montrant une bonne aptitude à la transformation de produits : cuisson, séchage, tranchage... Une viande ayant de bonnes qualités technologiques est une viande qui va pouvoir être transformée sans risquer de diminuer

le rendement de transformation. Le transformateur s'intéressera donc particulièrement aux aspects touchant à la structure de la viande, la teneur et la composition en lipides, ou encore le Pouvoir de Rétention en Eau (PRE) (Lebret et Faure, 2015). Les critères d'évaluation de la qualité technologique dépendront des différents processus de production mis en œuvre.

Pour les produits qui devront subir une cuisson, la qualité technologique sera fortement liée au PRE, c'est-à-dire la capacité qu'a la viande à retenir l'eau présente dans les tissus musculaires.

En ce qui concerne les produits crus destinés à la conservation par salage ou par séchage, les critères de qualité technologique correspondent à la capacité de pénétration du sel dans la viande dans le premier cas et à la fermeté des tissus gras dans le second cas. Le second point important pour les produits destinés à la salaison ou au séchage correspond à la limitation de l'oxydation des acides gras pendant la conservation (Lebret, 2004).

Le tranchage des produits est une problématique importante dans l'industrie agro-alimentaire. Dans ce cadre, la qualité technologique des viandes correspond à l'absence de défaut structurel du muscle pouvant résulter, après cuisson, en une perte de cohésion de la viande aboutissant à des pertes élevées lors du tranchage mécanique. On parle alors de viande déstructurée (Franck *et al.*, 1999).

Si en ce qui concerne le PRE des caractéristiques physico-chimiques (pH, couleur de la viande) permettent d'effectuer un tri objectif des produits (Lebret et Picard, 2015), ce n'est pas le cas pour la viande déstructurée. Ce défaut, touchant les muscles profonds de la jambe, n'est apparent qu'après désossage de la jambe (Franck *et al.*, 1999).

1.4.4 La qualité sensorielle

Comme son nom l'indique, la qualité sensorielle dépend de la perception que le consommateur a du produit au travers de ses sens et plus particulièrement au travers de la vue, de l'odorat et du goût. Elle recouvre plusieurs aspects concernant des caractéristiques appréciées, avec en premier lieu la vue, puis l'odeur, auxquelles s'ajoutent des critères associés à la sensation en bouche : la flaveur, la texture. De ce fait, la notion de qualité sensorielle est éminemment subjective (Food and Agriculture Organization of the Unatided Nations (FAO), 2014). Toutefois, ces qualités peuvent être évaluées expérimentalement par la mise en place de jurys entraînés qui évaluent les différents critères ou bien à l'aide de mesures physiques pour la couleur et la tendreté notamment (Lebret et Picard, 2015).

Ces qualités sensorielles sont fortement influencées par les caractéristiques du tissu musculaire. Elles dépendent en grande partie du type de fibres musculaires qui composent le muscle, de son métabolisme énergétique, des lipides contenus dans les muscles ainsi que des conditions *peri-mortem* (Hocquette *et al.*, 2000; Lebret, 2004)

L'aspect visuel de la viande est important. Il s'agit du premier contact du consommateur avec le produit. L'aspect visuel se rapporte à la perception que le consommateur a de la fraîcheur et de la qualité sanitaire, voire nutritionnelle de la viande. Un morceau de viande de couleur inhabituelle ou bicolore, une proportion trop importante de gras visible, ou encore la présence d'exsudat important (viande suintante) peuvent avoir un impact négatif sur la perception du consommateur et donc sur son choix de consommer ou non cette viande. L'aspect visuel de la viande est fortement dépendant de la couleur qui est fonction de la teneur du muscle en pigment, de l'état d'oxydation de ces pigments et de la répartition des tissus gras dans la viande (aspect persillé de la viande) (Lebret et Picard, 2015).

L'odeur est une perception qui sera associée à la fraîcheur et à la bonne qualité sanitaire du produit. Elle doit permettre de différencier les espèces, mais doit être homogène au sein d'une même espèce (Food and Agriculture Organization of the Unatided Nations (FAO), 2014). L'odeur de la viande pourra dépendre du statut sexuel de l'animal (femelle, mâle entier ou

castré), mais également de l'état de conservation de la viande et de l'oxydation des lipides contenus dans celle-ci.

Les critères sensoriels suivants sont perçus lorsque la viande est consommée. Les aspects liés à la texture de la viande apparaissent à la mastication. Ils sont associés à la tendreté de la viande qui correspond à la facilité avec laquelle la viande est mastiquée ou coupée et à la jutosité de la viande qui reflète le caractère sec de la viande. La jutosité participe également à la perception de la flaveur qui est une perception sensorielle qui fait intervenir le goût et l'odorat. Ces perceptions sont fortement liées au PRE, aux lipides et aux composés aromatiques libérés au cours de la cuisson (Lebret et Picard, 2015).

1.4.5 La qualité d'image

Lorsqu'il achète de la viande, le consommateur achète non seulement un aliment comportant notamment des caractéristiques sanitaires, nutritionnelles, sensorielles (qualités intrinsèques), mais également une représentation de cette nourriture liée aux conditions d'élevage, à l'environnement ou au bien-être animal (qualités extrinsèques) (cf figure 1.1 « Attentes du consommateur en matière de qualité alimentaire » - page 25). Longtemps en achetant et consommant de la viande, il s'offrait une représentation de pouvoir, de puissance, de classe sociale. De nos jours, pour une partie des consommateurs, l'acte d'achat de nourriture n'est pas dissocié de questionnements relatifs aux notions d'humanité et d'éthique. La qualité d'image correspond à cette part d'imaginaire achetée en même temps que la nourriture. Pour répondre à ces exigences, les filières de production de produits carnés s'appuient sur un ensemble de signes de qualité alimentaire privés (marques) ou officiels (labels, appellations). Ces derniers ont été élaborés au niveau national et au niveau européen. Les relations entre ces différents signes de qualité alimentaire et les qualités des viandes qui leur sont associées sont illustrées dans la figure 1.2 « Relation entre les qualités des viandes et les signes de qualité alimentaire » page suivante (Lebret et Picard, 2015; Lebret *et al.*, 2015)

Parmi ces signes officiels de qualité, les plus anciens sont des appellations nationales. L'AOC (Appellation d'Origine Contrôlée) a ainsi été créée dès 1935 afin de protéger le marché du vin, cette appellation a été élargie à l'ensemble des produits alimentaires en 1990. Le « Label Rouge », sans doute le signe de qualité français le plus connu, a été créé dès les années soixante. Il désigne un produit de qualité supérieure tant du point de vue de la qualité sensorielle que technologique (cf figure 1.2). Il est garanti par un cahier des charges qui précise notamment les conditions d'élevage à respecter.

Au niveau européen, il existe quatre signes officiels de qualité : AOP (Appellation d'Origine Protégée) ; IGP (Indication Géographique Protégée) ; STG (Spécialité Traditionnelle Garantie) ; AB (Agriculture Biologique). Les trois premières appellations ont été créées en 1992. Les appellations AOP et IGP garantissent un lien entre le produit et le terroir (cf figure 1.2). La qualité associée aux produits sous appellation AOP ou IGP résulte du savoir-faire de ce terroir. L'appellation STG, quant à elle, garantit le processus de fabrication du produit selon un mode traditionnel (Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF), 2019; Institut national de l'origine et de la qualité (INAO), 2020).

Ces appellations (AOC, AOP, IGP, STG) garantissent toutes au consommateur un savoir-faire et/ou un terroir qui répond à une attente en matière de qualité sensorielle. Cependant, elles ne répondent pas aux préoccupations « éthiques » des consommateurs qui mettent en avant l'effet des productions animales sur l'environnement au travers notamment de la production de gaz à effet de serre, la consommation d'Organismes Génétiquement Modifiés (OGM) ou le bien-être des animaux (Mano *et al.*, 2018). Ces deux derniers points sont en revanche pris en compte dans la certification AB qui impose un mode de production prenant en compte la préservation des ressources naturelles dans une approche agro-écologique, qui exclut l'utilisation

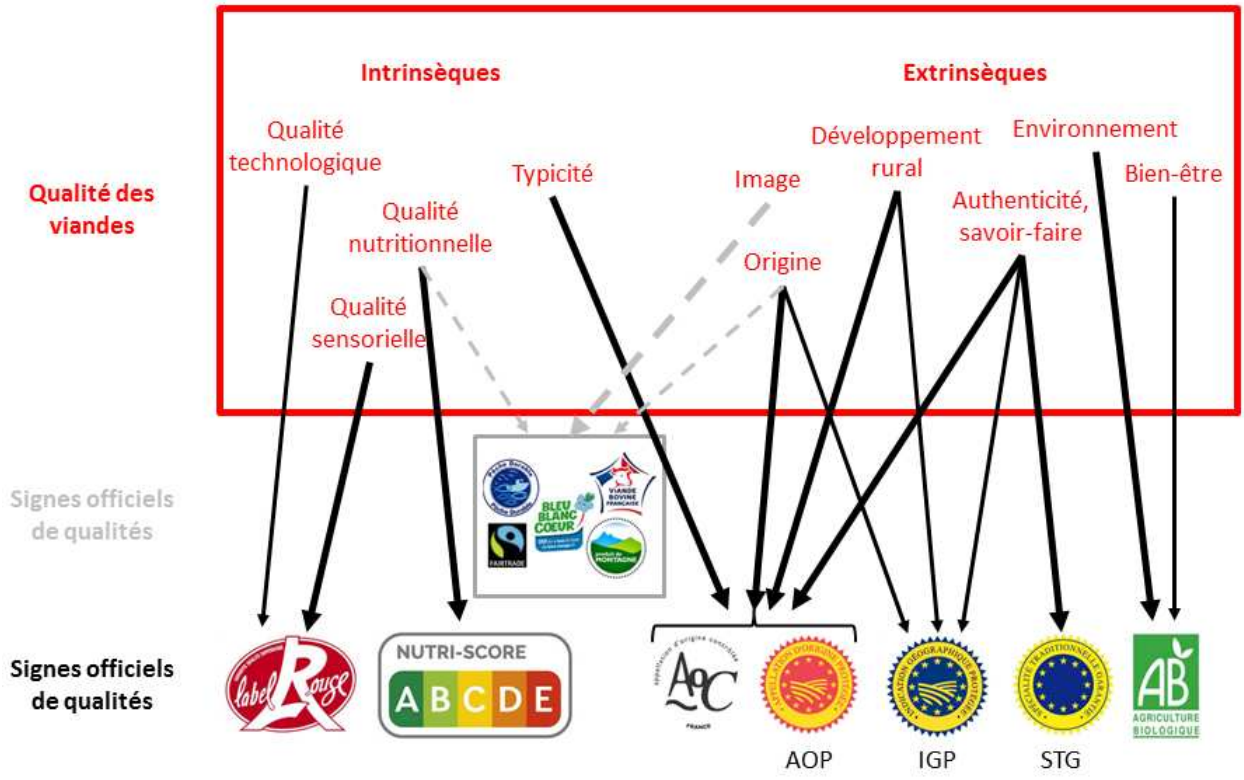


FIGURE 1.2 – **Relation entre les qualités des viandes et les signes de qualité alimentaire**. Adapté de Lebret *et al.* (2015). La taille des flèches représente l'importance relative des dimensions qualitatives garanties aux consommateurs au travers des cahiers des charges et des réglementations.

d'OGM (Institut national de l'origine et de la qualité (INAO), 2020) et qui impose des normes favorables à l'expression des comportements naturels de l'animal (surface disponible, liberté de mouvement, enrichissement du milieu...) (Prunier et Lebret, 2009) (cf figure 1.2).

Résumé du chapitre

Comme nous venons de le voir dans ce chapitre, la qualification qualitative d'un produit dépend des attentes des utilisateurs et du jugement que ceux-ci portent sur les caractéristiques du produit permettant de satisfaire leurs attentes. S'agissant de la qualité des viandes les acteurs concernés sont très variés et vont de l'éleveur, au consommateur en passant par les industriels de la transformation ou de la vente, chacun de ces acteurs exprimant des attentes et des exigences propres vis-à-vis du produit « viande ».

La qualité de la viande est de plus un caractère complexe qui recouvre de multiples aspects relevant de la sécurité alimentaire (sanitaire et nutritionnelle), de la qualité sensorielle (relative à la saveur, la couleur, la texture), de la qualité technologique et enfin de l'éthique entourant les productions animales (bien-être animal, impact économique).

Bibliographie

T. Becker : 2 - Defining meat quality. *In* J. Kerry, J. Kerry et D. Ledward, éds : *Meat Processing*, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, p. 3–24. Woodhead Publishing, jan. 2002. ISBN 978-1-85573-583-5. URL https://doi.org/10.1533/9781855736665.24. 24, 25

G. Daumas : Les nouvelles modalités de classement des porcs. *TechniPorc*, 29(6):23–29, 2006. URL https://www.ifip.asso.fr/sites/default/files/pdf-documentations/tp2006n6daumas.pdf. 26

Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) : Signes officiels de la qualité des produits alimentaires, juil. 2019. URL https://www.economie.gouv.fr/dgccrf/Publications/Vie-pratique/Fiches-pratiques/Signe-de-qualite. Consulté le 11 juin 2020. 30

Food and Agriculture Organization of the Unatided Nations (FAO) : FAO's Animal production and health division : meat & meat products, 2014. URL http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/meat/quality_meat.html. Consulté le 2 avril 2020. 29

FranceAgriMer : Pesée, Classement et Marquage (PCM) des carcasses de porcs. Rap. tech., FranceAgriMer, 2016. URL https://www.franceagrimer.fr/fam/content/download/49247/document/4%20-%20Guide%20PCM%20des%20carcasses%20de%20porcs..pdf. 26

M. Franck, G. Bénard, X. Fernandez, S. Barbry, P. Durand, H. Lagant, G. Monin et C. Legault : Observations préliminaires sur le jambon déstructuré. *In Journées de la Recherche Porcine en France, 31*, p. 331–338, Paris, 1999. URL http://www.journees-recherche-porcine.com/texte/1999/99txtQualite/Q9908.pdf. 29

J. Hocquette, I. Ortigues-Marty, M. Damon, P. Herpin et Y. Geay : Métabolisme énergétique des muscles squelettiques chez les animaux producteurs de viande. *INRAE Productions Animales*, 13(3):185–200, juin 2000. ISSN 2273-7766, 2273-774X. URL https://doi.org/10.20870/productions-animales.2000.13.3.3780. 29

Institut national de l'origine et de la qualité (INAO) : Les signes officiels de la qualité et de l'origine, SIQO, juin 2020. URL https://www.inao.gouv.fr/Les-signes-officiels-de-la-qualite-et-de-l-origine-SIQO. Consulté le 26 juin 2020. 30, 31

B. Lebret et J. Faure : La viande et les produits du porc : comment satisfaire des attentes qualitatives variées ? *INRA Productions Animales*, 28(2):4, 2015. URL https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01211005. 24, 25, 26, 29

B. Lebret et B. Picard : Les principales composantes de la qualité des carcasses et des viandes dans les différentes espèces animales. *INRA Productions Animales*, 28(2):93–98, 2015. URL https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01211003. 24, 25, 26, 28, 29, 30

B. Lebret, S. Prache, C. Berri, F. Lefèvre, D. Bauchart, B. Picard, G. Corraze, F. Médale, J. Faure et H. Alami-Durante : Qualités des viandes : influences des caractéristiques des animaux et de leurs conditions d'élevage. *INRA Productions Animales*, 28 (2):18, 2015. URL https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01211006/document. 30, 31

B. Lebret : Conséquences de la rationalisation de la production porcine sur les qualités des viandes. *INRA Productions Animales*, 17(2):79–91, 2004. URL https://hal.inrae.fr/hal-02675693. 23, 26, 27, 29

J.-Y. Mano, M. A. Axelos, J.-L. Peyraud, P. Dupraz, I. Veissier, B. Allès, F. Pierre, A. Judas et C. Roturier : Consommer de la viande : des enjeux et des impacts multiples. *Viandes et Produits Carnés*, 2018. URL https://viandesetproduitscarnes.com:443/index.php/fr/955-consommer-de-la-viande-des-enjeux-et-des-impacts-multiples. 30

Ministère de l'agriculture et de l'alimentation : Les missions des services de l'État dans les abattoirs, avr. 2016. URL https://agriculture.gouv.fr/les-missions-des-services-de-letat-dans-les-abattoirs. Consulté le 19 juin 2020. 27

L. Moreno et C. Lanusse : 23 - Veterinary drug residues in meat-related edible tissues. *In* P. P. Purslow, éd. : *New Aspects of Meat Quality : From Genes to Ethics*, p. 581–603. Woodhead Publishing, mars 2017. ISBN 978-0-08-100600-9. 27

P. Pereira et F. Vicente : 18 - Meat nutritive value and human health. *In* P. P. Purslow, éd. : *New Aspects of Meat Quality : From Genes to Ethics*, p. 465–477. Woodhead Publishing, mars 2017. ISBN 978-0-08-100600-9. 28

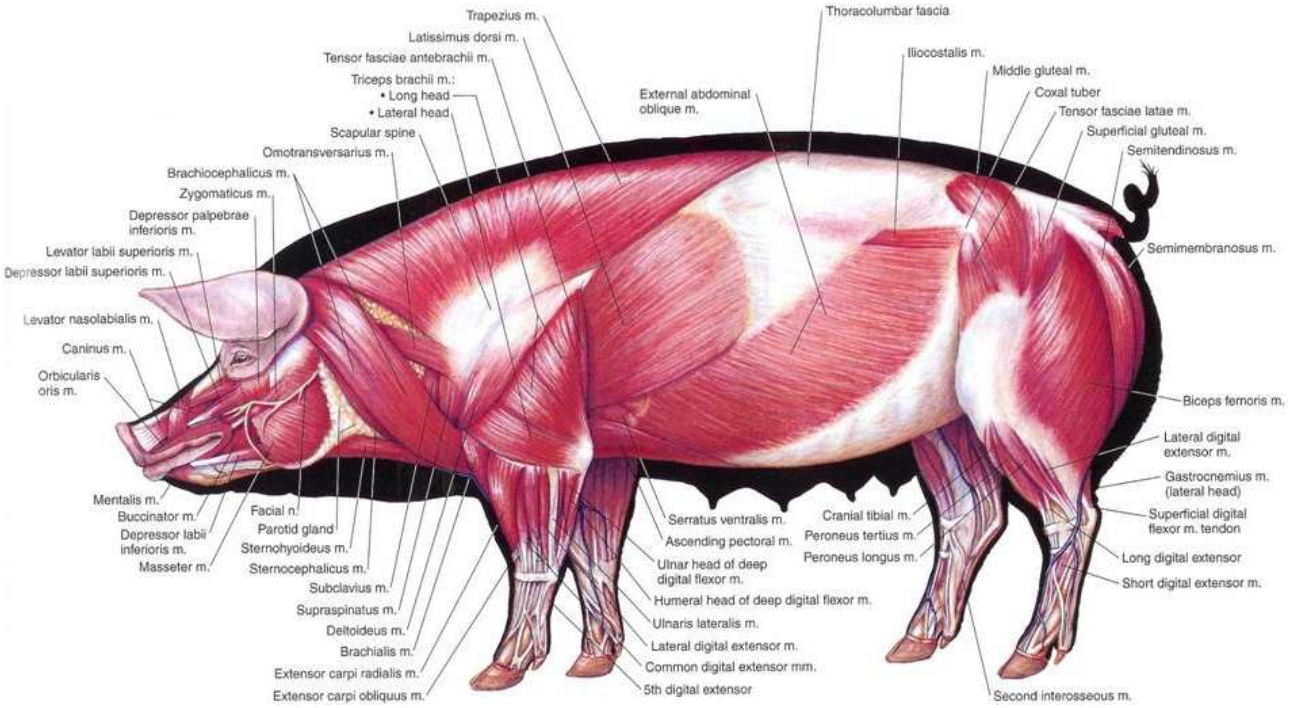
A. Prunier et B. Lebret : La production biologique de porcs en France : caractéristiques des élevages, impacts sur la santé, le bien-être et la qualité des produits. *INRA Productions Animales*, 22(3):197–188, 2009. URL https://hal.inrae.fr/hal-02659114/document. 31

P. P. Purslow : 1 - Introduction. *In* P. P. Purslow, éd. : *New aspects of meat quality : From genes to ethics*, p. 1–9. Woodhead Publishing, mars 2017. ISBN 978-0-08-100600-9. 25

K. Warriner et A. Namvar : 9 - Current challenges in enhancing the microbiological safety of raw meat. *In* P. P. Purslow, éd. : *New aspects of meat quality : From genes to ethics*, p. 191–222. Woodhead Publishing, mars 2017. ISBN 978-0-08-100600-9. 27

CHAPITRE 2

Du muscle ...



https ://www.minipiginfo.com/pig-anatomy-and-terminology.html

Sommaire

Introduction **39**
2.1 Anatomie du tissu musculaire **39**
2.1.1 Différents types de muscles 39
2.1.1.1 Les muscles lisses 40
2.1.1.2 Le muscle strié cardiaque 41
2.1.1.3 Les muscles striés squelettiques 42
2.1.2 La structure du muscle strié squelettique 44
2.1.2.1 Au niveau macroscopique : le muscle 44
2.1.2.2 Au niveau cellulaire : la myofibre 45
2.1.2.3 Microstructure d'un sarcomère 46
2.1.2.4 Protéines du cytosquelette et transmembranaires 48
2.1.3 La contraction musculaire 49
2.1.3.1 La contraction sarcomérique 49
2.1.3.2 Le couplage excitation-contraction : cycle du calcium 50
2.1.3.3 Le cycle de la contraction : cycle de la myosine 51
2.2 Différents types de fibres musculaires **52**
2.2.1 Propriété contractile et capacité de travail 52
2.2.1.1 Le type contractile : fibre rapide ou lente ? 52
2.2.1.2 Capacité de travail : puissance de contraction et fatigue contractile. 54
2.2.2 Le métabolisme énergétique du muscle 54
2.2.2.1 Le Métabolisme anaérobie alactique ou voie des phosphagènes. 55
2.2.2.2 Le métabolisme anaérobie lactique ou métabolisme glycolytique 56
2.2.2.3 Le métabolisme oxydatif 58
2.2.3 Muscles « blancs » ou « rouges » ? 59
Résumé du chapitre **61**
Bibliographie **62**

Figures

2.1 Les différents types de muscles. 39
2.2 Structure du muscle lisse. 40
2.3 Structure et contraction de la cellule musculaire du muscle lisse. 41
2.4 Structure d'un cardiomyocite. 42
2.5 Structure du muscle squelettique. 43
2.6 Structure d'une myofibre ou rhabdomyocyte. 45
2.7 Structure d'un sarcomère. 46
2.8 Structure d'un filament d'actine. 47
2.9 Structure d'un filament de myosine. 48
2.10 Liaison des myofibrilles à la membrane plasmique 49
2.11 Mécanisme de contraction des sarcomères. 50
2.12 Cycle de contraction de la myosine. 52
2.13 Stade actif et contraction des fibres rapides et lentes. 53
2.14 Puissance de tension des fibres rapides, intermédiaires et lentes. 54

2.15 Renouvellement des ATP en fonction du métabolisme énergétique. 56
2.16 Caractéristiques biologiques des muscles rouges et blancs. 61

Tableaux

2.1 Caractéristiques des trois types de muscles composant le système musculaire. 44
2.2 Caractéristiques biologiques des quatre types de fibres musculaires. 60

Introduction

Outre l'élevage, la production de viande repose sur la transformation *post-mortem* du muscle en viande. C'est à dire la transformation de tissus vivants et fonctionnels (principalement les muscles squelettiques) en nourriture (la viande).

Après une présentation des différents types de muscle composant le système musculaire, ce chapitre détaillera la complexité structurale du muscle squelettique strié, le mécanisme de contraction et les différents métabolismes énergétiques mis en œuvre.

2.1 Anatomie du tissu musculaire

Les muscles sont majoritairement composés de cellules musculaires contenant des myofibres (ou fibres musculaires) permettant la contraction du muscle. Leur fonction première est la production de mouvement.

2.1.1 Différents types de muscles

Il existe trois catégories de muscles dans le système musculaire (figure 2.1 « Les différents types de muscles » - ci-dessous) :

- les muscles lisses autour des organes creux ;
- le muscle strié cardiaque ;
- les muscles striés squelettiques reliés aux éléments du squelette.

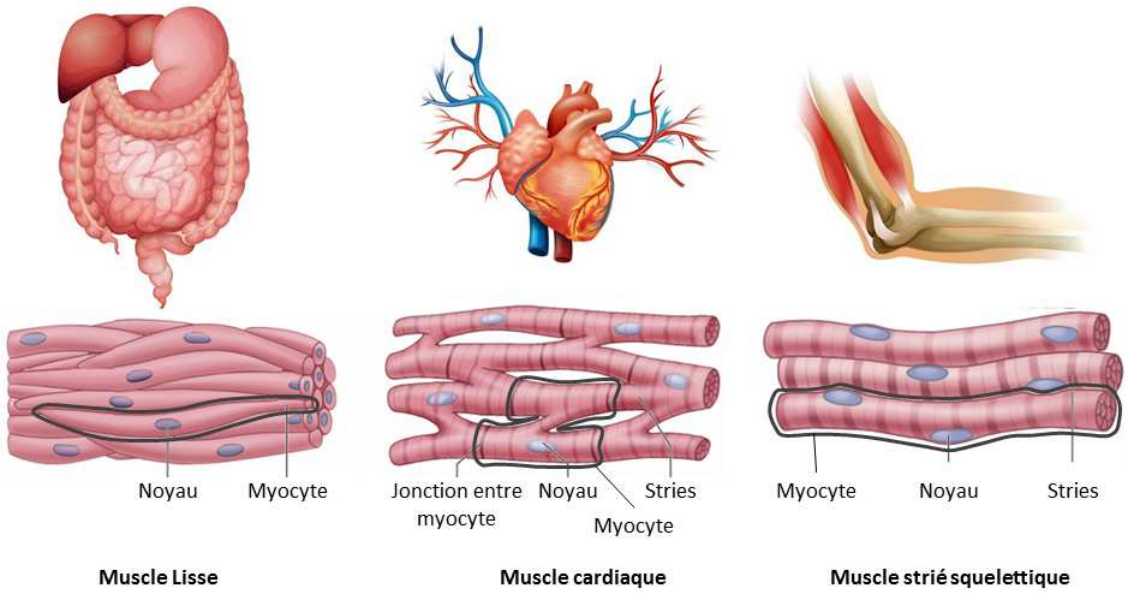


FIGURE 2.1 – **Les différents types de muscles.** Adapté de brainkart.com consulté le 28 octobre 2020.

Ceux-ci se distinguent par leur rôle fonctionnel, leur structure et le type de cellules qui les composent. Dans cette section, les caractéristiques de ces trois types de muscles vont être présentées.

2.1.1.1 Les muscles lisses

Les muscles lisses tapissent les parois des organes creux (vessie, tube digestif, voies respiratoires, utérus...) et sont sous la dépendance du système nerveux végétatif. La contraction de ces muscles est donc involontaire.

Ils ont pour fonction de contracter ou de dilater les organes qu'ils entourent afin :

- de les adapter à leur environnement :
  - adaptation à la luminosité (constriction ou dilatation de l'iris) ;
  - accommodation visuelle (changement de forme du cristallin) ;
  - maintien de la pression artérielle (constriction ou dilatation des vaisseaux sanguins)...
- de contrôler le mouvement (empêcher le passage, laisser passer, voire expulser) le contenu de ces organes :
  - péristaltisme du tube digestif (bol alimentaire) ;
  - dilatation ou contraction des bronches (air) ;
  - vésicule biliaire (bile) ;
  - contraction de l'utérus (fœtus)...

Conformément à leur fonction, les contractions des muscles lisses sont lentes (20 à 50 fois plus lentes que pour les muscles striés) et peuvent selon les cas être composées d'alternance de contraction et de relâchement (péristaltisme du tube digestif, mise bas) ou être soutenues et de longue durée (contraction de l'iris ou accommodation dans la vision de près).

Les muscles lisses sont composés de cellules musculaires, ou « myocytes », mononucléées, courtes (100 à 300 μm de long et 2 à 5 μm de diamètre), de type fusiforme, appelées « léiomyocytes ». Ces cellules sont assemblées en couches circulaires et longitudinales autour de l'organe dont ils composent la paroi (figure 2.2 « Structure du muscle lisse » - ci-dessous).

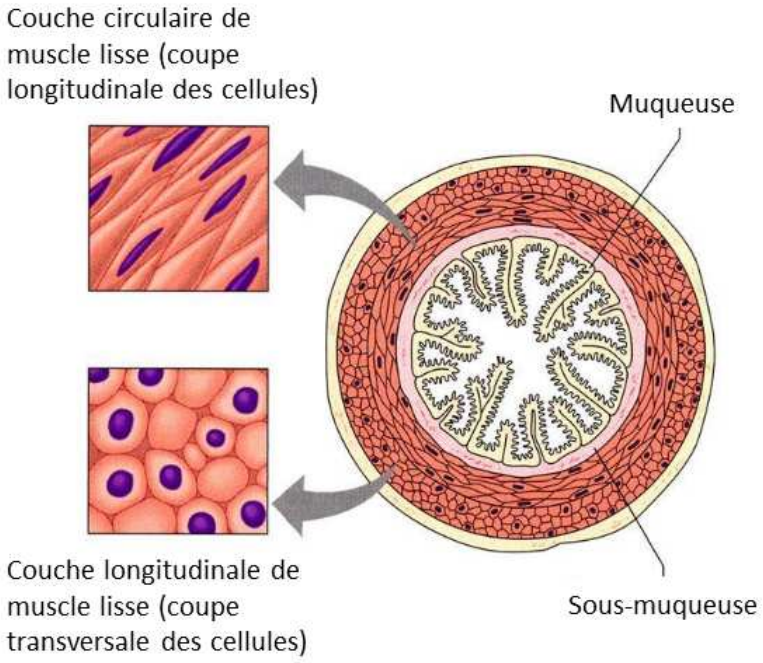


FIGURE 2.2 – **Structure du muscle lisse.** D'après ifsidijon consulté le 28 octobre 2020.

Les « myofilaments », filaments contractiles composés principalement d'actines pour les filaments fins ou de myosines pour les filaments épais, contenus dans les léimyocites sont assemblés de manière longitudinale et ancrés sur des « corps denses » qui, pour une partie d'entre eux, sont

associés à la membrane plasmique de la cellule musculaire également appelée « sarcolemme ». Cette organisation particulière des myofilaments octroie aux léimyocites une capacité importante de contraction et d'étirement correspondant aux besoins de certains organes pouvant être soumis à des variations importantes de volume tel que la vessie ou l'estomac (cf figure 2.3 « Structure et contraction de la cellule musculaire du muscle lisse » - ci-dessous) (Gilles et Anctil, 2006; Tortora et Derrickson, 2017).

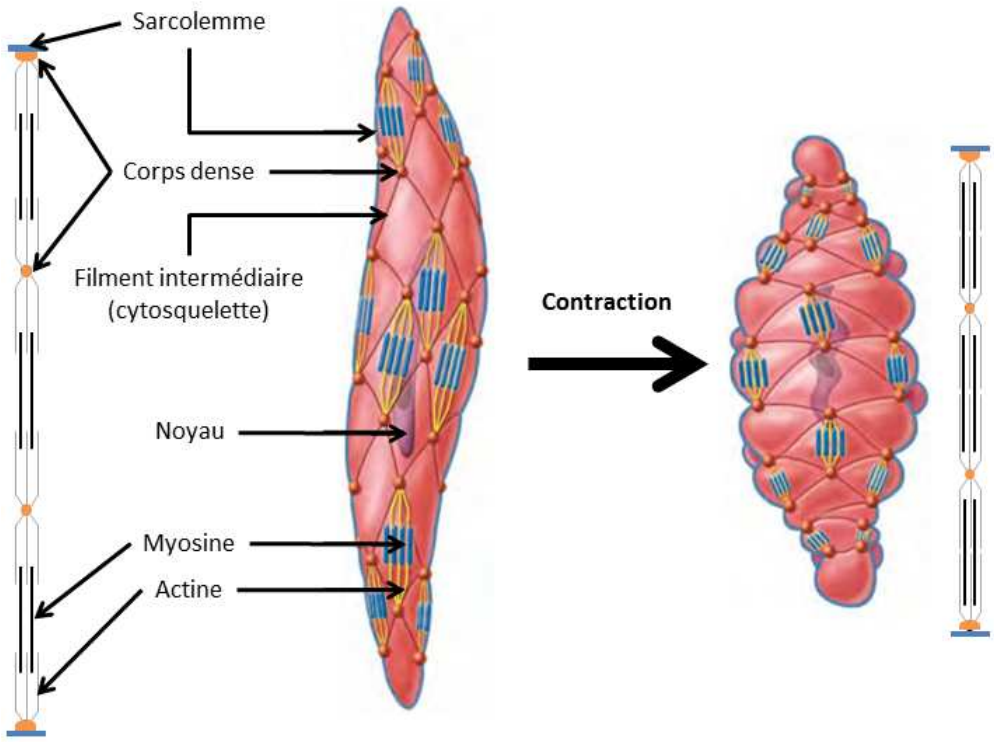


FIGURE 2.3 – **Structure et contraction de la cellule musculaire du muscle lisse.** Adapté de Tortora et Derrickson (2017).

2.1.1.2 Le muscle strié cardiaque

Le muscle cardiaque ou myocarde forme les parois des cavités cardiaques et assure par ses contractions le déplacement du sang dans l'ensemble de l'organisme. Les contractions rythmiques et coordonnées des différentes parties du cœur sont assurées de manière autonome par le « tissu nodal ». Chez les vertébrés, le tissu nodal est constitué de cellules musculaires modifiées, ce qui leur permet de générer, de manière totalement autonome, une excitation électrique rythmée permettant les contractions du cœur. Cependant, comme le muscle lisse, le myocarde est également sous le contrôle du système nerveux végétatif qui peut soit accélérer, soit diminuer la fréquence des contractions (Gilles et Anctil, 2006).

Les cellules du myocarde ou « cardiomyocytes » sont courtes (100 à 150 μm de long et 10 à 25 μm de diamètre), mononucléées et possèdent une forme cylindrique. Leurs extrémités sont ramifiées ce qui leur permet d'être en connexion avec plusieurs cardiomyocytes adjacents et de former un réseau tridimensionnel (cf figure 2.1 « Les différents types de muscles » - page 39 et figure 2.4 « Structure d'un cardiomyocite » (a) - page suivante) permettant une propagation efficace de l'onde électrique d'excitation.

Le noyau est en position centrale, tandis que les mitochondries, qui occupent 25 à 38 % du cytoplasme ou « sarcoplasme », sont réparties dans la cellule au plus proche des myofilaments. Le réticulum endoplasmique également appelé « réticulum sarcoplasmique », qui permet entre autres, le stockage et la libération du calcium, est relié aux « tubules T » au niveau de

renflements appelés citernes terminales. Ces tubules T ou tubules transversales sont des invaginations du sarcolemme qui relient le milieu extérieur aux fibres musculaires et permettent ainsi la transmission du signal d'excitation musculaire. L'association d'un tubule T et d'une citerne terminale du réticulum sarcoplasmique forme une « diade ». C'est au niveau de ces structures que la transmission du signal électrophysiologique provoquant les contractions musculaires a lieu. Les tubules T et le réticulum sarcoplasmique sont situés en périphérie du cardiomyocyte (cf figure 2.4 « Structure d'un cardiomyocite »(b) - ci-dessous).

Les myofilaments contenus dans les cardiomyocytes sont organisés en unité contractile répétitive : les « sarcomères » (voir section 2.1.2.3 « Microstructure d'un sarcomère » - page 46). Les sarcomères sont limités par un assemblage protéique, dénommés « lignes Z ». Cette organisation en sarcomères, visible au microscope, donne une apparence de stries sur les cellules musculaires d'où le nom de muscle strié (Gilles et Anctil, 2006; Guo et Greaser, 2017; Tortora et Derrickson, 2017).

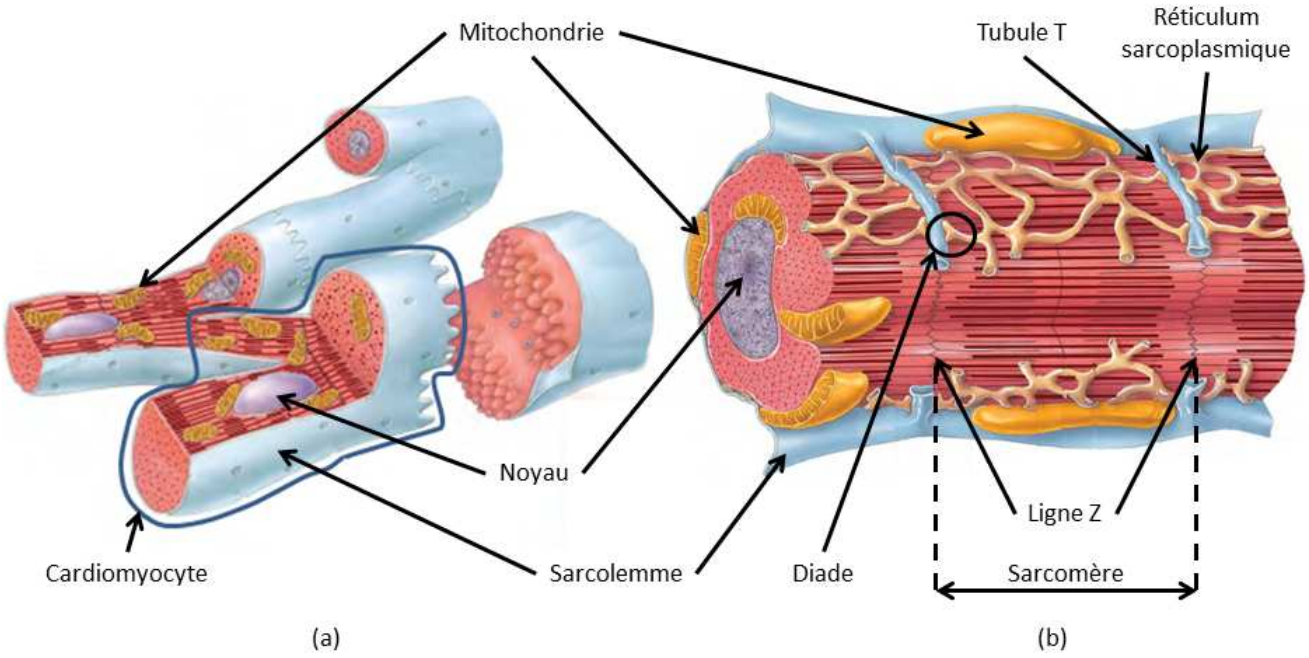


FIGURE 2.4 – **Structure d'un cardiomyocyte.** Adapté de Tortora et Derrickson (2017).

2.1.1.3 Les muscles striés squelettiques

Les muscles squelettiques représentent l'immense majorité (environ 95 %) des plus de 600 muscles qui constituent le système musculaire des animaux élevés pour la production de viande et 35 à 60 % de leur poids vif. Comme leur nom l'indique, les muscles squelettiques sont rattachés au squelette. De manière générale, ils sont rattachés aux os par des tendons. Ils permettent le maintien postural, le déplacement ou tout autre mouvement impliquant la mobilité de pièces anatomiques. La contraction de ces muscles est volontaire et sous la dépendance du système nerveux somatique (Gilles et Anctil, 2006; Listrat *et al.*, 2015, 2016).

Ces muscles représentent une grande diversité de localisation et de fonction. Le corollaire de cette diversité est la variabilité des vitesses et forces de contraction que peuvent développer ces différents muscles. Celles-ci dépendent grandement des isoformes des fibres contractiles qui les composent et qui sont adaptées au rôle que doit jouer le muscle. Ainsi certains muscles squelettiques développent une contraction lente et de faible puissance, mais montrent une grande résistance à la fatigue tandis que d'autres muscles se contractent rapidement, développent une grande puissance de contraction, mais sont très sensibles à la fatigue (Gilles et Anctil, 2006; Listrat *et al.*, 2016).

Les muscles striés squelettiques sont constitués de fibres musculaires ou myofibres, qui occupent 75 à 90 % du volume musculaire, de tissus conjonctifs, mais aussi de tissus adipeux, de tissus vasculaires et nerveux. Les myofibres, appelées également « rhabdomyocytes », sont les cellules musculaires du muscle squelettique. Elles sont recouvertes de tissu conjonctif, l'« endomysium », et sont regroupées en faisceaux de 20 à 40 myofibres, eux-mêmes recouverts de tissu conjonctif, le « périmysium ». L'ensemble de ces faisceaux de myofibres, entourés de tissu conjonctif, « epimysium », forment le muscle. Aux extrémités du muscle, le tissu conjonctif se densifie et constitue le tendon qui attache le muscle à l'os (cf figure 2.1 « Les différents types de muscles » - page 39 et figure 2.5 « Structure du muscle squelettique » - ci-dessous) (Gilles et Anctil, 2006; Guo et Greaser, 2017; Tortora et Derrickson, 2017).

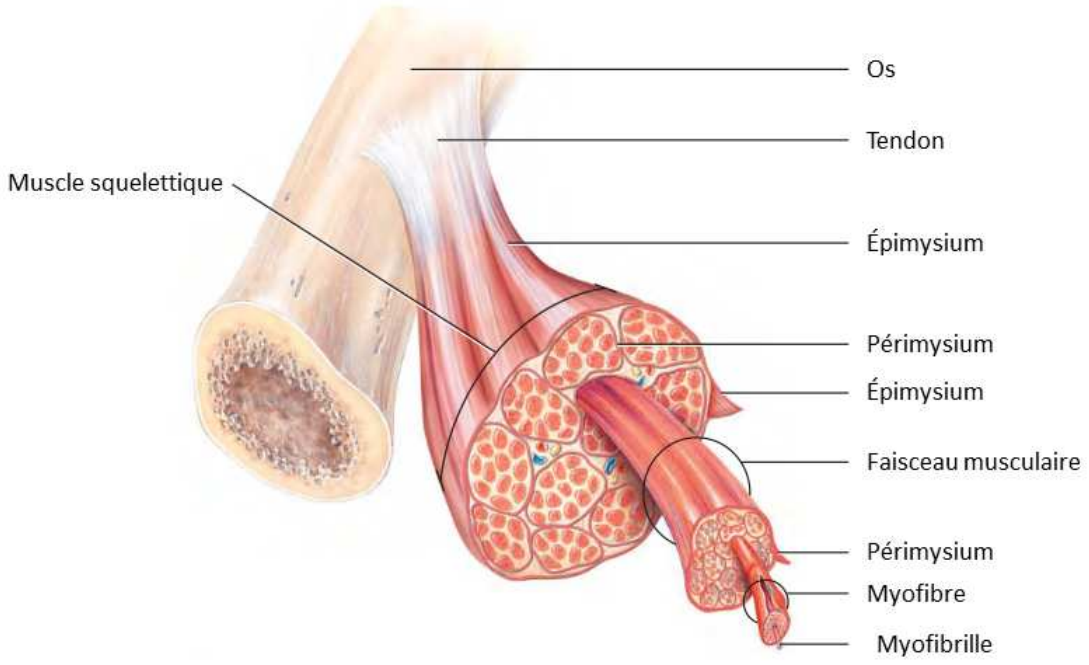


FIGURE 2.5 – **Structure du muscle squelettique** (Tortora et Derrickson, 2017).

Les myofibres se présentent sous la forme de longs fuseaux cylindriques d'un diamètre de 10 à 100 μm et dont la longueur peut atteindre plusieurs dizaines de centimètres. Ces myofibres sont des « syncytiums », c'est-à-dire des cellules multinuclées issues de la fusion de centaines de cellules précurseurs des cellules musculaires. Comme dans les cardiomyocytes, les « myofibrilles » des rhabdomyocytes sont organisées en sarcomères ce qui leur donne cet aspect strié (voir section 2.1.2.3 « Microstructure d'un sarcomère » - page 46) (Gilles et Anctil, 2006; Lefaucheur, 1989; Listrat *et al.*, 2015, 2016; Tortora et Derrickson, 2017).

Comme le résume le tableau 2.1 « Caractéristiques des trois types de muscles composant le système musculaire », page suivante, ces trois types de muscles se distinguent par leur rôle fonctionnel, leur structure, le type de cellules musculaires qui les composent, le type contractile et le système nerveux qui les gouverne.

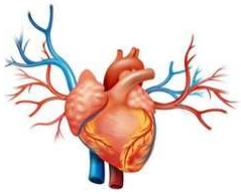
Caractéristiques	Type de muscle		
	Muscle lisse 	**Muscle strié cardiaque** 	**Muscle strié squelettique** 
Localisation	Viscères Vaisseaux sanguins Iris de l'œil	Cœur	Muscles locomoteurs
Système nerveux	Système nerveux végétatif	Système nerveux végétatif	Système nerveux somatique
Contraction	Lente Involontaire	Modérée Involontaire	Lente à rapide Volontaire
Cellules			
Forme	Fusiforme	Cylindrique ramifiée	Cylindrique
Noyau	Unique centré	Unique centré	Multiple en périphérie
Longueur	100 à 300 μm	100 à 150 μm	100 μm à 30 cm
Largeur	2 à 5 μm	10 à 25 μm	10 à 100 μm
Unité contractile	Organisée entre deux corps denses	Organisée en sarcomère	Organisée en sarcomère

TABLEAU 2.1 – **Caractéristiques des trois types de muscles composant le système musculaire.**

2.1.2 La structure du muscle strié squelettique

Comme cela a été évoqué dans le paragraphe précédent les muscles squelettiques représentent la majorité des muscles constituant le système musculaire des animaux de boucherie (environ 95 %) et 35 à 60 % de leur masse. Ils représentent également la grande majorité des tissus musculaires consommés sous forme de viande. Ils sont constitués d'environ 73 % d'eau, 20 % de protéines et 1 à 6 % de lipides (Lefaucheur, 1989; Listrat *et al.*, 2015, 2016). La plus grande partie de l'eau contenue dans les muscles (85 %) se situe dans les espaces intra-myofibrillaires entre les filaments d'actine et de myosine (Huff-Lonergan et Lonergan, 2007).

2.1.2.1 Au niveau macroscopique : le muscle

Le muscle squelettique se caractérise par une grande hétérogénéité de tissus. En effet, outre les fibres musculaires, qui occupent 75 à 90 % du volume musculaire, il est constitué de tissus conjonctifs, de tissus adipeux et de tissus vasculaires et nerveux. Le muscle squelettique est enveloppé par plusieurs couches de tissus conjonctifs composés principalement de collagène. Ces tissus conjonctifs étroitement liés aux fibres contractiles permettent la transmission des forces développées par la contraction aux différentes parties du squelette auxquelles les muscles sont rattachés (cf figure 2.5 « Structure du muscle squelettique » - page précédente) (Gilles et Anctil, 2006; Guo et Greaser, 2017; Tortora et Derrickson, 2017).

2.1.2.2 Au niveau cellulaire : la myofibre

Au niveau cellulaire, le muscle squelettique est composé de grandes cellules multinucléées : les myofibres ou rhabdomyocytes. Ces longues cellules cylindriques sont issues de la fusion de cellules précurseurs (mononucléées) appelées « myoblastes » en un syncytium multinucléé pour former un myotube puis une myofibre (Tortora et Derrickson, 2017).

Chaque myofibre est recouverte de l'endomysium (tissu conjonctif). Elle est entourée d'une membrane plasmique doublée d'une lame basale, l'ensemble formant le sarcolemme. De celui-ci partent les tubules T. Contrairement aux tubules T des cardiomyocytes qui sont alignés sur les lignes Z du sarcomère et sont situés en périphérie de la cellule, les tubules T des rhabdomyocytes sont alignés à la jonction des « bandes A » et des « bandes I » des sarcomères et rentrent au cœur de la cellule pour être en contact avec l'ensemble des myofibrilles la constituant.

Le cytoplasme ou « sarcoplasme » des myofibres contient les noyaux des cellules fusionnées, des mitochondries, des gouttelettes lipidiques, un réticulum sarcoplasmique développé et les myofibrilles. Contrairement aux noyaux des cardiomyocytes qui sont situés en position centrale des cellules, les noyaux des myofibres sont localisés en périphérie de la cellule juste sous le sarcolemme.

Le nombre des mitochondries est très variable d'un muscle à l'autre et dépend grandement du métabolisme énergétique du muscle concerné (voir section 2.2.2 « Le métabolisme énergétique du muscle » - page 54). Elles représentent environ 2 % du volume sarcoplasmique dans les muscles à métabolisme majoritairement glycolytique. Bien que leur concentration soit plus importante en périphérie de la cellule sous le sarcolemme, des mitochondries sont également situées au cœur de la cellule à proximité des myofibrilles.

Le réticulum sarcoplasmique est composé d'un fin réseau longitudinal qui entoure les myofibrilles et relie deux tubules T contigus au niveau des citernes terminales. L'association d'une Tubule T et des deux citernes terminales la jouxtant de part et d'autre forme une « triade ». C'est au niveau de ces structures que le signal électrophysiologique provoquant les contractions musculaires a lieu (cf figure 2.6 « Structure d'une myofibre ou rhabdomyocyte » - ci-dessous) (Gilles et Anctil, 2006; Guo et Greaser, 2017; Tortora et Derrickson, 2017).

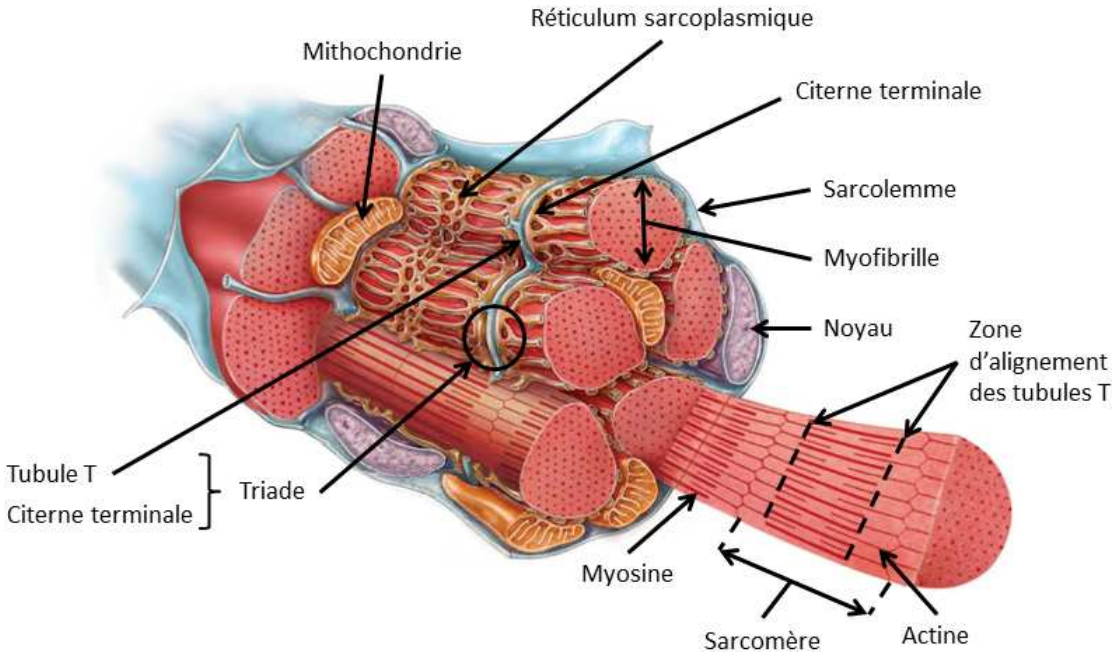


FIGURE 2.6 – **Structure d'une myofibre ou rhabdomyocyte** (Tortora et Derrickson, 2017).

Les myofibrilles qui sont au nombre 500 à 1000 par cellule musculaire, occupent environ 80 % du volume sarcoplasmique. Ce sont de longs cylindres de 1 à 2 μm de diamètre s'étirant

sur la totalité de la longueur de la cellule musculaire. Ils sont organisés en éléments répétitifs appelés sarcomères et sont reliés au sarcoplasme par les protéines du cytosquelette.

2.1.2.3 Microstructure d'un sarcomère

Les sarcomères correspondent à l'unité contractile primordiale du rhabdomyocyte et du cardiomyocyte. Ils sont assemblés de manière longitudinale et transversale dans la myofibrille. Une structure protéique appelée ligne Z délimite chacun d'eux.

Les sarcomères renferment deux types de filaments contractiles : les filaments fins ou filaments d'actine et les filaments épais ou filaments de myosine. Ces filaments sont présents en alternance dans l'assemblage sarcomérique. Les filaments de myosine sont situés dans la partie centrale du sarcomère et sont ancrés sur une structure protéique nommée « ligne M ». Les filaments d'actine, quant à eux, sont situés aux extrémités du sarcomère et sont liés aux lignes Z.

Cet assemblage de filaments contractiles et leur arrangement dans le sarcomère est responsable de l'apparence striée des muscles présentant une alternance de bandes sombres, de bandes claires et de lignes sombres. La bande claire ou « bande I » correspond à une région ne contenant que des myofilaments d'actine. La bande sombre ou « bande A » correspond à la position des myofilaments épais constitués de myosine. La bande A est composée de 3 régions : deux régions très sombres aux extrémités de la bande A, correspondant à une superposition de myofilaments d'actine et de myosine, et une zone intermédiaire, dite zone « zone H » au milieu de la bande A, correspondant à une région où seuls les myofilaments épais sont présents (cf figure 2.7 « Structure d'un sarcomère » - ci-dessous).

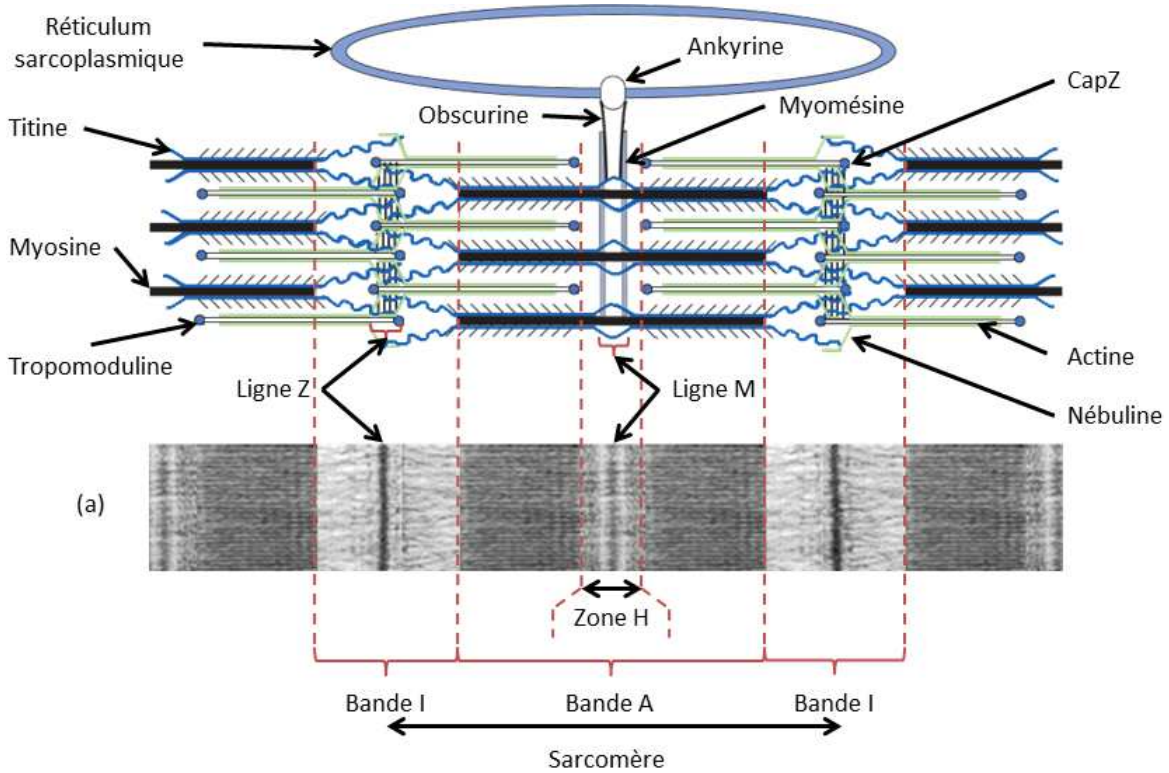


FIGURE 2.7 – **Structure d'un sarcomère.** La vue en microscopie électronique (a) laisse apparaître les bandes sombres et claires responsables de l'aspect strié des fibres musculaires. Adapté de Feher (2017).

Deux types de lignes transversales sont visibles dans la structure des sarcomères. Elles correspondent à des assemblages protéiques qui structurent et stabilisent le sarcomère. Les

lignes Z dont nous avons déjà parlé, correspondent à la structure protéique à laquelle sont reliés les myofilaments d'actine. Elles sont majoritairement composées d'**α-actine**. La ligne M, ainsi nommée, car elle est située au centre du saromère, correspond à la structure protéique sur laquelle sont ancrés les myofilaments de myosine. Elle est composée de **myomésines**. Ces deux structures jouent un rôle déterminant dans la stabilité structurale du sarcomère en garantissant l'ancrage et le positionnement longitudinal et transversal des protéines contractiles et en permettant au sarcomère de résister au stress mécanique provoqué par les mouvements contractiles des myofibrilles.

Les filaments fins. Les filaments fins (8 nm de diamètre et 1 à 2 μm de long) sont principalement constitués d'un assemblage de molécules d'actine auxquelles s'ajoutent deux ensembles de protéines régulatrices de la contraction musculaire : les **troponines** et la **tropomyosine**. Chaque molécule d'actine comporte un site d'ancrage pour la myosine. Elles sont arrangées de manière hélicoïdale et stabilisées par la présence de la tropomyosine qui s'enroule autour du filament d'actine. « Au repos », la tropomyosine couvre les sites d'ancrage pour la myosine empêchant de ce fait la contraction musculaire. Lorsque le signal nerveux induisant les contractions arrive, le complexe formé par trois isoformes de troponine change de conformation. Ce changement de conformation déplace la tropomyosine libérant les sites de fixation de la myosine sur l'actine et permet ainsi la contraction musculaire. Le filament d'actine est borné par **capZ** une protéine permettant l'ancrage dans la ligne Z et par la **tropomoduline** à son extrémité libre. (cf figure 2.8 « Structure d'un filament d'actine » - ci-dessous).

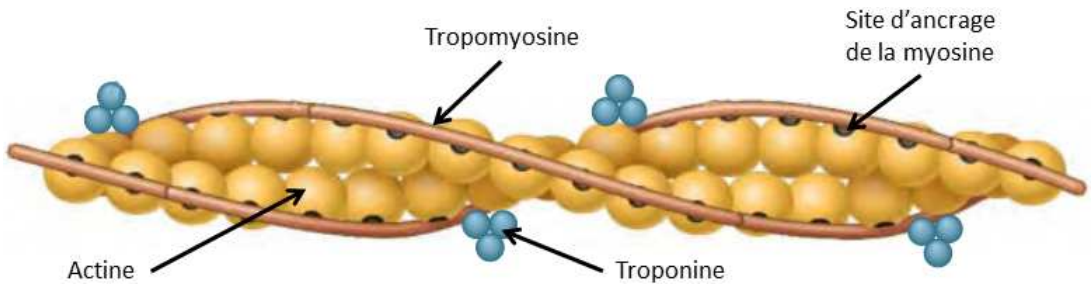


FIGURE 2.8 – **Structure d'un filament d'actine** d'après Tortora et Derrickson (2017).

Les filaments épais. Les filaments épais (16 nm de diamètre et 1 à 2 μm de long) sont constitués de plusieurs centaines de molécules de myosine. Chaque molécule est constituée de deux chaînes lourdes de myosine (MyHC) et de deux paires de chaînes légères de myosine (MyLC). Les chaînes lourdes forment le corps de la molécule. Elles sont formées d'une partie linéaire, la « queue », et d'une « tête » mobile constituée d'un élément moteur relié à la queue de myosine par un bras de levier. L'assemblage et la stabilité de la molécule de myosine sont assurés par les deux paires de chaînes légères. Chaque molécule de myosine présente une partie fibrillaire, « la queue », formée par l'enroulement hélicoïdal des deux queues des chaînes lourdes de myosine composant la molécule de myosine et d'une partie mobile bilobée, « la tête ». Les têtes de la molécule de myosine sont orientées vers l'extérieur du myofilament et forment comme une spirale le long de celui-ci. Elles possèdent par ailleurs chacune deux sites d'ancrage : un site d'ancrage pour l'actine et un site d'ancrage pour les molécules d'adénosine triphosphate (ATP). Celui-ci fonctionne comme une ATPase. Il permet d'hydrolyser la molécule d'ATP pour générer l'énergie nécessaire à la contraction musculaire (cf figure 2.9 « Structure d'un filament de myosine » - page suivante).

Les protéines qui structurent le sarcomère. Outre l'**α-actine** et les **myomésines** dont nous avons déjà parlé, trois protéines géantes garantissent la stabilité de la structure du sar-

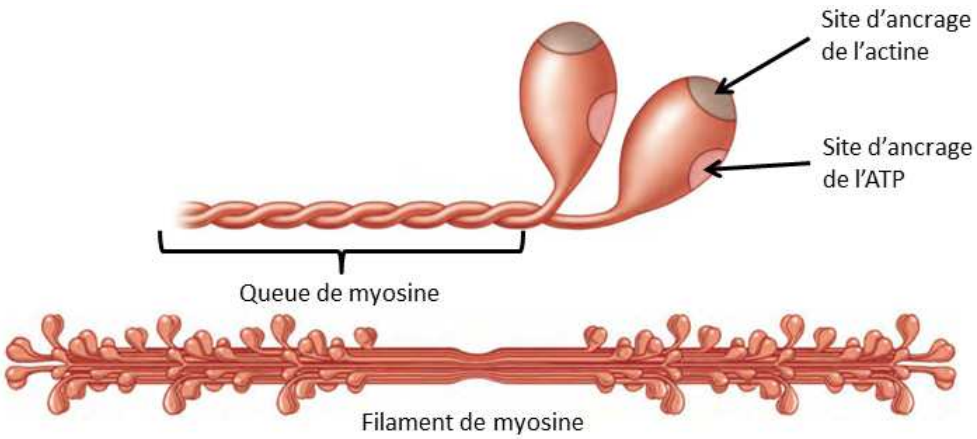


FIGURE 2.9 – **Structure d'un filament de myosine** d'après Tortora et Derrickson (2017).

comère : la **titine**, la **nébuline** et l'**obscurine**. Parfois considéré comme le troisième filament musculaire, la titine est la plus grande protéine connue actuellement. C'est une protéine élastique qui s'étend sur la moitié d'un sarcomère de la ligne Z à la ligne M. Elle représente, après l'actine et la myosine, la troisième protéine la plus abondante de la cellule musculaire. La partie extensible de la titine est ancrée dans la ligne Z et s'étend sur la totalité de la bande I. L'autre extrémité de la protéine (non-extensible) est ancrée dans la ligne M. Ainsi alignées de manière longitudinale, les molécules de titine assurent la cohésion longitudinale du sarcomère en empêchant un étirement excessif de celui-ci et en stabilisant la position des myofilaments de myosine. La nébuline est ancrée dans la ligne Z et est reliée à l'extrémité du filament d'actine. Son rôle n'est pas clairement identifié. La nébuline pourrait, d'une part déterminer la longueur du filament d'actine lors de sa polymérisation et protéger le filament d'actine de la dépolymerisation, et d'autre part garantir et stabiliser l'ancrage de celui-ci dans la ligne Z. L'obscurine quant à elle est localisée au niveau de la ligne M. Elle est ancrée d'un côté à la titine et de l'autre côté à l'**ankirine** une protéine de la membrane du reticulum sarcoplsamique. L'obscurine permet ainsi d'ancrer le reticulum sarcoplasmique aux myofibrilles et de garantir le positionnement des sarcomères par rapport à celui-ci (cf figure 2.7 « Structure d'un sarcomère » - page 46) (Feher, 2017; Guo et Greaser, 2017; Lange *et al.*, 2020; Tortora et Derrickson, 2017).

2.1.2.4 Protéines du cytosquelette et transmembranaires

Comme l'illustre la figure 2.10 « Liaison des myofibrilles à la membrane plasmique », page suivante, les myofibrilles adjacentes sont reliées les unes aux autres par un réseau de filaments intermédiaires majoritairement formé de **desmine**. Ce réseau, positionné au niveau des lignes Z et M des sarcomères, assure également un ancrage des myofibrilles à la membrane plasmique et à la membrane nucléaire garantissant ainsi leur positionnement longitudinal et transversal dans la cellule musculaire.

L'actine du cytosquelette (**γ-actine**) ainsi que des filaments intermédiaires de **keratines** assurent également l'ancrage latéral et longitudinal des myofibrilles à la membrane plasmique, la lame basale et dans le collagène de la matrice extracellulaire par l'intermédiaire d'un complexe protéique transmembranaire appelé le **« costamère »**. Celui-ci est composé de deux éléments : le **système vinculine-taline-integrine** et le **complexe dystrophine-glycoprotéine**. Ceux-ci sont liés à la matrice extracellulaire par la **laminine**. Cet ancrage dans le sarcolemme et dans la matrice extracellulaire assure d'une part la stabilisation des sarcomères et myofibrilles, et d'autre part assure, par un lien mécanique, la transmission de la force de contraction des myofibrilles. Une vue détaillée de l'ancrage des myofibrilles dans le costamère et de la structure costamérique est disponible en annexe (Annexe B : Ancrage des myofibrilles dans le costamère

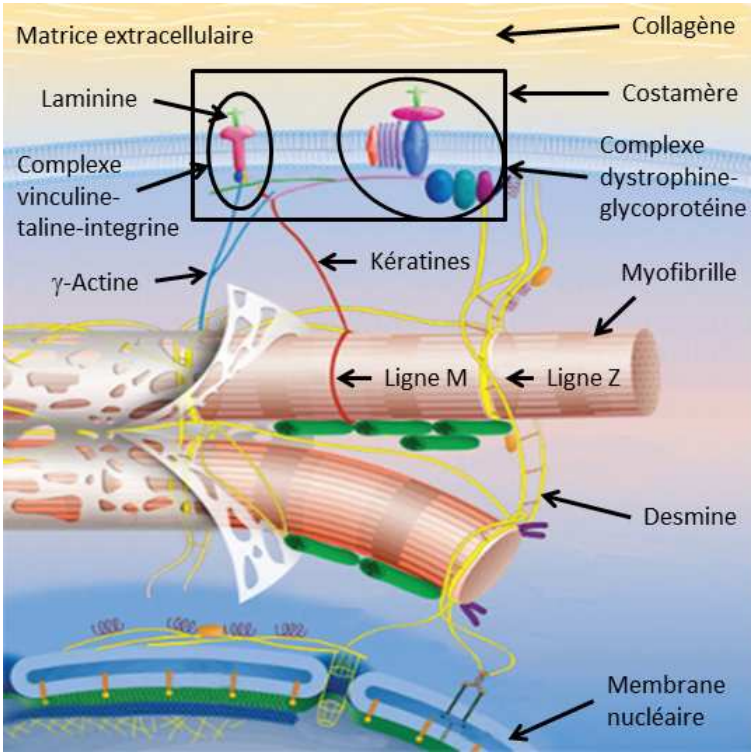


FIGURE 2.10 – **Liaison des myofibrilles à la membrane plasmique.** Adapté de Henderson *et al.* (2017).

- page 313) (Peter *et al.*, 2011; Jaka *et al.*, 2015; Henderson *et al.*, 2017).

Comme nous venons de le voir, la structure du muscle strié squelettique, et en particulier des cellules musculaires qui le compose, est éminemment complexe. Elle repose sur une architecture protéique dense qui garantit la fonctionnalité du tissu musculaire en structurant d'une part les unités contractiles que sont les sarcomères, et en permettant d'autre part la transmission des forces développées par les sarcomères à l'ensemble du tissu musculaire au travers des protéines de structure qui ancrent les myofibrilles dans la cellule. Ces protéines que nous avons évoquées au cours des pages précédentes peuvent être classées dans trois catégories distinctes : les protéines contractiles, les protéines de régulation de la contraction sarcomérique et les protéines de structure qui garantissent d'une part l'intégrité de la structure du sarcomère et d'autre part l'ancrage des myofibrilles dans le sarcolemme pour permettre la transmission efficace des forces de contraction au muscle dans son entier et par son intermédiaire à l'organisme (voir Annexe C : Protéines impliquées dans l'ultrastructure des myofibrilles et myofibres - page 315).

2.1.3 La contraction musculaire

2.1.3.1 La contraction sarcomérique

La contraction musculaire résulte de l'interaction des deux filaments contractiles contenus dans le sarcomère : l'actine, myofilament fin, statique, ancré dans la ligne Z et la myosine, myofilament épais, « mobile », ancré dans la ligne M. La myosine est la protéine motrice de cette interaction. Lors de la contraction musculaire, la tête mobile de la myosine se lie à l'actine et « marche » le long du filament d'actine. Les filaments d'actine et de myosine étant respectivement ancrés dans les lignes Z et M, ce glissement des filaments l'un par rapport à l'autre entraîne un rapprochement des lignes Z aboutissant à un raccourcissement des sarcomères. *In fine*, le raccourcissement en chaîne des sarcomères provoque le raccourcissement de

la structure musculaire dans sa globalité. Cette contraction des sarcomères se caractérise sur une vue en microscopie par un raccourcissement des bandes I et de la zone H du sarcomère qui correspondent à des régions où un seul des deux filaments est visible et à un élargissement des régions sombres de la bande A qui correspond à la région où les deux myofilaments se superposent (cf figure 2.11 « Mécanisme de contraction des sarcomères » - ci-dessous) . Lorsque la contraction est maximale, les extrémités libres des filaments d'actine peuvent se chevaucher au niveau de la ligne M. Les bandes I et la zone H sont alors invisibles (Gilles et Anctil, 2006; Tortora et Derrickson, 2017).

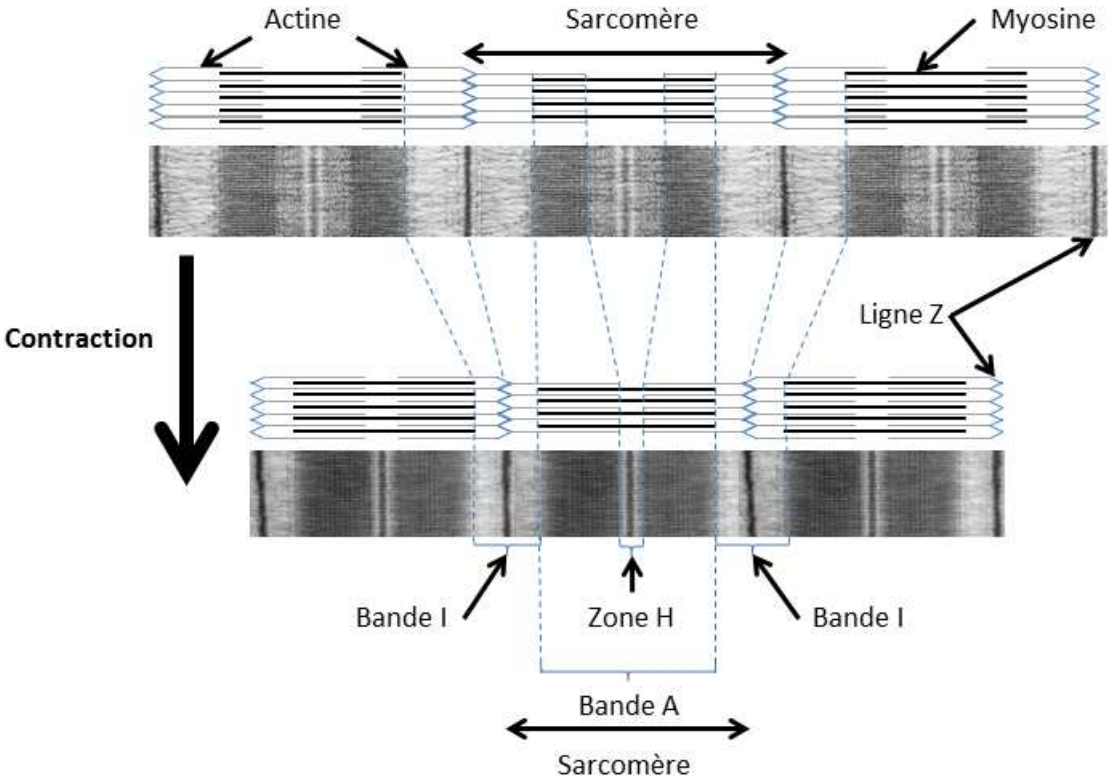


FIGURE 2.11 – **Mécanisme de contraction des sarcomères.** Adapté de Tortora et Derrickson (2017).

2.1.3.2 Le couplage excitation-contraction : cycle du calcium

La contraction musculaire, et donc la contraction sarcomérique, débute par l'arrivé d'influx nerveux provoquant la dépolarisation de la membrane sarcoplasmique. Cette onde de dépolarisation se propage tout le long du sarcoplasme jusqu'aux tubules T qui permettent sa diffusion au cœur des fibres musculaires au plus près des myofibrilles au niveau des triades. C'est au niveau de ces triades que se joue le **« couplage excitation-contraction »**.

Lorsque l'onde de dépolarisation arrive au niveau des triades, elle active des canaux transporteurs d'ion calcium (Ca^{2+}) potentiel-dépendant situés dans les tubules T : les récepteurs à la dihydropyridine (RDHP). De part leur proximité avec les citernes terminales du réticulum sarcoplasmique, l'activation des RDHP provoque l'activation et l'ouverture d'autres canaux Ca^{2+} transmembranaires se trouvant dans la membrane du réticulum sarcoplasmique : les canaux récepteurs de la ryanodine (RYR). L'activation de ces canaux RYR induit un relargage massif du Ca^{2+} stocké dans le réticulum sarcoplasmique. Cette augmentation de la concentration de Ca^{2+} dans le sarcoplasme à proximité des myofilaments va induire la contraction des sarcomères. Sous l'effet des ions calcium, le complexe troponine change de conformation. Cette modification structurale du complexe troponine déplace la tropomyosine, libérant ainsi les sites

de fixation des têtes de myosine sur l'actine. La tête de myosine se fixe alors sur l'actine et déplace le filament fin vers le centre du sarcomère. La tête de myosine peut alors se détacher de l'actine et se fixer à une autre molécule d'actine un peu plus loin, ce qui induit le glissement des filaments d'actine par rapport aux filaments de myosine. Ce cycle de fixation et de relâchement induisant la contraction du sarcomère nécessite la fourniture d'énergie sous forme d'ATP (voir section 2.1.3.3 « Le cycle de la contraction : cycle de la myosine » - page 51) .

Lorsque la stimulation nerveuse cesse, les canaux RYR se referment stoppant l'afflux d'ions calcium dans le sarcoplasme. Les ions calcium sont alors transportés dans le réticulum sarcoplasmique où ils seront à nouveau stockés sur la calséquestrine. Ce transport des ions calcium du sarcoplasme vers le réticulum sarcoplasmique s'effectue sous l'action de pompes à calcium localisées dans la partie longitudinale du réticulum sarcoplasmique : les SERCA qui sont des pompes ATP dépendantes. La diminution de la concentration de calcium dans le sarcoplasme induit le retour du complexe troponine et de la tropomyosine à leur conformation initiale rendant inaccessibles les sites de fixation des têtes de myosine sur l'actine. Il en résulte un retour du sarcomère à sa position de relaxation. Il est à noter que ce retour à l'état relâché dépend d'un apport d'énergie sous forme d'ATP puisque la pompe à calcium SERCA est une pompe ATP dépendante et que, comme nous allons le voir dans la section suivante, pour se détacher de l'actine, la tête de myosine nécessite également un apport d'énergie sous forme d'ATP (Gilles et Anctil, 2006; Guo et Greaser, 2017; Tortora et Derrickson, 2017).

2.1.3.3 Le cycle de la contraction : cycle de la myosine

Comme nous venons de le voir, l'influx nerveux provoque une arrivée massive de Ca^{2+} dans le sarcoplasme, ce qui induit une libération des sites de fixation des têtes de myosine sur l'actine. La figure 2.12 « Cycle de contraction de la myosine », page suivante, illustre le cycle d'interaction actine-myosine lors de la contraction musculaire, cycle pendant lequel la myosine convertit l'énergie chimique en énergie mécanique.

Au repos, la tête de myosine, qui possède un site de fixation pour l'ATP, est couplée à une molécule d'adénosine diphosphate (ADP) et à un phosphate inorganique (Pi) **(1)**. La myosine est dite « énergisée ». C'est-à-dire qu'elle a stocké l'énergie issue de l'hydrolyse de la molécule d'ATP en ADP+Pi en attendant la possibilité de se fixer sur l'actine (cf réaction 2.1 « Production d'énergie par hydrolyse de l'ATP » - ci-dessous).

$$ATP + H_2O \xrightarrow{\text{Hydrolyse}} ADP + Pi + H^+ + \text{Energie} \tag{2.1}$$

Réaction 2.1 – **Production d'énergie par hydrolyse de l'ATP.** ADP : Adénosine diphosphate ; ATP : Adénosine triphosphate ; H^+ : ion hydrogène ; H_2O : eau ; Pi : phosphate inorganique.

Lorsque le site de fixation de la tête de myosine sur l'actine est libéré, la tête de myosine se fixe sur l'actine et libère la molécule de phosphate inorganique **(2)**.

Le départ du phosphate inorganique a pour effet de stabiliser la liaison actine-myosine **(3)** et entraîne un changement de conformation de la myosine. La tête de myosine change d'angle et provoque une translation de la fibre d'actine vers le centre du sarcomère **(4)**. Ce changement de conformation consomme l'énergie stockée par la myosine. La molécule d'ADP est alors relarguée libérant le site de fixation ETP sur la tête de myosine. La configuration ainsi obtenue dite « *rigor* » est stable en absence d'ATP **(5)**.

La liaison d'une molécule d'ATP sur la tête de myosine provoque la dissociation de la liaison actine-myosine. L'hydrolyse de cet ATP induit un changement de conformation de la myosine qui revient alors dans sa configuration de repos et s'accompagne de la libération d'un ion hydrogène (H^+) **(6)**.

Ce cycle de contraction se produit tant que la concentration de calcium dans le sarcoplasme est suffisante pour permettre la libération des sites d'ancrage des têtes de myosine sur l'actine et que des molécules d'ATP sont disponibles (Guo et Greaser, 2017; Tortora et Derrickson, 2017).

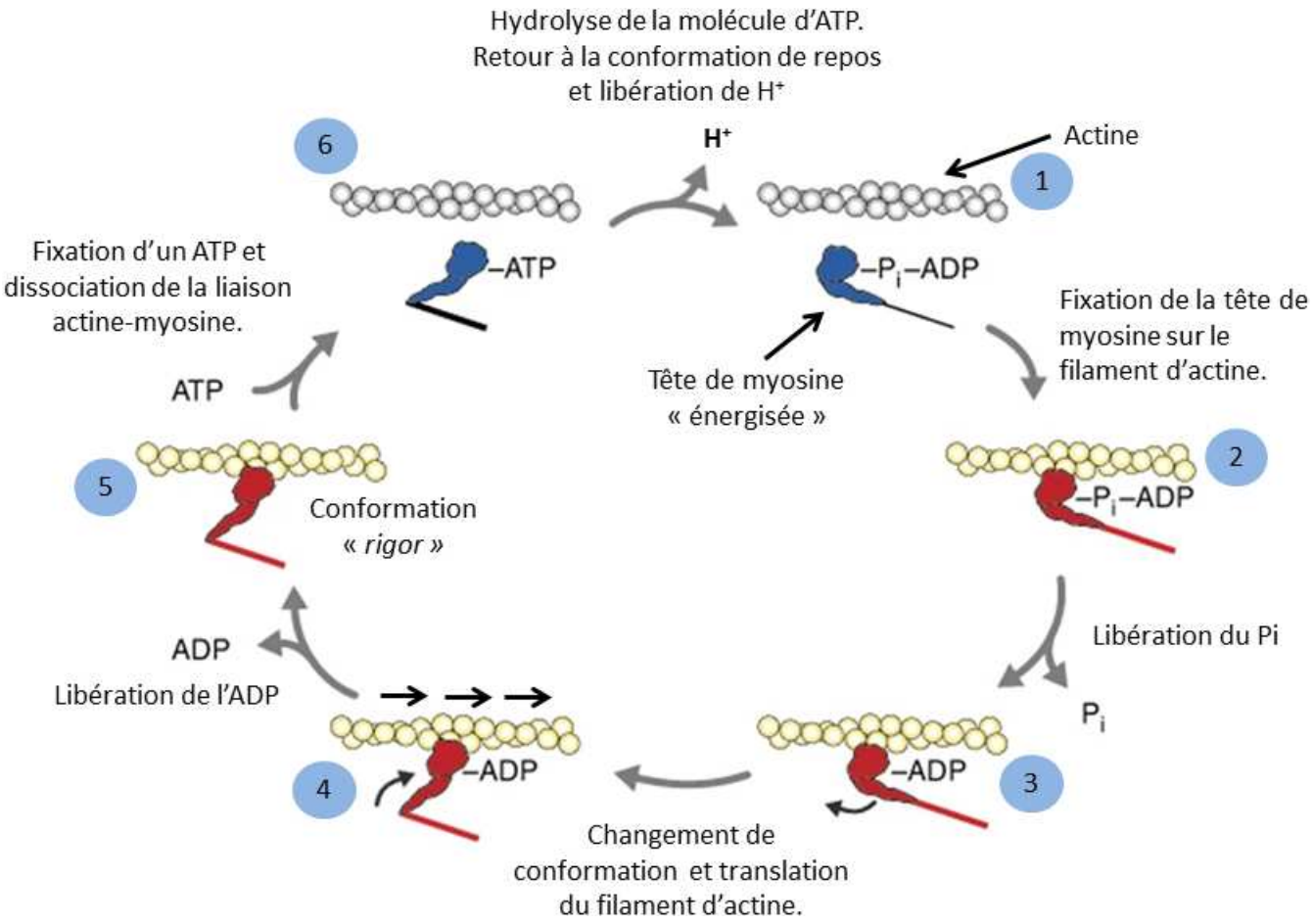


FIGURE 2.12 – **Cycle de contraction de la myosine.** Adapté de Murphy *et al.* (2001).

2.2 Différents types de fibres musculaires

Dans les muscles squelettiques matures des mammifères, il est possible de distinguer différents types de myosines. Au nombre de quatre, celles-ci se distinguent selon l'isoforme de chaîne lourde (MyHC) qui les compose : **MyHC I, IIa, IIx et IIb**. À chaque isoforme correspond un type contractile et un métabolisme énergétique. Il est ainsi possible de distinguer deux types contractiles : les **fibres à contraction lente** et les **fibres à contraction rapide** et en deux types de métabolismes énergétiques : le **métabolisme glycolytique** et le **métabolisme oxydatif** (Listrat *et al.*, 2015).

2.2.1 Propriété contractile et capacité de travail

2.2.1.1 Le type contractile : fibre rapide ou lente ?

Les fibres à contraction rapide. Les fibres à contraction rapide, dont le représentant le plus rapide est l'isoforme MyHC IIb suivi par l'isoforme MyHC IIx puis IIa, ont une activité ATPasique intense et sont capables (pour les plus rapides) de réaliser 10 cycles de contraction de la myosine par seconde (cf figure 2.12). Suite à une stimulation nerveuse, ces fibres entrent

rapidement dans un stade actif intense et développent une grande force de contraction (cf figure 2.13 « Stade actif et contraction des fibres rapides et lentes » - A - ci-dessous). Cette entrée en stade actif s'accompagne d'une activté thermique due à l'utilisation d'ATP. Lorsqu'elles sont soumises à des stimulations répétées et rapprochées, le cumul de stades actifs et des contractions qui en découlent atteint rapidement un plateau maximal appelé tétanos physiologique (cf figure 2.13 - B).

Les fibres à contraction lente. Les fibres à contraction lente (MyHC I) sont quant à elles capables de réaliser 3 cycles d'attachement - détachement de la myosine à l'actine par seconde. Elles sont caractérisées par une ATPase à activité lente. Lorsqu'elles sont stimulées, le stade actif de ces fibres n'est pas très important, ni en durée, ni en intensité, et la contraction décelée est de très faible intensité (cf figure 2.13 - C). Par contre, sous l'influence de stimulations successives, elles sont capables de cumuler un grand nombre de stades actifs et de contractions sans pour autant atteindre le plateau caractéristique du tétanos physiologique. La force de contraction n'évolue que lentement vers son maximum. Elle est alors beaucoup plus importante que pour une stimulation unique (cf figure 2.13 - D) (Feher, 2017; Gilles et Anctil, 2006).

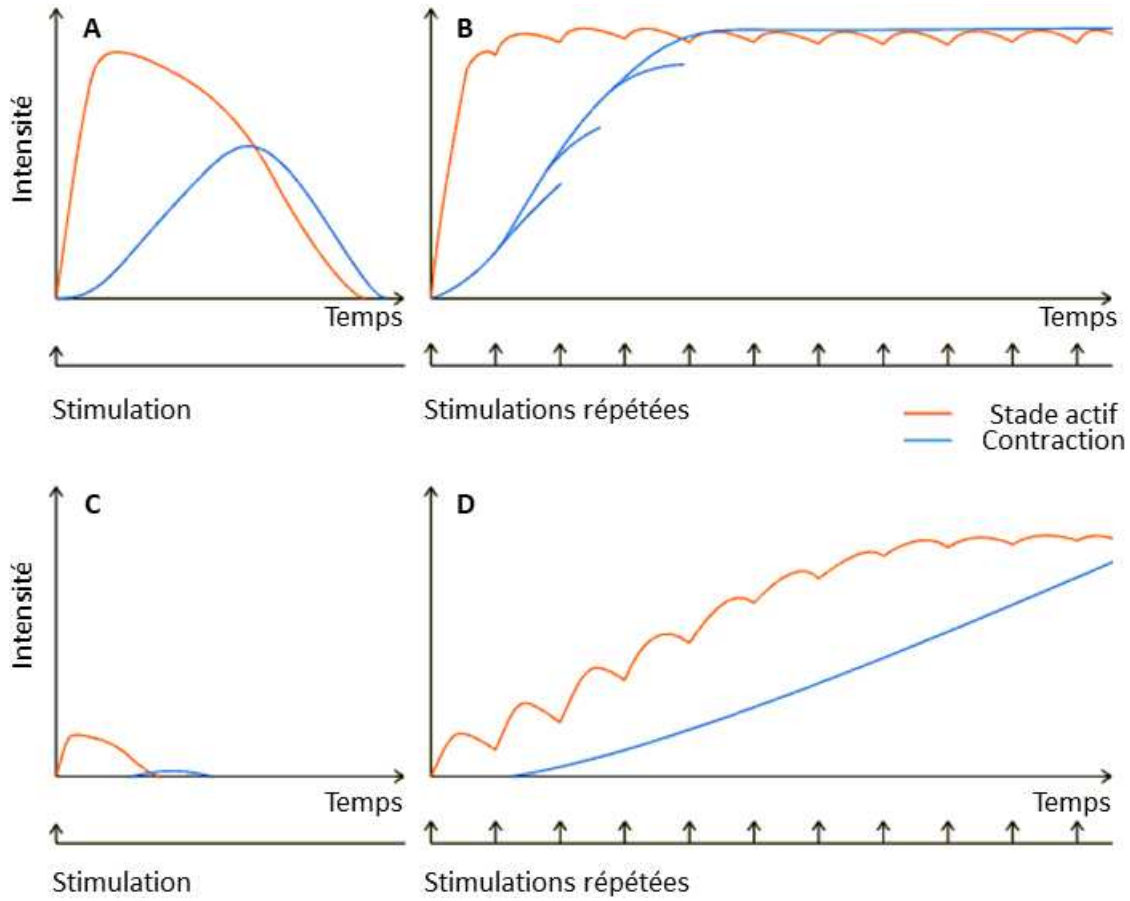


FIGURE 2.13 – **Stade actif et contraction des fibres rapides et lentes.** La stimulation nerveuse d'une fibre rapide provoque une entrée rapide et intense en stade actif et une contraction puissante (A). Des stimulations répétées et rapprochées induisent chez les fibres rapides un cumul de stades actifs et de contractions qui atteignent rapidement un plateau (B). La stimulation nerveuse d'une fibre lente induit un stade actif et une contraction de faible intensité (C). Des stimulations répétées et rapprochées induisent chez les fibres lentes une élévation progressive de l'intensité des stades actifs et de la contraction (D). Adapté de Gilles et Anctil (2006).

2.2.1.2 Capacité de travail : puissance de contraction et fatigue contractile.

Comme l'illustre la figure 2.14 « Puissance de tension des fibres rapides, intermédiaires et lentes », ci-dessous, les **fibres à contraction rapide** sont capables de développer très rapidement une puissance importante. Elles sont également très rapidement sensibles à la fatigue. Après 2 minutes de stimulation, la réponse contractile correspond à moins de 10 % de la puissance maximale développée par ces fibres. Ce type de fibres se retrouve de manière majoritaire dans les muscles nécessitant un effort intense et court. On les retrouve notamment dans des muscles impliqués dans des changements de position tels que le *Gluteus medius* ou *Gluteus superficialis* qui interviennent dans les mouvements de flexion lorsque l'animal se lève ou se couche, ce qui correspond à un effort intense (masse de l'animal) mais de courte durée ou bien le LM qui intervient dans les mouvements de flexion latérale au niveau de la colonne vertébrale (changement de direction).

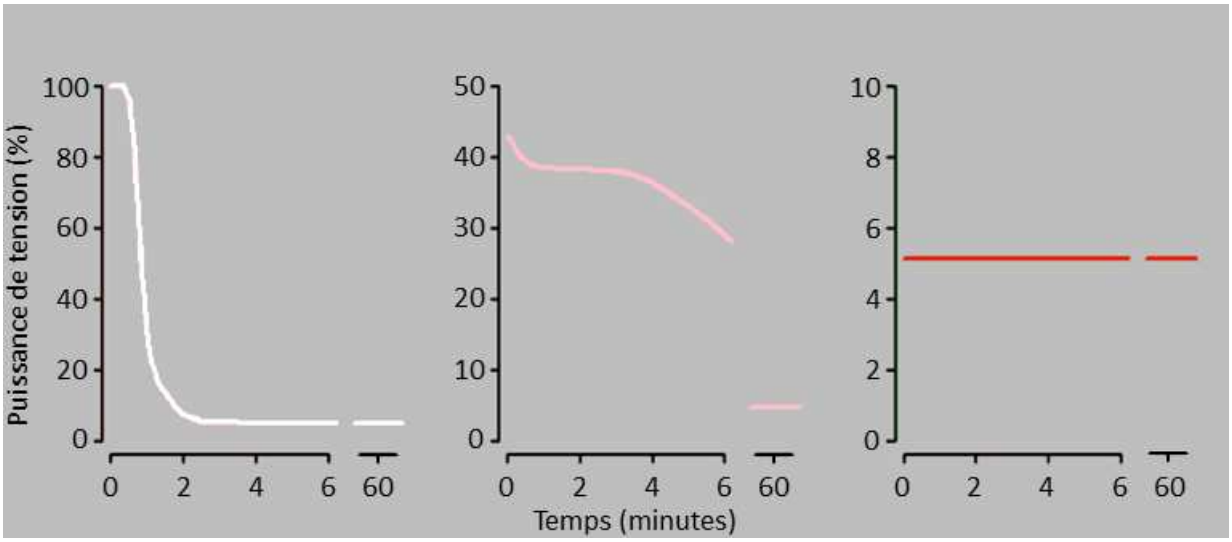


FIGURE 2.14 – **Puissance de tension des fibres rapides, intermédiaires et lentes.** Les puissances de tension sont représentées en pourcentage relativement à la tension maximale développée par les fibres rapides. Adapté de Burke *et al.* (1971) & Gilles et Anctil (2006).

Contrairement aux fibres rapides, les **fibres lentes** sont faites pour développer une puissance relativement modeste, mais sur un temps très long et montrent une grande résistance à la fatigue. La puissance développée par ces fibres reste constante après plus d'une heure de stimulation. On les trouve en grande proportion dans les muscles de posture, notamment au niveau du cou ou des épaules : *Trapezius*, *Supraspinatus* ou *Infraspinatus*, ou encore dans les muscles respiratoires (*Diaphragma*).

Les isoformes MyHC IIa et IIx correspondent à des formes intermédiaires. Elles pourront développer une contraction moins intense que les fibres rapides (MyHC IIb), mais seront plus résistantes à la fatigue que celle-ci. En effet, bien qu'en décroissance, la puissance de tension développée par ces fibres intermédiaires est toujours perceptible après 6 minutes de stimulation. Cependant, la résistance à la fatigue de ces fibres ne leur permet pas de répondre aussi longtemps aux stimulations que les fibres lentes (MyHC I). La puissance de tension enregistrée après 60 minutes de stimulation ne représente plus que $1/10^{\text{ème}}$ de la puissance de tension maximale observée pour ces fibres (Burke *et al.*, 1971; Gilles et Anctil, 2006; Laborde *et al.*, 1985).

2.2.2 Le métabolisme énergétique du muscle

Comme nous l'avons vu précédemment, la contraction musculaire requiert la présence d'ATP lors d'étapes clés du processus, telles que la gestion des flux de Ca^{2+} (cf section 2.1.3.2 « Le

couplage excitation-contraction : cycle du calcium » - page 50) ou bien pour la réalisation de chaque cycle d'attachement - détachement de la myosine à l'actine (cf section 2.1.3.3 « Le cycle de la contraction : cycle de la myosine » - page 51). Pour répondre aux besoins énergétiques nécessaires à leur fonctionnement, les fibres musculaires ont recours à trois voies métaboliques :

- Les voies anaérobies qui regroupent :
  - Le **métabolisme anaérobie alactique** : mobilisation de la phosphocréatine ;
  - Le **métabolisme anaérobie lactique** ou **métabolisme glycolytique** : mobilisation du glycogène ;
- La voie aérobie qui correspond à la **phosphorylation oxydative** ou **respiration mitochondriale** : mobilisation des sucres et des acides gras.

Chacune de ces voies diffère de l'autre par le substrat utilisé, son inertie, c'est-à-dire le temps qui lui est nécessaire pour atteindre sa pleine capacité de production d'ATP, sa puissance maximale, c'est-à-dire le débit de molécules d'ATP produites, et enfin par son rendement (nombre de molécules d'ATP produites par molécule de substrat) ou sa capacité à fournir beaucoup d'ATP donc beaucoup de travail.

2.2.2.1 Le Métabolisme anaérobie alactique ou voie des phosphagènes.

Les phosphagènes sont des composés phosphorés à très haute valeur énergétique. Ils permettent de stocker une grande quantité d'énergie immédiatement mobilisable. Ce métabolisme, permet de générer de l'ATP directement à partir des molécules de phosphocréatinine (CrP) (réaction 2.2) ou d'ADP (réaction 2.3) présentes dans la cellule musculaire.

$$\mathrm{CrP} + \mathrm{ADP} + \mathrm{H^+} \xrightarrow{\text{Creatine kinase}} \mathrm{ATP} + \mathrm{Cr} \tag{2.2}$$

Réaction 2.2 – **Voie des phosphagènes : Synthèse d'ATP à partir de phosphocréatine.** ADP : adénosine diphosphate ; ATP : adénosine triphosphate ; Cr : créatine ; CrP : phosphocréatinine ; H^+ : ion hydrogène. D'après Baker *et al.* (2010).

$$\mathrm{ADP} + \mathrm{ADP} \xrightarrow{\text{Adenylate kinase}} \mathrm{ATP} + \mathrm{AMP} \tag{2.3}$$

Réaction 2.3 – **Voie des phosphagènes : Synthèse d'ATP à partir d'ADP.** AMP : adénosine monophosphate ; ADP : adénosine diphosphate ; ATP : Adénosine triphosphate. D'après Baker *et al.* (2010).

L'inertie de ces réactions est très faible, le substrat étant présent dans la cellule et immédiatement catabolisable. La capacité maximale de production d'ATP est donc atteinte presque immédiatement. Lors de la contraction musculaire, cette voie métabolique est donc la première à répondre aux besoins énergétiques de la fibre musculaire (cf figure 2.15 « Renouvellement des ATP en fonction du métabolisme énergétique » - A - page suivante). Bien que le rendement soit extrêmement faible, l'unique réaction chimique entre le substrat et la production d'énergie permet d'obtenir un débit de production d'ATP extrêmement élevé (cf figure 2.15 - B). Cette source d'énergie est cependant fugace (de l'ordre de 15 secondes), car fortement limitée par la faible quantité de CrP présente dans les cellules musculaires. Le métabolisme glycolytique prend donc très rapidement le relais, d'autant plus que l'AMP produite par l'action de l'adénylate

kinase sur les deux molécules d'ADP (réaction 2) est un puissant activateur de deux enzymes clés du métabolisme glycolytique. Lorsque le muscle est au repos, le stock de phosphocréatine est reconstitué par phosphotylation de la créatine en utilisant les ATP générés par les mitochondries. (Baker *et al.*, 2010; Hargreaves et Spriet, 2020; Hocquette *et al.*, 2000; Tortora et Derrickson, 2017).

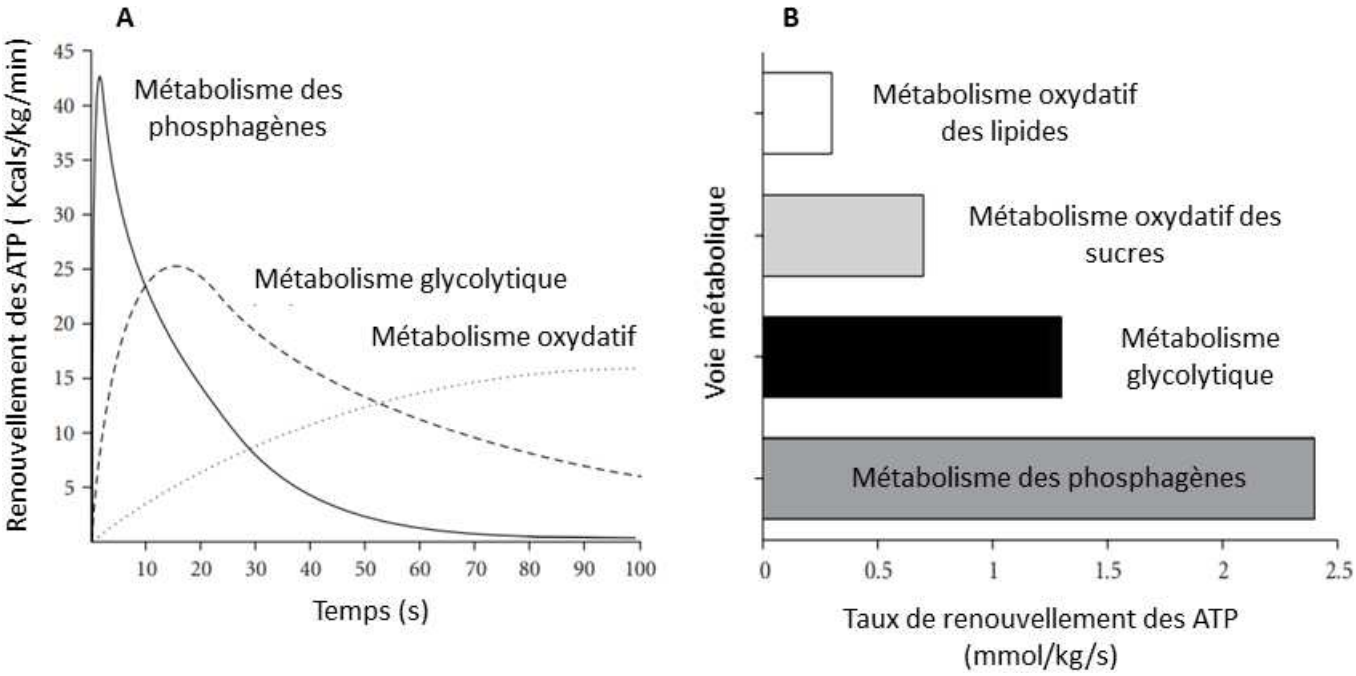


FIGURE 2.15 – **Renouvellement des ATP en fonction du métabolisme énergétique.** D'après (Baker *et al.*, 2010).

Si on devait faire une analogie avec une voiture, le métabolisme anaérobie alactique serait un dragster : avec un démarrage très court (l'inertie très faible du système), une puissance très importante (le débit de production d'ATP), mais une distance parcourue et un temps de travail extrêmement limités.

2.2.2.2 Le métabolisme anaérobie lactique ou métabolisme glycolytique

Lorsque le besoin en énergie se prolonge au-delà de quelques secondes, le métabolisme glycolytique prend le relais. Le métabolisme anaérobie lactique ou métabolisme glycolytique, correspond à la voie de dégradation du glucose en anaérobie. La source de glucose utilisée provient majoritairement du glycogène stocké dans le muscle, mais peut également provenir directement des molécules de glucose transportées par l'afflux sanguin.

La production d'ATP par glycolyse implique une dizaine de réactions enzymatiques (voir Annexe D : Métabolisme glycolytique et glycogénolytique - page 319), ce qui fait que la synthèse d'ATP par cette voie est un peu moins rapide que la voie anaérobie alactique des phosphagènes. Ces réactions peuvent se résumer comme suit :

Le métabolisme glycolytique permet par la glycolyse de molécules de glycogène ou de glucose (réactions 2.4 et 2.5 - page suivante) de produire l'énergie nécessaire au fonctionnement des fibres musculaires. Cependant, le bilan net de la glycolyse à partir d'une molécule de glucose est moins favorable que celui généré par l'équivalent provenant du glycogène, car la première étape qui voit la conversion du glucose en Glc-6-P nécessite l'hydrolyse d'une molécule d'ATP. La glycolyse permet donc de fournir rapidement 3 molécules d'ATP si le substrat initial est du glycogène ou 2 molécules d'ATP si le substrat initial est une molécule de glucose. Le rendement

$$\text{Glycogenolyse} \begin{cases} \text{Glycogene}_n + \text{Pi} \xrightarrow{\text{Glycogenolyse}} \text{Glycogene}_{n-1} + \text{Glc-6-P} \\ \text{Glc-6-P} + 3\,\text{ADP} + 2\,\text{Pi} + 2\,\text{NAD}^+ \xrightarrow{\text{glycolyse}} 2\,\text{Pyruvate} + 3\,\text{ATP} + 2\,\text{H}_2\text{O} + 2\,\text{NADH} + 3\,\text{H}^+ \end{cases}$$

soit un bilan net

$$\text{Glycogene}_n + 3\,\text{ADP} + 3\,\text{Pi} + 2\,\text{NAD}^+ \xrightarrow{\text{glycogenolyse}} \text{Glycogene}_{n-1} + 2\,\text{Pyruvate} + 3\,\text{ATP} + 2\,\text{H}_2\text{O} + 2\,\text{NADH} + 3\,\text{H}^+ \quad (2.4)$$

Réaction 2.4 – **Métabolisme glycolytique. Synthèse d'ATP à partir de glycogène.** La glycogénolyse est la première étape. Elle permet de former une molécule de glucose phosphorylée à partir du glycogène. Celle-ci sous forme de glucose-6-phosphate subit une glycolyse qui permet de générer deux molécules de pyruvate et 3 molécules d'ATP. ADP : adénosine diphosphate ; ATP : adénosine triphosphate ; Glc-6-P : glucose-6-phosphate ; Glycogene_n : Le glycogène est un polymère de n glucose ; H_2O : eau ; NAD^+ : nicotinamide adénine dinucléotide oxydée ; NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide réduite ; H^+ : ion hydrogène ; Pi : phosphate inorganique. D'après Baker *et al.* (2010).

$$\text{Glycolyse} \begin{cases} \text{Glucose} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{phosphorylation}} \text{Glc-6-P} + \text{ADP} + \text{H}^+ \\ \text{Glc-6-P} + 3\,\text{ADP} + 2\,\text{Pi} + 2\,\text{NAD}^+ \xrightarrow{\text{glycolyse}} 2\,\text{Pyruvate} + 3\,\text{ATP} + 2\,\text{H}_2\text{O} + 2\,\text{NADH} + 3\,\text{H}^+ \end{cases}$$

soit un bilan net

$$\text{Glucose} + 2\,\text{ADP} + 2\,\text{Pi} + 2\,\text{NAD}^+ \xrightarrow{\text{glycolyse}} 2\,\text{Pyruvate} + 2\,\text{ATP} + 2\,\text{H}_2\text{O} + 2\,\text{NADH} + 3\,\text{H}^+ \quad (2.5)$$

Réaction 2.5 – **Métabolisme glycolytique. Synthèse d'ATP à partir de glucose.** La première étape permet par phosphorylation du glucose de générer une molécule de glucose-6-phosphate. Cette étape nécessite l'utilisation d'une molécule d'ATP. Le glucose-6-phosphate subit ensuite une glycolyse qui permet de générer deux molécules de pyruvate et 3 molécules d'ATP. Le bilan net de la glycolyse à partir du glucose est donc de 2 ATP. ADP : adénosine diphosphate ; ATP : adénosine triphosphate ; Glc-6-P : glucose-6-phosphate ; H_2O : eau ; NAD^+ : nicotinamide adénine dinucléotide oxydée ; NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide réduite ; H^+ : ion hydrogène ; Pi : phosphate inorganique. D'après Baker *et al.* (2010).

en énergie de ce métabolisme est cependant plus élevé que celui du métabolisme anaérobie alactique.

Le pyruvate généré peut alors être dégradé par voie oxydative (cf section 2.2.2.3 « Le métabolisme oxydatif » - page 58) dans les mitochondries, cette voie produisant des ATP supplémentaires, ou bien pour la majorité du pyruvate, le taux de pyruvate produit dépassant les capacités de la voie oxydative limitée par l'oxygène et les mitochondries, être dégradé par fermentation lactique dans le sarcoplasme sans production d'ATP supplémentaire.

L'inertie du métabolisme glycolytique est faible, son substrat est présent dans la cellule musculaire (glycogène), la réaction est amplifiée par l'AMP produit par le métabolisme anaérobie alactique et le nombre de réactions chimiques impliquées est encore peu élevé. Ainsi, son maximum de production d'ATP est atteint dans les 10 à 15 secondes qui suivent le début de la contraction musculaire (cf figure 2.15 - A - page précédente). Bien que le rendement énergétique soit deux à trois fois plus important que pour le métabolisme anaérobie alactique, le taux de renouvellement des molécules d'ATP est plus faible du fait de réactions chimiques plus nombreuses (10 réactions du Glucose 6 Phosphate au Pyruvate) et donc d'un délai de

renouvellement plus important (cf figure 2.15 - B - page 56). Enfin, le métabolisme glycolytique n'excède pas 1 à 2 minutes et est alors remplacé par le métabolisme oxydatif (Baker *et al.*, 2010; Hargreaves et Spriet, 2020; Hocquette *et al.*, 2000; Tortora et Derrickson, 2017).

Si l'on continue l'analogie avec les véhicules, le métabolisme glycolytique serait une formule 1 : son démarrage est rapide (inertie faible et puissance maximale atteinte en 10 à 15 secondes), sa puissance est importante et le temps travail ainsi que la distance que le système peut parcourir sont moyens.

2.2.2.3 Le métabolisme oxydatif

Au-delà d'une minute d'exercice musculaire, le principal pourvoyeur d'énergie est le métabolisme oxydatif. Celui-ci se caractérise par une dégradation aérobie des lipides (β-oxydation) et glucides. Ces deux substrats peuvent être d'origine musculaire ou bien provenir d'autres réserves par le biais de la circulation sanguine, bien que le principal substrat soit le glycogène stocké dans le muscle. Ce processus d'oxydation se produit dans les mitochondries, où le **cycle de Krebs** et la chaîne respiratoire transmembranaire aboutissent à la formation de plusieurs molécules d'ATP.

Les rendements associés à la β-oxydation des lipides ou à l'oxydation des glucides diffèrent cependant. Ainsi, la dégradation des lipides de manière générale, et de l'acide palmitique en particulier, produisent plus d'ATP (réaction 2.6) que l'oxydation des molécules de glucose (réaction 2.7). Cette efficacité énergétique accrue se fait toutefois au détriment de la consommation d'oxygène et du temps nécessaire à la production d'ATP. La production d'ATP par oxydation du glucose nécessite moins de molécules d'oxygène et de temps que la β-oxydation complète de l'acide palmitique par exemple : 6 molécules d'oxygène sont consommées pour le glucose contre 23 molécules pour l'acide palmitique.

$$\text{Acide palmitique} + 23\,O_2 + 130\,\text{ADP} \longrightarrow 16\,CO_2 + 16\,H_2O + 130\,\text{ATP} \tag{2.6}$$

Réaction 2.6 – **Métabolisme oxydatif. Synthèse d'ATP à partir de lipides.** L'acide palmitique est la forme d'acide gras la plus répandue dans le muscle. ADP : Adénosine diphosphate ; ATP : Adénosine triphosphate ; CO_2 : dioxyde de carbone ; H_2O : eau ; O_2 : oxygène. D'après Baker *et al.* (2010) et Hargreaves et Spriet (2020).

L'inertie de cette voie métabolique est plus importante que pour les deux précédentes (cf figure 2.15 - A - page 56). Cependant, le rendement énergétique est beaucoup plus important malgré un débit moindre (cf figure 2.15 - B). Cette voie métabolique permet ainsi de produire un volume important d'énergie pour une capacité de travail plus longue allant de quelques minutes à plusieurs heures (Baker *et al.*, 2010; Hargreaves et Spriet, 2020; Hocquette *et al.*, 2000; Tortora et Derrickson, 2017).

Cette voie métabolique pourrait alors être comparée à un véhicule diesel plus long à se mettre en route, d'une puissance moyenne, il est pourtant parti pour une très longue durée de fonctionnement et ainsi parcourir de très grandes distances.

Comme nous l'avons vu précédemment (cf sections 2.1.3.3 « Le cycle de la contraction : cycle de la myosine » - page 51 et 2.2.2 « Le métabolisme énergétique du muscle » - page 54) les besoins énergétiques des fibres rapides ou lentes diffèrent énormément. Lors de la contraction musculaire, les fibres à contraction rapide peuvent effectuer jusqu'à 10 cycles d'attachement - détachement de la myosine par seconde. Elles nécessiteront donc la production rapide de molécules

$$\text{Glycolyse} \quad \begin{cases} \text{Glucose} + 2\,\text{ADP} + 2\,\text{Pi} \xrightarrow{\text{glycolyse}} 2\,\text{Pyruvate} + 2\,\text{ATP ou} \\ \text{Glycogene}_n + 3\,\text{ADP} + 3\,\text{Pi} \xrightarrow{\text{glycogenolyse}} \text{Glycogene}_{n-1} + 2\,\text{Pyruvate} + 3\,\text{ATP} \end{cases}$$

$$+$$

$$\text{Cycle de Krebs} : 2\,\text{Pyruvate} + 6\,O_2 + 34\,\text{ADP} \longrightarrow 6\,CO_2 + 6\,H_2O + 34\,\text{ATP}$$

soit un bilan

$$\begin{gathered} \text{Glucose} + 6\,O_2 + 36\,\text{ADP} \longrightarrow 6\,CO_2 + 6\,H_2O + 36\,\text{ATP} \\ \text{Glycogene}_n + 6\,O_2 + 37\,\text{ADP} \longrightarrow 6\,CO_2 + 6\,H_2O + 37\,\text{ATP} \end{gathered} \tag{2.7}$$

Réaction 2.7 – **Métabolisme oxydatif. Synthèse d'ATP à partir de glucose.** Le bilan en ATP correspond au cumul des ATP générés par la glycolyse et des ATP générés par oxydation du pyruvate dans le cycle de Krebs. Le bilan est de 36 ATP si le substrat est le glucose ou de 37 ATP si le substrat est le glycogène. ADP : adénosine diphosphate ; ATP : adénosine triphosphate ; CO_2 : dioxyde de carbone ; H_2O : eau ; O_2 : oxygène ; Pi : phosphate inorganique. D'après Baker *et al.* (2010) et Hargreaves et Spriet (2020).

ATP. Les besoins de ces fibres sont cependant court dans le temps du fait de leur fatigabilité. Les fibres à contraction lente, quant à elles, ne réalisent que 3 cycles d'attachement-détachement de la myosine par seconde. Cependant, elles ne sont pas sensibles à la fatigue et pourront effectuer ces contractions sur une longue durée. Ces fibres lentes ont donc un besoin plus faible en ATP par unité de temps, mais sur des temps beaucoup plus importants.

Pour répondre à leurs besoins énergétiques, les fibres musculaires ont recours à l'ensemble de ces voies métaboliques en proportions variables. Les fibres lentes, qui ne nécessitent pas un apport important et immédiat d'ATP, mettent principalement en œuvre la voie oxydative en puisant majoritairement leur énergie dans les réserves de l'organisme (lipides et glucides). Cette voie métabolique leur permet d'assurer une production importante d'ATP dans la durée et ainsi de maintenir l'effort musculaire sur le long terme. À l'inverse, les fibres rapides qui ont un besoin important et rapide d'ATP mobilisent principalement la voie glycolytique en puisant dans les réserves glucidiques immédiatement mobilisable (glycogène). Cette voie métabolique leur garantit une production très rapide d'ATP, mais avec un rendement extrêmement faible et limité (Hocquette *et al.*, 2000; Listrat *et al.*, 2015).

2.2.3 Muscles « blancs » ou « rouges » ?

Comme nous avons pu le voir au cours des pages précédentes, les muscles squelettiques sont des tissus complexes et hétérogènes composés de fibres musculaires, de tissus conjonctifs, de tissus adipeux et de tissus vasculaires et nerveux. Ils sont généralement constitués de plusieurs types de fibres musculaires, les proportions respectives de chacune donnant les caractéristiques générales du muscle. L'ensemble des caractéristiques que nous venons de voir (vitesse de contraction, fatigabilité, métabolisme énergétique) permettent de distinguer quatre types de fibres allant des fibres à contraction lente majoritairement oxydatives (MyHC I) aux fibres à contraction rapide à métabolisme principalement glycolytique (MyHC IIb), en passant par les fibres intermédiaires rapides oxydo-glycolytiques (MyHC IIa et IIx) (cf tableau 2.2 « Caractéristiques biologiques des quatre types de fibres musculaires » - page suivante).

Outre leurs caractéristiques contractiles ou métaboliques, ces quatre types de fibres se différencient au niveau de caractéristiques biochimiques et physiologiques. Ainsi, de par leur métabolisme majoritairement oxydatif, les fibres lentes oxydatives (MyHC I) requièrent un apport important en oxygène. De ce fait, elles sont très vascularisées et contiennent un taux impor-

tant de myoglobine qui est le transporteur d'oxygène des cellules musculaires. Elles contiennent également un grand nombre de mitochondries qui sont les organites indispensables au métabolisme oxydatif. Ces fibres tirent principalement leur énergie des réserves lipidiques dont elles disposent. De ce fait, elles contiennent plus de lipides que les fibres rapides. Contrairement aux fibres lentes oxydatives, les fibres rapides glycolytiques (MyHC IIb) sont faiblement vascularisées et ne contiennent que peu de mitochondries et de myoglobines. Elles puisent le principal de leur énergie de la glycolyse. Leur réserve énergétique est donc principalement composée d'une quantité de glycogène, beaucoup plus importante que dans les fibres lentes oxydatives. Enfin, les fibres intermédiaires rapides oxydo-glycolytiques (MyHC IIa et IIx) se distinguent entre elles par l'intensité relative des métabolismes énergétiques qu'elles mettent en œuvre, ainsi que par les réserves dont elles disposent ou leur niveau de vascularisation et d'oxygénation.

Type de fibre	**I**	**IIa**	**IIx**	**IIb**
Type Contractile				
Vitesse de contraction	+	+++	++++	+++++
ATPase myofibrillaire	+	+++	++++	+++++
Seuil d'excitation	+	+++	++++	+++++
Capacité de travail				
Puissance de tension	+	+++	+++	+++++
Durée de travail journalier	+++++	+++	+++	+
Résistance à la fatigue	+++++	++++	++	+
Métabolisme énergétique				
Oxydatif	+++++	++++ / +++++	+ / ++	+
Glycolytique	+	++++	++++	+++++
Réserves énergétiques				
Phosphocréatine	+	+++++	+++++	+++++
Glycogène	+	+++++	++++	+++++
Triglycérides	+++++	++	+	+
Phospholipides	+++++	++++	+++	+
Caractéristiques physiologiques				
Vascularisation	+++++	++++	++	+
Mitochondrie	++++	+++	++	+
Myoglobine	+++++	+++	+/++	+

Tableau 2.2 – **Caractéristiques biologiques des quatre types de fibres musculaires.** + : très faible ; ++ : faible ; +++ : moyen ; ++++ : élevé ; ++++ : très élevé. D'après Gilles et Anctil (2006); Hocquette *et al.* (2000); Listrat *et al.* (2015); Tortora et Derrickson (2017).

Parmi les muscles squelettiques, il est possible de distinguer les muscles de coloration foncée dits « **muscles rouges** » des muscles de coloration claire dits « **muscles blancs** ». Cette différence de coloration est due à leur différence de composition en fibres musculaires. Les muscles rouges sont composés essentiellement de fibres lentes oxydatives, et doivent leur couleur à la grande quantité de myoglobine contenue dans les fibres lentes. Il s'agit de manière générale de muscles impliqués dans la posture des animaux. À l'inverse, les muscles roses ou blancs, sont composés d'une plus grande quantité de fibres rapides. Ils sont donc d'apparence plus claire, car ils contiennent peu, voire très peu, de myoglobine (cf figure 2.16 « Caractéristiques biologiques des muscles rouges et blancs » - page suivante).

Résumé du chapitre

Comme nous venons de le voir dans ce chapitre, le muscle tissu vivant et fonctionnel dont la fonction première est la production de mouvement, est un tissu complexe et hétérogène constitué d'un assemblage de cellules musculaires, de tissus conjonctifs, de tissus adipeux et de tissus vasculaires et nerveux. Le muscle squelettique, qui correspond au tissu musculaire consommé sous forme de viande, est généralement composé de plusieurs types de fibres musculaires possédant des propriétés contractiles et des métabolismes énergétiques différents. Les caractéristiques contractiles et énergétiques du muscle seront alors déterminées par les caractéristiques du type de fibres prédominant.

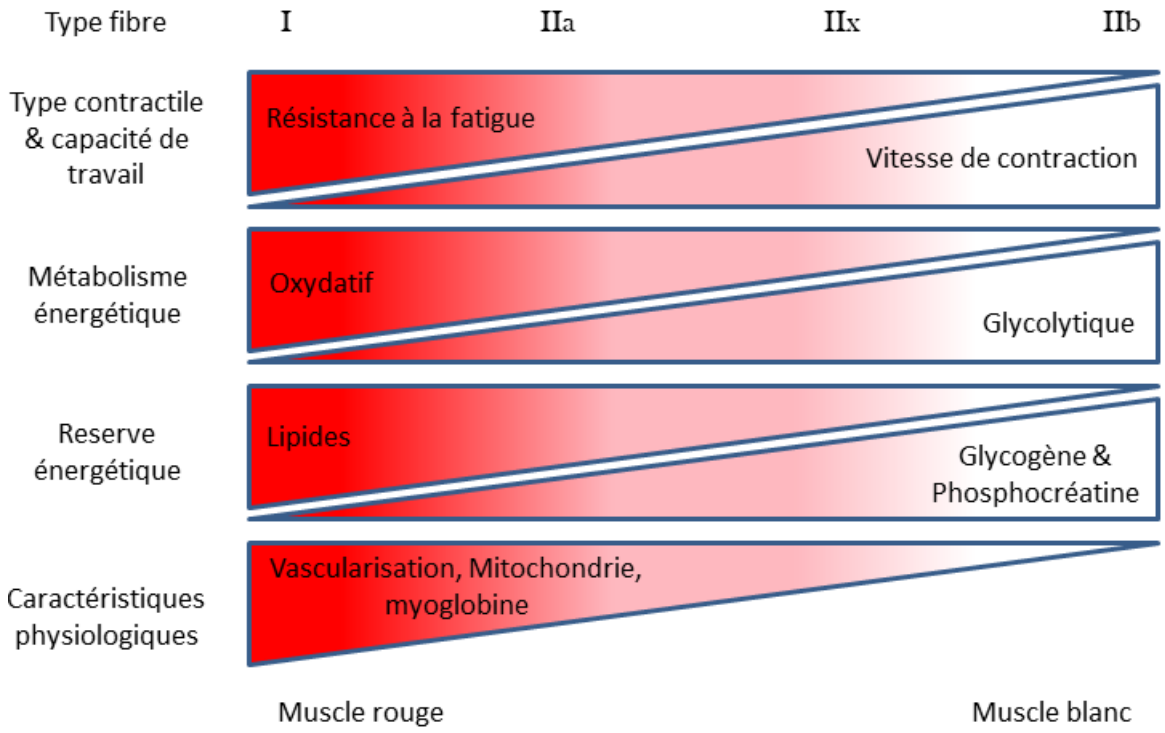


FIGURE 2.16 – **Caractéristiques biologiques des muscles rouges et blancs.** D'après Gilles et Anctil (2006); Hocquette *et al.* (2000); Listrat *et al.* (2015); Tortora et Derrickson (2017).

Bibliographie

J. S. Baker, M. C. McCormick et R. A. Robergs : Interaction among Skeletal Muscle Metabolic Energy Systems during Intense Exercise. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2010. ISSN 2090-0724. URL https://doi.org/10.1155/2010/905612. 55, 56, 57, 58, 59

R. E. Burke, D. N. Levine, F. E. Zajac, P. Tsairis et W. K. Engel : Mammalian Motor Units : Physiological-Histochemical Correlation in Three Types in Cat Gastrocnemius. *Science*, 174(4010):709–712, nov. 1971. ISSN 0036-8075, 1095-9203. URL https://doi.org/10.1126/science.174.4010.709. 54

J. Feher : 3.5 - Contractile Mechanisms in Skeletal Muscle. *In* J. Feher, éd. : *Quantitative Human Physiology (Second Edition)*, p. 305–317. Academic Press, Boston, jan. 2017. ISBN 978-0-12-800883-6. URL https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800883-6.00028-8. 46, 48, 53

R. Gilles et M. Anctil : Mouvements. *In Physiologie animale*. De Boeck Supérieur, fév. 2006. ISBN 978-2-8041-4893-5. 41, 42, 43, 44, 45, 50, 51, 53, 54, 60, 61

W. Guo et M. Greaser : 2 - Muscle Structure, Proteins, and Meat Quality. *In* P. P. Purslow, éd. : *New Aspects of Meat Quality : From Genes to Ethics*, p. 13–31. Woodhead Publishing, mars 2017. ISBN 978-0-08-100600-9. 42, 43, 44, 45, 48, 51, 52

M. Hargreaves et L. L. Spriet : Skeletal muscle energy metabolism during exercise. *Nature Metabolism*, 2(9):817–828, sept. 2020. ISSN 2522-5812. URL https://doi.org/10.1038/s42255-020-0251-4. 56, 58, 59

C. A. Henderson, C. G. Gomez, S. M. Novak, L. Mi-Mi et C. C. Gregorio : Overview of the Muscle Cytoskeleton. *Comprehensive Physiology*, 7(3):891–944, juin 2017. ISSN 2040-4603. URL https://doi.org/10.1002/cphy.c160033. 49

J. Hocquette, I. Ortigues-Marty, M. Damon, P. Herpin et Y. Geay : Métabolisme énergétique des muscles squelettiques chez les animaux producteurs de viande. *INRAE Productions Animales*, 13(3):185–200, juin 2000. ISSN 2273-7766, 2273-774X. URL https://doi.org/10.20870/productions-animales.2000.13.3.3780. 56, 58, 59, 60, 61

E. Huff-Lonergan et S. M. Lonergan : New frontiers in understanding drip loss in pork : recent insights on the role of postmortem muscle biochemistry. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 124(s1):19–26, 2007. ISSN 1439-0388. URL https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2007.00683.x. 44

O. Jaka, L. Casas-Fraile, A. L. d. Munain et A. Sáenz : Costamere proteins and their involvement in myopathic processes. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 17, 2015. ISSN 1462-3994. URL https://doi.org/10.1017/erm.2015.9. 49

D. Laborde, A. Talmant, G. Monin, R. Dauzat, J. F. Gardette et P. Vernin : Activités enzymatiques métaboliques et contractiles de 30 muscles du Porc. Relations avec le pH ultime atteint après la mort. *Reproduction Nutrition Développement*, 25(4A):619–628, 1985. ISSN 0181-1916. URL https://doi.org/10.1051/rnd:19850503. 54

S. Lange, N. Pinotsis, I. Agarkova et E. Ehler : The M-band : The underestimated part of the sarcomere. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1867(3), 2020. URL https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2019.02.003. 48

L. Lefaucheur : Les différents types de fibres musculaires chez le porc. Conséquences sur la production de viande. *INRA Productions Animales*, 2(3):205–213, 1989. URL https://hal.inrae.fr/hal-02720560. 43, 44

A. Listrat, B. Lebret, I. Louveau, T. Astruc, M. Bonnet, L. Lefaucheur et J. Bugeon : Comment la structure et la composition du muscle déterminent la qualité des viandes ou chairs. *INRA Productions Animales*, 28(2):12, 2015. URL https://doi.org/10.20870/productions-animales.2015.28.2.3020. 42, 43, 44, 52, 59, 60, 61

A. Listrat, B. Lebret, I. Louveau, T. Astruc, M. Bonnet, L. Lefaucheur, B. Picard et J. Bugeon : How muscle structure and composition influence meat and flesh quality. *Scientific World Journal*, 2016:undefined–undefined, 2016. ISSN 1537744X. URL https://doi.org/10.1155/2016/3182746. 42, 43, 44

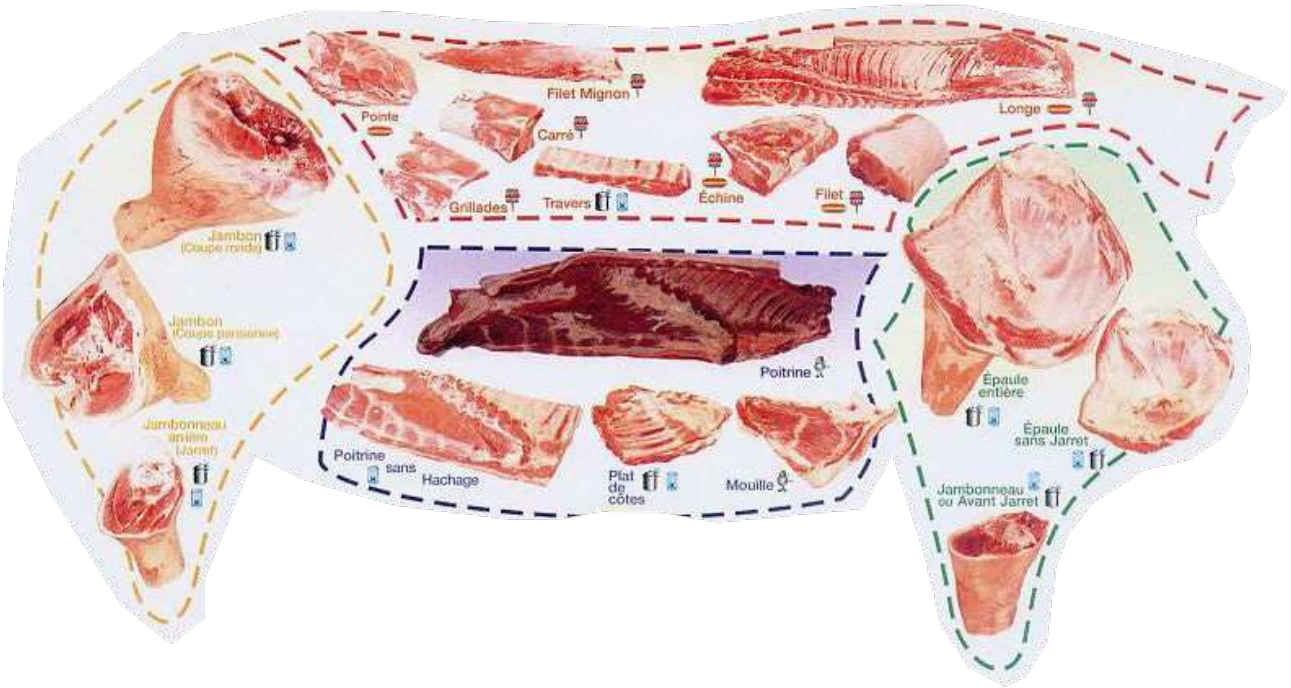
C. T. Murphy, R. S. Rock et J. A. Spudich : A myosin II mutation uncouples ATPase activity from motility and shortens step size. *Nature Cell Biology*, 3(3):311–315, mars 2001. ISSN 1476-4679. URL https://doi.org/10.1038/35060110. 52

A. K. Peter, H. Cheng, R. S. Ross, K. U. Knowlton et J. Chen : The costamere bridges sarcomeres to the sarcolemma in striated muscle. *Progress in Pediatric Cardiology*, 31(2):83–88, mai 2011. ISSN 1058-9813. URL https://doi.org/10.1016/j.ppedcard.2011.02.003. 49

G. J. Tortora et B. Derrickson : 10 - Muscular tissue. *In Principles of Anatomy and Physiology*. Wiley, 15 édn, 2017. ISBN 978-1-119-32064-7. 41, 42, 43, 44, 45, 47, 48, 50, 51, 52, 56, 58, 60, 61

CHAPITRE 3

... à l'élaboration des qualités sensorielles et technologiques des viandes



https ://www.soboviandes.com/album/decoupe/schema-decoupe-viande-porc.html

Sommaire

Introduction **67**
3.1 La transformation du muscle en viande **67**
3.1.1 Installation de la *rigor mortis* ou rigidité cadavérique 67
3.1.1.1 Le métabolisme énergétique *post-mortem* 67
3.1.1.2 Chute du pH : une conséquence du métabolisme énergétique *post-mortem* 68
3.1.2 Le stress oxydatif 69
3.1.3 La maturation de la viande : la protéolyse *post-mortem* 70
3.1.3.1 Les cibles de la protéolyse *post-mortem* 71
3.1.3.2 Les protéases : actrices de la protéolyse 72
3.2 Implication pour le développement de la qualité des viandes . . . **75**
3.2.1 Effet sur la qualité technologique des viandes : le pouvoir de rétention d'eau (PRE) 75
3.2.2 Effet sur les qualités sensorielles des viandes 76
3.2.2.1 La texture de la viande 76
3.2.2.2 La flaveur de la viande 78
3.2.2.3 La couleur de la viande 78
3.2.3 Quel lien avec la structure du muscle ? 78
3.3 Des indicateurs de qualités **79**
3.3.1 La mesure du pH 80
3.3.2 L'estimation de la couleur 81
3.3.3 Conséquence pour les débouchés des viandes 82
3.3.4 Le cas particulier de la viande déstructurée 82
Résumé du chapitre **83**
Bibliographie **85**

Figures

3.1 Installation de la *rigor mortis* en fonction du temps et du métabolisme énergétique *post-mortem*. 68
3.2 Transformation du muscle en viande : résumé des processus en jeu. 74
3.3 Relation entre la cinétique de chute du pH et la qualité de la viande. 77
3.4 Relation entre la structure et le métabolisme du muscle, ses caractéristiques biochimiques et les qualités sensorielles de la viande. 80
3.5 La cinétique de chute du pH *post-mortem* comme indicateur de la qualité des viandes. 81
3.6 Gamme de couleurs pour l'estimation de la couleur de la viande 82

Tableaux

3.1 Tri et débouchés des viandes selon les défauts constatés. 83

Introduction

À la mort de l'animal, effectuée par saignée, les cellules et tissus sont privés de tout apport externe de nutriments et d'oxygène. L'équilibre homéostatique qui permettait de maintenir l'intégrité cellulaire et les capacités fonctionnelles des cellules musculaires se trouve rompu. La rupture de ces équilibres et les évolutions biochimiques et structurales qui en découlent vont alors induire le processus de mort cellulaire qui conduit à la conversion du tissu vivant, le muscle, en produit alimentaire, la viande.

Dans ce chapitre, nous aborderons les différentes étapes de cette transformation au travers des phases de *rigor mortis* et de maturation et des processus biochimiques mis en œuvre au cours de ces phases, ainsi que l'effet de ces modifications sur le développement des caractéristiques qualitatives de la viande.

3.1 La transformation du muscle en viande

3.1.1 Installation de la *rigor mortis* ou rigidité cadavérique

Au cours des heures qui suivent la mise à mort de l'animal, le muscle passe de la phase de *pre-rigor* à l'état de *rigor mortis*. Cette étape dure de 6 à 8 heures pour le porc. Ce changement d'état peut être scindé en trois étapes. Dans un premier temps, les muscles de l'animal restent dans un état de relaxation. Pour cela, les cellules musculaires consomment les réserves énergétiques présentent dans la cellule. C'est la phase de latence. Lorsque les réserves énergétiques du muscle diminuent, les fibres d'actine et de myosine commencent à former des liaisons irréversibles. C'est la phase d'initiation de la rigidité cadavérique. Enfin, lorsque toutes les réserves énergétiques sont épuisées, la rigidité des muscles est complète (cf figure 3.1 « Installation de la *rigor mortis* en fonction du temps et du métabolisme énergétique *post-mortem* » - page suivante). La mise en place et la durée de ces étapes sont dépendantes du métabolisme énergétique *post-mortem* et des réserves énergétiques du muscle.

3.1.1.1 Le métabolisme énergétique *post-mortem*

Comme nous venons de le dire, la mort de l'animal, prive les cellules et tissus de l'organisme de nutriments et d'oxygène. Cependant, les cellules musculaires, qui sont encore fonctionnelles, continuent d'hydrolyser des molécules d'ATP afin de maintenir la concentration de calcium intracellulaire et de laisser les fibres de myosine et d'actine en situation de « repos », c'est-à-dire dissociées (cf section 2.12 « Cycle de contraction de la myosine » - page 52) et ainsi conserver un muscle non-contracté.

Faute d'oxygène, la régénération des molécules d'ATP ne peut plus se faire par oxydation mitochondriale des lipides ou glucides, voie la plus productive. Le métabolisme énergétique des muscles passe alors d'un métabolisme majoritairement aérobie ayant un fort rendement (cf section 2.2.2.3 « Le métabolisme oxydatif » - page 58) à un métabolisme exclusivement anaérobie, possédant un plus faible rendement, basé sur la voie des phosphagènes (cf section 2.2.2.1 « Le Métabolisme anaérobie alactique ou voie des phosphagènes » - page 55) et la voie glycolytique (cf section 2.2.2.2 « Le métabolisme anaérobie lactique ou métabolisme glycolytique » - page 56) (Solaini *et al.*, 2010).

Lorsque la voie des phosphagènes a épuisé plus de 70 % des réserves de phosphocréatine, le taux d'ATP intracellulaire commence à décroître. La vitesse de régénération des ATP devient à ce moment-là inférieure à la vitesse d'hydrolyse d'ATP par les ATPase myofibrillaires et par les SERCA, pompes à calcium ATP dépendantes qui régulent la concentration calcique

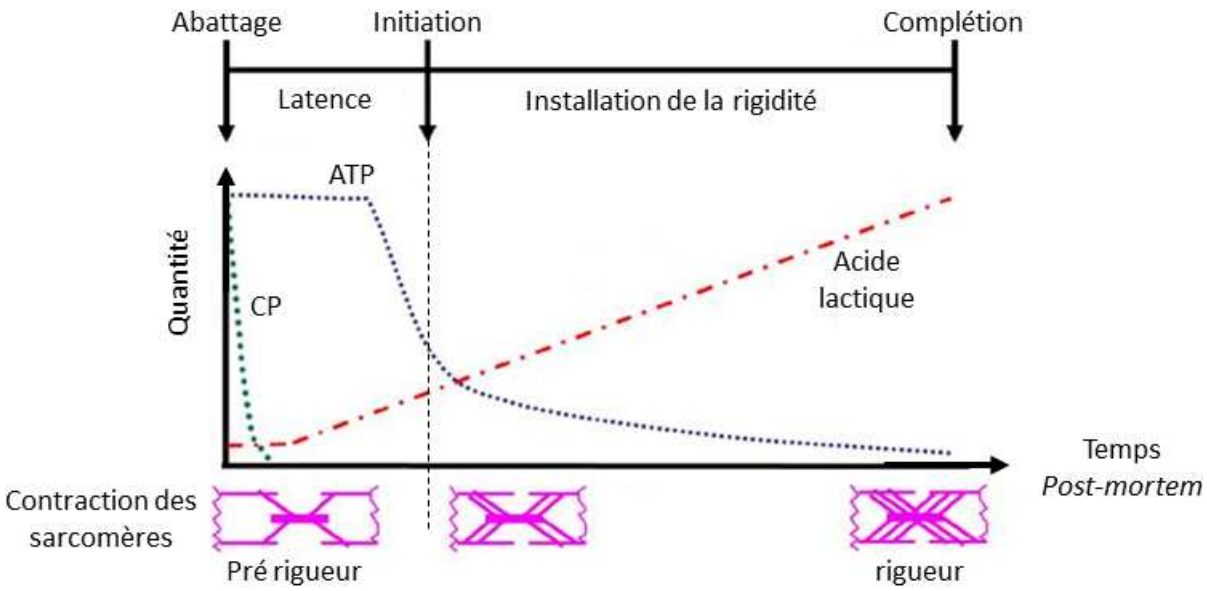


FIGURE 3.1 – **Installation de la *rigor mortis* en fonction du temps et du métabolisme énergétique *post-mortem*.** Dans le bas de la figure, est représentée la contraction sarcomérique à trois phases différentes. Pendant la période de latence, les sarcomères sont capables de se contracter et de se relâcher. Lorsque la phase d'initiation de la *rigor mortis* débute, les sarcomères se raccourcissent. Le raccourcissement des sarcomères est à son maximum lorsque la rigidité cadavérique est complète. D'après le site A learning resource produced for Q-PorkChains consulté le 12 mai 2020.

intracellulaire (cf section 2.1.3.2 « Le couplage excitation-contraction : cycle du calcium » - page 50). Ce déficit de synthèse des ATP s'accroît encore lorsque les réserves de phosphocréatine sont totalement épuisées et que la seule voie de synthèse des ATP est la voie glycolytique. La diminution du taux d'ATP intracellulaire induit alors un ralentissement de l'activité des SERCA et par conséquent une augmentation de la concentration de Ca^{2+} intracellulaire. Celle-ci ne cesse de croître jusqu'à ce que le réticulum sarcoplasmique soit vidé de ses réserves de calcium. L'augmentation de la concentration en calcium intracellulaire a pour effet de libérer un plus grand nombre de sites de liaison de tête de myosine sur l'actine (cf section 2.1.3.2 « Le couplage excitation-contraction : cycle du calcium » - page 50) accroissant *de facto* l'intensité de la contraction sarcomérique. Le cycle de contraction de la myosine se poursuit tant que les conditions biochimiques requises pour les réactions enzymatiques de synthèse ou d'hydrolyse des ATP le permettent. C'est-à-dire, tant que la température ou le pH du milieu réactionnel correspondent aux conditions fonctionnelles des enzymes ou que les substrats sont présents dans le milieu réactionnel. Lorsque le renouvellement d'ATP n'est plus suffisant et que le taux d'ATP atteint 50 % du taux d'ATP du muscle au repos, les molécules d'actine et de myosine se lient en actomyosine. La phase de *rigor mortis* s'installe alors. Elle devient complète et irréversible lorsque l'ensemble des molécules d'ATP ont été hydrolysées. Les mouvements des fibres d'actine et de myosine deviennent impossibles. La taille des sarcomères est à son minimum. La tension musculaire est extrêmement forte provoquant la rigidité complète du muscle, qui atteint alors sa dureté maximale (Bruce et Aalhus, 2017; England *et al.*, 2017; Guo et Greaser, 2017; Honikel, 2014a,b; Monin, 2003; Ouali, 1991; Ramanathan *et al.*, 2019; Scheffler et Gerrard, 2007; Warner, 2016).

3.1.1.2 Chute du pH : une conséquence du métabolisme énergétique *post-mortem*

Parallèlement à l'installation de la *rigor mortis*, le milieu intracellulaire s'acidifie. Le pH musculaire proche de la neutralité (pH 7.2) chute et atteint un pH aux alentours de 5,4 - 5,7. Cette acidification du milieu intracellulaire a longtemps été associée à l'augmentation du taux

d'acide lactique induit par la dégradation du pyruvate par fermentation lactique. Cependant, il semblerait que cette diminution du pH soit essentiellement due à l'accumulation d'ions H^+ libérés lors de l'hydrolyse des ATP (cf réaction 2.1 « Production d'énergie par hydrolyse de l'ATP » - page 51). L'acide lactique ayant plutôt un rôle tampon, puisque la réduction du pyruvate en lactate nécessite l'utilisation d'ions H^+ (réaction 3.1). Quoi qu'il en soit, le flux sanguin étant interrompu, l'élimination des ions H^+ n'est plus possible, et l'accumulation de ceux-ci provoque l'acidification progressive du milieu intracellulaire. Celle-ci va se poursuivre jusqu'à l'arrêt des réactions biochimiques permettant la synthèse et l'hydrolyse des molécules d'ATP et se stabiliser, au cours des 24 heures qui suivent la mort de l'animal, à une valeur appelée pH ultime (pHu ou pH24). Cet arrêt est déterminé, soit par la consommation complète des réserves énergétiques constituées par le glycogène intramusculaire, soit par le faible niveau atteint par le pH, les enzymes impliquées dans les réactions métaboliques en jeu étant sensibles au pH du milieu réactionnel (England *et al.*, 2017; Guo et Greaser, 2017; Monin et Santé-Lhoutellier, 2014; Ramanathan *et al.*, 2019).

$$\text{Pyruvate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{lactate deshydrogenase}} \text{Lactate} + \text{NAD}^+ \tag{3.1}$$

Réaction 3.1 – **Réduction du pyruvate en acide lactique.** Cette réaction permet d'une part de tamponner l'acidification du milieu cellulaire par utilisation d'ions hydrogène, et d'autre part de renouveler le stock de nicotinamide adénine dinucléotide oxydée, élément indispensable à la glycolyse. NAD^+ : nicotinamide adénine dinucléotide oxydée ; NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide réduite ; H^+ : ion hydrogène. D'après Baker *et al.* (2010)

La cinétique de chute du pH est définie usuellement par deux indicateurs. Le pH mesuré 45 minutes ou 1 heure *post-mortem* (appelé pH45, pH1 ou pHi) qui caractérise la vitesse de chute du pH, et le pH ultime mesuré 24 h *post-mortem* qui caractérise l'amplitude de chute du pH. Cette cinétique de chute est déterminante pour la qualité des viandes. La vitesse de chute du pH est dépendante de la vitesse à laquelle le taux de calcium augmente dans le sarcoplasme et du pouvoir tampon des fibres musculaires. Le taux de calcium sarcoplasmique est un facteur important pour la contraction des fibres musculaires. Une augmentation rapide du taux de calcium va accroître la vitesse d'hydrolyse des ATP par les ATPase myofibrillaires lors des cycles d'attachement détachement de la myosine à l'actine. Il en résultera alors une augmentation de la vitesse à laquelle le taux d'H^+ intracellulaire augmente. Cette augmentation de l'acidité peut partiellement être ralentie par la capacité tampon des fibres musculaires qui est en partie liée à la quantité de phosphocréatine et de glycogène stockée dans le muscle. En effet, les métabolismes énergétiques anaérobies mettant en jeu ces deux substrats sont consommateurs d'ions hydrogène et donc en mesure de ralentir la chute de pH de la viande (voir réaction 2.2 « Voie des phosphagènes : Synthèse d'ATP à partir de phosphocréatine » - page 55 et réaction 3.1 « Réduction du pyruvate en acide lactique » - ci-dessus). L'amplitude de la chute du pH est quant à elle fonction de la quantité de glycogène (substrat énergétique du métabolisme anaérobie lactique) présente dans les cellules musculaires au moment de la mort de l'animal (Lebret *et al.*, 1999; Ouali, 1991).

3.1.2 Le stress oxydatif

Parallèlement au basculement d'un métabolisme énergétique majoritairement aérobie vers un métabolisme anaérobie lactique et à la chute de pH qui en découle, la cellule doit faire face à une oxydation de ses constituants. Cette oxydation résulte d'une rupture de l'équilibre redox intracellulaire provoquée par l'augmentation du taux de facteurs oxydants au-dessus de la

normale physiologique. Cet état est généralement résumé sous le terme de « stress oxydatif ». Ce phénomène est provoqué par une quantité trop importante de molécules oxydantes réunies sous l'appellation « Radical Species » dont les deux grandes familles sont les « Reactive Oxygen Species (ROS) » et les « Reactive Nitrogen Species (RNS) ». Ces molécules oxydantes sont principalement issues du métabolisme énergétique ayant lieu dans les mitochondries au niveau des chaînes de transport d'électrons ou bien au niveau du réticulum sarcoplasmique. Elles sont produites en permanence en faible quantité lors du fonctionnement cellulaire normal. Elles se présentent sous forme de radicaux libres (superoxide ($O_2^{\bullet -}$), hydroxyl ($OH^{\bullet}$), perhydroxyl ($HOO^{\bullet}$), nitric oxide ($NO^{\bullet}$), peroxyl ($ROO^{\bullet}$) ou encore sulfate ($SO_4^{\bullet}$)) ou sous forme non-radicale (oxygène (O_2), ozone (O_3), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peroxynitrite ($ONOO^-$), ou lipide peroxyde (ROOH)). Ce sont des molécules instables possédant un ou plusieurs électrons libres ce qui les rend chimiquement très réactives. Elles vont rapidement réagir en oxydant les molécules environnantes (protéines, lipides) pour retrouver un état stable (Bekhit *et al.*, 2013; Bolisetty et Jaimes, 2013; Zorov *et al.*, 2014).

En condition physiologique normale, l'équilibre redox joue un rôle important dans diverses voies de signalisation moléculaire : réponse inflammatoire, croissance, différenciation cellulaire, régulation du cycle cellulaire, régulation du taux de calcium, élimination de compartiments cellulaires défectueux ou de cellules défectueuses... L'équilibre redox est notamment impliqué dans la modulation de l'expression génique (Powers *et al.*, 2011; Zorov *et al.*, 2014). Plusieurs systèmes sont alors mis en jeu pour éliminer ces co-produits qui peuvent se révéler toxiques pour la cellule en cas d'excès. Ces systèmes font appel à des enzymes telles que les superoxydes dismutases (SOD), la catalase ou la glutathione peroxidase (GPx) ou à des molécules « éliminatrices » de ROS telles que la bilirubine, l'acide urique ou la vitamine E (Bekhit *et al.*, 2013; Bolisetty et Jaimes, 2013; Kozakowska *et al.*, 2015; Powers *et al.*, 2011).

La baisse du taux d'oxygène intracellulaire provoquée par l'ischémie et l'hypoxie, induites par la mise à mort de l'animal par saignée, a pour effet de diminuer l'activité mitochondriale et par conséquent l'activité de la chaîne de transport d'électrons qui est à l'origine de la production de ROS. Mais contrairement à ce qui pourrait être attendu, la baisse du taux d'oxygène ne diminue pas la production de ROS, mais au contraire l'augmente (Sierra et Oliván, 2013; Solaini *et al.*, 2010; Zorov *et al.*, 2014). Cette augmentation de ROS au-delà de la normale physiologique pourrait induire une augmentation de la perméabilité membranaire des mitochondries par l'ouverture permanente des mPTP (mitochondrial permeability transition pore) laissant passer les ROS dans le cytosol. Cet événement s'accompagnerait d'une chute du potentiel de membrane, ce qui provoquerait *in fine* une instabilité membranaire suivie d'une déstructuration de la mitochondrie et de son élimination par mitophagie. Ces événements en cascade conduisent alors à la libération de protéines pro-apoptotiques et des ROS dans le cytosol pouvant induire la mort cellulaire. (Bolisetty et Jaimes, 2013; Sierra et Oliván, 2013; Solaini *et al.*, 2010; Zorov *et al.*, 2014).

3.1.3 La maturation de la viande : la protéolyse *post-mortem*

L'étape de maturation correspond à l'étape finale de la transformation du muscle en viande. Au cours de cette étape, le muscle qui est atteint de rigidité cadavérique va s'attendrir progressivement et acquérir l'ensemble des caractéristiques qualitatives qui la rendront propre à la transformation et à la consommation. Si l'installation de la *rigor mortis* s'effectue au cours des quelques heures qui suivent la mort de l'animal, la maturation de la viande, quant à elle, est une étape plus longue qui s'étale sur plusieurs jours. Au cours de cette étape, des protéines structurales de l'appareil contractile, des protéines du cytosquelette ainsi que des protéines transmembranaires, sont progressivement dégradées sous l'action de divers systèmes protéasiques intracellulaires. Cette dégradation induit une déstructuration de l'appareil contractile,

une désolidarisation des myofibrilles entre elles et par rapport aux membranes biologiques auxquelles elles étaient liées (membranes nucléaires et cellulaires), ainsi qu'une déstabilisation des membranes biologiques affectant la structure et l'intégrité des différents compartiments cellulaires, des cellules musculaires et *in fine* du muscle.

Bien que qualifiée d'étape finale de la transformation du muscle en viande, la protéolyse qui aboutit à la maturation de la viande est initiée dès l'apparition de l'ischémie induite par la mise à mort de l'animal. Elle débute donc avant l'installation de la *rigor mortis* et se poursuit durant les deux à trois semaines qui suivent l'abattage de l'animal (Huff-Lonergan, 2014; Ouali, 1991).

3.1.3.1 Les cibles de la protéolyse *post-mortem*

La protéolyse *post-mortem* intervient au niveau de plusieurs structures de la cellule musculaire et induit la désorganisation de celles-ci. Les principales protéines dégradées sont des protéines sarcomériques, des protéines du cytosquelette ou des protéines transmembranaires (Devine, 2014; Guo et Greaser, 2017; Koohmaraie et Geesink, 2006).

Les protéines sarcomériques. Au niveau des sarcomères, si lors de la maturation les filaments d'actine et de myosine, qui sont les composants principaux des fibres contractiles, ne sont que peu dégradés, ce n'est pas le cas de protéines impliquées dans la régulation de l'activité contractile telles que les troponines I et T ou bien les protéines C ou Myosin binding protein C (MyBP-C) (Devine, 2014; Huff-Lonergan, 2014). Tout comme les troponines, les protéines C qui sont localisées à proximité de la ligne M, jouent un rôle important dans la régulation des interactions entre l'actine et la myosine (Heling *et al.*, 2020; Robinett *et al.*, 2019). Outre leurs implications dans la régulation des interactions entre les fibres d'actine et de myosine, ces protéines assurent également un rôle structural. En effet, les troponines avec les tropomyosines sont impliquées dans la structure et la conformation du filament fin, tandis que les protéines C garantissent la cohésion de la structure du sarcomère par leurs liaisons aux filaments de myosines et de titines. D'autres protéines impliquées dans la cohésion de l'architecture complexe du sarcomère sont dégradées lors de cette phase protéolytique. La dégradation de ces protéines sarcomériques provoque une fragmentation des structures transversales du sarcomère que sont les lignes Z et M et qui garantissent le positionnement transversal des myofilaments. C'est le cas notamment de la titine et de la nébuline qui par leurs ancrages respectifs dans les lignes Z et M, ou dans la ligne Z seulement, assurent le positionnement longitudinal des filaments épais et fins dans le sarcomère. C'est également le cas de la myomesine (protéine M) composant principal de la ligne M dont le rôle est d'une part d'assurer, en lien avec la titine, l'ancrage des filaments épais au centre du sarcomère et d'autre part de garantir une stabilité mécanique au sarcomère en répartissant les forces de contraction de chaque côté du sarcomère (Lange *et al.*, 2020).

Les protéines du cytosquelette. Au niveau du cytosquelette, les protéines dégradées sont les desmines, les dystrophines et les vinculines. Les desmines forment un réseau de filaments intermédiaires relié aux lignes Z et M et qui ancre les myofibrilles dans les membranes plasmiques et nucléaires de la cellule musculaire, garantissant ainsi l'alignement des myofibrilles adjacentes dans la cellule (cf section 2.10 « Liaison des myofibrilles à la membrane plasmique » - page 49). Les dystrophines et vinculines quant à elles assurent le lien mécanique entre les myofibrilles et les protéines transmembranaires du costamère. La dégradation de ces filaments intermédiaires induit une désolidarisation des myofibrilles qui perdent leur ancrage intracellulaire. Un effet similaire est induit par la dégradation des intégrines qui sont des protéines transmembra-

naires du costamère. Les forces transversales et longitudinales de la contraction ne sont alors plus transmises à la membrane sarcoplasmique et la membrane plasmique se désolidarise du cytosquelette.

3.1.3.2 Les protéases : actrices de la protéolyse

Bien que les processus impliqués dans cette protéolyse *post-mortem* ne soient pas encore bien compris, on estime aujourd'hui qu'il s'agit d'un processus principalement enzymatique reposant sur l'activation de plusieurs systèmes protéolytiques endogènes dont le rôle « normal » est de permettre la réparation des structures endommagées et ainsi de maintenir la structure de l'appareil contractile en état de fonctionnement. Parmi ces enzymes, citons les calpaïnes, les cathepsines ainsi que les caspases (Bhat *et al.*, 2018; Lana et Zolla, 2016; Lian *et al.*, 2013; Ouali *et al.*, 2006; Ramanathan *et al.*, 2019).

Le système des calpaïnes (CAPN). Ce système enzymatique a longtemps été considéré comme le principal acteur de la protéolyse *post-mortem* (Guo et Greaser, 2017). Il est composé de protéases calcium dépendantes non-lysosomales et d'une protéine inhibitrice, la calpastatine (CAST). Dans le muscle, trois isoformes sont présentes. Les protéases CAPN1 ou μ-calpaïnes sont majoritairement localisées dans les myofibrilles au niveau de la ligne Z, pour 70 % d'entre elles, et des bandes I et A , tandis que les CAPN3, aussi nommées p94, sont majoritairement retrouvées au niveau des lignes M. Les CAPN2 quant à elles se retrouvent principalement dans le cytosol. Enfin, la localisation de CAST coïncide avec les localisations des CAPN. (Biswas *et al.*, 2020; Goll *et al.*, 2003; Lian *et al.*, 2013).

L'activité protéolytique des CAPN est induite par la fixation d'ions calcium. Les calpaïnes changent alors de conformation ce qui libère les sites protéasiques des molécules. Cette modification conformationnelle permet l'expression de la fonction protéolytique de l'enzyme en rendant accessibles les sites protéolytiques. Cette modification a également pour effet de permettre le contrôle de l'activité protéolytique des CAPN par la fixation de CAST sur les CAPN qui sont liées à des ions Ca^{2+}. L'activation des CAPN induit par ailleurs une autoprotéolyse. Celle-ci a pour effet de réduire notablement le taux de calcium requis pour l'activité protéolytique de ces enzymes. L'activité des CAPN est optimale à pH neutre. In vitro, l'activation de CAPN1 et de CAPN2 requiert des concentrations en calcium de l'ordre du micromolaire pour la première et du millimolaire pour la seconde, d'où leur nom respectif de μ-calpaïne ou m-calpaïne (Bhat *et al.*, 2018; Biswas *et al.*, 2020; Devine, 2014; Koohmaraie, 1994; Ramanathan *et al.*, 2019). En condition physiologique, les calpaïnes sont inactives, le taux de calcium intracellulaire étant insuffisant pour les activer. Les modes d'activation et de contrôle de l'activité protéolytique des CAPN ne sont pas encore très bien compris, mais il semblerait que l'activation physiologique des calpaïnes puisse passer par une diminution du besoin en Ca^{2+} ainsi que par une augmentation très localisée du taux de calcium (Goll *et al.*, 2003).

Si comme nous venons de le voir, l'activité des CAPN est grandement dépendante du taux de calcium, elle dépend également des conditions de pH, de forces ioniques ou de la température. Bien que l'activité protéolytique des CAPN soit plus importante à un pH neutre et une température supérieur à 25 °C (Kanawa *et al.*, 2002; Pomponio et Ertbjerg, 2012), l'évolution *post-mortem* de ces facteurs pourrait permettre d'initier l'activité protéolytique. En effet, au cours des heures qui suivent la mort de l'animal, l'évolution du pH et des forces ioniques dans le milieu intracellulaire altère la conformation des calpaïnes. Cette modification conformationnelle et l'autolyse induite ont pour effet de diminuer les besoins des CAPN en ions calcium rendant l'activation des CAPN possible (Biswas *et al.*, 2020; Lian *et al.*, 2013). Ainsi, lorsque le pH intramusculaire chute à 6,8 et que le taux de calcium intracellulaire augmente, les conditions d'activation de la μ-calpaïne sont alors réunies. L'équilibre entre l'activité protéolytique de la

μ-calpaïne et son autolyse est alors optimal. Lorsque le pH chute en dessous de 6 l'activité protéolytique de la μ-calpaïne diminue et devient nulle lorsque la valeur du pH atteint 5,6 (Kanawa *et al.*, 2002; Maddock *et al.*, 2005). Contrairement à la μ-calpaïne, il semblerait que CAPN2 et CAPN3 ne soient pas impliquées dans l'activité protéolytique *post-mortem* (Biswas *et al.*, 2020; Koohmaraie, 1994; Lian *et al.*, 2013; Maddock *et al.*, 2005).

Cependant, il est à noter que le rôle des calpaïnes dans la protéolyse *post-mortem* n'est pas unanimement reconnu. Ainsi Kanawa *et al.* (2002) considèrent que dans les conditions de pH et de température trouvées dans les cellules musculaires *post-mortem* les calpaïnes sont inactives et émettent l'hypothèse que la dénaturation des structures protéiques soit le fait de l'augmentation du calcium intracellulaire.

Les cathepsines. Ces enzymes, qui appartiennent à une famille de protéases lysosomiales, pourraient avoir un rôle dans l'étape de maturation des viandes. Leur activité est optimale en milieu acide à un pH de 5,4 - 5,6 ce qui correspond aux valeurs de pH ultime des viandes. Sur les 15 cathepsines connues, huit sont présentes dans les cellules musculaires. Au cours de la phase de *rigor mortis*, la fragilisation des lysosomes permet la libération des cathepsines. Lorsque le pH du muscle descend en dessous de 6 et que l'activité des CAPN commence à décroître, les cathepsines pourraient alors entrer en action et prolonger la protéolyse en cours dans les cellules musculaires sur toute la durée de la maturation (Devine, 2014; Huff-Lonergan, 2014; Ramanathan *et al.*, 2019). Cependant, leur rôle dans la protéolyse *post-mortem* est encore sujet à débat. En effet, si d'un côté la protéolyse *in vitro* de tropomyosine par des extraits de cathepsines B et L permet d'obtenir un profil de dégradation proche de celui trouvé dans la viande après maturation (Kitamura *et al.*, 2010), le fait que d'un autre côté, la myosine et l'actine, qui sont des cibles des cathepsines, ne soient pas dégradées lors de la maturation des viandes laisse planer un doute sur le rôle réel des cathepsines dans la dégradation des protéines musculaires pendant la maturation de la viande (Huff-Lonergan, 2014).

Les caspases. Plus récemment, l'implication des caspases dans la protéolyse *post-mortem* a été envisagée (Ouali *et al.*, 2006). Les caspases sont une famille de protéases impliquées dans l'apoptose, c'est-à-dire dans la mort ordonnée et programmée de la cellule. Cette mort programmée se met en place lorsque l'environnement cellulaire ne permet pas la survie de la cellule, ce qui est typiquement le cas de l'environnement cellulaire induit par l'ischémie et l'hypoxie survenant suite à la mise à mort de l'animal. La cascade d'événements conduisant à l'activation des caspases et donc à l'apoptose démarrerait donc de manière très précoce bien avant l'installation de la *rigor mortis* (Kemp et Parr, 2012; Lana et Zolla, 2016; Ouali *et al.*, 2006). On parle de mort cellulaire programmée, car celle-ci répond à un signal, qu'il soit de provenance extérieur à la cellule ou bien interne à celle-ci, et de mort ordonnée en opposition à la nécrose qui résulte d'un processus inflammatoire aboutissant à la destruction de plusieurs cellules environnantes. Dans le cas de l'apoptose, le processus apoptotique commence par isoler la cellule en cause en supprimant les contacts avec les cellules voisines, ce qui a pour effet de ne pas impliquer celles-ci dans le processus de destruction. Parallèlement, les mitochondries subissent une altération de leur membrane provoquant la libération de leur contenu et notamment des cytochromes c dans le cytoplasme. Cette libération de cytochromes c par les mitochondries active les caspases dites initiatrices (caspase 9), qui elles-mêmes peuvent alors activer les caspases effectrices (caspases 3 et 7) qui vont permettre la lyse des structures cellulaires et induire la mort de la cellule (Ouali *et al.*, 2006). Cet enchaînement d'événements permettrait d'expliquer différents processus observés lors de la maturation de la viande et notamment la mise en place de « drip channel » ou canaux d'écoulement entre les cellules aboutissant à la perte en eau de la viande (cf section 3.2.1 « Effet sur la qualité technologique des viandes : le pouvoir de rétention d'eau (PRE) » - page 75) (Ouali *et al.*, 2006).

Si des doutes subsistent sur l'action directe des caspases sur les protéines structurales du sarcomère, plusieurs études ont montré que les caspases 3 étaient capables de lyser les desmines ayant subies une oxydation, ou pouvaient agir en synergie avec les μ-calpaïnes pour permettre la protéolyse de protéines sarcomériques oxydées alors que, seules, les CAPN en sont incapables (Lana et Zolla, 2016). Enfin, l'action protéolytique connue des caspases sur la calpastatine inhibiteur des calpaïnes permet d'envisager un rôle indirect de celle-ci en favorisant l'action des CAPN (Huff-Lonergan, 2014; Kemp et Parr, 2012; Lana et Zolla, 2016).

Comme l'illustre la figure 3.2 « Transformation du muscle en viande : résumé des processus en jeu », ci-dessous, les modifications des équilibres homéostatiques dans la cellule musculaire, ainsi que le basculement vers un métabolisme énergétique *post-mortem* anaérobie lactique, induisent une acidification du milieu intracellulaire suivi de phénomènes de déstructuration de l'architecture protéique cellulaire par protéolyse. De nombreuses questions restent en suspens concernant la cascade d'événements interdépendants qui se succèdent après la mort de l'animal et le rôle exact des différents systèmes protéolytiques impliqués dans la protéolyse *post-mortem*. Cependant, il semblerait que la question soit plus de comprendre comment ces différents systèmes protéolytiques interagissent entre eux et dans quelle temporalité, que de savoir quelle est « le système » responsable de la protéolyse *post-mortem*.

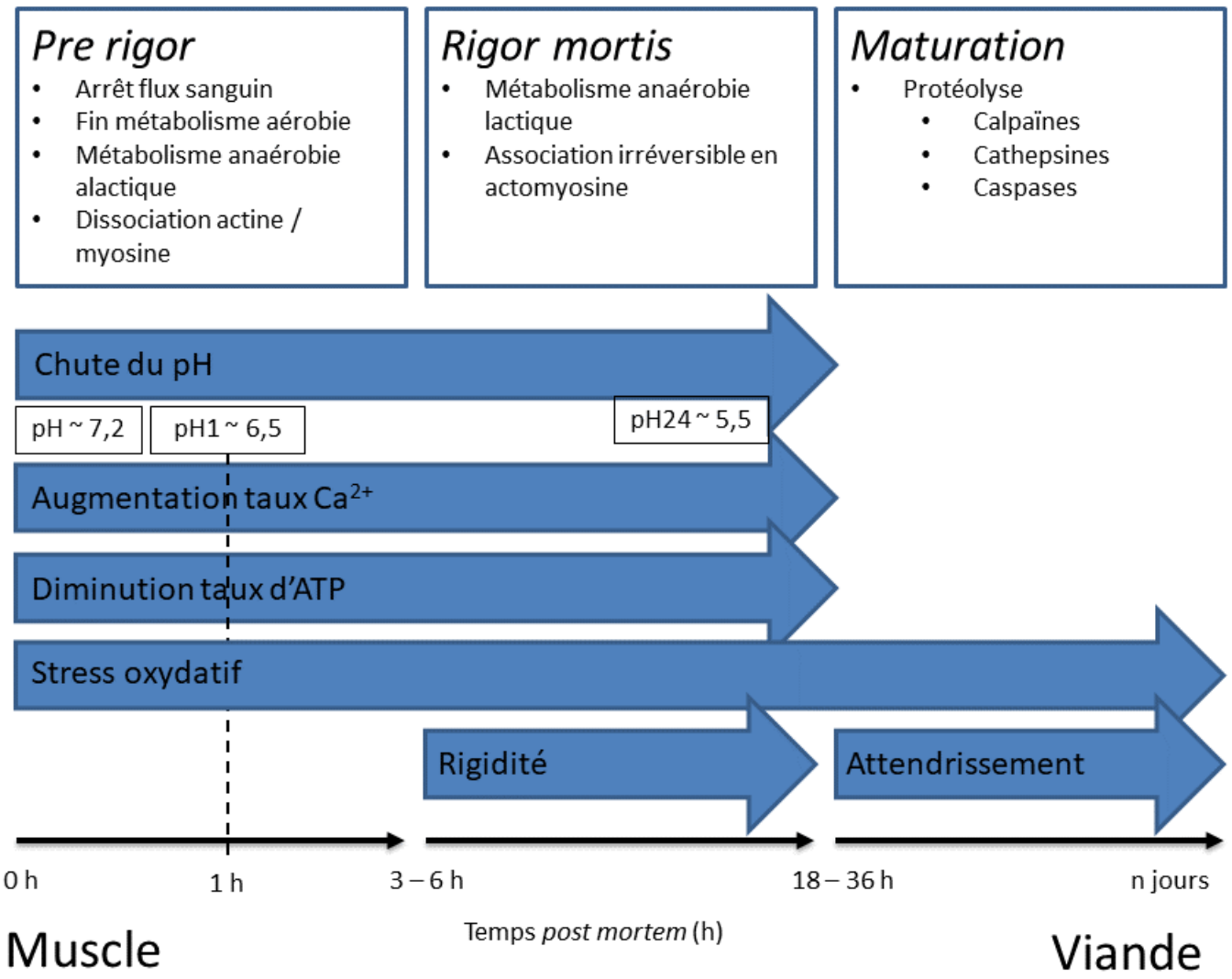


FIGURE 3.2 – **Transformation du muscle en viande : résumé des processus en jeu.**

3.2 Implication pour le développement de la qualité des viandes

La structure des cellules musculaires repose sur une architecture protéique garantissant la stabilité des myofibrilles et la liaison de celles-ci à la membrane cellulaire. Cette architecture complexe assure ainsi la fonctionnalité de la cellule musculaire. À la mort de l'animal, des bouleversements biochimiques importants ont lieu : chute du pH, stress oxydatif, protéolyse. Ces processus complexes et interdépendants, décrits dans la section précédente, découlent directement de la mise à mort de l'animal et de l'hypoxie qui en résulte.

Les caractéristiques complexes du tissu musculaire, composé de cellules musculaires, de tissus conjonctifs et de tissus adipeux (cf chapitre 2 « Du muscle .. » - page 35), ainsi que l'ensemble des modifications biochimiques et structurales affectant les cellules musculaires qui ont cours après la mort de l'animal pendant les phases de *rigor mortis* et de maturation, contribuent à l'élaboration des qualités sensorielles et technologiques des viandes.

- Développement des caractères associés à la transformation, notamment au travers du PRE ;
- Développement des critères associés à la sensation en bouche :
  - la texture au travers de la tendreté et de la jutosité ;
  - la flaveur au travers du goût et de l'odorat ;
- Développement des critères associés à l'aspect visuel.

3.2.1 Effet sur la qualité technologique des viandes : le pouvoir de rétention d'eau (PRE)

Comme évoqué dans le chapitre abordant les différents aspects de la qualité des viandes, la qualité technologique repose essentiellement sur la capacité de la viande à retenir l'eau contenue dans les tissus musculaires (cf section 1.4.3 « La qualité technologique » - page 28).

Pour rappel, le muscle squelettique est constitué d'environ 73 % d'eau (Lefaucheur, 1989; Listrat *et al.*, 2016), la plus grande partie de cette eau (85 %) étant contenue dans les espaces intra-myofibrillaires entre les filaments d'actine et de myosine (Huff-Lonergan et Lonergan, 2007). Au cours de l'installation de la *rigor mortis*, la contraction des sarcomères provoque un rétrécissement longitudinal des myofibres (England *et al.*, 2017). Parallèlement, l'acidification du milieu intracellulaire augmente l'hydrophobicité des protéines musculaires et modifie la charge électrique des myofilaments. Ces myofilaments, ne subissant plus le phénomène de répulsion électrostatique, se rapprochent sur le plan transversal, ce qui a pour effet mécanique de réduire encore plus l'espace où l'eau est conservée (Ouali *et al.*, 2006). Ainsi, les effets cumulés du rétrécissement longitudinal (contraction des sarcomères) et transversal (rapprochement des myofilaments) des fibres musculaires et l'augmentation de l'hydrophobicité des protéines, provoquent un déplacement de l'eau stockée dans les espaces intra-myofibrillaire vers l'espace extra-myofibrillaire (Bertram *et al.*, 2004; Huff-Lonergan et Lonergan, 2005; Huff-Lonergan et Lonergan, 2007; Hughes *et al.*, 2014; Scheffler et Gerrard, 2007). Au cours de l'étape de maturation, la contraction des muscles disparaît, les protéines de structure musculaire et du cytosquelette sont dégradées sous l'action de protéases endogènes, les membranes cellulaires deviennent perméables et des espaces se créent entre les cellules musculaires. L'eau jusque-là maintenue dans l'espace intracellulaire peut alors s'écouler hors des cellules dans ces espaces intercellulaires, qui forment des canaux d'écoulement, et sous l'effet des forces de gravité, ou de la pression, former un exsudat à la surface de la viande (Guo et Greaser, 2017; Honikel, 2014a; Hughes *et al.*, 2014). Ce phénomène contribue également à la perte d'eau lors de la cuisson des

pièces de viande et donc à la perte de rendement à la fabrication de jambon cuit (efficacité du saumurage, perte à la cuisson), mais également à l'apparente pâleur de la viande due à la réflexion de la lumière sur la viande humide (Fischer, 2007; Hocquette *et al.*, 1998; Sellier *et al.*, 1992).

La vitesse de chute du pH (pH1) et l'amplitude de sa chute (pHu) sont des facteurs déterminants pour le PRE. Des variations importantes de ces paramètres sont responsables de l'apparition de défauts importants dans la qualité des viandes. Ainsi, lorsque le pH chute rapidement au cours de la première heure qui suit l'abattage (pH1 < 6), la dénaturation des protéines musculaires débute alors que la température du muscle est encore élevée ce qui a pour effet d'accentuer la protéolyse et induit une perte en eau plus importante que la normale. On parle dans ce cas de viande « pisseuse » ou « viande PSE » (Pale Soft Exsudative). Cette viande se caractérise par un aspect suintant avec un taux important d'exsudat en surface, une texture molle et une couleur plutôt pâle. Lorsque la vitesse de chute du pH est normale, mais que le pH ultime est trop bas (pH $< 5{,}5$), on parle de « viande acide ». Contrairement à l'exsudat excessif présenté par les viandes PSE, qui est principalement dû à l'importante dénaturation des protéines, l'importante perte de liquide à la cuisson qui caractérise les viandes acides est essentiellement due à l'augmentation de l'hydrophobicité des protéines musculaires et à la neutralisation de leur charge (Monin et Santé-Lhoutellier, 2014). *A contrario*, un pHu trop élevé (pHu $> 6{,}2$) ne provoque pas ou très peu de dénaturation des protéines myofibrillaires. Le rétrécissement latéral des myofibres est alors faible et l'eau stockée dans cet espace intra-myofibrillaire y demeure. Ces viandes dites « DFD » (Dark Firm Dry) se caractérisent par un aspect sec et sombre et une texture dure. Elles ont une très forte capacité à retenir l'eau à l'intérieur des tissus, ce qui a pour effet de diminuer la capacité de pénétration du sel dans la viande (diminutions des qualités technologiques de la viande) et d'augmenter le risque de développement bactérien (diminution des qualités sanitaires). Ces viandes seront par conséquent, moins aptes à la transformation en produit sec (Adzitey et Nurul, 2011; Lebret, 2004; Monin et Santé-Lhoutellier, 2014). L'impact de la cinétique de l'évolution du pH *post-mortem* sur les caractéristiques des viandes telles que décrites dans ce paragraphe est résumé dans la figure 3.3 « Relation entre la cinétique de chute du pH et la qualité de la viande » page suivante.

3.2.2 Effet sur les qualités sensorielles des viandes

Les qualités sensorielles de la viande se réfèrent à la perception du produit au travers des sens (cf section 1.4.4 « La qualité sensorielle » - page 29). S'agissant d'un produit de consommation alimentaire, les sens mis en œuvre (tactile, olfactif, gustatif et visuel) permettent de juger de la texture de la viande, de sa saveur, ainsi que de sa couleur.

3.2.2.1 La texture de la viande

Les aspects liés à la texture de la viande apparaissent à la mastication. Ils sont associés à la tendreté de la viande qui correspond à la facilité avec laquelle la viande est mastiquée ou coupée, tandis que la jutosité de la viande reflète le caractère plus ou moins sec de la viande (England *et al.*, 2017; Lebret et Picard, 2015).

La jutosité Comme il vient d'être dit, la jutosité de la viande correspond à la sensation d'une viande plus ou moins sèche en bouche après mastication. Cette sensation est directement reliée à la quantité d'eau présente dans la viande et donc au PRE. Elle est donc très clairement influencée par la vitesse et l'étendue de la chute du pH qui sont eux-mêmes dépendant de la quantité de glycogène stockée dans les fibres musculaires et de leur vitesse de contraction. Elle dépend également de la teneur en lipides intramusculaires présents dans le muscle. Ces lipides

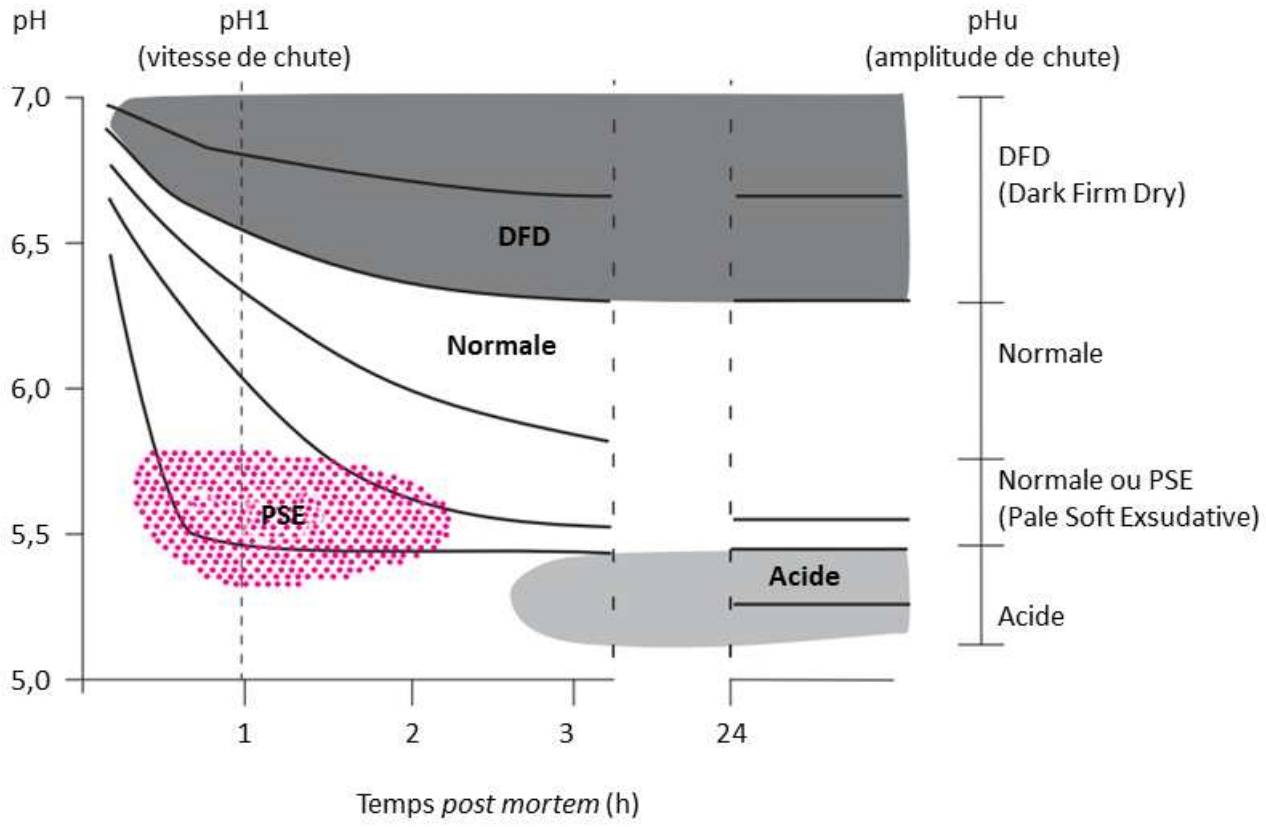


FIGURE 3.3 – **Relation entre la cinétique de chute du pH et la qualité de la viande.** Lorsque le pHu est supérieur à 6,2 la viande présente un aspect sombre, sec et dur (Dark Firm Dry). Si la chute de pH est trop rapide (pH<6 au cours de la première heure) alors la viande présente un aspect pâle, mou et suintant (Pale Soft Exsudative). Si le pH au bout de 24h est inférieur à 5,5 alors la viande est dite acide et présente une perte importante de liquide à la cuisson. D'après Lebret (2004) et Monin et Santé-Lhoutellier (2014).

en stimulant la salivation favorise la sensation de jutosité ressentie (Hughes *et al.*, 2014; Lebret et Picard, 2015).

La tendreté La tendreté ou la dureté de la viande évolue au cours des processus biochimiques ayant cours *post-mortem*. Au cours des premières heures suivant la mort de l'animal, la *rigor mortis* s'installe résultant en une contraction des sarcomères qui se traduit en un durcissement de la viande (England *et al.*, 2017). Ce durcissement est alors à son point le plus élevé (Honikel, 2014a). La viande s'attendrit ensuite sous l'effet de la protéolyse qui diminue la résistance physique en s'attaquant aux protéines sarcomériques et aux protéines du cytosquelette durant la phase de maturation (Huff-Lonergan, 2014; Ouali, 1991).

Les volumes des cellules musculaires étant remplis à 80 % par des myofibrilles, l'altération de celles-ci par protéolyse est le point crucial de la maturation des viandes. S'agissant d'un phénomène majoritairement enzymatique, l'efficacité de la maturation sera fortement dépendante du pH et de la température du muscle au moment de cette phase. L'attendrissement de la viande dépendra également de la composition du muscle en fibres musculaires (donc de son métabolisme majoritaire) ainsi que des protéases présentes (Huff-Lonergan, 2014; Lebret *et al.*, 1999).

3.2.2.2 La flaveur de la viande

Simultanément à la texture de la viande, la mastication laisse percevoir la flaveur de l'aliment. Celle-ci fait intervenir les sens du goût et de l'odorat. La jutosité participe également à la perception de la saveur puisqu'elle permet de stimuler la salivation. Ces perceptions du goût et de l'odeur sont fortement liées au PRE, aux lipides et aux peptides générés par la protéolyse qui lors de la cuisson libèrent des composés aromatiques donnant le goût caractéristique de la viande due notamment à la réaction de Maillard (Lebret et Picard, 2015; Ouali *et al.*, 2006; Shahidi, 2002).

De ce fait, l'étendue de la protéolyse *post-mortem*, ainsi que le niveau de stress oxydatif, vont avoir une influence déterminante sur la perception de la flaveur de la viande au travers de leurs actions respectives sur la dégradation des protéines ou de l'altération des lipides par oxydation, cette dernière altérant le goût et l'odeur des aliments (Amaral *et al.*, 2018).

3.2.2.3 La couleur de la viande

Dernier point abordé, mais non des moindres : la vue. La vue est la première perception que le consommateur a de la viande. L'apparence visuelle de la viande revêt donc un aspect important dans la décision d'achat et de consommation. Il s'agit donc d'un aspect primordial de la qualité du produit. Outre l'aspect physique de la viande (structure, gras intramusculaire ou gras de couverture, tissu conjonctif), la couleur de la viande est capitale, car elle transmet un message d'appétence générale et une image de qualité sanitaire et nutritionnelle (Lebret et Picard, 2015).

La couleur de la viande varie en fonction de la teneur du muscle en myoglobine et de l'état d'oxydation du noyau hémique de celle-ci qui va influencer la couleur du pigment. Il existe quatre formes de myoglobines dépendant de l'état d'oxydation de la molécule. Ces quatre formes possèdent des couleurs allant du rouge cerise au marron, la proportion relative de ces différentes formes donnant sa couleur plus ou moins foncée à la viande (England *et al.*, 2017; Suman et Joseph, 2013).

Le stress oxydatif joue naturellement un rôle important dans l'état d'oxydation de la myoglobine. Celui-ci intervient à deux niveaux. Tout d'abord, il a un effet direct en agissant sur la stabilité de la myoglobine et sur son état d'oxydation. Il a également un effet indirect par l'intermédiaire de l'oxydation des lipides qui, une fois oxydés, peuvent avoir un effet accélérateur sur l'oxydation de la myoglobine (Faustman *et al.*, 2010; Ouali *et al.*, 2006; Suman et Joseph, 2013). Parallèlement au stress oxydatif, la chute du pH a un effet significatif sur l'intensité de la couleur de la viande. La dénaturation de la myoglobine, induite par la chute du pH, facilite son changement d'état oxydatif. Par ailleurs, l'étendue de la chute du pH en influençant la capacité de rétention d'eau va modifier la teneur de la viande en myoglobine. Ainsi, des viandes de type PSE qui sont soumises à une perte importante en eau, auront une couleur de viande pâle due en partie au « lessivage » des molécules de myoglobine. À l'opposé, les viandes DFD ont une apparence plus sombre du fait de la faible dénaturation des myoglobines, d'un faible niveau d'exsudat et surtout d'un taux plus important de déoxymyoglobine de couleur plus sombre que l'oxymyoglobine (England *et al.*, 2017; Monin et Santé-Lhoutellier, 2014).

3.2.3 Quel lien avec la structure du muscle ?

L'intensité et la durée de ces modifications biochimiques, et donc le développement des caractéristiques qualitatives de la viande qui en découlent, sont intimement liées à la composition et à la structure complexe du muscle. L'activité protéasique, responsable en grande partie de l'attendrissement de la viande, est dépendante de l'environnement cellulaire dans lequel la réaction a lieu (pH et température). Le pH, qui influence grandement le PRE, est lui-même

dépendant du métabolisme énergétique *post-mortem* qui repose sur la voie glycolytique. Or, l'intensité et la durée de la production d'ATP par cette voie dépendent des réserves musculaires de glycogène à l'instant où l'animal est abattu, réserves qui sont plus importantes dans les fibres à contraction rapide que dans les fibres à contraction lente (cf table 2.2 « Caractéristiques biologiques des quatre types de fibres musculaires » - page 60 et figure 2.16 « Caractéristiques biologiques des muscles rouges et blancs » - page 61).

Ainsi, la chute du pH est généralement plus rapide et plus importante dans les muscles majoritairement glycolytiques du fait d'une réserve en glycogène plus importante. Ces muscles majoritairement composés de fibres à contraction rapide ont tendance à présenter une couleur moins intense (plus pâle), un PRE, une jutosité et une tendreté plus faible, et un niveau de dénaturation protéique plus importantes que les muscles contenant une majorité de fibres à contraction lente et à métabolisme oxydatif. Tandis que les muscles majoritairement oxydatifs, qui possèdent des réserves lipidiques et un nombre de mitochondries et de myoglobines plus importants que les muscles glycolytiques, ont tendance à posséder une couleur plus sombre ainsi qu'une jutosité (implication des lipides intra-musculaires et du PRE plus important) et une tendreté plus importante que les muscles à contraction rapide (Choe *et al.*, 2008; Klont *et al.*, 1998; Listrat *et al.*, 2016; Ryu et Kim, 2005).

Facteurs déterminants des qualités sensorielles et technologiques des viandes, le pourcentage des différents types de fibres musculaires composant un muscle, ainsi que la qualité et la quantité de lipides intramusculaires, sont variables d'un muscle à l'autre et dépendent de facteurs intrinsèques à l'animal tels que son type génétique, son âge ou encore son sexe (Brocks *et al.*, 1998; Choi *et al.*, 2013; Duan *et al.*, 2017; Latorre *et al.*, 2003; Lefaucheur, 2010; Listrat *et al.*, 2016).

La figure 3.4 « Relation entre la structure et le métabolisme du muscle, ses caractéristiques biochimiques et les qualités sensorielles de la viande », page suivante, résume les liens entre la complexité de la structure musculaire, les modifications biochimiques *post-mortem* et la qualité sensorielle des viandes.

3.3 Des indicateurs de qualités

Comme nous l'avons vu, la structure musculaire et les processus de transformation du muscle en viande influencent grandement les qualités technologiques et sensorielles des viandes. La qualité bien qu'étant un aspect des plus importants pour l'ensemble de la filière viande n'est pas une notion très facile à juger. Ce jugement peut être subjectif et les attentes des différents acteurs sont spécifiques. Cependant, tous les acteurs se retrouvent autour d'une demande de viande sans exsudat, sans perte de liquide à la cuisson, et d'aspect homogène. Nous avons vu que le pouvoir de rétention en eau, et que la couleur, tous deux fortement reliés au pH de la viande, étaient parmi les critères les plus importants pour le transformateur, le distributeur ou le consommateur. En ce qui concerne ce dernier, le jugement *de visu* est le seul jugement qu'il puisse porter pour déterminer son acte d'achat ou son choix parmi différentes pièces. Face à ces attentes qualitatives, des indicateurs de qualité permettant d'effectuer un classement des viandes à l'abattoir ont été mis en place afin de permettre un tri simple des carcasses et ainsi d'identifier rapidement les principaux défauts de qualité des viandes.

La réglementation française stipule que les pièces de découpe doivent être exemptes de défauts visuels tels que la présence d'hématomes, de tissus adipeux à l'aspect mou ou huileux ou bien de défauts associés à la couleur. Le contrôle du pH des jambons est également une exigence de cette réglementation (Ministère de l'alimentation, de l'agriculture et de la pêche, 2010). De manière générale, la mesure du pH et la couleur de la viande à la découpe sont deux

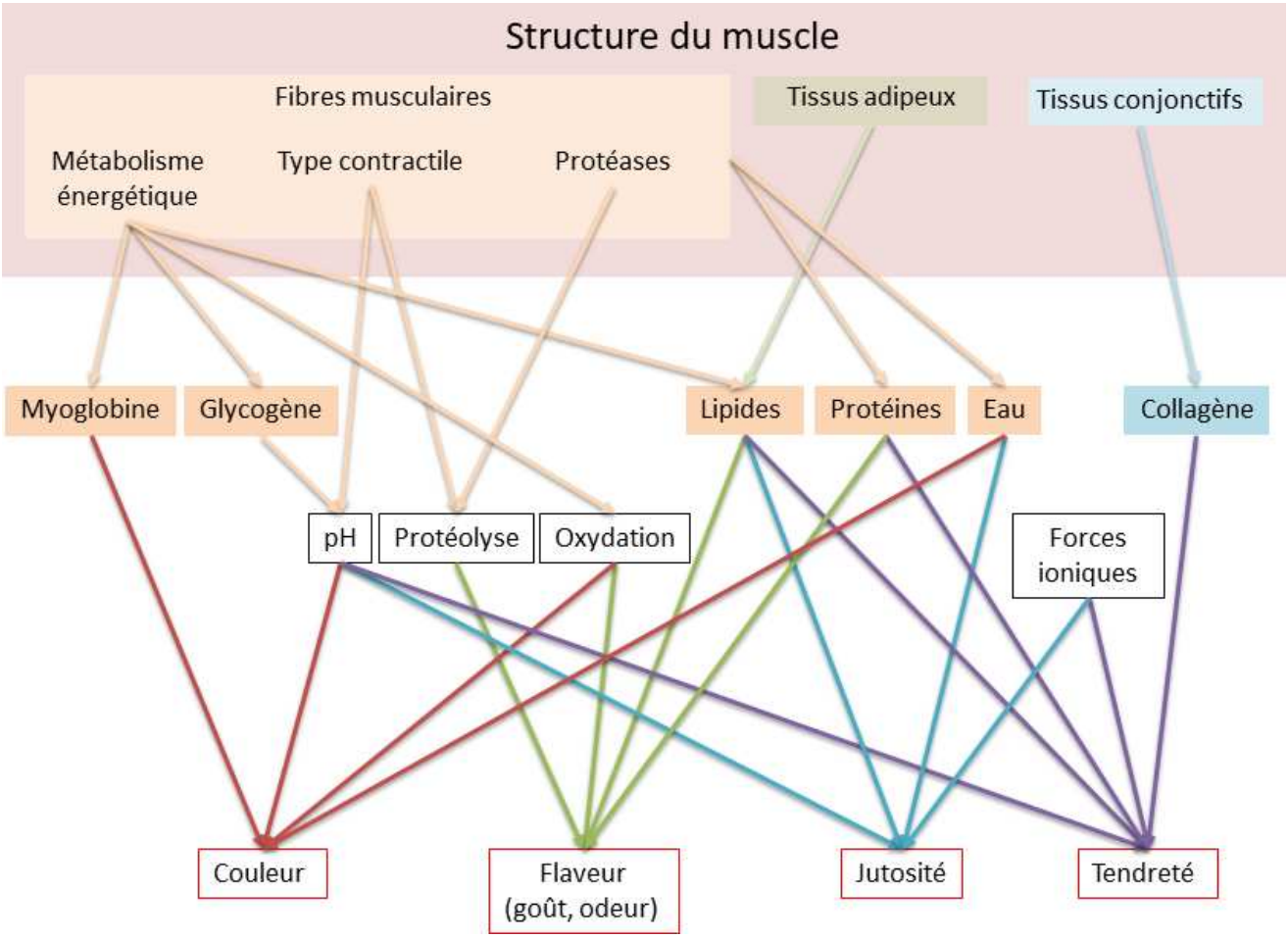


FIGURE 3.4 – **Relation entre la structure et le métabolisme du muscle, ses caractéristiques biochimiques et les qualités sensorielles de la viande.** D'après Lebret et Picard (2015).

indicateurs usuellement utilisés pour qualifier la qualité technologique et sensorielle des viandes.

3.3.1 La mesure du pH

Après la mort de l'animal, le métabolisme énergétique du muscle bascule vers un métabolisme anaérobie lactique qui transforme les réserves de glycogène en ATP et génère une acidification du muscle (cf section 3.1.1.2 « Chute du pH : une conséquence du métabolisme énergétique *post-mortem* » - page 68). Cette chute du pH est variable d'un muscle à l'autre puisqu'elle dépend grandement du métabolisme initial de celui-ci. Les sites de mesure du pH sont donc strictement définis (cf Annexe E : Sites de mesure du pH sur la carcasse à l'abattoir - page 321).

La vitesse de chute du pH et l'amplitude de sa chute sont des indicateurs importants de la qualité des viandes. Ces deux indicateurs sont associés au pouvoir de rétention en eau, à la tendreté des viandes ainsi qu'à leur aspect coloré (cf section 3.2 « Implication pour le développement de la qualité des viandes » - page 75). La mesure du pH, sur les carcasses au cours de la première heure *post-mortem* ou sur les pièces de découpe après une vingtaine d'heures, est un indicateur précieux pour le tri qualitatif des carcasses ou pièces de viande. Ils permettent de distinguer 4 catégories de viandes : les viandes normales ou RFN (Red Soft Non-exudative), les viandes DFD, les viandes PSE et les viandes acides ou RSE (Red Soft Exudative). Une chute rapide de pH au cours de la première heure *post-mortem* permet d'identifier les viandes dites PSE, tandis que les pH mesurés au bout de 18 à 24 heures permettent d'identifier les viandes de type DFD ou acides (cf figure 3.5 « La cinétique de chute du pH *post-mortem* comme indicateur

de la qualité des viandes » - ci-dessous).

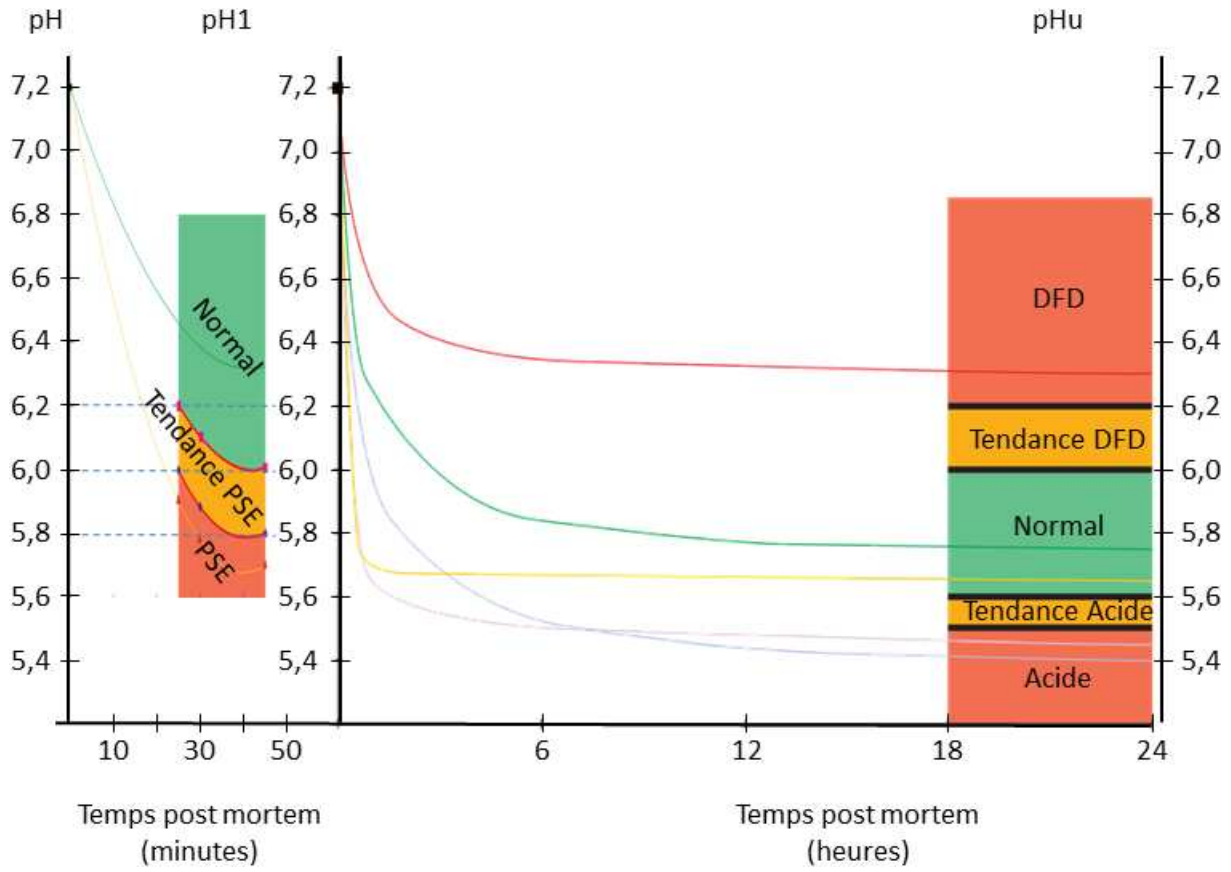


FIGURE 3.5 – **La cinétique de chute du pH *post-mortem* comme indicateur de la qualité des viandes.** Si le pH de la viande est inférieur à 6,2, 6,1 ou 6 respectivement à 25 minutes, 30 minutes ou 45 minutes après la mort de l'animal, la viande est considérée comme ayant une tendance PSE. Elle est classée PSE si les pH sont inférieur à 6, 5,9 ou 5,8. Si le pH ultime est supérieur à 6, la viande est classée comme ayant une tendance DFD et DFD si le pH est supérieur à 6,2. Une viande dont le pHu est inférieur à 5,5 sera qualifiée de viande acide. D'après le fascicule de l'ITP « Trier la viande de porc selon la qualité » consulté le 25 juin 2020 sur le site https://www.ifip.asso.fr/sites/default/files/pdf-documentations/trier_qualite.pdf

3.3.2 L'estimation de la couleur

La couleur de la viande est due à la présence de myoglobines dans le muscle. Les variations de couleur sont liées, d'une part à la teneur du muscle en fibres musculaires rapides ou lentes qui détermine la quantité de myoglobines présente dans le muscle (cf tableau 2.2 « Caractéristiques biologiques des quatre types de fibres musculaires » - page 60), et d'autre part aux processus biochimiques affectant le niveau d'oxydation de la myoglobine, lors de la transformation du muscle en viande, et le pouvoir de rétention en eau de la viande (cf section 3.2.2.3 « La couleur de la viande » - page 78).

La couleur peut être mesurée à l'aide d'un colorimètre, appareil de mesure de la couleur par décomposition selon 3 axes la clarté, l'axe vert-rouge et l'axe bleu-jaune, ou bien estimée par un opérateur à partir d'une gamme chromatique appelée « échelle japonaise ». Celle-ci est composée de 6 niveaux de couleur allant du très pâle au très sombre, et permet ainsi à l'opérateur de rapidement identifier les pièces de découpe présentant une couleur extrême (cf figure 3.6 « Gamme de couleurs pour l'estimation de la couleur de la viande » - page suivante).

Une viande de couleur trop pâle (niveau 1 et 2 sur l'échelle japonaise) sera associée à une viande de type PSE, c'est-à-dire une viande ayant subi une chute rapide de pH ce qui aura induit une dénaturation importante de protéines et une perte en eau excessive. D'un autre côté, une viande excessivement sombre (niveau 5 et 6 sur l'échelle japonaise) sera le fait d'une chute de pH anormalement faible et la caractéristique d'une viande de type DFD. La couleur des pièces permet également de déceler des pièces dont la variation de l'intensité de couleur serait trop importante (différence de deux points sur l'échelle japonaise). Tout comme les viandes PSE ou acides, ce défaut conduisant à des « viandes bicolores », est perçu comme une viande de qualité médiocre par le consommateur.

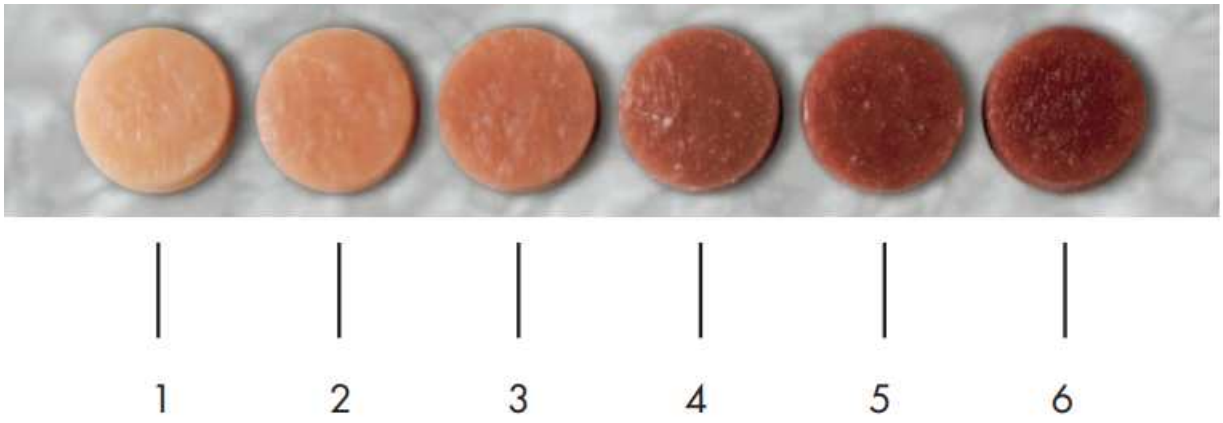


FIGURE 3.6 – **Gamme de couleur pour l'estimation de la couleur de la viande.** D'après le fascicule de l'ITP « Trier la viande de porc selon la qualité » consulté le 25 juin 2020 sur le site https://www.ifip.asso.fr/sites/default/files/pdf-documentations/trier_qualite.pdf

3.3.3 Conséquence pour les débouchés des viandes

La combinaison de ces deux indicateurs permet une qualification rapide et une meilleure orientation des carcasses vers un marché spécifique. Ainsi, comme le montre le tableau 3.1 « Tri et débouchés des viandes selon les défauts constatés », page suivante, l'estimation de la qualité pourra s'effectuer directement sur la carcasse en se basant sur les mesures de pH1 et du pHu, ou sur les pièces de découpe en se basant sur la couleur ou le pHu. Les débouchés commerciaux de ces différentes catégories seront variables selon la qualité (ou le défaut) de la viande. Ainsi, les carcasses ou les pièces de découpes n'ayant aucun défaut pourront être destinées à la consommation en frais ou en produits transformés cuit ou sec, tandis que les viandes acides, PSE ou bicolores seront considérées comme des viandes de médiocre qualité pour la consommation en frais ou la production de produit transformé cuit ou sec et que la viande de type DFD ne pourra trouver de débouchés que dans la transformation en produit cuit.

3.3.4 Le cas particulier de la viande déstructurée

Outre les défauts liés au pH (viandes acides, PSE ou DFD) ou à la couleur (viande bicolore) qui permettent un tri efficace à l'abattoir et évitent ainsi des pertes à la transformation, un autre défaut impactant l'industrie du jambon cuit n'est visible que lorsque le jambon est désossé, car il affecte principalement les muscles situés en profondeur à proximité des os de la jambe. Ce défaut, affecte la structure du muscle et se traduit par une perte importante au tranchage (Lebret *et al.*, 1999). Les viandes touchées par ce défaut sont dites « PSE like », car elles partagent avec les viandes PSE de nombreuses caractéristiques cellulaires et biochimiques (Laville *et al.*, 2005; Monin, 2003).

Type de viande	Acide	PSE	DFD	Bicolore
Critère de tri				
Sur carcasse	pHu < 5,6	pH1 < 6 (45 minutes)	pHu > 6	Impossible à détecter
Sur découpe	pHu < 5,6	Couleur (niveau 1 ou 2)	Couleur ou pHu	Couleur (écart > à 2 niveau)
Débouché				
Frais	Oui (médiocre)	Oui (médiocre)	Non	Oui (médiocre)
Transformé sec				
supérieur	Non	Non	Non	Non
bas de gamme	Oui (médiocre)	Oui (médiocre)	Non	suivant couleur (médiocre)
Transformé cuit				
supérieur	Non	Non	Oui	suivant couleur
bas de gamme	Oui	Oui	Oui	Oui

TABLEAU 3.1 – **Tri et débouchés des viandes selon les défauts constatés.** D'après le fascicule de l'ITP « Trier la viande de porc selon la qualité » consulté le 25 juin 2020 sur le site https://www.ifip.asso.fr/sites/default/files/pdf-documentations/trier_qualite.pdf.

Résumé du chapitre

Dans ce chapitre, nous avons évoqué les processus biochimiques qui gouvernent la conversion du tissu vivant, le muscle, en produit alimentaire, la viande. À la mort de l'animal, effectuée par saignée, les cellules et tissus sont privés de tout apport externe de nutriments et d'oxygène. L'équilibre homéostatique qui permettait de maintenir l'intégrité cellulaire et les capacités fonctionnelles des cellules se trouve rompu. Cet équilibre reposait notamment sur le maintien de la concentration en ions Ca^{2+} et en ATP dans le milieu cellulaire ainsi que sur le contrôle de l'équilibre entre facteurs pro et antioxydants dans le milieu cellulaire. La rupture de ces équilibres et les évolutions biochimiques et structurales qui en découlent vont alors induire un processus de mort cellulaire qui conduit à la conversion du tissu vivant, le muscle, en produit alimentaire, la viande. Cette conversion du muscle en viande repose sur la mise en œuvre de processus complexes et interdépendants qui peuvent être divisés en trois phases. La première phase correspond à la phase de *pre-rigor*. Au cours de cette phase, les muscles sont toujours excitables et capables de contraction. La seconde phase est la phase de *rigor mortis*. Les processus biochimiques en cours dans cette phase mettent en jeu des réactions d'hydrolyse et de synthèse des ATP qui dissipent les réserves énergétiques par voie anaérobie provoquant la rigidité complète du tissu musculaire et la diminution du pH intracellulaire. La troisième phase correspond à la phase de *post-rigor*, au cours de laquelle des réactions de protéolyse affectent l'organisation structurale du sarcomère et du cytosquelette conduisant à l'attendrissement de la viande. Cette phase est également appelée la phase de maturation.

La durée et l'intensité de ces processus de transformation sont des facteurs déterminants pour le développement des caractéristiques de la viande qui déterminent les qualités sensorielles et technologiques des viandes. Cette durée et cette intensité sont largement dépendantes des caractéristiques du tissu musculaire au moment de la mort de l'animal (type de fibres contractiles, métabolisme majoritaire, état des réserves de glycogène, quantité et qualité des lipides...).

La cinétique de chute du pH, qui joue un rôle important dans la détermination des caractéristiques technologiques et sensorielles de la viande, et la couleur des viandes sont utilisées

en abattoir comme indicateurs de la qualité des viandes. Ces indicateurs précoces permettent d'effectuer un tri rapide des carcasses pour répondre au cahier des charges pour la salaison ou le marché de la viande fraîche.

Bibliographie

F. Adzitey et H. Nurul : Pale soft exudative (PSE) and dark firm dry (DFD) meats : Causes and measures to reduce these incidences - a mini review. *International Food Research Journal*, 18(1):11–20, 2011. URL http://www.ifrj.upm.edu.my/18%20(01)%202011/(2)%20IFRJ-2010-091%20Nurul%5B1%5D.pdf. 76

A. B. Amaral, M. V. d. Silva, S. C. d. S. Lannes, A. B. Amaral, M. V. d. Silva et S. C. d. S. Lannes : Lipid oxidation in meat : mechanisms and protective factors – a review. *Food Science and Technology*, 38:1–15, déc. 2018. ISSN 0101-2061. URL https://doi.org/10.1590/fst.32518. 78

J. S. Baker, M. C. McCormick et R. A. Robergs : Interaction among Skeletal Muscle Metabolic Energy Systems during Intense Exercise. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2010. ISSN 2090-0724. URL https://doi.org/10.1155/2010/905612. 69

A. E.-D. A. Bekhit, D. L. Hopkins, F. T. Fahri et E. N. Ponnampalam : Oxidative Processes in Muscle Systems and Fresh Meat : Sources, Markers, and Remedies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(5):565–597, 2013. ISSN 1541-4337. URL https://doi.org/10.1111/1541-4337.12027. 70

H. C. Bertram, A. Schäfer, K. Rosenvold et H. J. Andersen : Physical changes of significance for early post mortem water distribution in porcine M. longissimus. *Meat Science*, 66 (4):915–924, avr. 2004. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00188-8. 75

Z. F. Bhat, J. D. Morton, S. L. Mason et A. E.-D. A. Bekhit : Role of calpain system in meat tenderness : A review. *Food Science and Human Wellness*, 7(3):196–204, sept. 2018. ISSN 2213-4530. URL https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.08.002. 72

A. K. Biswas, S. Tandon et P. K. Mandal : Chapter 7 - Calpain-assisted postmortem aging of meat and its detection methods. *In* A. K. Biswas et P. K. Mandal, éds : *Meat Quality Analysis*, p. 101–114. Academic Press, jan. 2020. ISBN 978-0-12-819233-7. URL https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819233-7.00007-0. 72, 73

S. Bolisetty et E. A. Jaimes : Mitochondria and Reactive Oxygen Species : Physiology and Pathophysiology. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(3):6306–6344, mars 2013. URL https://doi.org/10.3390/ijms14036306. 70

L. Brocks, B. Hulsegge et G. Merkus : Histochemical characteristics in relation to meat quality properties in the Longissimus Lumborum of fast and lean growing lines of Large White pigs. *Meat Science*, 50(4):411–420, déc. 1998. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/S0309-1740(98)00053-9. 79

H. Bruce et J. Aalhus : 7 - Advances in the Understanding and Measurement of Meat Texture. *In* P. P. Purslow, éd. : *New Aspects of Meat Quality : From Genes to Ethics*, p. 129–166. Woodhead Publishing, mars 2017. ISBN 978-0-08-100600-9. 68

J. H. Choe, Y. M. Choi, S. H. Lee, H. G. Shin, Y. C. Ryu, K. C. Hong et B. C. Kim : The relation between glycogen, lactate content and muscle fiber type composition, and their influence on postmortem glycolytic rate and pork quality. *Meat Science*, 80(2):355–362, oct. 2008. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.12.019. 79

Y. M. Choi, K. W. Nam, J. H. Choe, Y. C. Ryu, M. P. Wick, K. Lee et B. C. Kim : Growth, carcass, fiber type, and meat quality characteristics in Large White pigs with different live weights. *Livestock Science*, 155(1):123–129, juil. 2013. ISSN 1871-1413. URL https://doi.org/10.1016/j.livsci.2013.02.009. 79

C. E. Devine : Conversion of muscle to meat | Aging. *In* M. Dikeman et C. Devine, éds : *Encyclopedia of Meat Sciences (Second Edition)*, p. 329–338. Academic Press, Oxford, jan. 2014. ISBN 978-0-12-384734-8. URL https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00098-2. 71, 72, 73

Y. Duan, L. Faucitano, J. Rivest, N. Graveline, S. Cliche et C. Gariépy : Effects of slaughter weight and growth rate on the longissimus muscle metabolic characteristics, and pork sensory quality in pigs of two sexes. *Canadian Journal of Animal Science*, oct. 2017. URL https://doi.org/10.1139/cjas-2017-0032. 79

E. England, S. Matarneh, T. Scheffler et D. Gerrard : 4 - Perimortal Muscle Metabolism and its Effects on Meat Quality. *In* P. P. Purslow, éd. : *New Aspects of Meat Quality : From Genes to Ethics*, p. 63–89. Woodhead Publishing, mars 2017. ISBN 978-0-08-100600-9. 68, 69, 75, 76, 77, 78

C. Faustman, Q. Sun, R. Mancini et S. P. Suman : Myoglobin and lipid oxidation interactions : Mechanistic bases and control. *Meat Science*, 86(1):86–94, sept. 2010. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.025. 78

K. Fischer : Drip loss in pork : influencing factors and relation to further meat quality traits. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 124(s1):12–18, 2007. ISSN 1439-0388. URL https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2007.00682.x. 76

D. E. Goll, V. F. Thompson, H. Li, W. Wei et J. Cong : The calpain system. *Physiological Reviews*, 83(3):731–801, juil. 2003. ISSN 0031-9333. URL https://doi.org/10.1152/physrev.00029.2002. 72

W. Guo et M. Greaser : 2 - Muscle Structure, Proteins, and Meat Quality. *In* P. P. Purslow, éd. : *New Aspects of Meat Quality : From Genes to Ethics*, p. 13–31. Woodhead Publishing, mars 2017. ISBN 978-0-08-100600-9. 68, 69, 71, 72, 75

L. W. H. J. Heling, M. A. Geeves et N. M. Kad : MyBP-C : one protein to govern them all. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 41(1):91–101, mars 2020. ISSN 1573-2657. URL https://doi.org/10.1007/s10974-019-09567-1. 71

J. F. Hocquette, I. Ortigues-Marty, D. Pethick, P. Herpin et X. Fernandez : Nutritional and hormonal regulation of energy metabolism in skeletal muscles of meat-producing animals. *Livestock Production Science*, 56(2):115–143, nov. 1998. ISSN 0301-6226. URL https://doi.org/10.1016/S0301-6226(98)00187-0. 76

K. O. Honikel : Conversion of muscle to meat | Glycolysis. *In Encyclopedia of Meat Sciences*, p. 353–357. Elsevier, 2014a. ISBN 978-0-12-384734-8. URL https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00095-7. 68, 75, 77

K. O. Honikel : Conversion of muscle to meat | Rigor Mortis, Cold, and Rigor Shortening. *In* M. Dikeman et C. Devine, éds : *Encyclopedia of Meat Sciences (Second Edition)*, p. 358–365. Academic Press, Oxford, jan. 2014b. ISBN 978-0-12-384734-8. URL https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00096-9. 68

E. Huff-Lonergan : Tenderizing mechanisms | Enzymatic. *In* M. Dikeman et C. Devine, éds : *Encyclopedia of Meat Sciences (Second Edition)*, p. 438–442. Academic Press, Oxford, jan. 2014. ISBN 978-0-12-384734-8. URL https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00248-8. 71, 73, 74, 77

E. Huff-Lonergan et S. M. Lonergan : Mechanisms of water-holding capacity of meat : The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, 71(1):194–204, sept. 2005. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.04.022. 75

E. Huff-Lonergan et S. M. Lonergan : New frontiers in understanding drip loss in pork : recent insights on the role of postmortem muscle biochemistry. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 124(s1):19–26, 2007. ISSN 1439-0388. URL https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2007.00683.x. 75

J. M. Hughes, S. K. Oiseth, P. P. Purslow et R. D. Warner : A structural approach to understanding the interactions between colour, water-holding capacity and tenderness. *Meat Science*, 98(3):520–532, nov. 2014. ISSN 0309-1740. URL http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174014001533. 75, 77

R. Kanawa, J.-R. Ji et K. Takahashi : Inactivity of μ-Calpain Throughout Postmortem Aging of Meat. *Journal of Food Science*, 67(2):635–638, 2002. ISSN 1750-3841. URL https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10651.x. 72, 73

C. M. Kemp et T. Parr : Advances in apoptotic mediated proteolysis in meat tenderisation. *Meat Science*, 92(3):252–259, nov. 2012. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.03.013. 73, 74

S.-i. Kitamura, K. Kudo, K. Chikuni, I. Watanabe et T. Nishimura : Actions of cathepsins on troponin T during postmortem aging of porcine muscle. *Animal Science Journal*, 81 (4):501–505, 2010. ISSN 1740-0929. URL https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2010.00756.x. 73

R. E. Klont, L. Brocks et G. Eikelenboom : Muscle fibre type and meat quality. *Meat Science*, 49:S219–S229, jan. 1998. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/S0309-1740(98)90050-X. tex.ids= klont_MuscleFibreTypeMeatQuality_1998a. 79

M. Koohmaraie et G. H. Geesink : Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Science*, 74(1):34–43, sept. 2006. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/0309-1740(94)90036-1. 71

M. Koohmaraie : Muscle proteinases and meat aging. *Meat Science*, 36(1):93–104, jan. 1994. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/0309-1740(94)90036-1. 72, 73

M. Kozakowska, K. Pietraszek-Gremplewicz, A. Jozkowicz et J. Dulak : The role of oxidative stress in skeletal muscle injury and regeneration : focus on antioxidant enzymes. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 36:377–393, 2015. ISSN 0142-4319. URL https://dx.doi.org/10.1007%2Fs10974-015-9438-9. 70

A. Lana et L. Zolla : Proteolysis in meat tenderization from the point of view of each single protein : A proteomic perspective. *Journal of Proteomics*, 147:85–97, 2016. URL https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.02.011. 72, 73, 74

S. Lange, N. Pinotsis, I. Agarkova et E. Ehler : The M-band : The underestimated part of the sarcomere. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1867(3), 2020. URL https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2019.02.003. 71

M. A. Latorre, P. Medel, A. Fuentetaja, R. Lázaro et G. G. Mateos : Effect of gender, terminal sire line and age at slaughter on performance, carcass characteristics and meat quality of heavy pigs. *Animal Science*, 77(1):33–45, avr. 2003. ISSN 1357-7298, 1748-748X. URL https://doi.org/10.1017/S1357729800053625. 79

E. Laville, T. Sayd, V. Santé-Lhoutellier, M. Morzel, R. Labas, M. Franck, C. Chambon et G. Monin : Characterisation of PSE zones in semimembranosus pig muscle. *Meat Science*, 70(1):167–172, mai 2005. ISSN 0309-1740. URL https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174005000276. 82

B. Lebret et B. Picard : Les principales composantes de la qualité des carcasses et des viandes dans les différentes espèces animales. *INRA Productions Animales*, 28(2):93–98, 2015. URL https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01211003. 76, 77, 78, 80

B. Lebret : Conséquences de la rationalisation de la production porcine sur les qualités des viandes. *INRA Productions Animales*, 17(2):79–91, 2004. URL https://hal.inrae.fr/hal-02675693. 76, 77

B. Lebret, L. Lefaucheur et J. Mourot : La qualité de la viande de porc. Influence des facteurs d'élevage non génétiques sur les caractéristiques du tissu musculaire. *INRA Productions Animales*, 12(1), 1999. URL https://hal.inrae.fr/hal-02699107. 69, 77, 82

L. Lefaucheur : A second look into fibre typing – Relation to meat quality. *Meat Science*, 84(2):257–270, fév. 2010. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.05.004. 79

L. Lefaucheur : Les différents types de fibres musculaires chez le porc. Conséquences sur la production de viande. *INRA Productions Animales*, 2(3):205–213, 1989. URL https://hal.inrae.fr/hal-02720560. 75

T. Lian, L. Wang et Y. Liu : A New Insight into the Role of Calpains in Post-mortem Meat Tenderization in Domestic Animals : A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 26(3):443–454, mars 2013. ISSN 1011-2367. URL https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12365. 72, 73

A. Listrat, B. Lebret, I. Louveau, T. Astruc, M. Bonnet, L. Lefaucheur, B. Picard et J. Bugeon : How muscle structure and composition influence meat and flesh quality. *Scientific World Journal*, 2016:undefined–undefined, 2016. ISSN 1537744X. URL https://doi.org/10.1155/2016/3182746. 75, 79

K. R. Maddock, E. Huff-Lonergan, L. J. Rowe et S. M. Lonergan : Effect of pH and ionic strength on mu- and m-calpain inhibition by calpastatin. *Journal of Animal Science*, 83(6):1370–1376, juin 2005. ISSN 1525-3163. URL https://doi.org/10.2527/2005.8361370x. 73

Ministère de l'alimentation, de l'agriculture et de la pêche : Arrêté du 22 juillet 2010 fixant les exigences et recommandations en matière de certification de conformité de la viande de porc, juil. 2010. URL https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000022737241&dateTexte=20200813. Consulté le 13 août 2020. 79

G. Monin : Abattage des porcs et qualités des carcasses et des viandes. *INRA Productions Animales*, 16(4), 2003. URL https://hal.inrae.fr/hal-02679321. 68, 82

G. Monin et V. Santé-Lhoutellier : Conversion of muscle to meat | Color and Texture Deviations. *In* M. Dikeman et C. Devine, éds : *Encyclopedia of Meat Sciences (Second Edition)*, p. 339–345. Academic Press, Oxford, jan. 2014. ISBN 978-0-12-384734-8. URL https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00097-0. 69, 76, 77, 78

A. Ouali : Conséquences des traitements technologiques sur la qualité de la viande. *INRA Productions Animales*, 4(3), 1991. URL https://hal.inrae.fr/hal-02704800. 68, 69, 71, 77

A. Ouali, C. H. Herrera-Mendez, G. Coulis, S. Becila, A. Boudjellal, L. Aubry et M. A. Sentandreu : Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Science*, 74(1):44–58, sept. 2006. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.05.010. 72, 73, 75, 78

L. Pomponio et P. Ertbjerg : The effect of temperature on the activity of μ- and m-calpain and calpastatin during post-mortem storage of porcine longissimus muscle. *Meat Science*, 91(1):50–55, mai 2012. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.12.005. 72

S. K. Powers, L. L. Ji, A. N. Kavazis et M. J. Jackson : Reactive oxygen species : impact on skeletal muscle. *Comprehensive Physiology*, 1(2):941–969, avr. 2011. ISSN 2040-4603. URL https://dx.doi.org/10.1002%2Fcphy.c100054. 70

R. Ramanathan, G. Mafi, L. Yoder, M. Perry, M. Pfeiffer, D. VanOverbeke et N. Maheswarappa : 5 - Biochemical changes of postmortem meat during the aging process and strategies to improve the meat quality. *In Meat Quality Analysis : Advanced Evaluation Methods, Techniques, and Technologies*, p. 67–80. Academic Press, 2019. ISBN 978-0-12-819233-7. 68, 69, 72, 73

J. C. Robinett, L. M. Hanft, J. Geist, A. Kontrogianni-Konstantopoulos et K. S. McDonald : Regulation of myofilament force and loaded shortening by skeletal myosin binding protein C. *Journal of General Physiology*, 151(5):645–659, jan. 2019. ISSN 0022-1295. URL https://doi.org/10.1085/jgp.201812200. 71

Y. C. Ryu et B. C. Kim : The relationship between muscle fiber characteristics, postmortem metabolic rate, and meat quality of pig longissimus dorsi muscle. *Meat Science*, 71(2):351–357, oct. 2005. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.04.015. 79

T. L. Scheffler et D. E. Gerrard : Mechanisms controlling pork quality development : The biochemistry controlling postmortem energy metabolism. *Meat Science*, 77(1):7–16, sept. 2007. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.04.024. 68, 75

P. Sellier, J. Bouix, G. Renand et M. Molénat : Les aptitudes bouchères : croissance, efficacité alimentaire et qualité de la carcasse. *INRA Productions Animales*, p. 174–159, 1992. URL https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00896010. 76

F. Shahidi : 5 - Lipid-derived flavors in meat products. *In* J. Kerry, J. Kerry et D. Ledward, éds : *Meat Processing*, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, p. 105–121. Woodhead Publishing, jan. 2002. ISBN 978-1-85573-583-5. URL https://doi.org/10.1533/9781855736665.1.105. 78

V. Sierra et M. Oliván : Role of mitochondria on muscle cell death and meat tenderization. *Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery*, 7(2):120–129, mai 2013. ISSN 2212-3334. URL https://doi.org/10.2174/1872214811307020005. 70

G. Solaini, A. Baracca, G. Lenaz et G. Sgarbi : Hypoxia and mitochondrial oxidative metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1797(6):1171–1177, juin 2010. ISSN 0005-2728. URL https://doi.org/10.1016/j.bbabio.2010.02.011. 67, 70

S. P. Suman et P. Joseph : Myoglobin Chemistry and Meat Color. *Annual Review of Food Science and Technology*, 4(1):79–99, fév. 2013. ISSN 1941-1413. URL https://doi.org/10.1146/annurev-food-030212-182623. 78

R. Warner : Meat : Conversion of Muscle into Meat. *In* B. Caballero, P. M. Finglas et F. Toldrá, éds : *Encyclopedia of Food and Health*, p. 677–684. Academic Press, Oxford, jan. 2016. ISBN 978-0-12-384953-3. URL https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00452-9. 68

D. B. Zorov, M. Juhaszova et S. J. Sollott : Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS) and ROS-Induced ROS Release. *Physiological Reviews*, 94(3):909–950, juil. 2014. ISSN 0031-9333. URL https://dx.doi.org/10.1152%2Fphysrev.00026.2013. 70

CHAPITRE 4

La qualité de la viande : un caractère multifactoriel



Sommaire

Introduction **93**
4.1 Les modes d'élevage **93**
4.2 L'alimentation **94**
4.2.1 L'effet du rationnement 94
4.2.1.1 La restriction 94
4.2.1.2 La croissance compensatrice 94
4.2.1.3 La restriction protéique 95
4.2.2 Modification du taux et de la composition en lipides 95
4.2.3 Supplémentation en antioxydant 96
4.2.3.1 Oxydation des lipides ou peroxydation lipidique 96
4.2.3.2 Rôle des antioxydants 96
4.2.3.3 L'usage des antioxydants dans l'alimentation animale 99
4.2.4 Modification du taux de glycogène musculaire 99
4.3 Les conditions *péri-mortem* **100**
4.3.1 La mise à jeun 100
4.3.2 Le mélange des groupes sociaux 101
4.3.3 Le transport 102
4.3.4 L'attente en stabulation à l'abattoir 103
4.3.5 Les techniques d'étourdissement 103
4.3.6 Les procédures *post-mortem* 104
4.3.6.1 Refroidissement des carcasses 104
4.3.6.2 La suspension des carcasses 106
4.4 Les traitements technologiques **107**
Résumé du chapitre **108**
Bibliographie **109**

Figures

4.1 Mécanisme de peroxydation des lipides. 97
4.2 Mécanisme d'action de la vitamine E. 98
4.3 Mécanisme d'action du sélénium et de la vitamine E au niveau cellulaire. . . 98
4.4 Effet du refroidissement accéléré sur les critères de qualité de la viande. . . . 106
4.5 Effet de la suspension des carcasses. 107

Introduction

Nous avons vu dans le chapitre précédent, que les qualités technologiques et sensorielles des viandes sont sous la dépendance de multiples facteurs intrinsèques. Ces facteurs intrinsèques correspondent aux facteurs ayant trait à l'animal lui-même (sexe, race, génotype) et ayant un impact sur les caractéristiques du tissu musculaire (type de fibres musculaires, métabolisme énergétique majoritaire, quantité et qualité des lipides).

Dans ce chapitre, nous allons aborder l'impact des facteurs environnementaux ou facteurs extrinsèques. Ces facteurs extrinsèques se retrouvent tout au long du processus de production, de l'élevage à l'emballage du produit préparé. Le mode d'élevage et l'alimentation affectent la composition du muscle (lipides, fibres musculaires et tissus conjonctifs). Les conditions de transport et d'abattage affectent la vitesse à laquelle la *rigor mortis* s'installe, c'est-à-dire la mise en place des processus de transformation du muscle en viande. Enfin, les traitements technologiques subis au cours des différents processus de transformation peuvent modifier les modifications biochimiques se déroulant lors de la maturation de la viande.

4.1 Les modes d'élevage

Parallèlement à élevage conventionnel intensif en bâtiment fermé, des modes d'élevage alternatifs permettant l'accès à l'extérieur en courette ou en élevage en plein air intégral se sont développés afin de répondre à la demande des consommateurs qui associent l'accès à un parcours extérieur à un bien-être animal accru et à une meilleure qualité de nourriture.

Dans ces conditions d'élevage, les dépenses énergétiques des animaux sont augmentées. En effet, ces modes d'élevage alternatifs permettent, d'une part une activité physique plus importante, et d'autre part soumettent les animaux aux variations climatiques et en particulier à des conditions de température plus froides qu'en bâtiment d'élevage. Il en résulte un pourcentage de viande maigre et un poids relatif des pièces (longe et jambon) plus important que pour des porcs élevés de manière conventionnelle, ce qui a un effet bénéfique sur la qualité de carcasse et donc sur la valeur marchande de celle-ci (Martino *et al.*, 2014; Lebret *et al.*, 2015).

Parallèlement, l'élevage en plein air semble avoir un effet sur la composition du tissu adipeux de couverture (bardière) et interne (LIM, Lipides Intramusculaires) en augmentant la proportion d'Acides Gras Poly Insaturés (AGPI). Cette augmentation des AGPI a pour effet de produire un tissu adipeux plus mou, ce qui en diminue la qualité technologique, et augmente les risques d'oxydation donc les risques de moindre conservation de la viande et d'altération du goût (Lebret *et al.*, 2015; Rosenvold et Andersen, 2003; Martino *et al.*, 2014).

Des études menées sur l'évaluation de la qualité des viandes issues d'élevages extensifs ont montré des effets variables. Ainsi la mesure du pHu, qui a un effet sur le PRE et par conséquent sur la tendreté des viandes, donne des résultats contrastés, allant de l'absence d'effet à une diminution de la mesure (Olsson et Pickova, 2005; Lebret *et al.*, 2015).

Il est cependant important de noter que les modes de production alternatifs ne concernent pas seulement une modification des conditions de logement, mais s'accompagnent généralement de modifications de la conduite alimentaire et de l'alimentation elle-même. Les résultats de ces études sont donc grandement dépendants des interactions entre logement et conduite alimentaire, mais ils dépendent également des interactions avec des facteurs intrinsèques tels que le sexe des animaux ou leur génotype. Malgré le fait que ces modes d'élevage alternatifs n'apportent pas d'amélioration notable de la qualité technologique et sensorielle des produits, il a été constaté que la production de porc en modèle d'élevage extensif bénéficie d'un impact psychologique positif sur l'appréciation du produit par le consommateur (Olsson et Pickova, 2005).

Enfin, il a été observé que ces modes d'élevage alternatifs induisaient une augmentation du risque sanitaire, et notamment de parasitisme, avec une augmentation de séropositivité à *Toxoplasma gondii* dans les élevages en plein air (Kijlstra *et al.*, 2009; van der Giessen *et al.*, 2007).

4.2 L'alimentation

L'alimentation des animaux, à savoir le rationnement et la composition du régime alimentaire, a un impact important sur la qualité de la carcasse et la qualité des viandes. Ces conditions d'alimentation déterminent la vitesse de croissance des animaux, mais également agissent sur la répartition tissulaire de cette croissance ainsi que sur la composition des tissus. Des modifications touchant au niveau de distribution de l'alimentation et à la composition des rations peuvent donc altérer ou améliorer la qualité des carcasses (composition des carcasses en tissu maigre ou gras) ainsi que la qualité des viandes au point de vue nutritionnel et sensoriel (Lebret *et al.*, 2015; Miller, 2002; Mourot et Lebret, 2009).

4.2.1 L'effet du rationnement

4.2.1.1 La restriction

La diminution de la ration alimentaire fournie à un animal en croissance provoque une réduction de sa vitesse de croissance. Cette réduction joue surtout sur le dépôt de lipides (corporels et intramusculaires), l'adipogenèse étant plus impactée par la restriction énergétique due à la réduction du volume de l'ingéré que la myogenèse. La diminution du dépôt lipidique induite par la restriction alimentaire peut avoir *fine* un effet sur les qualités sensorielles de la viande (jutosité, et flaveur) en impactant les dépôts de LIM. Par ailleurs, cette restriction à un effet positif sur la qualité nutritionnelle de la viande de porc en augmentant la proportion d'AGPI dans les lipides déposés (dont les LIM) ce qui est conforme aux recommandations alimentaires. En effet, la diminution de la valeur énergétique de la ration alimentaire affecte la synthèse des acides gras qui, chez le porc, sont principalement des Acides Gras Saturés (AGS) et des Acides Gras Mono Insaturés (AGMI). De ce fait le dépôt lipidique se retrouve alors essentiellement basé sur les acides gras (majoritairement des AGPI) fournis dans la ration alimentaire. Toutefois, cette augmentation des acides gras insaturés s'accompagne d'un risque accru d'oxydation et donc peut avoir un impact non-négligeable sur la qualité sensorielle des aliments (rancissement) (Mourot et Lebret, 2009; Moloney, 2002).

4.2.1.2 La croissance compensatrice

La réalimentation des animaux suite à la restriction énergétique provoque un phénomène de *« croissance compensatrice »*. Celle-ci se caractérise par une augmentation de la vitesse de croissance des animaux. Cette phase favorise principalement le renouvellement des protéines musculaires ce qui a un effet positif sur la tendreté de la viande. Elle a cependant peu d'effet sur le dépôt de LIM et peut donc difficilement compenser la perte de lipides créée par la restriction. Il semble cependant qu'une adaptation des périodes de restriction et de réalimentation puisse permettre de favoriser le dépôt de LIM et ainsi d'améliorer la qualité sensorielle de la viande de porc en jouant sur la jutosité et la tendreté de celle-ci (Mourot et Lebret, 2009; Lebret *et al.*, 2015).

4.2.1.3 La restriction protéique

Comme nous venons de le voir, la restriction de la quantité ingérée puis la réalimentation sont des facteurs importants qui influencent la composition des carcasses et les qualités nutritionnelles et sensorielles de la viande de porc. Parallèlement à la restriction de l'ingéré, la composition de la ration, c'est-à-dire la nature et les proportions des éléments qui la composent, joue un rôle dans la composition des tissus. Ainsi, les rapports entre les protéines constituant l'aliment et l'énergie contenue dans la ration seront déterminants pour la croissance des animaux. En diminuant les apports protéiques, principalement en lysine qui est l'acide aminé limitant, et en maintenant le niveau d'énergie des rations chez le porc en finition, il est alors possible de favoriser le dépôt de LIM et ainsi d'améliorer les qualités sensorielles de la viande de porc (Mourot et Lebret, 2009).

4.2.2 Modification du taux et de la composition en lipides

Comme cela a été évoqué dans le paragraphe précédent, les lipides contenus dans la ration alimentaire se retrouvent dans le tissu adipeux des animaux. Ceci est particulièrement vrai chez les monogastriques, qui incorporent les acides gras alimentaires sans modification notable. De ce fait, la composition en acides gras des viandes est directement influencée par la quantité et la composition en acides gras de l'alimentation de l'animal. Il est alors possible, en modifiant la composition des aliments, d'améliorer la qualité nutritionnelle de la viande de porc et ainsi de fournir à l'alimentation humaine une viande répondant aux recommandations nutritionnelles en matière d'apport en acides gras et en particulier en ce qui concerne le rapport $\omega 6/\omega 3$ (Mourot et Lebret, 2009; Lebret *et al.*, 2015; Miller, 2002; Jakobsen, 1999; Rosenvold et Andersen, 2003).

L'acide linoléique (AGPI $\omega 6$) et l'acide α-linoléique (AGPI $\omega 3$) sont des acides gras dits *essentiels*, c'est-à-dire qu'ils ne peuvent pas être synthétisés *de novo* par les mammifères. L'amélioration des qualités nutritionnelles concernant les apports d'omega6 et omega3 ne peut donc se faire que par l'apport d'aliments en contenant (Rosenvold et Andersen, 2003; Jakobsen, 1999). Cette supplémentation peut se faire par l'incorporation de diverses sources lipidique (notamment graines de lin, huile de tournesol, huile de colza...) dans la ration alimentaire des animaux. Cependant, le choix de la source d'AGPI ainsi que la quantité fournie peuvent altérer les qualités sensorielles de la viande de porc (Miller, 2002; Mourot et Lebret, 2009).

Bien qu'une association positive entre le taux de LIM et la jutosité et la texture de la viande ait été trouvée, 2,5 à 3 % de LIM apparaissant comme optimal du point de vue des critères de qualité sensorielle (Miller, 2002; Mourot et Lebret, 2009), les proportions d'AGPI contenus dans les lipides peuvent avoir des effets délétères sur la perception de la qualité des viandes de porc. Des viandes contenant un taux élevé d'AGPI sont visuellement moins attrayantes pour le consommateur. Elles sont trouvées plus « molles » et plus « huileuses » ce qui apparaît alors comme un défaut de qualité (Miller, 2002; Rosenvold et Andersen, 2003). Il semble donc important de contrôler la juste proportion de dépôt d'AGPI dans les tissus adipeux afin de s'assurer des bénéfices de ces apports tout en contrôlant les effets négatifs qu'ils pourraient apporter.

Enfin, une des contreparties de l'augmentation des graisses en AGPI tient dans leur grande sensibilité à l'oxydation. Ceci peut induire des problèmes de conservation et de goût (rancissement). Cependant, l'oxydation des lipides peut être contrôlée par la présence d'agents antioxydants tels que la vitamine E (Lebret *et al.*, 2015; Rosenvold et Andersen, 2003; Jakobsen, 1999).

4.2.3 Supplémentation en antioxydant

4.2.3.1 Oxydation des lipides ou peroxydation lipidique

Les deux principaux facteurs responsables de l'altération de la qualité de la viande sont les contaminations bactériologiques et l'oxydation des lipides. L'oxydation des lipides contenus dans la viande induit une perte de qualité sensorielle en affectant le goût et l'odeur (rancissement), ainsi que la couleur et la texture de la viande (perte en eau). L'oxydation des lipides affecte également les qualités nutritionnelles par l'oxydation des AGPI et les qualités sanitaires de la viande, l'oxydation des acides gras pouvant générer des composés toxiques. La rapidité à laquelle l'oxydation des lipides se met en place est dépendante de la composition des lipides et de la présence d'éléments pro-oxydants et antioxydants dans la viande. Plus la viande contient d'AGPI plus le risque d'oxydation rapide de la viande augmente (Buckley *et al.*, 1995; Morrissey *et al.*, 1998; Rosenvold et Andersen, 2003; Vieira *et al.*, 2017), les acides gras hautement insaturés tels que les $\omega 3$ étant les plus sensibles à l'oxydation et les plus susceptibles de générer des composés toxiques tels que des aldéhydes (Morrissey *et al.*, 1998; Vieira *et al.*, 2017).

Les organismes produisent continuellement des radicaux libres. Ces molécules, issues de différents processus du métabolisme cellulaire, sont des molécules oxydantes responsables du stress oxydatif. Ce sont des molécules instables possédant un ou plusieurs électrons libres ce qui les rend chimiquement très réactives. Comme l'illustre la figure 4.1 « Mécanisme de peroxydation des lipides », page suivante, les radicaux libres interagissent avec les molécules environnantes, notamment les AGPI contenus dans la membrane cellulaire, pour « capturer » un atome d'hydrogène et ainsi se stabiliser (Zhang *et al.*, 2020; Rice-evans, 1994). C'est l'étape d'*initiation de la peroxydation lipidique*. La perte de cet atome d'hydrogène modifie la molécule lipidique en lipide radical, lui même instable. Celui-ci va réagir avec une molécule d'oxygène, pour produire une molécule de lipide peroxyl radical. Le lipide peroxyl radical pour se stabiliser va réagir avec un AGPI environnant pour former un lipide peroxydé et un nouveau lipide radical produisant une réaction en chaîne. C'est l'étape de *propagation de la peroxydation lipidique*. Cette propagation se poursuit tant qu'un lipide radical est formé (Rice-evans, 1994; Wang et Quinn, 1999).

À la mort de l'animal, l'équilibre entre les facteurs pro-oxydants et les facteurs antioxydants est fragilisé par les modifications métaboliques induites par l'arrêt de la circulation sanguine (consommation du glycogène et acidification du milieu cellulaire). L'oxydation des lipides (ou peroxydation lipidique) contenus dans le muscle débute dès l'abattage des animaux. Ce processus d'oxydation des lipides impacte les lipides stockés sous forme de tissus adipeux (bardière, LIM), mais également les phospholipides contenus dans les membranes cellulaires. L'oxydation de ces phospholipides a alors un effet délétère sur l'intégrité de la structure de la membrane cellulaire aboutissant à une perte de perméabilité aux éléments et minéraux du milieu intracellulaire et une perte en eau accrue (Buckley *et al.*, 1995; Morrissey *et al.*, 1998; Papuc *et al.*, 2017; Amaral *et al.*, 2018).

4.2.3.2 Rôle des antioxydants

Les molécules antioxydantes sont essentielles au maintien de l'homéostasie cellulaire par le contrôle qu'elles exercent sur la concentration des radicaux libres dans le milieu cellulaire maintenant ainsi l'équilibre oxydation-réduction du milieu cellulaire (Zhang *et al.*, 2020). Parmi elles, la vitamine E et la glutathione peroxidase (GPx) jouent un rôle majeur dans la protection contre les lésions générées par les radicaux libres et en particulier contre la peroxydation des lipides.

Le terme vitamine E regroupe une famille de huit molécules : quatre molécules de tocophérol (α, β, γ et δ) et quatre molécules de tocotrienol (α, β, γ et δ). Parmi ces huit molécules, la forme

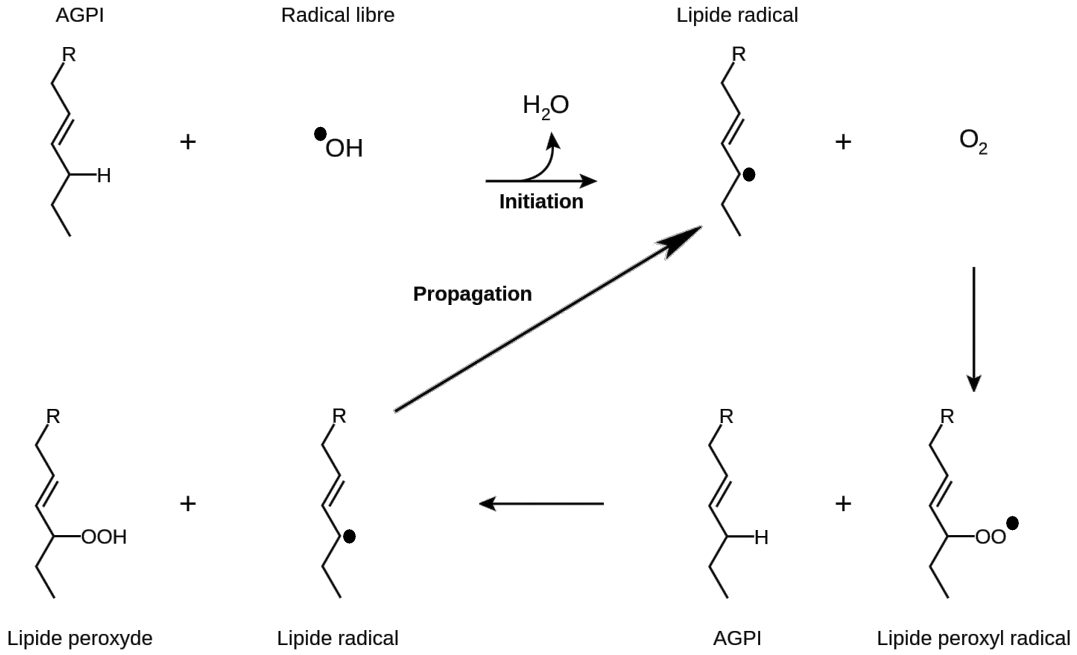


FIGURE 4.1 – **Mécanisme de peroxydation des lipides**, adapté de Wikipedia "Lipid peroxidation" consultée le 4 août 2020, et de Rice-evans (1994) & Wang et Quinn (1999). Le point noir représente l'électron libre du radical.

la plus active correspond à l'α-tocophérol.(Brigelius-flohé et Traber, 1999; Atkinson *et al.*, 2013). Ces molécules sont liposolubles et sont principalement localisées dans les membranes cellulaires. La vitamine E garantit l'intégrité biologique de celles-ci en protégeant les phospholipides qui les constituent de la peroxydation induite par les radicaux libres. En fournissant un atome d'hydrogène à la molécule de lipide peroxyl radical avant que celle-ci ne réagisse avec un autre AGPI, l'α-tocopherol interrompt la réaction en chaîne de peroxydation lipidique (cf figure 4.2 « Mécanisme d'action de la vitamine E » - page suivante). L'efficacité de la vitamine E est due à sa capacité à réagir avec le peroxyl radical plus rapidement que celui-ci ne réagit avec les AGPI environnants (Wang et Quinn, 1999).

Le sélénium est un oligo-élément essentiel qui permet la synthèse de sélénocystéine, acide aminé entrant dans la constitution des sélénoprotéines et sélénoenzymes telles que la GPx (Tinggi, 2008). La famille des GPx comprend six enzymes dont la plus abondante, GPx1, est une enzyme cytosolique retrouvée dans la majorité des tissus des mammifères. Ces enzymes sont des enzymes antioxydantes intracellulaires ayant une action de protection contre le stress oxydatif. Elles jouent un rôle majeur dans la protection des cellules contre les dommages générés par les radicaux libres, notamment en réduisant le peroxyde d'hydrogène en eau (cf figure 4.3 « Mécanisme d'action du sélénium et de la vitamine E au niveau cellulaire » - page suivante) (Zhang *et al.*, 2020; Tinggi, 2008; Amaral *et al.*, 2018).

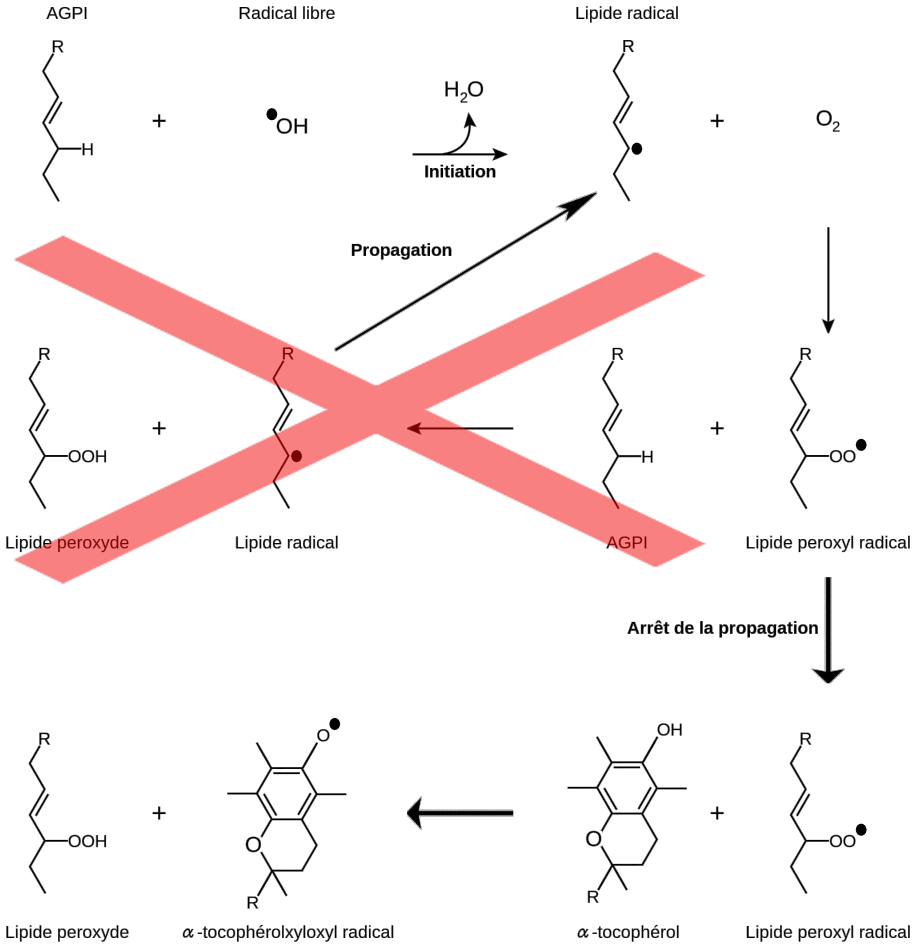


FIGURE 4.2 – **Mécanisme d'action de la vitamine E**, adapté de Wikipedia "Lipid peroxidation" consultée le 4 août 2020 et de Wang et Quinn (1999). Le point noir représente l'électron libre du radical.

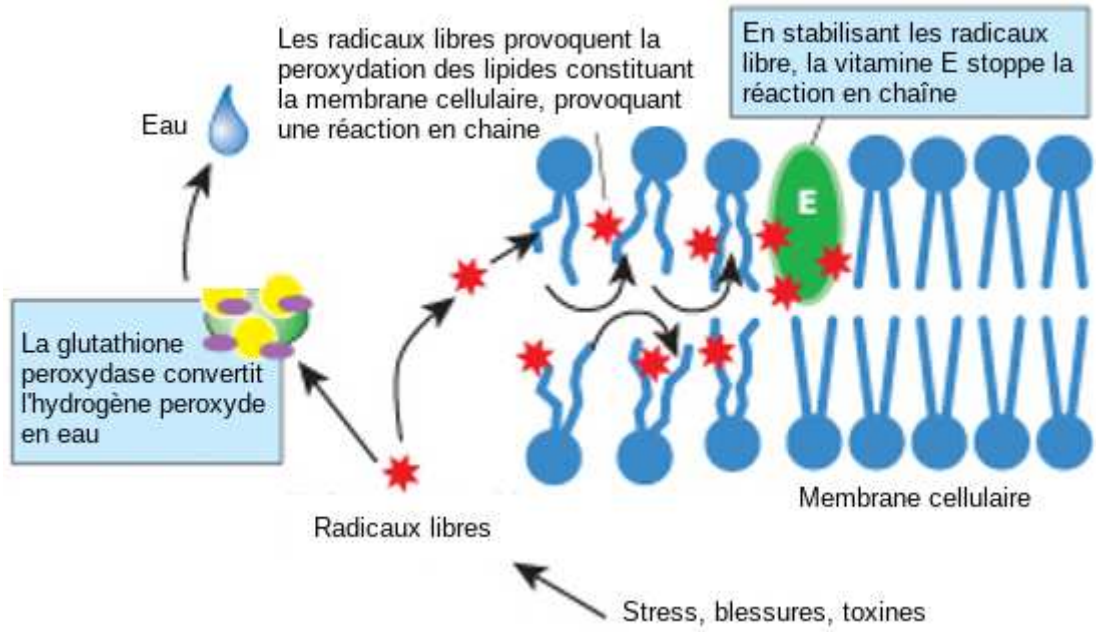


FIGURE 4.3 – **Mécanisme d'action du sélénium et de la vitamine E au niveau cellulaire**, adapté de The Biology of the Goat "Selenium - the Essential Trace Mineral" consultée le 5 août 2020.

4.2.3.3 L'usage des antioxydants dans l'alimentation animale

La supplémentation de l'alimentation animale en antioxydants poursuit deux objectifs. Retarder les processus d'oxydation qui se développent à la mort de l'animal et qui aboutissent à une perte de qualité et à une moins longue durée de conservation des produits, et augmenter la qualité nutritive de la viande en améliorant les apports en vitamines et oligo-éléments antioxydants fournis par la viande dans l'alimentation humaine.

La teneur en vitamine E et en sélénium de la viande est en relation avec la quantité ingérée (Mourot et Lebret, 2009; Lebret *et al.*, 2015; Batorska *et al.*, 2017). Il est donc possible d'augmenter les apports de vitamine E et de sélénium dans l'alimentation humaine en supplémentant l'alimentation animale. Cependant, le taux d'incorporation du sélénium dans les tissus animaux semble être dépendant de la forme ingérée. La forme organique (sélenométhionine) étant incorporée aux tissus de manière plus efficace que la forme inorganique (sodium sélenite) (Mahan *et al.*, 1999; Zhan *et al.*, 2007; Batorska *et al.*, 2017).

La supplémentation en vitamine E de l'alimentation des porcs permet de limiter l'oxydation des lipides contenus dans la viande et permet ainsi d'éviter l'altération du goût et le développement de mauvaises odeurs pendant leur conservation (Buckley *et al.*, 1995; Cannon *et al.*, 1996; Aaslyng, 2002; Rosenvold et Andersen, 2003; Guo *et al.*, 2006; Lebret *et al.*, 2015). Les résultats concernant la capacité de la vitamine E à stabiliser la couleur de la viande ou à augmenter le PRE sont cependant contrastés. Il semble que les différences observées soient essentiellement dues à la dose et à la durée d'administration (Cannon *et al.*, 1996; Apple, 2007; Rosenvold et Andersen, 2003; Rosenvold *et al.*, 2002). Rosenvold et Andersen (2003) et Apple (2007) suggèrent l'existence d'un seuil de concentration tissulaire (fonction de la dose et de la durée d'administration) en dessous duquel de tels bénéfices ne seraient pas observés.

Comme pour la vitamine E, les effets de la supplémentation en sélénium sur la qualité de la viande sont contrastés. Si certaines études ne montrent pas de différences de résultats entre le sélénium organique et le sélénium inorganique (Batorska *et al.*, 2017), d'autres montrent des effets contrastés entre le sélénium organique et le sélénium inorganique. Ceux-ci vont de l'absence d'effets pour la sélénométhionine et un impact négatif du sodium sélénite sur la qualité de la viande (Mahan *et al.*, 1999), à un effet positif du sélénium organique sur des caractères de qualité de la viande (couleur, perte en eau) et pas d'effet du sélénium inorganique, en passant par un effet positif des deux formes de sélénium sur l'activité de la GPx (la forme organique démontrant un effet plus important) (Zhan *et al.*, 2007).

Certaines études ne constatent pas d'effet positif de la supplémentation en sélénium sur des critères de qualité de la viande tels que le PRE (Mahan *et al.*, 1999; Wolter *et al.*, 1999; Lisiak *et al.*, 2014; Batorska *et al.*, 2017), tandis que d'autres études montrent qu'un apport de sélénium permet de réduire les pertes en eau de la viande (Mateo *et al.*, 2007; Zhan *et al.*, 2007). De même selon certaines études, la supplémentation en sélénium pourrait avoir un effet bénéfique sur l'acceptabilité de la viande par le consommateur en modifiant la luminosité (L*) de la viande (Batorska *et al.*, 2017; Calvo *et al.*, 2017). Enfin, des études ont pu mettre en évidence une plus grande stabilité des lipides lorsque les animaux ont été supplémentés avec du sélénium (Zhan *et al.*, 2007; Calvo *et al.*, 2017)

4.2.4 Modification du taux de glycogène musculaire

L'un des facteurs importants concernant l'intensité de la chute du pH, et donc du niveau du pHu, est la quantité de glycogène stocké dans le muscle au moment de l'abattage. Ce taux de glycogène intramusculaire est responsable de 40 à 60 % de la variation du pH *post-mortem* et donc du pHu (Scheffler *et al.*, 2011). Une variation du taux de glycogène dans le muscle peut par conséquent avoir un impact sur la qualité de la viande.

Des études ont montré qu'il était possible de modifier la teneur en glycogène musculaire au

moment de l'abattage par l'administration d'un régime particulier les jours précédents l'abattage. Ainsi, il est possible d'augmenter le taux de glycogène musculaire en fournissant une alimentation riche en carbone digestible dans les jours précédents l'abattage. Cette augmentation du taux de glycogène musculaire a pour effet de faire baisser le pHu et ainsi de diminuer l'incidence des viandes DFD (Wilcox *et al.*, 1953; Briskey *et al.*, 1960; Fernandes *et al.*, 1979). Cependant, plus récemment Camp *et al.* (2003) n'ont pas trouvé d'effet significatif d'une alimentation riche en sucrose sur la chute du pH ou sur le pHu, mais ont montré une augmentation de la perte en eau.

Il est également possible de réduire le taux de glycogène musculaire chez le porc en administrant un régime isoénergétique (pauvre en carbone digestible - riche en lipides et/ou protéines) durant les 3 à 4 semaines avant l'abattage. Cette diminution a pour effet de ralentir la chute du pH sans pour autant modifier l'amplitude de celle-ci. La couleur de la viande obtenue est plus foncée, et son PRE est accru (Rosenvold *et al.*, 2001a,b, 2002). Cependant, il semble que ces effets soient dépendants de la composition des régimes fournis. Ainsi avec une baisse modérée des carbones digestibles (45 à 36 %) et une augmentation modérée des lipides (1,6 à 8,6 %) Bee (2002) n'a pas observé de modification de la teneur en glycogène musculaire, ni d'effet sur le pHu. Il a cependant observé un effet significatif du régime sur le L*, composante lumineuse de la viande, dans le muscle semi-tendineux la rendant plus sombre, mais pas dans le LM. De même, en diminuant de manière importante les carbones digestibles (51 à 2 %) et en augmentant de manière importante les protéines (12 à 33 %), Leheska *et al.* (2002b) n'ont pas observé de modification de la teneur en glycogène des muscles, ni de modification de la vitesse de chute du pH, du pHu, de la couleur ou du PRE. Ainsi, pour obtenir une diminution du taux de glycogène musculaire, Rosenvold et Andersen (2003) préconisent un régime contenant 17 à 18 % de lipides, 22 à 24 % de protéines et moins de 5 % de carbones digestibles.

La manipulation du taux de glycogène musculaire par l'alimentation est donc possible, mais peut avoir des incidences sur la qualité des viandes si elle est mal maîtrisée. Ainsi, une augmentation de la teneur en glycogène musculaire provoquant une baisse du pHu pourrait avoir un effet délétère sur la qualité de la viande avec une augmentation de l'incidence des viandes « acides ». Inversement, une diminution de la teneur en glycogène musculaire pourrait se faire au détriment de la qualité des viandes avec l'apparition de viande de type DFD.

4.3 Les conditions *péri-mortem*

L'ensemble des événements ayant lieu avant l'abattage, ainsi que les méthodes d'abattage, sont déterminants pour les qualités technologiques et sensorielles des viandes. Ainsi, les différents événements encadrant le temps de la mise à mort tels que la mise à jeun, le mélange avec des animaux provenant d'autres groupes, la densité au cours du transport, le temps de transport, le temps d'attente à l'abattoir, les techniques d'étourdissement et de mise à mort, sont autant de facteurs favorisant le stress des animaux et les comportements agressifs induisant de fait des défauts de carcasse et de qualité de la viande.

4.3.1 La mise à jeun

La mise à jeun des animaux avant l'abattage a pour objectif principal de réduire les risques de contamination des carcasses par le contenu stomacal. Cette contamination pouvant se faire au cours du transport ou bien au moment de l'éviscération (Magras *et al.*, 2000). En France, la réglementation impose un minimum de 12 heures entre le dernier repas des porcs et le départ de l'élevage et un temps maximum de 18 heures entre le départ de l'élevage et l'abattage. La durée optimale de mise à jeun recherchée est de 24 heures ± 2 heures (Ministère de l'alimentation, de l'agriculture et de la pêche).

La mise à jeun des animaux oblige l'organisme à puiser dans ses réserves énergétiques constituées de lipides et de glucides. Cette consommation des réserves lipidiques par lipolyse a pour effet d'augmenter la quantité d'Acides Gras Libres (AGL) (Bochicchio *et al.*, 2015). Rey *et al.* (2020) ont ainsi montré qu'une augmentation de 2 heures de la durée du jeûne avant l'abattage (17 heures de jeûne *versus* 19 heures de jeûne) augmentait la lipolyse musculaire induisant à terme une augmentation de la peroxydation lipidique et donc une moindre durée de conservation de la viande. Le jeûne induit également une mobilisation des réserves glucidiques provoquant une diminution de la teneur des muscles en glycogène (Leheska *et al.*, 2002a), une modification du pHu, du L* et du PRE (Acevedo-Giraldo *et al.*, 2020; Leheska *et al.*, 2002b; Sterten *et al.*, 2010). Le jeûne peut donc être envisagé comme une façon de modifier la teneur de glycogène musculaire et donc d'agir sur la qualité des viandes en diminuant l'incidence des viandes de type PSE présentant une couleur claire, une apparence molle et un suintement en surface dû à un faible PRE (Faucitano *et al.*, 2010; Rosenvold et Andersen, 2003). Cependant, un jeûne prolongé peut également avoir un effet négatif sur la qualité des viandes en augmentant le risque d'apparition de viandes de type DFD (Guàrdia *et al.*, 2005).

4.3.2 Le mélange des groupes sociaux

Le regroupement de porcs provenant de différents groupes d'élevage peut s'effectuer avant le transport afin d'obtenir des groupes de poids uniforme et une taille de groupe correspondant au compartiment du camion de transport. Le mélange d'animaux peut également s'effectuer à l'abattoir dans les stabulations en attente de la mise à mort. Le mélange de porcs issus de différents groupes d'élevage provoque des agressions et des combats entre les animaux. Cela est dû à la remise en cause des hiérarchies sociales pré-établies pendant la phase d'engraissement (Monin, 2003).

Le mélange de porcs provenant de différents groupes sociaux a ainsi une incidence sur le nombre et l'importance des blessures et lésions cutanées, provoquant une baisse de qualité des carcasses (Barton Gade, 2008; Driessen *et al.*, 2020b; D'Souza *et al.*, 1999; Guàrdia *et al.*, 2009; Guise et Penny, 1989; Terlouw *et al.*, 2009). Outre l'apparition de blessures sur la carcasse, ces agressions ont une incidence sur la qualité des viandes. Ces combats induisent un stress important pour les animaux, ce qui a pour effet d'augmenter l'activité métabolique au niveau musculaire et donc de puiser dans les réserves énergétiques. Il en résulte que les animaux ayant subi un regroupement avec des animaux d'autres groupes sociaux présentent un pHu plus élevé ainsi qu'une couleur de viande plus sombre (Driessen *et al.*, 2020b; D'Souza *et al.*, 1999; Terlouw *et al.*, 2009). Ces groupes d'animaux ayant subi un remaniement de la hiérarchie sociale présentent alors une incidence de viandes de type DFD plus importante que les animaux qui auront été maintenus dans le même groupe social pendant le transport et lors de l'attente à l'abattoir. Parallèlement, l'incidence des viandes de type PSE semblerait être moins importante dans les groupes d'animaux ayant été mélangés (D'Souza *et al.*, 1999). Guàrdia *et al.* (2009) ont cependant montré que l'occurrence de défauts de qualité de type DFD et PSE était augmentée respectivement d'un facteur quatre et d'un facteur deux sur les carcasses exhibant des lésions cutanées. Ils suggèrent que lorsque les agressions et combats ont lieu lors des regroupements précoces (à l'élevage juste avant le transport) ceux-ci provoquent une élévation du pHu et de l'incidence des viandes de type DFD. Tandis que lorsque les agressions ont lieu juste avant la mise à mort, celles-ci provoquent une augmentation du risque d'apparition de viandes de type PSE.

4.3.3 Le transport

Le transport lui-même est une source de stress pour les animaux. Divers facteurs liés au transport ont des effets significatifs sur la qualité des viandes et des carcasses. On peut ainsi citer l'effet de la saison de transport (Newman *et al.*, 2014; Van de Perre *et al.*, 2010), l'effet du design de la remorque de transport (Weschenfelder *et al.*, 2013) et du type de suspension de cette remorque (suspension à lames ou à air) (Dalla Costa *et al.*, 2017) ou encore l'effet du type de surface de sol de la remorque.

Parmi les différentes exigences liées au transport des porcs vers l'abattoir, la réglementation française impose une durée maximum de 8 heures de transport ainsi qu'une densité maximum de 235 kg d'animal vif par mètre carré (Arrêté du 22 juillet 2010, Ministère de l'alimentation, de l'agriculture et de la pêche conformément au règlement européen No 1/2005 du 22 décembre 2004, Conseil de l'union européenne). Cette densité correspond à un compromis entre le bien-être animal, la qualité des viandes et le coût du transport (Guàrdia *et al.*, 2004).

Plusieurs études ont montré que le temps de transport avait un effet sur la qualité des viandes, et notamment sur le taux de glycogène musculaire, le pHu, les mesures de couleur de la viande (L*,a*, b*) ou le PRE (Becerril-Herrera *et al.*, 2007; Hambrecht *et al.*, 2005; Leheska *et al.*, 2002a; Pérez *et al.*, 2002). L'allongement du temps de transport (de 30 minutes à 8 heures) favorisant une diminution de la teneur en glycogène des muscles et donc une augmentation du pHu (Leheska *et al.*, 2002a). Ceci a pour effet de diminuer l'incidence des viandes de type PSE et a une tendance à favoriser l'apparition de viandes de type DFD. Inversement, un temps de transport court (15 minutes *versus* 3 heures) favorise un pHu plus bas et donc l'apparition de viandes de type PSE (Pérez *et al.*, 2002). *A contrario*, d'autres études ont montré qu'une augmentation de la durée de transport provoquait une diminution de la teneur en glycogène des muscles, une diminution de la composante rouge de la couleur, sur un axe vert - rouge (a*) et de la composante jaune de la couleur, sur un axe bleu - jaune (b*) ainsi qu'une augmentation de la vitesse de chute du pH (Driessen *et al.*, 2020a; Hambrecht *et al.*, 2005). Cependant, l'étude de Hambrecht *et al.* (2005) comparait un temps de transport de 50 minutes avec une conduite « douce » à un transport de 3 heures associé à une conduite plus « rude ». Les différences de temps (80 minutes *versus* 160 minutes) obtenus dans l'étude de Driessen *et al.* (2020a) résultait de temps d'immobilisation du véhicule, temps pendant lequel les animaux pouvaient interagir entre eux et donc subir des agressions. Dans ces deux études, l'allongement du temps de transport était donc associé à un accroissement du stress aigu des animaux peu de temps avant l'abattage induisant un syndrome de type viande PSE dû à une chute rapide du pH.

La densité d'animaux transportés est également un facteur important au regard du bien-être des animaux et de la qualité des carcasses et des viandes. Une densité trop importante pendant le transport empêche ceux-ci de s'allonger et conduit à une augmentation des agressions et combats. D'un autre côté, une densité trop faible induit un risque de chutes et de blessures des animaux. D'après les études menées par Guàrdia *et al.* (2005) et Lammens *et al.* (2007), la comparaison de densités allant de 200 kg/m^2 à 270 kg/m^2 pour l'étude de Guàrdia *et al.* (2005) et allant de 129 kg/m^2 à 256 kg/m^2 dans l'étude de Lammens *et al.* (2007) conduisent à conclure qu'une densité d'animaux plus importante favorise un pHu plus élevé donc une tendance à diminuer l'incidence des viandes de type PSE et à augmenter l'incidence des viandes de type DFD. Van de Perre *et al.* (2010) ont également montré que la vitesse de chute du pH était moindre lorsque la densité d'animaux se situe entre 222 et 256 kg/m^2, induisant une diminution de l'incidence des viandes de type PSE. Cependant, Guàrdia *et al.* (2004) ont montré une forte interaction entre le temps de trajet et la densité d'animaux transportés par rapport au risque d'apparition de viandes de type PSE. La densité maximum préconisée par la législation (235 kg/m^2) n'étant optimum que pour des trajets supérieurs à 3 heures. En dessous de ce temps de trajet, le risque d'apparition de viandes de type PSE augmente avec des densités plus faibles. Le risque le plus grand correspondant à des trajets courts avec une faible

densité d'animaux (200 kg/m^2). Ceci s'expliquerait par le fait que pendant les trajets courts (inférieur à trois heures) les animaux auraient tendance à rester debout. Dans ces conditions de trajet (inférieur à 3 heures), une forte densité d'animaux empêcherait les animaux de subir les mouvements de la remorque et donc d'être stressé voire de risquer de se blesser. Une forte densité permet également pendant les premières heures de transport de limiter les agressions. D'un autre côté lors des trajets supérieurs à trois heures, une densité moindre d'animaux permet aux animaux, après les premières heures de transport, de s'allonger et de réduire ainsi le stress aigu provoqué par le chargement et l'adaptation au mouvement du transport.

4.3.4 L'attente en stabulation à l'abattoir

L'attente en stabulation à l'abattoir avant la mise à mort répond à deux objectifs. Le premier est de réguler l'approvisionnement de la ligne d'abattage. Le second répond à des attentes concernant la qualité de la viande. En effet, un temps d'attente après le déchargement permet aux animaux de se remettre du stress provoqué par le déchargement du camion (Guàrdia *et al.*, 2005; Monin, 2003).

De manière générale, il est estimé qu'un temps d'attente de 3 heures en stabulation est un délai optimum entre le déchargement des animaux et la mise à mort pour assurer une bonne qualité des viandes et des carcasses (Rosenvold et Andersen, 2003; Sionek et Przybylski, 2016; van der Wal *et al.*, 1997; Warriss *et al.*, 1998). En effet, van der Wal *et al.* (1997, 1999) ont montré que des agressions et des combats entre porcs avaient lieu dans les premières heures qui suivent leur déchargement. Ces combats, qui débutent une quinzaine de minutes après le déchargement, cessent après environ 2 heures d'attente en stabulation. À ce moment, les animaux ont retrouvé leur calme. Lorsque le temps d'attente en stabulation est trop court (inférieur à 3 heures), les animaux sont encore sous l'influence du stress du transport et du débarquement, ce qui conduit à une chute rapide du pH (Stalder *et al.*, 1998), à un pHu (Warriss *et al.*, 1998) et un L* (Hambrecht *et al.*, 2005) plus bas et donc à une augmentation de l'incidence des viandes de type PSE (Dokmanovic *et al.*, 2017). Un temps d'attente de 3 heures ou plus a donc des effets bénéfiques sur l'incidence de la viande de type PSE.

Un temps d'attente supérieur à 14 heures a pour effet de diminuer la vitesse de chute du pH (Stalder *et al.*, 1998), d'augmenter le pHu (Nanni Costa *et al.*, 2002; Warriss *et al.*, 1998), de diminuer la perte en eau des pièces de viande et de rendre la viande plus sombre en diminuant la valeur du L* du a* et du b* (Dokmanovic *et al.*, 2017; Nanni Costa *et al.*, 2002). Guàrdia *et al.* (2005) et de Warriss *et al.* (1998) soulignent d'ailleurs qu'un tel l'allongement du temps d'attente en stabulation provoque une augmentation du risque de voir apparaître des viandes de type DFD. Cependant, en allongeant le temps d'attente en stabulation à 22 heures, Nanni Costa *et al.* (2002, 1999) n'ont pas remarqué d'augmentation de ce type de défaut.

Enfin, il est à noter que si le temps d'attente en stabulation est bénéfique à la qualité des viandes, une attente prolongée est également responsable de la dégradation de la qualité de carcasse, les porcs présentant des blessures ainsi que des contusions dues à des agressions résultant d'un jeun prolongé (transport et temps d'attente en stabulation) (Dokmanovic *et al.*, 2017; Nanni Costa *et al.*, 2002, 1999; Warriss *et al.*, 1998).

4.3.5 Les techniques d'étourdissement

Conformément à la réglementation européenne relative à la protection des animaux au moment de leur mise à mort (Règlement no 1099/2009, Conseil de l'union européenne (2009)), la réglementation française intègre, au travers de l'article R214-70 du Code rural et de la pêche maritime, l'obligation d'un étourdissement des animaux avant leur abattage ou leur mise à mort. L'objectif de cet étourdissement est de provoquer une perte de conscience et de

rendre les animaux insensibles à la douleur au moment de la saignée et jusqu'à ce que l'animal soit mort. L'article 3 de l'arrêté du 12 décembre 1997 relatif aux procédés d'immobilisation, d'étourdissement et de mise à mort des animaux et aux conditions de protection animale dans les abattoirs, énumère les procédés autorisés pour l'étourdissement des animaux (Ministère de l'agriculture et de la pêche, 1997). Ceux-ci sont au nombre de quatre :

- Pistolet à tige perforante ;
- Percussion ;
- Électronarcose ;
- Exposition au dioxyde de carbone.

En ce qui concerne l'abattage des porcs, les deux méthodes les plus utilisées sont l'électronarcose et l'exposition au dioxyde de carbone (CO_2). Plusieurs études ont montré que le choix de la méthode d'étourdissement ainsi que les paramètres associés à ces méthodes (intensité électrique, position des électrodes, pourcentage de CO_2, temps d'exposition) avaient un effet sur la qualité de la viande.

Dans leurs études comparant différentes concentrations de CO_2 pour l'étourdissement Nowak *et al.* (2007) et Antosik *et al.* (2011) ont mis en évidence qu'une plus forte concentration de CO_2 avait un effet positif sur le pH de la viande que ce soit au niveau du pHi ou du pHu. Des animaux ayant subi un étourdissement dans un air possédant plus de 90 % de CO_2 ont un pHi et un pHu plus élevés que les animaux étourdis dans un air possédant 80 ou 88 % de CO_2. Nowak *et al.* (2007) ont par ailleurs montré que le temps d'exposition au CO_2 avait également un effet important sur le pH de la viande. Ainsi, une exposition plus longue au CO_2 a un effet positif sur la qualité de la viande en limitant la vitesse de chute et l'étendue de la chute du pH.

La façon d'exécuter l'électronarcose a également un impact important sur les critères de qualité de la viande. Le nombre ou la position des électrodes, l'intensité du courant délivré et la durée de l'électrisation influent sur le pH de la viande, son PRE, sa couleur (L*) et sur l'incidence des défauts de type PSE (Channon *et al.*, 2002, 2003b; Van de Perre *et al.*, 2010).

De manière générale, les animaux étourdis par électronarcose fournissent une viande de moindre qualité que les animaux étourdis par une exposition au CO_2. La chute de pH dans la viande est plus rapide (pHi plus bas), la couleur de la viande est plus claire (L* supérieur) et le PRE est moins important que pour une viande issue d'animaux étourdis par le CO_2 (Channon *et al.*, 2002, 2003b; Van de Perre *et al.*, 2010).

4.3.6 Les procédures *post-mortem*

4.3.6.1 Refroidissement des carcasses

Afin de préserver les qualités sanitaires des carcasses, celles-ci doivent être refroidies rapidement après la mise à mort des animaux. La réglementation européenne stipule que suite à l'inspection *post-mortem* les carcasses d'ongulés domestiques doivent être immédiatement réfrigérées pour assurer une température inférieure ou égale à +7 °C jusqu'à la fin de l'entreposage (Parlement et Conseil européen, 2004). S'agissant des carcasses de porc, cette température doit être inférieure ou égale à +7 °C au cœur du jambon dans les 24 heures après l'entrée en ressuage (Ministère de l'alimentation, de l'agriculture et de la pêche, 2010). Le refroidissement des carcasses de porc s'effectue par la ventilation d'air froid sur les carcasses.

Cependant les modes opératoires mis en œuvre pour arriver à ces objectifs de refroidissement sont variés. De nombreuses études ont comparé un mode opératoire conventionnel basé sur un refroidissement par air pulsé entre +1 et +4 °C à une vitesse de 0,1 à 0,8 m/s pendant 24 heures à des modes opératoires de refroidissement accéléré. Le refroidissement accéléré des carcasses

peut s'effectuer de différentes manières. Les carcasses peuvent être exposées à une température négative fixe (-18 à -32 °C à une vitesse d'air de 2-3 m/s) pour une durée de 30 minutes à 2 h 30 puis un stockage entre +1 et +4 °C (Kerth *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2015; Rybarczyk *et al.*, 2015; Springer *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2012). Les carcasses peuvent également être refroidies en plusieurs phases successives en les plaçant par exemple à -15 °C pendant 15 minutes à une vitesse d'air de 3 m/s puis à -10 °C pendant 38 minutes à une vitesse d'air de 2 m/s et à -1 °C pendant 38 minutes à une vitesse d'air 2 m/s avant de les placer en stockage conventionnel à +4 °C (Hambrecht *et al.*, 2004).

Ces différentes études ont comparé le pH, la couleur, le PRE ou la tendreté de la viande en fonction des conditions de refroidissement des carcasses. Cependant, les résultats rapportés sont contrastés. Si dans quelques études un refroidissement accéléré est associé à une diminution moins rapide du pH de la viande (Liu *et al.*, 2015; Rybarczyk *et al.*, 2015; Springer *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2012), Hambrecht *et al.* (2004) et Kerth *et al.* (2001) n'observent pas de modification de la vitesse de chute du pH, si ce n'est une tendance à un ralentissement de cette chute dans le SM dans l'étude de Hambrecht *et al.* (2004). Quoi qu'il en soit, dans aucune des études sus citées la valeur du pHu n'est affectée par les conditions utilisées pour le refroidissement des carcasses.

Les résultats concernant le PRE sont tout aussi contrastés. Dans leurs études Hambrecht *et al.* (2004), Springer *et al.* (2003) et Kerth *et al.* (2001) ne constatent aucune différence entre les muscles ayant été refroidis de manière conventionnelle et ceux ayant subi un refroidissement accéléré concernant leur capacité à retenir l'eau. *A contrario*, Liu *et al.* (2015), Rybarczyk *et al.* (2015) et Xu *et al.* (2012) ont mis en évidence une perte en eau moins importante pour les carcasses ayant subi un refroidissement accéléré. Cette différence n'affecte cependant que les pertes en liquide au ressuage (DRIPL) et non la perte en liquide à la cuisson (COOKL).

De même manière, des études ont montré une absence d'effet du mode de refroidissement des carcasses sur la couleur de la viande (Hambrecht *et al.*, 2004; Kerth *et al.*, 2001), tandis que d'autres ont trouvé que le refroidissement accéléré des carcasses aboutissait à une viande plus sombre que pour les carcasses refroidies de manière conventionnelle. La valeur du L* dans le cas d'un refroidissement accéléré est inférieure à la valeur du L* lorsque les carcasses ont été refroidies de manière conventionnelle (Rybarczyk *et al.*, 2015; Springer *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2012).

Enfin, le refroidissement accéléré pourrait avoir une influence négative sur la tendreté de la viande (Rybarczyk *et al.*, 2015; Xu *et al.*, 2012). Cependant, cet effet n'est pas trouvé de manière systématique. Ainsi en comparant différents temps d'exposition des carcasses à une température de -32 °C (60, 90, 120 ou 150 minutes), Springer *et al.* (2003) n'ont pas montré de différence significative entre les carcasses refroidies de manière conventionnelle et les carcasses refroidies de manière accélérées, et ce, quelle que soit la durée d'exposition considérée.

Face à ces résultats contrastés, Zybert *et al.* (2019) ont réalisé une méta-analyse regroupant 20 études comparant refroidissement conventionnel et accéléré, en s'intéressant particulièrement au pH ultime (pHu), à la capacité de rétention d'eau au travers de la perte en liquide au ressuage (DRIPL), à la tendreté de la viande au travers de la force de cisaillement (SHEAR-raw) et à la couleur de la viande (L*, a*, b*). Outre une très grande variabilité des effets observés (à l'exception du pHu), cette méta-analyse met en avant des effets significatifs et positifs du refroidissement accéléré sur les critères de qualité de la viande que sont le pHu, le DRIPL et la couleur (L*, a*, b*) (cf figure 4.4 « Effet du refroidissement accéléré sur les critères de qualité de la viande » - page suivante). En moyenne, le pHu augmente (bien que très faiblement), la perte en eau diminue et la viande est plus sombre (diminution des critères L*, a*, b*). Par contre, l'effet négatif du refroidissement accéléré sur la tendreté de la viande ne ressort pas de manière significative à l'issue de cette méta-analyse.

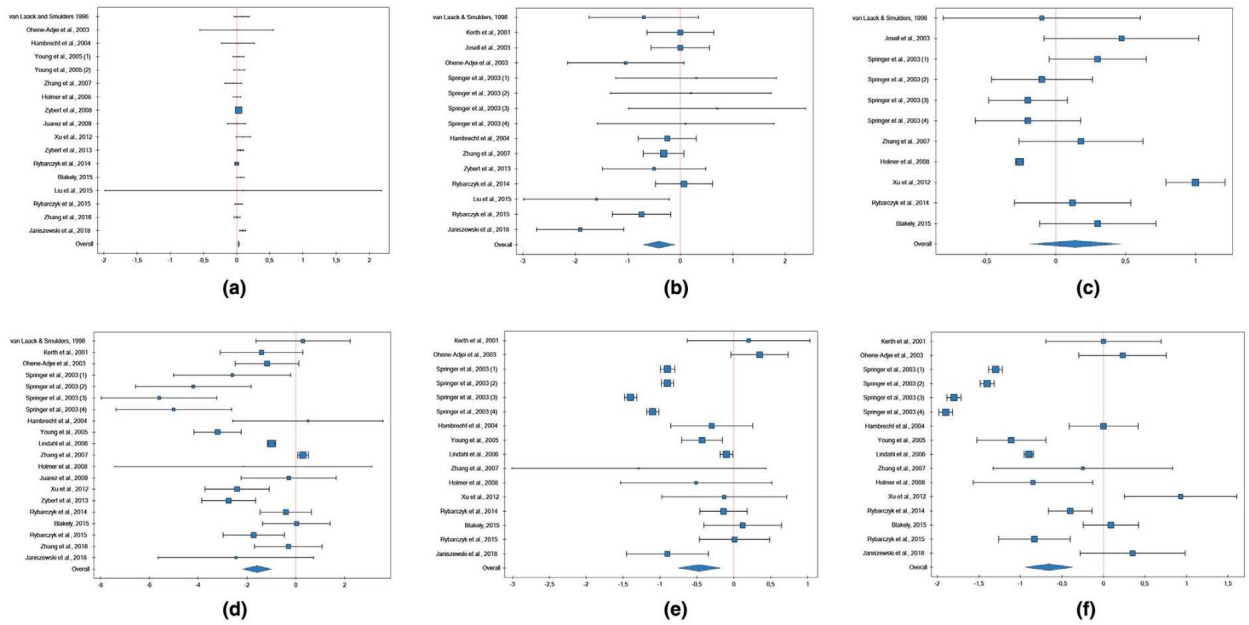


FIGURE 4.4 – **Effet du refroidissement accéléré sur les critères de qualité de la viande.** Forest plot de la taille des effets et intervalles de confiance à 95 % de l'effet du refroidissement accéléré sur (a) pHu, (b) DRIPL, (c) SHEAR-raw, (d) L*, (e) a*, (f) b* (Zybert *et al.*, 2019). Le carré de couleur bleu représente l'effet du refroidissement accéléré. La taille du carré bleu représente le poids relatif de l'étude dans la méta-analyse. La barre horizontale représente l'intervalle de confiance de l'effet. Le losange bleu représente la valeur de l'effet calculée grâce aux différentes études. La distance entre les points latéraux du losange représente son intervalle de confiance.

4.3.6.2 La suspension des carcasses

Après la saignée, et pendant tout le temps de refroidissement, les carcasses sont suspendues. Cette suspension des carcasses s'effectue avant l'installation de la *rigor mortis*. Plusieurs études ont comparé les effets des différents modes de suspension des carcasses sur la qualité des viandes. Les carcasses peuvent être suspendues par le pied au niveau du tendon d'Achile ou bien par l'arrière-train au niveau du bassin. Comme l'illustre la figure 4.5 « Effet de la suspension des carcasses », page suivante, la suspension au niveau du bassin de l'animal permet de maintenir la jambe libre. Celle-ci prend alors un angle à 90 ° par rapport au reste de la carcasse ce qui a pour effet d'étendre certains muscles et de prévenir la contraction musculaire qui s'installe au moment de la *rigor mortis*.

De manière générale, la méthode de suspension des carcasses ne semble pas avoir d'impact sur le pH ou la couleur de la viande (Bertram et Aaslyng, 2007; Channon *et al.*, 2018; Fisher *et al.*, 2000; Rees *et al.*, 2003; Therkildsen *et al.*, 2012). Si des études ont montré que la suspension par le talon d'achile provoquait une perte en eau au ressuage plus importante que lorsque la suspension est pelvienne (Fisher *et al.*, 2000; Therkildsen *et al.*, 2012), d'autres études n'ont pas noté de différence entre ces deux méthodes de suspension de carcasse pour ce caractère (Bertram et Aaslyng, 2007; Rees *et al.*, 2003).

De même, les résultats concernant l'impact de la méthode de suspension des carcasses sur la tendreté de la viande sont contradictoires. Dans leur étude, Therkildsen *et al.* (2012) n'ont pas mis en évidence d'effet de la méthode de suspension sur la force de cisaillement, tandis que Fisher *et al.* (2000) ont montré un effet bénéfique de la suspension pelvienne sur la force de cisaillement de deux des trois muscles analysés. La tendreté, la jutosité et la flaveur de la viande ont également été analysées à l'aune de la méthode de suspension des carcasses utilisées. Dans une étude se basant sur la perception d'un panel de dégustateurs, Channon *et al.* (2018) relèvent un effet bénéfique de la suspension pelvienne sur ces caractères.

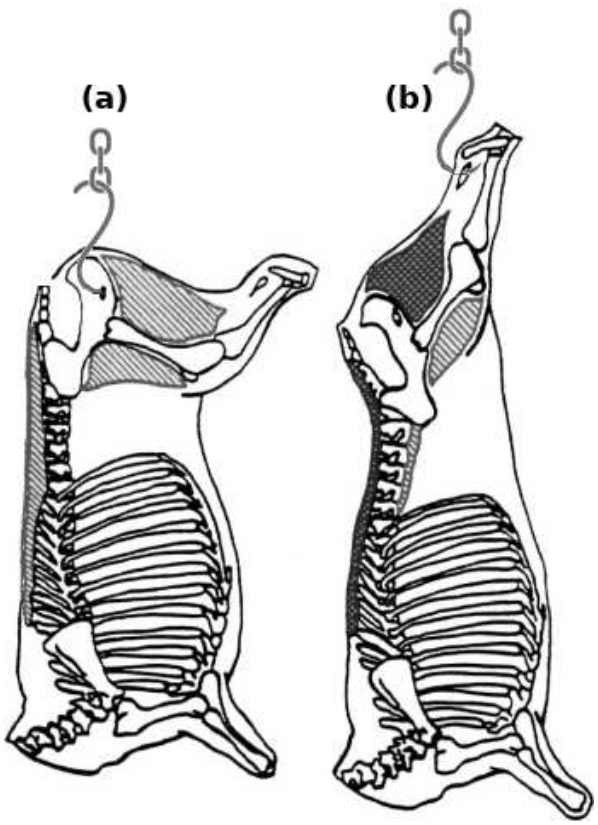


FIGURE 4.5 – **Effet de la suspension des carcasses** au niveau du bassin (a) ou au niveau du pied (b) sur les muscles. (Sørheim et Hildrum, 2002). Les muscles hachurés représentent des muscles non contractés, les muscles sombre représentent les muscles contractés.

4.4 Les traitements technologiques

Au cours de la phase de maturation, la tendreté de la viande va progressivement augmenter sous l'action des enzymes protéolytiques présentes dans les tissus musculaires. Ces enzymes vont agir sur la structure des fibres musculaires en dégradant les protéines la composant, notamment en fragmentant la « ligne Z » des fibres musculaires et en dégradant des protéines du cytosquelette des cellules musculaires (Koohmaraie et Geesink, 2006). Cependant, divers traitements technologiques appliqués *post-mortem* aux carcasses ou à la viande peuvent influer sur les critères de qualité des viandes. On peut citer parmi d'autres la méthode de maturation (Hwang et Hong, 2020), la stimulation électrique des carcasses (Channon *et al.*, 2003a) ou la pasteurisation à haute pression (Hwang et Hong, 2020).

Ainsi, en comparant deux méthodes de maturation de la viande, la maturation à sec (à l'air libre ou dans un sac perméable à l'air) ou bien en milieu humide (sac imperméable et sous-vide), Hwang et Hong (2020) ont montré un effet important de la méthode de maturation sur la couleur de la viande et la perte en eau.

La stimulation électrique des carcasses quant à elle est connue pour avoir un impact sur la tendreté de la viande et sur la vitesse de chute du pH (Channon *et al.*, 2003a; Rosenvold et Andersen, 2003).

La pasteurisation, qui a pour objectif de diminuer la charge bactérienne des aliments et ainsi allonger leur durée de vie, peut s'effectuer sans montée en température en exerçant une pression élevée ou moyenne sur les aliments. L'avantage de ce procédé est qu'il n'altère pas les qualités nutritionnelles ou physico-chimiques des aliments. Cependant, le choix de la pression exercée a un effet sur la couleur de la viande et sur la tendreté de la viande. Une pasteurisation à forte pression (400 MPa) a pour effet d'augmenter la valeur du L* et de la force de cisaillement de

la viande par rapport à une viande n'ayant pas subi de pasteurisation par haute pression. Une pasteurisation à moyenne pression (150 MPa) quant à elle ne modifie ni la couleur de la viande, ni la force de cisaillement (Hwang et Hong, 2020).

Résumé du chapitre

Outre les facteurs intrinsèques, la qualité des viandes, et notamment les qualités technologiques et sensorielles des viandes, sont sous la dépendance de nombreux facteurs environnementaux allant du mode d'élevage et de l'alimentation des animaux à la façon dont les carcasses sont manipulées en passant par les conditions de mise à mort des animaux. Les études menées mettent en évidence l'influence de certains de ces facteurs sur les critères de qualité, cependant les résultats peuvent être contradictoires. Il est important de noter que la qualité finale des produits est grandement dépendante des interactions existantes entre les différents facteurs (race, sexe, type d'alimentation, mode d'élevage, événements *peri-mortem*), ce qui peut induire une grande variabilité de la qualité des viandes. Une bonne maîtrise des pratiques tout au long de la vie des animaux, lors de leur mise à mort et lors des étapes *post-mortem* (traitement et manipulation des carcasses) sont donc nécessaires pour diminuer la variabilité qualitative de la viande et assurer une production de viande de haute qualité.

Bibliographie

M. D. Aaslyng : 8 - Quality indicators for raw meat. *In* J. Kerry, J. Kerry et D. Ledward, éds : *Meat Processing*, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, p. 157–174. Woodhead Publishing, jan. 2002. ISBN 978-1-85573-583-5. URL https://doi.org/10.1533/9781855736665.2.157. 99

J. D. Acevedo-Giraldo, J. A. Sánchez et M. H. Romero : Effects of feed withdrawal times prior to slaughter on some animal welfare indicators and meat quality traits in commercial pigs. *Meat Science*, 167:107993, sept. 2020. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107993. 101

A. B. Amaral, M. V. d. Silva, S. C. d. S. Lannes, A. B. Amaral, M. V. d. Silva et S. C. d. S. Lannes : Lipid oxidation in meat : mechanisms and protective factors – a review. *Food Science and Technology*, 38:1–15, déc. 2018. ISSN 0101-2061. URL https://doi.org/10.1590/fst.32518. 96, 97

K. Antosik, M. Koćwin–Podsiadła et A. Goławski : Effect of different CO_2 concentrations on the stuning effect of pigs and selected quality traits of their meat. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 61(1):69–72, mars 2011. ISSN 1230-0322, 2083-6007. URL https://doi.org/10.2478/v10222-011-0007-7. 104

J. K. Apple : Effects of nutritional modifications on the water-holding capacity of fresh pork : a review. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 124(s1):43–58, 2007. ISSN 1439-0388. URL https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2007.00686.x. 99

J. Atkinson, D. Manor et R. Parker : Vitamin E. *In* W. J. Lennarz et M. D. Lane, éds : *Encyclopedia of Biological Chemistry (Second Edition)*, p. 545–550. Academic Press, Waltham, jan. 2013. ISBN 978-0-12-378631-9. URL https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378630-2.00223-1. 97

P. Barton Gade : Effect of rearing system and mixing at loading on transport and lairage behaviour and meat quality : Comparison of outdoor and conventionally raised pigs. *Animal*, 2(6):902–911, 2008. URL https://doi.org/10.1017/S1751731108002000. 101

M. Batorska, J. Więcek et A. Rekiel : Influence of organic vs inorganic source and different dietary levels of selenium supplementation in diets for growing pigs on meat quality. *Journal of Elementology*, 22(2):653–662, 2017. URL http://jsite.uwm.edu.pl/index/getfile/1050. 99

M. Becerril-Herrera, D. Mota-Rojas, L. Guerrero-Legarreta, M. González-Lozano, P. Sánchez-Aparicio, C. Lemus-Flores, S. Flores-Peinado, R. Ramírez-Necoechea et M. Alonso-Spilsbury : Effects of additional space during transport on pre-slaughter traits of pigs. *Journal of Biological Sciences*, 7(7):1112–1120, 2007. URL https://doi.org/10.3923/jbs.2007.1112.1120. 102

G. Bee : Effect of available dietary carbohydrate on glycolytic potential and meat quality of swine muscles. *Canadian Journal of Animal Science*, 82(3):311–320, sept. 2002. ISSN 0008-3984. URL https://doi.org/10.4141/A02-004. 100

H. Bertram et M. Aaslyng : Pelvic suspension and fast post-mortem chilling : Effects on technological and sensory quality of pork - A combined NMR and sensory study. *Meat Science*, 76(3):524–535, 2007. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.01.010. 106

D. Bochicchio, M. Comellini, P. Lambertini, G. Marchetto et G. D. Casa : Selective mobilization of fatty acids in adipose tissue of heavy pigs. *animal*, 9(1):158–165, jan. 2015. ISSN 1751-7311, 1751-732X. URL https://doi.org/10.1017/S1751731114002195. 101

R. Brigelius-flohé et M. G. Traber : Vitamin E : function and metabolism. *Faseb J*, 13 (10):1145–1155, 1999. URL https://doi.org/10.1096/fasebj.13.10.1145. 97

E. J. Briskey, R. W. Bray, W. G. Hoekstra, P. H. Phillips et R. H. Grummer : Effect of high protein, high fat and high sucrose rations on the water-binding and associated properties of pork muscle. *Journal of Animal Science*, 19(2):404–411, mai 1960. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/jas1960.192404x. 100

D. J. Buckley, P. A. Morrissey et J. I. Gray : Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. *Journal of Animal Science*, 73(10):3122–3130, oct. 1995. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/1995.73103122x. 96, 99

L. Calvo, F. Toldrá, A. Rodríguez, C. López-Bote et A. Rey : Effect of dietary selenium source (organic vs. mineral) and muscle pH on meat quality characteristics of pigs. *Food Science and Nutrition*, 5(1):94–102, 2017. URL https://doi.org/10.1002/fsn3.368. 99

L. K. Camp, L. L. Southern et T. D. Bidner : Effect of carbohydrate source on growth performance, carcass traits, and meat quality of growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science*, 81(10):2488–2495, oct. 2003. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/2003.81102488x. 100

J. E. Cannon, J. B. Morgan, G. R. Schmidt, J. D. Tatum, J. N. Sofos, G. C. Smith, R. J. Delmore et S. N. Williams : Growth and fresh meat quality characteristics of pigs supplemented with vitamin E. *Journal of Animal Science*, 74(1):98–105, jan. 1996. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/1996.74198x. 99

H. A. Channon, D. N. D'Souza et F. R. Dunshea : Validating post-slaughter interventions to produce consistently high quality pork cuts from female and immunocastrated male pigs. *Meat Science*, 142:14–22, août 2018. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.03.021. 106

H. A. Channon, A. M. Payne et R. D. Warner : Comparison of CO_2 stunning with manual electrical stunning (50 Hz) of pigs on carcass and meat quality. *Meat Science*, 60(1):63–68, jan. 2002. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00107-3. 104

H. A. Channon, P. J. Walker, M. G. Kerr et S. R. Baud : Application of constant current, low voltage electrical stimulation systems to pig carcasses and its effects on pork quality. *Meat Science*, 65(4):1309–1313, déc. 2003a. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00051-2. 107

H. A. Channon, A. M. Payne et R. D. Warner : Effect of stun duration and current level applied during head to back and head only electrical stunning of pigs on pork quality compared with pigs stunned with CO_2. *Meat Science*, 65(4):1325–1333, déc. 2003b. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00053-6. 104

Code rural et de la pêche maritime : Article R214-70, 2010. URL https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000035664621/. Consulté le 25 septembre 2020. 103

Conseil de l'union européenne : Règlement 1/2005 du Conseil du 22 décembre 2004 relatif à la protection des animaux pendant le transport et les opérations annexes, déc. 2004. URL https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32005R0001:FR:HTML. Consulté le 18 août 2020. 102

Conseil de l'union européenne : Règlement 1099/2009 du Conseil du 24 septembre 2009 sur la protection des animaux au moment de leur mise à mort, sept. 2009. URL https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:303:0001:0030:FR:PDF. Consulté le 25 septembre 2020. 103

F. A. Dalla Costa, L. S. Lopes et O. A. Dalla Costa : Effects of the Truck Suspension System on Animal Welfare, Carcass and Meat Quality Traits in Pigs. *Animals*, 7(1):5, jan. 2017. URL https://www.mdpi.com/2076-2615/7/1/5. 102

M. Dokmanovic, J. Ivanovic, J. Janjic, M. Boskovic, M. Laudanovic, S. Pantic et M. Baltic : Effect of lairage time, behaviour and gender on stress and meat quality parameters in pigs. *Animal Science Journal*, 88(3):500–506, 2017. URL https://doi.org/10.1111/asj.12649. 103

B. Driessen, S. Beirendonck et J. Buyse : Effects of housing, short distance transport and lairage on meat quality of finisher pigs. *Animals*, 10(5), 2020a. URL https://doi.org/10.3390/ani10050788. 102

B. Driessen, S. Van Beirendonck et J. Buyse : The impact of grouping on skin lesions and meat quality of pig carcasses. *Animals*, 10(4):544, avr. 2020b. URL https://doi.org/10.3390/ani10040544. 101

D. N. D'Souza, F. R. Dunshea, B. J. Leury et R. D. Warner : Effect of mixing boars during lairage and pre-slaughter handling on pork quality. *Australian Journal of Agricultural Research*, 50(1):109–113, 1999. ISSN 1444-9838. URL https://doi.org/10.1071/A98059. 101

L. Faucitano, P. Chevillon et M. Ellis : Effects of feed withdrawal prior to slaughter and nutrition on stomach weight, and carcass and meat quality in pigs. *Livestock Science*, 127(2):110–114, fév. 2010. ISSN 1871-1413. URL https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.10.002. 101

T. H. Fernandes, W. C. Smith et D. G. Armstrong : The administration of sugar solutions to pigs immediately prior to slaughter 1. Effect on carcass yield and some muscle and liver characteristics. *Animal Science*, 29(2):213–221, oct. 1979. ISSN 1748-748X, 1357-7298. URL https://doi.org/10.1017/S0003356100023436. 100

A. Fisher, A. Pouros, J. Wood, K. Young-Boong et P. Sheard : Effect of pelvic suspension on three major leg muscles in the pig carcass and implications for ham manufacture. *Meat Science*, 56(2):127–132, 2000. URL https://doi.org/10.1016/S0309-1740(00)00028-0. 106

H. J. Guise et R. H. C. Penny : Factors influencing the welfare and carcass and meat quality of pigs 2. Mixing unfamiliar pigs. *Animal Science*, 49(3):517–521, déc. 1989. ISSN 1748-748X, 1357-7298. URL https://doi.org/10.1017/S0003356100032736. 101

Q. Guo, B. T. Richert, J. R. Burgess, D. M. Webel, D. E. Orr, M. Blair, G. E. Fitzner, D. D. Hall, A. L. Grant et D. E. Gerrard : Effects of dietary vitamin E and fat supplementation on pork quality. *Journal of Animal Science*, 84(11):3089–3099, nov. 2006. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/jas.2005-456. 99

M. D. Guàrdia, J. Estany, S. Balasch, M. A. Oliver, M. Gispert et A. Diestre : Risk assessment of PSE condition due to pre-slaughter conditions and RYR1 gene in pigs. *Meat Science*, 67(3):471–478, juil. 2004. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2003.11.020. 102

M. D. Guàrdia, J. Estany, S. Balasch, M. A. Oliver, M. Gispert et A. Diestre : Risk assessment of DFD meat due to pre-slaughter conditions in pigs. *Meat Science*, 70(4):709–716, août 2005. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.03.007. 101, 102, 103

M. Guàrdia, J. Estany, S. Balasch, M. Oliver, M. Gispert et A. Diestre : Risk assessment of skin damage due to pre-slaughter conditions and RYR1 gene in pigs. *Meat Science*, 81(4):745–751, 2009. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.11.020. 101

E. Hambrecht, J. J. Eissen, W. J. H. de Klein, B. J. Ducro, C. H. M. Smits, M. W. A. Verstegen et L. A. den Hartog : Rapid chilling cannot prevent inferior pork quality caused by high preslaughter stress. *Journal of Animal Science*, 82(2):551–556, fév. 2004. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/2004.822551x. 105

E. Hambrecht, J. J. Eissen, D. J. Newman, C. H. M. Smits, L. A. den Hartog et M. W. A. Verstegen : Negative effects of stress immediately before slaughter on pork quality are aggravated by suboptimal transport and lairage conditions. *Journal of Animal Science*, 83 (2):440–448, fév. 2005. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/2005.832440x. 102, 103

J. Hocquette, I. Ortigues-Marty, M. Damon, P. Herpin et Y. Geay : Métabolisme énergétique des muscles squelettiques chez les animaux producteurs de viande. *INRAE Productions Animales*, 13(3):185–200, juin 2000. ISSN 2273-7766, 2273-774X. URL https://doi.org/10.20870/productions-animales.2000.13.3.3780.

S.-I. Hwang et G.-P. Hong : Effects of high pressure in combination with the type of aging on the eating quality and biochemical changes in pork loin. *Meat Science*, 162, 2020. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.108028. 107, 108

K. Jakobsen : Dietary modifications of animal fats : status and future perspectives. *Lipid / Fett*, 101(12):475–483, 1999. ISSN 1521-4133. URL https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4133(199912)101:12%3C475::AID-LIPI475%3E3.0.CO;2-H. 95

C. R. Kerth, M. A. Carr, C. B. Ramsey, J. C. Brooks, R. C. Johnson, J. E. Cannon et M. F. Miller : Vitamin-mineral supplementation and accelerated chilling effects on quality of pork from pigs that are monomutant or noncarriers of the halothane gene. *Journal of Animal Science*, 79(9):2346–2355, sept. 2001. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/2001.7992346x. 105

A. Kijlstra, B. Meerburg et A. Bos : Food safety in free-range and organic livestock systems : Risk management and responsibility. *Journal of Food Protection*, 72(12):2629–2637, 2009. URL https://doi.org/10.4315/0362-028X-72.12.2629. 94

M. Koohmaraie et G. H. Geesink : Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Science*, 74(1):34–43, sept. 2006. ISSN 0309-1740. URL http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174006001355. 107

V. Lammens, E. Peeters, H. D. Maere, E. D. Mey, H. Paelinck, J. Leyten et R. Geers : A survey of pork quality in relation to pre-slaughter conditions, slaughterhouse facilities, and quality assurance. *Meat Science*, 75(3):381–387, mars 2007. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.08.001. 102

B. Lebret et J. Faure : La viande et les produits du porc : comment satisfaire des attentes qualitatives variées ? *INRA Productions Animales*, 28(2):4, 2015. URL https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01211005.

B. Lebret, S. Prache, C. Berri, F. Lefèvre, D. Bauchart, B. Picard, G. Corraze, F. Médale, J. Faure et H. Alami-Durante : Qualités des viandes : influences des caractéristiques des animaux et de leurs conditions d'élevage. *INRA Productions Animales*, 28 (2):18, 2015. URL https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01211006/document. 93, 94, 95, 99

J. M. Leheska, D. M. Wulf et R. J. Maddock : Effects of fasting and transportation on pork quality development and extent of postmortem metabolism. *Journal of Animal Science*, 80(12):3194–3202, déc. 2002a. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/2002.80123194x. 101, 102

J. Leheska, D. Wulf, J. Clapper, R. Thaler et R. Maddock : Effects of high-protein/low-carbohydrate swine diets during the final finishing phase on pork muscle quality. *Journal of animal science*, 80(1):137–142, 2002b. URL https://doi.org/10.2527/2002.801137x. 100, 101

D. Lisiak, P. Janiszewski, T. Blicharski, K. Borzuta, E. Grześkowiak, B. Lisiak, K. Powałowski, L. Samardakiewicz, M. Batorska, K. Skrzymowska et A. Hammermeister : Effect of selenium supplementation in pig feed on slaughter value and physicochemical and sensory characteristics of meat. *Annals of Animal Science*, 14(1):213–222, 2014. URL https://doi.org/10.2478/aoas-2013-0063. 99

N. Liu, R. Liu, Y. Hu, G. Zhou et W. Zhang : Influence of rapid chilling on biochemical parameters governing the water-holding capacity of pork longissimus dorsi. *International Journal of Food Science and Technology*, 50(6):1345–1351, 2015. URL https://doi.org/10.1111/ijfs.12788. 105

C. Magras, I. Delaunay et E. Bénéteau : Quelles durées de mise à jeun des porcs charcutiers pour un optimum de qualité des carcasses ? Détermination à partir d'une étude terrain.

In Journées de la Recherche Porcine en France, 32, p. 351–356, Paris, 2000. URL http://www.journees-recherche-porcine.com/texte/2000/00txtQualite/Q0010.pdf. 100

D. Mahan, T. Cline et B. Richert : Effects of dietary levels of selenium-enriched yeast and sodium selenite as selenium sources fed to growing-finishing pigs on performance, tissue selenium, serum glutathione peroxidase activity, carcass characteristics, and loin quality. *Journal of Animal Science*, 77(8):2172–2179, 1999. URL https://doi.org/10.2527/1999.7782172x. 99

G. Martino, C. Mugnai, D. Compagnone, L. Grotta, M. Del Carlo et F. Sarti : Comparison of performance, meat lipids and oxidative status of pigs from commercial breed and organic crossbreed. *Animals*, 4(2):348–360, 2014. URL https://doi.org/10.3390/ani4020348. 93

R. D. Mateo, J. E. Spallholz, R. Elder, I. Yoon et S. W. Kim : Efficacy of dietary selenium sources on growth and carcass characteristics of growing-finishing pigs fed diets containing high endogenous selenium. *Journal of Animal Science*, 85(5):1177–1183, mai 2007. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/jas.2006-067. 99

R. K. Miller : 3 - Factors affecting the quality of raw meat. *In* J. Kerry, J. Kerry et D. Ledward, éds : *Meat Processing*, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, p. 27–63. Woodhead Publishing, jan. 2002. ISBN 978-1-85573-583-5. URL https://doi.org/10.1533/9781855736665.1.27. 94, 95

Ministère de l'agriculture et de la pêche : Arrêté du 12 décembre 1997 relatif aux procédés d'immobilisation, d'étourdissement et de mise à mort des animaux et aux conditions de protection animale dans les abattoirs, déc. 1997. URL https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000000204001/2020-09-25/. Consulté le 25 septembre 2020. 104

Ministère de l'alimentation, de l'agriculture et de la pêche : Arrêté du 22 juillet 2010 fixant les exigences et recommandations en matière de certification de conformité de la viande de porc, juil. 2010. URL https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000022737241&dateTexte=20200813. Consulté le 13 août 2020. 100, 102, 104

A. P. Moloney : 7 - The fat content of meat and meat products. *In* J. Kerry, J. Kerry et D. Ledward, éds : *Meat Processing*, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, p. 137–153. Woodhead Publishing, jan. 2002. ISBN 978-1-85573-583-5. URL https://doi.org/10.1533/9781855736665.1.137. 94

G. Monin : Abattage des porcs et qualités des carcasses et des viandes. *INRA Productions Animales*, 16(4), 2003. URL https://prodinra.inra.fr/ft?id={AE9BA010-BB37-4F68-99F9-8763CD10F3DD}&original=true. 101, 103

P. A. Morrissey, P. J. A. Sheehy, K. Galvin, J. P. Kerry et D. J. Buckley : Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science*, 49:S73–S86, jan. 1998. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/S0309-1740(98)90039-0. 96

J. Mourot et B. Lebret : Modulation de la qualité de la viande de porc par l'alimentation. *INRA Productions Animales*, 22(1):8, 2009. URL https://hal.inrae.fr/hal-02653721/document. 94, 95, 99

L. Nanni Costa, D. P. Lo Fiego, S. Dall'Olio, R. Davoli et V. Russo : Influence of loading method and stocking density during transport on meat and dry-cured ham quality in pigs with different halothane genotypes. *Meat Science*, 51(4):391–399, avr. 1999. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/S0309-1740(98)00160-0. 103

L. Nanni Costa, D. P. Lo Fiego, S. Dall'Olio, R. Davoli et V. Russo : Combined effects of pre-slaughter treatments and lairage time on carcass and meat quality in pigs of different halothane genotype. *Meat Science*, 61(1):41–47, mai 2002. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00160-7. 103

D. Newman, J. Young, C. Carr, M. Ryan et E. Berg : Effect of Season, Transport Length, Deck Location, and Lairage Length on Pork Quality and Blood Cortisol Concentrations of Market Hogs. *Animals : an Open Access Journal from MDPI*, 4(4):627–642, sept. 2014. ISSN 2076-2615. URL https://dx.doi.org/10.3390%2Fani4040627. 102

B. Nowak, T. V. Mueffling et J. Hartung : Effect of different carbon dioxide concentrations and exposure times in stunning of slaughter pigs : Impact on animal welfare and meat quality. *Meat Science*, 75(2):290–298, fév. 2007. ISSN 0309-1740. URL http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174006002695. 104

V. Olsson et J. Pickova : The influence of production systems on meat quality, with emphasis on pork. *AMBIO : A Journal of the Human Environment*, 34(4):338–343, juin 2005. ISSN 0044-7447, 1654-7209. URL https://doi.org/10.1579/0044-7447-34.4.338. 93

C. Papuc, G. V. Goran, C. N. Predescu et V. Nicorescu : Mechanisms of oxidative processes in meat and toxicity induced by postprandial degradation products : a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(1):96–123, 2017. ISSN 1541-4337. URL https://doi.org/10.1111/1541-4337.12241. 96

Parlement et Conseil européen : Règlement 853/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant des règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale, avr. 2004. URL https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/HTML/?uri=CELEX:32004R0853&qid=1601557829052&from=FR. Consulté le 1er octobre 2020. 104

M. P. Pérez, J. Palacio, M. P. Santolaria, M. C. Aceña, G. Chacón, M. Gascón, J. H. Calvo, P. Zaragoza, J. A. Beltran et S. García-Belenguer : Effect of transport time on welfare and meat quality in pigs. *Meat Science*, 61(4):425–433, août 2002. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00216-9. 102

M. Rees, G. Trout et R. Warner : The influence of the rate of pH decline on the rate of ageing for pork. I : Interaction with method of suspension. *Meat Science*, 65(2):791–804, 2003. URL https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00284-X. 106

A. Rey, D. Menoyo, J. Segura, C. López-Bote et L. Calvo : Combination of dietary glycaemic index and fasting time prior to slaughter as strategy to modify quality of pork. *Meat Science*, 161, 2020. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.108013. 101

C. A. Rice-evans : Chapter 5 - Formation of free radicals and mechanisms of action in normal biochemical processes and pathological states. *In* C. A. Rice-Evans et R. H. Burdon, éds : *New Comprehensive Biochemistry*, vol. 28 de *Free Radical Damage and its Control*, p. 131–153. Elsevier, jan. 1994. URL https://doi.org/10.1016/S0167-7306(08)60441-X. 96, 97

K. Rosenvold, H. N. Lærke, S. K. Jensen, A. H. Karlsson, K. Lundström et H. J. Andersen : Manipulation of critical quality indicators and attributes in pork through vitamin E supplementation, muscle glycogen reducing finishing feeding and pre-slaughter stress. *Meat Science*, 62(4):485–496, déc. 2002. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00045-1. 99, 100

K. Rosenvold, H. Lærke, S. Jensen, A. Karlsson, K. Lundström et H. Andersen : Strategic finishing feeding as a tool in the control of pork quality. *Meat Science*, 59(4):397–406, 2001a. URL https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00092-4. 100

K. Rosenvold, J. S. Petersen, H. N. Lwerke, S. K. Jensen, M. Therkildsen, A. H. Karlsson, H. S. Møller et H. J. Andersen : Muscle glycogen stores and meat quality as affected by strategic finishing feeding of slaughter pigs. *Journal of Animal Science*, 79 (2):382–391, fév. 2001b. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/2001.792382x. 100

K. Rosenvold et H. J. Andersen : Factors of significance for pork quality—a review. *Meat Science*, 64(3):219–237, juil. 2003. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00186-9. 93, 95, 96, 99, 100, 101, 103, 107

A. Rybarczyk, T. Karamucki, A. Pietruszka, K. Rybak et B. Matysiak : The effects of blast chilling on pork quality. *Meat Science*, 101:78–82, 2015. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.11.006. 105

T. Scheffler, S. Park et D. Gerrard : Lessons to learn about postmortem metabolism using the AMPKγ3R200Q mutation in the pig. *Meat Science*, 89(3):244–250, 2011. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.030. 99

B. Sionek et W. Przybylski : The impact of ante- and post-mortem factors on the incidence of pork defective meat – a review. *Annals of Animal Science*, 16(2):333–345, avr. 2016. URL https://doi.org/10.1515/aoas-2015-0086. 103

M. P. Springer, M. A. Carr, C. B. Ramsey et M. F. Miller : Accelerated chilling of carcasses to improve pork quality. *Journal of Animal Science*, 81(6):1464–1472, juin 2003. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/2003.8161464x. 105

O. Sørheim et K. I. Hildrum : Muscle stretching techniques for improving meat tenderness. *Trends in Food Science & Technology*, 13(4):127–135, avr. 2002. ISSN 0924-2244. URL http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224402000699. 107

K. J. Stalder, J. Maya, L. L. Christian, S. J. Moeller et K. J. Prusa : Effects of pre-slaughter management on the quality of carcasses from porcine stress syndrome heterozygous market hogs. *Journal of Animal Science*, 76(9):2435–2443, sept. 1998. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/1998.7692435x. 103

H. Sterten, N. Oksbjerg, T. Frøystein, A. Ekker et N. Kjos : Effects of fasting prior to slaughter on pH development and energy metabolism post-mortem in M. longissimus dorsi of pigs. *Meat Science*, 84(1):93–100, 2010. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.08.019. 101

C. Terlouw, A. Berne et T. Astruc : Effect of rearing and slaughter conditions on behaviour, physiology and meat quality of Large White and Duroc-sired pigs. *Livestock Science*, 122(2):199–213, juin 2009. ISSN 1871-1413. URL http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141308002898. 101

M. Therkildsen, L. Kristensen, S. Kyed et N. Oksbjerg : Improving meat quality of organic pork through post mortem handling of carcasses : An innovative approach. *Meat Science*, 91(2):108–115, 2012. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.12.011. 106

U. Tinggi : Selenium : its role as antioxidant in human health. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 13(2):102–108, mars 2008. ISSN 1342-078X. URL https://link.springer.com/article/10.1007/s12199-007-0019-4. 97

V. Van de Perre, L. Permentier, S. De Bie, G. Verbeke et R. Geers : Effect of unloading, lairage, pig handling, stunning and season on pH of pork. *Meat Science*, 86(4):931–937, déc. 2010. ISSN 0309-1740. URL http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174010002986. 102, 104

J. van der Giessen, M. Fonville, M. Bouwknegt, M. Langelaar et A. Vollema : Seroprevalence of Trichinella spiralis and Toxoplasma gondii in pigs from different housing systems in The Netherlands. *Veterinary Parasitology*, 148(3):371–374, sept. 2007. ISSN 0304-4017. URL https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.06.009. 94

P. G. van der Wal, B. Engel et B. Hulsegge : Causes for variation in pork quality. *Meat Science*, 46(4):319–327, août 1997. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/S0309-1740(97)00026-0. 103

P. G. van der Wal, B. Engel et H. G. M. Reimert : The effect of stress, applied immediately before stunning, on pork quality. *Meat Science*, 53(2):101–106, oct. 1999. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/S0309-1740(99)00039-X. 103

S. A. Vieira, G. Zhang et E. A. Decker : Biological implications of lipid oxidation products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 94(3):339–351, mars 2017. ISSN 1558-9331. URL https://doi.org/10.1007/s11746-017-2958-2. 96

X. Wang et P. J. Quinn : Vitamin E and its function in membranes. *Progress in Lipid Research*, 38(4):309–336, juil. 1999. ISSN 0163-7827. URL https://doi.org/10.1016/S0163-7827(99)00008-9. 96, 97, 98

P. D. Warriss, S. N. Brown, J. E. Edwards et T. G. Knowles : Effect of lairage time on levels of stress and meat quality in pigs. *Animal Science*, 66(1):255–261, fév. 1998. ISSN 1748-748X, 1357-7298. URL https://doi.org/10.1017/S1357729800009036. 103

A. V. Weschenfelder, S. Torrey, N. Devillers, T. Crowe, A. Bassols, Y. Saco, M. Piñeiro, L. Saucier et L. Faucitano : Effects of trailer design on animal welfare parameters and carcass and meat quality of three Pietrain crosses being transported over a short distance. *Livestock Science*, 157(1):234–244, oct. 2013. ISSN 1871-1413. URL http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S187114131300320X. 102

E. B. Wilcox, M. B. Merkley, L. S. Galloway, D. A. Greenwood, W. Binns, J. A. Bennett et L. E. Harris : The effect of feeding sucrose to beef cattle and swine on the dressing percentage and quality of meat. *Journal of Animal Science*, 12(1):24–32, fév. 1953. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/jas1953.12124x. 100

B. Wolter, M. Ellis, F. McKeith, K. Miller et D. Mahan : Influence of dietary selenium source on growth performance, and carcass and meat quality characteristics in pigs. *Canadian Journal of Animal Science*, 79(1):119–121, 1999. URL https://www.nrcresearchpress.com/doi/pdf/10.4141/A98-028. 99

Y. Xu, J.-C. Huang, M. Huang, B.-C. Xu et G.-H. Zhou : The effects of different chilling methods on meat quality and calpain activity of pork muscle longissimus dorsi. *Journal of Food Science*, 77(1):C27–C32, 2012. URL https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02440.x. 105

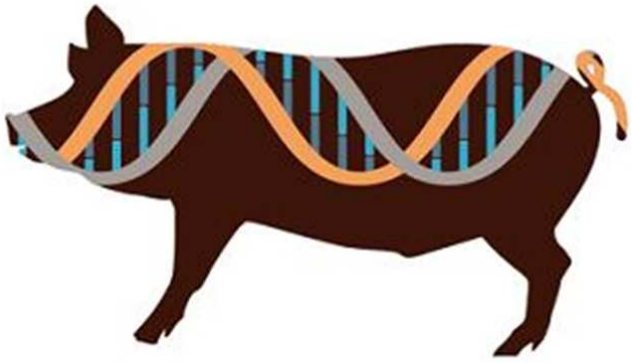
X. Zhan, M. Wang, R. Zhao, W. Li et Z. Xu : Effects of different selenium source on selenium distribution, loin quality and antioxidant status in finishing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 132(3-4):202–211, 2007. URL https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.03.020. 99

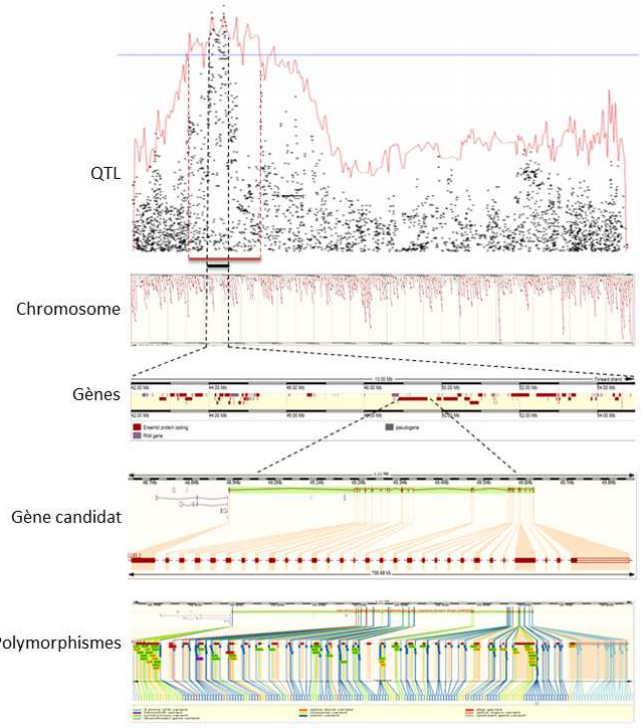
Y. Zhang, Y. Roh, S.-J. Han, I. Park, H. Lee, Y. Ok, B. Lee et S.-R. Lee : Role of selenoproteins in redox regulation of signaling and the antioxidant system : A review. *Antioxidants*, 9(5), 2020. URL https://doi.org/10.3390/antiox9050383. 96, 97

A. Zybert, K. Tarczyński et H. Sieczkowska : Meta-analysis of the effect of chilling on selected attributes of fresh pork. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(9), 2019. URL https://doi.org/10.1111/jfpp.14061. 105, 106

CHAPITRE 5

Les apports de la génétique





Sommaire

Introduction **123**
5.1 Les outils de la génétique **123**
5.1.1 Les bases de la génétique quantitative 123
5.1.2 Deux niveaux d'information indispensables 125
5.1.2.1 L'information phénotypique : de la mesure de performance à l'endophénotype 125
5.1.2.2 L'information génétique 126
5.1.3 L'approche positionnelle : cartographie génétique de QTL 127
5.1.3.1 La notion de déséquilibre de liaison ou déséquilibre de phase gamétique 127
5.1.3.2 Les analyses de liaison 129
5.1.3.3 Les analyses d'association 131
5.1.3.4 Analyses combinant association et liaison (LDLA) 133
5.1.4 L'approche fonctionnelle : le gène candidat fonctionnel 133
5.1.5 Des approches non-exclusives 134
5.2 État des lieux pour la filière porcine **135**
5.2.1 Les objectifs de sélection 135
5.2.2 Évolution génétique des caractères sélectionnés 136
5.2.2.1 Évolution des caractères liés à la production et à la reproduction 136
5.2.2.2 Effets sur les caractères de qualité 137
5.2.2.3 Un indice de qualité de la viande (IQV) 138
5.2.3 L'identification de gènes causaux relatifs à la qualité des viandes . . . 140
5.2.3.1 Le gène halothane ou gène « HAL » 140
5.2.3.2 Le gène du Rendement Napole ou gène « RN » 142
Résumé du chapitre **143**
Bibliographie **144**

Figures

5.1 Déterminisme génétique des caractères complexes : relation entre le nombre de gènes impliqués et leurs effets sur le caractère. 124
5.2 Le déséquilibre de liaison. 128
5.3 Principe de l'analyse de liaison. 130
5.4 Représentation du profil de vraisemblance dans la cartographie d'intervalle. . 131
5.5 Principe de l'analyse d'association. 132
5.6 Représentation des résultats d'une GWAS : le manhattan plot. 133
5.7 De la cartographie de QTL aux gènes candidats. 135
5.8 Pondérations accordées aux objectifs de sélections des populations sélectionnées de manière collective en France au début des années 2000. 137
5.9 Évolution de l'index moyen par année de naissance pour l'Indice de Qualité des Viandes (IQV) de 1998 à 2002 et de 2006 à 2010 dans 4 grandes populations d'animaux en sélection collective en France. 139
5.10 Représentation des QTL impactant la perte en eau au ressuage enregistrés dans Pig QTLdb. 140

Tableaux

5.1 Corrélations génétiques entre caractères de qualité de viande et caractères de production. 138
5.2 Héritabilité des caractères de qualité de viande. 139

Introduction

Malgré de nombreuses études s'intéressant aux facteurs influençant la qualité des viandes, celle-ci est encore aujourd'hui décrite comme hétérogène. Comme nous l'avons vu, il est possible de séparer l'ensemble de ces facteurs en deux groupes. Le premier correspond aux facteurs liés aux conditions environnementales associées à la production de viande. Il recouvre l'ensemble des aspects environnant l'élevage des animaux, leur mise à mort ainsi que les traitements *post-mortem* auxquels sont soumises les carcasses. Le deuxième aspect se rapporte au fond génétique des animaux. Celui-ci se réfère à la race et au sexe des individus, mais également à l'ensemble des variations (polymorphismes) existant dans le génome et pouvant influencer *in fine* la qualité des viandes produites (Andersson, 2001).

L'héritabilité des critères de qualité de la viande (pH, PRE, couleur, tendreté...) est faible à moyenne (0,10 à 0,30) (Ciobanu *et al.*, 2011; Miar *et al.*, 2014). L'obtention d'un progrès génétique par sélection est donc possible. Cependant, il n'existe pas à l'heure actuelle de prédicteur fiable de la qualité de la viande mesurable *in vivo*. Ainsi, un contrôle de performance sur ce type de caractère implique la mise à mort des individus. L'amélioration génétique des animaux repose donc sur les mesures faites sur les collatéraux des candidats à la sélection. De ce fait, les caractères de la qualité des viandes sont des caractères difficiles à améliorer par les méthodes de sélection traditionnelles basées sur le modèle d'effet polygénique additif infinitésimal utilisant les index de valeur génétique des animaux (Dekkers et Hospital, 2002; Gao *et al.*, 2007).

La qualité de la viande est donc un caractère pour lequel l'identification de *loci* impactant la variabilité des caractères est importante. Lorsque de tels *loci* sont identifiés, ils rendent possible la sélection des reproducteurs sur simple typage génétique des animaux. L'identification et l'utilisation de tels *loci* en sélection permettrait, en théorie, un gain de progrès génétique substantiel (Chevalet et Boichard, 1992a; Ciobanu *et al.*, 2011; Elsen, 2011, 2000; Renand *et al.*, 2003). Le contrôle de génotypes favorables ou défavorables pourrait ainsi permettre d'homogénéiser les caractéristiques qualitatives de la viande.

Après une présentation des approches de génétique quantitative permettant l'étude de l'architecture génétique gouvernant les caractères, ce chapitre présentera un état des lieux de l'évolution génétique des caractères sélectionnés et de l'identification de gènes majeurs impactant la qualité des viandes dans la filière porcine.

5.1 Les outils de la génétique

5.1.1 Les bases de la génétique quantitative

La génétique quantitative est la génétique qui s'intéresse aux caractères mesurables tels que le poids de muscle, l'épaisseur de lard, le pH, la perte en eau, etc. Elle repose sur le modèle infinitésimal de Fisher (1918) : la variation des caractères quantitatifs suit une loi normale et ces variations subissent les effets de facteurs environnementaux (alimentation, saisonnalité, mode d'élevage...) et de facteurs génétiques sous la forme de l'effet cumulé d'un grand nombre de gènes. En d'autres termes, le caractère est influencé par les effets environnementaux et gouverné par les effets d'un grand nombre de gènes dont les effets minimes cumulés sont quantifiables. C'est le modèle polygénique infinitésimal qui peut se résumer par l'équation :

$$P = G + E \tag{5.1}$$

Équation 5.1 – **Modèle polygénique infinitésimal** : la valeur phénotypique ou performance « P » est le résultat des effets génétiques « G » d'un grand nombre de gènes et des effets environnementaux « E ».

Il résulte de ce modèle qu'un même niveau de performance chez des individus apparentés est dû à la présence d'allèles communs. Ce modèle polygénique est à la base des méthodes de sélection qui ont permis l'amélioration des performances des animaux d'élevage. L'information génétique contenue au niveau du pedigree informe sur la valeur du patrimoine génétique des parents et permet de prendre en compte la composante polygénique des caractères. Cette information est alors utilisée dans l'estimation de la valeur génétique des animaux dans une sélection dite « polygénique » prenant en compte les ascendants et collatéraux du candidat à la reproduction, les candidats recevant en espérance la moitié de la valeur génétique de leurs parents par la transmission de la moitié du patrimoine génétique de chacun des parents.

Cependant, il existe des gènes pour lesquels l'effet sur le caractère est plus important. On distingue ainsi, les effets dus à un très grand nombre de gènes à effets infinitésimaux (polygènes), des effets dus à quelques gènes ayant des effets un peu plus importants (oligogènes) et de gènes encore moins nombreux ayant un impact très fort sur le caractère. Ces derniers sont appelés « gènes majeurs » (cf figure 5.1 « Déterminisme génétique des caractères complexes : relation entre le nombre de gènes impliqués et leurs effets sur le caractère » - ci-dessous). Les trois catégories n'étant pas exclusives, l'existence d'un gène majeur ne signifie pas que d'autres gènes à effets moins importants n'existent pas.

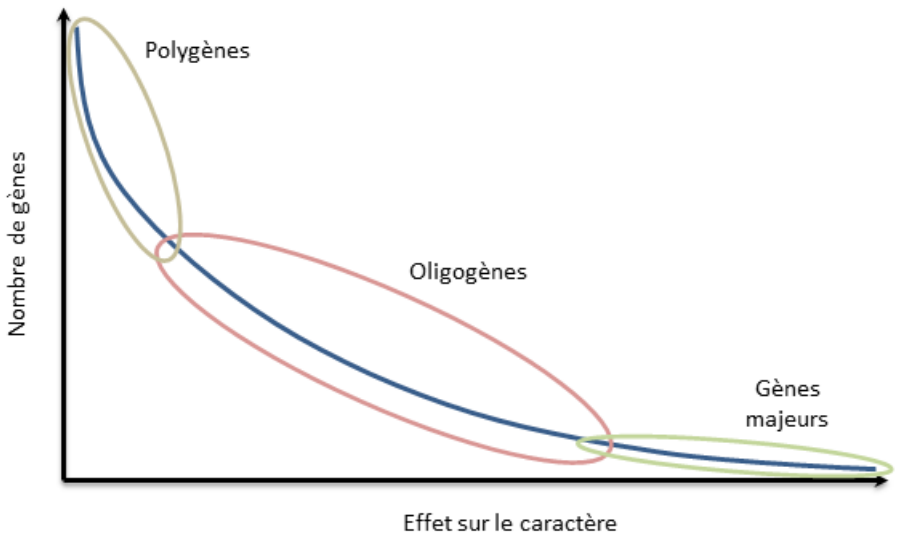


Figure 5.1 – **Déterminisme génétique des caractères complexes : relation entre le nombre de gènes impliqués et leurs effets sur le caractère.**

L'étude du déterminisme génétique d'un caractère quantitatif s'attache donc à identifier les régions du génome (gènes majeurs ou oligogènes) ayant un effet décelable, c'est-à-dire individualisable par rapport au fond polygénique, et significatif sur le caractère étudié (QTL pour Quantitative Trait Loci). Pour cela, elle se base sur une analyse combinée de mesures phénotypiques et de données génétiques. Les mesures phénotypiques correspondent à des mesures de caractères faites sur les individus. Les données génétiques quant à elles se réfèrent à la connaissance des allèles portés par les individus à des marqueurs répartis sur le génome (génotypage)

aussi bien qu'à l'information familiale apportée par le pedigree des individus. L'étude de l'architecture génétique gouvernant ce type de caractère peut être menée selon deux approches, l'approche dite positionnelle par cartographie génétique et l'approche dite gène candidat. Dans la pratique, une combinaison des deux approches est couramment utilisée (Andersson, 2001; Mullen *et al.*, 2006).

5.1.2 Deux niveaux d'information indispensables

Il résulte du modèle de Fisher qu'un même niveau de performance chez des individus apparentés est dû à la présence d'allèles communs. L'étude du déterminisme génétique gouvernant les caractères repose donc sur ces deux types de données : les mesures de performances et le suivi des allèles.

5.1.2.1 L'information phénotypique : de la mesure de performance à l'endophénotype

Pour permettre la détection fine de QTL, la précision du phénotype permettant de quantifier le caractère étudié est importante. Elle doit représenter au mieux le caractère étudié. Ainsi, quand il s'agit d'étudier le volume de lait produit ou la masse de muscles d'une carcasse, le phénotype mesuré (volume ou masse) représente exactement le caractère étudié. S'agissant de la qualité des produits, les mesures phénotypiques utilisées sont soit des évaluations faites par un panel de testeurs entraînés, pour la notation de caractères tels que la tendreté ou la jutosité, soit des mesures physico-chimiques permettant de prédire précocement le statut qualitatif de la viande. Ces mesures se substituent alors à la mise en place de procédures plus complexes et plus longues permettant d'estimer par exemple un rendement de cuisson ou des pertes au tranchage. C'est le cas typiquement de la mesure du pH, de la perte en eau, de la force de cisaillement ou de la couleur pour qualifier par exemple la tendreté ou la jutosité des produits carnés. Pour être efficace, ces mesures prédictives doivent être fortement corrélées au caractère d'intérêt, héritables et techniquement faciles à mettre en œuvre pour un coût raisonnable.

Depuis les années 2000, les technologies de génomique fonctionnelle permettent de mesurer l'expression de plusieurs dizaines de milliers de gènes, voire de l'ensemble des gènes simultanément, de quantifier à grande échelle les produits de ces gènes ou encore les produits des différentes réactions biochimiques se déroulant dans un compartiment donné du corps de l'animal. Ces technologies, dites « omiques » (génomique, transcriptomique, protéomique, métabolomique), traduisent avant tout un changement d'échelle dans l'étude moléculaire des gènes, de leur expression en ARN, de la traduction des ARN en protéines ou dans l'étude des réactions biochimiques se déroulant dans l'organisme. Ces approches reposent sur des technologies à haut débit et sur le développement d'outils d'automatisation qui permettent leur utilisation dans le cadre de la collecte de phénotypes pour l'analyse du déterminisme génétique des caractères complexes.

Il y a plusieurs étapes entre l'expression d'un gène et l'expression du caractère. Les mécanismes moléculaires de la cellule ne sont pas linéaires. Le fait qu'un gène soit transcrit à un niveau plus ou moins important n'implique pas la réciprocité au niveau de la protéine. L'expression des gènes en ARN, la synthèse de protéines et les activités biochimiques qui en découlent sont des événements dynamiques. Ils dépendent des phénomènes d'épissage, de la stabilité moléculaire des transcrits ainsi que des différents processus de maturation post-traductionnelle qui confèrent aux protéines leurs propriétés (site de translocation, activation). Ils dépendent également des conditions physico-chimiques du compartiment dans lequel se trouve la protéine et dont dépend son activité. Les mesure « omiques », qui sont des mesures, intermédiaires entre le gène et le caractère, permettent donc d'apporter un complément d'information sur les phénomènes biologiques conduisant à la mise en place du caractère. Ils rendent compte de la

complexité des interactions entre le génotype et l'environnement à un instant donné et doivent donc être interprétés en tant que tels.

En complément des phénotypes externes, les outils de post–génomique (transcriptomique, protéomique) permettent donc d'accéder, via ces phénotypes intermédiaires (ou endophénotypes), à une mesure « proche » du génome au niveau du compartiment cellulaire. Ces nouveaux phénotypes conduisent à l'identification de QTL d'expression de gène (eQTL), de QTL relatif à la quantité de protéine (pQTL), ou de QTL relatif à la quantité de métabolite (mQTL). L'identification de ces nouveaux types de QTL permet alors d'identifier des *loci* communs entre le QTL phénotypique et le QTL « omique » mettant ainsi en exergue un potentiel lien entre le fonctionnement cellulaire et le caractère. De plus, l'identification de eQTL permet de mettre en évidence, soit l'existence d'un régulateur commun du niveau d'expression du gène et du caractère lorsque le gène n'est pas physiquement localisé dans la même région que le QTL (QTL distant ou Trans-eQTL), soit d'identifier le gène lui-même comme potentiel régulateur du caractère et de sa propre expression lorsque le gène est physiquement localisé dans le QTL contrôlant son niveau d'expression et le caractère (QTL local ou Cis-eQTL). Ils offrent ainsi la possibilité d'accéder à une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires sous-jacents à ces caractères et d'affiner la localisation de QTL, la détection de gènes candidats et de mutations causales. (Le Mignon *et al.*, 2010; te Pas *et al.*, 2017).

5.1.2.2 L'information génétique

Outre la mesure de phénotypes, l'analyse du déterminisme génétique des caractères complexes repose sur l'utilisation de l'information génétique (pedigree et génotypage).

Les marqueurs génétiques sont des portions d'ADN polymorphes, c'est-à-dire des régions (*loci*) pour lesquels il existe plusieurs formes possibles. Ces différentes formes correspondent aux allèles possibles du marqueur. Il existe principalement deux types de marqueurs ADN.

Historiquement, le premier type de marqueur correspond à des régions d'ADN portant une répétition en tandem de séquence nucléotidique : VNTR pour Variable Number of Tandem Repeats. On distingue trois types de VNTR qui se distinguent par la taille du motif répété et le nombre de répétitions possibles et donc la taille globale de la séquence. Parmi ces trois types, les microsatellittes ont été utilisés pour réaliser les cartes génétiques permettant les premières cartographies génétiques de QTL. Ils se caractérisent par des motifs courts comportant 1 à 4 nucléotides, dont le nombre de répétitions n'excède généralement pas 25. Les différentes formes alléliques de ces marqueurs se différencient par le nombre de répétitions du motif. De ce fait, ces marqueurs multi-alléliques sont très polymorphes. Ils ont permis la réalisation de cartes génétiques et les premières analyses de génétique quantitative. Ces marqueurs, bien que répartis sur tout le génome, ne sont cependant pas répartis de manière homogène sur celui-ci et leur utilisation (en général une centaine de marqueurs par génome pour un panel donné) ne permettait pas d'effectuer un criblage dense du génome, les distances inter-marqueurs étant de l'ordre de 20 mégabases (Mb) (Pitel et Riquet, 2000; Schibler *et al.*, 2000).

Vingt ans plus tard, le séquençage des génomes a permis la mise en évidence, puis l'utilisation d'un deuxième type de marqueurs correspondant à une variation ponctuelle du code génétique. Ces marqueurs correspondent soit à une substitution d'un acide nucléique par un autre à une position donnée du génome, soit à la disparition (délétion) ou à l'ajout (insertion) d'un ou plusieurs acides nucléiques. Dans le premier cas, ces marqueurs sont appelés SNP pour Single Nucleotide Polymorphism. Dans le second cas, ils sont appelés InDel pour Insertion/Délétion. Les SNP qui sont la plupart du temps bi-alléliques représentent l'avantage d'être très fréquents et répartis de manière homogène sur le génome. Ce qui permet une cartographie génétique beaucoup plus fine. À titre d'exemple, il y a actuellement un peu plus de 58 millions de SNP répertoriés sur le génome du porc, ce qui correspond à un espacement moyen de 40 paires de base

(Assemblage Sscrofa11.1, https://e103.ensembl.org/sus_scrofa consulté le 24 mars 2021). Les supports de génotypage actuels permettent ainsi l'analyse simultanée de plusieurs milliers de marqueurs équitablement répartis sur le génome. Ainsi, la puce Axiom™Porcine Genotyping Array contient plus de 600 000 marqueurs espacés en moyenne de 4 kilobases (kb) (https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/550588#/550588 consulté le 24 mars 2021).

5.1.3 L'approche positionnelle : cartographie génétique de QTL

L'approche dite positionnelle se base sur l'identification et la localisation sur le génome de QTL, c'est-à-dire de *loci* responsables des variations quantitatives mesurées pour un phénotype donné. L'identification et la localisation de telles régions reposent en premier lieu sur l'existence d'une variabilité génétique des caractères et en second lieu sur l'existence d'un lien entre un marqueur génétique a priori neutre, c'est-à-dire n'ayant pas d'effet sur le caractère, et le QTL (Andersson, 2001; Dekkers et Hospital, 2002; Mullen *et al.*, 2006).

Il existe deux grands types d'approches en cartographie de QTL. Les approches basées sur les études de liaison qui s'appuient sur des dispositifs familiaux et qui reposent sur l'étude de la transmission de segments d'ADN entre parents et descendants, et les méthodes basées sur les analyses d'association qui utilisent l'information génétique au niveau populationnel en exploitant le déséquilibre de liaison (DL) existant au sein de celle-ci. Quelle que soit l'approche mise en œuvre pour cartographier un QTL (analyse de liaison ou analyse d'association), elle repose sur l'existence d'un lien entre un marqueur dont la position est connue et le QTL. La précision de ces analyses dépend du dispositif expérimental (familial ou populationnel), de la qualité du phénotype mesuré et de la densité de marqueurs informatifs (Ytournel *et al.*, 2008). Le propos ici n'est pas de présenter les modèles mathématiques sous-jacents à ces approches de génétique quantitative. Cette section a pour but de présenter l'idée maîtresse de ces approches sans rentrer dans le détail des modèles statistiques permettant de rejeter ou non l'hypothèse d'absence de QTL.

5.1.3.1 La notion de déséquilibre de liaison ou déséquilibre de phase gamétique

Quelle que soit l'approche mise en œuvre pour cartographier un QTL (analyse de liaison ou analyse d'association), elle repose sur l'existence d'un lien entre un marqueur a priori neutre dont la position est connue, disons un SNP, et le *locus* responsable de la variation du phénotype : le « QTL ». Ce lien nommé déséquilibre de phase gamétique ou déséquilibre de liaison (DL) correspond à une association non-aléatoire d'allèles entre deux *loci*. Ces associations préférentielles d'allèles de différents *loci* forment des haplotypes et sont généralement transmis ensemble aux descendants. Il en résulte que, connaissant l'allèle porté au marqueur, il est possible d'en déduire l'allèle porté au QTL.

Le DL se définit comme l'existence d'un écart entre la fréquence observée d'un haplotype dans la population et la fréquence attendue pour cet haplotype du fait des fréquences des allèles aux *loci* composant cet haplotype. Si on considère deux SNP bi-alléliques A et B portant chacun deux allèles 1 et 2, quatre haplotypes peuvent théoriquement exister dans la population : A1B1, A1B2, A2B1 et A2B2. Les fréquences « attendues » de ces haplotypes seront, en théorie, égales au produit des fréquences des allèles les composant. En cas de déséquilibre de liaison (partiel ou complet), les fréquences observées des haplotypes sont différentes des fréquences attendues (cf figure 5.2 « Le déséquilibre de liaison » - page suivante).

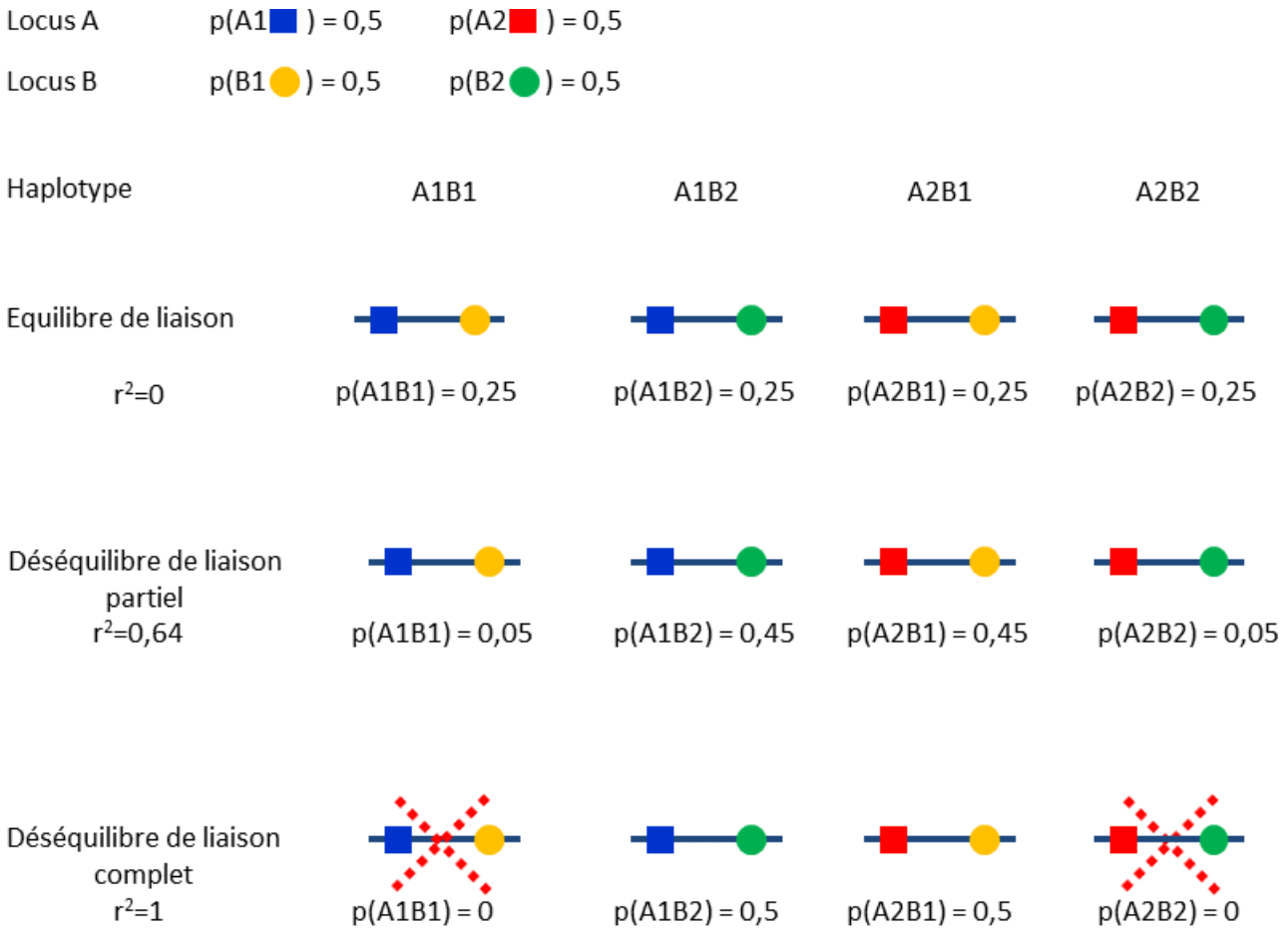


FIGURE 5.2 – **La notion de déséquilibre de liaison.** Si on considère deux SNP bi-alléliques : le SNP A dont les allèles A1 et A2 sont représentés par des carrés bleu et rouge et le SNP B dont les allèles B1 et B2 sont respectivement représentés par des ronds orange ou vert, quatre haplotypes sont théoriquement observables dans la population : A1B1, A1B2, A2B1 et A2B2. À l'équilibre ($r^2 = 0$), les fréquences observées de ces haplotypes sont égales au produit des fréquences des allèles les composant. En cas de déséquilibre de liaison partiel ou complet ($r^2 \neq 0$), les fréquences observées des haplotypes sont différentes des fréquences attendues.

Il existe différentes façons de mesurer le DL. La première façon consiste à mesurer le coefficient de DL noté « D ». Il correspond à la différence entre la fréquence de l'haplotype et le produit des fréquences des allèles qui le compose (équation 5.2). La valeur de D oscille entre -0,25 et 0,25 et prend la valeur de zéro à l'équilibre.

$$D = pA1B1 - pA1pB1 \text{ avec } -0,25 \leq D \leq 0,25 \tag{5.2}$$

Équation 5.2 – **Calcul du coefficient de DL.**

Le r^2 est une autre mesure du DL . Elle est plus couramment utilisée, car elle donne une mesure de la quantité d'information fournie par un *locus* sur l'autre *locus*. Sa valeur oscille entre 0 et 1. Dans le cas d'un DL complet le r^2=1 ce qui signifie que l'allèle porté par le *locus* A renseigne sans erreur sur l'allèle porté par le *locus* B. Le r^2 se calcule selon l'équation 5.3 :

$$\mathrm{r}^2 = \frac{D^2}{(pA1pA2pB1pB2)} \text{ avec } 0 \leq r2 \leq 1 \tag{5.3}$$

Équation 5.3 – **Calcul du r^2.**

Le DL dépendant de l'évolution des fréquences haplotypiques au sein d'une population, son évolution (apparition, diminution et disparition) sera donc liée à l'ensemble des forces évolutives qui s'exercent sur la population étudiée, dont les principales sont la mutation, la sélection, la dérive génétique ou la migration des populations.

- La mutation en tant que phénomène ponctuel crée un nouvel haplotype dans la population et induit de fait un DL entre le nouveau *locus* polymorphe et les *loci* polymorphes voisins. Au moment de l'apparition de cette mutation, le DL est alors complet avec les marqueurs physiquement proches ;
- La dérive génétique résulte d'un faible nombre de reproducteurs actifs au sein d'une population. Ce nombre restreint de reproducteurs a pour effet de favoriser la subsistance de certains haplotypes au détriment d'autres ;
- La sélection a pour effet de favoriser des combinaisons d'allèles par l'utilisation d'un nombre restreint de reproducteurs dans la population. L'effet dû à la sélection peut donc s'apparenter aux effets de la dérive génétique ;
- La migration ou mélange de populations à l'équilibre et dont la fréquence des allèles diffère a pour effet de créer du DL. La fréquence des haplotypes observés dans la nouvelle population étant de fait différente du produit des fréquences des allèles les constituant.

Si on excepte le DL à longue distance créé par la migration, deux marqueurs en fort DL sont de manière générale, physiquement proches. Le DL créé par ces différents événements ne se maintient pas au cours des générations. Il tend à s'atténuer sous l'effet des événements de recombinaison ayant cours lors des méioses. Le retour à l'équilibre au sein de la population est d'autant plus rapide que les *loci* en DL sont éloignés l'un de l'autre et donc que les événements de recombinaison sont plus fréquents (Feingold, 1991; Ytournel *et al.*, 2008).

5.1.3.2 Les analyses de liaison

L'analyse de liaison (Linkage Analysis (LA)) repose sur la co-ségrégation, c'est-à-dire la transmission commune, de parents à enfants, des allèles portés par le marqueur et du polymorphisme responsable de la variabilité du caractère.

Cette analyse repose donc sur l'étude d'un dispositif familial dans lequel la transmission des marqueurs de parent à descendants est comparée aux performances mesurées chez les descendants. À chaque position, l'hypothèse H0 d'absence de QTL lié au marqueur est testée. Si les performances des descendants ayant reçu de leur père (hétérozygote au marqueur M donc porteur des allèles M1 et M2) une forme allélique M1 diffèrent des performances des descendants ayant reçu une forme allélique M2, alors cela suggère que le marqueur a été transmis conjointement à un QTL et que ce QTL se situe à « proximité » du marqueur M (cf figure 5.3 « Principe de l'analyse de liaison » - page suivante) (Le Roy et Elsen, 2000; Ytournel *et al.*, 2008).

Cependant, l'analyse réalisée marqueur par marqueur présente un fort risque de confusion entre l'effet du QTL et la position du marqueur. Dit plus clairement, il sera difficile de faire la différence entre un QTL détecté, parce qu'ayant un fort effet, avec un marqueur éloigné et

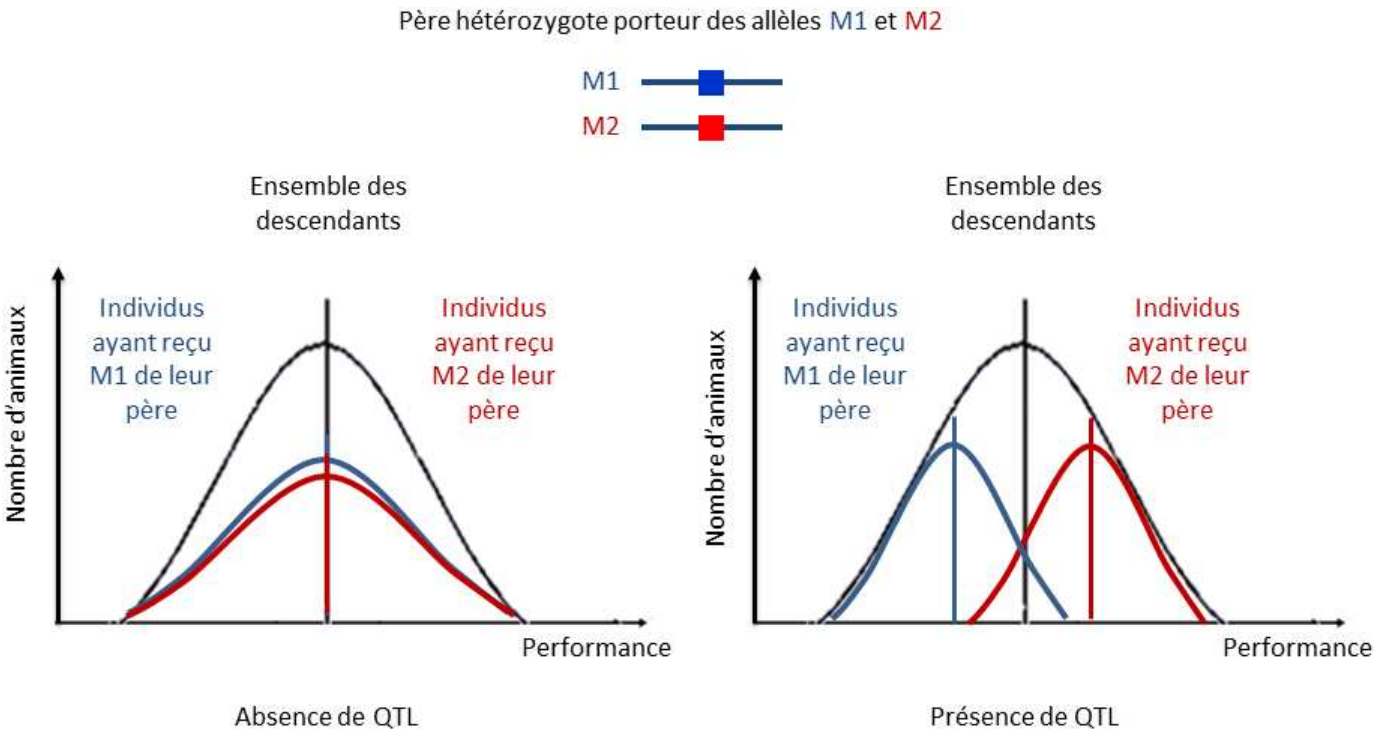


FIGURE 5.3 – **Principe de l'analyse de liaison.** Il consiste à analyser les performances des descendants issus de pères hétérozygotes aux marqueurs et à comparer la moyenne de production du groupe ayant reçu le premier allèle paternel et celle du groupe ayant reçu le second allèle.À gauche de la figure, la distribution des performances des individus ayant reçu l'allèle M1 n'est pas différente de la distribution des performances des individus ayant reçu l'allèle M2. Cela suggère qu'il n'y a pas de QTL dans l'environnement du marqueur M. À droite, les distributions des performances des individus ayant reçu M1 ou M2 diffèrent et laissent suggérer la présence d'un QTL influençant le caractère à proximité du marqueur M.

un QTL ayant un effet moins important détecté du fait de sa proximité au marqueur, les deux situations conférant au marqueur le même effet apparent. Ce risque de confusion limite donc la précision de la localisation du QTL.

Pour contrer cet effet de confusion, les analyses sont réalisées par « cartographie d'intervalle », c'est-à-dire en utilisant l'information portée par deux marqueurs successifs. L'utilisation de deux marqueurs dont on connaît le génotype chez le père et les descendants permet de calculer la probabilité de transmission du segment d'ADN parental dans l'intervalle considéré et ainsi d'effectuer des tests d'hypothèses d'absence de QTL à chaque position entre les deux marqueurs flanquants améliorant ainsi la précision de la localisation du QTL (Boichard *et al.*, 1998; Le Roy et Elsen, 2000; Ytournel *et al.*, 2008). La décision de rejeter l'hypothèse d'absence de QTL est prise en fonction d'un seuil de rejet calculé généralement par simulation. La position la plus probable du QTL étant déterminée par la position ayant la valeur de test la plus élevée et l'intervalle de confiance de localisation du QTL pouvant être déterminé soit par simulation soit de manière empirique (Le Roy et Elsen, 2000; Visscher *et al.*, 1996). Une représentation classique des analyses par cartographie d'intervalle est présentée par la figure 5.4 « Représentation du profil de vraisemblance dans la cartographie d'intervalle » page suivante. Elle correspond à une courbe des valeurs de la statistique de test (en ordonnée) à chaque position testée le long du chromosome (en abscisse) ainsi que l'intervalle de confiance de la position du QTL.

Les analyses de liaison reposent sur les événements de recombinaison ayant eu lieu dans le dispositif familial observé, soit intra-famille. Pour une famille de père donnée, seuls les marqueurs hétérozygotes seront informatifs. Par ailleurs, l'association d'un allèle du marqueur avec un effet favorable ou non du QTL n'est valable qu'au sein de la famille considérée. En effet,

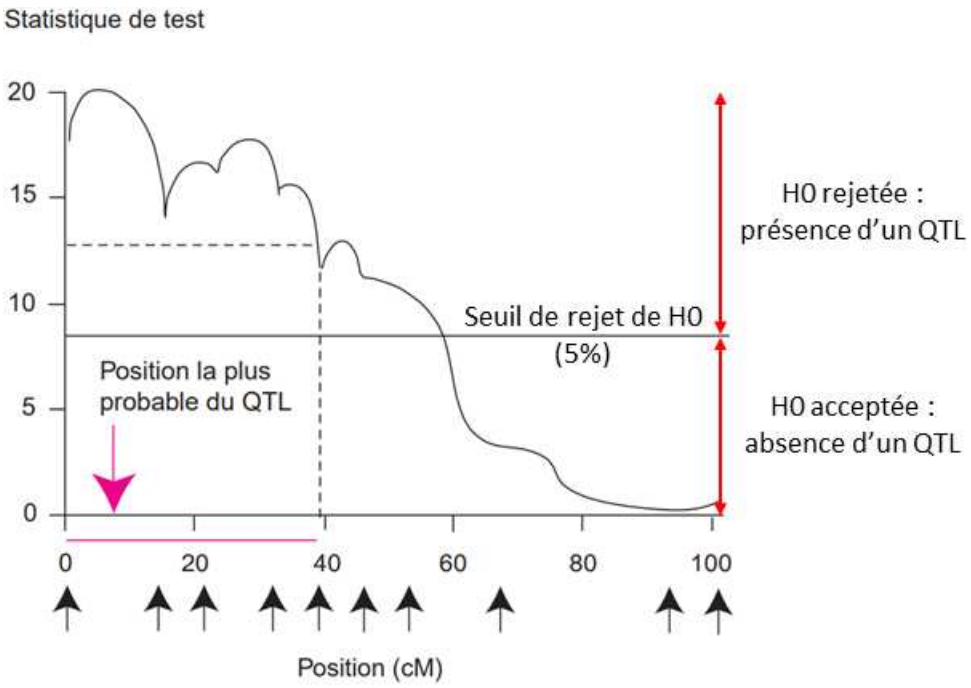


FIGURE 5.4 – **Représentation du profil de vraisemblance dans la cartographie d'intervalle.** La courbe noire représente la valeur de la statistique de test à chaque position du chromosome. Les flèches noires représentent les positions des marqueurs sur la carte génétique. La flèche rose représente la position la plus probable du QTL et la barre rose horizontale représente l'intervalle de confiance de la position du QTL (Le Roy et Elsen, 2000).

un même allèle au marqueur peut être associé à un allèle favorable au QTL dans une première famille et associé à un allèle défavorable au QTL dans une seconde famille. Ces analyses nécessitent donc un nombre de recombinaisons important afin d'obtenir une résolution satisfaisante de la localisation du QTL. (Chevalet et Boichard, 1992b).

5.1.3.3 Les analyses d'association

Contrairement aux analyses de liaison qui reposent sur un dispositif familial pour suivre la transmission d'un segment chromosomique de parents à descendants et pour lesquelles l'allèle porté par le marqueur n'intervient que pour suivre cette transmission, l'analyse d'association s'appuie sur l'information génétique au niveau de la population afin d'évaluer l'existence d'une association statistique entre un allèle spécifique du marqueur et la variation de mesure du phénotype d'intérêt. Pour l'illustrer de manière simple, on peut dire qu'il s'agit de regarder si le fait de porter l'allèle M1 plutôt qu'un autre allèle au marqueur M est associé à une variation de la mesure du phénotype étudié. Si une différence de phénotype est observée entre les allèles du marqueur, alors cela suggère que le marqueur est soit responsable directement de la variation de la mesure (polymorphisme causal) soit suffisamment proche du polymorphisme causal pour être en déséquilibre de liaison (DL) avec lui (cf figure 5.5 « Principe de l'analyse d'association » - page suivante) (Lander et Schork, 1994).

Les analyses d'association reposent sur l'historique des recombinaisons au niveau populationnel en considérant que le polymorphisme (le QTL) responsable de la variation du phénotype n'est présent à l'origine que chez un seul individu ancestral (ou un nombre très restreint d'individus) et est donc associé à un « panorama » génotypique (un haplotype) particulier. Le QTL est alors en DL complet avec cet haplotype. Au cours des générations, le DL existant entre marqueurs et QTL décroît à chaque événement de recombinaison. Si celui-ci persiste au cours des générations et permet d'identifier une association entre l'allèle porté au marqueur et la per-

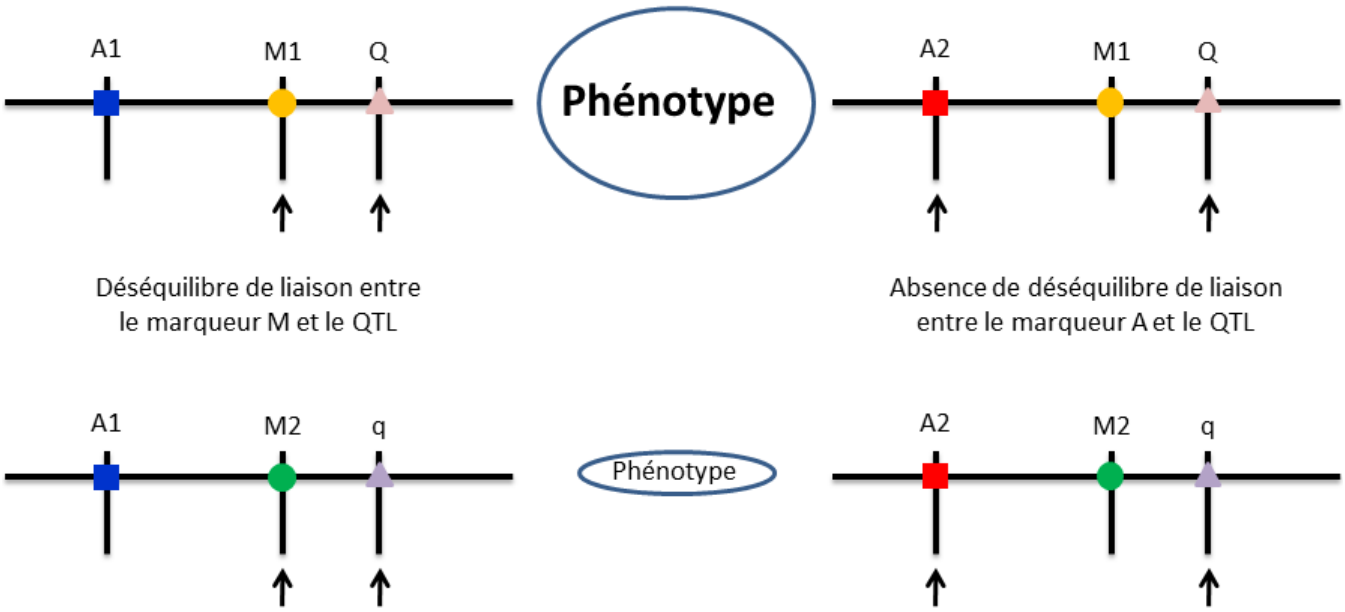


FIGURE 5.5 – **Principe de l'analyse d'association.** L'allèle M1 (rond jaune) du marqueur M est systématiquement associé à un haut niveau du phénotype, tandis que l'allèle M2 (rond vert) du marqueur M est systématiquement associé à un faible niveau du phénotype. Ce n'est pas le cas des allèles A1 (carré bleu) et A2 (carré rouge) du marqueur A. Cette association du marqueur M aux valeurs du phénotype résulte soit d'un effet direct de ce marqueur sur le phénotype mesuré (le marqueur M est le QTL ; M1=Q & M2=q), soit d'une proximité entre le marqueur M observé et un QTL (non-observé) dont les allèles Q (triangle rose pâle) et allèles q (triangle violet) sont responsables de la variabilité du phénotype. Cette proximité entre les deux *locus* se traduit par le fait que l'allèle M1 est toujours associé à l'allèle Q et que l'allèle M2 est toujours associé à l'allèle q. On parle alors de déséquilibre de liaison. Les allèles du marqueur A quant à eux ne montrent pas d'association préférentielle avec les allèles du marqueur M ou avec le QTL.

formance mesurée, c'est que le marqueur considéré est suffisamment proche du polymorphisme causal pour que son lien au QTL n'ait pas été « brisé » par un événement de recombinaison (Jorde, 1995).

En se basant sur l'utilisation de plusieurs dizaines (voire de centaines) de milliers de marqueurs, les études d'association pangénomique (Genome Wide Association Study (GWAS)) visent ainsi à capturer suffisamment d'information génétique au travers du DL local pour permettre de réaliser une cartographie fine de QTL. Cependant ces approches pangénomiques par criblage du génome entier posent un problème de seuil de significativité des tests multiples. La décision de rejeter l'hypothèse d'absence de QTL est donc prise en fonction d'un seuil de rejet généralement « adapté » pour tenir compte du nombre de tests réalisés dans les approches GWAS (Chen *et al.*, 2021). Ces analyses sont également sensibles à la structure même de la population et engendrent le risque de détecter un DL « factice » du fait même de la composition de la population. En effet, si on considère une population issue d'une migration ou d'un mélange de deux populations possédant une valeur moyenne de phénotype observé très différente, une confusion entre l'origine populationnel de l'allèle et le QTL peut alors avoir lieu. Si on ne tient pas compte de cette structure particulière de la population, un grand nombre d'associations entre marqueurs et phénotypes peut être détecté sans que cela ne soit dû à un DL entre le marqueur étudié et le QTL, ces associations n'étant due qu'à la fréquence différente des allèles dans les sous-populations formant la population d'étude (Sul *et al.*, 2018).

La représentation classique des résultats des analyses GWAS est le « manhattan plot ». Il s'agit d'une représentation en nuage de point. Pour chaque marqueur testé le logarithme négatif de la pValue du test d'association est représenté par un point, l'ensemble des marqueurs étant

positionnés en fonction de sa localisation le long du génome et les différentes couleurs correspondant à différents chromosomes. La position d'un QTL est alors déterminée par l'ensemble des points dépassant le seuil de significativité (cf figure 5.6 « Représentation des résultats d'une GWAS : le manhattan plot » - ci-dessous).

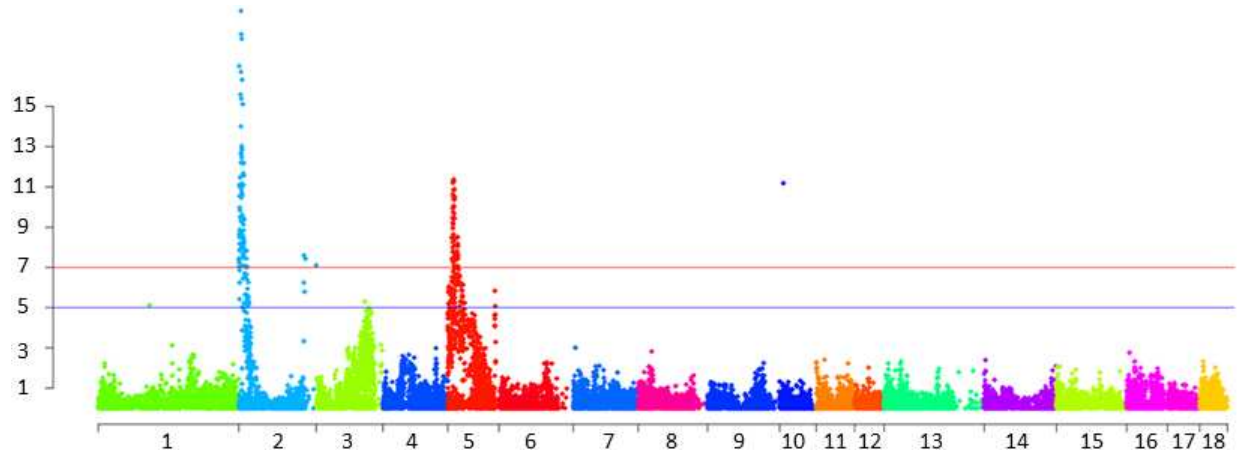


FIGURE 5.6 – **Représentation des résultats d'une GWAS : le manhattan plot.** Chaque point représente un marqueur. La valeur en ordonnée correspond au logarithme négatif de la pValue du test d'association, la position en abscisse représente la localisation du marqueur sur le génome. Les horizontales rouge et bleu représentent différents seuils de significativité des tests d'association. Les « pics » identifiés sur les chromosomes 2 et 5 représentent des QTL. (Illustration consultée le 7 avril 2021 https://jacob.cea.fr/drf/ifrancoisjacob/PublishingImages/IRCM/Equipes/LREG/Image3.png).

5.1.3.4 Analyses combinant association et liaison (LDLA)

Pour faire face aux limitations des deux approches pré-citées : manque de précision pour les analyses de liaison et risques liés à la structure des populations pour les analyses d'association, il a été proposé de les combiner en une seule analyse Linkage Disequilibrium Linkage Analysis (LDLA). Cette analyse permet en combinant l'information génétique obtenue au niveau familial, le DL issu de l'analyse des génotypes de l'ensemble du dispositif et une forte densité de marqueurs, de tester l'association entre marqueurs et phénotypes en limitant les risques inhérents à une structuration de la population et de gagner en précision et en puissance (Legarra et Fernando, 2009; Meuwissen et Goddard, 2000, 2001).

5.1.4 L'approche fonctionnelle : le gène candidat fonctionnel

L'approche « gène candidat » a dans un premier temps concerné les gènes susceptibles d'être impliqués dans les voies métaboliques conduisant à la mise en place du caractère. Cette approche **gène candidat fonctionnel** est basée sur la connaissance de la physiologie et des voies métaboliques impliquées dans le caractère phénotypique mesuré au sein de l'espèce d'intérêt ou par rapprochement avec les connaissances acquises au sein d'autres espèces pour ce même caractère (Boichard *et al.*, 1998; Mullen *et al.*, 2006; Zhu et Zhao, 2007). Cette approche se base sur l'hypothèse de l'existence d'un polymorphisme dans la séquence de ce gène ayant un effet sur sa fonction biologique. Cette approche consiste en la recherche de polymorphismes (SNP, InDel) au sein de la structure du gène candidat entre deux populations divergentes pour le caractère d'intérêt, puis sur l'analyse de ségrégation de ce polymorphisme avec le phénotype d'intérêt. C'est-à-dire la recherche d'une association non-aléatoire entre un allèle et un niveau de performance du phénotype. Cette étude infirme ou confirme l'influence du polymorphisme

« candidat » dans la variabilité du caractère étudié (Mullen *et al.*, 2006). L'une des limites de cette approche est qu'elle se cantonne par définition aux gènes dont les fonctions sont connues (ou pour le moins soupçonnées) pour jouer un rôle dans la voie physiologique responsable du phénotype étudié et en écarte par principe les gènes dont la fonction n'est pas décrite comme étant associée au caractère étudié. Bien que l'annotation fonctionnelle des génomes ait fait de gros progrès ces dernières années notamment avec l'apparition de la Gene Ontology (GO) dans les années 2000 (Ashburner *et al.*, 2000; {The Gene Ontology Consortium}, 2021), cette information reste partielle et essentiellement construite sur l'inférence automatique (Sasson *et al.*, 2006; Škunca *et al.*, 2012; Xavier *et al.*, 2015). Elle demeure donc limitée par le niveau de connaissances et d'annotations des génomes qui même s'il progresse d'année en année reste cependant partiel. Elle a par contre l'avantage de permettre la détection de polymorphismes responsables de faibles variations phénotypiques (Andersson, 2001; Boichard *et al.*, 1998; Gao *et al.*, 2007; Mullen *et al.*, 2006; Zhu et Zhao, 2007).

Plus généralement, l'approche gène candidat a été étendue aux gènes présents dans une région QTL identifiée : les **candidats positionnels**, ou encore aux gènes dont le profil d'expression est corrélé au caractère étudié voire co-régulé avec le caractère par un QTL commun.

5.1.5 Des approches non-exclusives

Dans la pratique, les approches positionnelles et gènes candidats sont combinées, pour une plus grande efficacité, en une approche **gène candidat positionnel et fonctionnel**. La première étape, dite de « primo-localisation » consiste en la recherche et en la localisation de QTL, cette localisation devant être la plus fine possible. Lorsqu'un ou plusieurs QTL sont localisés, les gènes présents dans la région sont alors passés au crible pour identifier d'éventuels candidats fonctionnels et y rechercher un polymorphisme responsable de la variabilité du caractère (cf figure 5.7 « De la cartographie de QTL aux gènes candidats » - page suivante). Cette seconde phase, qui cible les candidats fonctionnels de la région QTL, est cependant grandement dépendante de l'état des connaissances et d'annotations des génomes (Andersson, 2001; Gao *et al.*, 2007; Mullen *et al.*, 2006; Zhu et Zhao, 2007).

Plus généralement, l'approche positionnelle est combinée avec l'ensemble des informations complémentaires (expression corrélée au caractère, co-localisation de QTL et eQTL, analyse fonctionnelle...) pouvant former un faisceau d'indices concordants et ainsi aboutir à la réduction du nombre de gènes candidats dans l'objectif final d'identifier un polymorphisme causal. L'intégration de l'ensemble de ces données est une étape essentielle pour permettre de mieux comprendre la régulation des caractères complexes (te Pas *et al.*, 2017; Zhu et Zhao, 2007).

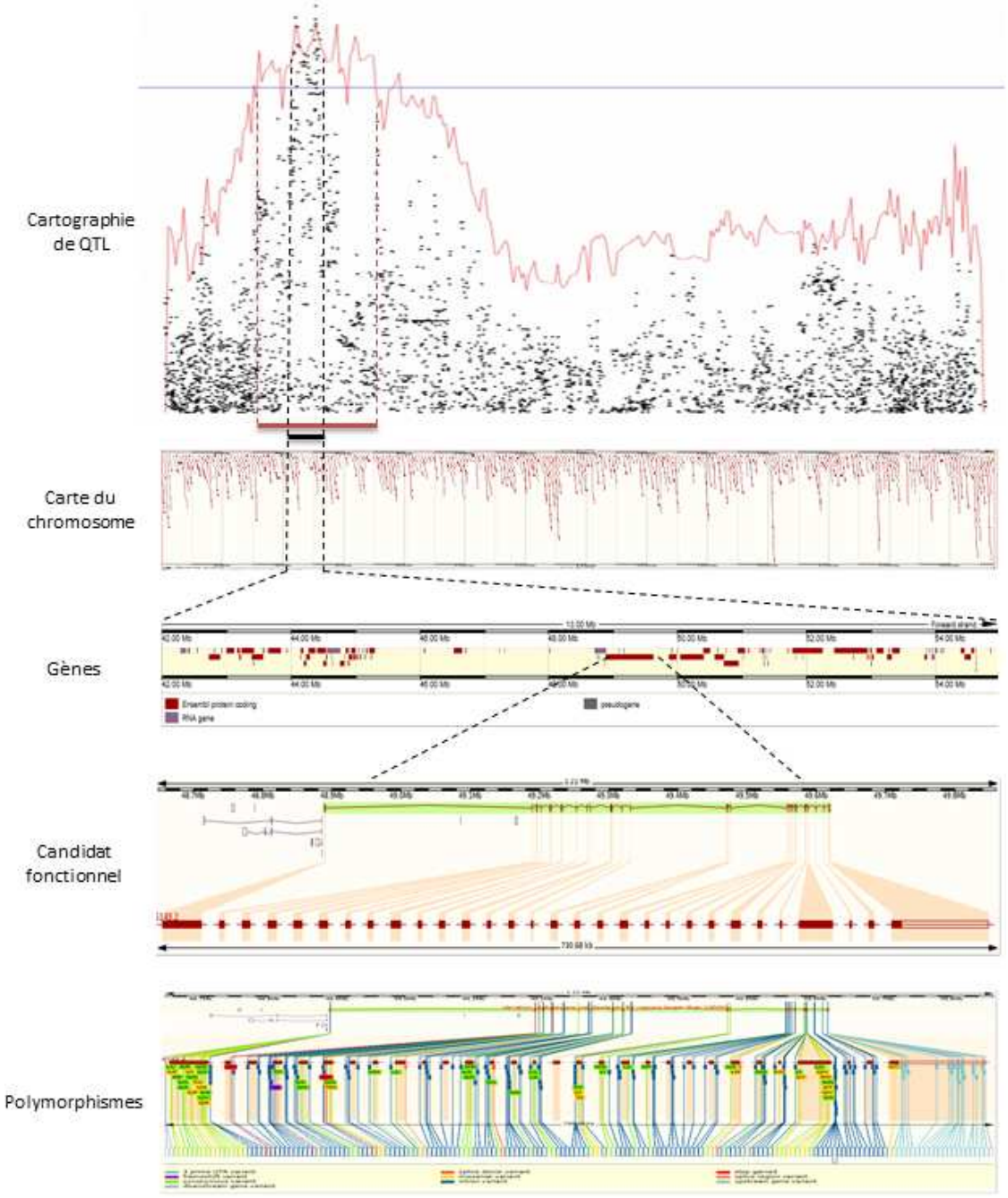


FIGURE 5.7 – **De la cartographie de QTL aux gènes candidats.** La cartographie de QTL par analyse de liaison (courbe rouge) ou par analyse d'association (nuage de points noirs) permet de définir un intervalle de confiance pour la position du QTL. Cette localisation permet de définir la liste des gènes présents dans cet intervalle et d'identifier un ou plusieurs candidats fonctionnels dans lesquels rechercher un polymorphisme associé au phénotype d'intérêt.

5.2 État des lieux pour la filière porcine

5.2.1 Les objectifs de sélection

La sélection porcine Française repose principalement sur plusieurs races, dont les races Large White (LW), Landrace Français (LF), Piétrain (PI), Duroc (DU) ou encore des races plus exotiques tel que la race chinoise Meishan (MS). De ces races découlent des populations d'animaux sélectionnés spécialisés en lignées femelles ou lignées mâles. Chacune de ces lignées est sélectionnée pour mettre en valeur des critères liés à la reproduction pour les lignées femelles

(prolificité, qualités maternelles, qualités des porcelets, reproduction) ou liés à la production de viande pour les lignées mâles (efficacité alimentaire, croissance, composition des carcasses, qualités des viandes). Chaque population apporte cependant des caractéristiques spécifiques. Ainsi, la lignée Large White lignée Femelle (LWF) est choisie pour sa prolificité et sa croissance, le MS pour sa prolificité et le LF pour ses qualités maternelles. En ce qui concerne les lignées mâles, le Large White lignée Mâle (LWM) est recherché pour sa croissance et ses qualités de carcasse, le PI pour son rendement de carcasse et son indice de consommation et le DU pour sa rusticité et la qualité de sa viande (voir Annexe F : Caractéristiques de différentes lignées femelles et lignées mâles utilisées en sélection en France) (Institut Technique du Porc, 2003; Jussiau *et al.*, 2013a; Salaün, 2013; Selmi *et al.*, 2014).

Même si les lignées possèdent des objectifs de sélection spécifiques correspondant à leur orientation mâle ou femelle, chacune d'elle se voit accorder en sus des pondérations différentes pour chacun de ses objectifs de sélection. Dans les lignées femelles pour lesquelles les objectifs de sélection sont principalement orientés vers les qualités maternelles, les pondérations apportées à chacun des critères diffèrent d'une lignée à l'autre. Ainsi, au début des années 2000, l'effort de sélection pour la lignée LWF porte majoritairement sur le nombre de porcelets sevrés alors que pour la lignée LF l'accent est mis sur le nombre de porcelets sevrés et le nombre de porcelets nés vivants. Pour les lignées mâles, les objectifs de sélection portent sur l'amélioration des caractères liés à la production de viande et la stabilisation ou la non-dégradation de la qualité des viandes. Cependant, comme pour les lignées femelles, les pondérations apportées à chaque critère varient d'une population à l'autre. Ainsi, si la qualité des viandes, au travers de l'Indice de Qualité Technologique des Viandes (IQV), et le TMP représentent les deux critères les plus importants pour la lignée LWM (environ 66 % à eux deux), le poids de ces deux critères est moindre pour la population PI pour laquelle les objectifs d'amélioration de l'indice de consommation, du rendement et de la croissance représentent une part plus importante (cf figure 5.8 « Pondérations accordées aux objectifs de sélections des populations sélectionnées de manière collective en France au début des années 2000 » - page suivante) (Institut Technique du Porc, 2003; Jussiau *et al.*, 2013a; Salaün, 2013). Cependant, ces objectifs sont régulièrement actualisés. Ainsi, les objectifs de sélection en lignée collective maternelle LWF et LF ont été actualisés pour prendre en compte de nouveaux caractères relatifs aux qualités paternelles aux travers du poids moyen des porcelets et de la variabilité des poids au sein de la portée (Bidanel, 2015). De même, les objectifs de sélection en lignée collective PI ont évolué pour donner une part plus importante à l'efficacité alimentaire et à la qualité de la viande en remplaçant l'IQV par la mesure de pHu et la mesure de perte en eau pour cibler spécifiquement les caractères acide et exsudatif de la viande (Bouquet, 2014)

5.2.2 Évolution génétique des caractères sélectionnés

5.2.2.1 Évolution des caractères liés à la production et à la reproduction

Dès le début de la mise en œuvre de programmes organisés de sélection dans l'espèce porcine dans les années 70, les principaux efforts ont porté sur les caractères de production en s'intéressant dans un premier temps à la croissance des animaux, la qualité des carcasses ou aux indices de consommation. Les caractères liés à la reproduction des animaux au travers notamment du nombre de porcelets nés vivants n'ont été pris en compte dans les objectifs de sélection qu'à la fin des années 90. Cette sélection dite « polygénique », basée sur les performances des candidats à la reproduction, de leur ascendance, descendance et collatéraux, a été particulièrement efficace puisque la mise en place de ces outils, a permis une amélioration du Teneur en Viande Maigre (TVM) de l'ordre de 12 points en 45 ans pour les lignées LWF et LF et légèrement moins (9 à 10 points) pour la lignée PI. L'Indice de Consommation (IC) ainsi que le Gain Moyen Quotidien (GMQ) ont également progressé de manière notable sous l'effet

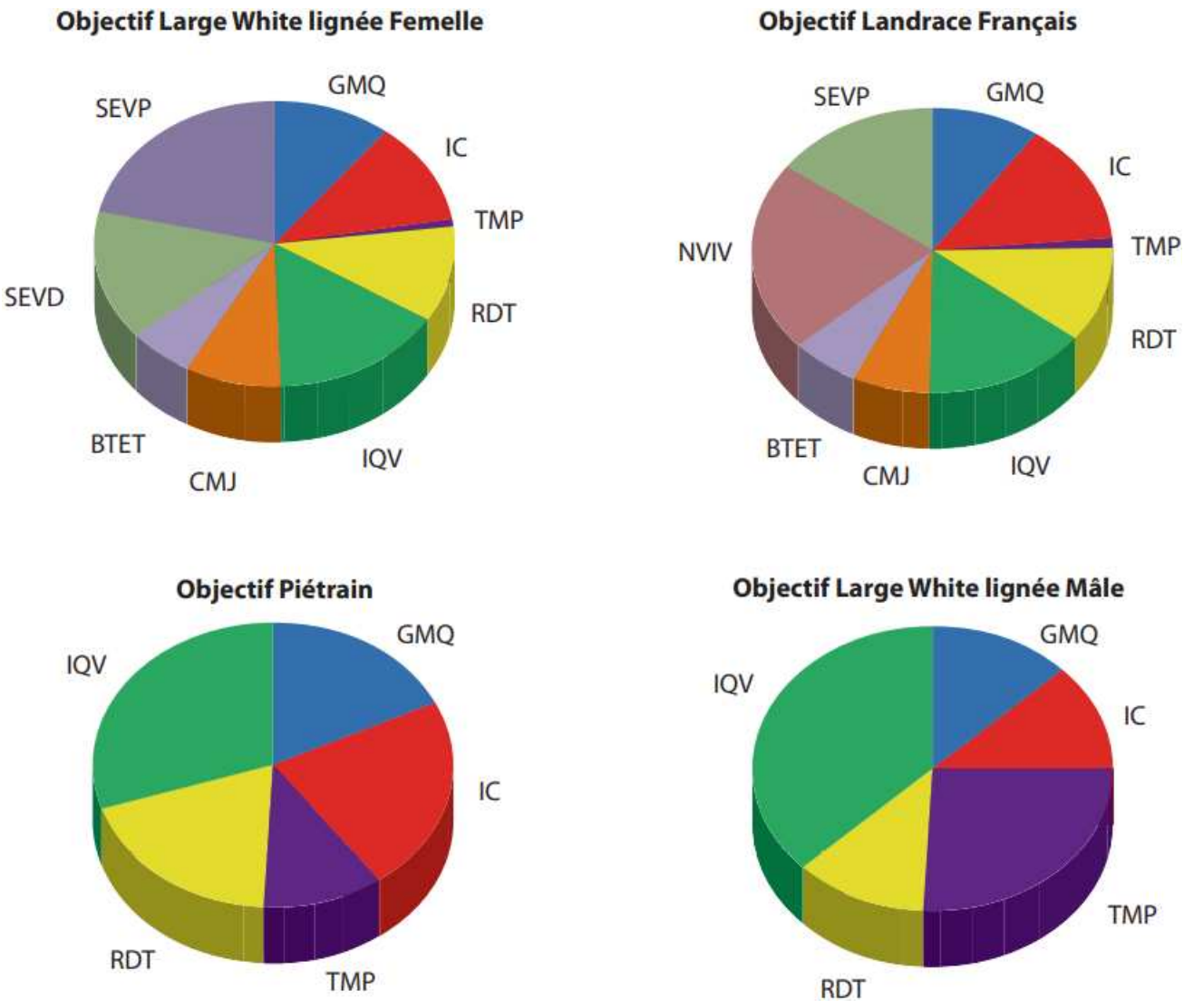


FIGURE 5.8 – **Pondérations accordées aux objectifs de sélections des populations sélectionnées de manière collective en France au début des années 2000.** BTET : Nombre de tétines fonctionnelles ; CMJ : Consommation moyenne journalière ; GMQ : Gain moyen quotidien ; IC : Indice de consommation ; IQV : Indice de qualité des viandes ; NVIV : Nombre de porcelets nés vivants ; RDT : Rendement de carcasse ; SEVD : Nombre de porcelets sevrés de la truie ; SEVP : Nombre de porcelets sevrés par la truie ; TMP : Taux de muscle des pièces (Salaün, 2013).

des programmes de sélection. L'IC a ainsi diminué de 0,5 point dans les trois races, tandis que le GMQ a progressé de 200 grammes que ce soit en LWF, LF ou PI. Les progrès concernant la prolificité ne sont pas en reste avec plus de 4 porcelets nés vifs supplémentaires par portée en LF et plus de 5 porcelets en LWF (Bidanel *et al.*, 2020).

5.2.2.2 Effets sur les caractères de qualité

Cependant, certains caractères de production possèdent une corrélation génétique défavorable avec les caractères relatifs à la qualité des viandes. Ainsi, comme le montre le tableau 5.1 « Corrélations génétiques entre caractères de qualité de viande et caractères de production », page suivante, malgré une disparité importante, des relations antagonistes, allant de modérées à fortes, existent entre le taux de muscle de la carcasse et les qualités sensorielles de la viande, le pHu, le PRE ou le L* (Ciobanu *et al.*, 2011; Miar *et al.*, 2014; Tribout *et al.*, 1996). De telles relations existent également entre l'indice de consommation des individus et le pHu, le PRE et

le L*. (Tribout *et al.*, 1996).

Caractères de qualité de la viande	Caractères de production			
	Adiposité de la carcasse		Musculariété de la carcasse	
	Moyenne	Étendue	Moyenne	Étendue
pHu	0,15	-0,05 à 0,45	-0,13	-0,50 à 0,08
Reflectance	-0,21	-0,48 à 0,07	0,16	-0,16 à 0,42
PRE	0,02	-0,25 à 0,24	-0,19	-0,57 à 0,24
Perte en eau	-0,10	-0,20 à -0,01	0,05	-0,10 à 0,13
Tendreté	0,24	0,11 à 0,48	-0,20	-0,48 à 0,12
Jutosité	0,29	-0,19 à 0,85	-0,18	-0,47 à 0,08

TABLEAU 5.1 – **Corrélations génétiques entre caractères de qualité de viande et caractères de production.** D'après Ciobanu *et al.* (2011)

De ce fait, les efforts de sélection visant à accentuer la croissance et le taux de muscle des animaux ont parallèlement abouti à une diminution de la qualité des viandes. Cette observation réalisée dès le début des années 80 a été confortée par des études plus récentes (Bazin *et al.*, 2003; Lonergan *et al.*, 2001; Schwab *et al.*, 2006; Tribout *et al.*, 2004), dans lesquelles les performances d'individus sélectionnés pour une meilleure croissance et un meilleur taux de viande maigre ont été comparés aux performances d'individus n'ayant pas subi cette sélection. Tribout *et al.* (1996) et Bazin *et al.* (2003) ont ainsi comparé les performances d'individus LW issus de semence congelée en 1977 aux performances d'individus produit en 1998 pour le premier et les performances d'individu LW et LF issus de semence congelée en 1977 aux performances d'individus produit en 1999 pour le second. Schwab *et al.* (2006) ont quant à eux comparé les performances d'individus Duroc issus de semence congelée dans le milieu des années 80 aux performances d'individus produit dans le début des années 2000.

Schwab *et al.* (2006) ont montré l'effet négatif de la sélection sur le pourcentage de gras intramusculaire, la force de cisaillement, la couleur de la viande ainsi que sur les qualités sensorielles au travers du goût et de l'odeur de la viande. Les trois études ont mis en évidence une tendance à la dégradation de la mesure du pH consécutive à la sélection chez les animaux LW et Duroc. Sur la période comparée (77 à 98-99) les études de Tribout *et al.* (1996) et Bazin *et al.* (2003) ont constaté une diminution du PRE chez les individus LW. Enfin, Tribout *et al.* (1996) ont pu mettre en évidence une nette détérioration du rendement technologique de fabrication du jambon cuit et une augmentation du potentiel glycolytique (GLYPO) dans les muscles blancs, c'est-à-dire une augmentation des réserves du muscle en glycogène permettant au muscle de maintenir son métabolisme glycolytique actif plus longtemps après la mort de l'animal. Dans leur étude de 2001, Lonergan *et al.* (2001) ont réalisé une expérience de sélection sur cinq générations d'animaux Duroc visant à accroître le taux de viande maigre et de diminuer l'épaisseur de gras dorsal. Dans cette étude, les effets positifs sur l'épaisseur de gras dorsal et le taux de viande maigre se sont fait au détriment de la qualité des viandes en dégradant notamment les mesures de pH, la force de cisaillement et le PRE.

5.2.2.3 Un indice de qualité de la viande (IQV)

Pour faire face à la dégradation de la qualité des viandes consécutive à une sélection focalisée sur la croissance et la qualité des carcasses, les objectifs de sélection ont évolué au début des années 80 pour inclure un objectif de maintien de la qualité des viandes à un niveau acceptable. Comme le montre le tableau 5.2 « Héritabilité des caractères de qualité de viande », page suivante, les critères associés à la qualité des viandes possèdent des héritabilités allant de faible

à moyenne (0,10 à 0,30) (Ciobanu *et al.*, 2011; Miar *et al.*, 2014). L'objectif de maintien de la qualité des viandes peut donc être obtenu par sélection.

L'objectif de maintien de la qualité des viandes s'est fait en incluant dans l'objectif de sélection un indice composite nommé Indice de Qualité Technologique des Viandes (IQV) qui est une combinaison prenant en compte le pHu, le L* et le PRE (Bidanel *et al.*, 2020; Renand *et al.*, 2003).

Caractères de qualité de la viande	Héritabilité
pHu	0,07 à 0.39
L*	0,15 à 0,57
PRE	0,01 à 0,43
Perte en eau	0,01 à 0,31
Tendreté	0,17 à 0,46
Jutosité	0 à 0,28

TABLEAU 5.2 – **Héritabilité des caractères de qualité de viande.** D'après Ciobanu *et al.* (2011)

La mise en place de cet indice de qualité des viandes a ainsi permis, en parallèle de l'amélioration des caractères liés à la croissance ou à la composition de carcasse, de stabiliser ou pour le moins de limiter la dégradation des caractères de qualité technologique des viandes au sein des 4 grandes populations en sélection collectives en France. Dans leur étude Tribout *et al.* (1996) mettent en évidence une tendance à la baisse de l'IQV chez les individus LW sur la période 77-98 tandis que Bazin *et al.* (2003) constatent une stagnation pour les individus LF et une détérioration pour les LW. Cependant, comme le souligne Tribout *et al.* (1996), cette tendance à la baisse observée sur la période 77-98 ne reflète sans doute que partiellement l'effet de l'utilisation de l'IQV comme critère de sélection étant donné son incorporation plus récente dans les objectifs de sélection. Cela semble d'ailleurs être confirmé par les évolutions des index moyens par année de naissance, comme l'illustre la figure 5.9 « Évolution de l'index moyen par année de naissance pour l'Indice de Qualité des Viandes (IQV) de 1998 à 2002 et de 2006 à 2010 dans 4 grandes populations d'animaux en sélection collective en France », ci-dessous, avec une quasi-stagnation dans les populations LF, LWF, LWM et PI (Institut Technique du Porc, 2003; Jussiau *et al.*, 2013b).

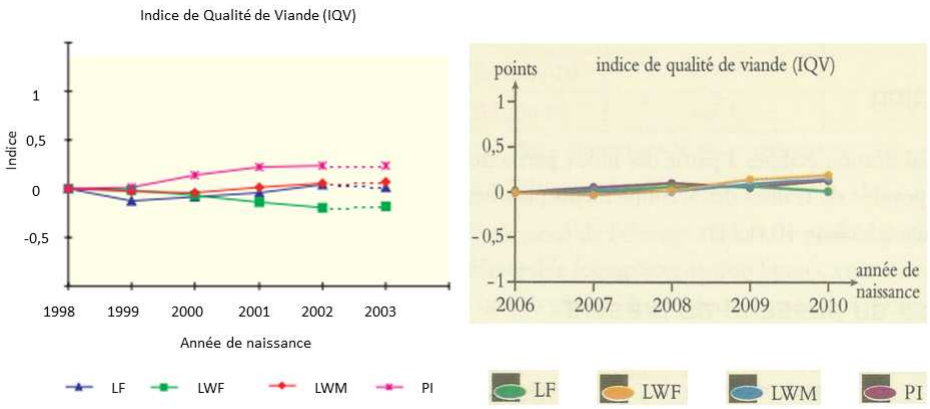


FIGURE 5.9 – **Évolution de l'index moyen par année de naissance pour l'Indice de Qualité des Viandes (IQV) de 1998 à 2002 et de 2006 à 2010 dans 4 grandes populations d'animaux en sélection collective en France.** (Institut Technique du Porc, 2003; Jussiau *et al.*, 2013b). LF : Landrace Français ; LWF : Large White Femelle ; LWM : Large White Mâle ; PI : Piétrain.

5.2.3 L'identification de gènes causaux relatifs à la qualité des viandes

De manière concomitante aux efforts menés en sélection pour stabiliser la qualité des viandes, de nombreuses études ont été menées afin de déterminer les mécanismes responsables du développement des caractéristiques qualitatives de la viande. Si l'on se réfère aux nombreux QTL enregistrés dans la « Pig QTL database » (https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/SS/index) (Hu *et al.*, 2013, 2007; Hu et Reecy, 2007; Hu *et al.*, 2005), les QTL relatifs à la qualité des viandes (texture, pH, couleur, goût, odeur, dureté) représentent environ 10 % des QTL identifiés, soit 3 195 QTL dont 1 092 QTL répartis sur l'ensemble des autosomes pour les seules pertes en eau comme l'illustre la figure 5.10 « Représentation des QTL impactant la perte en eau au ressuage enregistrés dans Pig QTLdb », ci-dessous, ce qui en fait le caractère possédant le plus grand nombre de QTL détectés dans pig qtldb (released 44, consulté le 16 juin 2021).

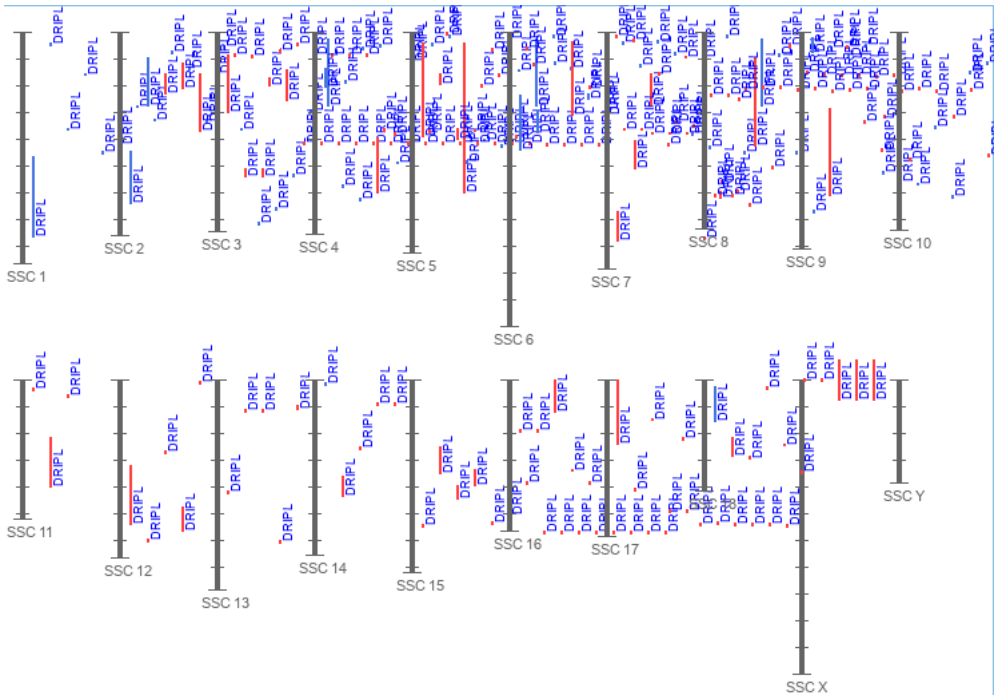


FIGURE 5.10 – **Représentation des QTL impactant la perte en eau au ressuage enregistrés dans Pig QTLdb.** (https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/SS/traitmap?trait_ID=37)

Malgré un nombre croissant de QTL identifiés et une meilleure connaissance des génomes et du rôle fonctionnel des gènes, le nombre d'études aboutissant à l'identification d'un polymorphisme causal reste restreint. Ainsi, au cours des 3 dernières décennies seul deux *loci* responsables d'une variation importante de la qualité des viandes ont pu être identifiés : le gène « HAL » ou *RYR1* associé à l'occurrence du défaut PSE et le gène « RN » ou *PRKAG3* associé au défaut de viande acide.

5.2.3.1 Le gène halothane ou gène « HAL »

L'identification du gène Hal et du polymorphisme causal responsable d'une forte occurrence du défaut de viande PSE est un très bon exemple de la complémentarité des approches positionnelles et fonctionnelles pour l'identification de polymorphismes causaux.

Le gène halothane est associé à l'apparition du défaut de viande PSE ou « viande pisseuse » due à un fort métabolisme *post-mortem* provoqué par une sensibilité accrue des animaux au stress. Ce défaut caractéristique de la race Pietrain se caractérise par un aspect suintant avec un taux important d'exsudat en surface, une texture molle et une couleur plutôt pâle. Il est également associé au syndrome de stress du porc (PSS) ou syndrome d'hyperthermie maligne

(MH) provoquant sous l'effet du stress (ou de l'inhalation du gaz halothane, un gaz anesthésiant) l'élévation de la température corporelle, une contraction musculaire intense ainsi qu'une acidose métabolique pouvant provoquer la mort subite de l'animal (Terlouw, 2002).

Au début des années 70, l'origine génétique de la viande PSE et du syndrome PSS a été établie. Il s'agit d'un gène autosomal présentant deux allèles : l'allèle normal « N » et l'allèle de sensibilité récessif « n » (Ollivier *et al.*, 1975). Dès la fin des années 70, des analyses de liaison permettent de localiser le gène HAL à proximité des *loci* du marqueur sanguin PHI (phosphohexose isomerase) et du gène de la 6-phosphogluconate dehydrogenase (*6-PGD*) (Guérin *et al.*, 1983; Rasmusen *et al.*, 1980). À la fin des années 80, Davies *et al.* (1988) localisent le gène HAL sur le chromosome 6 par hybridation in situ en utilisant une sonde radiomarquée du gène de la phosphohexose isomerase (*PHI*) également appelée glucosephosphate isomerase (*GPI*). Parallèlement, O'Brien (1986) attribue le déclenchement du syndrome MH à un défaut dans les mécanismes de transport transmembranaire du calcium au niveau du réticulum sarcoplasmique. Deux ans plus tard, Mickelson *et al.* (1988) montrent que les canaux de transport calcique localisés dans le réticulum sarcoplsamique (RYR1) des porcs touchés par le syndrome MH ont un fonctionnement altéré. Le rôle important des ions calcium dans la contraction musculaire (cf section « Le couplage excitation-contraction : cycle du calcium » - page 50) font alors du transporteur transmembranaire RYR1 un bon candidat fonctionnel. La co-localisation dans un même segment chromosomique des gènes Hal et *RYR1* sur le chromosome 6 (Davies *et al.*, 1988; Harbitz *et al.*, 1990) en fait également un bon candidat positionnel. Finalement, Fujii *et al.* (1991) identifient une substitution nucléotidique dans la séquence du gène *RYR1* des animaux atteints par le syndrome MH. Cette substitution d'une cytosine par une thymine induit une modification de la séquence protéique en remplaçant une arginine par une cysteine aboutissant à un fonctionnement anormal des canaux de transport calcique RYR1.

Ce polymorphisme entraîne, sous l'effet du stress chez les animaux homozygotes pour l'allèle « n », un relargage massif du calcium stocké dans le réticulum sarcoplasmique. Comme nous l'avons vu dans la section « Le couplage excitation-contraction : cycle du calcium » page 50, l'homéostasie calcique est un élément essentiel du cycle de contraction des fibres musculaires. L'augmentation massive du taux de calcium dans les cellules musculaires a alors pour effet d'accroître le niveau de contraction des fibres et par là même d'accroître le métabolisme énergétique provoquant une élévation de la température corporelle ainsi qu'une acidification du milieu cellulaire. À la mort des animaux, cette augmentation du métabolisme énergétique provoque une chute rapide de pH (pH1 <6) ainsi qu'une augmentation de la température corporelle ce qui a pour effet de ralentir le refroidissement de la carcasse. La contraction des fibres musculaires provoquée par la liaison des molécules d'actine et de myosine en actomyosine est intensifiée par l'effet de la chute rapide du pH. Par ailleurs, l'association d'une température élevée et d'un pH bas a pour effet d'accélérer la dénaturation des protéines myofibrillaires. La combinaison de ces deux facteurs (densification du réseau d'actomyosine, protéolyse myofibrillaire) a alors pour conséquences une perte importante d'eau, une réflectance accrue de la lumière résultant en une apparence pâle de la viande et une consistance molle de la viande due à une protéolyse importante (cf paragraphe traitant de l'effet du pH sur PRE - page 76).

Le gène halothane est connu pour avoir un effet pléiotropique. Les animaux homozygote nn ont un pH1 et un PRE inférieur aux animaux NN et une réflectance (L*) supérieure. À l'inverse, le taux de muscle et le rendement de carcasse sont supérieurs chez les animaux nn par rapport aux animaux NN. Les individus hétérozygotes ayant des valeurs intermédiaires (Larzul *et al.*, 1997; Merour *et al.*, 2009). La subsistance de cet allèle délétère « n », rendant les animaux extrêmement sensibles au stress, pourrait s'expliquer par les efforts de sélection ayant favorisé les rendements de carcasse et la production de viande maigre et donc maintenu l'allèle « n » associé à un meilleur rendement de carcasse. L'utilisation successive de différents tests permettant de distinguer dans un premier temps les animaux sensibles à l'halothane (nn) des

animaux résistants (NN et Nn) puis grâce à l'utilisation de marqueurs sanguins et ensuite de marqueur moléculaire ciblant le polymorphisme causal (HAL-1843) permettant de distinguer les trois génotypes (NN, Nn et nn) a ainsi permis de contrôler l'effet négatif de ce gène dans les populations de porcs charcutiers en tendant à l'éradication de l'allèle « n » dans les lignées femelles dans un premier temps puis dans les lignées mâles par la création de lignée Piétrain indemne de l'allèle « n » par exemple (Renand *et al.*, 2003).

5.2.3.2 Le gène du Rendement Napole ou gène « RN »

Dans le milieu des années 80, un nouveau défaut de qualité associé à une perte en eau excessive à la cuisson et un faible rendement de transformation du jambon cuit a fait son apparition. Ce défaut caractéristique de la race Hampshire se caractérise par un pHu très bas et un potentiel glycolytique important. Afin de le différencier des viandes PSE pour lesquelles la vitesse de chute du pH est en cause, les auteurs ont proposé de l'appeler « effet Hampshire » également connu sous le terme « viande acide » (Monin et Sellier, 1985). L'effet Hampshire se caractérise également par un meilleur rendement de carcasse (Enfält *et al.*, 1997) ce qui explique sans doute sa fréquence élevée dans la race Hampshire où le polymorphisme causal est apparu.

Les viandes acides se caractérisent par une vitesse de chute de pH normale (pH1 supérieur à 6), et un pH ultime inférieur à 5,4. Ce pHu anormalement bas est essentiellement dû à une forte réserve de glycogène intracellulaire (potentiel glycolytique) (cf section 3.1.1.2 « Chute du pH : une conséquence du métabolisme énergétique *post-mortem* » - page 68). Le pHu atteint le point isoélectrique des protéines myofibrillaires. Les charges électriques de celles-ci sont alors nulles. Les protéines myofibrillaires de charges nulles ne subissent plus de répulsion électrostatique, ce qui a pour effet d'accroître le rétrécissement transversal des myofibrilles obtenu lors de la *rigor mortis* contribuant ainsi au transfert de l'eau retenue dans les muscles vers les espaces extracellulaires (Monin, 2003; Scheffler et Gerrard, 2007) (cf paragraphe traitant de l'effet du pH sur PRE - page 76). Il en résulte une perte d'eau importante à la cuisson et à la transformation des produits cuits, ainsi que des écoulements d'eau sur les produits frais (Fischer, 2007; Sellier *et al.*, 1992).

Très rapidement, l'existence d'un gène majeur présentant deux formes a été suggérée (Naveau, 1986), puis confirmée par des analyses de ségrégation par Le Roy *et al.* (1990). Ce gène nommé gène du rendement Napole ou gène « RN », car il affecte une mesure du rendement technologique de cuisson du jambon le « Rendement Technologique Napole », possède deux allèles : l'allèle normal « rn+ » et l'allèle alternatif dominant « RN- ». L'allèle dominant « RN- » affecte le rendement de transformation de la viande et augmente la quantité de glycogène intramusculaire de 70 % (Estrade *et al.*, 1993).

L'utilisation de marqueurs génétiques a permis, dans un premier temps, de localiser le gène RN sur le chromosome 15 (Milan *et al.*, 1995), puis d'en préciser la région par cartographie génétique et physique (Looft *et al.*, 1996; Mariani *et al.*, 1996; Milan *et al.*, 1996). La densification de cette région en marqueurs génétiques a ensuite permis, par une démarche de clonage positionnel strict, de cartographier finement la région du gène RN et d'aboutir à l'identification d'un nouveau gène possédant une forte homologie avec des gènes codant pour la sous-unité γ d'une protéine kinase activée par l'AMP (AMPK) dont deux isoformes étaient connues chez les mammifères (*PRKAG1* et *PRKAG2*). L'AMPK est connue pour jouer un rôle important dans la régulation du métabolisme énergétique, notamment en régulant l'activité de la glycogen synthase (Hardie *et al.*, 1998). Le fait que le rôle des sous-unités γ soit de réguler l'activité de l'AMPK, renforcé par le fait que *PRKAG3* est spécifiquement exprimé dans le tissu musculaire, ont fait de ce nouveau gène un très bon candidat positionnel pour le gène RN. Finalement, la comparaison des séquences de *PRKAG3* provenant d'animaux RN- et rn+ a permis d'identifier une variation dans le code nucléotidique provoquant la substitution, au niveau protéique,

d'une arginine par une glutamine et aboutissant à un stockage accru du glycogène (Milan *et al.*, 2000). Par la suite, l'effet d'autres polymorphismes impactant le gène *PRKAG3* sur le taux de glycogène et la qualité des viandes de porc a pu être démontré (Ciobanu *et al.*, 2001).

Comme pour le cas du gène Halothane, l'identification du polymorphisme causal et le développement d'un test *ad hoc* a permis d'éradiquer l'allèle RN- dans les populations commerciales issues de la race Hampshire (Bidanel *et al.*, 2020).

Résumé du chapitre

Les critères associés à la qualité des viandes possèdent des héritabilités qui permettent d'envisager une amélioration par sélection. Cependant, il n'existe pas à l'heure actuelle de prédicteur fiable de la qualité de la viande mesurable *in vivo*. De ce fait, l'amélioration génétique des animaux repose uniquement sur les mesures faites sur les collatéraux des candidats à la sélection. Les caractères de la qualité des viandes sont donc des caractères difficiles à améliorer par les méthodes de sélection traditionnelles basées sur le modèle d'effet polygénique additif infinitésimal utilisant les index de valeur génétique des animaux.

Les objectifs de sélection de la filière porcine portent essentiellement sur une amélioration des caractères de production et une non-dégradation de la qualité des viandes. De nombreux facteurs influencent la qualité des viandes de porc. Parmi ceux-ci, le fond génétique des animaux joue un rôle important. Or, la qualité des viandes est défavorablement liée aux caractères de développement musculaire. De ce fait, les efforts de sélection fait au cours des 5 dernières décennies sur les rendements de carcasse n'ont pas permis une amélioration génétique de la qualité des viandes de porc.

L'analyse de l'architecture génétique des caractères en se basant sur les informations génétiques et phénotypiques doit permettre d'identifier des gènes responsables du développement de la qualité des viandes. L'identification de tel *loci* rend alors possible la sélection des reproducteurs sur simple typage génétique des animaux et permet par là même une amélioration des caractères ciblés. L'identification des gènes majeurs RN et Hal, responsables du développement des viandes acides et des viandes PSE, a ainsi contribué à diminuer la prévalence de ces défauts en permettant le contrôle des génotypes favorables. La qualité de la viande est donc un caractère pour lequel une compréhension de l'architecture génétique qui gouverne les caractères est importante pour aboutir à une amélioration.

Bibliographie

L. Andersson : Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. *Nature Reviews Genetics*, 2(2):130–138, fév. 2001. ISSN 1471-0064. URL https://doi.org/10.1038/35052563. 123, 125, 127, 134

M. Ashburner, C. A. Ball, J. A. Blake, D. Botstein, H. Butler, J. M. Cherry, A. P. Davis, K. Dolinski, S. S. Dwight, J. T. Eppig, M. A. Harris, D. P. Hill, L. Issel-Tarver, A. Kasarskis, S. Lewis, J. C. Matese, J. E. Richardson, M. Ringwald, G. M. Rubin et G. Sherlock : Gene Ontology : tool for the unification of biology. *Nature Genetics*, 25(1):25–29, mai 2000. ISSN 1546-1718. URL https://doi.org/10.1038/75556. 134

C. Bazin, E. Tiger, T. Tribout, M. Bouffaud, G. Madigand, J. Boulard, G. Deschodt, J.-Y. Flého, R. Guéblez, L. Maignel et J.-P. Bidanel : Estimation, par utilisation de semence congelée en élevage de sélection, du progrès génétique réalisé entre 1977 et 2000 dans les races Large White et Landrace Français pour les caractères de croissance, de carcasse et de qualité de la viande. *In Journées de la Recherche Porcine en France, 35*, p. 277–284, Paris, 2003. URL http://journees-recherche-porcine.com/texte/2003/03txtGenetique/g0302.pdf. 138, 139

J.-P. Bidanel, P. Silalahi, T. Tribout, L. Canario, A. Ducos, H. Garreau, H. Gilbert, C. Larzul, D. Milan, J. Riquet, S. Schwob, M.-J. Mercat, C. Hassenfratz, A. Bouquet, C. Bazin et J. Bidanel : Cinquante années d'amélioration génétique du porc en France : bilan et perspectives. *INRAE Productions Animales*, 33(1):1–16, jan. 2020. ISSN 2273-7766. URL https://hal.inrae.fr/hal-02569226. 137, 139, 143

J. Bidanel : Nouveaux objectifs de sélection des lignées femelles. *TechniPorc*, (21), 2015. URL https://www.ifip.asso.fr/sites/default/files/pdf-documentations/techporc_bidanel_n21_2015.pdf. 136

D. Boichard, P. L. Roy, H. Levéziel et J. M. Elsen : Utilisation des marqueurs moléculaires en génétique animale. *INRA Productions Animales*, 11(1):67–80, 1998. URL https://hal.inrae.fr/hal-02697433/document. 130, 133, 134

A. Bouquet : De nouveaux objectifs de sélection en lignée collective Piétrain. *TechniPorc*, (17), 2014. URL https://www.ifip.asso.fr/sites/default/files/pdf-documentations/techporc_bouquet_n17_2014.pdf. 136

Z. Chen, M. Boehnke, X. Wen et B. Mukherjee : Revisiting the genome-wide significance threshold for common variant GWAS. *G3 Genes/Genomes/Genetics*, 11(jkaa056), fév. 2021. ISSN 2160-1836. URL https://doi.org/10.1093/g3journal/jkaa056. 132

C. Chevalet et D. Boichard : Sélection assistée par marqueurs. *INRA Productions Animales*, 5(HS):291–294, 1992a. URL https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00896034/document. 123

C. Chevalet et D. Boichard : Utilisation des marqueurs pour localiser les gènes responsables de la variabilité des caractères quantitatifs (QTL). *INRA Productions Animales*, 5(HS):287–290, 1992b. URL https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00896033/document. 131

D. Ciobanu, J. Bastiaansen, M. Malek, J. Helm, J. Woollard, G. Plastow et M. Rothschild : Evidence for new alleles in the protein kinase adenosine monophosphate-activated gamma(3)-subunit gene associated with low glycogen content in pig skeletal muscle and improved meat quality. *Genetics*, 159(3):1151–1162, nov. 2001. ISSN 0016-6731. URL https://doi.org/10.1093/genetics/159.3.1151. 143

D. C. Ciobanu, S. M. Lonergan et E. J. Huff-Lonergan : 15 - Genetics of Meat Quality and Carcass Traits. *In The Genetics of the pig*, p. 355–390. CABI, 2nd édn, 2011. ISBN 978-1-84593-756-0. 123, 137, 138, 139

W. Davies, I. Harbitz, R. Fries, G. Stranzinger et J. G. Hauge : Porcine malignant hyperthermia carrier detection and chromosomal assignment using a linked probe. *Animal Genetics*, 19(3):203–212, 1988. ISSN 1365-2052. URL https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.1988.tb00809.x. 141

J. C. M. Dekkers et F. Hospital : The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Nature Reviews Genetics*, 3(1):22–32, jan. 2002. ISSN 1471-0064. URL https://doi.org/10.1038/nrg701. 123, 127

J.-M. Elsen : Sélection et introgression assistées par marqueurs. *INRA Productions Animales*, 2000. URL https://hal.inrae.fr/hal-02691053. 123

j. M. Elsen : Sélection sur gènes et sélection assistée par marqueurs. *INRA Productions Animales*, 24(4), 2011. URL https://hal.inrae.fr/hal-02641963/document. 123

A. C. Enfält, K. Lundström, A. Karlsson et I. Hansson : Estimated frequency of the RN- allele in Swedish Hampshire pigs and comparison of glycolytic potential, carcass composition, and technological meat quality among Swedish Hampshire, Landrace, and Yorkshire pigs. *Journal of Animal Science*, 75(11):2924–2935, nov. 1997. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/1997.75112924x. 142

M. Estrade, X. Vignon, E. Rock et G. Monin : Glycogen hyperaccumulation in white muscle fibres of RN- carrier pigs. A biochemical and ultrastructural study. *Comparative Biochemistry and Physiology. B, Comparative Biochemistry*, 104(2):321–326, fév. 1993. ISSN 0305-0491. URL https://doi.org/10.1016/0305-0491(93)90375-F. 142

J. Feingold : Le déséquilibre de liaison. *Médecine/Sciences*, 7(2):161, 1991. ISSN 1958-5381, 0767-0974. URL http://hdl.handle.net/10608/4324. 129

K. Fischer : Drip loss in pork : influencing factors and relation to further meat quality traits. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 124(s1):12–18, 2007. ISSN 1439-0388. URL https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2007.00682.x. 142

R. A. Fisher : The Correlation between Relatives on the Supposition of Mendelian Inheritance. *Transactions of The Royal Society of Edinburgh*, 52(2):399–433, 1918. ISSN 2053-5945, 0080-4568. URL https://doi.org/10.1017/S0080456800012163. 123

J. Fujii, K. Otsu, F. Zorzato, S. d. Leon, V. K. Khanna, J. E. Weiler, P. J. O'Brien et D. H. MacLennan : Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science*, 253(5018):448–451, juil. 1991. ISSN 0036-8075, 1095-9203. URL https://doi.org/10.1126/science.1862346. 141

Y. Gao, R. Zhang, X. Hu et N. Li : Application of genomic technologies to the improvement of meat quality of farm animals. *Meat Science*, 77(1):36–45, sept. 2007. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.03.026. 123, 134

G. Guérin, L. Ollivier, P. Sellier, M.-T. Alaux, P. Dando, S. Gougis et M.-R. Perretant : Etude du groupe de liaison Hal, Phi et Pgd chez le Porc : disposition relative des trois locus et estimation des taux de recombinaison. *Genetics, Selection, Evolution : GSE*, 15(1):10, 1983. URL https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00893557/document. 141

I. Harbitz, B. Chowdhary, P. D. Thomsen, W. Davies, U. Kaufmann, S. Kran, I. Gustavsson, K. Christensen et J. G. Hauge : Assignment of the porcine calcium release channel gene, a candidate for the malignant hyperthermia locus, to the 6p11 → q21 segment of chromosome 6. *Genomics*, 8(2):243–248, oct. 1990. ISSN 0888-7543. URL https://doi.org/10.1016/0888-7543(90)90278-3. 141

D. G. Hardie, D. Carling et M. Carlson : The AMP-activated/SNF1 protein kinase subfamily : metabolic sensors of the eukaryotic cell ? *Annual Review of Biochemistry*, 67:821–855, 1998. ISSN 0066-4154. URL https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.67.1.821. 142

Z.-L. Hu, S. Dracheva, W. Jang, D. Maglott, J. Bastiaansen, M. F. Rothschild et J. M. Reecy : A QTL resource and comparison tool for pigs : PigQTLDB. *Mammalian Genome*, 16(10):792–800, oct. 2005. ISSN 1432-1777. URL https://doi.org/10.1007/s00335-005-0060-9. 140

Z.-L. Hu, E. R. Fritz et J. M. Reecy : AnimalQTLdb : a livestock QTL database tool set for positional QTL information mining and beyond. *Nucleic Acids Research*, 35(Database issue):D604–D609, jan. 2007. ISSN 0305-1048. URL https://dx.doi.org/10.1093%2Fnar%2Fgkl946. 140

Z.-L. Hu, C. A. Park, X.-L. Wu et J. M. Reecy : Animal QTLdb : an improved database tool for livestock animal QTL/association data dissemination in the post-genome era. *Nucleic Acids Research*, 41(D1):D871–D879, jan. 2013. ISSN 0305-1048. URL https://doi.org/10.1093/nar/gks1150. 140

Z.-L. Hu et J. M. Reecy : Animal QTLdb : beyond a repository. *Mammalian Genome*, 18(1):1–4, jan. 2007. ISSN 1432-1777. URL https://doi.org/10.1007/s00335-006-0105-8. 140

Institut Technique du Porc : La Sélection Porcine Collective en France. Rap. tech., Institut Technique du Porc, 2003. URL https://www.ifip.asso.fr/sites/default/files/pdf-documentations/selection_collective.pdf. 136, 139

L. B. Jorde : Linkage disequilibrium as a gene-mapping tool. *American Journal of Human Genetics*, 56(1):11–14, jan. 1995. ISSN 0002-9297. URL https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1801317/. 132

R. Jussiau, J. Rigal et A. Papet : 11 - Aperçu sur la selection des porcs et des chevaux. *In Amélioration génétique des animaux d'élevage*, p. 304–331. Educagri Editions, 2013a. ISBN 978-2-84444-929-0. 136

R. Jussiau, J. Rigal et A. Papet : 7 - Estimation de la valeur génétique additive ou indexation. *In Amélioration génétique des animaux d'élevage*, p. 304–331. Educagri Editions, 2013b. ISBN 978-2-84444-929-0. 139

N. Škunca, A. Altenhoff et C. Dessimoz : Quality of Computationally Inferred Gene Ontology Annotations. *PLOS Computational Biology*, 8(5):e1002533, mai 2012. ISSN 1553-7358. URL https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002533. 134

E. S. Lander et N. J. Schork : Genetic dissection of complex traits. *Science*, 265(5181):2037–2048, sept. 1994. ISSN 0036-8075, 1095-9203. URL https://doi.org/10.1126/science.8091226. 131

C. Larzul, P. L. Roy, R. Guéblez, A. Talmant, J. Gogué, P. Sellier et G. Monin : Effect of halothane genotype (NN, Nn, nn) on growth, carcass and meat quality traits of pigs slaughtered at 95 kg or 125 kg live weight. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 114(1-6):309–320, 1997. ISSN 1439-0388. URL https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.1997.tb00516.x. 141

G. Le Mignon, Y. Blum, O. Demeure, C. Diot, E. Le Bihan-Duval, P. Le Roy et S. Lagarrigue : Apports de la génomique fonctionnelle à la cartographie fine de QTL. *INRAE Productions Animales*, 23(4):16, 2010. URL https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00729443/. tex.ids : mignonApportsGenomiqueFonctionnelle2010 number : 4. 126

P. Le Roy et J.-M. Elsen : Principes de l'utilisation des marqueurs génétiques pour la détection des gènes influençant les caractères quantitatifs. *INRA Productions Animales*, 13 (HS):211–215, 2000. URL https://hal.inrae.fr/hal-02698910. 129, 130, 131

P. Le Roy, J. Naveau, J. M. Elsen et P. Sellier : Evidence for a new major gene influencing meat quality in pigs. *Genetics Research*, 55(1):33–40, fév. 1990. ISSN 1469-5073, 0016-6723. URL https://doi.org/10.1017/S0016672300025179. 142

A. Legarra et R. L. Fernando : Linear models for joint association and linkage QTL mapping. *Genetics Selection Evolution*, 41(1):43, sept. 2009. ISSN 1297-9686. URL https://doi.org/10.1186/1297-9686-41-43. 133

S. M. Lonergan, E. Huff-Lonergan, L. J. Rowe, D. L. Kuhlers et S. B. Jungst : Selection for lean growth efficiency in Duroc pigs influences pork quality. *Journal of Animal Science*, 79(8):2075–2085, août 2001. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/2001.7982075x. 138

C. Looft, N. Reinsch, I. Rudat et E. Kalm : Mapping the porcine RN gene to chromosome 15. *Genetics Selection Evolution*, 28(5):437, déc. 1996. ISSN 1297-9686. URL https://doi.org/10.1186/1297-9686-28-5-437. 142

P. Mariani, K. Lundström, U. Gustafsson, A. C. Enfält, R. K. Juneja et L. Andersson : A major locus (RN) affecting muscle glycogen content is located on pig Chromosome 15. *Mammalian Genome*, 7(1):52–54, jan. 1996. ISSN 1432-1777. URL https://doi.org/10.1007/s003359900012. 142

I. Merour, S. Schwob, S. Hermesch et C. Larzul : Effet du génotype halothane sur les performances de croissance, qualités de carcasse et de viande. *TechniPorc*, 32(6):9–13, 2009. URL https://www.ifip.asso.fr/sites/default/files/pdf-documentations/tp6merour09.pdf. 141

T. H. Meuwissen et M. E. Goddard : Fine mapping of quantitative trait loci using linkage disequilibria with closely linked marker loci. *Genetics*, 155(1):421–430, mai 2000. ISSN 0016-6731. URL https://doi.org/10.1093/genetics/155.1.421. 133

T. H. Meuwissen et M. E. Goddard : Prediction of identity by descent probabilities from marker-haplotypes. *Genetics, selection, evolution : GSE*, 33(6):605–634, déc. 2001. ISSN 0999-193X. URL https://doi.org/10.1186/1297-9686-33-6-605. 133

Y. Miar, G. S. Plastow, S. S. Moore, G. Manafiazar, P. Charagu, R. A. Kemp, B. Van Haandel, A. E. Huisman, C. Y. Zhang, R. M. McKay, H. L. Bruce et Z. Wang : Genetic and phenotypic parameters for carcass and meat quality traits in commercial crossbred pigs. *Journal of Animal Science*, 92(7):2869–2884, juil. 2014. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/jas.2014-7685. 123, 137, 139

J. R. Mickelson, E. M. Gallant, L. A. Litterer, K. M. Johnson, W. E. Rempel et C. F. Louis : Abnormal sarcoplasmic reticulum ryanodine receptor in malignant hyperthermia. *Journal of Biological Chemistry*, 263(19):9310–9315, juil. 1988. ISSN 0021-9258, 1083-351X. URL https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)76541-7. 141

D. Milan, P. Le Roy, N. Woloszyn, J. Caritez, J. Elsen, P. Sellier et J. Gellin : The RN locus for meat quality maps to pig chromosome 15. *Genetics Selection Evolution*, 27 (2):195, mai 1995. ISSN 1297-9686. URL https://doi.org/10.1186/1297-9686-27-2-195. 142

D. Milan, N. Woloszyn, M. Yerle, P. L. Roy, M. Bonnet, J. Riquet, Y. Lahbib-Mansais, J. C. Caritez, A. Robic, P. Sellier, J. M. Elsen et J. Gellin : Accurate mapping of the "acid meat" RN gene on genetic and physical maps of pig Chromosome 15. *Mammalian Genome*, 7(1):47, jan. 1996. ISSN 1432-1777. URL https://doi.org/10.1007/s003359900011. 142

D. Milan, J.-T. Jeon, C. Looft, V. Amarger, A. Robic, M. Thelander, C. Rogel-Gaillard, S. Paul, N. Iannuccelli, L. Rask, H. Ronne, K. Lundström, N. Reinsch, J. Gellin, E. Kalm, P. L. Roy, P. Chardon et L. Andersson : A Mutation in PRKAG3 Associated with Excess Glycogen Content in Pig Skeletal Muscle. *Science*, 288(5469):1248–1251, mai 2000. ISSN 0036-8075, 1095-9203. URL https://doi.org/10.1126/science.288.5469.1248. 143

G. Monin : Abattage des porcs et qualités des carcasses et des viandes. *INRA Productions Animales*, 16(4), 2003. URL https://hal.inrae.fr/hal-02679321. 142

G. Monin et P. Sellier : Pork of low technological quality with a normal rate of muscle pH fall in the immediate post-mortem period : The case of the Hampshire breed. *Meat Science*, 13(1):49–63, jan. 1985. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/S0309-1740(85)80004-8. 142

A. M. Mullen, P. C. Stapleton, D. Corcoran, R. M. Hamill et A. White : Understanding meat quality through the application of genomic and proteomic approaches. *Meat Science*, 74(1):3–16, sept. 2006. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.015. 125, 127, 133, 134

J. Naveau : Contribution à l'étude du déterminisme génétique de la qualité de viande porcine : Héritabilité du Rendement Technologique NAPOLE. *In Journées de la Recherche Porcine en France , 18*, Paris (FR), France, 1986. URL http://www.journees-recherche-porcine.com/texte/1986/86txtGenetique/G8606.pdf. 142

P. J. O'Brien : Porcine malignant hyperthermia susceptibility : hypersensitive calcium-release mechanism of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 50(3):318–328, juil. 1986. ISSN 0830-9000. URL https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1255220/. 141

L. Ollivier, P. Sellier, G. Monin, P. Dando, P. Vernin et A. Talmant : Déterminisme génétique du syndrome d'hyperthermie maligne chez le porc de piétrain. *Annales de génétique et de sélection animale*, 7(2):159, avr. 1975. ISSN 1297-9686. URL https://doi.org/10.1186/1297-9686-7-2-159. 141

F. Pitel et J. Riquet : Les marqueurs anonymes et la détection de leur polymorphisme. *INRA Productions Animales*, 13(HS), 2000. URL https://hal.inrae.fr/hal-02694953/document. 126

B. A. Rasmusen, C. K. Beece et L. L. Christian : Halothane sensitivity and linkage of genes for H red blood cell antigens, phosphohexose isomerase (PHI) and 6-phosphogluconate dehydrogenase (6-PGD) variants in pigs*. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*, 11(2):93–107, 1980. ISSN 1365-2052. URL https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.1980.tb01499.x. 141

G. Renand, C. Larzul, E. Le Bihan-Duval et P. Le Roy : L'amélioration génétique de la qualité de la viande dans les différentes espèces : situation actuelle et perpestives à court et moyen terme. *INRA Productions Animales*, 16(3), 2003. URL https://hal.inrae.fr/hal-02679332/document. 123, 139, 142

Y. Salaün : La génétique. *In Memento de l'éleveur de porc*. ITP, 7 édn, 2013. ISBN 978-2-85969-226-1. URL https://www.ifip.asso.fr/sites/default/files/file_attach/memento_genetique.pdf. 136, 137

O. Sasson, N. Kaplan et M. Linial : Functional annotation prediction : All for one and one for all. *Protein Science : A Publication of the Protein Society*, 15(6):1557–1562, juin 2006. ISSN 0961-8368. URL https://dx.doi.org/10.1110%2Fps.062185706. 134

T. L. Scheffler et D. E. Gerrard : Mechanisms controlling pork quality development : The biochemistry controlling postmortem energy metabolism. *Meat Science*, 77(1):7–16, sept. 2007. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.04.024. 142

L. Schibler, D. Vaiman et E. Cribiu : Origine du polymorphisme de l'ADN. *INRA Productions Animales*, 13(HS):37–43, 2000. URL https://hal.inrae.fr/hal-02698563/document. 126

C. R. Schwab, T. J. Baas, K. J. Stalder et J. W. Mabry : Effect of long-term selection for increased leanness on meat and eating quality traits in Duroc swine. *Journal of Animal Science*, 84(6):1577–1583, juin 2006. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/2006.8461577x. 138

P. Sellier, J. Bouix, G. Renand et M. Molénat : Les aptitudes bouchères : croissance, efficacité alimentaire et qualité de la carcasse. *INRA Productions Animales*, p. 174–159, 1992. URL https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00896010. 142

A. Selmi, P.-B. Joly et M. Rémondet : La construction d'un « animal nouveau » : la sélection génétique entre production de savoirs, marchés et action collective. *Natures Sciences Sociétés*, 22(1):33–41, mai 2014. ISSN 1240-1307. URL https://www.cairn.info/revue-natures-sciences-societes-2014-1-page-33.html. tex.ids : selmiConstructionAnimalNouveau2014a publisher : EDP Sciences. 136

J. H. Sul, L. S. Martin et E. Eskin : Population structure in genetic studies : Confounding factors and mixed models. *PLoS Genetics*, 14(12), déc. 2018. ISSN 1553-7390. URL https://dx.doi.org/10.1371%2Fjournal.pgen.1007309. 132

M. F. W. te Pas, O. Madsen, M. P. L. Calus et M. A. Smits : The Importance of Endophenotypes to Evaluate the Relationship between Genotype and External Phenotype. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2):472, fév. 2017. URL http://doi.org/10.3390/ijms18020472. 126, 134

C. Terlouw : Stress des animaux et qualités de leurs viandes. Rôles du patrimoine génétique et de l'expérience antérieure. *INRA Productions Animales*, 15(2), 2002. URL https://hal.inrae.fr/hal-02673411/document. 141

{The Gene Ontology Consortium} : The Gene Ontology resource : enriching a GOld mine. *Nucleic Acids Research*, 49(D1):D325–D334, jan. 2021. ISSN 0305-1048. URL https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1113. 134

T. Tribout, J.-C. Caritez, J. Gogué, J. Gruand, M. Bouffaud, Y. Billon, C. Péry, H. Griffon, S. Brenot, M. H. L. Tiran, F. Bussières, P. L. Roy et J.-P. Bidanel : Estimation, par utilisation de semence congelée, du progrès génétique réalisé en France entre 1977 et 1998 dans la race porcine Large White : résultats pour quelques caractères de production et de qualité des tissus gras et maigres. *In 36ème Journées de la Recherche Porcine en France*, p. 275–282, Paris, 2004. URL http://www.journees-recherche-porcine.com/texte/2003/03txtGenetique/g0303.pdf. 138

T. Tribout, H. Garreau et J.-P. Bidanel : Paramètres génétiques de quelques caractères de qualité de laviande dans les races porcines Large White et Landrace Français. *In Journées de la Recherche Porcine, 28*, Paris, 1996. URL http://www.journees-recherche-porcine.com/texte/1996/96txtGenetique/G9605.pdf. 137, 138, 139

P. M. Visscher, R. Thompson et C. S. Haley : Confidence Intervals in Qtl Mapping by Bootstrapping. *Genetics*, 143(2):1013–1020, juin 1996. ISSN 0016-6731. URL https://doi.org/10.1093/genetics/143.2.1013. 130

D. Xavier, B. Crespo et R. Fuentes-Fernández : A rule-based expert system for inferring functional annotation. *Applied Soft Computing*, 35:373–385, oct. 2015. ISSN 1568-4946. URL https://doi.org/10.1016/j.asoc.2015.05.055. 134

F. Ytournel, H. Gilbert et D. Boichard : Comment affiner la localisation d'un QTL ? *INRA Productions Animales*, 2008. URL https://www6.inrae.fr/productions-animales/2008-Volume-21/Numero-2-2008/Comment-affiner-la-localisation-d-un-QTL. 127, 129, 130

M. Zhu et S. Zhao : Candidate Gene Identification Approach : Progress and Challenges. *International Journal of Biological Sciences*, p. 420–427, 2007. ISSN 1449-2288. URL http://doi.org/10.7150/ijbs.3.420. 133, 134

Deuxième partie

Analyse du déterminisme génétique de la qualité de carcasse et de la qualité de la viande de porc dans une population de type commerciale

Table des matières

6 Objectifs des travaux et démarche de la thèse **155**

6.1 Rappel des objectifs des travaux de la thèse . . . 157

6.2 Le dispositif expérimental . . . 158

6.2.1 Les animaux . . . 158

6.2.2 Mesures des caractères . . . 158

6.2.3 Le génotypage . . . 163

6.2.4 Les données d'expression génique . . . 167

6.3 Démarche expérimentale . . . 170

Bibliographie . . . 173

7 Analyse comparative du transcriptome des muscles *semimembranosus* et *longissimus dorsi* **177**

7.1 Présentation de l'article . . . 179

7.2 The Longissimus and Semimembranosus Muscles Display Marked Differences in Their Gene Expression Profiles in Pig . . . 183

Bibliographie . . . 199

8 Analyse de la variabilité génétique des transcrits dans le muscle *longissimus dorsi* en lien avec la qualité des viandes **201**

8.1 Présentation de l'article . . . 203

8.2 Genetic variability of transcript abundance in pig skeletal muscle at slaughter : Relationships with meat quality traits . . . 205

Bibliographie . . . 217

9 Cartographie de QTL affectant la qualité des carcasses et la qualité des viandes **219**

9.1 Présentation de l'article . . . 221

8.2 Combined GWAS and LDLA approaches to improve genome-wide quantitative trait loci detection affecting carcass and meat quality traits in pig . . . 223

Bibliographie . . . 234

10 Intégration d'informations phénotypiques et expressionnelles pour mieux appréhender le déterminisme génétique de la qualité des carcasses et des viandes **237**

10.1 Présentation de l'article . . . 239

9.2 Phenotypic and expression QTL integration allows the refinement of loci associated with pig carcass and meat quality traits . . . 242
Bibliographie . . . 273

11 Discussion générale **275**
11.1 Des transcriptomes musculaires très différenciés . . . 277
11.2 L'utilisation de phénotypes intermédiaires ou endophénotypes . . . 280
11.3 La cartographie génétique de QTL . . . 281
11.4 Une meilleure connaissance des gènes impliqués . . . 284
11.5 Vers toujours plus d'information . . . 285
11.6 La difficile identification du polymorphisme causal . . . 287
Bibliographie . . . 290

Conclusion **301**

CHAPITRE 6

Objectifs des travaux et démarche de la thèse

Sommaire

6.1 Rappel des objectifs des travaux de la thèse 157
6.2 Le dispositif expérimental 158
6.2.1 Les animaux 158
6.2.2 Mesures des caractères 158
6.2.2.1 Caractères associés à la qualité des viandes 158
6.2.2.2 Caractères associés à la croissance des individus et à la composition de carcasse 159
6.2.3 Le génotypage 163
6.2.3.1 Le contrôle qualité basé sur le call rate 163
6.2.3.2 Le contrôle qualité basé sur la fréquence des allèles au marqueur 163
6.2.3.3 Le contrôle qualité basé sur l'écart à la loi de Hardy-Weinberg. 164
6.2.3.4 Le contrôle de filiation 165
6.2.3.5 Résumé des étapes de contrôles qualité et des étapes de filtration des données génétiques 165
6.2.4 Les données d'expression génique 167
6.2.4.1 La puce Agilent « GenmascqChip 15K » 167
6.2.4.2 Extraction des ARN totaux et hybridation 167
6.2.4.3 Qualité des données d'expression 167
6.3 Démarche expérimentale 170
Bibliographie 173

Figures

6.1 Procédure de qualification et de filtration des génotypes. 166
6.2 Procédure de qualification et de filtration des données d'expression géniques. 169
6.3 Représentation synthétique de la démarche expérimentale et des résultats obtenus. 172

Tableaux

6.1 Description et résumé des mesures de qualité des viandes. 161
6.2 Description et résumé des mesures de croissance et de qualité des carcasses. . 162
6.3 Résumé des étapes de filtration effectuées sur les génotypages. 165

6.1 Rappel des objectifs des travaux de la thèse

Dans la première partie de ce manuscrit, nous avons vu que la qualité des viandes est très importante tant pour le consommateur que pour l'industrie de transformation. Elle recouvre de multiples aspects parmi lesquels : la qualité technologique et la qualité sensorielle des viandes. Ces caractères dépendent d'une multitude de composantes autant environnementales, telles que la conduite d'élevage, le transport ou les conditions d'abattage, que génétiques. Les effets de ces différents facteurs ajoutés les uns aux autres génèrent une grande variabilité de ces caractères et font qu'aujourd'hui encore, malgré de nombreuses études s'intéressant aux facteurs de risque et l'identification de deux gènes majeurs, la qualité de la viande est encore décrite comme hétérogène.

Il est possible d'améliorer la qualité des viandes en optimisant les conditions d'élevage et les conditions de péri-abattage. Par ailleurs, les critères d'estimation de la qualité des viandes possédant des héritabilités allant de faible à moyenne, il est également possible d'envisager une amélioration génétique de ces caractères par la sélection des animaux reproducteurs. Cependant, du fait de leurs spécificités (mesures *post-mortem*), et comme il n'existe pas à l'heure actuelle de prédicteur fiable de la qualité de la viande mesurable *in vivo*, les qualités technologiques ou sensorielles des viandes ne peuvent bénéficier que de mesures de performances effectuées sur des collatéraux des candidats à la sélection et ne permettent pas, de fait, d'espérer une amélioration rapide de ces caractères.

L'amélioration de l'efficacité de la sélection sur ce type de caractère peut passer par l'identification de marqueurs biologiques, mesurables sur les candidats à la sélection, permettant de prédire les performances propres des candidats et ainsi d'augmenter la précision de la valeur génétique de ceux-ci au regard de la qualité de la viande. Une autre possibilité pour améliorer la sélection de ce type de caractère repose sur l'identification de *loci* impactant la variabilité des caractères. Lorsque de tels *loci* sont identifiés, ils rendent possible la sélection des reproducteurs par simple typage génétique des animaux. L'identification et l'utilisation de tels *loci* en sélection permettrait, en théorie, un gain de progrès génétique substantiel. Le contrôle ou la fixation de génotypes favorables à des gènes influençant fortement la qualité de la viande (gènes majeurs ou QTL), ou l'identification de nouveaux prédicteurs de la qualité des viandes, pourraient permettre d'améliorer notablement la réponse à la sélection et donc de diminuer la variabilité des caractéristiques qualitatives de la viande.

De nombreuses études ont permis d'identifier un grand nombre de régions du génome ayant un impact sur les caractères associés à la qualité des viandes (couleur, pH, perte en eau, force de cisaillement...). Cependant, la détection du polymorphisme causal de l'effet observé reste un problème majeur du fait de la taille des QTL détectés qui comportent plusieurs centaines de gènes. Les outils de post-génomique offrent la possibilité d'accéder à une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires à l'origine du développement des caractères. L'utilisation conjointe de données phénotypiques et d'expression génique devrait ainsi permettre de préciser le caractère et par là même d'affiner la position de la région d'intérêt.

L'objectif des travaux menés et présentés dans le cadre de cette thèse vise à mieux appréhender les processus biologiques conduisant à la variabilité des facteurs de qualité de la viande de porc. Ces travaux s'appuient sur une approche combinée de détection de QTL phénotypiques (QTL) basée sur des mesures physico-chimiques associées à la qualité des viandes et de QTL d'expression (eQTL) basée sur des données d'expressions géniques issues de l'analyse du transcriptome de deux muscles majeurs pour la valorisation de la carcasse du porc : le muscle *longissimus dorsi* qui représente la longe et les produits vendus en découpe de viande fraîche ; le muscle *semimembranosus* qui représente les viandes cuites transformées (jambon de Paris).

6.2 Le dispositif expérimental

6.2.1 Les animaux

Le dispositif expérimental sur lequel s'appuient ces travaux a été généré dans le cadre du programme de recherche ANR GENMASCQ (https://anr.fr/Projet-ANR-06-PNRA-0025). Les analyses ont été réalisées sur un sous-groupe de 457 individus (mâles castrés et femelles) représentant six familles issues d'un large dispositif F2 constitué à partir de deux lignées mâles de France Hybrides : les lignées FH016 de type Piétrain et FH019 lignée synthétique de type Hampshire, Duroc et Large White. Concrètement, la génération grand parentale (F0) est constituée de six mâles de la lignée FH016 et huit femelles de la lignée FH019. La génération parentale constituée de six mâles et 20 femelles F1 a permis de produire 457 individus (F2) issus du croisement d'un mâle F1 avec deux à 5 truies F1 pleines sœurs. L'ensemble des individus F2 considérés dans ces travaux ont été génotypés rn+rn+ et NN, donc non-porteurs des allèles défavorables aux gènes « RN » et « HAL ». Les animaux ont été élevés dans un élevage de sélection de la société France Hybrides situé à Sichamps (Nièvre) et abattus à un poids de 110 kg dans l'abattoir commercial ORLEANS Viandes (Fleury-les-Aubrais, France) suivant les procédures standards. Les demi-carcasses ont ensuite été refroidies à -12 °C pendant 4 heures puis conservées à 3 °C.

Les animaux de ce dispositif ayant été produits dans un contexte commercial de production de viande, il a été considéré qu'ils ne relevaient pas de la législation encadrant l'expérimentation animale telle que définie dans la directive européenne 2010/63 (Parlement et Conseil européen, 2010), mais de la législation et des règles se rapportant à la production commerciale de viande. De ce fait, aucune demande préalable d'autorisation pour une expérimentation n'a été effectuée.

6.2.2 Mesures des caractères

L'objectif des travaux étant lié à la qualité des viandes dans le cadre d'une population commerciale de porcs charcutiers, les caractères associés à la croissance des animaux, à la qualité de leur carcasse, ainsi qu'aux qualités technologiques et sensorielles de la viande ont été mesurés. L'ensemble des caractères étudiés au cours de ces travaux ont été nommés conformément aux recommandations parues dans « Standard genetic nomenclature of the pig, with glossaries. In The Genetics of the pig » (Hu *et al.*, 2011).

6.2.2.1 Caractères associés à la qualité des viandes

Les longes de chaque demi-carcasse ont été découpées 36 heures après la mort des animaux pour prélever un morceau contenant la 11ème et la 12ème côtes de l'animal. Ces prélèvements ont été utilisés pour réaliser les mesures physico-chimiques associées à la qualité des viandes. La première côte a été utilisée pour réaliser les mesures de couleur, de pourcentage de lipides intra-musculaire (IMF), de potentiel glycolytique (GLYPO) et de la force de cisaillement sur la viande cru (SHEAR-raw) qui reflète la tendreté de la viande avant cuisson et est exprimée en Newton. La seconde côte a été utilisée pour mesurer la perte de liquide au ressuage (DRIPL) (48 heures à 4 °C), la perte de liquide à la cuisson (COOKL) (30 minutes à 240 °C dans un four sec) et la mesure de la force de cisaillement de la viande cuite (SHEAR-cook) qui reflète cette fois la tendreté de la viande cuite. Les pertes de liquide avant et après cuisson ont été exprimées en pourcentage du poids de la pièce de viande après ressuage ou cuisson par rapport au poids initial de la pièce de viande (cf équations 6.1 - page suivante).

Les mesures de pH ont été réalisées sur les muscles LM et SM. La vitesse de chute du pH (pH45) a été réalisée 45 minutes après la mort de l'animal sur le seul muscle LM, tandis que

l'amplitude de chute du pH (pHu) réalisée 24 heures *post-mortem* a été mesurée sur les deux muscles.

$$\begin{aligned} \text{DRIPL} &= 100 * \frac{\text{Poids après stockage}}{\text{Poids avant stockage}} \\ \text{COOKL} &= 100 * \frac{\text{Poids après cuisson}}{\text{Poids avant stockage}} \end{aligned} \tag{6.1}$$

Équation 6.1 – **Rendement de ressuage (DRIPL) ou à la cuisson (COOKL).**

Les mesures de couleurs (MCOLOR-L, MCOLOR-a, MCOLOR-b) ont été effectuées sur le muscle LM et sur le muscle SM. La mesure de la couleur a été effectuée sur les noix de côtelettes deux heures après la découpe et sur la partie interne du SM 96 heures *post-mortem* après désossage du jambon.

6.2.2.2 Caractères associés à la croissance des individus et à la composition de carcasse

Le gain de poids moyen quotidien (Average Daily Gain (ADG)) des individus a été estimé sur la période 35-105 kg en prenant en compte le nombre de jours nécessaire pour atteindre le poids de 105 kg.

Le poids des pièces de découpe (longe et jambon) a été enregistré : le poids du jambon avec le pied (HW) et le poids de la longe avec les os (LOINWT). Le poids du jambon désossé (BHW) a également été enregistré. Le rendement anatomique a été calculé et est exprimé en pourcentage du poids de muscle restant après avoir enlevé les os par rapport au poids du jambon initial (HW).

Les mesures de gras dorsal (BF) ont été effectuées sur chaque individu au niveau des épaules (SHOU), de la dernière côte (LR) et des lombaires (LUMB). Ces mesures ont été effectuées suivant quatre protocoles : par échographie sur les animaux vivants à 105 kg (US) à la hauteur de la dernière côte, à l'abattoir en utilisant un appareil dédié au classement des carcasses, le Fat-O-Meter (FOM), ou à l'aide d'une sonde optique (OP) au niveau de la dernière côte et au niveau des reins et enfin en mesurant l'épaisseur à l'aide d'une règle sur la fente de la demi-carcasse (HCr) à hauteur des épaules, de la dernière côte et au niveau des reins.

La composition en muscle de la longe a été mesurée de deux façons. La surface de noix de côtelette (LMA) a été mesurée par échographie au niveau de la dernière côte ou par analyse d'image à la découpe des côtes (C), tandis que l'épaisseur du muscle (LMDEP) a été mesurée à l'aide du Fat-O-Meter au niveau de la dernière côte et des lombaires.

Enfin, l'estimation du taux de viande maigre (ECLC) a été calculée selon les équations tirées de Daumas *et al.* (1998) (cf équations 6.2 - page suivante).

$$\begin{aligned} \text{ECLC Femelles} &= 61,68 - 0,142 * \text{BF-FOM-LUMB} - 0,449 * \text{BF-FOM-LR} + \\ &\quad 0,154 * \text{LMDEP-FOM-LR} \\ \text{ECLC Mâles castrés} &= 58,15 - 0,198 * \text{BF-FOM-LUMB} - 0,570 * \text{BF-FOM-LR} + \\ &\quad 0,255 * \text{LMDEP-FOM-LR} \end{aligned} \tag{6.2}$$

Équation 6.2 – **Estimation du taux de viande maigre des carcasses.** Un effet significatif du sexe des individus sur la conformation des carcasses explique que deux équations aient été générées. Celles-ci se basent sur les mesures de l'épaisseur de gras dorsal au niveau des lombaires et de la dernière côte ainsi que sur l'épaisseur de muscle au niveau de la dernière côte (Daumas *et al.*, 1998).

Les tableaux 6.1 « Description et résumé des mesures de qualité des viandes » et 6.2 « Description et résumé des mesures de croissance et de qualité des carcasses » pages 161 - 162 résument les données enregistrées pour l'ensemble des caractères.

Abréviation	Unité	N	Moyenne	Écart-type	Caractère	Famille de caractère
GLYPO-LM	μmol/g	444	161,25	23,76	Potentiel glycolytique dans le muscle LM	Chimie
IMF-LM	%	441	2,26	0,69	Lipides intra-musculaires dans le muscle LM	Adiposité
MCOLOR-L-LM	CIE L*	441	49,64	3,14	Luminosité du muscle LM	Couleur de la viande
MCOLOR-a-LM	CIE a*	441	7,91	1,26	Composante rouge-vert de la couleur du muscle LM	Couleur de la viande
MCOLOR-b-LM	CIE b*	441	5,14	1,43	Mesure de la composante jaune-bleu de la couleur du muscle LM	Couleur de la viande
MCOLOR-L-SM	CIE L*	309	51,14	3,88	Luminosité du muscle SM	Couleur de la viande
MCOLOR-a-SM	CIE a*	336	10,52	2,3	Mesure de la composante rouge-vert de la couleur du muscle SM	Couleur de la viande
MCOLOR-b-SM	CIE b*	336	4,74	2,06	Mesure de la composante jaune-bleu de la couleur du muscle SM	Couleur de la viande
pH-LM-45	unité pH	445	6,55	0,24	pH dans le muscle LM mesuré 45 minutes *post-mortem*	pH
pH-LM-24	unité pH	444	5,69	0,18	pH dans le muscle LM mesuré 24 heures *post-mortem*	pH
pH-SM-24	unité pH	444	5,76	0,18	pH dans le muscle SM mesuré 24 heures *post-mortem*	pH
DRIPL-LM	%	438	98,45	1	Rendement de ressuage du muscle LM	Texture
COOKL-LM	%	436	72,48	4,21	Rendement à la cuisson du muscle LM	Texture
SHEAR-raw-LM	N	407	35,77	6,48	Force de cisaillement du muscle LM cru	Texture
SHEAR-cook-LM	N	388	34,3	5,09	Force de cisaillement du muscle LM cuit	Texture

Tableau 6.1 – **Description et résumé des mesures de qualité des viandes.** La famille de caractère a été assigné conformément à la nomenclature utilisée dans la « Pig QTL database » (https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/SS/index)

Abréviation	Unité	N	Moyenne	Écart-type	Caractère	Famille de caractère
ADG	g/j	448	1056,25	133,74	Gain de poids moyen quotidien (GMQ)	Croissance
HW	kg	448	12,62	1,14	Poids du jambon avec le pied	Anatomie
BHW	%	359	61,7	4,6	Rendement anatomique	Anatomie
LOINWT	kg	444	10,34	1,04	Poids de la longe avec os	Anatomie
LMA-US-LR	cm^2	416	43,72	5,65	Surface de noix de côtelette par échographie	Anatomie
LMA-C	cm^2	437	55,32	6,51	Surface de noix de côtelette par analyse d'image.	Anatomie
LMDEP-FOM-LR	mm	447	57,57	5,1	Épaisseur de muscle de la longe mesurée à l'aide du Fat-O-Meter au niveau de la dernière côte	Anatomie
LMDEP-FOM-LUMB	mm	446	69,48	5,63	Épaisseur de muscle de la longe mesurée à l'aide du Fat-O-Meter au niveau des lombaires	Anatomie
ECLC	%	448	61,5	2,43	Estimation du taux de viande maigre	Anatomie
BF-FOM-LR	mm	447	14,27	3,13	Épaisseur de gras dorsal mesurée à l'aide du Fat-O-Meter au niveau de la dernière côte	Adiposité
BF-FOM-LUMB	mm	446	16,38	3,35	Épaisseur de gras dorsal mesurée à l'aide du Fat-O-Meter au niveau des lombaires	Adiposité
BF-HCr-LR	mm	449	19,01	3,67	Épaisseur de gras dorsal mesurée à l'aide d'une règle sur la fente de la demi-carcasse au niveau de la dernière côte	Adiposité
BF-HCr-LUMB	mm	449	25,9	4,17	Épaisseur de gras dorsal mesurée à l'aide d'une règle sur la fente de la demi-carcasse au niveau des lombaires	Adiposité
BF-HCr-SHOU	mm	449	35,88	6,4	Épaisseur de gras dorsal mesurée à l'aide d'une règle sur la fente de la demi-carcasse au niveau des épaules	Adiposité
BF-OP-LR	mm	434	16,24	4,21	Épaisseur de gras dorsal mesurée avec une sonde optique au niveau de la dernière côte	Adiposité
BF-OP-LUMB	mm	434	19,4	4,61	Épaisseur de gras dorsal mesurée avec une sonde optique au niveau des lombaires	Adiposité
BF-OP-SHOU	mm	362	34,83	8,25	Épaisseur de gras dorsal mesurée avec une sonde optique au niveau des épaules	Adiposité
BF-US-LR	mm	414	14,43	3,19	Épaisseur de gras dorsal mesurée par échographie au niveau de la dernière côte	Adiposité

TABLEAU 6.2 – **Description et résumé des mesures de croissance et de qualité des carcasses.** La famille de caractère a été assigné conformément à la nomenclature utilisée dans la « Pig QTL database » (https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/SS/index)

6.2.3 Le génotypage

Le génotypage des 497 individus (14 grands-parents, 26 parents et 457 descendants) a été obtenu avec la puce Illumina PorcineSNP60 BeadChip (Ramos *et al.*, 2009) sur la plateforme LABOGENA à Jouy-en Josas. Les 64 232 SNP marqueurs contenus sur la puce ont été localisés sur le génome en se basant sur la version 10.2 de l'assemblage du génome porcin.

Les contrôles de qualité des génotypes et leur filtration ont été effectués à l'aide du logiciel « PLINK whole genome association analysis toolset » (version 1.07 ; `http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/`) (Purcell *et al.*, 2007). Ils ont pour objectif d'identifier les erreurs de génotypage et ainsi de garantir que l'information génétique utilisée dans le cadre des analyses de liaison ou d'association soit fiable. Au-delà de l'obtention d'un génotypage fiable, la filtration des données a également pour objectif de garantir l'utilisation de données génétiques suffisamment informative pour permettre des analyses de liaisons ou d'associations. En d'autres termes, il s'agit de s'assurer de l'utilisation de marqueurs polymorphes et de transmissions mendéliennes afin de pouvoir suivre la transmission des haplotypes d'une génération à l'autre dans le cas des analyses de liaison.

La qualité des données de génotypage a été estimée au travers du « call rate », c'est-à-dire du taux d'assignation d'un génotype à un individu ou à un marqueur (fiabilité technique du génotypage), de la fréquence des allèles portés par les marqueurs (marqueurs polymorphes) et de l'écart à la loi de Hardy-Weinberg (HWE) (transmission mendélienne).

6.2.3.1 Le contrôle qualité basé sur le call rate

Ce contrôle qui s'effectue sur des individus ou des marqueurs permet d'identifier les problèmes dit « techniques » inhérents à l'approche des puces de génotypage qui impliquent une hybridation de l'ADN sur une sonde spécifique du marqueur à génotper.

L'observation du call rate des individus permet d'identifier des échantillons d'ADN dont la qualité est insuffisante. L'utilisation d'un ADN de qualité médiocre et partiellement dégradé génère un risque d'absence d'appariement ou de mésappariement lors de la phase d'hybridation entre la sonde placée sur la puce de génotypage et l'ADN, engendrant de fait une absence de génotype au marqueur correspondant à la sonde ou, plus grave, une assignation de génotype erronée.

Le call rate au niveau des marqueurs permet, quant à lui, d'identifier d'éventuels problèmes techniques au niveau de la puce. Ce serait le cas par exemple d'un marqueur dont la séquence de l'oligo permettant l'hybridation de l'ADN serait insuffisamment spécifique au regard de la race ou de la lignée d'animaux que l'on souhaite génotyper. La conséquence en serait, comme dans le cas d'un ADN dégradé, un risque de mésappariement lors de la phase d'hybridation, d'où une difficulté à assigner un génotype à ce marqueur pour les individus considérés et donc une absence de génotype ou un génotypage non-fiable.

Pour faire face à ces risques techniques, dus à la qualité des ADN ou au design des sondes oligo permettant le génotypage des marqueurs, les seuils de call rate pour les individus et pour les marqueurs ont été fixés à 95 %. Ainsi, tous les individus ou marqueurs dont le taux de génotypes manquants est supérieur à 5 % sont considérés comme techniquement défaillants. L'ensemble des génotypes assignés à ces individus ou fournis par ces marqueurs ne seront donc pas pris en compte dans les analyses.

6.2.3.2 Le contrôle qualité basé sur la fréquence des allèles au marqueur

La filtration des marqueurs sur la base de la fréquence de l'allèle minoritaire (Minor Allele Frequency (MAF)) poursuit deux objectifs : s'assurer de l'utilisation de marqueurs polymorphes et limiter le risque d'erreur d'assignation d'un génotype.

La sélection de marqueurs en fonction de leur MAF permet d'écarter les marqueurs non-polymorphes (MAF=0), c'est-à-dire les marqueurs dont un allèle est fixé dans la population étudiée, ou faiblement polymorphes (allèles rares ou en voit de fixations dans la population étudiée) qui par conséquent ne pourront pas apporter d'information sur la ségrégation d'un QTL.

Par ailleurs, les algorithmes qui permettent le traitement du signal et l'assignation d'un génotype sont basés sur la capacité de ceux-ci à distinguer des groupes de génotypes (homozygote AA, hétérozygote AB, ou homozygote BB) en se basant sur l'intensité d'un signal lumineux. Cependant, l'identification de tels groupes n'est fiable que lorsque le nombre d'individus au sein de chaque groupe est suffisant. Dans le cas des allèles rares, le nombre d'individus disponibles pour constituer ces groupes et distinguer les génotypes entre eux est particulièrement déséquilibré. Il est alors difficile d'identifier un groupe de points correspondant aux signaux générés par le peu d'individus porteurs de l'allèle rare, qu'ils soient homozygotes ou hétérozygotes. En d'autres termes, il est difficile de définir un groupe constitué d'une seule observation. De ce fait, les génotypes assignés pour des marqueurs dont la MAF est faible sont plus souvent sujet à une erreur d'assignation de génotype. Cette difficulté est bien évidemment dépendante du nombre d'individus génotypés. Un grand nombre d'individus génotypés permet d'augmenter le nombre d'observations de l'allèle rare et permet donc à l'algorithme de génotypage de distinguer correctement les différents génotypes.

Pour limiter les risques inhérents aux erreurs de génotypage ou au manque d'informativité des marqueurs, les marqueurs dont la MAF est inférieure à 5 % ne sont pas considérés comme fiables ou suffisamment informatifs et de ce fait ont été écartés des analyses réalisées.

6.2.3.3 Le contrôle qualité basé sur l'écart à la loi de Hardy-Weinberg.

La loi de Hardy-Weinberg stipule qu'au sein d'une population suffisamment grande, non-soumise à la sélection (panmixie) et en absence de mutation ou de migration, il y a un équilibre des fréquences alléliques et génotypiques d'une génération à l'autre. Ces fréquences étant stables, les fréquences génotypiques peuvent être prédites à partir des fréquences alléliques, de telle sorte que si l'on note « p » la fréquence de l'allèle A1 d'un *locus* A et « q » la fréquence de l'allèle A2 de ce même locus, on ait :

- freq(A1A1)= p^2
- freq(A1A2)=2pq
- freq(A2A2)=q^2

Il est ainsi possible à partir des génotypes observés de calculer la fréquence des allèles au marqueur et de calculer les fréquences des génotypes attendus. La comparaison, au travers d'un test de χ^2, des fréquences des génotypes observés et des fréquences des génotypes attendus permet alors d'identifier les marqueurs ne respectant pas HWE.

Dans le cadre de nos analyses, les populations que nous étudions ne répondent pas à toutes les spécifications de la loi de Hardy-Weinberg, puisque nous étudions des populations en sélections. Cependant, nos analyses reposent sur l'utilisation d'un grand nombre de marqueurs *a priori* neutre et à transmissions mendéliennes, donc répondant à la loi de Hardy-Weinberg. La filtration des marqueurs sur la base de l'équilibre de Hardy-Weinberg a donc pour objectif d'écarter des analyses les marqueurs ne répondant pas à ces spécifications.

Par ailleurs, l'écart à l'équilibre de Hardy-Weinberg peut également résulter d'une erreur d'assignation de génotype (gain d'hétérozygotie par exemple : assignation d'un génotype hétérozygote à la place d'un génotype homozygote). L'écart à HWE permet ainsi d'identifier des marqueurs pour lesquels il existe une suspicion d'erreur de génotypage important.

6.2.3.4 Le contrôle de filiation

Enfin, les analyses effectuées reposant sur la connaissance du pedigree des animaux, un contrôle de compatibilité entre les génotypes des individus et de leurs parents a été effectué. Un seuil de 2 % d'incompatibilité génotypique a été retenu afin de détecter les incohérences relatives au pedigree des individus. Les individus F2 présentant une incompatibilité génotypique avec leurs parents présumés ont été écartés des analyses génétiques.

6.2.3.5 Résumé des étapes de contrôles qualité et des étapes de filtration des données génétiques

Les étapes successives de filtration des génotypages sont résumées dans le logigramme présenté dans la figure 6.1 « Procédure de qualification et de filtration des génotypes » page suivante.

Les individus possédant un call rate inférieur ou égal à 95 % ont tout d'abord été supprimés du jeu de données. Ainsi, 26 individus (6 grands-parents, 15 parents et 5 descendants) possédant une qualité d'ADN insuffisante ont été écartés des analyses. Suite à cette première étape, les SNP ont été filtrés en fonction de leur call rate ($\leq$ 95 %), de leur MAF (<0,05) et de leur écart à HWE (p<0.05). Ce processus de filtration a été répété jusqu'à stabilisation du jeu de données. Lorsque les données de génotypage ont été stables, une dernière étape a consisté à ne conserver dans le jeu de données que les marqueurs pour lesquels une localisation chromosomique a pu être obtenue. Le tableau 6.3 « Résumé des étapes de filtration effectuées sur les génotypages », ci-dessous, résume les résultats des différentes étapes de la filtration des données. Finalement, cinq individus de la génération F2 possédant une incompatibilité génétique avec leurs parents présumés ont également été écartés des analyses génétiques.

Au final, après l'ensemble de ces contrôles qualité et étapes de filtration, 40 330 marqueurs répartis sur les 18 autosomes et le chromosome X ont été conservés pour 468 individus correspondant à 449 descendants (F2), 11 parents (F1) et 8 grand-parents (F0).

Illumina PorcineSNP60 BeadChip	64232 SNP
SNP call rate ($\leq$ 95 %)	6306 SNP (9,8 %)
MAF (<0,05)	11 976 SNP (18,6 %)
HWE (p<0,05)	3631 SNP (5,7 %)
Marqueur non-localisés	1989 SNP (3,1 %)
Marqueurs conservés	40 330 SNP (62,8 %)
Espacement moyen	64 kb
Couverture du génome	2,5 Gb (92 % du génome version 10.2)

TABLEAU 6.3 – **Résumé des étapes de filtration effectuées sur les génotypages.** Les marqueurs ont été localisés sur la version 10.2 de l'assemblage du génome porcin.

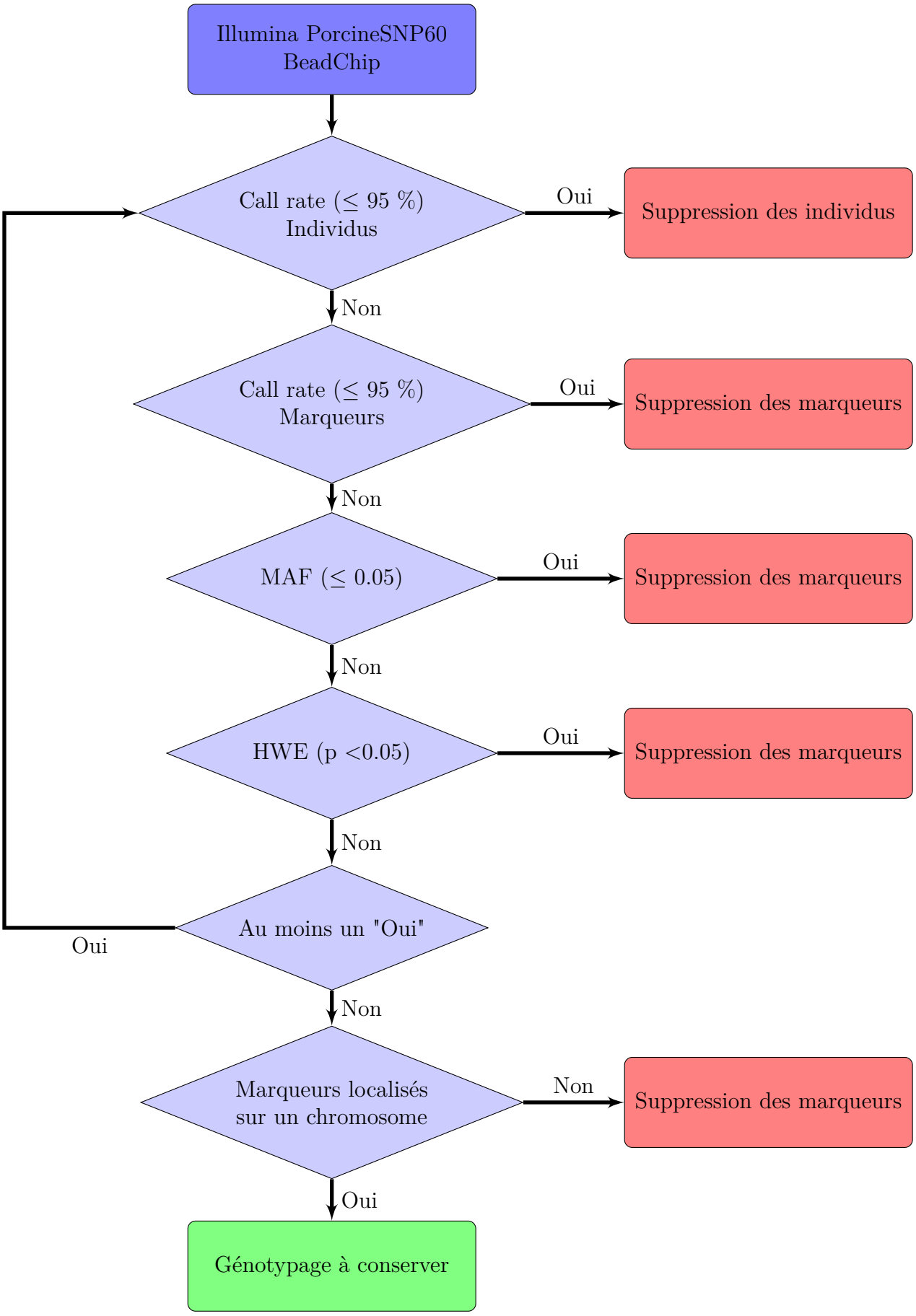


FIGURE 6.1 – **Procédure de qualification et de filtration des génotypes.**

6.2.4 Les données d'expression génique

Les données d'expression génique ont été obtenues par hybridation d'ARN de muscle LM (n=325) et de muscle SM (n=112) sur une puce Agilent ADNc. Cette puce « GenmascqChip 15K » est constituée de 15198 sondes spécifiquement exprimées dans le tissu musculaire (Damon *et al.*, 2011). Les prélèvements musculaires utilisés proviennent d'individus issus de quatre familles pour les échantillons LM et de deux familles pour les échantillons SM.

6.2.4.1 La puce Agilent « GenmascqChip 15K »

La puce Agilent « GenmascqChip 15K » qui contient 15198 sondes exprimées dans le muscle a été confectionnée avant la publication de la première séquence du génome porcin par le Swine Genome Sequencing Consortium en 2012 (Groenen *et al.*, 2012). Une première puce de 43 803 sondes, basée sur environ 30 000 séquences consensus correspondant à une douzaine de banques d'EST de muscle, a tout d'abord été réalisée. Après hybridation de cette puce avec des échantillons variés d'ARN de muscle, une sous-sélection de 15 198 sondes significativement exprimées dans le muscle a été retenue pour réaliser la puce Agilent « GenmascqChip 15K ». Parmi ces 15 198 sondes, 12 939 (85 %) ont été annotées par 9 169 gènes uniques (Damon *et al.*, 2011). Une description complète de cette puce est accessible sur le site « Gene Expression Omnibus » (GEO) (`http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/`) sous le numéro d'accession GPL11445.

6.2.4.2 Extraction des ARN totaux et hybridation

Les prélèvements de muscle ont été réalisés 20 minutes *post-mortem* et immédiatement congelés dans l'azote liquide. Afin de minimiser la variabilité engendrée par des modifications du site de prélèvement, les biopsies ont été réalisées par un seul manipulateur à l'aide d'un trocart manuel dans la région superficielle du muscle.

Les ARN totaux ont été extraits dans du Trizol (Invitrogen) et purifiés à l'aide du kit Nucleospin RNA II Kit (Macherey-Nagel). La quantité d'ARN totaux a été mesurée avec un NanoDrop ND-1000 spectrophotometer (Thermo Scientific) et la qualité et l'intégrité des ARN contrôlées avec un Bioanalyzer 2100 et le kit Agilent RNA 6000 Nano (Agilent Technologies France). La mesure de la qualité de l'ARN total a été effectuée à l'aide du RNA integrity number (RIN). L'ensemble des échantillons s'est avéré être de bonne qualité (RIN >8).

Chaque échantillon d'ARN totaux a ensuite été rétro-transcrit en ADNc, transcrit en ARN complémentaire (ARNc) marqué à la cyanine 3 avec le kit Low RNA Input Linear Amplification Kit PLUS, One-Color (Agilent Technologies France). Les cibles ainsi marquées ont ensuite été hybridées sur les puces oligo ADNc. Les images d'hybridation ont ensuite été acquises sur le scanner Agilent DNA Microarray Scanner G2505B avec une résolution de 5 μm et les données d'expression extraites avec le logiciel Agilent Feature Extraction Software (Version 9.5) en utilisant la procedure GE2-v5_95_Feb07 FE. L'ensemble des données d'expression ont ensuite été déposées dans un format répondant aux recommandations MIAME sur le site « Gene Expression Omnibus » (GEO) (`http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/`) sous les numéros d'accession GSE33957, GSE145892 et GSE145893.

6.2.4.3 Qualité des données d'expression

L'ensemble des étapes de filtration et de préparation des données d'expression a été réalisé sous R au sein de chaque type musculaire (R Core Team, 2015).

La qualité des données d'expression a été estimée au regard de l'intensité, de l'uniformité et de la saturation du signal obtenu suite à l'hybridation des cibles d'ARNc sur les sondes oligo ADNc de la puce. Pour chaque sonde, la qualité du signal a été qualifiée de bonne en fonction des étiquettes de qualité données à chacune d'elles par le logiciel d'extraction de données :

signal convenablement localisé, intensité du signal positive, intensité au-dessus du bruit de fond, signal uniforme et signal non-saturé. La filtration des données a été effectuée séparément pour les muscles LM et SM. Les sondes pour lesquelles plus de 50 % des données obtenues pour un type de muscle étaient qualifiées de mauvaises qualités n'ont pas été conservées par la suite.

Après transformation logarithmique (logarithme naturel) et centrage (soustraction de la médiane pour chaque échantillon) des intensités brutes, tout signal dont l'intensité normalisée s'écartait de plus de trois écart-types de la moyenne des signaux pour la sonde considérée a été classé comme signal aberrant et noté en donnée absente. Suite à cette étape d'identification de données aberrantes, une nouvelle étape de filtration des données a été appliquée. Au cours de cette deuxième filtration, l'ensemble des sondes pour lesquelles plus de 50 % des signaux étaient soit de mauvaise qualité (faible intensité, non-uniforme, saturé) soit considérés comme données aberrantes ont été supprimées du jeu de données.

Enfin, afin d'augmenter la robustesse des analyses (Hackstadt et Hess, 2009), les sondes ont été classées en fonction de la variance des données d'expressions les concernant en utilisant une classification par k-means (k=3) et les sondes appartenant au groupe de faible variance ont également été supprimées du jeu de données.

Les étapes successives de filtration des données d'expression génique sont résumées dans le logigramme présenté dans la figure 6.2 « Procédure de qualification et de filtration des données d'expression géniques » page suivante.

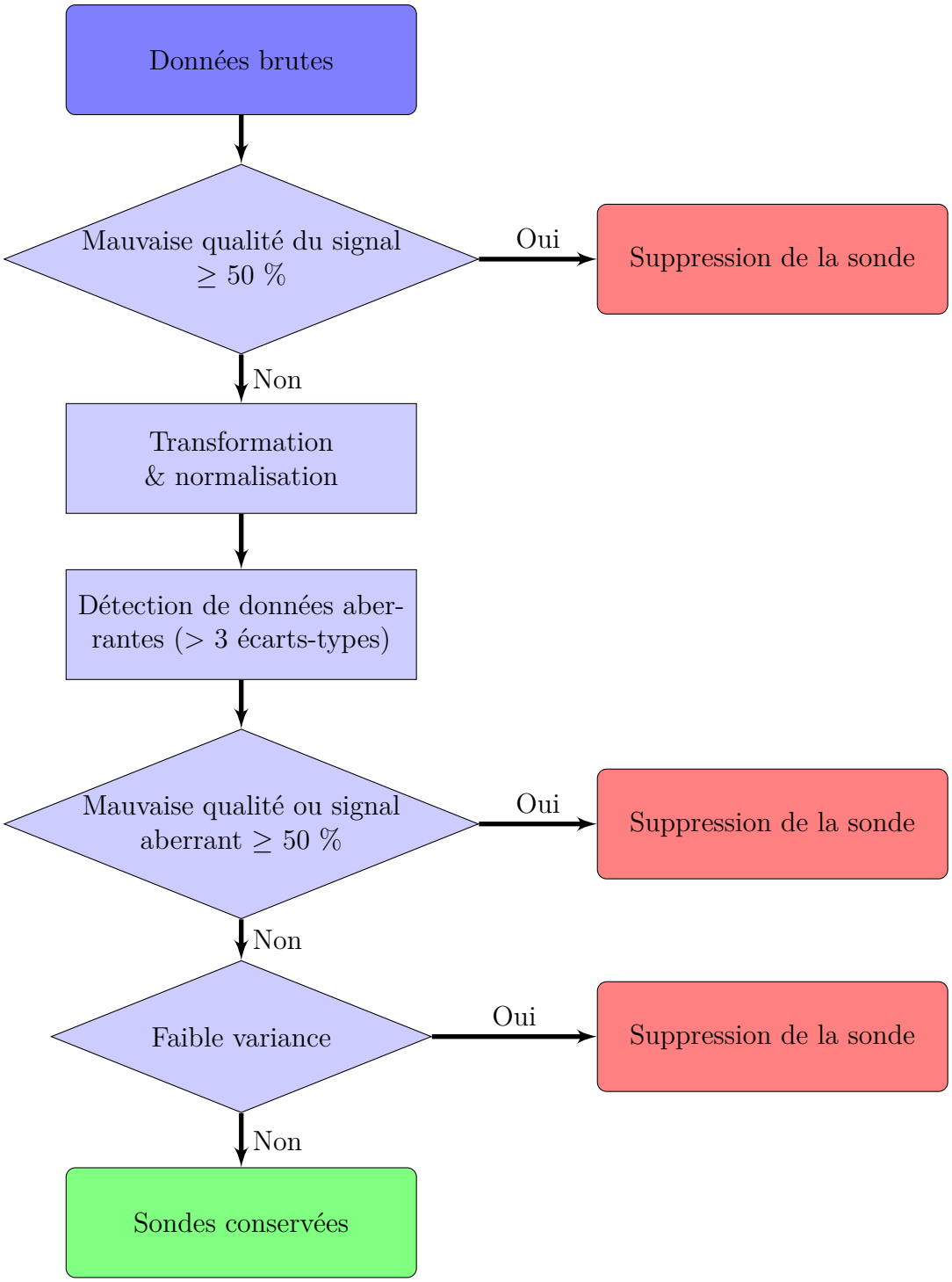


FIGURE 6.2 – **Procédure de qualification et de filtration des données d'expressions géniques.**

6.3 Démarche expérimentale

Les travaux présentés se sont appuyés sur des approches de détection de QTL en lien avec la qualité des viandes de porc ainsi que sur des analyses des données d'expression génique correspondant à deux muscles représentant les principales filières de débouché pour la viande de porc avec, d'une part le muscle *semimembranosus* (SM) représentant la filière des produits transformés cuits ou sec dont le principal produit est le jambon et d'autre part, le muscle *longissimus dorsi* (LM) représentant la filière des produits frais.

Caractérisation du transcriptome musculaire des muscles *semimembranosus* et *longissimus dorsi*. La première partie de ce travail s'est intéressée à la caractérisation et à la comparaison du transcriptome des muscles SM et LM au travers de l'analyse des données d'expression génique obtenues à l'aide de la puce Agilent « GenmascqChip 15K ».

Ce travail a permis de mettre en exergue des différences notables d'expression génique entre ces deux muscles considérés comme métaboliquement proches et pour lesquels les attentes qualitatives diffèrent. Ces premiers travaux ont fait l'objet de diverses communications :

- Un article décrivant l'annotation de la puce GenmascqChip 15 : « Characterization of a pig skeletal muscle microarray to study pork quality : the GenmascqChip 15K » (Damon *et al.*, 2011) ;
- Une présentation sur l'intérêt des approches se basant sur les analyses sémantiques pour la caractérisation fonctionnelle de groupes de gènes à l'école chercheur en biologie intégrative et génomique dans le grand ouest : « Caractérisation et comparaison fonctionnelle de listes de gènes : apport de la sémantique » (Herault *et al.*, 2011) ;
- Une communication au 64ème congrès de l'EAAP (Herault *et al.*, 2013b) et un article paru dans Plos One traitant de la comparaison des transcriptomes musculaires des muscles *longissimus* et *semimembranosus* : **« The Longissimus and Semimembranosus Muscles Display Marked Differences in Their Gene Expression Profiles in Pig »** (Hérault *et al.*, 2014).

Analyse génétique de la variabilité du niveau d'expression génique dans le muscle. Faute de mesures réalisables sur les candidats à la sélection, l'évaluation de la valeur génétique des candidats à la sélection pour les caractères de qualité des viandes se fait à partir de mesures effectuées sur des collatéraux. La précision de ces évaluations et de ce fait faible.

L'analyse de la variabilité génétique des niveaux d'expression des gènes dans le LM a permis de montrer que la majorité des transcrits analysés ont un niveau d'expression héritable et qu'un grand nombre est génétiquement corrélés à des caractères de qualité des viandes. Ces observations permettent d'envisager la possibilité d'utiliser les mesures d'expression génique en sélection pour accroître la précision des évaluations des valeurs génétiques des candidats. Celle-ci pouvant même être grandement améliorée puisqu'elle pourrait alors porter sur les candidats eux-mêmes et non plus sur des collatéraux. Cette étude a fait l'objet d'une communication aux 43èmes journées de la recherche porcine en 2011 (Cherel *et al.*, 2011) et d'un article dans Journal of Animal Science : **« Genetic variability of transcript abundance in pig skeletal muscle at slaughter : Relationships with meat quality traits »** (Cherel *et al.*, 2012).

Analyse génétique des caractères de qualité des carcasses et de qualité de la viande de porc. La dernière partie des travaux présentés s'est attachée à étudier le déterminisme génétique des caractères liés à la croissance des animaux, la qualité des carcasses et la qualité de la viande de porc.

Dans un premier temps, ce travail s'est appuyé sur des données de génotypage issue de la puce Illumina PorcineSNP60 BeadChip obtenues sur l'ensemble des individus du dispositif et des données de phénotypage obtenues sur les 457 individus F2 du dispositif. Afin de réaliser cette analyse, les approches LDLA et GWAS ont été utilisées de manière conjointe afin d'obtenir un panorama plus complet des régions du génome gouvernant les caractères de qualité des carcasses et de qualité des viandes.

Ce travail a permis d'identifier 32 QTL dont 10 correspondant à de nouveaux *loci*. Par ailleurs, le faible nombre de QTL détectés en commun par les deux approches permet de mettre en évidence l'intérêt de combiner plusieurs approches dans l'analyse du déterminisme génétique des caractères complexes. Enfin, bien que les mesures de pH et de couleurs aient été effectuées sur les deux muscles, aucun QTL commun n'a pu être identifié ce qui laisse suggérer l'existence d'une régulation différenciée des déterminants génétiques contrôlant la mise en place des caractères de qualité des viandes dans ces deux muscles. Ces analyses ont fait l'objet d'une communication au 64ème congrès de l'EAAP (Herault *et al.*, 2013a) et d'un article intitulé **« Combined GWAS and LDLA approaches to improve genome-wide quantitative trait loci detection affecting carcass and meat quality traits in pig »** paru dans Meat Science (Hérault *et al.*, 2018).

Dans un deuxième temps, les données d'expression génique ont été utilisées afin d'identifier des QTL d'expression (eQTL). Cette approche a pour objectif l'identification de régions communes impactant le niveau d'expression de gènes et le caractère d'intérêt créant un lien entre les deux. Ainsi, la co-localisation de QTL phénotypiques et de eQTL a pour objectif d'affiner la localisation des QTL et d'explorer les réseaux de régulations géniques contribuant à l'élaboration des phénotypes complexes en mettant en exergue un lien entre le fonctionnement cellulaire et le caractère. Ces analyses offrent la possibilité d'accéder à une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires sous-jacents aux caractères.

L'utilisation des données d'expression dans le cadre de l'analyse génétique de la qualité des carcasses et de la qualité des viandes a permis, d'une part d'affiner la localisation des QTL phénotypiques précédemment détectés, et d'autre part de mettre en exergue le rôle potentiel de gènes impliqués dans le développement musculaire, les processus adipogéniques et l'homéostasie calcique, dans le développement de ces caractères. Par ailleurs, l'analyse des gènes présents dans ces régions de co-localisation eQTL/QTL a permis de souligner le rôle potentiel du gène RB1 dans la régulation de l'épaisseur musculaire de la longe et la possible implication d'ARN longs non-codants (lncRNA) dans les processus de régulation de l'expression des gènes et *in fine* dans la mise en place des phénotypes complexes de qualité des viandes et des carcasses. Ces résultats ont fait l'objet d'un article intitulé **« Phenotypic and expression QTL integration allows the refinement of loci associated with pig carcass and meat quality traits »** soumis en août 2021 à la revue BMC Genomics (Hérault *et al.*).

La démarche expérimentale ainsi que les principaux résultats obtenus sont résumé dans la figure 6.3 « Représentation synthétique de la démarche expérimentale et des résultats obtenus » - page suivante.

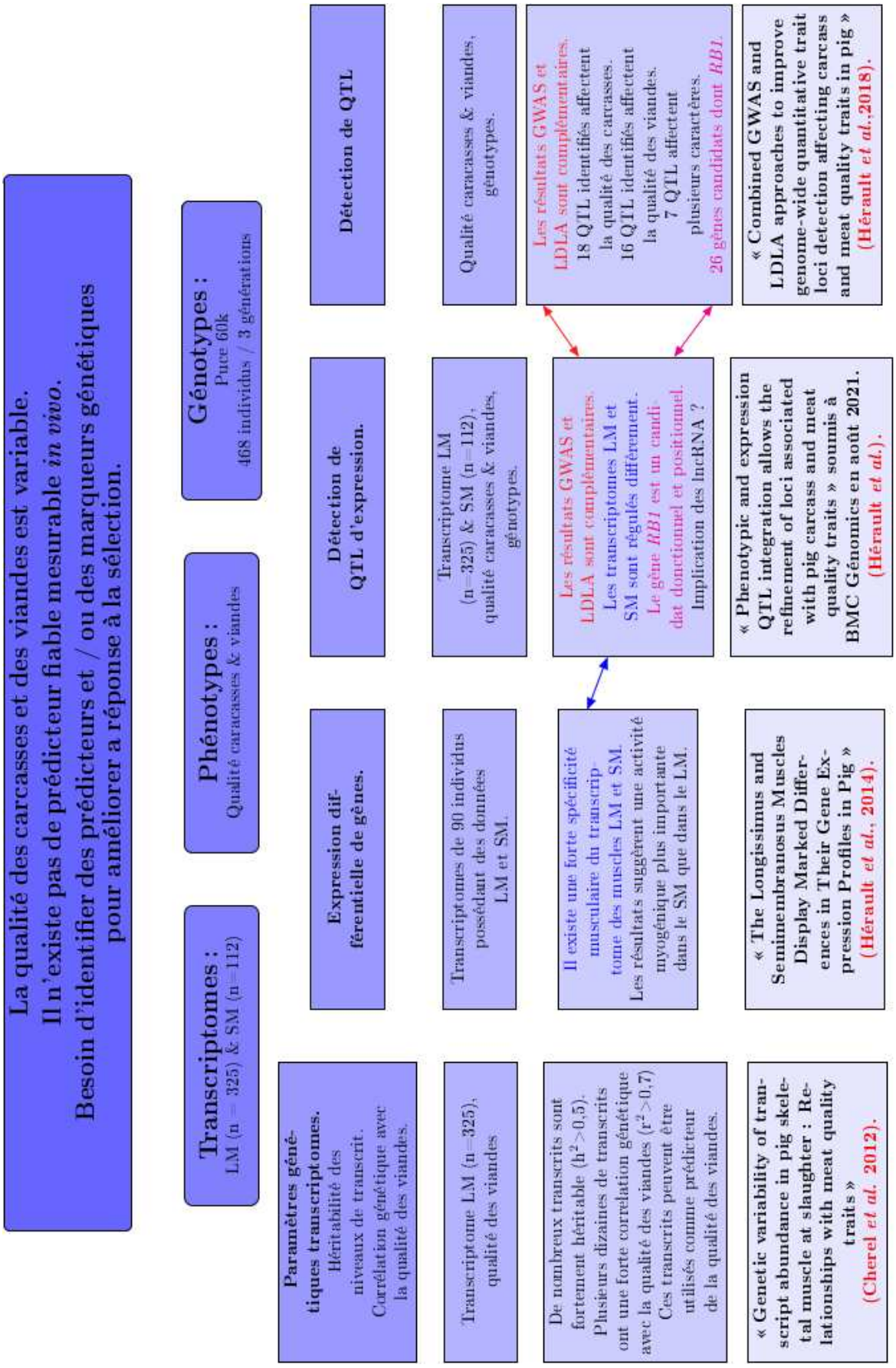


FIGURE 6.3 – **Représentation synthétique de la démarche expérimentale et des résultats obtenus.** Les flèches de couleurs ainsi que les textes de couleurs indiquent des résultats concordant entre études.

Bibliographie

P. Cherel, F. Hérault, A. Vincent, P. Le Roy et M. Damon : Genetic variability of transcript abundance in pig skeletal muscle at slaughter : Relationships with meat quality traits. *Journal of Animal Science*, 90(3):699–708, mars 2012. ISSN 0021-8812. URL https://academic.oup.com/jas/article/90/3/699/4764446. 170

P. Cherel, M. M. Damon, A. Vincent, F. Herault et P. P. Le Roy : Variabilité génétique des niveaux d'expression en ARN messagers du muscle squelettique à l'abattage. Relation avec les caractères de qualité de viande. *In 43. Journées de la recherche porcine*, vol. 43 de *43èmes journées de la recherche porcine*, Paris, France, fév. 2011. IFIP - Institut du Porc. URL https://hal.inrae.fr/hal-02747637. 170

M. Damon, F. Hérault, A. Vincent, P. L. Roy et P. Cherel : Characterization of a pig skeletal muscle microarray to study pork quality : the GenmascqChip 15K. *Nature Precedings*, (713), fév. 2011. URL https://doi.org/10.1038/npre.2011.5730.1. 167, 170

G. Daumas, D. Causeur, T. Dhorne et E. Schollhammer : Les méthodes de classement des carcasses de porc autorisées en France en 1997. *In Journées de la Recherche Porcine en France, 30*, p. 6, Paris (FR), France, 1998. URL http://www.journees-recherche-porcine.com/texte/1998/98qualite/V9802.pdf. 159, 160

M. A. M. Groenen, A. L. Archibald, H. Uenishi, C. K. Tuggle, Y. Takeuchi, M. F. Rothschild, C. Rogel-Gaillard, C. Park, D. Milan, H.-J. Megens, S. Li, D. M. Larkin, H. Kim, L. A. F. Frantz, M. Caccamo, H. Ahn, B. L. Aken, A. Anselmo, C. Anthon, L. Auvil, B. Badaoui, C. W. Beattie, C. Bendixen, D. Berman, F. Blecha, J. Blomberg, L. Bolund, M. Bosse, S. Botti, Z. Bujie, M. Bystrom, B. Capitanu, D. Carvalho-Silva, P. Chardon, C. Chen, R. Cheng, S.-H. Choi, W. Chow, R. C. Clark, C. Clee, R. P. M. A. Crooijmans, H. D. Dawson, P. Dehais, F. De Sapio, B. Dibbits, N. Drou, Z.-Q. Du, K. Eversole, J. Fadista, S. Fairley, T. Faraut, G. J. Faulkner, K. E. Fowler, M. Fredholm, E. Fritz, J. G. R. Gilbert, E. Giuffra, J. Gorodkin, D. K. Griffin, J. L. Harrow, A. Hayward, K. Howe, Z.-L. Hu, S. J. Humphray, T. Hunt, H. Hornshøj, J.-T. Jeon, P. Jern, M. Jones, J. Jurka, H. Kanamori, R. Kapetanovic, J. Kim, J.-H. Kim, K.-W. Kim, T.-H. Kim, G. Larson, K. Lee, K.-T. Lee, R. Leggett, H. A. Lewin, Y. Li, W. Liu, J. E. Loveland, Y. Lu, J. K. Lunney, J. Ma, O. Madsen, K. Mann, L. Matthews, S. McLaren, T. Morozumi, M. P. Murtaugh, J. Narayan, D. Truong Nguyen, P. Ni, S.-J. Oh, S. Onteru, F. Panitz, E.-W. Park, H.-S. Park, G. Pascal, Y. Paudel, M. Perez-Enciso, R. Ramirez-Gonzalez, J. M. Reecy, S. Rodriguez-Zas, G. A. Rohrer, L. Rund,

Y. Sang, K. Schachtschneider, J. G. Schraiber, J. Schwartz, L. Scobie, C. Scott, S. Searle, B. Servin, B. R. Southey, G. Sperber, P. Stadler, J. V. Sweedler, H. Tafer, B. Thomsen, R. Wali, J. Wang, J. Wang, S. White, X. Xu, M. Yerle, G. Zhang, J. Zhang, J. Zhang, S. Zhao, J. Rogers, C. Churcher et L. B. Schook : Analyses of pig genomes provide insight into porcine demography and evolution. *Nature*, 491(7424):393–398, nov. 2012. ISSN 1476-4687. URL https://doi.org/10.1038/nature11622. 167

A. J. Hackstadt et A. M. Hess : Filtering for increased power for microarray data analysis. *BMC Bioinformatics*, 10(1):11, jan. 2009. ISSN 1471-2105. URL https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-11. 168

F. Hérault, W. Bedhiafi, C. Diot et O. Dameron : Caractérisation et comparaison fonctionnelle de listes de gènes : apport de la sémantique. *In Ecole chercheurs en biologie intégrative et génomique dans le grand ouest (BIGOU)*, Auray, France, nov. 2011. URL https://hal.inrae.fr/hal-03003464. 170

F. Hérault, M. Damon, J. Pires, J. Glenisson, C. Chantry-Darmon, P. Cherel et P. Le Roy : QTL detection for growth and carcass quality traits thanks to a high density SNP chip in pig. *In 64. Annual Meeting of the European Federation of Animal Science (EAAP)*, vol. 64 de *Annual meeting of the european association for animal production*, p. np. Wageningen Academic Publishers, août 2013a. URL https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01210422. 171

F. Hérault, A. Vincent, O. Dameron, P. Le Roy, P. Cherel et M. Damon : Longissimus and semimembranosus muscles transcriptome comparison in pig displays marked differences. *In 64. Annual Meeting of the European Federation of Animal Science (EAAP)*, vol. 64 de *Annual meeting of the european association for animal production*, p. np. Wageningen Academic Publishers, août 2013b. URL https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01210421. 170

F. Hérault, M. Damon, P. Cherel et P. Le Roy : Combined GWAS and LDLA approaches to improve genome-wide quantitative trait loci detection affecting carcass and meat quality traits in pig. *Meat Science*, 135(Supplement C):148–158, jan. 2018. ISSN 0309-1740. URL http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174017309646. 171

F. Hérault, A. Vincent, A. Y. Randriamanantena, M. Damon, P. Cherel et P. Le Roy : Phenotypic and expression QTL integration made it possible to refine loci associated with pig carcass and meat quality traits. Soumission à BMC Genomics en Août 2021. 171

F. Hérault, A. Vincent, O. Dameron, P. L. Roy, P. Cherel et M. Damon : The Longissimus and Semimembranosus Muscles Display Marked Differences in Their Gene Expression Profiles in Pig. *PLOS ONE*, 9(5):e96491, mai 2014. ISSN 1932-6203. URL http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0096491. 170

Z.-L. Hu, C. A. Park et J. M. Reecy : 19 - Standard genetic nomenclature of the pig, with glossaries. *In The Genetics of the pig*, p. 473–494. CABI, 2nd édn, 2011. ISBN 978-1-84593-756-0. 158

Parlement et Conseil européen : Directive 2010/63/UE du Parlement européen et du Conseil du 22 septembre 2010 relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiquesTexte présentant de l'intérêt pour l'EEE, sept. 2010. URL https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:fr:PDF. 158

S. Purcell, B. Neale, K. Todd-Brown, L. Thomas, M. A. R. Ferreira, D. Bender, J. Maller, P. Sklar, P. I. W. de Bakker, M. J. Daly et P. C. Sham : PLINK : A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *The American Journal of Human Genetics*, 81(3):559–575, sept. 2007. ISSN 0002-9297. URL http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002929707613524. 163

R Core Team : *R : A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2015. URL https://www.R-project.org/. 167

A. M. Ramos, R. P. M. A. Crooijmans, N. A. Affara, A. J. Amaral, A. L. Archibald, J. E. Beever, C. Bendixen, C. Churcher, R. Clark, P. Dehais, M. S. Hansen, J. Hedegaard, Z.-L. Hu, H. H. Kerstens, A. S. Law, H.-J. Megens, D. Milan, D. J. Nonneman, G. A. Rohrer, M. F. Rothschild, T. P. L. Smith, R. D. Schnabel, C. P. V. Tassell, J. F. Taylor, R. T. Wiedmann, L. B. Schook et M. A. M. Groenen : Design of a High Density SNP Genotyping Assay in the Pig Using SNPs Identified and Characterized by Next Generation Sequencing Technology. *PLOS ONE*, 4(8):e6524, août 2009. ISSN 1932-6203. URL http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0006524. 163

CHAPITRE 7

Analyse comparative du transcriptome des muscles *semimembranosus* et *longissimus dorsi*

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS ONE

The *Longissimus* and *Semimembranosus* Muscles Display Marked Differences in Their Gene Expression Profiles in Pig

Frederic Herault[1,2]*, Annie Vincent[1,2], Olivier Dameron[3,4], Pascale Le Roy[1,2], Pierre Cherel[5], Marie Damon[1,2]

1 INRA, UMR1348, PEGASE, F-35590 Saint-Gilles, France, **2** Agrocampus Ouest, UMR1348, PEGASE, F-35000 Rennes, France, **3** Université de Rennes1, F-35000 Rennes, France, **4** IRISA team Dyliss, F-35000 Rennes, France, **5** iBV-institut de Biologie Valrose, Université Nice-Sophia Antipolis UMR CNRS 7277 Inserm U1091, Parc Valrose, F-06108 Nice, France

Citation: Herault F, Vincent A, Dameron O, Le Roy P, Cherel P, et al. (2014) The *Longissimus* and *Semimembranosus* Muscles Display Marked Differences in Their Gene Expression Profiles in Pig. PLoS ONE 9(5): e96491. doi:10.1371/journal.pone.0096491

Received December 12, 2013; **Accepted** April 9, 2014; **Published** May 8, 2014

* E-mail: Frederic.Herault@rennes.inra.fr

7.1 Présentation de l'article

Comme nous l'avons vu précédemment, les caractéristiques physiques et biochimiques des muscles ont une influence importante sur les événements biochimiques *post-mortem* responsables du développement des caractéristiques qualitatives des viandes. Les muscles *semimembranosus* (SM) et *longissimus dorsi* (LM) correspondent aux deux grandes filières de la viande porcine, à savoir : la vente de viande fraîche pour la longe représentée par le LM et la transformation en produit cuit ou sec pour le jambon représentée par le SM. Bien qu'étant tous les deux classés dans la catégorie des « muscles blancs », c'est-à-dire majoritairement composés de fibres rapides et possédant un métabolisme majoritairement glycolytique, ces deux muscles se différencient par leurs proportions respectives en différents types de fibres musculaires, leurs niveaux d'activités enzymatiques (ATPases, LDH, GAPDH et citrate synthase), représentant la vitesse de contraction et les métabolismes énergétiques (glycolytique et oxydatif), et leur pHu. Ainsi, le SM se caractérise par une proportion plus importante de fibres de types intermédiaires (IIa/IIx) et moins de fibres rapides, une capacité oxydative plus importante et un pHu plus élevé (Laborde *et al.*, 1985; Melody *et al.*, 2004). Par ailleurs, ces deux muscles se différencient par leur rôle fonctionnel. Le SM est sollicité pour les déplacements ou les mouvements de flexion lorsque l'animal se lève ou se couche. La sollicitation du SM peut donc être de courte durée et intense lorsqu'il soulève le poids de l'animal, ou de plus longue durée et moins intense dans le cas du déplacement de l'animal. Le LM quant à lui intervient de manière courte et intense lors des mouvements latéraux au niveau de la colonne vertébrale, mouvements effectués lors des changements de direction ou d'orientation de l'animal (en réponse à un stimulus par exemple). Malgré ces différences, ces deux muscles sont considérés comme très semblables au niveau de leur structure, de leur métabolisme et de leur transcriptome (Hornshøj *et al.*, 2007).

L'analyse des profils d'expression des gènes exprimés dans les muscles, et de la variabilité génétique des niveaux d'expression de ces gènes, peut permettre d'identifier des « signatures » spécifiquement associées à la qualité des viandes et ainsi permettre le développement de biomarqueurs utilisables en sélection (Cherel *et al.*, 2012). Les données d'expression des gènes peuvent également être utiles pour mieux appréhender les processus biologiques gouvernant le développement de la qualité des produits carnés, notamment au travers d'études génétiques visant à l'identification de QTL d'expression co-localisés avec des QTL impactant celle-ci. Cependant, probablement du fait de la proximité physiologique et biochimique existant entre ces deux muscles et du poids important de la longe dans la valorisation de la carcasse, la majorité des études s'intéressent à l'analyse du transcriptome du LM et rares sont les études qui s'intéressent au niveau d'expression des gènes dans ces deux muscles.

En étudiant et en comparant les profils d'expression obtenus dans ces deux muscles, l'objectif de cette étude était de clarifier le statut de ces deux muscles l'un par rapport à l'autre. Par ailleurs, il s'agissait le cas échéant de mieux appréhender les événements biologiques sous-jacents à leurs différences métaboliques et contractiles qui peuvent influencer *in fine* la qualité des viandes produites.

Pour mener cette comparaison, nous nous sommes appuyés sur les transcriptomes de 90 individus pour lesquels nous disposions de données dans les muscles LM et SM. Après filtration des données, 70 % des sondes présentes sur la puce oligo ont pu être conservées pour l'analyse différentielle. L'analyse d'expression différentielle entre muscle réalisée par ANOVA en tenant compte des effets liés à l'animal (sexe, poids de carcasse, saison d'abattage) et à l'approche technique (lot d'hybridation sur la puce) a permis de mettre en évidence 3823 gènes

différentiellement exprimés (DEG) entre ces deux muscles. Parmi ceux-ci, seul les gènes ayant une différence d'expression supérieure à 1,5 (2402 gènes) ont été considérés dans la suite de l'analyse.

Afin de donner une signification biologique à un ensemble de gènes, il est généralement fait appel à des approches reposant sur l'enrichissement d'annotations fonctionnelles. Classiquement, ces approches se basent sur les annotations fonctionnelles fournies par des groupes de gènes agrégés selon leur niveau d'expression en considérant que des gènes co-exprimés partagent une même fonction biologique (Quackenbush, 2001). En agissant de la sorte, on obtient plusieurs groupes de gènes (le nombre de groupes dépendant du seuil choisi pour agréger les gènes co-exprimés) avec, d'un côté des groupes de gènes sur-exprimés dans une condition ou dans un tissu, et de l'autre côté des groupes de gènes sous-exprimés dans l'autre condition ou tissu. Nous avons considéré qu'effectuer une analyse fonctionnelle de groupes de gènes sur-exprimés ou sous-exprimés induisait un risque de perte d'information biologique. En effet, un processus biologique est la résultante d'un équilibre contrôlé par des régulations positives ou négatives des gènes impliqués dans les voies métaboliques. Les gènes impliqués dans une même fonction peuvent alors être assignés à des groupes différents (sous-exprimé ou sur-exprimé) aboutissant ainsi à une perte d'information biologique. Afin de pallier ce risque, nous avons choisi de créer des groupes de gènes en fonction de la similarité sémantique des annotations fonctionnelles (GO BP) qu'ils partageaient.

Par principe, cette approche ne permet de ne regrouper que des gènes possédant une annotation fonctionnelle dans la branche d'intérêt. Cette analyse a donc été menée sur 1047 DEG possédant une annotation GO BP.

Par cette approche, nous avons mis en évidence 5 groupes de gènes correspondant à des enrichissements en annotations relatives au métabolisme énergétique, au cycle cellulaire, aux processus d'expression des gènes, au développement des structures anatomiques, et à la communication cellulaire et la réponse immunitaire.

Conformément aux connaissances acquises sur la physiologie et le métabolisme énergétique des muscles SM et LM, l'analyse des DEG formant le groupe de gènes enrichis en termes relatifs au métabolisme énergétique (142 gènes) met en évidence une sur-expression de gènes impliqués dans les activités oxydatives au niveau mitochondrial dans le SM et inversement une expression plus importante de gènes impliqués dans le métabolisme glycolytique dans le LM, ce qui est en accord avec les activités métaboliques et les proportions en fibres lentes et rapides composant ces deux muscles (Laborde *et al.*, 1985; Melody *et al.*, 2004).

Dans cette étude, un grand nombre de DEG sont associés à des termes relatifs au cycle cellulaire (175 gènes) et au développement des structures anatomiques (480 gènes). Parmi ceux-ci, nous avons mis en évidence la sur-expression dans le SM de gènes impliqués dans l'activation et dans le recrutement des cellules satellites, dans leur différenciation en myoblastes puis dans la migration et la fusion de ces derniers pour former des sarcomères. À l'inverse, dans le LM des gènes impliqués dans la régulation négative de l'activation et du recrutement des cellules satellites sont sur-exprimés. Ces résultats suggèrent une activité myogénique post-natale plus importante dans le SM que dans le LM.

Parmi les DEG formant le groupe enrichi en termes relatifs à la communication cellulaire et à la réponse immunitaire (123 gènes), plusieurs d'entre eux ont été impliqués dans les processus inflammatoires se développant suite à des blessures musculaires et sont exprimés plus fortement dans le SM que dans le LM. Suite à une blessure au niveau musculaire, de nombreuses études ont montré une induction de gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire, précédant une phase de prolifération cellulaire suivie de la phase de différenciation. Par ailleurs, plusieurs gènes sur-exprimés dans le SM semblent impliqués dans les processus de réparation et de régénération du muscle qui suivent une blessure.

Contrairement à ce qui pouvait être attendu, les résultats de cette étude ont permis de mettre en évidence un grand nombre de gènes différentiellement exprimés entre les muscles LM et SM. Ceux-ci sont impliqués dans des processus biologiques relatifs à la prolifération cellulaire, au recrutement et à la différenciation de progéniteurs myoblastiques en myoblastes, à la fusion de myoblastes en sarcomères et au processus de régénération cellulaire. L'ensemble de ces résultats laisse suggérer une activité myogénique plus importante dans le SM que dans le LM, probablement associée à des processus de régénération musculaire. Ces différences, qui impactent de manière importante l'activité cellulaire des muscles LM et SM peuvent avoir des conséquences sur la structure et le développement des tissus, sur la transformation du muscle en viande et *in fine* sur la qualité des viandes qui en résulte. De ce fait, il nous semble important de tenir compte de ces spécificités musculaires pour étudier le déterminisme génétique de la qualité des viandes ou pour identifier des marqueurs biologiques qui pourraient être utilisésdans le cadre de la sélection en utilisant ses marqueurs biologiques comme critères de sélection.

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS ONE

The *Longissimus* and *Semimembranosus* Muscles Display Marked Differences in Their Gene Expression Profiles in Pig

Frederic Herault[1,2]*, Annie Vincent[1,2], Olivier Dameron[3,4], Pascale Le Roy[1,2], Pierre Cherel[5], Marie Damon[1,2]

1 INRA, UMR1348, PEGASE, F-35590 Saint-Gilles, France, **2** Agrocampus Ouest, UMR1348, PEGASE, F-35000 Rennes, France, **3** Université de Rennes1, F-35000 Rennes, France, **4** IRISA team Dyliss, F-35000 Rennes, France, **5** iBV-institut de Biologie Valrose, Université Nice-Sophia Antipolis UMR CNRS 7277 Inserm U1091, Parc Valrose, F-06108 Nice, France

Abstract

Background: Meat quality depends on skeletal muscle structure and metabolic properties. While most studies carried on pigs focus on the *Longissimus* muscle (LM) for fresh meat consumption, *Semimembranosus* (SM) is also of interest because of its importance for cooked ham production. Even if both muscles are classified as glycolytic muscles, they exhibit dissimilar myofiber composition and metabolic characteristics. The comparison of LM and SM transcriptome profiles undertaken in this study may thus clarify the biological events underlying their phenotypic differences which might influence several meat quality traits.

Methodology/Principal Findings: Muscular transcriptome analyses were performed using a custom pig muscle microarray: the 15 K Genmascqchip. A total of 3823 genes were differentially expressed between the two muscles (Benjamini-Hochberg adjusted P value $\leq$0.05), out of which 1690 and 2133 were overrepresented in LM and SM respectively. The microarray data were validated using the expression level of seven differentially expressed genes quantified by real-time RT-PCR. A set of 1047 differentially expressed genes with a muscle fold change ratio above 1.5 was used for functional characterization. Functional annotation emphasized five main clusters associated to transcriptome muscle differences. These five clusters were related to energy metabolism, cell cycle, gene expression, anatomical structure development and signal transduction/immune response.

Conclusions/Significance: This study revealed strong transcriptome differences between LM and SM. These results suggest that skeletal muscle discrepancies might arise essentially from different post-natal myogenic activities.

Citation: Herault F, Vincent A, Dameron O, Le Roy P, Cherel P, et al. (2014) The *Longissimus* and *Semimembranosus* Muscles Display Marked Differences in Their Gene Expression Profiles in Pig. PLoS ONE 9(5): e96491. doi:10.1371/journal.pone.0096491

Editor: Dawit Tesfaye, University of Bonn, Germany

Received December 12, 2013; **Accepted** April 9, 2014; **Published** May 8, 2014

Copyright: © 2014 Herault et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: This work was carried out with financial support from the ANR-Agence Nationale de la Recherche–The French National Research Agency under the Programme National de Recherche en Alimentation, project ARN-PNRA-2006-25, GENMASCQ. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* E-mail: Frederic.Herault@rennes.inra.fr

Introduction

Pork is one of the most widely eaten meats in the world. Breeding programs aiming at improving pig production efficiency through increased growth rate and lean meat content and decreased fatness have also affected some meat quality traits playing an important role in consumer acceptance of pork like water holding capacity, color, intramuscular fat (IMF) content and tenderness [1]. Meat quality is a complex trait which depends on the interactive effects of pig genotype, environmental conditions, pre-slaughter handling and slaughtering procedure [2]. The skeletal muscle structure and metabolic characteristics which determine cellular and molecular events occurring during muscle to meat transformation are of the utmost importance for meat quality determination. Skeletal muscle is a heterogeneous tissue composed of myofibers, adipose, connective, vascular and nervous tissues. Myofibers differ by their molecular, structural, contractile and metabolic properties according to which they are classified as slow-twitch oxidative (type I), fast-twitch oxido-glycolytic (type IIA) and fast-twitch glycolytic (type IIB). Red or white muscles are also determined according to their fiber type composition. Red muscles are composed of high percentage of slow-twitch oxidative fibers whereas white muscles contain a major proportion of fast-twitch glycolytic fibers [3]. *Longissimus* and *Semimembranosus* - two white skeletal muscles - are consumed in different forms: fresh for LM (loin) or after processing for SM (ham). Both muscles are classified as glycolytic even if slight differences have been described in their myofiber composition (higher proportion of type IIa myofiber and lower proportion of Type IIb myofiber in SM) and metabolic properties (higher oxidative capacity in SM) [4–7]. Transcriptome analysis might be useful to identify transcriptional signatures associated with meat quality traits which could thus be selected as biomarkers in selection programs [8–12]. However, pig transcrip-

tome studies are mainly focused on LM even if gene expression variability between muscles could affect muscle development, meat quality and hence the choice of meat processing [13].

The aim of this study was to better characterize LM and SM gene expression profiles in order to investigate the biological events underlying their distinct metabolic and contractile properties.

Results

Comparison of Gene Expression Profiles between *Longissimus* and *Semimembranosus* Muscles

Gene expression microarray analysis was conducted on 180 muscle samples (90 LM, 90 SM). Comparison of LM and SM muscle transcriptome was achieved using the "GenmascqChip", a 15 k pig skeletal muscle microarray. Raw data sets were checked for quality criteria. The 10753 remaining probes were considered significantly expressed in both muscles. We observed a strong muscle effect on gene expression with 5582 (37%) of probes being differentially expressed between LM and SM (adjusted P value $\leq$ 0.05). As shown in Figure 1, fold change (FC) ratios varied from 1.1 to 15 and were for the most part quite low with median values $<$1.5 in the two muscles. These 5582 differentially expressed probes corresponded to 3823 annotated genes, with 1690 and 2133 genes overrepresented in LM (Table S1) and SM (Table S2), respectively. A set of 2402 differentially expressed probes (1603 annotated genes) with a muscle FC ratio above 1.5 was considered as biologically relevant and selected for functional analysis.

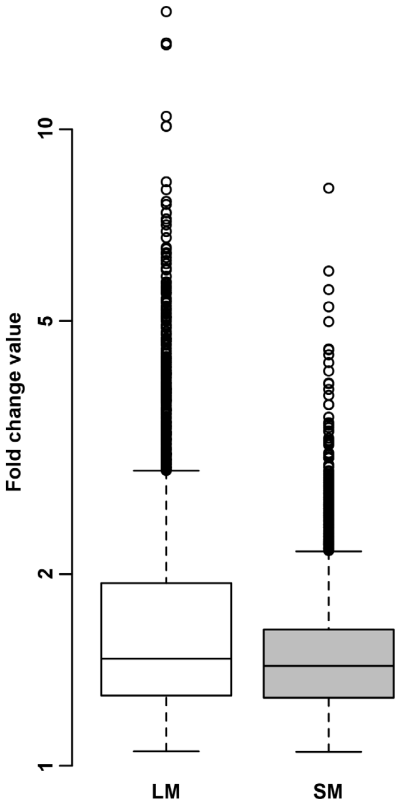


Figure 1. Gene expression ratio between muscles. Muscle fold change ratio is expressed as the expression ratio of *Longissimus* (LM) to *Semimembranosus* (SM) samples when genes are highly expressed in *Longissimus* and as the expression ratio of SM to LM samples when genes are highly expressed in *Semimembranosus*.
doi:10.1371/journal.pone.0096491.g001

The ten most differentially expressed and informative genes [i.e. with at least one associated gene ontology (GO) biological process (BP) term] are shown in Table 1 for LM (5.3$\leq$FC$\leq$15.3) and in Table 2 for SM (3.4$\leq$FC$\leq$8.1). Among the ten genes strongly expressed in the LM, three are involved in gene expression: poly(rC) binding protein 2 (*PCBP2*), microphthalmia-associated transcription factor (*MITF*) and zinc finger and BTB domain-containing protein 16 (*ZBTB16*). Three other genes are involved in metabolism: ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial Fo complex, subunit E (*ATP5I*), ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif, 8 (*ADAMTS8*) and kinase D-interacting substrate, 220 kDa (*KIDINS220*). *ADAMTS8* and *ZBTB16* are also related to negative regulation of cell proliferation. Two genes are involved in muscle development: interferon-related developmental regulator 1 (*IFRD1*) and ryanodine receptor 1 (*RYR1*) which is also involved in muscle contraction and calcium ion transport. Last, one gene is related to cell-cell signaling: nudix (nucleoside diphosphate linked moiety X)-type motif 3 (*NUDT3*) and one gene in DNA replication and DNA repair: REV3-like, polymerase (DNA directed), zeta, catalytic subunit (*REV3L*). For the SM, four genes are involved in gene expression: spleen focus forming virus proviral integration oncogene (*SPI1*), nuclear receptor subfamily 2, group C, member 2 (*NR2C2*), histone cluster 1, H2ab (*HIST1H2AB*) and tenascin C (*TNC*) which is also related to positive regulation of cell proliferation. Two genes are involved in muscle contraction: protein phosphatase 1, regulatory subunit 12B (*PPP1R12B*) and myosin, heavy chain 11 (*MYH11*). Last, one gene is involved in wounding and inflammation (acid phosphatase 5, tartrate resistant, *ACP5*), one gene in water transport (aquaporin 4, *AQP4*), one gene in cellular component movement (kinesin family member C2, *KIFC2*) and one gene in cell adhesion (secreted phosphoprotein 1, *SPP1*).

Quantitative RT-PCR Validation of Microarray Analysis

Seven target genes, including four genes overrepresented in LM (*ADAMTS8*, *ALDOA*, *CPT1B* and *RYR1*) and 3 genes overrepresented in SM (*CEBPA*, *DGAT2* and *TGFB1*) were analyzed by real time RT-qPCR. These genes were selected to represent the variation of FC ratio observed across the set of 1603 differentially expressed genes with a muscle FC ratio above 1.5. As shown in Figure 2, the comparison of FC ratios between microarray and RT-qPCR technologies provided similar FC direction between these two methods. However, FC values were much less consistent between methodologies for gene overexpressed in LM than in SM samples.

Functional Analysis

To identify the biological events to which differentially expressed genes product contributes, we used GO BP annotation. A set of 2402 differentially expressed probes with a muscle FC ratio above 1.5 was selected for functional analysis. They corresponded to 1603 human orthologous genes. Among them, 1047 were associated with at least one GO BP term and were clustered according to their semantic similarities using these terms (Figure 3). Cluster compositions are shown in Table S3.

Five clusters related to energy metabolism (cluster 1 including 142 genes), cell cycle (cluster 2, 175 genes), gene expression (cluster 3, 127 genes), anatomical structure development (clusters 4, 480 genes) and cell communication/immune response (cluster 5, 123 genes) were identified. For each cluster, some relevant GO BP terms and pathways (KEGG and WikiPathways) are presented in Table 3 and Table 4. Full details of enriched biological processes

Table 1. Genes overexpressed in *Longissimus* muscle (n = 10).

Symbol[1]	Cluster[2]	FC[3]	P-value[4]	Associated GO BP terms[5]
ADAMTS8	4	15.3	$<1E^{-12}$	GO:0008285~Negative regulation of cell proliferation
				GO:0006508~Proteolysis
RYR1	4	13.6	$<1E^{-12}$	GO:0006816~Calcium ion transport
				GO:0048741~Skeletal muscle fiber development
				GO:0006936~Muscle contraction
REV3L	2	8.3	$<1E^{-12}$	GO:0006261~DNA-dependent DNA replication
				GO:0006281~DNA repair
IFRD1	4	6.4	$<1E^{-12}$	GO:0007518~Myoblast cell fate determination
				GO:0042692~Muscle cell differentiation
				GO:0007527~Adult somatic muscle development
PCBP2	3	6.4	$<1E^{-12}$	GO:0008380~RNA splicing
				GO:0010467~Gene expression
				GO:0016071~mRNA metabolic process
NUDT3	5	6.3	$<1E^{-12}$	GO:0007267~Cell-cell signaling
ATP5I	1	5.8	$<1E^{-12}$	GO:0022904~Respiratory electron transport chain
				GO:0006200~ATP catabolic process
				GO:0042776~Mitochondrial ATP synthesis coupled proton transport
KIDINS220	2	5,4	$<1E^{-12}$	GO:0000186~Activation of MAPKK activity
				GO:0048011~Nerve growth factor receptor signaling pathway
MITF	3	5,3	$<1E^{-12}$	GO:0007275~Multicellular organismal development
				GO:0045893~Positive regulation of transcription, DNA-dependent
ZBTB16	4	5,3	$<1E^{-12}$	GO:0006915~Apoptotic process
				GO:0008285~Negative regulation of cell proliferation
				GO:0045893~Positive regulation of transcription, DNA-dependent
				GO:0045892~Negative regulation of transcription, DNA-dependent

[1]Only genes with at least one associated GO BP term are presented in the table.
[2]Differentially expressed genes were clustered using GO BP terms semantic similarity between genes as distance, to group functionally similar genes together.
[3]Fold Change is expressed as the expression ratio of *Longissimus* to *Semimembranosus* samples.
[4]Benjamini and Hochberg adjusted P value.
[5]Unique identifier and gene ontology term in the GO database (http://www.geneontology.org/).
doi:10.1371/journal.pone.0096491.t001

and pathways, enrichment score, adjusted P-value and number of gene present in each cluster are reported in the Table S4 and Table S5. Cluster 1 comprised 98 genes highly expressed in SM and 44 in LM. Significantly enriched GO BP terms (P-value $< 7.4E^{-07}$, enrichment score (ES): 1.4 to 15.2) and pathways (P-value $<1.8E-02$, ES: 3.2 to 38) were mainly related to energy metabolism. Cluster 1 genes were assigned to several enriched biochemical pathways including "Electron Transport Chain", "Oxidative phosphorylation", "Glycolysis and Gluconeogenesis", "Fatty Acid Beta Oxidation" and "Citrate cycle (TCA cycle)". The GO BP term "generation of precursor metabolites and energy" with the highest P-value, was associated with 39 genes encoding five mitochondrial electron transfer chain complex subunits that were mainly expressed in SM. Succinate dehydrogenase complex, subunit A, flavoprotein (Fp) (*SDHA*) and genes of long chain fatty acid metabolism (acyl-CoA dehydrogenase, very long chain, *ACADVL*) were also more expressed in SM whereas solute carrier family 25, member 27 (*SLC25A27* also known as uncoupling proteins 4 *UCP4*) and solute carrier family 25, member 14 (*SLC25A14* also known as uncoupling proteins *UCP5*), phosphorylase kinase, alpha1 and beta (*PHKA1*, *PHKB*) and phosphoenolpyruvate carboxykinase1 (*PCK1*) were overexpressed in LM. Cluster 2 included 73 and 102 highly expressed genes in SM and LM, respectively. Enriched GO BP terms (P-value $< 6.6E^{-05}$, ES: 1.1 to 7.5) and pathways (P-value $<1.6E-02$, ES: 2.7 to 7.6) were related to cell cycle process. "Cell cycle" and "Ubiquitin mediated proteolysis" were the most important enriched pathways associated with cluster 2. Genes overrepresented in SM were mainly linked to G1 phase: cyclin D2 and D3 (*CCND2*, *CCND3*). Genes overrepresented in LM were related to the control of cell cycle checkpoint, GO/G1, G1/S, S/G2 and G2/M transition and M phase: anaphase promoting complex subunit 1 and 4 (*ANAPC1*, *ANAPC4*), cell division cycle 26 and 27 (*CDC26*, *CDC27*) as well as DNA replication and DNA repair process. Cluster 3 contained 43 and 84 highly expressed genes in SM and LM, respectively. Cluster 3 enriched GO BP terms (P-value $<1.6E^{-07}$, ES: 1.5 to 11.7) were related to gene expression. Significantly enriched pathways were related to "mRNA processing" (P-value = 1.5E−10, ES = 9.3) and "Spliceosome" (P-value = 1.7E−12, ES = 10.9). In this cluster, two of the four myogenic regulatory factors, myogenic differentiation 1 (*MYOD1*) and myogenic factor 6 (*MYF6* also known as *MRF4*) were overrepresented in SM. Cluster 4 was the biggest one with 288 and 192 genes overexpressed in SM and LM, respectively. Enriched GO BP terms were mainly related to anatomical structure development (P-value $<1.7E^{-05}$, ES: 1.5 to 4.4). Among

Table 2. Genes overexpressed in *Semimembranosus* muscle (n = 10).

Symbol[1]	Cluster[2]	FC[3]	P-value[4]	Associated GO BP terms[5]
SPI1	3	8.1	$<1E^{-12}$	GO:0045893~Positive regulation of transcription, DNA-dependent
				GO:0045892~Negative regulation of transcription, DNA-dependent
				GO:0045814~Negative regulation of gene expression, epigenetic
NR2C2	4	6	$<1E^{-12}$	GO:0006355~Regulation of transcription. DNA-dependent
				GO:0030154~Cell differentiation
				GO:0010467~Gene expression
PPP1R12B	4	5.6	$<1E^{-12}$	GO:0006937~Regulation of muscle contraction
				GO:0007165~Signal transduction
TNC	4	5.3	$<1E^{-12}$	GO:0008284~Positive regulation of cell proliferation
				GO:0007528~Neuromuscular junction development
				GO:0010628~Positive regulation of gene expression
SPP1	4	4.5	$<1E^{-12}$	GO:0007155~Cell adhesion
				GO:0001649~Osteoblast differentiation
				GO:0001503~Ossification
HIST1H2AB	4	4.3	$<1E^{-12}$	GO:0006334~Nucleosome assembly
AQP4	4	3.9	$<1E^{-12}$	GO:0006810~Transport
				GO:0006833~Water transport
				GO:0050891~Multicellular organismal water homeostasis
ACP5	1	3.7	$<1E^{-12}$	GO:0060349~Bone morphogenesis
				GO:0050728~Negative regulation of inflammatory response
KIFC2	4	3.5	$<1E^{-12}$	GO:0007018~Microtubule-based movement
MYH11	4	3,4	$<1E^{-12}$	GO:0030241~Skeletal muscle myosin thick filament assembly
				GO:0048251~Elastic fiber assembly
				GO:0006936~Muscle contraction

[1]Only genes with at least one associated GO BP term are presented in the table.
[2]Differentially expressed genes were clustered using GO BP terms semantic similarity between genes as distance, to group functionally similar genes together.
[3]Fold Change is expressed as the expression ratio of *Semimembranosus* to *Longissimus* samples.
[4]Benjamini and Hochberg adjusted P value.
[5]Unique identifier and gene ontology term in the GO database (http://www.geneontology.org/).
doi:10.1371/journal.pone.0096491.t002

enriched pathways found associated with cluster 4, "ECM-receptor interaction" (P-value = 7.1E−07, ES = 5.9) and "Focal adhesion" (P-value = 1.1E−6, ES = 3.4) had the highest P-value. Genes overrepresented in LM were implicated in cell division, chromosomal organization, structural maintenance of sarcomere and sarcoplasmic protein: nebulin (*NEB*), titin (*TTN*), *RYR1* and triadin (*TRDN*). Genes overrepresented in SM were involved in cell migration, cell surface and extracellular matrix (ECM): cadherin 2, type 1, N-cadherin (*CDH2*), CD44 molecule (*CD44*), caveolin 3 (*CAV3*) and code for major constituent of the contractile apparatus: myosin, heavy chain 3, 8, 9 and 11 (*MYH3*, *MYH8*, *MYH9* and *MYH11*), troponin I type 3 (*TNNI3*) and troponin T type 2 (*TNNT2*). Differentially expressed genes that might control muscle size were either more expressed in LM, follistatin (*FST*) and myostatin (*MSTN*) or in SM, insulin-like growth factor 1 (somatomedin C) (*IGF1*), transforming growth factor, beta 1 and 3 (*TGFB1* and *TGFB3*). Last, cluster 5 contained 90 overexpressed genes in SM and 33 overexpressed genes in LM. Significantly enriched GO BP terms (P-value <2E−05, ES: 1.7 to 16.3) and biological pathways (P-value <1.E−12, enrichment score (ES): 2.6 to 39) were related to cell communication and inflammatory immune response. Interestingly, this cluster highlighted SM overexpressed genes also involved in the regulation of developmental and myogenesis signaling pathways or in the muscle regeneration process: fibroblast growth factor 18 (*FGF18*), members of the Notch signaling pathway (*NOTCH3* and delta-like 4, *DLL4*), chemokine (C-C motif) ligand 21 and 23 (*CCL21* and *CCL23*) and complement component and factor (complement component 1, q subcomponent, C chain, *C1QC*; complement component 1, r subcomponent, *C1R*; complement component 1, s subcomponent, *C1S*; complement component 3, *C3*; complement component 4A, *C4A* and complement factor B, *CFB*).

Discussion

Our objective was to clarify the biological events which could explain the muscle phenotypic differences reported in the literature between the LM and SM [3,4,14]. Since skeletal muscle is a heterogeneous tissue, transcriptome analysis of skeletal muscle may reflect mRNA composition of various cell types existing in this tissue. However, we assumed that myofibers are the main skeletal muscle component and that comparison between muscles is informative. The custom GenmascqChip [15] used in this study allows the analysis of 10753 probes and the identification of 5582 differentially expressed probes between LM and SM demonstrating that the GenmascqChip is a powerful tool to study pig muscle gene expression in order to gain a better understanding of muscle physiology. Furthermore, directions of differential gene expression

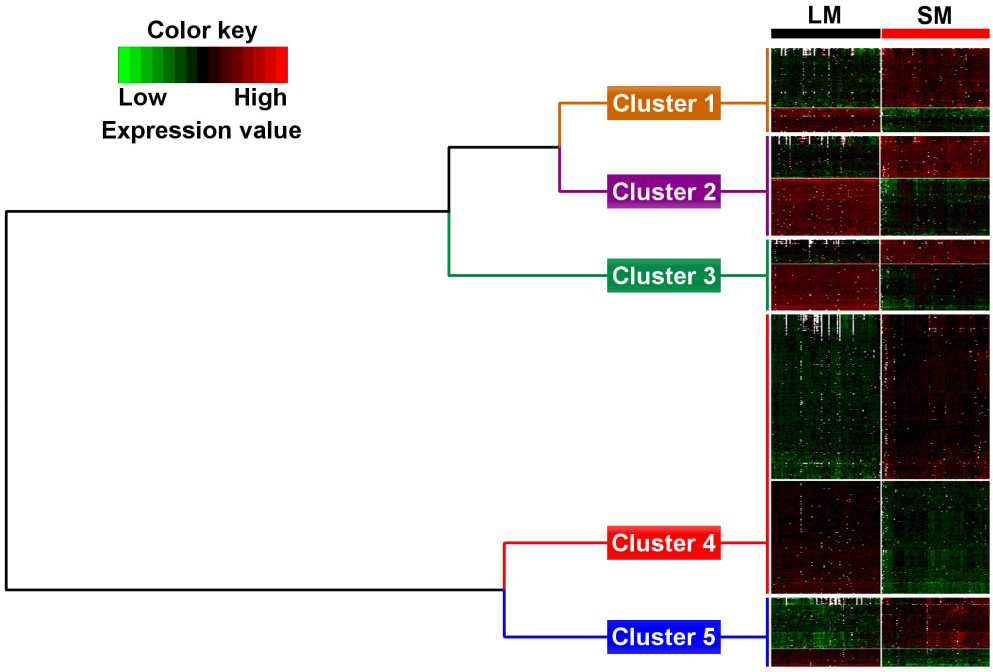


Figure 2. Validation of seven microarray differentially expressed genes between Longissimus (LM) and Semimembranosus (SM) muscles by quantitative RT-PCR. mRNA level is expressed using arbitrary units. Quantitative RT-PCR expression levels (LM = 8, SM = 8) were normalized to the expression of beta 2 microglobulin (*B2M*), TATAbox binding protein (*TBP*) and *18S* using geNorm algorithm. Microarray adjusted means for LM and SM (LM = 90; SM = 90) were calculated using least square means for the muscle effect. Data are expressed as means±s.d. Statistical significances are reported below the plot as Benjamini and Hochberg adjusted P-value for microarray data and as Student t-test P value for q RT-PCR. Fold change ratio is expressed as the expression ratio of LM to SM when genes are overrepresented in LM and as the expression ratio of SM to LM when genes are overrepresented in SM.
doi:10.1371/journal.pone.0096491.g002

FC observed in microarray analysis have been validated by quantitative PCR analyses using seven differentially expressed genes. We have considered that FC direction agreement between the two methods validates the differentially expressed genes set. Besides, there are few studies comparing gene expression of contrasted skeletal muscles in pigs, most of them focus on LM and none of them compared LM and SM [16,17]. The number of genes found differentially expressed between these two muscles is surprisingly high. In fact, Hornshøj et al. [17] described a similar expression pattern between these two muscles, while the comparison of red and white skeletal muscles that are much more contrasted than LM and SM led to far fewer differentially expressed genes in pigs [16,18] or mice [19]. However, different experimental conditions such as microarray platform technology, whole genome vs. focused microarray, sample size, samples pooling, FC threshold might account for this discrepancy. Several studies have compared gene expression level from different microarray technologies and relate divergence across the data generated [20–23]. Stretch et al. [24] have studied the effect of the sample size on differentially expressed gene discovery. They studied muscle gene expression on 134 samples (69 males, 65 females) and found that using sample of n = 10 (5 males, 5 females) results in no significant genes at P-values <0.0001, whereas larger sample size n = 120 (60 males, 60 females) identifies 472 differentially expressed genes at the same P-value cutoff. Anyway, this new finding reinforces the importance of gene expression variability between muscles which could affect muscle development and hence meat quality [13].

Microarray experiments result in list of hundred to thousand differentially expressed genes and the main objective of functional data analysis is to determine relevant biological interpretations. In this context, hierarchical clustering is often performed using gene expression correlation coefficient matrix as distance considering that co-expressed genes share the same biological processes. Biological knowledge is then used to identify enriched biological processes in each gene cluster [25]. Using this approach, we obtained two large clusters corresponding to over- and underrepresented genes which led to dozens of dissimilar enriched terms (data not shown). Furthermore, biological pathways are mostly controlled by the balance between up and downregulations. Performing functional analysis separately for up and downregulated genes list might result in loss of biological information since genes involved in the same pathway could have been assigned in different set. This partial information may leads to misinterpretation of differentially expressed gene list. Some pathways might then have been discarded because their enrichment value was deemed insufficient, whereas gene involved in the regulation of this pathways were present in up and downregulated genes list. To avoid this and create meaningful clusters, we used semantic similarity of GO BP terms to group functionally similar genes together. Wang's metrics [26] was chosen over the information content-based semantic similarity measures because the latter require a reliable corpus in order to compute GO terms frequencies, and such a corpus does not exist for moderately studied species such as *Sus scrofa*. We successfully identified five functional clusters including both over and underrepresented genes. This approach was well suited to the size of our data set (around 1600 genes). However, the hierarchical clustering algorithm led to exclusive classification and we assume that clusters cannot overlap whereas genes may be involved in several

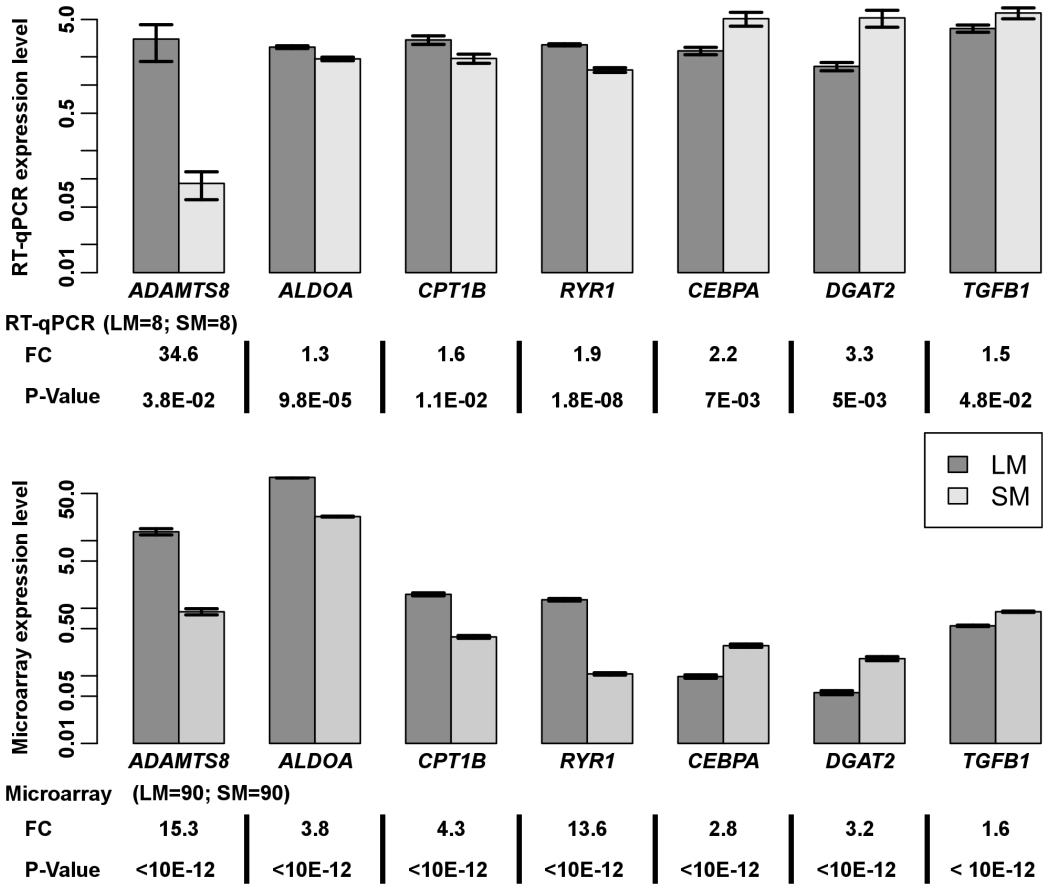


Figure 3. Hierarchical clustering of differentially expressed genes according to their GO BP terms semantic similarity. Annotated differentially expressed genes with a muscle fold change above 1.5 were clustered based on their functional annotation (GO BP) semantic similarity. Hierarchical clustering was performed using "1-semantic similarity" as distance between two genes (similar genes have a distance close to zero) to identify clusters of genes sharing BP terms. Five clusters were identified. Cluster 1 comprised 98 genes highly expressed in SM and 44 in LM. Cluster 2 included 73 highly expressed genes in SM and 102 in LM. Cluster 3 contained 43 highly expressed genes in SM and 84 in LM. Cluster 4 comprised 288 genes overexpressed in SM and 192 in LM. Cluster 5 involved 90 overexpressed genes in SM and 33 overexpressed genes in LM.
doi:10.1371/journal.pone.0096491.g003

biological processes. Thus most but not all relevant GO BP terms and pathways were highlighted with this procedure. The five main relevant biological networks associated to skeletal muscle differences were "energy metabolism", "cell cycle", "gene expression", "anatomical structure development" and "cell communication/ immune response". Some examples of differentially expressed genes will be discussed in relation to energy metabolism and myogenic progenitor cells recruitment and sarcomerogenesis which composed steps of myogenesis process leading to the formation and growth of myofibers. The last part will discuss contrasted results in relation to muscle regeneration process.

Energy Metabolism

Our functional analysis identified "energy metabolism" as one of the most relevant biological pathway associated to LM and SM differentially expressed genes set. SM overexpressed genes were related to mitochondrial fatty acid beta-oxidation pathway (*ACSF3*, *ACADVL*, *ACADS* and *HADHA*), citric acid cycle (*ACO2* and *SDHA*) and the five mitochondrial respiratory chain complex: NADH dehydrogenase (ubiquinone) subunits (*MT-ND3*, *MT-ND6*, *NDUFA3*, *NDUFA8*, *NDUFA9*, *NDUFA10*, *NDUFA11* and *NDUFV1*), succinate dehydrogenase subunits (*SDHA*), ubiquinol-cytochrome c reductase complex subunits (*CYC* and *UQCRC1*), cytochrome c oxidase subunits (*COX4I2*, *COX8A* and *MT-CO1*) and ATP synthase subunits (*ATP5A1* and *ATP5D*). On the other hand, LM overexpressed genes were related to glycogenolysis regulation (*PHKA1* and *PHKB*), pyruvate metabolism pathways (*PCK1*) and uncoupling protein (*UCP4* and *UCP5*). These results suggest on the one hand a higher mitochondrial oxidative activity in SM than in LM while on the other hand a limited usage of oxidative phosphorylation through uncoupling protein overexpression and a predominant usage of the anaerobic glycolytic pathway in LM. These results are consistent with and refine previous knowledge on SM and LM metabolic characteristics. In fact, these two glycolytic muscles are predominantly composed of fast-twitch type II fibers and low level of slow-twitch type I fibers. However, SM is composed of highest percentage of intermediate fast-twitch type IIa myofibers and exhibited higher oxidative capacity than LM [3,4,6].

Myogenesis Process

Although mature myofibers are postmitotic cells, functional enrichment analysis highlighted cell cycle, gene expression and muscle development as important features to characterize contrasted LM and SM expression profiles. SM overexpressed genes were related to satellite cells activation (*IGF1*, *FGF18*), cell

Table 3. Relevant biological processes significantly enriched in clustered differentially expressed genes.

Cluster[1]	ES[2]	Specific GO term[3]	nG[4]	P-value[5]
1		**Energy metabolism**	**142**	
	7.7	GO:0006091~generation of precursor metabolites and energy	39	$<1E^{-12}$
	4.7	GO:0006629~lipid metabolic process	45	$<1E^{-12}$
	5.1	GO:0055114~oxidation reduction	41	$<1E^{-12}$
	9.2	GO:0015980~energy derivation by oxidation of organic compounds	24	$<1E^{-12}$
	10.3	GO:0045333~cellular respiration	18	$<1E^{-12}$
2		**Cell cycle**	**175**	
	2.8	GO:0044267~cellular protein metabolic process	110	$<1E^{-12}$
	2.5	GO:0006464~protein modification process	54	$1.9E^{-09}$
	4.4	GO:0006281~DNA repair	20	$3.7E^{-07}$
	6.8	GO:0051439~regulation of ubiquitin-protein ligase activity during mitotic cell cycle	9	$4.3E^{-05}$
	2.3	GO:0007049~cell cycle	32	$4.7E^{-05}$
3		**Gene expression**	**127**	
	5	GO:0016070~RNA metabolic process	113	$<1E^{-12}$
	3.4	GO:0010467~gene expression	119	$<1E^{-12}$
	7.7	GO:0006396~RNA processing	56	$<1E^{-12}$
	10.2	GO:0008380~RNA splicing	42	$<1E^{-12}$
	3.1	GO:0045449~regulation of transcription	66	$<1E^{-12}$
	2.8	GO:0010468~regulation of gene expression	68	$<1E^{-12}$
4		**Anatomical structure development**	**480**	
	2.1	GO:0009653~anatomical structure morphogenesis	87	$3.4E^{-10}$
	2.5	GO:0007155~cell adhesion	60	$1.3E^{-09}$
	1.8	GO:0065008~regulation of biological quality	97	$3.4E^{-08}$
	3.2	GO:0003012~muscle system process	27	$1.6E^{-06}$
	2.8	GO:0007517~muscle organ development	32	$1.9E^{-06}$
5		**Cell communication/immune response**	**123**	
	3.1	GO:0007154~cell communication	96	$<1E^{-12}$
	3.2	GO:0007165~signal transduction	89	$<1E^{-12}$
	1.8	GO:0050794~regulation of cellular process	97	$<1E^{-12}$
	7.3	GO:0006955~immune response	39	$<1E^{-12}$
	6.2	GO:0006954~ inflammatory response	17	$1.9E^{-08}$

[1]Differentially expressed genes were clustered using GO BP terms semantic similarity between genes as distance, to group functionally similar genes together.
[2]Cluster enrichment score (ES).
[3]Unique identifier and gene ontology term in the GO database (http://www.geneontology.org/).
[4]n_G, number of genes in the category.
[5]Benjamini and Hochberg adjusted P value.
doi:10.1371/journal.pone.0096491.t003

cycle control at G1 phase (*CCND2*, *CCND3* and cyclin-dependent kinase inhibitor, *CDKN1B*) and myoblast determination (*MYOD1*, *MRF4*). On the other hand, LM overexpressed genes were involved in the negative regulation of satellite cells activation (*MSTN*, *FST*), and cell cycle progression through G1/S, S/G2 or G2/M transition and in M phase. Hormonal control of satellite cells activation involved different growth factors including insulin-like growth factor I, which is a well-known hypertrophy factor acting on muscle mass and fibroblast growth factor [27,28]. In fact, insulin-like growth factor I induced myogenesis by activating satellite cells and promoting proliferation, differentiation and fusion with existing myoblast [27]. On the other hand, myostatin and its antagonist follistatin, overexpressed in LM, are both involved in the main signaling pathway that negatively regulates satellite cells activation [29,30]. *MSTN* is expressed in satellite cells and act on cell cycle progression to maintain the G1 resting state (G0) and limit muscle growth by inhibiting satellite cells activation and proliferation [31]. Follistatin antagonize myostatin inhibitory activity by direct protein interaction. Balance between follistatin and myostatin limit the recruitment of satellite cells [29].

Once activated, satellite cells proliferate before undergoing myogenic differentiation. Cells proliferation relies on kinases or E3 ubiquitin-protein ligases that regulate activity or stability (ubiquitination and subsequent proteasomal degradation) of key cell-cycle control proteins. Interestingly, we have identified "Cell cycle" and "Ubiquitin mediated proteolysis" among enriched pathways associated with cluster 2. Among E3 ubiquitin-protein ligases, Anaphase promoting complex/cyclosome (APC/C) genes (*ANAPC1*, *ANAPC4*, *CDC26*, *CDC27*) were overexpressed in LM. APC/C is a key regulator of the eukaryotic cell cycle acting on G0/G1 transition, through S and G2 phase, and during mitoses to ensure proper and correct succession of cell cycle key events [32–

Table 4. Relevant biological pathways significantly enriched in clustered differentially expressed genes.

Cluster[1]	ES[2]	Pathway name	Pathways	nG[3]	P-value[4]
1		**Energy metabolism**		**142**	
	7.7	Metabolic pathways	KEGG	84	$<1E^{-12}$
	15.7	Electron Transport Chain	Wikipathways	23	$<1E^{-12}$
	12.9	Oxidative phosphorylation	KEGG	22	$<1E^{-12}$
	13.1	Glycolysis and Gluconeogenesis	Wikipathways	8	$1.7E^{-07}$
	7.5	Fatty Acid Beta Oxidation	Wikipathways	8	$1.0E^{-05}$
	13.2	Citrate cycle (TCA cycle)	KEGG	5	$4.6E^{-05}$
2		**Cell cycle**		**175**	
	6.6	Cell cycle	KEGG	11	$9.8E^{-06}$
	5.3	Ubiquitin mediated proteolysis	KEGG	11	$4.8E^{-05}$
	6.4	p53 signaling pathway	KEGG	6	$1.0E^{-03}$
	5.1	Ribosome	KEGG	7	$1.1E^{-03}$
	5.8	Gap junction	KEGG	6	$1.2E^{-03}$
3		**Gene expression**		**127**	
	10.9	Spliceosome	KEGG	16	$<1E^{-12}$
	9.3	mRNA processing	Wikipathways	15	$1.5E^{-10}$
4		**Anatomical structure development**		**480**	
	5.9	ECM-receptor interaction	KEGG	15	$7.1E^{-07}$
	3.4	Focal adhesion	KEGG	25	$1.1E^{-06}$
	6.0	Striated Muscle Contraction	Wikipathways	12	$7.6E^{-06}$
	2.9	Tight junction	KEGG	14	$1.9E^{-03}$
	2.3	Regulation of actin cytoskeleton	KEGG	17	$3.3E^{-03}$
	2.9	Cell adhesion molecules (CAMs)	KEGG	10	$6.8E^{-03}$
5		**Cell communication/immune response**		**123**	
	13.8	Toll-like receptor signaling pathway	KEGG	11	$2.0E^{-09}$
	39	Complement Activation, Classical Pathway	Wikipathways	5	$1.9E^{-07}$
	5.0	Chemokine signaling pathway	KEGG	7	$7.0E^{-04}$
	5.7	Cell adhesion molecules (CAMs)	KEGG	5	$1.9E^{-03}$
	4.9	TNF alpha Signaling Pathway	Wikipathways	5	$4.5E^{-03}$

[1]Differentially expressed genes were clustered using GO BP terms semantic similarity between genes as distance, to group functionally similar genes together.
[2]Cluster enrichment score (ES).
[3]n_G, number of genes in the category.
[4]Benjamini and Hochberg adjusted P value.
doi:10.1371/journal.pone.0096491.t004

34]. On the other hand, Cyclin D (*CCND2*, *CCND3*) major regulatory proteins of the G1 phase and *CDKN1B* genes were overrepresented in SM. During G1 phase cyclin-dependent kinase inhibitor 1B binds to cyclin D-CDK4 complexes, and thus promote the cell cycle arrest at G1 [35].

Another step of myogenesis relies on myoblast determination and differentiation. Determination and differentiation of myoblast progenitor is governed by the expression of a family of four muscle specific transcription factors called myogenic regulatory factors (MRFs): *MYOD1*, *MYF6*, *MYF5* (myogenic factor 5) and *MYOG* (myogenin) [36]. *MYOD1* and *MYF6* were specifically overrepresented in SM. During satellite cells proliferation phase, *MYOD1* is expressed by activated satellite cells and governs myoblast lineage determination [36–38]. *MYF6* is expressed in undifferentiated proliferating cells as well as in differentiated myoblast. Myogenic factor 6 seems to be implicated in both roles: myogenic specification genes acting on activated satellite cells and terminal differentiation genes [27,36,37].

Collectively, this set of differentially expressed genes strongly suggests notable differences in myogenic progenitor recruitment, proliferation and differentiation between LM and SM. LM seems to limit satellite cells activation through myostatin pathway. However, once initiated, cell cycle seems to be completed in LM with overrepresentation of genes involved in the control of cell cycle key step (G1/S transition, S phase, S/G2 and G2/M transition, M phase). On the other hand, our results suggest that SM activates myogenic progenitors through insulin-like growth factor I, and that cells withdraw from cell cycle after mitosis at G1 phase allowing cell commitment to the differentiation program through MRFs expression.

Migration is a crucial step in myogenesis as it allows myoblasts alignment before fusion in myotubes. Myoblasts specifically fuse to each other to form myotube, and in a second phase fuse to existing myotubes for muscular development, muscular maintenance or regeneration process [39]. The largest functional cluster underlying skeletal muscle discrepancy was related to anatomical structure and muscle development GO BP terms and "ECM-receptor

interaction'' and ''Focal adhesion'' pathways. The extracellular matrix and cell adhesion molecule play an important role in myoblast mobility and fusion. *CDH2*, *CD44* and *CD164* (CD164 molecule, sialomucin), three genes coding for cell-surface glycoproteins, are involved in cell-cell interactions, cell adhesion and migration. CD44 and CD164 molecules are two transmembrane proteins playing a key role in myoblast motility regulation [40,41]. Cadherins have been implicated in embryonic myoblast fusion, post-natal myogenesis or even regeneration process [42–44]. *CAV3* gene encodes an integral membrane protein, is induced during myoblast differentiation and has been implicated in myoblast fusion regulation and myotubes formation [45,46]. Last, adiponectin (*ADIPOQ*) well known for its implication in glucose metabolic regulation, have been also implicated in an autocrine/paracrine signaling effects on myoblast differentiation and fusion [47,48]. These genes are overrepresented in SM. Our results suggest that, in SM, myoblast migration, alignment and fusion in myotubes are more active than in LM. Moreover, genes encoding giant sarcomeric protein such as *NEB* and *TTN* and genes encoding proteins of the sarcoplasmic reticulum membrane calcium release channel such as *RYR1* and *TRDN* as well as genes encoding contractile proteins such *MYH3*, *MYH8*, *MYH9* and *MYH11*, *TNNI3* and *TNNT2* are differentially expressed between LM and SM. These genes are involved in terminal differentiation of myoblasts in sarcomerogenesis and in sarcomeric structure stabilization and maintenance [49–53]. This set of differentially expressed genes suggests that sarcomere assembly and maintenance processes are important process to characterize contrasted LM and SM expression profile.

Altogether, regarding satellite cells activation, myoblast differentiation and fusion to form sarcomere, our results suggest higher myogenic activity in SM than in LM.

Muscle Regeneration Process

Last, functional enrichment analysis identified inflammatory immune response as relevant biological pathway to characterize LM and SM. SM overexpressed genes related to inflammatory response such as chemokine ligand (*CCL21* and *CCL23*) and complement component or factor (*C1QC*, *C1R*, *C1S*, *C3*, *C4A* and *CFB*). In accordance, several studies have reported an induction of replication factors and cyclins in early stage of proliferative phase following muscle injury. This induction is followed by upregulation of myogenic factor and cyclin dependant kinase inhibitors upon transition from proliferation phase to differentiation phase [54], as well as overexpression of genes involved in inflammatory process, myogenic differentiation and ECM remodeling [55–57]. Moreover, several genes products overexpressed in SM have been shown to be involved and specifically induced during muscle regeneration process. *ADIPOQ* is involved in the regenerative processes of skeletal muscle [47] whereas cadherins molecules are upregulated in activated satellite cells following injury [58]. Tenascin C and biglycan (*BGN*) two ECM glycoproteins are thought to be involved in muscle repair [59,60]. *BGN* mRNA expression which is low in mature myofibers, is highly upregulated during muscle regeneration in myoblast and newly formed/regenerating myotubes and is concomitant with the expression of embryonic isoform of myosin by these new myotubes [61]. Interestingly, SM re-expressed the embryonic (*MYH3*) and perinatal (*MYH8*) isoforms of myosin heavy chain which could be associated with muscle regeneration. In fact, embryonic and perinatal myosin isoforms disappear at birth and are progressively replaced by adult MHC [62,63] but re-expression of these developmental myosin isoform has already been reported during muscle regeneration [27,64]. Finally, insulin-like growth factor I have been implicated in muscle regeneration process and acting through a paracrine/autocrine regulation [27]. Thus, SM expression profile strongly suggests a regenerative muscular process which is characterized by expression of genes related to inflammatory response, fetal myogenic program and ECM proteins. While SM is used for locomotion, it could be therefore physiologically more active and subject to more minor lesions than the LM which is required for postural purpose. Thus, in SM, satellite cells might be activated and process to proliferation, myoblast differentiation and fusion for either muscle homeostasis or to form new multinucleated myotubes [27,65–67]. Concomitantly, the mechanism of sarcomere maintenance has to incorporate newly synthesized contractile proteins [68].

In conclusion, our study aimed to identify the biological events that underlie the differences between LM and SM metabolic and contractile properties by comparing their gene expression profiles. Results shed light on differentially expressed genes mainly related to myogenesis processes which suggests dissimilar post-natal myogenic activity between the two muscles. However we cannot presume if this results from dissimilar muscle maturity and/or from regeneration process occurring mainly in SM. This variability could affect muscle development and hence meat quality traits [13,69], thus skeletal muscle specificity should be taken into account to determine important features for meat quality traits and identify useful biomarkers of pork quality.

Methods

Ethics Statement

All samples analyzed in this study were collected post-mortem, from pigs raised and slaughtered in the context of pig meat production. These animals and the scientific investigations described herein are therefore not to be considered as experimental animals per se, as defined in EU directive 2010/63 and subsequent national application texts. Consequently, we did not seek ethical review and approval of this study as regarding the use of experimental animals. All animals were reared and slaughtered in compliance with national regulations pertaining to livestock production and according to procedures approved by the French Veterinary Services. Pigs were raised on the France Hybrides nucleus herd of Sichamps and slaughtered on the ORLEANS Viandes commercial EU approved slaughterhouse according to standard procedures (ORLEANS Viandes, Fleury-les-Aubrais, France).

Animals and Study Design

Analyses presented here were performed on a subset of larger cohort, and defined as two half sibs family of 41 and 49 animals. The 90 pigs used in this study were non modified domestic pigs produced as an intercross on two successive generations between two terminal sire lines (FH016, Pietrain type line, and FH019 synthetic line from Duroc, Large White and Hampshire founders, FRANCE HYBRIDES, St Jean de Braye, France). See Cherel et al. [70] for details. All animals were raised on the same farm and slaughtered at an average body weight of 108 kg in the same commercial slaughterhouse according to standard procedures for commercial slaughtering (ORLEANS Viandes, Fleury-les-Aubrais, France). Average age was 151 days at slaughtering. Slaughtering method entailed exsanguination following electric stunning. The Longissimus and Semimembranosus muscles were sampled 20 minutes post-mortem at the same time point following exsanguination from the same carcasses. To minimize biopsy site variation, each sample type (i.e. LM or SM) was collected by a single operator. Muscle samples were collected using a manual trocar

instrument and are localize in the superficial regions of the muscle. Muscle sample were immediately frozen in liquid nitrogen. All animals were genotyped as homozygous wild type genotypes NN and rn+rn+ with regard to the HAL and RN loci, respectively [71,72].

Total RNA Extraction

Total RNA was extracted by crushing the frozen tissue in Trizol reagent (Invitrogen, Cergy-Pontoise, France) and purified using Nucleospin RNA II Kit (Macherey-Nagel, Lyon, France). Total RNA was quantified using a NanoDrop ND-1000 spectrophotometer (Thermo Scientific, Illkirch, France) and the integrity was assessed using the Agilent RNA 6000 Nano kit with an Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies France, Massy, France). The RNA integrity number (RIN) was above eight for all samples.

Microarray Design

The "GenmascqChip", a custom 15 k pig skeletal muscle microarray was used in this study [15]. Microarray annotation was produces using BLAST 2.2.23+ [73] for megaBLAST analysis of the 15198 oligonucleotides sequences (60 mers) printed on the microarray against ENSEMBL cDNA and NCBI refSeq mammal databases. Annotation was based on similarity and quality criteria [74]. Among the 15198 probes of the GenmascqChip, 12939 probes (i.e. 85% of the oligonucleotides) have been linked to a unique annotated sequence and to 9169 unique genes (i.e., 30% of redundancy). An 8×15 K oligo-microarray Agilent format was chosen, therefore one probe per microarray and eight microarrays were fitted in each slide. Description of the GenmascqChip is publicly available into the GEO repository (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/) through GEO platform accession no. GPL11016.

Microarray Hybridization

Total RNA (350 ng) from each sample (90 LM, 90 SM) was individually labeled with Cy3 using the Low RNA Input Linear Amplification Kit PLUS, One-Color (ref 5188–5339, Agilent Technologies, Massy, France) following the manufacturer's instructions. Microarray hybridizations were carried out at 65°C for 17 hours in Agilent's SureHyb Hybridization Chambers containing 600 ng of Cy3-labeled cRNA sample. Slides were disassembled and washed in Gene Expression Wash Buffer 1 for 1 minute at room temperature and then in Gene Expression Wash Buffer 2 for 1 minute at 37°C. Microarrays were scanned at 5 µm/pixel resolution using the Agilent DNA Microarray Scanner G2505B, and images were analyzed with Agilent Feature Extraction Software (Version 9.5), using the GE2-v5_95_Feb07 FE extraction protocol. These MIAME compliant microarray data have been deposited into the GEO repository (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/) and are publicly available through GEO Series accession no. GSE33957.

Microarray Data Analysis

All statistical analyses were performed using R software version 2.8.1 [75]. Raw spots intensities were first submitted to quality filtration based on intensity, uniformity and saturation criteria. All probes with more than 50% quality flagged spots within muscle were deleted from this study whereas remaining probes were considered significantly expressed in skeletal muscle. Processed signal intensities from filtered probes were natural log transformed and centered within sample by subtraction of the sample median value. Within probes, all spots that deviated by more than three times the standard deviation from the mean were considered as outliers and deleted from further analysis. All probes whose spots were flagged or detected as outliers within more than 50% of samples per muscles were also removed from the analysis. To increase the robustness of differential expression analysis, probes with the smallest expression variability across samples were filtered out using K-means algorithm (k = 3) [76]. For each remaining probes, raw expression data were analyzed according to the following linear model of variance:

Y = Sex+Slaughter Batch+Hybridization Batch within Sire+Carcass Weight+Muscle+E.

Where Y is the raw expression data; Sex is the fixed effect of sex (2 levels), Slaughter Batch (2 levels) represent the effect of the slaughter season (summer or winter); Hybridization Batch within Sire represent the effect of the hybridization batch per Sire family (9 levels for Sire Family level 1, 11 levels for Sire Family level 2); Carcass Weight is a covariable to take into account the animal weight at slaughter time; Muscle is the fixed effect of the Muscle (2 levels) and E is the residual. All effects exceeding the significant level of $P<0.2$, were kept in the model. The muscle effect was kept in each model. P-values were adjusted according to Benjamini and Hochberg multiple testing correction procedure [77]. Differentially expressed probes were selected using adjusted P-values of 0.05 or less. Adjusted means for LM and SM were calculated using lsmeans function for the muscle effect (package lsmeans). Differentially expressed probes were assigned as overrepresented in LM or overrepresented in SM according to the greatest mean. Fold change value is expressed as ratio of the greatest to the least mean: the expression ratio of LM to SM muscle effect when genes are overrepresented in LM and as the expression ratio of SM to LM muscle effect when genes are overrepresented in SM.

Validation of Microarray Data: Reverse Transcription and Quantitative Real Time PCR (RT-qPCR)

RT-qPCR was performed using SYBR Green methodology to validate seven differentially expressed genes: ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 8 (*ADAMTS8*); aldolase A fructose-bisphosphate (*ALDOA*); CCAAT/enhancer binding protein alpha (*CEBPA*); muscle carnitine palmitoyltransferase 1B (*CPT1B*); diacylglycerol O-acyltransferase 2 (*DGAT2*); ryanodine receptor 1 (*RYR1*) and transforming growth factor beta 1 (*TGFB1*). Eight animals identified as non-outliers in microarray analysis were randomly chosen to validate those genes. Complementary DNA was synthesized from 2 µg of total RNA previously used in microarray analysis, using High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA). Primers (Table 5) were designed from porcine sequences using Primer Express software 3.0 (Applied Biosystems). Amplification was performed in triplicate, in 12.5 µl with 5 ng of reverse-transcribed RNA and both forward and reverse primers (200 nM each) in 1X PCR buffer (Fast SYBR Green Master Mix, Applied Biosystems) containing Uracil DNA glycosylase to prevent any DNA contamination from previous PCR. A StepOnePlus™ Real Time PCR system (Applied Biosystems) was used. Thermal cycling conditions were as follows: 50°C for 2 min, 95°C for 20 s, followed by 40 cycles of denaturation at 95°C for 3 s and annealing at 60°C for 30 s. Specificity of the amplification products was checked by dissociation curves analysis. Three genes were selected as stable reference genes for normalization using geNorm algorithm [78]: beta 2 microglobulin (*B2M*), TATAbox binding protein (*TBP*) and *18S* (*18S* rRNA predeveloped TaqMan kit from Applied Biosystems). For each sample, a normalization factor (NF) was calculated using geNorm algorithm and used for subsequent normalization. The normalized expression level (N_{exp}) was calculated according to the following formula: $N_{exp} = E^{-\Delta Ct\,(sample\text{-}calibrator)}/NF$, where the calibrator is a pool of the 16

Table 5. Primers pairs used in quantitative real-time RT-PCR.

Target gene[1]	GenBank Accession[2]	Primers pair sequences (Forward/Reverse)
ADAMTS8	BI360058	ACCCCTCCAGCTATGGCTACA
		TGGATGGCTCCGCTGTTT
ALDOA	CB286787	CGCTGTCCCTGGGATCAC
		GCACTTGTTGATGGCGTTGA
CEBPA	AF103944.1	GTGGACAAGAACAGCAACGA
		CTCCAGCACCTTCTGTTGAG
CPT1B	AF284832	CACTGTCTGGGCAAACCAAA
		GCCACCTGGTAGGAACTCTCAAT
DGAT2	DT325702	CCTGATGTCTGGAGGCATCTG
		CACGATGATGATGGCATTGC
RYR1	M91451	CCCTGTGTGTGTGCAATGG
		GTTTGTCTGCAGCAGAAGCT
TGFB1	AF461808	AGCGGCAACCAAATCTATGATAA
		CGACGTGTTGAACAGCATATATAAGC
B2M[3]	DQ178123	AAACGGAAAGCCAAATTACC
		ATCCACAGCGTTAGGAGTGA
TBP[3]	DQ845178	AACAGTTCAGTAGTTATGAGCCAG
		AGATGTTCTCAAACGCTTCG

[1]ADAMTS8, ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif, 8; ALDOA, aldolase A, fructose-bisphosphate; B2M, beta-2-microglobulin; CEBPA, CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), alpha; CPT1B, carnitine palmitoyltransferase 1B (muscle); DGAT2, diacylglycerol O-acyltransferase 2; RYR1, ryanodine receptor 1 (skeletal); TBP1, TATA box binding protein; TGFB1, transforming growth factor, beta 1.
[2]Accession number of the Sus scrofa sequence used to design primers.
[3]Gene used as reference for normalization.
doi:10.1371/journal.pone.0096491.t005

skeletal muscle samples and E is the PCR efficiency calculated from the slope of calibration curve. Normalized expression levels of mRNAs were then compared between muscle using the Student t-test and P-value ≤ 0.05 for significance.

Functional Analysis

To facilitate functional categorization of differentially expressed genes, we used hierarchical clustering of genes based on semantic similarity of GO BP terms. Semantic similarity was calculated between each pairwise combination of differentially expressed genes with a muscle fold change ratio (i.e. ratio of the greatest to the least muscle effect) above 1.5. Similarity was computed according to semantic similarity measures based on the method of Wang [26] implemented in the GOSemSim package [79]. Two genes that shared several GO BP terms result in similarity value close to one, indicating that they are similar in terms of biological process. Conversely dissimilar genes result in similarity value close to zero. Then hierarchical clustering was performed using "1-semantic similarity" as distance between two genes (similar genes have a distance close to zero) and "ward" as aggregation criterion to identify clusters of genes that share BP terms.

Functional characterization of clustered genes was performed using Gene Set Analysis Toolkit V2 (WebGestalt, http://bioinfo.vanderbilt.edu/webgestalt/) [80,81] using BP GO terms, KEGG pathways [82] and WikiPathways [83]. The lists of genes were uploaded using orthologous human ENTREZ gene ID. A minimum of five genes was required for a term to be considered of interest. For each terms of interest, significance levels were calculated following a hypergeometrical test using GenmascqChip 15K orthologous human ENTREZ gene ID as background. A multiple testing correction P-value was calculated according to Benjamini and Hochberg procedure and an adjusted P-value of 0.05 or less was retained for significance.

Supporting Information

Table S1 Genes overexpressed in *Longissimus*. Results were expressed as the *Longissimus* to *Semimembranosus* ratio of the gene expression. The P-value of each gene was adjusted according to the Benjamini and Hochberg procedure. Differentially expressed probes were selected using adjusted P-values of 0.05 or less. Redundancy represented the number of probes per gene. In this list, 240 genes had more than one probe.
(XLSX)

Table S2 Genes overexpressed in *Semimembranosus*. Results were expressed as the *Longissimus* to *Semimembranosus* ratio of the gene expression. The P-value of each gene was adjusted according to the Benjamini and Hochberg procedure. Differentially expressed probes were selected using adjusted P-values of 0.05 or less. Redundancy represented the number of probes per gene. In this list, 413 genes had more than one probe.
(XLSX)

Table S3 Functional cluster composition. Annotated differentially expressed genes with a muscle fold change above 1.5 were clustered based on their functional annotation (GO BP) semantic similarity. Hierarchical clustering was performed using "1-semantic similarity" as distance between two genes (similar genes have a distance close to zero) to identify clusters of genes sharing BP terms.
(XLSX)

Table S4 Enriched biological process of clustered differentially expressed genes. Functional characterization of clustered genes was performed using Gene Set Analysis Toolkit V2 (WebGestalt, http://bioinfo.vanderbilt.edu/webgestalt/) using BP GO terms. The lists of genes were uploaded using orthologous human ENTREZ gene ID. A minimum of five genes was required for a term to be considered of interest. For each terms of interest, significance levels were calculated following a hypergeometrical test using GenmascqChip 15 K orthologous human ENTREZ gene ID as background. A multiple testing correction P-value was calculated according to Benjamini and Hochberg procedure and an adjusted P-value of 0.05 or less was retained for significance. (XLSX)

Table S5 Enriched pathways of clustered differentially expressed genes. Pathway analysis of clustered genes was performed using Gene Set Analysis Toolkit V2 (WebGestalt, http://bioinfo.vanderbilt.edu/webgestalt/) using KEGG pathways and WikiPathways. The lists of genes were uploaded using orthologous human ENTREZ gene ID. A minimum of five genes was required for a term to be considered of interest. For each terms of interest, significance levels were calculated following a hypergeometrical test using GenmascqChip 15 K orthologous human ENTREZ gene ID as background. A multiple testing correction P-value was calculated according to Benjamini and Hochberg procedure and an adjusted P-value of 0.05 or less was retained for significance. (XLSX)

Acknowledgments

The authors thank Jean-François Nicolaon and the staff from the France Hybrides nucleus herd of Sichamps for experimental animal care and identification, Rachel Marie, Laurent Letelu, Caroline Cordebois and Najate Aït-Ali for excellent technical assistance, and the Orléans-Viandes abattoir for their assistance in tracking animals and carcasses and J. Glénisson, L. Letelu, and J. Pires (Hendrix Genetics RTC, St. Jean de Braye, France).

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: PC PLR MD. Performed the experiments: AV. Analyzed the data: FH. Contributed reagents/materials/analysis tools: AV FH MD OD. Wrote the paper: FH MD.

References

1. Schwab CR, Baas TJ, Stalder KJ, Mabry JW (2006) Effect of long-term selection for increased leanness on meat and eating quality traits in Duroc swine. Journal of Animal Science 84: 1577–1583.
2. Rosenvold K, Andersen HJ (2003) Factors of significance for pork quality–a review. Meat Sci 64: 219–237.
3. Lefaucheur L (2010) A second look into fibre typing - Relation to meat quality. Meat Sci 84: 257–270.
4. Gentry JG, McGlone JJ, Miller MF, Blanton JR Jr (2004) Environmental effects on pig performance, meat quality, and muscle characteristics. J Anim Sci 82: 209–217.
5. Lefaucheur L, Lebret B, Ecolan P, Louveau I, Damon M, et al. (2010) Muscle characteristics and meat quality traits are affected by divergent selection on residual feed intake in pigs. J Anim Sci: 996–1010.
6. Melody JL, Lonergan SM, Rowe LJ, Huiatt TW, Mayes MS, et al. (2004) Early postmortem biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles. J Anim Sci 82: 1195–1205.
7. Ruusunen M, Puolanne E (2004) Histochemical properties of fibre types in muscles of wild and domestic pigs and the effect of growth rate on muscle fibre properties. Meat Sci 67: 533–539.
8. Gorni C, Garino C, Iacuaniello S, Castiglioni B, Stella A, et al. (2010) Transcriptome analysis to identify differential gene expression affecting meat quality in heavy Italian pigs. Anim Genet: 161–171.
9. Kwasiborski A, Rocha D, Terlouw C (2009) Gene expression in Large White or Duroc-sired female and castrated male pigs and relationships with pork quality. Anim Genet 40: 852–862.
10. Liu J, Damon M, Guitton N, Guisle I, Ecolan P, et al. (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: 3808–38017.
11. Lobjois V, Liaubet L, SanCristobal M, Glénisson J, Fève K, et al. (2008) A muscle transcriptome analysis identifies positional candidate genes for a complex trait in pig. Anim Genet 39: 147–162.
12. Ponsuksili S, Murani E, Phatsara C, Jonas E, Walz C, et al. (2008) Expression profiling of muscle reveals transcripts differentially expressed in muscle that affect water-holding capacity of pork. J Agric Food Chem 56: 10311–10317.
13. Moreno-Sánchez N, Rueda J, Carabaño M, Reverter A, McWilliam S, et al. (2010) Skeletal muscle specific genes networks in cattle. Functional & Integrative Genomics 10: 609–618.
14. Melody JL, Lonergan SM, Rowe LJ, Huiatt TW, Mayes MS, et al. (2004) Early postmortem biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles. J Anim Sci 82: 1195–1205.
15. Damon M, Herault F, Vincent A, Le Roy P, Cherel P (2011) Characterization of a pig skeletal muscle microarray to study pork quality: the GenmascqChip 15K. Nature Precedings. 10.1038/npre.2011.5730.1031.
16. Bai Q, McGillivray C, da Costa N, Dornan S, Evans G, et al. (2003) Development of a porcine skeletal muscle cDNA microarray: analysis of differential transcript expression in phenotypically distinct muscles. BMC Genomics 4: 8.
17. Hornshøj H, Conley LN, Hedegaard J, Sørensen P, Panitz F, et al. (2007) Microarray expression profiles of 20.000 genes across 23 healthy porcine tissues. PLoS ONE 2: e1203.
18. Li Y, Xu Z, Li H, Xiong Y, Zuo B (2010) Differential transcriptional analysis between red and white skeletal muscle of Chinese Meishan pigs. Int J Biol Sci 6: 350–360.
19. Campbell WG, Gordon SE, Carlson CJ, Pattison JS, Hamilton MT, et al. (2001) Differential global gene expression in red and white skeletal muscle. Am J Physiol Cell Physiol 280: C763–768.
20. Zhu B, Ping G, Shinohara Y, Zhang Y, Baba Y (2005) Comparison of gene expression measurements from cDNA and 60-mer oligonucleotide microarrays. Genomics 85: 657–665.
21. Li J, Pankratz M, Johnson JA (2002) Differential Gene Expression Patterns Revealed by Oligonucleotide Versus Long cDNA Arrays. Toxicological Sciences 69: 383–390.
22. Kuo WP, Jenssen T-K, Butte AJ, Ohno-Machado L, Kohane IS (2002) Analysis of matched mRNA measurements from two different microarray technologies. Bioinformatics 18: 405–412.
23. Tan PK, Downey TJ, Spitznagel EL Jr, Xu P, Fu D, et al. (2003) Evaluation of gene expression measurements from commercial microarray platforms. Nucleic Acids Research 31: 5676–5684.
24. Stretch C, Khan S, Asgarian N, Eisner R, Vaisipour S, et al. (2013) Effects of Sample Size on Differential Gene Expression, Rank Order and Prediction Accuracy of a Gene Signature. PLoS ONE 8: e65380.
25. Quackenbush J (2001) Computational analysis of microarray data. Nat Rev Genet 2: 418–427.
26. Wang JZ, Du Z, Payattakool R, Yu PS, Chen C-F (2007) A new method to measure the semantic similarity of GO terms. Bioinformatics 23: 1274–1281.
27. Chargé SBP, Rudnicki MA (2004) Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. Physiol Rev 84: 209–238.
28. Kuang S, Gillespie MA, Rudnicki MA (2008) Niche regulation of muscle satellite cell self-renewal and differentiation. Cell Stem Cell 2: 22–31.
29. Amthor H, Nicholas G, McKinnell I, Kemp CF, Sharma M, et al. (2004) Follistatin complexes Myostatin and antagonises Myostatin-mediated inhibition of myogenesis. Dev Biol 270: 19–30.
30. McPherron AC, Lee SJ (1997) Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. Proc Natl Acad Sci U S A 94: 12457–12461.
31. McCroskery S, Thomas M, Maxwell L, Sharma M, Kambadur R (2003) Myostatin negatively regulates satellite cell activation and self-renewal. J Cell Biol 162: 1135–1147.
32. Baker DJ, Dawlaty MM, Galardy P, van Deursen JM (2007) Mitotic regulation of the anaphase-promoting complex. Cell Mol Life Sci 64: 589–600.
33. Peters J-M (2002) The anaphase-promoting complex: proteolysis in mitosis and beyond. Mol Cell 9: 931–943.
34. van Leuken R, Clijsters L, Wolthuis R (2008) To cell cycle, swing the APC/C. Biochim Biophys Acta 1786: 49–59.
35. Blomen VA, Boonstra J (2007) Cell fate determination during G1 phase progression. Cell Mol Life Sci 64: 3084–3104.
36. Braun T, Gautel M (2011) Transcriptional mechanisms regulating skeletal muscle differentiation, growth and homeostasis. Nat Rev Mol Cell Biol 12: 349–361.
37. Berkes CA, Tapscott SJ (2005) MyoD and the transcriptional control of myogenesis. Semin Cell Dev Biol 16: 585–595.
38. Zammit PS (2008) All muscle satellite cells are equal, but are some more equal than others? J Cell Sci 121: 2975–2982.
39. Richardson BE, Nowak SJ, Baylies MK (2008) Myoblast fusion in fly and vertebrates: new genes, new processes and new perspectives. Traffic 9: 1050–1059.

40. Bae G-U, Gaio U, Yang Y-J, Lee H-J, Kang J-S, et al. (2008) Regulation of myoblast motility and fusion by the CXCR4-associated sialomucin, CD164. J Biol Chem 283: 8301–8309.
41. Mylona E, Jones KA, Mills ST, Pavlath GK (2006) CD44 regulates myoblast migration and differentiation. J Cell Physiol 209: 314–321.
42. Charlton CA, Mohler WA, Radice GL, Hynes RO, Blau HM (1997) Fusion competence of myoblasts rendered genetically null for N-cadherin in culture. J Cell Biol 138: 331–336.
43. Hollnagel A, Grund C, Franke WW, Arnold H-H (2002) The cell adhesion molecule M-cadherin is not essential for muscle development and regeneration. Mol Cell Biol 22: 4760–4770.
44. Mege RM, Goudou D, Diaz C, Nicolet M, Garcia L, et al. (1992) N-cadherin and N-CAM in myoblast fusion: compared localisation and effect of blockade by peptides and antibodies. J Cell Sci 103 (Pt 4): 897–906.
45. Galbiati F, Volonte D, Engelman JA, Scherer PE, Lisanti MP (1999) Targeted down-regulation of caveolin-3 is sufficient to inhibit myotube formation in differentiating C2C12 myoblasts. Transient activation of p38 mitogen-activated protein kinase is required for induction of caveolin-3 expression and subsequent myotube formation. J Biol Chem 274: 30315–30321.
46. Volonte D, Peoples AJ, Galbiati F (2003) Modulation of myoblast fusion by caveolin-3 in dystrophic skeletal muscle cells: implications for Duchenne muscular dystrophy and limb-girdle muscular dystrophy-1C. Mol Biol Cell 14: 4075–4088.
47. Fiaschi T, Cirelli D, Comito G, Gelmini S, Ramponi G, et al. (2009) Globular adiponectin induces differentiation and fusion of skeletal muscle cells. Cell Res 19: 584–597.
48. Liu Y, Chewchuk S, Lavigne C, Brulé S, Pilon G, et al. (2009) Functional significance of skeletal muscle adiponectin production, changes in animal models of obesity and diabetes, and regulation by rosiglitazone treatment. American Journal of Physiology - Endocrinology And Metabolism 297: E657–E664.
49. Ferrante MI, Kiff RM, Goulding DA, Stemple DL (2011) Troponin T is essential for sarcomere assembly in zebrafish skeletal muscle. J Cell Sci 124: 565–577.
50. Kontrogianni-Konstantopoulos A, Ackermann MA, Bowman AL, Yap SV, Bloch RJ (2009) Muscle giants: molecular scaffolds in sarcomerogenesis. Physiol Rev 89: 1217–1267.
51. Lange S, Ehler E, Gautel M (2006) From A to Z and back? Multicompartment proteins in the sarcomere. Trends Cell Biol 16: 11–18.
52. Rui Y, Bai J, Perrimon N (2010) Sarcomere formation occurs by the assembly of multiple latent protein complexes. PLoS Genet 6: e1001208.
53. Tonino P, Pappas CT, Hudson BD, Labeit S, Gregorio CC, et al. (2010) Reduced myofibrillar connectivity and increased Z-disk width in nebulin-deficient skeletal muscle. J Cell Sci 123: 384–391.
54. Yan Z, Choi S, Liu X, Zhang M, Schageman JJ, et al. (2003) Highly coordinated gene regulation in mouse skeletal muscle regeneration. J Biol Chem 278: 8826–8836.
55. Goetsch SC, Hawke TJ, Gallardo TD, Richardson JA, Garry DJ (2003) Transcriptional profiling and regulation of the extracellular matrix during muscle regeneration. Physiol Genomics 14: 261–271.
56. Frenette J, Cai B, Tidball JG (2000) Complement Activation Promotes Muscle Inflammation during Modified Muscle Use. The American journal of pathology 156: 2103–2110.
57. Warren GL, Summan M, Gao X, Chapman R, Hulderman T, et al. (2007) Mechanisms of skeletal muscle injury and repair revealed by gene expression studies in mouse models. The Journal of Physiology 582: 825–841.
58. Chargé SBP, Rudnicki MA (2004) Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. Physiol Rev 84: 209–238.
59. Chiquet M (1999) Regulation of extracellular matrix gene expression by mechanical stress. Matrix Biol 18: 417–426.
60. Flück M, Mund SI, Schittny JC, Klossner S, Durieux A-C, et al. (2008) Mechano-regulated tenascin-C orchestrates muscle repair. Proc Natl Acad Sci U S A 105: 13662–13667.
61. Casar JC, McKechnie BA, Fallon JR, Young MF, Brandan E (2004) Transient up-regulation of biglycan during skeletal muscle regeneration: delayed fiber growth along with decorin increase in biglycan-deficient mice. Dev Biol 268: 358–371.
62. Lefaucheur L, Edom F, Ecolan P, Butler-Browne GS (1995) Pattern of muscle fiber type formation in the pig. Dev Dyn 203: 27–41.
63. Picard B, Lefaucheur L, Berri C, Duclos MJ (2002) Muscle fibre ontogenesis in farm animal species. Reprod Nutr Dev 42: 415–431.
64. Whalen RG, Harris JB, Butler-Browne GS, Sesodia S (1990) Expression of myosin isoforms during notexin-induced regeneration of rat soleus muscles. Dev Biol 141: 24–40.
65. Le Grand F, Rudnicki MA (2007) Skeletal muscle satellite cells and adult myogenesis. Curr Opin Cell Biol 19: 628–633.
66. Wagers AJ, Conboy IM (2005) Cellular and molecular signatures of muscle regeneration: current concepts and controversies in adult myogenesis. Cell 122: 659–667.
67. Zammit PS (2008) All muscle satellite cells are equal, but are some more equal than others? J Cell Sci 121: 2975–2982.
68. Michele DE, Albayya FP, Metzger JM (1999) Thin filament protein dynamics in fully differentiated adult cardiac myocytes: toward a model of sarcomere maintenance. J Cell Biol 145: 1483–1495.
69. Cánovas A, Varona L, Burgos C, Galve A, Carrodeguas JA, et al. (2012) Early postmortem gene expression and its relationship to composition and quality traits in pig Longissimus dorsi muscle. J Anim Sci: 3325–3336.
70. Cherel P, Herault 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.
71. Otsu K, Phillips MS, Khanna VK, de Leon S, MacLennan DH (1992) Refinement of diagnostic assays for a probable causal mutation for porcine and human malignant hyperthermia. Genomics 13: 835–837.
72. Milan D, Jeon J-T, Looft C, Amarger V, Robic A, et al. (2000) A Mutation in PRKAG3 Associated with Excess Glycogen Content in Pig Skeletal Muscle. Science 288: 1248–1251.
73. Camacho C, Coulouris G, Avagyan V, Ma N, Papadopoulos J, et al. (2009) BLAST+: architecture and applications. BMC Bioinformatics 10: 421.
74. Casel P, Moreews F, Lagarrigue S, Klopp C (2009) sigReannot: an oligo-set re-annotation pipeline based on similarities with the Ensembl transcripts and Unigene clusters. BMC Proc 3 Suppl 4: S3.
75. R Development Core Team (2011) R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
76. Hackstadt AJ, Hess AM (2009) Filtering for increased power for microarray data analysis. BMC Bioinformatics 10: 11.
77. Benjamini Y, Hochberg Y (1995) Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. Journal of the Royal Statistical Society, Series B (Methodological) 57: 289–300.
78. Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, Poppe B, Van Roy N, et al. (2002) Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. Genome Biol 3: RESEARCH0034.
79. Yu G, Li F, Qin Y, Bo X, Wu Y, et al. (2010) GOSemSim: an R package for measuring semantic similarity among GO terms and gene products. Bioinformatics 26: 976–978.
80. Duncan D, Prodduturi N, Zhang B (2010) WebGestalt2: an updated and expanded version of the Web-based Gene Set Analysis Toolkit. BMC Bioinformatics 11: P10.
81. Zhang B, Kirov S, Snoddy J (2005) WebGestalt: an integrated system for exploring gene sets in various biological contexts. Nucleic Acids Res 33: W741–748.
82. Kanehisa M, Goto S (2000) KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. Nucleic Acids Research 28: 27–30.
83. Kelder T, van Iersel MP, Hanspers K, Kutmon M, Conklin BR, et al. (2011) WikiPathways: building research communities on biological pathways. Nucleic Acids Research: 10.1093/nar/gkr1074.

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS ONE

Correction

Correction: The *Longissimus* and *Semimembranosus* Muscles Display Marked Differences in Their Gene Expression Profiles in Pig

The *PLOS ONE* Staff

The images for Figure 2 and Figure 3 are switched. Please see the correct figures and legends here.

Citation: The *PLOS ONE* Staff (2014) Correction: The *Longissimus* and *Semimembranosus* Muscles Display Marked Differences in Their Gene Expression Profiles in Pig. PLoS ONE 9(6): e100113. doi:10.1371/journal.pone.e100113

Published June 6, 2014

Copyright: © 2014 The *PLOS ONE* Staff. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

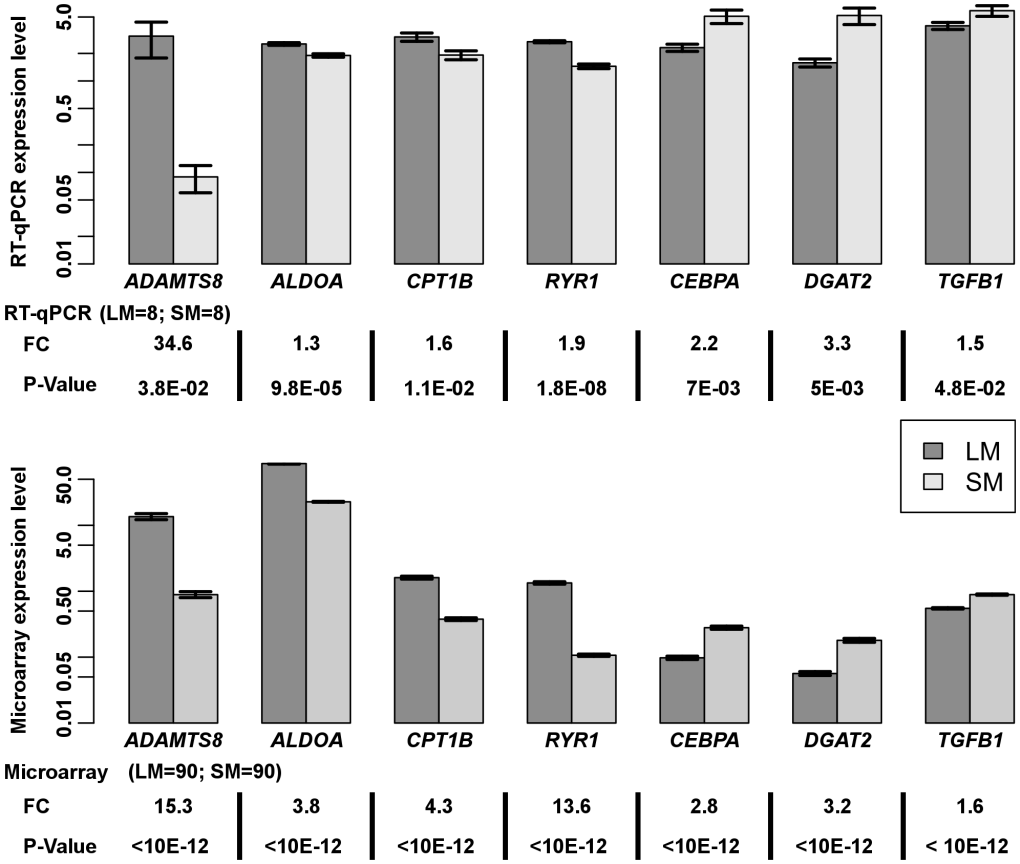


Figure 2. Validation of seven microarray differentially expressed genes between Longissimus (LM) and Semimembranosus (SM) muscles by quantitative RT-PCR. mRNA level is expressed using arbitrary units. Quantitative RT-PCR expression levels (LM = 8, SM = 8) were normalized to the expression of beta 2 microglobulin (*B2M*), TATAbox binding protein (*TBP*) and *18S* using geNorm algorithm. Microarray adjusted means for LM and SM (LM = 90; SM = 90) were calculated using least square means for the muscle effect. Data are expressed as means±s.d. Statistical significances are reported below the plot as Benjamini and Hochberg adjusted P-value for microarray data and as Student t-test P value for q RT-PCR. Fold change ratio is expressed as the expression ratio of LM to SM when genes are overrepresented in LM and as the expression ratio of SM to LM when genes are overrepresented in SM.
doi:10.1371/journal.pone.0096491.g002

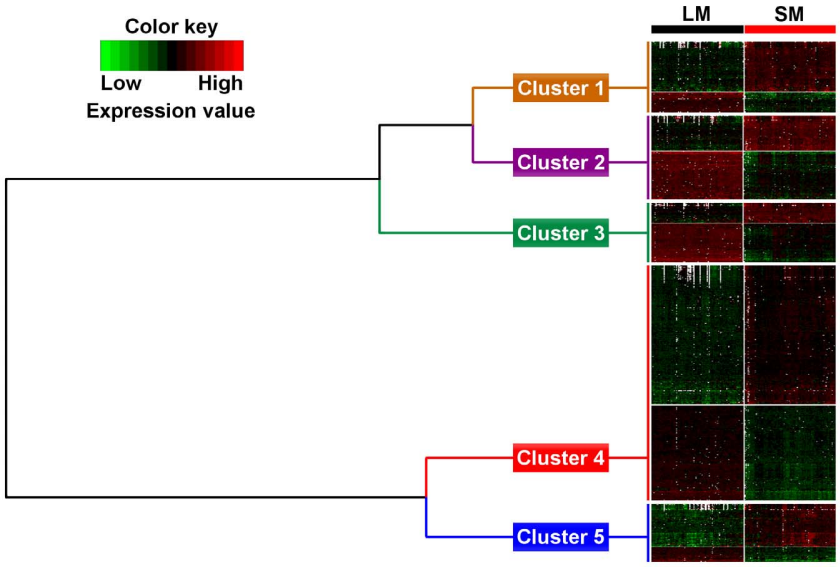


Figure 3. Hierarchical clustering of differentially expressed genes according to their GO BP terms semantic similarity. Annotated differentially expressed genes with a muscle fold change above 1.5 were clustered based on their functional annotation (GO BP) semantic similarity. Hierarchical clustering was performed using "1-semantic similarity" as distance between two genes (similar genes have a distance close to zero) to identify clusters of genes sharing BP terms. Five clusters were identified. Cluster 1 comprised 98 genes highly expressed in SM and 44 in LM. Cluster 2 included 73 highly expressed genes in SM and 102 in LM. Cluster 3 contained 43 highly expressed genes in SM and 84 in LM. Cluster 4 comprised 288 genes overexpressed in SM and 192 in LM. Cluster 5 involved 90 overexpressed genes in SM and 33 overexpressed genes in LM.
doi:10.1371/journal.pone.0096491.g003

Reference

1. Herault F, Vincent A, Dameron O, Le Roy P, Cherel P et al (2014) The *Longissimus* and *Semimembranosus* Muscles Display Marked Differences in Their Gene Expression Profiles in Pig. PLoS ONE 9(5): e96491. doi:10.1371/journal.pone.0096491

Bibliographie

P. Cherel, F. Hérault, A. Vincent, P. Le Roy et M. Damon : Genetic variability of transcript abundance in pig skeletal muscle at slaughter : Relationships with meat quality traits. *Journal of Animal Science*, 90(3):699–708, mars 2012. ISSN 0021-8812. URL https://academic.oup.com/jas/article/90/3/699/4764446. 179

H. Hornshøj, L. N. Conley, J. Hedegaard, P. Sørensen, F. Panitz et C. Bendixen : Microarray Expression Profiles of 20.000 Genes across 23 Healthy Porcine Tissues. *PLoS ONE*, 2(11):e1203, nov. 2007. ISSN 1932-6203. URL https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2065904/. 179

D. Laborde, A. Talmant, G. Monin, R. Dauzat, J. F. Gardette et P. Vernin : Activités enzymatiques métaboliques et contractiles de 30 muscles du Porc. Relations avec le pH ultime atteint après la mort. *Reproduction Nutrition Développement*, 25(4A):619–628, 1985. ISSN 0181-1916. URL https://doi.org/10.1051/rnd:19850503. 179, 180

J. L. Melody, S. M. Lonergan, L. J. Rowe, T. W. Huiatt, M. S. Mayes et E. Huff-Lonergan : Early postmortem biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles. *Journal of Animal Science*, 82(4):1195–1205, avr. 2004. ISSN 0021-8812. URL https://academic.oup.com/jas/article/82/4/1195/4835342. 179, 180

J. Quackenbush : Computational analysis of microarray data. *Nature Reviews Genetics*, 2(6): 418–427, juin 2001. ISSN 1471-0064. URL https://www.nature.com/articles/35076576. Bandiera_abtest : a Cg_type : Nature Research Journals Number : 6 Primary_atype : Reviews Publisher : Nature Publishing Group. 180

CHAPITRE 8

Analyse de la variabilité génétique des transcrits dans le muscle *longissimus dorsi* en lien avec la qualité des viandes

JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE
The Premier Journal and Leading Source of New Knowledge and Perspective in Animal Science

Genetic variability of transcript abundance in pig skeletal muscle at slaughter: Relationships with meat quality traits

P. Cherel, F. Herault, A. Vincent, P. Le Roy and M. Damon

J ANIM SCI 2012, 90:699-708.
doi: 10.2527/jas.2011-4198 originally published online October 7, 2011

8.1 Présentation de l'article

Les critères utilisés pour qualifier la qualité des viandes et effectuer l'évaluation de la valeur génétique des candidats à la sélection ne sont mesurables que *post-mortem*. La mesure de performances s'effectue par conséquent sur les collatéraux des candidats à la sélection. La précision des évaluations génétiques faites dans ce cadre est cependant moins bonne que lorsque des mesures de performances propres au candidat à la sélection sont réalisables (Falconer et Mackay, 1996; Jussiau *et al.*, 2013).

Comme nous avons pu le voir dans la première partie du document, la qualité des viandes est grandement dépendante des caractéristiques physico-chimiques des muscles et des nombreux événements se déroulant au cours de la vie des animaux jusqu'à la transformation du muscle en viande. La réponse physiologique de l'animal à ces différents facteurs extrinsèques se traduit par une variation du niveau d'expression musculaire de certains gènes, ce qui *in fine* peut induire une modification des phénotypes associés à la qualité des viandes.

Sous réserve de paramètres génétiques appropriés, les niveaux d'expression de gènes pourraient être utilisés comme critère de sélection et permettre d'augmenter la précision des évaluations des valeurs génétiques des candidats à la sélection en ce qui concerne la qualité des viandes. À condition de pouvoir être mesurées sur les candidats eux-mêmes, ces mesures permettraient même un gain génétique substantiel comparé à des performances mesurées sur des collatéraux. En s'appuyant sur les données d'expression génique et les mesures de qualité de la viande obtenues pour 325 individus, l'objectif de cette étude était de déterminer l'héritabilité de l'ensemble des transcrits ainsi que leur corrélation génétique avec les mesures de qualité de la viande.

L'analyse de la variabilité génétique des niveaux d'expression des gènes dans le LM nous a permis de montrer que pour plus de la moitié des sondes (65 %) le niveau d'expression est un caractère héritable (h^2>0,05). Parmi celles-ci, plus d'un millier possèdent une héritabilité forte (h^2>0,5). L'analyse des corrélations génétiques entre les niveaux d'expression des gènes et les caractères associés à la qualité des viandes ont mis en évidence une forte corrélation génétique (r^2>0,7) entre le pH45 et le niveau d'expression de 253 sondes, la couleur de la viande (MCOLOR-a) et le niveau d'expression de 190 sondes, la force de cisaillement de la viande cuite (SHEAR-cook) et 184 sondes et les pertes en eau à la cuisson (COOKL) et 134 sondes.

L'analyse fonctionnelle des listes de gènes génétiquement à ces caractères à par ailleurs mis en avant des processus biologiques pouvant être mis en lien avec les phénotypes mesurés. Ainsi, les gènes génétiquement corrélés à SHEAR-cook et à COOKL mettent en perspective l'implication de protéases et de phénomène apoptotiques qui comme nous l'avons vu précédemment semblent impliqués dans la protéolyse *post-mortem* et dans la formation des « drip channel » phénomènes impactant le pouvoir de rétention en eau et la tendreté de la viande (cf section 3.1.3.2 « Les protéases : actrices de la protéolyse » - page 72 et section 3.1.3.2 « Les caspases » - page 73). Tandis que les gènes corrélés à MCOLOR-a et au pH45 soulignent respectivement le rôle des métabolisme énergétique au travers du métabolisme glycolytique et le rôle des pompes transporteuses de cations dont on connait l'implication dans l'activité musculaire *post-mortem* et sa capacité oxydative qui détermine la vitesse de chute du pH et la couleur de la viande (cf section 3.1.1.1 « Le métabolisme énergétique *post-mortem* » - page 67, section 3.1.1.2 « Chute du pH : une conséquence du métabolisme énergétique *post-mortem* » - page 68 et section 3.2.2.3 « La couleur de la viande » - page 78).

Les résultats obtenus laissent envisager la possibilité d'utiliser les mesures d'expression génique en sélection en choisissant d'effectuer des mesures du niveau d'expression de gènes fortement corrélés aux caractères (r^2>0,7) et ayant une forte héritabilité (h^2>0,5). L'utilisation de telles mesures effectuées *post-mortem* sur les collatéraux à la sélection en lieu et place des mesures physico-chimique actuelles devrait permettre d'augmenter la précision des valeurs génétiques des candidats et la réponse à la sélection.

La précision des valeurs génétiques des candidats pouvant même être grandement améliorée si ces fortes corrélations étaient validées lors de mesures *in vivo* (par micro biopsie par exemple) puisque les mesures pourraient alors être effectuées directement sur les candidats à la sélection et non plus sur leurs collatéraux.

JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE
The Premier Journal and Leading Source of New Knowledge and Perspective in Animal Science

Genetic variability of transcript abundance in pig skeletal muscle at slaughter: Relationships with meat quality traits

P. Cherel, F. Herault, A. Vincent, P. Le Roy and M. Damon

J ANIM SCI 2012, 90:699-708.
doi: 10.2527/jas.2011-4198 originally published online October 7, 2011

The online version of this article, along with updated information and services, is located on the World Wide Web at:
http://www.journalofanimalscience.org/content/90/3/699

American Society of Animal Science
www.asas.org

Downloaded from www.journalofanimalscience.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on January 13, 2014

Genetic variability of transcript abundance in pig skeletal muscle at slaughter: Relationships with meat quality traits[1]

P. Cherel,* F. Herault,† A. Vincent,‡§ P. Le Roy,† and M. Damon‡§[2]

*Hendrix Genetics RTC, F-45808 St. Jean de Braye, France; †INRA, UMR0598 Génétique Animale, F-35042 Rennes, France; ‡INRA, UMR 1079 SENAH, F-35590 Saint Gilles, France; and §Agrocampus Ouest, UMR1079 SENAH, F-35000 Rennes, France

ABSTRACT: A family structured population of 325 pigs (females and barrows) was produced as an intercross between 2 commercial sire lines and was subjected to a systematic transcriptome analysis of LM samples obtained shortly after slaughter. Additionally, measurements of meat quality traits of fresh and cooked loin were gathered from the same animals. The transcriptome analysis was achieved by microarray hybridization, using a custom repertoire of 15,000 6mer DNA probes targeting transcripts expressed in growing pig skeletal muscle. These data allowed us to estimate the heritability of expression abundance for each of the quantified RNA species. The abundance of 9,765 RNA was estimated as heritable with a false discovery rate of 5%, from which 1,174 were deemed as highly heritable ($h^2 > 0.50$). We also observed a large number of transcripts whose LM expression abundance is genetically correlated with 4 meat quality traits: the loin pH measured at 45 min postmortem (pH45), 253 transcripts; the loin cooking loss (CL), 134 transcripts; the cooked loin shear force (SFc), 184 transcripts; and the loin color redness (a*) value, 190 transcripts. Heritable and meat quality genetically correlated transcripts showed an over-representation of biological processes involved in the induction of apoptosis (genetically correlated with CL), complement activation (genetically correlated with SFc), glucose metabolism (genetically correlated with a*), and cation channel activity (genetically correlated with pH45). Overall, the biological functions highlighted in the highly heritable transcripts and the lack of transcript that would be genetically correlated with LM glycolytic potential suggest that the genetic variability of the LM postmortem transcriptome is focused on muscle tissue response to postmortem ischemia and reflects more distantly the antemortem muscle physiology. Because of the contrasting distributions of the genetic correlations between LM RNA concentrations and the different meat quality traits studied, indirect selection strategies of meat quality traits based on measurements of selected LM RNA species could be only proposed for a subset of the analyzed meat characteristics (pH45, SFc, a*, CL). A substantial improvement in the efficiency of selection for these meat quality traits could result from measuring muscle RNA concentrations on selection candidates, if the same genetic parameters can be verified using in vivo-sampled muscles.

Key words: gene expression, indirect selection, loin meat quality, longissimus muscle, *Sus scrofa*, transcriptome analysis

©2012 American Society of Animal Science. All rights reserved.

J. Anim. Sci. 2012. 90:699–708
http://dx.doi.org/10.2527/jas.2011-4198

INTRODUCTION

Quantification of each of the RNA species found in animal cells or transcriptome analysis developed as a follow-up of genome sequencing and array technology. Transcriptome analysis initially allowed an in-depth biological description of cells or tissues that were exposed to well-defined treatments, using differential expression experiments with a limited number of samples. Further improvements in technology standardization and throughput now allow for a large number of samples to be reliably processed. Population-scale transcriptome analysis can, therefore, be used to assess the full extent

[1]This work was carried out with financial support from the ANR-Agence Nationale de la Recherche–The French National Research Agency under the Programme National de Recherche en Alimentation, project ARN-PNRA-2006-25, GENMASCQ. The authors thank the staff from the Orleans Viandes abattoir, Fleury-Les-Aubrais, France, for their assistance in tracking carcasses and primary cuts, and J. Glénisson, L. Letelu, and J. Pires (Hendrix Genetics RTC, St. Jean de Braye, France), and M. Fillaut (INRA, UMR 1079 SENAH, Saint Gilles, France) for their assistance in the meat quality measurements.

[2]Corresponding author: Marie.Damon@rennes.inra.fr

Received April 22, 2011.
Accepted October 5, 2011.

Downloaded from www.journalofanimalscience.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on January 13, 2014

of the variation in transcript concentrations in a given cell type or tissue among individuals in a population.

Variations in transcript abundance can drive or accompany variations in livestock production phenotypes, as mediating responses to environmental challenges or the translation of genetic variability. Meat qualitative traits are contributed by the physiology of corresponding skeletal muscles, from development (Wimmers et al., 2007) until conversion from muscle to meat (Davoli and Braglia, 2007; Ponsuksili et al., 2008). Transcriptome analysis of skeletal muscle thus has the potential to uncover variations in the abundance of selected transcripts, which could be seen and used as intermediate outcomes of the genetic variation that contributes to meat quality traits. Indirect selection strategies based on these intermediate molecular phenotypes might prove valuable for the genetic improvement of meat quality traits. Opportunities for using those molecular phenotypes in breeding applications ultimately depends on the genetic parameters for these traits, defined as skeletal muscle RNA concentrations, heritabilities ($\mathbf{h^2}$), and genetic correlations ($\mathbf{r_G}$) with meat quality traits of economic value. Here, we report a population-scale analysis of transcript abundance in pig skeletal muscle, which enabled the estimation of genetic parameters for these molecular phenotypes.

MATERIALS AND METHODS

Procedures and slaughtering facilities were approved by the French Veterinary Services.

Experimental Population

The 325 pigs (females and barrows) used in the gene expression analyses are part of a larger F_2 resource population of 1,000 animals which was setup within the framework of a QTL detection program. These animals were produced as a second generation intercross between 2 commercial sire lines (FH016, Pietrain type line, and FH019, synthetic line from Hampshire, Duroc, and Large-White founders, France-Hybrides, St Jean de Braye, France).

The 325 animals considered for LM transcriptome analysis were produced as 4 half-sib families, using 4 F_1 males and 15 F_1 females, where each F_1 male was mated with the same group of 3 to 4 full-sib F_1 females for 2 to 3 successive litters, thus purposely generating large-size full-sib families. All F_2 animals were genotyped as homozygous wild type genotypes NN and rn+rn+ with regard to the HAL and RN loci, respectively (Otsu et al., 1992; Milan et al., 2000).

All F_2 animals were raised on the same farm and slaughtered in the same abattoir. All pigs were killed at 110 kg of BW according to standard procedures for commercial slaughtering (Orleans Viandes, Fleury-les-Aubrais, France). Half-carcasses were chilled at −12°C for 4 h postmortem, then stored at 3°C, and cut at 24 h postmortem.

Meat Quality Measurements

Loin meat quality measurements are briefly described because they have been already detailed previously (Laville et al., 2007). The summary statistics of the meat quality traits as recorded in the whole resource population are provided in Table 1.

Loin Processing and Measurements. The loins were sliced at 30 h postmortem, chops were stored at 4°C for 2 d, then grilled in a dry oven at 240°C for 30 min. Drip loss (**DL**) was calculated as 100 × (1 − weight after storage/weight before storage). Cooking loss (**CL**) of the LM was calculated as 100 × (1 − weight after cooking/weight after storage).

Warner-Bratzler Shear Force Measurements. For both the raw (**SFr**) and the cooked (**SFc**) meat shear force measurements, 10 cylinders of 1 cm in diameter were sheared in a Warner-Bratzler cell. The maximal force recorded during shearing (at rupture time) was used as the cylinder shear force value and expressed in Newtons.

Loin Color Components and pH. Indicators of lightness (L*), redness (a*), and yellowness (b*) were recorded from each rib eye surface within 2 h after loin slicing.

The pH at 45 min in LM (**pH45**) was measured in a 1:10 (wt/wt) dispersion of LM in a 5 m*M* sodium io-

Table 1. Summary statistics for loin meat quality traits[1]

Loin quality trait	Abbreviation	Unit	n	μ	σ	Range
pH 45-min	pH45	pH unit	840	6.55	0.18	5.45 to 7.40
pH 24-h	pH24	pH unit	1,023	5.71	0.20	5.37 to 6.73
Glycolytic potential	GP	μmol/g	805	159.40	24.97	70.30 to 276.80
Intramuscular fat	IMF	g/100 g	804	2.24	0.66	0.79 to 4.92
Color CIE L*	L*	CIE u	852	49.63	3.05	37.92 to 57.54
Color CIE a*	a*	CIE u	852	7.86	1.22	4.64 to 13.00
Color CIE b*	b*	CIE u	852	5.12	1.30	0.48 to 9.30
Shear force, cooked	SFc	N	753	33.65	1.16	17.94 to 55.48
Shear force, raw	SFr	N	753	35.34	1.19	17.92 to 61.81
Cook loss	CL	%	739	26.46	2.58	15.01 to 38.52
Drip loss	DL	%	731	1.72	0.95	0.06 to 5.63

[1]L* = lightness; a* = redness; b* = yellowness.

Downloaded from www.journalofanimalscience.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on January 13, 2014

doacetate/150 m*M* potassium chloride buffer. Loin ultimate pH (**pH24**) was recorded at 24 h postmortem in LM at the last rib level on half-carcasses before cutting.

Intramuscular Fat Content. Total lipids were extracted according to the method outlined by Folch et al. (1957). The lipid content of fresh tissue (g/100 g) was obtained by considering DM content determined from the weight of minced LM tissues.

Glycolytic Potential. One gram of LM was homogenized into 10 mL of 0.55 *M* perchloric acid. The glycolytic potential (**GP**) was then calculated according to Monin and Sellier (1985) as GP = 2([glycogen] + [glucose] + [glucose-6-phosphate]) + [lactate]. The GP was expressed as micromoles of lactate equivalent per gram of wet tissue.

Microarray Design and Annotation

A specific repertoire of 15,198 6mer DNA probes was set up to maximize the information content and gene coverage in analysis of pig skeletal muscle transcriptome at slaughter (Damon et al., 2011). Briefly, we used consensus contig sequences from SIGENAE pig transcript assembly (SIGENAE v8, http://www.sigenae.fr/) selected from previous analyses of LM transcriptome (Lobjois et al., 2008). Thirty-three thousand contig sequences were submitted to eARRAY online software v4.5 (Agilent Technologies, http://earray.chem.agilent.com/earray) to design one to two 60-mer oligo probes per contig sequence (average of 1.33 probe per contig). Analysis of test LM RNA samples using all designed probes allowed for the final selection of 15,198 informative probes, while maximizing gene coverage when analyzing LM samples. Microarrays were manufactured by in situ synthesis on glass slides using an Agilent 15K (8-plex) microarray format (Agilent Technologies France, Massy, France). This repertoire was deposited in NCBI GEO online resource (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/) under reference GPL11016.

The identification of transcripts targeted by each of the 60-mer probes was conducted from probe and contig sequence homology searches using known pig transcripts (Ensembl Sscrofa9, http://www.ensembl.org/Sus_scrofa/; NCBI *Sus Scrofa* RefSeq, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/RefSeq/) or the transcriptomes of related species (*Bos taurus*, *Equus caballus*, *Homo sapiens*). Annotation was based on similarity and quality criteria established by Casel et al. (2009; i.e., at least 18 consecutive base pairs within 60-mer probe sequence and 85% of homology). Overall, we validated at least 1 reference annotation for 12,939 probes (85%) corresponding to 9,169 unique genes.

RNA Extraction and Microarray Hybridization

Ten-gram samples from the LM were collected 20 min after stunning and bleeding and snap frozen in liquid N. Total RNA was extracted by crushing the frozen tissue in Trizol reagent (Invitrogen, Cergy-Pontoise, France).

Total RNA (350 ng) from each animal was labeled individually with Cy3 using the Low RNA Input Linear Amplification Kit PLUS, One-Color (ref 5188–5339, Agilent Technologies France). A single 1-color labeled sample was hybridized (65°C, 17 h) per array in Agilent's SureHyb Hybridization Chambers containing 300 ng of Cy3-labeled cRNA sample. Microarrays were scanned at 5 μm/pixel resolution using the Agilent DNA Microarray Scanner G2505B, and images were analyzed with Agilent Feature Extraction Software (Version 9.5), using the GE2-v5_95_Feb07 FE extraction protocol. The raw intensities from the 15,198 probes were log-transformed and then centered within sample by subtraction of the sample median value across all probes. The microarray data have been deposited in the NCBI GEO and are accessible through GEO Series accession number GSE28714 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE28714).

Functional Analysis

The functional analysis of transcript lists of interest was undertaken by the analysis of the enrichment for specific Gene Ontology (**GO**) terms using the Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (**DAVID**; Huang et al., 2009a,b) as implemented in the online software (http://david.abcc.ncifcrf.gov/). The annotated probes for both the background reference and the lists of interest were matched to their human orthologs using official human Entrez gene ID. Analyses were performed using the GO-FAT terms of DAVID. The background included 12,063 probes, representing 8,638 ortholog human genes. The functional annotation clustering of the enriched GO terms was performed with a similarity score (kappa) of 0.75 and a multiple linkage threshold of 0.50. Cluster enrichment scores are geometrical means of *P*-values for each GO term included in the cluster and expressed on a negative logarithmic scale. Clusters were selected using enrichment score cutoffs of 1.30 and 1.10 for highly heritable transcripts and meat quality trait correlated transcripts, respectively.

Genetic Parameters Estimation

For each hybridization probe, we conducted a univariate variance analysis and independent bivariate analyses combining RNA quantification measurement with each of the meat quality traits under study. We analyzed the data with a mixed model of variance including a random polygenic effect fitted under an animal model, a fixed effect for slaughter batch, and a fixed effect for sex (intramuscular fat model). The chop weight was used as a covariate for the CL and SFc models. A fixed effect fitting hybridization batch (15 levels) was used for RNA quantification traits. A

Downloaded from www.journalofanimalscience.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on January 13, 2014

REML methodology was applied to estimate the variance components, corresponding genetic parameters, and their SE, using the software package ASREML 2.0 (Gilmour et al., 2006). The pedigree used to set up the animal model included 3 generation of ancestors in addition to the phenotyped animals. The meat quality phenotypes from all NN rn+rn+ genotype animals of the entire F_2 resource population were used in bivariate analyses when available (731 to 1,023 records per trait, as reported in Table 1). Variance component estimates were considered in the results only when model log-likelihood converged.

Proportion of Heritable Transcripts

The probability of estimating a nonzero heritability in the absence of genetic variability was determined empirically from the distribution of 3,000 estimates produced using 3,000 independent phenotype data sets of 325 records simulated without genetic variation. A false discovery rate (**FDR**) was calculated using the software package R/qvalue (http://cran.r-project.org/web/packages/qvalue/index.html) according to the methodology proposed by Storey and Tibshirani (2003).

RESULTS

Estimates of Heritability for RNA Quantification Abundance

From univariate analyses, we estimated narrow sense heritability values as significantly different from zero with a FDR of 5%, corresponding to a threshold of 0.051 when applied to this result set, for 9,765 probes over 15,198 probes analyzed. The median value of these significant estimates of additive genetic variation is 0.236 (the median of SE estimates is 0.211), including heritability estimates greater than 0.50 for 1,174 probes targeting 1,146 contigs. The distribution of the 9,765 significant heritability estimates is presented in Figure 1. Those 9,765 probes represent 65% of probes, 9,219 unique design contig sequences, and were annotated as products from 6,000 unique genes. We have verified that the heritability estimates presented here were not substantially correlated with either the average expression level ($r = -0.11$) or the expression level SD ($r = 0.09$), suggesting that our observations are not the result of a scaling effect.

Biological Processes Represented in Highly Heritable LM Transcripts

To study genes associated with highly heritable probe signals into clusters of related functional terms, a functional annotation clustering was performed with 1,174 probes, corresponding to 911 annotated transcripts that were transcribed from 843 unique genes. Nine clusters were found to be significant with an enrichment score greater than 1.30 (Table 2). The lists of genes included within each cluster are listed in supplemental file 1 (available in the online version of this paper). The highlighted GO terms show an over-representation of GO terms associated with the regulation of Rho protein signal transduction (cluster 1), the induction, regulation, and process of apoptosis (clusters 2, 4, and 8), calcium transport and metal ion binding (clusters 3 and 6), focal adhesion and adherent cell junctions (clusters 5 and 7) and glucose metabolism (cluster 9).

Genetic Correlations Between RNA Concentrations and Meat Quality Traits

Estimation of the genetic correlation (r_G) between expression and meat phenotype was determined only for the 9,765 probes that showed a significant genetic variability ($h^2 > 0.051$). The limited number of animals available per molecular trait ($n = 325$) makes it possible to only broadly estimate the genetic correlations between RNA concentrations and meat quality traits, with the SE of r_G estimates ranging from a median SE of 0.48 (a*) to a median SE of 0.60 (pH45; Table 3).

The uncertainty of those estimates is reduced for the most heritable molecular traits, ranging from a me-

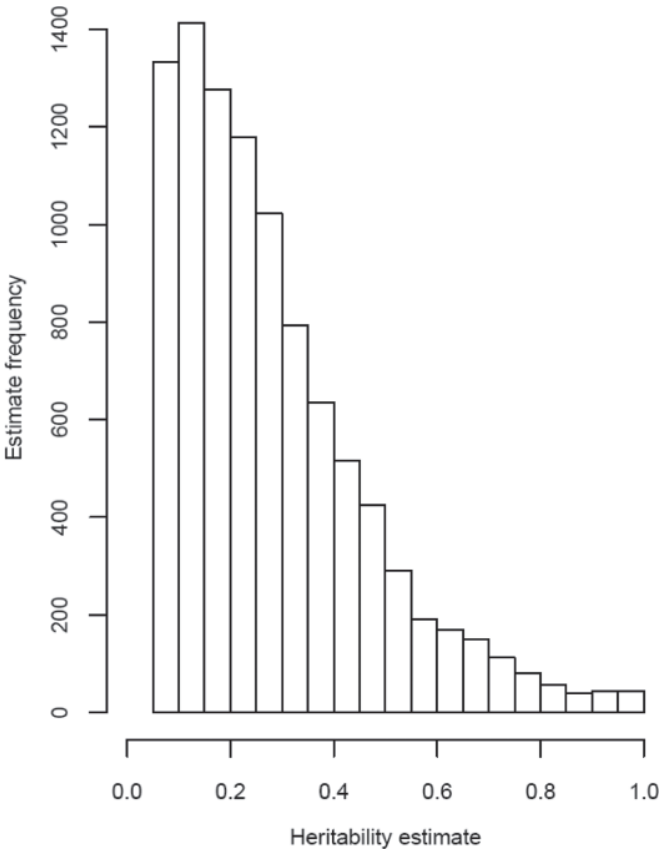


Figure 1. Distribution of heritability estimates for transcript abundance in postmortem LM, as measured using 9,765 probes ($h^2 > 0$ under a false discovery rate of 5%).

Downloaded from www.journalofanimalscience.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on January 13, 2014

Table 2. Functional annotation clustering of highly heritable transcripts ($h^2 > 0.50$)

Cluster	ES[1]	n_{GO}[2]	Cluster-specific GO term[3]	n_G[4]	*P*-value[5]
1	1.99	3	GO:0035023~regulation of Rho protein signal transduction	13	0.009
2	1.95	3	GO:0043065~positive regulation of apoptosis	39	0.013
3	1.58	3	GO:0051924~regulation of calcium ion transport	9	0.037
4	1.57	3	GO:0006917~induction of apoptosis	29	0.037
5	1.52	5	GO:0005925~focal adhesion	13	0.028
6	1.52	3	GO:0046872~metal ion binding	203	0.031
7	1.38	3	GO:0005924~cell-substrate adherens junction	14	0.019
8	1.32	4	GO:0006915~apoptosis	44	0.096
9	1.30	3	GO:0006006~glucose metabolic process	18	0.048

[1]Cluster enrichment score (ES).
[2]Number of Gene Ontology (GO) terms (n_{GO}) associated with this cluster.
[3]Identity of the lowest hierarchical level and most specific GO term.
[4]Number of different genes (n_G) associated with the specific GO term.
[5]Modified Fisher's exact test *P*-value.

dian SE of 0.37 (a*) to a median SE of 0.44 (pH45), when considering only those probes where h^2 in bivariate analyses is greater than 0.50 (929 to 1,509 probes, Table 3). We summarized in Table 3 the properties of the distribution of the r_G estimates for these highly heritable transcript levels (interquartile range and median value), further restricted to the r_G estimates with an SE less than 0.50 to focus on the most interpretable results. We illustrated contrasting examples of the distributions of these sets of genetic correlation estimates for 3 different traits (pH45, GP, a*) in Figure 2. Larger numbers of genetically correlated transcripts ($|r_G| > 0.70$) were observed for the measurements of pH45, SFc, a*, and CL than regarding other meat quality traits. In contrast, the measurements of DL, GP, and pH24 show a substantial genetic correlation with very few muscle transcript levels.

Functional Analysis of Transcripts Genetically Correlated with Meat Quality Traits

The list of genes assigned to transcripts that were quantified as heritable traits ($h^2 > 0.50$) and were genetically correlated ($|r_G| > 0.70$) with pH45, SFc, a*, and CL were characterized for functional enrichment in GO terms using the microarray repertoire as background. The clusters of GO terms enriched in the correlated gene lists for each of these 4 traits established using an enrichment scores cutoff of 1.10 are presented in Table 4. For each cluster, the most specific GO term explicit definition and the enrichment *P*-value associated with this term are shown. The lists of genes included within each cluster are listed in supplemental file 2 (available in the online version of this paper).

Table 3. Distribution and SE of genetic correlation (r_G) estimates between LM transcript concentrations and meat quality traits

		$0 < SE\ r_G < 1$		h^2 [RNA] > 0.5, SE $r_G < 0.5$						
		All r_G values		All r_G values				$\|r_G\| > 0.7$		$\|r_G\| > 0.9$
MQ trait[1]	h^2[2]	n^3	SE r_G[4]	n^3	IQR r_G[5]	Q2 r_G[5]	SE r_G[4]	n^3	SE r_G[4]	n^3
pH45	0.12	7,489	0.60	929	1.07	−0.11	0.43	253	0.39	55
pH24	0.21	8,775	0.51	1,140	0.37	−0.07	0.39	4	0.27	0
GP	0.22	8,987	0.52	1,164	0.24	0.02	0.40	0	—	0
IMF	0.11	7,386	0.59	1,001	0.32	−0.04	0.44	31	0.41	6
L*	0.20	7,760	0.54	1,139	0.51	−0.11	0.41	66	0.35	9
a*	0.44	7,303	0.48	1,171	0.56	0.22	0.37	190	0.25	44
b*	0.24	8,608	0.55	1,171	0.41	0.03	0.43	44	0.31	7
SFc	0.26	8,175	0.56	1,381	0.58	0.25	0.44	184	0.32	81
SFr	0.43	8,311	0.49	1,509	0.60	0.05	0.38	36	0.28	3
DL	0.22	8,346	0.55	1,452	0.28	0.04	0.43	12	0.34	1
CL	0.21	8,030	0.53	1,428	0.67	0.13	0.42	134	0.35	14

[1]Meat quality (MQ) traits are LM pH 45 min postmortem (pH45); loin 24-h pH (pH24); glycolytic potential (GP); intramuscular fat (IMF); loin color variables L* (lightness), a* (redness) and b* (yellowness); shear force on cooked (SFc) or raw (SFr) loin; loin drip loss (DL); and loin cooking loss (CL).
[2]Median value of the meat quality trait heritability estimate in bivariate analyses.
[3]Number of probes meeting heading-specified conditions on h^2, SE r_G, and r_G, reported for all converged bivariate analyses of heritable transcripts levels.
[4]Median value of the genetic correlation estimates SE.
[5]Interquartile range (IQR) and median value (Q2) of genetic correlation estimates (r_G) distribution.

Downloaded from www.journalofanimalscience.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on January 13, 2014

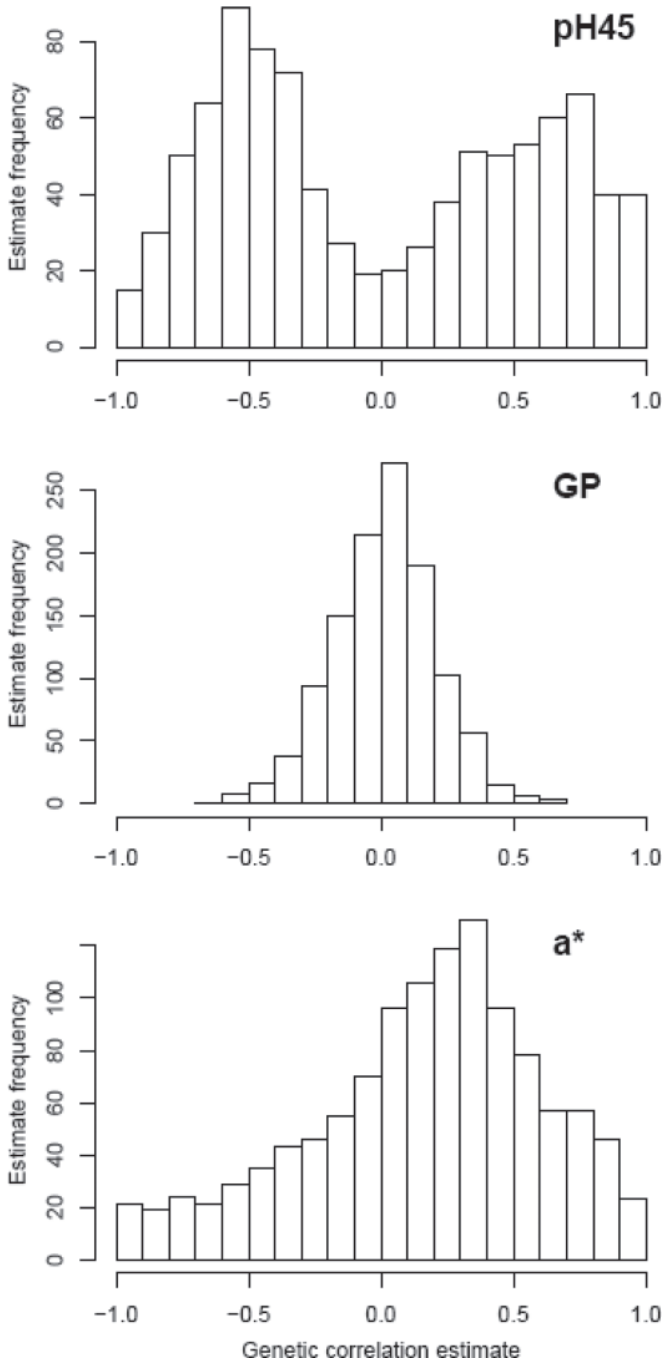


Figure 2. Distribution of genetic correlation estimates between heritable transcripts ($h^2 > 0.50$, SE $r_G < 0.50$) and LM pH 45 min postmortem (pH45), LM glycolytic potential (GP), and loin color redness (a*). r_G = genetic correlation.

For CL, 3 clusters highlight the genetic variability of transcripts involved in the induction of apoptosis and regulation of fatty acid oxidation. Transcript levels from genes known to be involved in complement activation and protein polymerization were observed as genetically correlated with SFc. The clusters associated with transcripts genetically correlated with a* are focused on glucose metabolism and neoglucogenesis. The transcripts that are genetically correlated with pH45 highlight 2-cell compartments, the lumen of intracellular organelles and the membrane of cytoplasmic vesicles, whereas the voltage-dependent cation channel activity is highlighted as a biological process.

DISCUSSION

Genetic Variability of Transcript Abundance in Pig Postmortem LM

Our results document that 65% of the postmortem LM RNA concentration measurements, as assayed by hybridization on a muscle-specific array, are genetically determined because essentially all probes were informative (Damon et al., 2011). The limited number of full- and half-sib families included in this experimental population may generate a sampling variance in estimates. Nonetheless, the SE of the heritability estimates for these molecular traits do support our interpretation of the actual genetic variability of LM transcriptome, even if the individual transcript heritability values were only broadly assessed.

The observed genetic variability in LM transcript concentration is consistent with other reports of genetic variability in transcript abundance in a variety of organisms. Studies in yeast have shown that more than 60% of the transcripts whose abundance was measured in segregating populations could be characterized with heritabilities greater than 0.69 (Brem and Kruglyak, 2005). The available data from human tissues show that the relative concentrations of respectively 59 and 71% of transcripts, as measured in total blood or adipose tissue respectively, are significantly heritable, with an average heritability estimate of 0.30 for those heritable transcripts (Emilsson et al., 2008). Data from studies performed in mice document a median value of 0.14 for heritability estimated among all of the possible transcripts quantification levels measured in adipose tissues (Petretto et al., 2006).

Functional Interpretation of Transcriptome Genetic Variability

Apoptosis induction has been proposed as an essential mechanism involved in the transformation of muscle in meat, contributing to the tenderization of meat through an early triggering activity of caspases (Herrera-Mendez et al., 2006; Ouali et al., 2006). Variations in the regulation of apoptosis have been further suggested as an underlying cause of differential tenderness in bovine meat by the observation of differences in the concentrations of proteins from the inner mitochondrial membranes of muscle samples taken as early as 10 min postexsanguination (Laville et al., 2009). Therefore, the observation of large individual and genetic variation in the induction of the apoptosis processes in postmortem LM samples can be seen as a consequence of the exsanguination-induced muscle ischemia. The selection of a muscle sampling point at 20 min after stunning

Downloaded from www.journalofanimalscience.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on January 13, 2014

Table 4. Functional analysis of heritable transcripts that were genetically correlated with meat quality traits

Cluster	ES[1]	n_{GO}[2]	Cluster-specific GO term[3]	*P*-value[4]
			Loin cooking loss (CL, 79 genes)	
1	1.79	3	GO:0043065~positive regulation of apoptosis	0.015
2	1.59	3	GO:0042981~regulation of apoptosis	0.024
3	1.23	4	GO:0046320~regulation of fatty acid oxidation	0.036
			Cooked loin shear force (SFc, 110 genes)	
1	1.59	21	GO:0006958~complement activation, classical pathway	0.002
2	1.15	5	GO:0032271~regulation of protein polymerization	0.031
			Loin redness a* (119 genes)	
1	2.23	3	GO:0006006~glucose metabolic process	0.002
2	1.62	6	GO:0006111~regulation of gluconeogenesis	0.002
3	1.5	14	GO:0006739~NADP metabolic process	0.008
4	1.26	6	GO:0030072~peptide hormone secretion	0.045
			pH45 min LM (122 genes)	
1	1.45	3	GO:0070013~intracellular organelle lumen	0.051
2	1.27	3	GO:0030659~cytoplasmic vesicle membrane	0.049
3	1.13	12	GO:0022843~voltage-gated cation channel activity	0.060

[1]Cluster enrichment score (ES).
[2]Number of different Gene Ontology (GO) terms associated with this cluster.
[3]Identity of the lowest hierarchical level and most specific GO term. NADP = NAD phosphate.
[4]Modified Fisher's exact test *P*-value.

may have highlighted individual variation in the early and unbuffered response to a sudden challenge.

Proportion of Transcripts Genetically Correlated with Meat Quality Traits

The genetic correlation between 2 traits is thought to reflect either genetic linkage between loci affecting each trait or pleiotropic effects of the same loci on both traits. Our population design maximizes long-range genetic linkage effects in the F_2 generation. Therefore, this mechanism may have substantially inflated some of our estimates of the genetic correlations between molecular and meat quality traits in this population. The accuracy of the genetic correlation estimates proved to be severely limiting for interpretation because of the limited size of our data set. However, we propose a cautious interpretation of the entire distribution of the genetic correlations estimates for each meat quality trait that we restricted to the most heritable RNA concentrations.

The large differences we observed between the distributions of the genetic correlation estimates among the different meat quality traits was not expected, considering the genome-wide relevance of the repertoire of probes used and the existence of genetic variability in all of the meat quality traits studied. A naïve assumption may have been to identify, among the large number of heritable transcripts, some transcripts that would be genetically correlated with each of the meat quality traits. This would be expected if postmortem muscle transcriptome was patterning the whole muscle physiology. In this respect, the lack of RNA species showing substantial genetic correlations with the meat pH24 and the glycolytic potential (traits nonetheless determined by a sizable genetic variation, h^2 of GP = 0.22) brings into question the dynamics of phenotype construction and the persistence of its footprint on gene expression profiles over time. To explain this observation, one may simply hypothesize that the expression of genes involved in the genetic control of muscle glycogen stores depletion and recovery during antemortem period does not persist, or at least does not dominate the patterns of postmortem gene expression that we analyzed. But this hypothesis does not account for the extent of our observation that all of the genes contributing to the control of glycogen storage and mobilization are well represented in the array used for transcriptome analysis, are transcribed in LM postmortem, and some even showed substantial genetic variation in LM mRNA content (as those reported for their genetic correlation with meat redness a*). An alternative hypothesis, therefore, would be that the gene expression levels are essentially constrained by homeostatic regulatory mechanisms, which over time are buffering all sources of variation, including the genetic variability, in this case between the antemortem and postmortem time points. Gene expression buffering has been recognized as an essential control mechanism to dampen the consequences of transcription noise (Fraser et al., 2004; Raser and O'Shea, 2004) and proposed as an essential function of microRNA (Wu et al., 2009). This latter hypothesis would support a relative independence between the genetic variability of antemortem muscle transcription (the genome expression profile that one may suppose is responsible for mediating or accompanying variation in the control of antemortem glycogen stores) and the genetic variability of postmortem transcription profiles that we evaluated in this work, reflecting muscle reaction to ischemia. Finally, this independence would support the observed disconnection between the genetic variability of the muscle glycolytic potential or the ultimate pH, and the genetic variability of postmortem transcript abundance.

Downloaded from www.journalofanimalscience.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on January 13, 2014

We observed that the genetic variability of the postmortem LM transcriptome is linked with the genetic variability of a postmortem muscle physiology measurement (pH45) and distantly assessed measurements of meat color (a*) and loin cooking (SFc, CL). The transcription profiles may subsequently better reflect muscle physiology contemporary of the RNA sampling point, beside its translation into remote consequences that affect meat consumption. A recent study reported significant phenotypic associations between postmortem LM transcriptome analysis and loin color redness a* (Te Pas et al., 2010). Our data suggest that the associations reported by these authors may result from a genetic determinism with pleiotropic consequences on the transcriptome and loin redness.

Functional Interpretation of Transcripts Genetically Correlated with Meat Quality Traits

Cooking Loss. The functional analysis of transcripts that show a substantial genetic correlation with loin cooking losses highlights apoptosis as an overrepresented cell function in this group of genes. The first steps of apoptosis involve the condensation of the cytoplasm, cell shrinking, and result in the expansion of extracellular space (Bortner and Cidlowski, 2007). The genetic correlations that we observed may thus result from a genetic variability that drives the dynamics of apoptosis induction postmortem and subsequently affects the water-holding capacity of meat during cooking.

Cooked Loin Shear Force. Complement activation has been described as an essential component of skeletal muscle ischemia-reperfusion injury (Weiser et al., 1996) that is thought to be mediated through the action of membrane-complement attack complexes (Kyriakides et al., 1999). More specifically, the identified transcripts of C1S and C1R complement subunits are encoding essential proteases of this complex (Davis et al., 2008), and genetic correlation of their expression levels with meat shear force would be consistent with the role generally accepted for postmortem proteases activity in meat tenderness variation in pigs (Melody et al., 2004).

Loin Color a*. Loin color redness principally results from oxymyoglobin concentration and oxidative status (Gorelik and Kanner, 2001). We identified the transcript concentration of glycolysis enzymes as genetically correlated with loin color redness a*, which suggests that the regulation of glycolysis kinetics or its extent may drive the muscle oxidative capacity with regard to oxymyoglobin.

pH45. The voltage-gated cation channel activity and cation channel complex cell component point to the excitation-contraction coupling mechanism, which operates through the release of free Ca^{2+} from sarcoplasmic reticulum stores. Contraction mobilizes the available energy and results in increased glycolysis in the case of hypoxic tissues, leading to acidosis where resulting pyruvate is metabolized into lactate. The RYR1 mutation (Fujii et al., 1991) does constitute, by itself, an example of genetic variability with documented pleiotropic effects on both calcium channel activity in skeletal muscle and pH45 (Larzul et al., 1997; Sellier, 1998). However, the genetic variability observed here in pH45 and transcription is independent of the RYR1 polymorphism because the animals used in the present study were not carrying the RYR1 mutated allele (see methods). This observation illustrates that the same set of functions can be affected by different polymorphisms leading to similar effects, and that the genetic variability for the pH45 trait in a HAL NN (wild-type) population could be mediated nonetheless through similar biological pathways as those affected by the RYR1 mutation. Malignant hyperthermia susceptibility (**MHS**) is a genetic condition in human and pig resulting from the same or additional mutations in the *RYR1* gene (Fujii et al., 1991; Manning et al., 1998). Malignant hyperthermia susceptibility in humans can also result from a mutation in the α 1S subunit of the voltage-gated calcium channel CACNA1S (Monnier et al., 1997). We identified as genetically correlated with pH45, the LM concentration of the CACNA1A and CACNA1G transcripts, encoding 2 paralogs of CACNA1S.

Use of RNA Measurements for Genetic Improvement of Meat Quality

Alternative selection criteria are to be considered relative to their heritability and genetic correlation with traits belonging to breeding goals. For measurements taken on the same set of animals relative to selection candidates, an alternative selection criteria with an heritability h'^2 and a genetic correlation r_G with a selected trait of heritability h^2 would have to verify $r_G * h' > h$ to support a potential benefit in increased accuracy of breeding value estimation (Searle, 1965). In the case of selection for improvement of a meat quality trait with a typical heritability of 0.25, an illustration of a competitive alternative selection criterion could be the quantification of a specific RNA species in a given tissue sample associated with an heritability of at least 0.50 and a genetic correlation of at least 0.70 with the selected meat quality trait. These conditions are met by a large number of LM transcript levels for pH45, a*, SFc, and CL. These traits would therefore be candidates for the application of indirect selection strategies based on measurements of RNA concentrations in postmortem LM.

A substantial improvement in the accuracy of breeding values estimation may be at hand if informative RNA species such as those identified in this work for selected meat quality traits could be measured in skeletal muscle from selection candidates themselves. Compared with the measurements of the same trait in

Downloaded from www.journalofanimalscience.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on January 13, 2014

relatives, measurements on selection candidates would allow an improvement in the selection response by 50% when compared with the systematic measurement of 2 full-sibs, or 100% when compared with the systematic measurement of 4 half-sibs, for a typical meat quality trait with a heritability of 0.25. Improvement in the selection response would result from increased accuracy of breeding values estimated from an animal itself vs. phenotypes of relatives (Falconer and Mackay, 1996).

Taken together, our data support the likelihood of heritable LM transcripts that are genetically correlated with some of the pig meat quality traits. It would be of significant practical interest for applications in breeding programs to re-estimate these genetic parameters using RNA quantification measurements acquired from in vivo-sampled muscles.

LITERATURE CITED

Bortner, C. D., and J. A. Cidlowski. 2007. Cell shrinkage and monovalent cation fluxes: Role in apoptosis. Arch. Biochem. Biophys. 462:176–188.

Brem, R. B., and L. Kruglyak. 2005. The landscape of genetic complexity across 5,700 gene expression traits in yeast. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:1572–1577.

Casel, P., F. Moreews, S. Lagarrigue, and C. Klopp. 2009. SigReannot: An oligo-set re-annotation pipeline of Ensembl transcripts and Unigene clusters. BMC Proc. 3(Suppl. 4):S3.

Damon, M., F. Herault, A. Vincent, Le Roy P., and P. Cherel. 2011. Characterization of a pig skeletal muscle microarray to study pork quality: The GenmascqChip 15K. Nature Precedings 10.1038/npre.2011.5730.1

Davis, A. E., III, P. Mejia, and F. Lu. 2008. Biological activities of C1 inhibitor. Mol. Immunol. 45:4057–4063.

Davoli, R., and S. Braglia. 2007. Molecular approaches in pig breeding to improve meat quality. Brief Funct. Genomic Proteomic 6:313–321.

Emilsson, V., G. Thorleifsson, B. Zhang, A. S. Leonardson, F. Zink, J. Zhu, S. Carlson, A. Helgason, G. B. Walters, S. Gunnarsdottir, M. Mouy, V. Steinthorsdottir, G. H. Eiriksdottir, G. Bjornsdottir, I. Reynisdottir, D. Gudbjartsson, A. Helgadottir, A. Jonasdottir, A. Jonasdottir, U. Styrkarsdottir, S. Gretarsdottir, K. P. Magnusson, H. Stefansson, R. Fossdal, K. Kristjansson, H. G. Gislason, T. Stefansson, B. G. Leifsson, U. Thorsteinsdottir, J. R. Lamb, J. R. Gulcher, M. L. Reitman, A. Kong, E. E. Schadt, and K. Stefansson. 2008. Genetics of gene expression and its effect on disease. Nature 452:423–428.

Falconer, D. S., and T. F. C. Mackay. 1996. Selection: III. Information from relatives. Pages 228–246 in Introduction to Quantitative Genetics. Addison Wesley Longman Limited, Harlow, UK.

Folch, J., M. Lees, and G. H. S. Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. J. Biol. Chem. 226:497–509.

Fraser, H. B., A. E. Hirsh, G. Giaever, J. Kumm, and M. B. Eisen. 2004. Noise minimization in eukaryotic gene expression. PLoS Biol. 2:e137.

Fujii, J., K. Otsu, F. Zorzato, S. de Leon, V. K. Khanna, J. E. Weiler, P. J. O'Brien, and D. H. MacLennan. 1991. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. Science 253:448–451.

Gilmour, A. R., B. J. Gogel, B. R. Cullis, and R. Thompson. 2006. ASReml User Guide Reference 2.0. VSN Int. Ltd., Hemel Hempstead, UK.

Gorelik, S., and J. Kanner. 2001. Oxymyoglobin oxidation and membrane lipid peroxidation initiated by iron redox cycle: Prevention of oxidation by enzymic and nonenzymic antioxidants. J. Agric. Food Chem. 49:5945–5950.

Herrera-Mendez, C. H., S. Becila, A. Boudjellal, and A. Ouali. 2006. Meat ageing: Reconsideration of the current concept. Trends Food Sci. Technol. 17:394–405.

Huang, W., B. T. Sherman, and R. A. Lempicki. 2009a. Bioinformatics enrichment tools: Paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. Nucleic Acids Res. 37:1–13.

Huang, W., B. T. Sherman, and R. A. Lempicki. 2009b. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. Nat. Protoc. 4:44–57.

Kyriakides, C., W. Austen Jr., Y. Wang, J. Favuzza, L. Kobzik, F. D. Moore Jr., and H. B. Hechtman. 1999. Skeletal muscle reperfusion injury is mediated by neutrophils and the complement membrane attack complex. Am. J. Physiol. 277:C1263–C1268.

Larzul, C., R. P. Le, R. Gueblez, A. Talmant, J. Gogue, and P. Sellier. 1997. Effect of the halothane genotype (NN,Nn,nn) on growth, carcass and meat quality traits of pigs slaughtered at 95 kg or 125 kg live weight. J. Anim. Breed. Genet. 114:309–320.

Laville, E., T. Sayd, M. Morzel, S. Blinet, C. Chambon, J. Lepetit, G. Renand, and J. F. Hocquette. 2009. Proteome changes during meat aging in tough and tender beef suggest the importance of apoptosis and protein solubility for beef aging and tenderization. J. Agric. Food Chem. 57:10755–10764.

Laville, E., T. Sayd, C. Terlouw, C. Chambon, M. Damon, C. Larzul, P. Leroy, J. Glenisson, and P. Cherel. 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.

Lobjois, V., L. Liaubet, M. SanCristobal, J. Glenisson, K. Feve, J. Rallieres, R. P. Le, D. Milan, P. Cherel, and F. Hatey. 2008. A muscle transcriptome analysis identifies positional candidate genes for a complex trait in pig. Anim. Genet. 39:147–162.

Manning, B. M., K. A. Quane, H. Ording, A. Urwyler, V. Tegazzin, M. Lehane, J. O'Halloran, E. Hartung, L. M. Giblin, P. J. Lynch, P. Vaughan, K. Censier, D. Bendixen, G. Comi, L. Heytens, K. Monsieurs, T. Fagerlund, W. Wolz, J. J. Heffron, C. R. Muller, and T. V. McCarthy. 1998. Identification of novel mutations in the ryanodine-receptor gene (RYR1) in malignant hyperthermia: genotype-phenotype correlation. Am. J. Hum. Genet. 62:599–609.

Melody, J. L., S. M. Lonergan, L. J. Rowe, T. W. Huiatt, M. S. Mayes, and E. Huff-Lonergan. 2004. Early postmortem biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles. J. Anim. Sci. 82:1195–1205.

Milan, D., J. T. Jeon, C. Looft, V. Amarger, A. Robic, M. Thelander, C. Rogel-Gaillard, S. Paul, N. Iannuccelli, L. Rask, H. Ronne, K. Lundstrom, N. Reinsch, J. Gellin, E. Kalm, P. L. Roy, P. Chardon, and L. Andersson. 2000. A mutation in PRKAG3 associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle. Science 288:1248–1251.

Monin, G., and P. Sellier. 1985. Pork of low technological quality with a normal rate of muscle pH fall in the immediate postmortem period: The case of the Hampshire breed. Meat Sci. 13:49–63.

Monnier, N., V. Procaccio, P. Stieglitz, and J. Lunardi. 1997. Malignant-hyperthermia susceptibility is associated with a mutation of the alpha 1-subunit of the human dihydropyridine-sensitive L-type voltage-dependent calcium-channel receptor in skeletal muscle. Am. J. Hum. Genet. 60:1316–1325.

Otsu, K., M. S. Phillips, V. K. Khanna, S. de Leon, and D. H. MacLennan. 1992. Refinement of diagnostic assays for a probable causal mutation for porcine and human malignant hyperthermia. Genomics 13:835–837.

Ouali, A., C. H. Herrera-Mendez, G. Coulis, S. Becila, A. Boudjellal, L. Aubry, and M. A. Sentandreu. 2006. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. Meat Sci. 74:44–58.

Petretto, E., J. Mangion, N. J. Dickens, S. A. Cook, M. K. Kumaran, H. Lu, J. Fischer, H. Maatz, V. Kren, M. Pravenec, N.

Downloaded from www.journalofanimalscience.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on January 13, 2014

Hubner, and T. J. Aitman. 2006. Heritability and tissue specificity of expression quantitative trait loci. PLoS Genet. 2:e172.

Ponsuksili, S., E. Murani, C. Phatsara, E. Jonas, C. Walz, M. Schwerin, K. Schellander, and K. Wimmers. 2008. Expression profiling of muscle reveals transcripts differentially expressed in muscle that affect water-holding capacity of pork. J. Agric. Food Chem. 56:10311–10317.

Raser, J. M., and E. K. O'Shea. 2004. Control of stochasticity in eukaryotic gene expression. Science 304:1811–1814.

Searle, S. R. 1965. The value of indirect selection: I. Mass selection. Biometrics 21:682–707.

Sellier, P. 1998. Genetics of meat and carcass traits. Pages 436–510 in The Genetics of the Pig. M. Rothschild and A. Ruvinsky, ed. CABI Int.

Storey, J. D., and R. Tibshirani. 2003. Statistical significance for genomewide studies. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100:9440–9445.

Te Pas, M. F., E. Keuning, B. Hulsegge, A. H. Hoving-Bolink, G. Evans, and H. A. Mulder. 2010. Longissimus muscle transcriptome profiles related to carcass and meat quality traits in fresh meat Pietrain carcasses. J. Anim. Sci. 88:4044–4055.

Weiser, M. R., J. P. Williams, F. D. Moore Jr., L. Kobzik, M. Ma, H. B. Hechtman, and M. C. Carroll. 1996. Reperfusion injury of ischemic skeletal muscle is mediated by natural antibody and complement. J. Exp. Med. 183:2343–2348.

Wimmers, K., E. Murani, M. F. Te Pas, K. C. Chang, R. Davoli, J. W. Merks, H. Henne, M. Muraniova, N. da Costa, B. Harlizius, K. Schellander, I. Boll, S. Braglia, A. A. de Wit, M. Cagnazzo, L. Fontanesi, D. Prins, and S. Ponsuksili. 2007. Associations of functional candidate genes derived from gene-expression profiles of prenatal porcine muscle tissue with meat quality and muscle deposition. Anim. Genet. 38:474–484.

Wu, C. I., Y. Shen, and T. Tang. 2009. Evolution under canalization and the dual roles of microRNAs: A hypothesis. Genome Res. 19:734–743.

Downloaded from www.journalofanimalscience.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on January 13, 2014

Supplementary Material Supplementary material can be found at:
http://www.journalofanimalscience.org/content/suppl/2012/02/17/jas.2011-4198.DC1.html

References This article cites 34 articles, 12 of which you can access for free at:
http://www.journalofanimalscience.org/content/90/3/699#BIBL

Citations This article has been cited by 2 HighWire-hosted articles:
http://www.journalofanimalscience.org/content/90/3/699#otherarticles

Downloaded from www.journalofanimalscience.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on January 13, 2014

Bibliographie

D. S. Falconer et T. F. C. Mackay : 13 - Selection : III. Information from relatives. *In Introduction to Quantitative Genetic*, p. 229 – 247. Pearson, 4th édn, 1996. ISBN 978-0-582-24302-6. URL https://vulms.vu.edu.pk/Courses/GEN733/Downloads/Introduction%20to%20Quantitative%20Genetic-DS%20Falconer.pdf. 203

R. Jussiau, J. Rigal et A. Papet : 9 - Mhétodes de sélection. *In Amélioration génétique des animaux d'élevage*, p. 304–331. Educagri Editions, 2013. ISBN 978-2-84444-929-0. 203

CHAPITRE 9

Cartographie de QTL affectant la qualité des carcasses et la qualité des viandes

Meat Science 135 (2018) 148–158

Contents lists available at ScienceDirect

Meat Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/meatsci

Combined GWAS and LDLA approaches to improve genome-wide quantitative trait loci detection affecting carcass and meat quality traits in pig

Frédéric Hérault[a,b,*], Marie Damon[a,b], Pierre Cherel[c], Pascale Le Roy[a,b]

[a] INRA, UMR1348 PEGASE, 16 le Clos, 35590 Saint-Gilles, France
[b] Agrocampus Ouest, UMR1348 PEGASE, 65 rue de Saint Brieuc, 35042 Rennes, France
[c] iBV-institut de Biologie Valrose, Université Nice-Sophia Antipolis, UMR CNRS 7277, Inserm U1091, Parc Valrose, F-06108 Nice, France

* Corresponding author at: INRA, UMR1348 PEGASE, 16 le Clos, 35590 Saint-Gilles, France.
E-mail addresses: frederic.herault@inra.fr (F. Hérault), pascale.leroy@inra.fr (P. Le Roy).

http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.09.015
Received 3 July 2017; Received in revised form 8 September 2017; Accepted 27 September 2017
Available online 28 September 2017

9.1 Présentation de l'article

Comme cela a été décrit dans la première partie de ce manuscrit, la qualité des viandes est devenue une préoccupation importante pour l'acte de consommation et de ce fait pour l'industrie de transformation. Cela n'a pas toujours été le cas et les efforts de sélection menés depuis plusieurs décennies pour accroître la productivité ont conduit à une dégradation de la qualité des viandes (Bazin *et al.*, 2003; Lonergan *et al.*, 2001; Schwab *et al.*, 2006; Tribout *et al.*, 2004). L'amélioration de la qualité des viandes est cependant envisageable par sélection comme le laisse entrevoir l'héritabilité des critères de qualité (Ciobanu *et al.*, 2011; Miar *et al.*, 2014). Ainsi, dans les années 80 la prise en compte de ces critères au sein d'un indice composite de qualité des viandes a permis de stabiliser la qualité des viandes tout en maintenant des objectifs d'amélioration de la production (Institut Technique du Porc, 2003; Jussiau *et al.*, 2013). Cependant, notre compréhension des mécanismes biologiques à l'origine de la variabilité de ces caractères reste encore partielle à ce jour.

En combinant des approches d'analyse d'association et d'analyse de liaison, l'objectif de cette étude était de mieux appréhender l'architecture génétique gouvernant les caractères de qualité des carcasses et de qualité des viandes afin d'améliorer notre compréhension des mécanismes biologiques sous-jacents et de proposer de nouveaux gènes candidats.

Pour cette étude, nous avons mis à profit les mesures phénotypiques effectuées sur 457 animaux, non-porteurs des allèles défavorables « RN- » et « n », issus d'un croisement F2 de deux lignées mâles de type commercial et représentant 6 familles. Les mesures ont porté sur des caractères de carcasse tels que l'adiposité, le poids des pièces et le taux de muscle, le gain de poids moyen qui reflète la croissance des individus et des caractères associés à la qualité des viandes tels que le pH, la couleur, la perte en liquide, la force de cisaillement ou le potentiel glycolytique. L'ensemble des individus F2 ainsi que les générations parentales et grand-parentales ont été génotypés sur la puce Illumina PorcineSNP60 BeadChip.

La détection de QTL a été effectuée conjointement en analyse d'association pan-génomique, ou GWAS qui repose sur les informations génétiques populationnelles, et en analyse LDLA combinant information génétique au niveau familial et information génétique populationnelle. Les analyses des caractères de qualité de carcasse et de croissance ont été effectuées en prenant en compte les effets fixes dus au sexe et au lot d'élevage des animaux. Les analyses menées sur les caractères de qualité des viandes ont été effectuées en prenant en compte les effets fixes liés au sexe et au lot d'abattage des individus. Enfin, le poids de carcasse a été inclus en qualité de covariable dans les analyses des caractères de qualité de carcasse et de qualité des viandes.

Les GWAS ont été effectuées avec le programme « Müller » (Ricard *et al.*, 2013). Ce programme repose sur un modèle linéaire mixte prenant en compte la parenté entre les individus (BLUP, BLUPF90 ; Misztal *et al.* (2002)) et une méthode d'adaptation des seuils de rejets prenant en compte le DL local (Müller *et al.*, 2011). Les analyses LDLA ont été réalisées par cartographie d'intervalle en utilisant un modèle pleins frères/demi-frères à l'aide du logiciel « QTLMap » (Filangi *et al.*, 2010) en utilisant l'approche développée par Legarra et Fernando (2009). Dans les deux approches, l'hypothèse nulle correspondait à l'absence de QTL, à la position testée pour les GWAS, sur le chromosome pour l'approche LDLA. Dans un premier temps, seule la localisation correspondant à la statistique la plus élevée a été considérée comme QTL. Dans un second temps, pour les chromosomes présentant une seconde région significative, l'hypothèse de l'existence d'un second QTL sur le chromosome a été testée en ajoutant le génotype au SNP le plus significatif dans le modèle GWAS ou en testant l'hypothèse de l'existence de deux QTL contre l'hypothèse nulle de l'existence d'un QTL pour l'approche LDLA.

Dans le cadre de cette étude, nous avons mis en évidence 32 QTL dont 18 affectent des caractères liés à la qualité des carcasses (BF, HW, LOINWT, ECLC, LMDEP) et 16 affectent des caractères liés à la qualité des viandes (MCOLOR, pHu, GLYPO, IMF, SHEAR-raw). Parmi ceux-ci, 7 QTL affectent plusieurs caractères associant notamment le potentiel glycolytique et le pH ultime, la couleur de la viande et le gras intramusculaire, la perte en eau ou l'épaisseur de gras dorsal et l'épaisseur de gras dorsal et la couleur de la viande, les lipides intramusculaires ou le taux de viande.

L'analyse des gènes localisés dans ces régions QTL, combinée à l'analyse de leurs annotations fonctionnelles, a permis d'identifier 26 gènes candidats positionnels et fonctionnels impliqués dans l'adiposité des carcasses, le développement musculaire, la couleur ou le pH de la viande. La grande majorité d'entre eux (21 gènes) ont été localisés dans des régions QTL impactant l'adiposité des carcasses (BF et IMF) et sont impliqués dans le métabolisme lipidique, le stockage et le transport des lipides, ainsi que dans la différenciation en cellules adipogéniques. Les autres gènes candidats ont quant à eux été identifiés dans des QTL impactant la musculariété des carcasses (ECLC et LMDEP) pour trois d'entre eux et dans des QTL impactant le pH et le potentiel glycolytique ou la couleur de la viande pour les deux autres. Ces gènes sont impliqués dans les processus biologiques régulant l'homéostasie des cellules musculaires ou la différenciation des cellules musculaires du muscle strié squelettique pour les trois premiers et dans les processus associés au métabolisme des réserves énergétiques ou au catabolisme de l'hème pour les deux autres gènes.

Dans notre étude, les deux approches utilisées pour étudier le déterminisme génétique des caractères ont permis d'identifier chacune 18 QTL permettant ainsi d'affiner la localisation de régions déjà identifiées (9 régions en GWAS et 11 régions en LDLA) ou de mettre en évidence de nouvelles régions impactant l'adiposité des carcasses, la couleur des viandes, le poids de longe ou la texture de la viande. Cependant, l'analyse comparative des résultats issus des analyses GWAS et LDLA n'a permis de mettre en évidence que deux *loci* communs.

Ces résultats mettent en exergue l'intérêt de combiner les analyses d'association et de liaison dans les études visant à mieux appréhender le déterminisme génétique des caractères complexes afin d'obtenir un panorama plus large des différents QTL présents dans les populations étudiées.

Meat Science 135 (2018) 148–158

Contents lists available at ScienceDirect

Meat Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/meatsci

Combined GWAS and LDLA approaches to improve genome-wide quantitative trait loci detection affecting carcass and meat quality traits in pig

Frédéric Hérault[a,b,*], Marie Damon[a,b], Pierre Cherel[c], Pascale Le Roy[a,b]

[a] INRA, UMR1348 PEGASE, 16 le Clos, 35590 Saint-Gilles, France
[b] Agrocampus Ouest, UMR1348 PEGASE, 65 rue de Saint Brieuc, 35042 Rennes, France
[c] iBV-institut de Biologie Valrose, Université Nice-Sophia Antipolis, UMR CNRS 7277, Inserm U1091, Parc Valrose, F-06108 Nice, France

ARTICLE INFO

Keywords:
Pig
Quantitative trait loci
GWAS
LDLA
Meat quality
Carcass quality

ABSTRACT

Many QTL affecting meat quality and carcass traits have been reported. However, in most of the cases these QTL have been detected in non-commercial populations. Therefore, a family structured population of 457 F2 pigs issued from an inter-cross between 2 commercial sire lines was used to detect QTL affecting meat quality and carcass traits. All animals were genotyped using the Illumina PorcineSNP60 BeadChip platform. Genome-wide association studies were used in combination with linkage disequilibrium-linkage analysis to identify QTL. A total of 32 QTL were detected. Nine of these QTL exceeded the genome-wide 5% significance threshold. We detected 18 QTL affecting carcass composition traits and 16 QTL affecting meat quality traits. Using post-QTL bioinformatics analysis we highlighted 26 functional candidate genes related to fatness, muscle development, meat color and meat pH. Finally, our results shed light on the advantage of using different QTL detection methodologies to get a global overview of the QTL present in the studied population.

1. Introduction

Over the last decades pig breeding programs aimed at improving pig production efficiency through growth rate and feed conversion ratio, lean meat content and decreased back fat thickness and carcass fat content. These traits have been successfully improved in most selection programs. However, improving growth and carcass traits have also affected some meat quality traits such as water holding capacity, meat color, intramuscular fat content and tenderness (Schwab, Baas, Stalder, & Mabry, 2006). Meat qualities play an important role in consumer acceptance and purchase intent of pork meat as well as for meat industry processing. Miar, Plastow, Moore, et al. (2014) reported a low to moderate heritability for meat color (0.1 to 0.4), ultimate pH (0.15), shear force (0.4), cooking loss (0.2) and drip loss (0.2). These heritabilities indicate that genetic improvement for these traits is achievable through selection. However, there is a lack of meat quality trait predictors. Consequently, genetic improvement of meat quality traits implies post-mortem traits measurement on the relatives of selection candidates. In such a situation, marker-assisted selection could lead to greater genetic gain than phenotypic selection. Nowadays, many studies have focused on meat quality traits and rose to large number of quantitative trait loci (QTL) recorded in pig QTL database (pig QTLdb; http://www.animalgenome.org/QTLdb/SS/index; released 30) (Hu et al., 2005; Hu, Park, & Reecy, 2016; Hu & Reecy, 2007). However, in many cases they have been conducted in experimental resource populations or in crosses of domestic breeds with exotic breeds (i.e. Chinese or Iberian breed). The aim of the study was to use genome wide association study (GWAS) in combination with linkage disequilibrium-linkage analysis (LDLA) to identify QTL associated with meat quality traits and carcass composition traits in commercial pigs.

2. Material and methods

2.1. Ethics statement

All samples analyzed in this study were collected post-mortem, from pigs raised and slaughtered in the context of pig meat production. These animals and the scientific investigations described herein are therefore not to be considered as experimental animals per se, as defined in EU directive 2010/63 and subsequent national application texts. Consequently, we did not seek ethical review and approval of this study as regarding the use of experimental animals. All animals were reared and slaughtered in compliance with national regulations pertaining to livestock production and according to procedures approved by the

* Corresponding author at: INRA, UMR1348 PEGASE, 16 le Clos, 35590 Saint-Gilles, France.
E-mail addresses: frederic.herault@inra.fr (F. Hérault), pascale.leroy@inra.fr (P. Le Roy).

http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.09.015
Received 3 July 2017; Received in revised form 8 September 2017; Accepted 27 September 2017
Available online 28 September 2017
0309-1740/ © 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

French Veterinary Services. Pigs were raised on the France Hybrides nucleus herd of Sichamps and slaughtered on the ORLEANS Viandes commercial EU approved slaughterhouse according to standard procedures (ORLEANS Viandes, Fleury-les-Aubrais, France).

2.2. Animals

An F2 population of females and barrows was produced from a second generation intercross between two production sire lines: FH016 (Pietrain type, France Hybrides, St-Jean-de-Braye, France) and FH019 (Synthetic line from Duroc, Hampshire and Large White founders, France Hybrides). The two parental lines were close to European pork production standards. They differed marginally in adiposity (backfat thickness) and *longissimus* muscle development (cross-section surface). Eighteen F1 boars were mated to two to five full sib F1 sows for the production of one to three litters arising to 1370 offspring (Cherel et al., 2011). The 457 animals considered in the present work were a subset of this larger F2 resource population. Among the 18 families produced, 6 families issued from resource sires heterozygous for QTL affecting intramuscular fat content in Cherel et al. (2011) were selected for transcriptome analysis (Cherel, Hérault, Vincent, Le Roy, & Damon, 2012) and used subsequently for this study. All animals were genotyped as non-carriers of either the RYR1 Cys 615 or the PRKAG3 Gln 200 alleles (Milan et al., 2000; Otsu, Phillips, Khanna, De Leon, & MacLennan, 1992). All animals were slaughtered at an average body weight of 110 kg in 30 successive batches. Half-carcasses were chilled at − 12 °C for 4 h post-mortem and then stored at 3 °C.

2.3. Phenotypic traits

In this paper, studied traits were named according to the pig traits nomenclature recommendations (Rothschild & Ruvinsky, 2000).

2.3.1. Carcass composition and growth traits

Backfat thickness (BF) was recorded at shoulder (SHOU), dorsal (last rib: LR) and lumbar (LUMB) position using ultrasonic record (US), the carcass grading system Fat-O-Meter (FOM) (SFK, Herlev, Denmark), a hand-operated optical probe (OP) (Introvison Ltd., Hitchin, UK) and with a ruler on half-carcass mid line cuts (HCr). Loin muscle cross-section area (LMA) was measured at dorsal position using ultrasonic record and from digitized pictures of sliced chop. Loin muscle depth (LMDEP) was measured at dorsal and lumbar position using Fat-O-Meter system. Ham weight with foot (HW) and loin weight with bones (LOINWT) were recorded at carcass cutting. Boneless ham weight (BHW) was calculated as the ratio of deboned ham weight expressed as a percentage of total ham weight. Carcass lean meat content (ECLC) was estimated for female and castrated males using backfat thickness at lumbar and last rib position and loin muscle depth at last rib measurements (Daumas, Causeur, Dhorne, & SchollHammer, 1998):

- females: Y = 61.68–0.142 BF-FOM-LUMB − 0.449 BF-FOM-LR + 0.154 LMDEP-FOMLR
- castrates: Y = 58.15–0.198 BF-FOM-LUMB − 0.570 BF-FOM-LR + 0.255 LMDEP-FOMLR.

Finally, growth average daily gain (ADG) was calculated as total weight gain during 35 kg to 105 kg growth period divided by the number of days for this period.

2.3.2. Meat quality traits

Meat quality measurements are briefly described because they have been already detailed (Cherel et al., 2011; Laville et al., 2007).

Meat color and pH measurements were performed on *longissimus lumborum* (LL) and *semimembranosus* muscle (SM). Early pH fall was recorded in loin as pH at 45 min (pH-LL-45). Ultimate pH was recorded 24 h post-mortem in LL (pH-LL-24) at the last rib level and in SM (pH-SM-24) on half-carcasses. Meat color was recorded as three coordinates according to the Minolta L* a* b* system (Konica Minolta Sensing Europe BV, Roissy, France). Indicators of lightness (MCOLOR-L-LL), redness (MCOLOR-a-LL), and yellowness (MCOLOR-b-LL) were recorded from each rib eye surface within 2 h after loin slicing and from deboned *semimembranosus* muscle 96 h post-mortem (MCOLOR-L-SM, MCOLOR-a-SM and MCOLOR-b-SM).

Texture and chemical traits were recorded on LL. Loins were sliced 36 h post-mortem, and two slices of 4 cm width (326 g ± 65 g; including 11th–12th ribs) were collected. The first slice was stored at − 20 °C until analysis. It was used for color measurements, intramuscular fat content (IMF), glycolytic potential analyses (GLYPO) and raw meat shear force (SHEAR-raw). The second slice was weighed, kept at 4 °C for 48 h in a closed plastic bag for drip loss (DRIPL-LL) measurement and then grill-cooked in a 240 °C dry oven for 30 min for cooked loss (COOKL-LL) and cook meat shear force measurements (SHEAR-cook). IMF was measured as percent lipid (lipid weight/meat weight) as determined by the method outlined by Folch, Lees, and Sloane Stanley (1957). Glycolytic potential was calculated from the enzymatic quantification of glycogen, glucose-6P and lactate concentrations (Monin & Sellier, 1985). GLYPO was expressed as micromoles of lactate equivalent per gram of wet tissue. Raw meat and cooked meat tenderness were assessed by the measurement of shear force. For both raw and cooked meat shear force measurements, 10 cylinders of 1 cm in diameter were sheared in a Warner-Bratzler cell. The maximal strength over shearing (at rupture time) was used as the cylinder shear force value and expressed in newtons. Drip loss was calculated as 100 × (weight after storage/weight before storage) and cooking loss was calculated as 100 × (weight after cooking/weight before storage).

2.4. Genotyping and quality control

Genotype data were obtained for 497 animals (457 F2 animals, 26 F1 and 14 F0). DNA was extracted from muscle tissues. DNA samples were genotyped at the animal genotyping platform LABOGENA, (Jouy-en-Josas, France) using the Illumina PorcineSNP60 BeadChip platform (Illumina, San Diego, USA) (Ramos et al., 2009), according to the manufacturer's protocol. Mapping of the 64,232 SNPs on the pig genome was based on the Pig Sscrofa10.2 assembly released by the International Swine Genome Sequencing Consortium (Groenen et al., 2012), combined with radiation hybrid mapping information (Servin, Faraut, Iannuccelli, Zelenika, & Milan, 2012).

Genotypes quality control and filtration were conducted with the PLINK whole genome association analysis toolset (PLINK version 1.07; http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink/) (Purcell et al., 2007). Genotypes were filtered according to SNP call rate, minor allele frequency and Hardy-Weinberg equilibrium. SNP with a genotyping call rate ≤ 95% (6306 SNPs), a minor allele frequency < 0.05 (11,976 SNPs) and SNP significantly ($P < 0.05$) deviated from Hardy-Weinberg equilibrium (3631 SNPs) were filtered out. Moreover, all SNPs with no chromosome assignation were removed from analysis. After applying these quality control measures, 40,330 SNPs remained available for QTL detection.

Animals with call rate lower than 95% were removed from analysis (26 animals). Moreover, five F2 animals were discarded from analysis due to family genotypes incompatibility > 2%. Finally, 468 genotyped animals (449 F2, 11 F1 and 8 F0) were kept for the study.

2.5. QTL analysis

QTL detection were realized using GWAS and LDLA approaches. In both cases, environmental effects and weight covariates were included in the model. For carcass and growth traits the sex and the contemporary test groups were set as nuisance fixed effects in the model. For quality traits, sex and slaughter batch were taken into account.

Carcass weight was set as covariate for carcass composition and quality traits, whereas weight before finishing stage was set as covariate for growth traits. For each trait, the fixed effects and the covariates were tested, using a linear model of variance with R software version 3.2.2 (R Core Team, 2015). Nuisance effects exceeding the significance level ($P < 0.2$) were taken into account in the QTL detection procedure.

2.5.1. GWAS

GWAS, which relies on the analysis of population-wide linkage disequilibrium (LD), were performed using the "Müller" software (Ricard, Filangi, & Elsen, 2013). Data were analyzed using a mixed model that takes pedigree kinship into account using four generation pedigree. The following mixed model was applied to the data:

$$\mathbf{y} = 1\,\mu + \mathbf{Xb} + \mathbf{Zu} + \mathbf{e}, \text{ with } V(\mathbf{u}) = \mathbf{A}\cdot\sigma^2{}_g$$

where **y** is the vector of phenotypes; μ is the general mean; **X** the vector of the genotypes for the SNP evaluated (0, 1 or 2); **b** is the allele substitution effect determined by the SNP genotype; **Z** is a matrix associating random additive polygenic effects to individuals; **u** is a vector containing the random polygenic effects; **e** is the random residual; **A** is the pedigree kinship matrix; σ^2_g is the polygenic genetic variance. This model was fitted using the BLUPF90 program (Misztal et al., 2002). Chromosome-wide significance thresholds were estimated using the method of Müller, Stich, and Piepho (2011).

2.5.2. LDLA

QTL detection were simultaneously performed with the interval mapping method implemented in QTLmap software (Filangi et al., 2010), using the LDLA approach based on Legarra and Fernando (2009), which exploits both the linkage information obtained at the within-family level and the LD information obtained at the population level. A half/full-sib model was used, which assumed that the population was a mixture of half and full-sib families. The order and the position of the SNP were calculated according to their physical location on chromosome assuming 100 M base pairs (Mb) corresponded to 1 Morgan. The haplotype length was set to 4 SNPs and the genome scans were performed using a 1 centimorgan step. QTL detection on SSCX was studied using dam full-sib families. QTL were detected based on likelihood-ratio test (LRT) along chromosomes. Chromosome-wide significance thresholds were estimated through a total of 1000 simulations for each chromosome under the null hypothesis of the test.

2.5.3. Significance thresholds and confidence intervals

QTL detection were carried out chromosome by chromosome, firstly to compare the "no QTL" versus "one QTL" hypotheses. Genome-wide thresholds ($P < 0.05$) were calculated according to the Bonferroni correction as chromosome-wide thresholds at $P < 0.0026$ (0.05/19 chromosomes). A QTL was considered to be significant for a genome-wide significant level of 5%. QTL detected with detection statistics above 1% chromosome-wide threshold but below the 5% genome-wide threshold were reported as suggestive. Using GWAS approach, only maximum QTL detection statistics across all positions along each linkage group was considered in a first step. For each QTL detected, the SNP with the lowest *p*-value was called the "top SNP". Confidence interval (CI) of these QTL were defined with the SNPs having detection statistics above the chromosome-wide threshold ($P < 0.05$) in the neighborhood of the top SNP. The position of the maximum LRT was considered as the most likely QTL location for LDLA analyses. The drop-off method (Lander & Botstein, 1989) implemented in QTLmap was applied to obtain 95% confidence interval of the QTL location. QTL with overlapping confidence interval were considered as single QTL regardless of the methodology used or the traits they influenced.

2.5.4. MultiQTL detection

In a later stage, for chromosome harboring distinct regions with a QTL detection statistics above the chromosome-wide threshold ($P < 0.01$), the presence of a second QTL was investigated in the corresponding approach (GWAS or LDLA) using the first QTL as a fixed effect. To test for the presence of a second QTL on a chromosome, the genotype of the top SNP was introduced as a fixed effect in the model for the GWAS. The analyses were repeated for the rest of the SNPs located on this chromosome. Multi-QTL detection analyses were also performed using QTLMap software with the hypothesis that two QTL influenced the same trait (Gilbert & Le Roy, 2007). Hypothesis of the presence of two QTL was compared to the hypothesis of one QTL. The most likely location and effect estimated in the no versus one QTL test were used to define QTL effect on performances.

2.6. Candidate genes

The list of genes present in each QTL region was extracted from Ensembl data base release 85 (Yates et al., 2016) based on Sscrofa10.2 assembly. Human and pig gene ontology annotations were then used to identify functional candidate genes related to the traits type measured. List of genes and their functional annotations were extracted from Ensembl data base using "biomaRt" package for R (Durinck et al., 2005; Durinck, Spellman, Birney, & Huber, 2009).

3. Results

Genotype data were obtained using the Illumina PorcineSNP60 BeadChip platform for 497 animals. Raw genotypes were checked for quality criteria. The 40,330 remaining SNPs and 449 F2 animals were used for QTL detection. The number of records collected on F2 animals ranged from 306 to 449 according to the trait. The summary statistics of observed phenotype are provided in Table 1.

3.1. QTL detection

In total, 32 QTL were detected. Eighteen QTL were detected using GWAS analyses (Table 2) and 18 using the LDLA approach (Table 3). Their median size were respectively 5 and 2 Mb. Genome-wide significant QTL ($P < 0.05$) were detected for back fat thickness (5 QTL), muscle carcass composition traits (3 QTL), pH for *longissimus lumborum* (1 QTL), average glycolytic potential (1 QTL) and meat color (1 QTL). No QTL affecting average daily gain were detected. GWAS analysis allowed to refine the location of 9 previously identified QTL, whereas LDLA analysis refined the location of 11 QTL. New QTL associated with fatness were mapped on SSC1, SSC8, SSC10, SSC11 and SSC17 using either GWAS or LDLA analysis. We also uncovered some new QTL affecting meat color on SSC6, SSC17 and SSC18, loin weight on SSC16 and texture on SSC1. Over all detected QTL, only two of them were identified using both approaches (Table 4). The first one was detected on SSC6 and was identified for MCOLOR-a-LL. The second one was located on SSC8 for BF-HCr-LR. Four chromosomes were tested for the presence of two QTL for GWAS analysis, and 4 chromosomes for the LDLA approach. A second QTL affecting IMF was identified on SSC4 using GWAS analysis. Similarly, the test of the presence of two QTL using LDLA for MCOLOR-a-LL on SSC6 led to the identification of two QTL.

3.2. QTL detected for meat quality traits

In this study, we have identified 7 QTL affecting meat color redness and two QTL affecting meat color yellowness. The QTL identified on SSC17 using GWAS approach had a genome-wide significant effect. SSC6 carried two distinct QTL for MCOLOR-a. On SSC16 LDLA and GWAS approaches led to the identification of two closely non-overlapping QTL for MCOLOR-a-SM. Their confidence intervals were respectively 1.2–3.2 Mb and 6.2–12.2 Mb. Two QTL affecting pH-LL-24 were detected in our study. The first one was identified on SSC1 using

Table 1
Meat quality, carcass and growth traits description and statistics.

Abbreviation	Unit	N[a]	Mean	SD	Traits description	Trait type[b]
BHW	%	359	61.7	4.6	Boneless ham weight expressed as a percentage of total ham weight	Anatomy
HW	kg	448	12.62	1.14	Ham weight with feet	Anatomy
ECLC	%	448	61.5	2.43	Estimated carcass lean content	Anatomy
LMA-C	cm2	437	55.32	6.51	Loin muscle area - sliced chop	Anatomy
LMA-US-LR	cm2	416	43.72	5.65	Loin muscle area - ultrasonic record - last rib	Anatomy
LMDEP-FOM-LR	mm	447	57.57	5.1	Loin muscle depth - Fat-O-Meter - last rib	Anatomy
LMDEP-FOM-LUMB	mm	446	69.48	5.63	Loin muscle depth - Fat-O-Meter - lumbar	Anatomy
LOINWT	kg	444	10.34	1.04	Loin weight	Anatomy
GLYPO	µmol/g	444	161.25	23.76	Average glycolytic potential	Chemical
BF-FOM-LR	mm	447	14.27	3.13	Back fat thickness - Fat-O-Meter -last rib	Fatness
BF-FOM-LUMB	mm	446	16.38	3.35	Back fat thickness - Fat-O-Meter - lumbar	Fatness
BF-HCr-LR	mm	449	19.01	3.67	Back fat thickness - ruler on cut - last rib	Fatness
BF-HCr-LUMB	mm	449	25.9	4.17	Back fat thickness - ruler on cut - lumbar	Fatness
BF-HCr-SHOU	mm	449	35.88	6.4	Back fat thickness - ruler cut - shoulders	Fatness
BF-OP-LR	mm	434	16.24	4.21	Back fat thickness - optical probe - last rib	Fatness
BF-OP-LUMB	mm	434	19.4	4.61	Backfat thickness - optical probe - lumbar	Fatness
BF-OP-SHOU	mm	362	34.83	8.25	Back fat thickness - optical probe – shoulders	Fatness
BF-US-LR	mm	414	14.43	3.19	Back fat thickness - ultrasonic record - last rib	Fatness
IMF	%	441	2.26	0.69	Loin intramuscular fat content	Fatness
ADG	g/day	448	1056.25	133.74	Average daily gain (35 kg to 105 kg)	Growth
MCOLOR-a-LL	CIE a*	441	7.91	1.26	LL meat redness - Minolta - loin	Meat color
MCOLOR-a-SM	CIE a*	336	10.52	2.3	SM meat redness - Minolta - deboned ham	Meat color
MCOLOR-b-LL	CIE b*	441	5.14	1.43	LL meat yellowness - Minolta - loin	Meat color
MCOLOR-b-SM	CIE b*	336	4.74	2.06	SM meat yellowness - Minolta - deboned ham	Meat color
MCOLOR-L-LL	CIE L*	441	49.64	3.14	LL meat lightness - Minolta - loin	Meat color
MCOLOR-L-SM	CIE L*	309	51.14	3.88	SM meat lightness - Minolta - deboned ham	Meat color
pH-LL-24	pH unit	444	5.69	0.18	Ultimate meat pH - loin - 24 h post-mortem	pH
pH-LL-45	pH unit	445	6.55	0.24	Early pH fall - loin - 45 min post-mortem	pH
pH-SM-24	pH unit	444	5.76	0.18	Ultimate meat pH - ham - 24 h post-mortem	pH
COOKL-LL	%	436	72.48	4.21	Loin cooking loss	Texture
DRIPL-LL	%	438	98.45	1	Loin Drip loss	Texture
SHEAR-cook	N	388	34.3	5.09	Shear force on cooked loin	Texture
SHEAR-raw	N	407	35.77	6.48	Shear force on raw loin	Texture

LL: *Longissimus lumborum* muscle.
SM: *Semimembranosus* muscle.
[a] N: number of records.
[b] Trait type: according to pig QTLdb nomenclature.

GWAS approach. This QTL had a genome-wide significant effect on pH-LL-24 and GLYPO. The second one was detected using LDLA approach on SSC11. Five QTL for IMF were identified. Two of them were located on SSC4. Finally, QTL affecting raw meat shear force were identified on SSC1 and SSC6.

3.3. QTL detected for carcass composition traits

We have detected 13 QTL affecting back fat thickness traits recorded at shoulder, last rib and lumbar position using either ultrasonic record, Fat-O-Meter system, a hand-operated optical probe or a ruler on half-carcass mid line cuts. Two significant QTL affecting 3 different BF measures at lumbar position were identified using GWAS on SSC1. Two QTL affecting respectively back fat at last rib and lumbar position were detected on SSC11. Three QTL affecting back fat at shoulder, last rib or lumbar position were detected on SSC16 using either LDLA or GWAS approach. QTL affecting multiple BF traits were identified on SSC5, SSC16 and SSCX. QTL for loin and ham weight were detected respectively on SSC16 and SSC8. Finally, 5 QTL affecting loin muscle depth, or lean meat content were identified on SSC1, SSC7, SSC11 and SSCX. QTL localized on SSC11 and SSCX were genome-wide significant.

3.4. QTL detected for multiple traits

Both approaches led to the identification of QTL affecting multiple traits. In total, seven QTL affecting multiple traits have been identified in our study. Using GWAS analysis we identified 4 QTL affecting multiple traits. They were located on SSC1, SSC17, SSC18 and SSCX and had an effect on pH-LL-24 and GLYPO, IMF and meat redness, DRIPL-LL and meat yellowness and BF and ECLC, respectively. Likewise, LDLA analysis identified a QTL located on SSC11 affecting BF and ECLC and a second QTL located on SSC18 affecting BF and IMF. Finally, a QTL affecting BF traits and meat redness was detected on SSC16 using GWAS and LDLA respectively.

3.5. Functional candidate genes

Using Ensembl data base release 85 and Sscrofa10.2 assembly, we identified 26 positional and functional candidate genes corresponding to 14 QTL (Table 5). Among them, 21 genes related to lipid metabolic process, lipid storage, lipid transport or fat cell differentiation were identified in QTL related to fatness. Three genes involved in striated muscle cell differentiation were identified in QTL related to muscle carcass traits and finally two genes related to energy reserve metabolic process or heme catabolic process were identified in QTL affecting pH and glycolytic potential and meat color respectively.

4. Discussion

Meat quality plays an important role in consumer acceptance and purchase intent of pork meat as well as for meat industry processing, whereas carcass composition traits such as fat deposition and lean meat content determine carcass value. The aim of this study was to use genome wide association in combination with linkage disequilibrium-linkage analysis to identify quantitative trait loci associated with meat quality traits and carcass composition traits in commercial pigs.

In our study, we identified 9 significant and 23 suggestive QTL using GWAS and LDLA approaches. Significant QTL were detected for meat

Table 2
QTL detected for meat quality and carcass traits using GWAS analysis.

SSC	Trait	Significance levels[a]	Location (CI)[b]	QTL effect[c]	QTLdb (QTL size)[d]
1	BF-OP-LUMB	*	51.32 (49.82–58.65)	0.49	–
	BF-HCr-LUMB	**	58.22 (43.67–60.12)	0.46	–
1	BF-FOM-LUMB	**	90.63 (88.37–115.02)	0.55	1 QTL (26.5 Mb)
1	pH-LL-24	**	173.74 (167.26–181.02)	0.51	2 QTL (105.6 Mb)
	GLYPO	***	173.74 (167.26–181.02)	0.55	1 QTL (31.2 Mb)
1	ECLC	*	285.22 (285.22–291.58)	0.35	2 QTL (15.6–34.5 Mb)
4	IMF	*	22.15 (22.15–22.32)	0.54	2 QTL (19.7–78 Mb)
4	IMF	*	118.35 (117.95–123.08)	0.47	1 QTL (87.8 Mb)
5	BF-FOM-LR	*	76.96 (70.98–76.96)	0.36	3 QTL (0.2–20.8)
	BF-FOM-LUMB	*	78.65 (76.96–83.05)	0.52	–
6	MCOLOR-a-LL	*	37.07 (24.52–37.07)	0.50	6 QTL (0.03–127.4 Mb)
8	MCOLOR-a-SM	*	5.44 (2.23–5.44)	0.55	1 QTL (10 Mb)
8	BF-HCr-LR	*	7.05 (7.05–7.52)	0.41	–
10	BF-FOM-LUMB	*	66.57 (−)	0.40	–
11	LMDEP-FOM-LR	**	19.55 (16.15–23.20)	0.45	3 QTL (23.2–23.6 Mb)
16	BF-HCr-SHOU	***	1.70 (0.34–3.17)	0.54	1 QTL (67.3 Mb)
	BF-HCr-LR	*	1.70 (1.70–4.84)	0.49	1 QTL (0.6 Mb)
	BF-OP-LR	*	3.23 (2.37–3.23)	0.46	
	BF-FOM-LR	*	3.23 (1.70–5.01)	0.45	
16	MCOLOR-a-SM	*	6.20 (6.20–12.23)	0.46	2 QTL (42.5–75.3 Mb)
17	IMF	*	61.22 (61.22–61.25)	0.38	–
	MCOLOR-a-SM	**	63.36 (58.93–63.36)	0.83	–
18	DRIPL-LL	*	56.54 (−)	0.44	1 QTL (31.5 Mb)
	MCOLOR-b-SM	*	57.26 (53.02–57.29)	0.44	–
X	BF-US-LR	*	103.63 (102.43–106.20)	0.30	2 QTL (55.5–57.9 1 Mb)
	BF-FOM-LR	*	106.20 (102.43–106.20)	0.31	1 QTL (65.1 Mb)
	BF-FOM-LUMB	***	106.20 (103.63–106.61)	0.36	2 QTL (31.8–32.7 Mb)
	ECLC	***	106.20 (103.63–106.61)	0.36	
X	MCOLOR-a-LL	*	121.63 (−)	0.50	1 QTL (0.1 Mb)

[a] Significance levels: * = 1% Chromosome-wide; ** = 5% genome-wide; *** = 1% genome-wide.
[b] Position of most significant QTL detection (Mb) and confidence interval. Confidence interval was defined with the SNPs with detection statistics above 5% chromosome-wide threshold in the neighborhood of the top SNP for GWAS analyses.
[c] QTL effect expressed in standard deviation unit.
[d] Number of QTL recorded for this trait at this locus in QTLdb and their minimum and maximum size (Mb).

quality traits and carcass composition traits. Over all, we detected 18 QTL affecting carcass composition traits such as back fat and muscle carcass composition and 16 QTL for meat quality traits on meat color, drip loss, shear force, intra muscular fat and ultimate pH. Eight chromosomes were tested for the presence of a second QTL. In most of the cases the secondary putative QTL position was cancelled as the statistics test decreased under the chromosome-wide threshold ($p < 0.01$). Over the 4 chromosomes tested using GWAS analysis the presence of a second QTL was confirmed only for IMF on SSC4. For the other chromosomes the strong LD level between the first QTL and the second

Table 3
QTL detected for meat quality and carcass traits using LDLA analysis.

SSC	Trait	Significance levels[a]	Location (CI)[b]	QTL effect[c]	QTLdb (QTL size)[d]
1	SHEAR-raw	*	73.29 (72.30–75.30)	0.60	–
6	MCOLOR-a-LL	*	9.01 (8.00–10.00)	0.41	6 QTL (7.1–127.4 Mb)
6	MCOLOR-b-SM	*	29.01 (28.00–30.00)	1.36	–
6	MCOLOR-a-LL	*	34.01 (33.00–36.00)	1.119	6 QTL (0.03–127.4 Mb)
6	SHEAR-raw	*	64.01 (62.00–65.00)	0.52	2 QTL (36.6–124 Mb)
6	BF-US-LR	*	90.01 (89.00–91.00)	0.52	9 QTL (5.1–42.6 Mb)
7	LMDEP-FOM-LR	*	8.22 (7.20–9.20)	1.14	1 QTL (120.8 Mb)
8	BF-HCr-LR	*	8.42 (7.40–9.40)	0.66	–
8	HW	*	14.42 (13.40–15.40)	0.79	4 QTL (8.9–40.8 Mb)
8	IMF	*	140.42 (139.40–141.40)	2.32	–
11	BF-OP-LR	*	26.02 (25.00–27.00)	0.48	1 QTL (34 Mb)
11	ECLC	*	29.02 (28.00–30.00)	0.76	1 QTL (1,3 Mb)
	BF-FOM-LUMB	*	31.02 (28.00–34.00)	0.60	–
11	pH-LL-24	*	52.02 (50.00–53.00)	0.78	1 QTL (28.7 Mb)
16	MCOLOR-a-SM	*	2.18 (1.20–3.20)	0.71	1 QTL (42.5 Mb)
16	BF-FOM-LUMB	*	21.18 (20.20–22.20)	0.90	1 QTL (30.9 Mb)
16	BF-FOM-LR	**	25.18 (24.20–27.20)	2.73	1 QTL (49.5 (Mb)
16	LOINWT	***	71.18 (70.20–72.20)	1.51	–
18	IMF	*	7.13 (6.10–8.10)	0.31	–
	BF-HCr-LR	*	8.13 (7.10–9.10)	0.63	3 QTL (22–54.6 Mb)

[a] Significance levels: * = 1% Chromosome-wide; ** = 5% genome-wide; *** = 1% genome-wide.
[b] Position of most significant QTL detection (Mb) and confidence interval. The drop-off method implemented in QTLmap was applied to obtain 95% confidence intervals of the QTL location.
[c] QTL effect expressed in standard deviation unit.
[d] Number of QTL recorded for this trait at this locus in QTLdb and their minimum and maximum size (Mb).

Table 4
QTL detected for meat quality and carcass traits using GWAS and LDLA analysis.

SSC	Trait	Significance levels[a]	GWAS location (CI)[b]	LDLA location (CI)[c]	QTLdb (QTL size)[d]
6	MCOLOR-a-LL	*	37.07 (24.52–37.07)	34.01 (33.00–36.00)	6 QTL (0.03–127.4 Mb)
8	BF-HCr-LR	*	7.05 (7.05–7.52)	8.42 (7.40–9.40)	–

[a] Significance levels: * = 1% Chromosome-wide; ** = 5% genome-wide; *** = 1% genome-wide.
[b] Position of most significant QTL detection (Mb) and confidence interval. Confidence interval was defined with the SNPs with detection statistics above 5% chromosome-wide threshold in the neighborhood of the top SNP for GWAS analyses.
[c] Position of most significant QTL detection (Mb) and confidence interval. The drop-off method implemented in QTLmap was applied to obtain 95% confidence intervals of the QTL location.
[d] Number of QTL recorded for this trait at this locus in QTLdb and their minimum and maximum size (Mb).

putative QTL location suggest that this second location was identified due to high LD level. Similarly, the test of the presence of two QTL using LDLA for MCOLOR-a-LL on SSC6 led to the identification of two QTL. The firstly identified locus spanned from 17 to 20 Mb whereas the two loci identified in the two versus one QTL test spanned from 8 to 10 Mb and 33 to 36 Mb. This suggests that the QTL identified in the "no QTL" versus "one QTL" hypothesis was a "ghost QTL" (Uleberg & Meuwissen, 2007).

Table 5
Candidate gene located in QTL for meat quality, carcass.

SSC	Trait type	Gene[a]	Gene id[b]	go id[c]	go term[d]
1	Back fat thickness (BF)	*FABP7*	ENSSSCG00000004234	GO:0044255	Cellular lipid metabolic process
				GO:0016042	Lipid catabolic process
1	Back fat thickness (BF)	*FAM135A*	ENSSSCG00000004275	GO:0044255	Cellular lipid metabolic process
1	Back fat thickness (BF)	*NUS1*	ENSSSCG00000020885	GO:0006869	Lipid transport
				GO:0055088	Lipid homeostasis
1	Back fat thickness (BF)	*ACAA2*	ENSSSCG00000004510	GO:0044255	Cellular lipid metabolic process
				GO:0008610	Lipid biosynthetic process
1	Back fat thickness (BF)	*ELOVL4*	ENSSSCG00000028080	GO:0044255	Cellular lipid metabolic process
				GO:0008610	Lipid biosynthetic process
1	Back fat thickness (BF)	*LIPG*	ENSSSCG00000004509	GO:0006869	Lipid transport
				GO:0055088	Lipid homeostasis
1	Back fat thickness (BF)	*ZBTB7C*	ENSSSCG00000028076	GO:0045598	Regulation of fat cell differentiation
1	Average glycolytic potential (GLYPO) Muscle pH (pH)	*MC4R*	ENSSSCG00000004904	GO:0030073	Insulin secretion
				GO:0006112	Energy reserve metabolic process
1	Estimated carcass lean content (ECLC	*TRIM32*	ENSSSCG00000005501	GO:0046716	Muscle cell cellular homeostasis process
				GO:0051155	Positive regulation of striated muscle cell differentiation process
4	Intramuscular fat content (IMF)	*CEPT1*	ENSSSCG00000029918	GO:0006629	Lipid metabolic process
4	Intramuscular fat content (IMF)	*SORT1*	ENSSSCG00000006831	GO:0045599	Negative regulation of fat cell differentiation
5	Back fat thickness (BF)	*ABCD2*	ENSSSCG00000000781	GO:0019216	Regulation of lipid metabolic process
				GO:0050996	Positive regulation of lipid catabolic process
				GO:0006869	Lipid transport
5	Back fat thickness (BF)	*ANO6*	ENSSSCG00000000804	GO:0006869	Lipid transport
6	Back fat thickness (BF)	*CIDEA*	ENSSSCG00000024644	GO:0019216	Regulation of lipid metabolic process
				GO:0050995	Negative regulation of lipid catabolic process
				GO:0010883	Regulation of lipid storage
				GO:0010884	Positive regulation of lipid storage
6	Back fat thickness (BF)	*PTPN2*	ENSSSCG00000021738	GO:0010883	Regulation of lipid storage
				GO:0010888	Negative regulation of lipid storage
8	Intramuscular fat content (IMF)	*HSD17B13*	ENSSSCG00000009225	GO:0019216	Regulation of lipid biosynthetic process
8	Intramuscular fat content (IMF)	*SPP1*	ENSSSCG00000009216	GO:0033280	Response to vitamin D
11	Loin muscle depth (LMDEP)	*NEK5*	ENSSSCG00000009380	GO:0051153	Regulation of striated muscle cell differentiation
				GO:0051146	Striated muscle cell differentiation
11	Loin muscle depth (LMDEP)	*RB1*	ENSSSCG00000009401	GO:0051153	Regulation of striated muscle cell differentiation
				GO:0051146	Striated muscle cell differentiation
16	Back fat thickness (BF)	*C1QTNF3*	ENSSSCG00000016823	GO:0055088	Lipid homeostasis
				GO:0045444	Fat cell differentiation
16	Back fat thickness (BF)	*PRKAA1*	ENSSSCG00000024598	GO:0019216	Regulation of lipid metabolic process
				GO:0046889	Positive regulation of lipid biosynthetic process
				GO:0050995	Negative regulation of lipid catabolic process
18	Intramuscular fat content (IMF)	*PRKAG2*	ENSSSCG00000016432	GO:0019216	Regulation of lipid biosynthetic process
18	Intramuscular fat content (IMF)	*SMARCD3*	ENSSSCG00000016435	GO:0044255	Cellular lipid metabolic process
				GO:0042692	Muscle cell differentiation
18	Meat color (MCOLOR)	*BLVRA*	ENSSSCG00000016756	GO:0042167	Heme catabolic process
X	Back fat thickness (BF)	*ACSL4*	ENSSSCG00000012583	GO:0006869	Lipid transport
X	Back fat thickness (BF)	*IRS4*	ENSSSCG00000031027	GO:0019216	Regulation of lipid metabolic process

[a] HGNC approved gene symbol.
[b] Ensembl gene ID.
[c] Gene Ontology identification numbers.
[d] Gene Ontology terms.

4.1. Comparison of results obtained using different QTL detection methodologies

In most of the cases, GWAS and LDLA approaches led to different results. In fact, only two QTL were identified using both approaches. They were located on SSC6 and SSC8 and affected MCOLOR-a-LL and BF-HCr-LR respectively. However, each approach allows us to refine previously known QTL location and to identify new QTL. Several explanations for this discrepancy are possible. Firstly, GWAS relies on the marker density to capture enough LD to identify SNP statistically associated to the trait through a consecutive series of single marker tests. The traits are regressed onto each SNP considered as independent of all other markers. Consequently, when the studied QTL stand in a chromosomal region in weak LD this could affect the ability to detect QTL by association. LDLA, on the other hand, may take advantages of 4 SNPs haplotype length genome scan and linkage analysis and linkage disequilibrium to detect such QTL. Secondly, GWAS relies only on information obtained at the population level (LD) whereas LDLA exploits information obtained through the strong family structure of the experimental design at the within-family level (linkage information) and the information obtained at the between-family level (LD). Thirdly, GWAS relies on a mixed model that takes pedigree kinship into account to detect QTL while LDLA approach takes into account the sire and dam fixed effect. Although, both methodologies take relatedness into account, the way they take advantage of relatedness and genotype information may explain such discrepancy. Finally, the threshold used to assess statistical significance in GWAS and LDLA analysis may also explain part of this discrepancy. These rejection thresholds are not calculated through a mathematical formula, but are empirically estimated through simulations. As a consequence, rejection threshold estimated in each approaches may reach to different results as illustrated in Fig. 1. Although not significant, maximum LRT position detected for BF-HCr-LUMB on SSC1 using LDLA agreed with the genome wide significant QTL position detected using GWAS. Finally, as pointed out by Legarra et al. (2015), the fact that the null hypothesis (i.e. no QTL) is biologically unreasonable may affect the rejection threshold and thus impact the power of QTL detection depending on the used method and the studied data set. All together these differences in methodologies may contribute to the different results obtained. However, it should be noted that in their study comparing three methods for whole genome QTL mapping Legarra et al. (2015) showed that both approaches were relevant for QTL detection.

All together, as previously postulated by Garcia-Gámez, Gutiérrez-Gil, Suarez-Vega, de la Fuente, and Arranz (2013) and Legarra et al. (2015), our results led us to suggest that combining different QTL detection strategies (GWAS and LDLA) is a good way to get a global overview of the QTL that segregate in the studied population.

4.2. QTL affecting several traits

Using GWAS and LDLA approaches we have identified 2 QTL affecting pH-LL-24. Both QTL were already identified (Cherel et al., 2011; Edwards et al., 2008; Liu et al., 2007). However our results refined the location of these two QTL. Interestingly, the locus detected on SSC1 affected both pH-LL-24 and GLYPO. Moreover, in our study a locus overlapping this region seemed to have an effect on MCOLOR-L-LL at 5% chromosome-wide threshold. Furthermore, several QTL affecting drip loss were also reported in the same genome location (Ponsuksili et al., 2008). Ultimate pH and glycolytic potential are closely related to product yield and pork quality. The RN gene (*PRKAG3*), located on SSC15, is a well-known major gene affecting meat quality through its impact on glycolytic potential and ultimate pH (Fernandez, Tornberg, Naveau, Talmant, & Monin, 1992; Le Roy, Naveau, Elsen, & Sellier, 1990; Milan et al., 2000). Several studies have reported negative genetic and phenotypic correlation between ultimate pH and GLYPO, IMF, meat lightness and DRIPL (Huff-Lonergan et al., 2002; Larzul et al., 1999; Suzuki et al., 2005; van Wijk et al., 2005). These negative correlations highlight an antagonistic effect between ultimate pH and these traits and suggest that these traits are controlled by the same gene or group of genes. Although this locus affected both GLYPO and pH-LL-24, none of the gene located in this QTL were related to glycogen metabolic process (GO:0005977). However, melanocortin 4 receptor (*MC4R*) a gene related to insulin secretion (GO:0030073) and energy reserve metabolic process (GO:0006112) was located in the confidence interval of this QTL. It is known that insulin activates glycogen synthase (*GS*) in skeletal muscle and consequently stimulates glycogen synthesis in muscle (Halse, Bonavaud, Armstrong, McCormack, & Yeaman, 2001). Thus, these results highlight *MC4R* as potential functional candidate gene.

Three QTL affecting BF and either ECLC or IMF were identified. Two of them affected BF and ECLC traits. The first one was identified on SSC11 for BF at lumbar position and ECLC and was closed to a QTL for BF at last rib position. The second one was located on SSCX for BF at last rib and lumbar position and ECLC. These findings are consistent and make sense as ECLC was estimated using backfat thickness at lumbar and last rib position measurements. Moreover, van Wijk et al. (2005) reported a high negative genetic correlation of − 0.95 between BF and lean meat percentage. This negative correlation is consistent with the fact that leaner pigs have lower backfat. A QTL for BF-LR and IMF was identified on SSC18. Several study have reported moderate to high positive genetic correlation between these traits (Miar, Plastow, Bruce, et al., 2014; Newcom, Baas, Schwab, & Stalder, 2005; Solanes et al., 2009; Suzuki et al., 2005). Furthermore, Huff-Lonergan et al. (2002), Schwab et al. (2006), Newcom et al. (2005) and Suzuki et al. (2005) reported a moderate positive phenotypic correlation between these traits which implies that pigs with higher backfat thickness tend to have high IMF percentages. Finally, three QTL affecting ham colorness and BF, IMF or DRIPL-LL were identified. In most of the cases genetic correlation between meat color and other traits are related to loin color measurement whereas a few studies estimate genetic correlation between ham meat color and other traits. Miar, Plastow, Bruce, et al. (2014), Miar, Plastow, Moore, et al. (2014) reported no significant genetic correlation between ham redness and BF or IMF, whereas van Wijk et al. (2005) estimate a high positive genetic correlation between BF and MCOLOR-a-SM. Despite this discrepancy, we identified two QTL affecting ham redness and BF or IMF. The first one was located on SSC16 and affected BF at last rib and shoulder position and MCOLOR-a-SM. The second one was located on SSC17 and was detected for MCOLOR-a-SM and IMF. Finally, we identified a QTL affecting ham yellowness and DRIPL-LL located on SSC18. Van Wijk et al. (2005) reported an extremely high positive genetic correlation and a moderate positive phenotypic correlation between DRIPL-LL and ham lightness and yellowness. All together, these results suggest that these traits are influenced by the same genes or genes in very close proximity in linkage disequilibrium.

4.3. QTL detected for meat color

Meat color plays an important role in consumer acceptance of meat (Suman & Joseph, 2013). Moreover, both meat color redness and lightness are closely related to meat quality defects such as PSE (pale, soft, exudative) and DFD (dark, firm, dry). In total, 186 QTL affecting meat color redness and 99 QTL for meat color yellowness have been reported in pig QTLdb. We confirmed QTL locations for meat redness on SSC6, SSC8, SSC16 and SSCX and meat yellowness on SSC6 refining most of them. It is worth noting that the QTL for meat redness located at 34–37 Mb on SSC6 was identified using both GWAS and LDLA approaches. This QTL was already identified using other different approaches. Harmegnies et al. (2006) identified this QTL using a rank-based nonparametric approach for half-sib designs, whereas Cherel et al. (2011) and Li et al. (2010) identified this QTL using a variance component-based linkage analysis approach. However, there were no

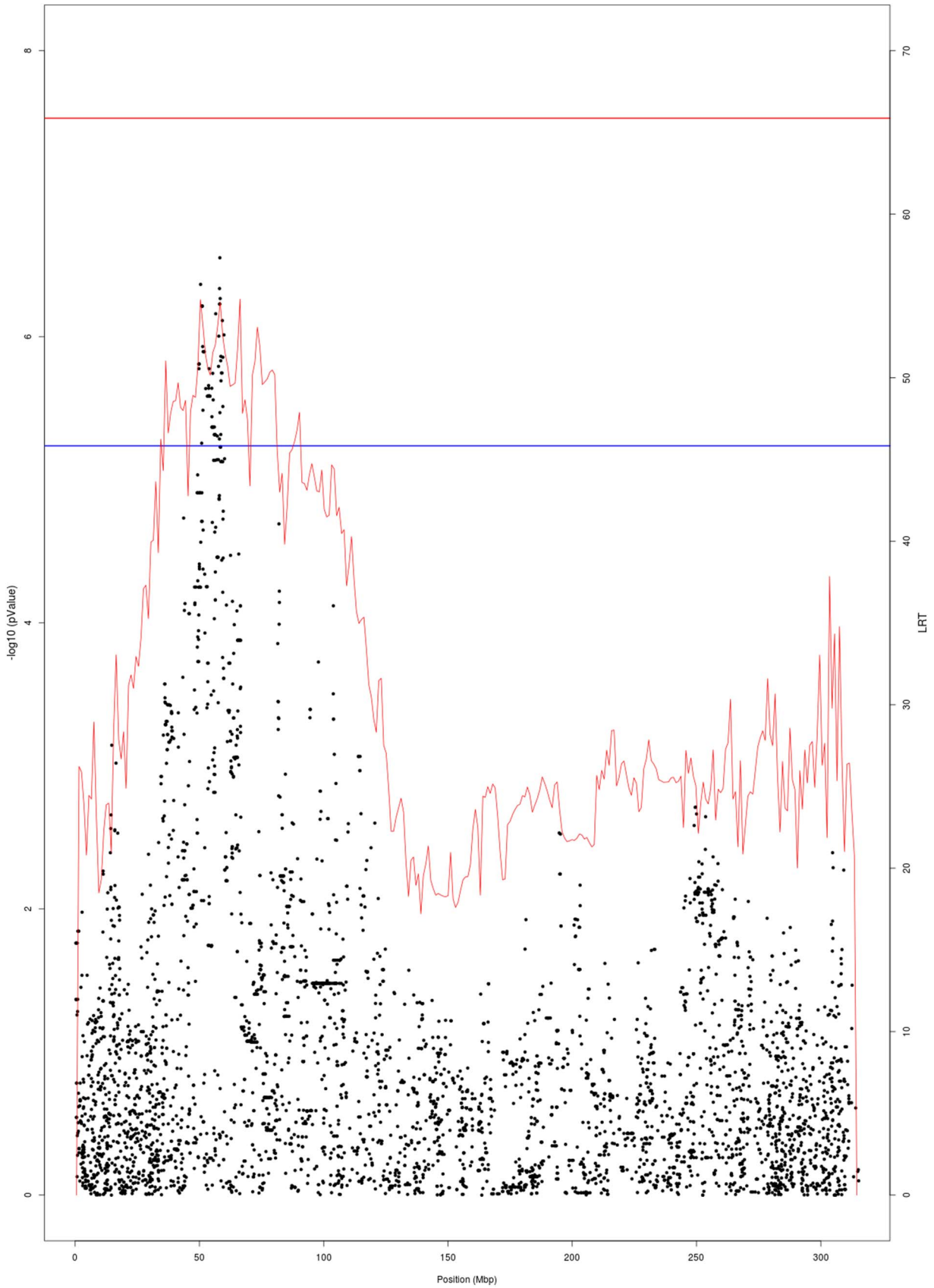


Fig. 1. QTL detection for BF-HCr-LUMB on SSC1. Manhattan plot for GWAS and LRT profiles (red) for LDLA for BF-HCr-LUMB detection on SSC1. The y-axis on the left is –log10(p-Value); the y-axis on the right is LRT; the x-axis is the position along the chromosome in Mb; the blue line is the 1% chromosome rejection threshold for GWAS analysis and the red line is the 1% chromosome rejection threshold for LDLA analysis. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

functional candidate genes identified in the confidence intervals of this QTL. New QTL were identified for meat color on SSC17 and SSC18. Genome-wide significant QTL for MCOLOR-a-SM identified on SSC17 span from 58.9 to 63.4 Mb. There was no QTL for meat redness described in pig QTLdb at this locus. However, several QTL for meat color lightness and yellowness were reported in the same chromosomal location spanning from 52 to 68 Mb (Harmegnies et al., 2006; Kim, Zhao, Thomsen, Rothschild, & Dekkers, 2005; Malek et al., 2001; Rohrer, Nonneman, Miller, Zerby, & Moeller, 2012). In the same way, we detected a new locus affecting meat color yellowness located on SSC18. There wasn't any QTL for meat yellowness on SSC18 recorded in pig QTLdb. However, Cherel et al. (2011) identified a QTL for meat lightness on the same locus (CI: 54.3–61.2 Mb). Interestingly, the gene encoding for biliverdin reductase A (*BLVRA*) was located on SSC18 in the confidence interval of this QTL. This enzyme is known to play a major role in heme catabolic process (GO:0042167) and hence in myoglobin catabolic pathways as the myoglobin is the sarcoplasmic heme protein (Richards, 2013). Moreover, it is known that myoglobin is responsible for the raw meat as well as cooked meat colors (Suman & Joseph, 2013). These results identify *BLVRA* as a potential candidate gene for meat color.

4.4. QTL affecting intramuscular fat

IMF is an important economical trait in modern pig breeding, as it may play a role in consumer acceptance of pork meat in regards of organoleptic meat quality such as flavor, juiciness and tenderness. In our study, we have detected suggestive QTL for IMF on SSC4, SSC8, SSC17 and SSC18. Nowadays, 231 QTL affecting IMF have been reported in QTLdb. However, none of them overlapped the confidence interval we found for IMF QTL on SSC8, SSC17 and SSC18. Several functional candidate genes related to lipid metabolic process (GO:0006629), fat cell differentiation (GO:0045444) or response to vitamin D (GO:0033280) were located in QTL on SSC4, SSC8 and SSC18. We focus on vitamin D as it may affect lipid metabolism and the intramuscular fat level (Gilsanz, Kremer, Mo, Wren, & Kremer, 2010; Ning et al., 2015). Choline/ethanolamine phosphotransferase 1 (*CEPT1*) gene related to lipid metabolic process (GO:0006629) and sortilin 1 (*SORT1*) a gene involved in the negative regulation of fat cell differentiation (GO:0045599) are located in the confidence interval of the QTL located on SSC4. The QTL located on SSC8 carried secreted phosphoprotein 1 (*SPP1*) and hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 13 (*HSD17B113*) gene. *SPP1* is related to response to vitamin D (GO:0033280) while *HSD17B13* plays a role in the regulation of lipid metabolic process (GO:0019216). Finally, SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily d, member 3 *(SMARCD3)* and protein kinase AMP-activated non-catalytic subunit gamma 2 (*PRKAG2*) genes are located on SSC18. *PRKAG2 is* involved in the regulation of lipid metabolic process (GO:0019216), whereas *SMARCD3* is involved in cellular lipid metabolic process (GO:0044255) and muscle cell differentiation (GO:0042692).

4.5. QTL affecting back fat thickness

> 1300 QTL related to back fat thickness are registered in pig QTLdb. In our study, back fat thickness was recorded using 4 measurements on 3 anatomical positions. GWAS and LDLA approaches led to 13 detected QTL. They were located on SSC1, SSC5, SSC6, SSC8, SSC10, SSC11, SSC16, SSC18 and SSCX. Most of them were previously described and recorded in pig QTLdb. However, in most of the cases using the Illumina PorcineSNP60 BeadChip allow us to refine QTL position. It should be noted that the QTL affecting backfat at last rib located on SSC8 was identified using both GWAS and LDLA approaches. Three QTL affecting this trait were identified on SSC8, however any of them were located on the same locus (CI: 7.05–9.40 Mb). Using post-QTL bioinformatics analysis, no functional candidate genes were identified in the confidence intervals of this QTL. Bio-informatics analysis of these loci identified several functional candidate genes involved in lipid metabolism, transport, homeostasis or storage process or fat cell differentiation. Eight genes are involved in lipid metabolism process. Family with sequence similarity 135 member A (*FAM135A*), fatty acid binding protein 7 (*FABP7*), ELOVL fatty acid elongase 4 (*ELOVL4*) and acetyl-CoA acyltransferase 2 (*ACAA2*) genes are all related to cellular lipid metabolic process (GO:0044255). While *ACAA2* and *ELOVL4* are involved in lipid biosynthetic process (GO:0008610), *FABP7* is related to lipid catabolic process (GO:0016042). Protein kinase AMP-activated catalytic subunit alpha 1 (*PRKAA1*), ATP binding cassette subfamily D member 2 (*ABCD2*), Cell death-inducing DFFA-like effector a (*CIDEA*) and insulin receptor substrate 4 (*IRS4*) are involved in the regulation of lipid metabolic process (GO:0019216). More precisely, *CIDEA* is involved in the negative regulation of lipid catabolic process (GO:0050995), whereas *ABCD2* is involved in the positive regulation of lipid catabolic process (GO:0050996). *PRKAA1* is an interesting functional candidate gene as it plays a role in the positive regulation of lipid biosynthetic process (GO:0046889) as well as in the negative regulation of lipid catabolic process (GO:0050995). NUS1 dehydrodolichyl diphosphate synthase subunit (*NUS1*), lipase G, endothelial type (*LIPG*), anoctamin 6 (*ANO6*) and acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 (*ACSL4*) and *ABCD2* genes are all involved in lipid transport (GO:0006869) process. *NUS1* and LIPG are also related to lipid homeostasis (GO:0055088) process as well as C1q and tumor necrosis factor related protein 3 (*C1QTNF3*). *CIDEA* and protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 2 (*PTPN2*) genes are involved in the regulation of lipid storage (GO:0010883). *PTPN2* plays a role in the negative regulation of lipid storage (GO:0010888), whereas *CIDEA* is involved in the positive regulation of lipid storage (GO:0010884). Finally, *C1QTNF3* and zinc finger and BTB domain containing 7C (*ZBTB7C*) are known to play a role in fat cell differentiation (GO:0045444) and the regulation of fat cell differentiation (GO:0045598).

4.6. QTL affecting muscle development

Seven QTL affecting muscle development (ECLC, LMDEP, LOINWT and HW) were detected on SSC1, SSC7, SSC8, SSC11, SSC16 and SSCX. QTL localized on SSC11, SSC16 and SSCX were genome-wide significant. QTL affecting LMDEP on SSC7 and SSC11, HW on SSC8, and ECLC on SSC1, SSC11 and SSCX were previously described and reported in QTLdb. However, our results refined the location of all of them, except for the QTL affecting ECLC trait located on SSC11. We identified a QTL affecting LOINWT on SSC16 without any corresponding QTL in pig QTLdb, however a QTL affecting loin muscle area was previously described overlapping this locus (Cho et al., 2015). Three functional candidate genes related to striated muscle cell differentiation (GO:0051146) or regulation of striated muscle cell (GO:0051153) were identified in the confidence interval of the QTL located on SSC1 and SSC11. Tripartite motif containing 32 (*TRIM32*) gene located on SSC1, is related to the muscle cell cellular homeostasis process (GO:0046716) and the positive regulation of striated muscle cell differentiation process (GO:0051155). NIMA related kinase 5 (*NEK5*) and RB transcriptional corepressor 1 (*RB1*) genes are located on SSC11 and are respectively involved in the regulation of striated muscle cell differentiation (GO:0051153) and striated muscle cell differentiation process (GO:0051146).

5. Conclusions

Our study aimed to identify quantitative trait loci and potential candidate genes affecting meat quality traits and carcass composition traits in an inter-cross between two commercial sire lines. For this purpose we used GWAS in combination with LDLA analysis and post-QTL detection bioinformatics analysis. Both approaches led to several detected QTL. However, only two of them; affecting meat redness on

SSC6 and backfat at last rib on SSC8; were identified using both approaches. QTL were detected for a large scale of meat quality and carcass production traits. Some of these QTL affected several trait types suggesting either pleiotropic effects of common determinants or tightly linked genes controlling these traits. Bioinformatics analysis identified several functional candidate genes in the confidence intervals of detected QTL. These results shed light on the advantage of using different QTL detection methodologies exploiting the information obtained at the population or family level to get a global overview of the QTL present in the population studied.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

FH performed genotyping quality control, QTL analyses and drafted the paper.

MD participated in meat composition measurements and QTL analyses.

PC and PLR conceived the study and reviewed the QTL analyses.

PLR supervised the QTL analyses and participated in drafting the manuscript.

All the authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

This work was carried out with financial support from the ANR-Agence Nationale de la Recherche–The French National Research Agency under the Programme National de Recherche en Alimentation, project ARN-PNRA-2006-25, GENMASCQ. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

The authors thank Jean-François Nicolaon and the staff from the France Hybrides nucleus herd of Sichamps for experimental animal care and identification, Rachel Marie, Laurent Letelu, Caroline Cordebois and Najate Aït-Ali for excellent technical assistance, and the Orléans-Viandes abattoir for their assistance in tracking animals and carcasses and J. Glenisson, L. Letelu, and J. Pires (Hendrix Genetics RTC, St. Jean de Braye, France).

We would also like to thank Labogena for the microarray genotyping and the SIGENAE group for SNP mapping on the pig genome.

References

Cherel, P., Herault, 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. *Journal of Animal Science, 90*(3), 699–708.

Cherel, P., Pires, J., Glénisson, J., Milan, D., Iannuccelli, N., Hérault, F., ... Le Roy, P. (2011). Joint analysis of quantitative trait loci and major-effect causative mutations affecting meat quality and carcass composition traits in pigs. *BMC Genetics, 12*, 76–89. http://dx.doi.org/10.1186/1471-2156-12-76.

Cho, I.-C., Yoo, C.-K., Lee, J.-B., Jung, E.-J., Han, S.-H., Lee, S.-S., ... Park, H.-B. (2015). Genome-wide QTL analysis of meat quality-related traits in a large F(2) intercross between Landrace and Korean native pigs. *Genetics, Selection, Evolution, 47*(1), 7–14. http://dx.doi.org/10.1186/s12711-014-0080-6.

R Core Team (2015). *R: A language and environment for statistical computing.* Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computinghttp://dx.doi.org/10.1007/978-3-540-74686-7.

Daumas, G., Causeur, D., Dhorne, T., & SchollHammer, E. (1998). Les méthodes de classement des carcasses de porc autorisées en France en 1997. *30ème Journées Recherche Porcine. Paris, France*.

Durinck, S., Moreau, Y., Kasprzyk, A., Davis, S., De Moor, B., Brazma, A., & Huber, W. (2005). BioMart and bioconductor: a powerful link between biological databases and microarray data analysis. *Bioinformatics, 21*(16), 3439–3440. http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/bti525.

Durinck, S., Spellman, P. T., Birney, E., & Huber, W. (2009). Mapping identifiers for the integration of genomic datasets with the R/Bioconductor package biomaRt. *Nature Protocols, 4*(8), 1184–1191. http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2009.97.

Edwards, D. B., Ernst, C. W., Raney, N. E., Doumit, M. E., Hoge, M. D., & Bates, R. O. (2008). Quantitative trait locus mapping in an F2 Duroc × Pietrain resource population: II. Carcass and meat quality traits. *Journal of Animal Science, 86*, 254–266. http://dx.doi.org/10.2527/jas.2006-626.

Fernandez, X., Tornberg, E., Naveau, J., Talmant, A., & Monin, G. (1992). Bimodal distribution of the muscle glycolytic potential in French and Swedish populations of hampshire crossbred pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 59*(3), 307–311. http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2740590306.

Filangi, O., Moreno, C., Gilbert, H., Lagarra, P., Le Roy, P., & Elsen, J. M. (2010). QTLMap, a software for QTL detection in outbred populations. *9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Leipzig, Germany*.

Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry, 226*(1), 497–509.

Garcia-Gámez, E., Gutiérrez-Gil, B., Suarez-Vega, A., de la Fuente, L. F., & Arranz, J. J. (2013). Identification of quantitative trait loci underlying milk traits in Spanish dairy sheep using linkage plus combined linkage disequilibrium and linkage analysis approaches. *Journal of Dairy Science, 96*(9), 6059–6069. http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-6824.

Gilbert, H., & Le Roy, P. (2007). Methods for the detection of multiple linked QTL applied to a mixture of full and half sib families. *Genetics Selection Evolution, 39*(2), 139–158. http://dx.doi.org/10.1186/1297-9686-39-2-139.

Gilsanz, V., Kremer, A., Mo, A. O., Wren, T. A. L., & Kremer, R. (2010). Vitamin D status and its relation to muscle mass and muscle fat in young women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 95*(4), 1595–1601. http://dx.doi.org/10.1210/jc.2009-2309.

Groenen, M. A. M., Archibald, A. L., Uenishi, H., Tuggle, C. K., Takeuchi, Y., Rothschild, M. F., ... Schook, L. B. (2012). Analyses of pig genomes provide insight into porcine demography and evolution. *Nature, 491*(7424), 393–398. http://dx.doi.org/10.1038/nature11622.

Halse, R., Bonavaud, S. M., Armstrong, J. L., McCormack, J. G., & Yeaman, S. J. (2001). Control of glycogen synthesis by glucose, glycogen, and insulin in cultured human muscle cells. *Diabetes, 50*(4), 720–726. http://dx.doi.org/10.2337/diabetes.50.4.720.

Harmegnies, N., Davin, F., De Smet, S., Buys, N., Georges, M., & Coppieters, W. (2006). Results of a whole-genome quantitative trait locus scan for growth, carcass composition and meat quality in a porcine four-way cross. *Animal Genetics, 37*(6), 543–553. http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2052.2006.01523.x.

Hu, Z.-L. L., Dracheva, S., Jang, W., Maglott, D., Bastiaansen, J., Rothschild, M. F., & Reecy, J. M. (2005). A QTL resource and comparison tool for pigs: PigQTLDB. *Mammalian Genome, 15*(10), 792–800. http://dx.doi.org/10.1007/s00335-005-0060-9.

Hu, Z.-L. L., Park, C. A., & Reecy, J. M. (2016). Developmental progress and current status of the animal QTLdb. *Nucleic Acids Research, 44*(D1), D827–D833. http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkv1233.

Hu, Z.-L. L., & Reecy, J. M. (2007). Animal QTLdb: beyond a repository. *Mammalian Genome, 18*(1), 1–4. http://dx.doi.org/10.1007/s00335-006-0105-8.

Huff-Lonergan, E., Baas, T. J., Malek, M., Dekkers, J. C. M., Prusa, K., & Rothschild, M. F. (2002). Correlations among selected pork quality traits. *Journal of Animal Science, 80*(3), 617–627.

Kim, J.-J., Zhao, H., Thomsen, H., Rothschild, M. F., & Dekkers, J. C. M. (2005). Combined line-cross and half-sib QTL analysis of crosses between outbred lines. *Genetical Research, 85*(3), 235. http://dx.doi.org/10.1017/S0016672305007597.

Lander, E. S., & Botstein, D. (1989). Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics, 121*(1), 185–199.

Larzul, C., Le Roy, P., Gogué, J., Talmant, A., Jacquet, B., Lefaucheur, L., ... Monin, G. (1999). Selection for reduced muscle glycolytic potential in Large White pigs. II. Correlated responses in meat quality and muscle compositional traits. *Genetics Selection Evolution, 31*(1), 61. http://dx.doi.org/10.1186/1297-9686-31-1-61.

Laville, E., Sayd, T., Terlouw, C., Chambon, C., Damon, M., Larzul, C., ... Chérel, P. (2007). Comparison of sarcoplasmic proteomes between two groups of pig muscles selected for shear force of cooked meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55*(14), 5834–5841. http://dx.doi.org/10.1021/jf070462x.

Le Roy, P., Naveau, J., Elsen, J. M., & Sellier, P. (1990). Evidence for a new major gene influencing meat quality in pigs. *Genetical Research, 55*(1), 33–40. http://dx.doi.org/10.1017/S0016672300025179.

Legarra, A., Croiseau, P., Sanchez, M. P., Teyssèdre, S., Sallé, G., Allais, S., ... Elsen, J. M. (2015). A comparison of methods for whole-genome QTL mapping using dense markers in four livestock species. *Genetics, Selection, Evolution, 47*(1), 6. http://dx.doi.org/10.1186/s12711-015-0087-7.

Legarra, A., & Fernando, R. L. (2009). Linear models for joint association and linkage QTL mapping. *Genetics, Selection, Evolution, 41*(1), 43–59. http://dx.doi.org/10.1186/1297-9686-41-43.

Li, H. D., Lund, M. S., Christensen, O. F., Gregersen, V. R., Henckel, P., & Bendixen, C. (2010). Quantitative trait loci analysis of swine meat quality traits. *Journal of Animal Science, 88*(9), 2904–2912. http://dx.doi.org/10.2527/jas.2009-2590.

Liu, G., Jennen, D. G. J., Tholen, E., Juengst, H., Kleinwächter, T., Hölker, M., ... Wimmers, K. (2007). A genome scan reveals QTL for growth, fatness, leanness and meat quality in a Duroc-Pietrain resource population. *Animal Genetics, 38*(3), 241–252. http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2052.2007.01592.x.

Malek, M., Dekkers, J. C. M., Lee, H. K., Baas, T. J., Prusa, K., Huff-Lonergan, E., & Rothschild, M. F. (2001). A molecular genome scan analysis to identify chromosomal regions influencing economic traits in the pig. II. Meat and muscle composition. *Mammalian Genome, 12*(8), 637–645. http://dx.doi.org/10.1007/s003350020019.

Miar, Y., Plastow, G. S., Bruce, H., Moore, S., Manafiazar, G., Kemp, R., ... Wang, Z. (2014). Genetic and phenotypic correlations between performance traits with meat quality and carcass characteristics in commercial crossbred pigs. *PLoS One, 9*(10), e110105. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0110105.

Miar, Y., Plastow, G. S., Moore, S., Manafiazar, G., Charagu, P., Kemp, R., ... Wang, Z. (2014). Genetic and phenotypic parameters for carcass and meat quality traits in commercial crossbred pigs. *Journal of Animal Science, 92*(7), 2869–2884. http://dx.doi.org/10.2527/jas.2014-7685.

Milan, D., Jeon, J.-T., Looft, C., Amarger, V., Robic, A., Thelander, M., ... Andersson, L. (2000). A mutation in PRKAG3 associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle. *Science, 288*(5469), 1248–1251. http://dx.doi.org/10.1126/science.288.5469.1248.

Misztal, I., Tsuruta, S., Strabel, T., Auvray, B., Druet, T., & Lee, D. H. (2002). BLUPF90 and related programs (BGF90). *7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Vol. 28. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production* (pp. 21–22). France: Montpellier.

Monin, G., & Sellier, P. (1985). Pork of low technological quality with a normal rate of muscle pH fall in the immediate post-mortem period: The case of the Hampshire breed. *Meat Science, 13*(1), 49–63. http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740(85)80004-8.

Müller, B. U., Stich, B., & Piepho, H. P. (2011). A general method for controlling the genome-wide type I error rate in linkage and association mapping experiments in plants. *Heredity, 106*(5), 825–831. http://dx.doi.org/10.1038/hdy.2010.125.

Newcom, D. W., Baas, T. J., Schwab, C. R., & Stalder, K. J. (2005). Genetic and phenotypic relationships between individual subcutaneous backfat layers and percentage of longissimus intramuscular fat in Duroc swine. *Journal of Animal Science, 83*(2), 316. http://dx.doi.org/10.2527/2005.832316x.

Ning, C., Liu, L., Lv, G., Yang, Y., Zhang, Y., Yu, R., ... Zhu, J. (2015). Lipid metabolism and inflammation modulated by Vitamin D in liver of diabetic rats. *Lipids in Health and Disease, 14*(1), 31–39. http://dx.doi.org/10.1186/s12944-015-0030-5.

Otsu, K., Phillips, M. S., Khanna, V. K., De Leon, S., & MacLennan, D. H. (1992). Refinement of diagnostic assays for a probable causal mutation for porcine and human malignant hyperthermia. *Genomics, 13*(3), 835–837. http://dx.doi.org/10.1016/0888-7543(92)90163-M.

Ponsuksili, S., Jonas, E., Murani, E., Phatsara, C., Srikanchai, T., Walz, C., ... Wimmers, K. (2008). Trait correlated expression combined with expression QTL analysis reveals biological pathways and candidate genes affecting water holding capacity of muscle. *BMC Genomics, 9*(1), 367–380. http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-9-367.

Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A. R., Bender, D., ... Sham, P. C. P. C. (2007). PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *American Journal of Human Genetics, 81*(3), 559–575. http://dx.doi.org/10.1086/519795.

Ramos, A. M., Crooijmans, R. P. M. A., Affara, N. A., Amaral, A. J., Archibald, A. L., Beever, J. E., ... Groenen, M. A. M. (2009). Design of a high density SNP genotyping assay in the pig using SNPs identified and characterized by next generation sequencing technology. *PLoS One, 4*(8), e6524. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0006524.

Ricard, A., Filangi, O., & Elsen, J. M. (2013). *GWAS Muller—Guide de l'utilisateur*.

Richards, M. P. (2013). Redox Reactions of Myoglobin. *Antioxidants & Redox Signaling, 18*(17), 2342–2351. http://dx.doi.org/10.1089/ars.2012.4887.

Rohrer, G. A., Nonneman, D. J., Miller, R. K., Zerby, H., & Moeller, S. J. (2012). Association of single nucleotide polymorphism (SNP) markers in candidate genes and QTL regions with pork quality traits in commercial pigs. *Meat Science, 92*(4), 511–518. http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.05.020.

Rothschild, M. F., & Ruvinsky, A. (2000). *The Genetics of the Pig* (2nd ed.). *The Canadian Veterinary JournalVol. 41*Wallingford: CABIhttp://dx.doi.org/10.1038/sj.hdy.6800094.

Schwab, C. R., Baas, T. J., Stalder, K. J., & Mabry, J. W. (2006). Effect of long-term selection for increased leanness on meat and eating quality traits in Duroc swine. *Journal of Animal Science, 84*(6), 1577–1583. http://dx.doi.org/10.2527/2006.8461577x.

Servin, B., Faraut, T., Iannuccelli, N., Zelenika, D., & Milan, D. (2012). High-resolution autosomal radiation hybrid maps of the pig genome and their contribution to the genome sequence assembly. *BMC Genomics, 13*(1), 585–599. http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-13-585.

Solanes, F. X., Reixach, J., Tor, M., Tibau, J., Estany, J., Plastow, G., ... Bidanel, J. P. (2009). Genetic correlations and expected response for intramuscular fat content in a Duroc pig line. *Livestock Science, 123*(1), 63–69. http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2008.10.006.

Suman, S. P., & Joseph, P. (2013). Myoglobin chemistry and meat color. *Annual Review of Food Science and Technology, 4*(1), 79–99. http://dx.doi.org/10.1146/annurev-food-030212-182623.

Suzuki, K., Irie, M., Kadowaki, H., Shibata, T., Kumagai, M., & Nishida, A. (2005). Genetic parameter estimates of meat quality traits in Duroc pigs selected for average daily gain, longissimus muscle area, backfat thickness, and intramuscular fat content. *Journal of Animal Science, 83*(9), 2058. http://dx.doi.org/10.2527/2005.8392058x.

Uleberg, E., & Meuwissen, T. H. E. (2007). *Fine mapping of multiple QTL using combined linkage and linkage disequilibrium mapping—a comparison of single QTL and multi QTL methods. 39(3)*http://dx.doi.org/10.1051/gse:2007004.

van Wijk, H. J., Arts, D. J. G., Matthews, J. O., Webster, M., Ducro, B. J., & Knol, E. F. (2005). Genetic parameters for carcass composition and pork quality estimated in a commercial production chain. *Journal of Animal Science, 83*(2), 324. http://dx.doi.org/10.2527/2005.832324x.

Yates, A., Akanni, W., Amode, M. R., Barrell, D., Billis, K., Carvalho-Silva, D., ... Flicek, P. (2016). Ensembl 2016. *Nucleic Acids Research, 44*(D1), D710–D716. http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkv1157.

Bibliographie

C. Bazin, E. Tiger, T. Tribout, M. Bouffaud, G. Madigand, J. Boulard, G. Deschodt, J.-Y. Flého, R. Guéblez, L. Maignel et J.-P. Bidanel : Estimation, par utilisation de semence congelée en élevage de sélection, du progrès génétique réalisé entre 1977 et 2000 dans les races Large White et Landrace Français pour les caractères de croissance, de carcasse et de qualité de la viande. *In Journées de la Recherche Porcine en France, 35*, p. 277–284, Paris, 2003. URL http://journees-recherche-porcine.com/texte/2003/03txtGenetique/g0302.pdf. 221

D. C. Ciobanu, S. M. Lonergan et E. J. Huff-Lonergan : 15 - Genetics of Meat Quality and Carcass Traits. *In The Genetics of the pig*, p. 355–390. CABI, 2nd édn, 2011. ISBN 978-1-84593-756-0. 221

O. Filangi, C. Moreno-Romieux, H. Gilbert, A. Legarra Albizu, P. Le Roy et J. M. Elsen : QTLMap, a software for QTL detection in outbred populations. *In 9. World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, p. np, Leipzig, France, août 2010. URL https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01193540. 221

Institut Technique du Porc : La Sélection Porcine Collective en France. Rap. tech., Institut Technique du Porc, 2003. URL https://www.ifip.asso.fr/sites/default/files/pdf-documentations/selection_collective.pdf. 221

R. Jussiau, J. Rigal et A. Papet : 7 - Estimation de la valeur génétique additive ou indexation. *In Amélioration génétique des animaux d'élevage*, p. 304–331. Educagri Editions, 2013. ISBN 978-2-84444-929-0. 221

A. Legarra et R. L. Fernando : Linear models for joint association and linkage QTL mapping. *Genetics Selection Evolution*, 41(1):43, sept. 2009. ISSN 1297-9686. URL https://doi.org/10.1186/1297-9686-41-43. 221

S. M. Lonergan, E. Huff-Lonergan, L. J. Rowe, D. L. Kuhlers et S. B. Jungst : Selection for lean growth efficiency in Duroc pigs influences pork quality. *Journal of Animal Science*, 79(8):2075–2085, août 2001. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/2001.7982075x. 221

Y. Miar, G. S. Plastow, S. S. Moore, G. Manafiazar, P. Charagu, R. A. Kemp, B. Van Haandel, A. E. Huisman, C. Y. Zhang, R. M. McKay, H. L. Bruce et Z. Wang :

Genetic and phenotypic parameters for carcass and meat quality traits in commercial crossbred pigs. *Journal of Animal Science*, 92(7):2869–2884, juil. 2014. ISSN 0021-8812. URL https://academic.oup.com/jas/article/92/7/2869/4702156. 221

I. Misztal, S. Tsuruta, T. Strabel, B. Auvray, T. Druet et D. H. Lee : BLUPF90 AND RELATED PROGRAMS (BGF90). *In Proceedings of the World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, vol. 28, p. 21–22, France : Montpellier, 2002. 221

B. U. Müller, B. Stich et H.-P. Piepho : A general method for controlling the genome-wide type I error rate in linkage and association mapping experiments in plants. *Heredity*, 106(5):825–831, mai 2011. ISSN 1365-2540. URL https://www.nature.com/articles/hdy2010125. 221

A. Ricard, O. Filangi et J. M. Elsen : GWAS Muller - Guide de l'utilisateur, 2013. 221

C. R. Schwab, T. J. Baas, K. J. Stalder et J. W. Mabry : Effect of long-term selection for increased leanness on meat and eating quality traits in Duroc swine. *Journal of Animal Science*, 84(6):1577–1583, juin 2006. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/2006.8461577x. 221

T. Tribout, J.-C. Caritez, J. Gogué, J. Gruand, M. Bouffaud, Y. Billon, C. Péry, H. Griffon, S. Brenot, M. H. L. Tiran, F. Bussières, P. L. Roy et J.-P. Bidanel : Estimation, par utilisation de semence congelée, du progrès génétique réalisé en France entre 1977 et 1998 dans la race porcine Large White : résultats pour quelques caractères de production et de qualité des tissus gras et maigres. *In 36ème Journées de la Recherche Porcine en France*, p. 275–282, Paris, 2004. URL http://www.journees-recherche-porcine.com/texte/2003/03txtGenetique/g0303.pdf. 221

CHAPITRE 10

Intégration d'informations phénotypiques et expressionnelles pour mieux appréhender le déterminisme génétique de la qualité des carcasses et des viandes

RESEARCH

Phenotypic and expression QTL integration allows the refinement of loci associated with pig carcass and meat quality traits

Frédéric Hérault[1*], Annie Vincent[1], Ando Yoanne Randriamanantena[1], Marie Damon[1], Pierre Cherel[2] and Pascale Le Roy[1]

Correspondence: frederic.herault@inrae.fr [1]PEGASE, INRAE, Institut Agro, 35590 Saint Gilles, France

Author details

[1]PEGASE, INRAE, Institut Agro, 35590 Saint Gilles, France. [2]AiBV-institut de Biologie Valrose, Université Nice-Sophia Antipolis UMR CNRS 7277 Inserm U1091, Parc Valrose, 06108 Nice, France.

10.1 Présentation de l'article

De nombreuses études ont été menées afin de mieux comprendre les mécanismes biologiques à l'origine du développement des caractéristiques qualitatives de la viande et d'identifier les origines génétiques de la variabilité de ces caractères. Ces études ont mené à l'identification de plus de 3 000 QTL répertoriés dans la « Pig QTL database » (https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/SS/index, released 44, consulté le 16 juin 2021) (Hu *et al.*, 2013, 2007; Hu et Reecy, 2007; Hu *et al.*, 2005). Cependant, dans la majorité de ces études, les régions identifiées couvrent encore plusieurs centaines de kb et peuvent de ce fait contenir quelques dizaines de gènes si l'on considère une densité moyenne de 8 gènes par Mb (Ensembl Sscrofa11.1, http://www.ensembl.org/Sus_scrofa/Info/Annotation consulté le 18 août 2021). Malgré une amélioration constante de la connaissance et de l'annotation des génomes et des gènes qui les composent, notre compréhension des mécanismes biologiques à l'origine du développement des caractéristiques qualitatives de la viande et l'identification des origines génétiques de la variabilité de ces caractères demeure une tâche compliquée.

Le niveau d'expression des gènes est variable d'un individu à l'autre. Cette variabilité inter-individuelle dépend en partie de l'existence de variants génétiques. Cette variabilité peut également être corrélée génétiquement à un caractère complexe traduisant, soit un déséquilibre de liaison entre le polymorphisme causant la variabilité du caractère complexe et le polymorphisme responsable de la variabilité du niveau d'expression des gènes, soit un effet pléiotrope d'un seul *locus* agissant sur ces deux caractères (Cherel *et al.*, 2012; Cookson *et al.*, 2009; Rockman et Kruglyak, 2006). L'analyse du déterminisme génétique de la variabilité du niveau d'expression des gènes et l'identification de eQTL peuvent ainsi apporter un supplément d'information sur l'environnement génétique des QTL et nous permettre de progresser dans notre compréhension des mécanismes moléculaires sous-jacents aux caractères complexes étudiés. La mise en évidence d'une co-localisation de QTL phénotypique et de eQTL est une clé pour, d'une part explorer les réseaux de régulations géniques contribuant à l'élaboration des phénotypes complexes, et d'autre part réduire la taille des QTL et ainsi aboutir à l'identification de régulateurs communs (Kadarmideen *et al.*, 2006; te Pas *et al.*, 2017; Wayne et McIntyre, 2002).

Dans notre précédente étude (Hérault *et al.*, 2018), nous avons identifié 32 QTL impactant la qualité des carcasses et la qualité des viandes dont les intervalles de confiance couvraient une région allant de quelques paires de bases, dans le cas des analyses d'association, à plusieurs Mb (avec une médiane à 2 et 5 Mb) pour les analyses de liaisons et les analyses d'association. Bien que ces intervalles de confiance soient de grandes tailles, l'analyse des annotations fonctionnelles des gènes présents dans ces QTL nous a permis de proposer une liste de 26 gènes candidats. Pour aller plus loin, en s'appuyant sur les données d'expression génique des muscles LM et SM pour l'identification de QTL d'expression, l'objectif de cette étude était, en combinant QTL et eQTL, d'identifier des gènes et des voies métaboliques potentiellement impliqués dans les mécanismes biologiques responsables du développement des qualités des carcasses et des viandes.

Pour cette étude, nous avons étudié la variabilité des niveaux d'expression de gènes de 325 individus pour lesquels nous avions un prélèvement de LM et 112 individus pour lesquels nous avions un prélèvement de SM. Ces individus représentent un sous-échantillon de la population utilisée dans l'étude précédente et correspondent à 4 familles pour les individus possédant des prélèvements de LM et à 2 familles pour les individus possédant des prélèvements de SM.

La détection de QTL a été effectuée conjointement en GWAS et en LDLA en prenant en

compte les effets fixes dus au sexe, à la saison d'abattage et la date d'hybridation, et utilisant le poids de carcasse en covariable.

Les GWAS ont été effectuées avec le programme « Müller » (Ricard *et al.*, 2013). Ce programme repose sur un modèle linéaire mixte prenant en compte la parenté entre les individus (BLUP, BLUPF90 ; Misztal *et al.* (2002)) et sur une méthode d'adaptation des seuils de rejet prenant en compte le DL local (Müller *et al.*, 2011). Les analyses LDLA ont été réalisées par cartographie d'intervalle en utilisant un modèle pleins frères/demi-frères à l'aide du logiciel « QTLMap » (Filangi *et al.*, 2010) en utilisant l'approche développée par Legarra et Fernando (2009). Dans les deux approches l'hypothèse nulle correspondait à l'absence de QTL, soit à la position testée pour les GWAS, soit sur le chromosome pour l'approche LDLA. Seul la localisation correspondant à la statistique la plus élevée sur un chromosome a été considérée comme QTL.

Dans le cadre de cette étude, nous avons mis en évidence 1 253 eQTL dans le LM et 1 109 eQTL dans le SM. Parmi ceux-ci 1 seul eQTL commun a pu être mis en évidence montrant ainsi que la régulation du niveau d'expression des gènes dépend, non seulement de la composition en myofibres et des propriétés métaboliques du muscle considéré (les deux muscles sont proches sur ces aspects), mais probablement aussi de la fonction et de la position anatomique du dit muscle. Ce résultat fait ainsi écho aux résultats de l'étude comparant les transcriptomes LM et SM et soulignant la spécificité des transcriptomes musculaires (Hérault *et al.*, 2014) (cf chapitre 7 « Analyse comparative du transcriptome des muscles *semimembranosus* et *longissimus dorsi* » - page 177). Ces différences d'expression génique peuvent être déterminantes pour l'élaboration des caractères de carcasse et de qualité des viandes. Par conséquent l'analyse combinée du déterminisme génétique de caractères complexes (couleur, pH…) et des eQTL s'est faite en respectant le muscle dans lequel la mesure phénotypique a été effectuée.

L'analyse comparative des régions QTL et eQTL a permis d'identifier 192 eQTL dont la localisation correspond à 24 QTL phénotypiques identifiés dans la précédente étude. Parmi ceux-ci, deux gènes impliqués dans la différenciation des cellules musculaires et le développement du tissu musculaire : *BTG2* et *VGLL2*, voient leur expression contrôlée par un eQTL localisé dans la même région que deux QTL contrôlant l'adiposité. Ainsi, le eQTL contrôlant l'expression de *BTG2* est localisé sur le chromosome 18 dans la même région qu'un QTL contrôlant l'épaisseur de gras dorsal (BF) et le taux de lipides intramusculaires (IMF). Le eQTL régulant l'expression de *VGGL2* est quant à lui localisé sur le chromosome 10 dans la même région qu'un QTL contrôlant BF. De même, l'expression des gènes *LPIN1* et *ZTB16* connus pour être impliqués dans le métabolisme des acides gras et la différenciation des cellules adipogéniques est influencée par des eQTL situés sur le chromosome 11 dans la même région qu'un QTL impactant l'épaisseur du muscle LM (LMDEP). Enfin, les expressions des gènes *BVES*, *CACNA1S*, *CAV3* et *TNNT3* sont contrôlées par des eQTL situés sur le chromosome 16 dans la même région qu'un QTL influençant la couleur du SM (MCOLOR-a). Les gènes *CACNA1S* et *CAV3* sont impliqués dans la régulation de l'homéostasie calcique, *CACNA1S* est également associé aux processus de contraction musculaire au même titre que le gène *TNNT3*, tandis que *BVES* et *CAV3* sont impliqués dans le développement du tissu musculaire. Par ailleurs, les gènes *BVES*, *TNNT3* et *CAV3* ont été associés à la chute du pH de la viande *post-mortem* et le gène *CACNAS1* a été associé au syndrome MH. Ces colocalisations mettent en évidence l'existence, soit d'un déséquilibre de liaison entre deux *loci* gouvernant l'expression de ces gènes d'un côté et les qualités des carcasses ou des viandes de l'autre, soit d'un polymorphisme unique agissant sur le niveau d'expression de ces gènes et aboutissant à la variation des caractères mesurés révélant ainsi leur rôle dans l'établissement du phénotype. Le lien entre les fonctions des gènes et les phénotypes mesurés (transport des ions calcium et chute du pH par rapport à la couleur rouge de la viande par exemple) laissent suggérer que ces gènes jouent un rôle dans les processus

biologiques aboutissant au développement des phénotypes associés.

La colocalisation de eQTL et de QTL nous a également permis d'affiner la localisation des QTL en nous concentrant sur la région chevauchante entre eQTL et QTL. Ainsi, la région commune entre le eQTL régulant l'expression du gène *BTG2* et le QTL affectant BF et IMF sur le chromosome 18 nous a permis de restreindre la taille du *locus* à 1,8 Mb au lieu de 3 Mb précédemment et la région commune entre les eQTL régulant l'expression des gènes *LPIN1* et *ZBTB16* et le QTL affectant LMDEP a permis de passer de 7 Mb à 4,79 Mb. De manière intéressante, cette région de 4,79 Mb contient le gène *RB1* qui est impliqué dans la différenciation des cellules musculaires et que nous avions identifié comme gène candidat positionnel et fonctionnel dans notre étude précédente. Ce gène est par ailleurs connu pour être impliqué dans la régulation de l'expression du gène *LPIN1* (Muranaka *et al.*, 2017), ce qui fait du gène *RB1* un très bon candidat. La colocalisation des eQTL affectant le niveau d'expression des gènes *BVES*, *CACNA1S*, *CAV3* et *TNNT3* et du QTL contrôlant MCOLOR-a dans le SM a quant à elle permis de restreindre la région à une région intergénique de 60 kb bornée par deux ARN long non-codants (lncRNA). Les lncRNA sont connus pour être impliqués dans la régulation de l'expression des gènes et il a été montré que des lncRNA régulaient l'expression des gènes *BTG2*, *BVES*, *LPIN1* et *TNNT3*. Ces résultats mettent en exergue le rôle potentiel de lncRNA dans la régulation des gènes et de la mise en place des phénotypes complexes liés à la qualité des viandes et des carcasses.

Dans cette étude, l'utilisation de données d'expression génique afin d'identifier des QTL d'expression et l'analyse comparative des *loci* identifiés avec les QTL phénotypiques détectés dans l'étude précédente, sur le même dispositif, nous a permis de mettre en évidence la régulation muscle-spécifique de l'expression génique. Cette spécificité peut être déterminante pour l'élaboration des caractères de carcasse et de qualité des viandes et doit donc être prise en compte lors des analyses combinant phénotypes et endophénotypes.

Cette analyse nous a également permis d'affiner la localisation de QTL identifiés lors de la précédente étude et de souligner l'implication possible du gène *RB1* dans la régulation de l'épaisseur musculaire de la longe. Par ailleurs, nous avons également pu mettre en exergue le rôle potentiel de gènes impliqués dans le développement musculaire, les processus adipogéniques, et l'homéostasie calcique, dans le développement des caractères liés à la qualité des carcasses et à la qualité des viandes.

Enfin, cette étude souligne la probable implication de lncRNA dans la régulation de l'expression des gènes et donc la variabilité des phénotypes complexes liés à la qualité des viandes et des carcasses.

RESEARCH

Phenotypic and expression QTL integration allows the refinement of loci associated with pig carcass and meat quality traits

Frédéric Hérault[1*], Annie Vincent[1], Ando Yoanne Randriamanantena[1], Marie Damon[1], Pierre Cherel[2] and Pascale Le Roy[1]

*Correspondence: frederic.herault@inrae.fr
[1]PEGASE, INRAE, Institut Agro, 35590 Saint Gilles, France
Full list of author information is available at the end of the article

Abstract

Background: Many quantitative trait loci (QTLs) affecting pig meat and carcass quality traits have been reported. However, in most cases, the length of these phenotypic QTLs (pQTLs) is large. Hence, the identification of candidate genes and causative polymorphisms hidden behind those pQTLs remains a difficult task. Combining gene expression, phenotype and genotype data in an integrative genomics approach may help to identify regulatory networks and pathways underlying such complex traits. In the present study, we used genome-wide association study (GWAS) and linkage disequilibrium linkage analysis (LDLA) approaches to identify *longissimus* muscle (LM) and *semimembranosus* muscle (SM) expression QTLs (eQTLs). The locations of these eQTLs were compared to those of pQTLs previously mapped in the same population of commercial-type pigs. Colocalized eQTLs/pQTLs could help to identify candidate genes and pathways involved in pig carcass and meat quality trait determination.

Results: Both approaches led us to identify 1,253 and 1,109 genome-wide significant eQTLs for LM and SM, respectively. We identified only one common eQTL between the two muscles and a few significant common eQTLs between methodologies : 16 in SM and 1 in LM. A total of 192 overlapping locations were identified between eQTLs and pQTLs. Colocalization highlighted some genes involved in muscle development, adipogenic processes or ion calcium homeostasis. These eQTLs allowed us to refine previously identified pQTLs related to carcass and meat quality traits. However, in most cases, the refined loci were still large and contained several coding and noncoding genes.

Conclusions: Our results shed light on the muscle-specific genetic control governing mRNA expression and hence controlling the development of pig carcass and meat quality traits. Moreover, colocations between eQTLs and pQTLs implicated genes potentially involved in muscle development, adipogenic processes or ion calcium homeostasis in the pathways governing these traits. Finally, our results allowed us to refine QTLs controlling meat quality traits and to highlight the possible involvement of long noncoding RNAs in the architecture of regulatory networks governing complex traits such as pig carcass and meat quality traits.

Keywords: Pig; pQTL; eQTL; GWAS; LDLA; meat quality; carcass quality

Background

Over recent decades, consumer demands for lean meat have led pig breeding programs to increase the growth rate of animals and the lean meat content of carcasses and to jointly decrease the feed conversion ratio and carcass fat content. However, some meat quality traits, such as the water holding capacity, meat color, intramuscular fat content and tenderness, may have been negatively affected by these breeding goals [1]. Meat quality traits play a key role in meat industry processing and storage as well as in consumer acceptance and the purchase intent of pork. The development of these traits is a complex phenomenon that depends on interactions among pig genotype, environmental conditions, such as preslaughter handling and slaughtering procedures, and biochemical events occurring during the conversion of muscle to meat [2].

Numerous studies have focused on pig carcass and meat quality traits, leading to a large number of quantitative trait loci (QTLs) recorded in the pig QTL database (pig QTLdb) [3]. However, despite an increasing number of QTLs related to carcass and meat quality traits, i.e., 53% of the QTLs registered in the pig QTLdb affect carcass or meat quality traits [4], our understanding of the genetic architecture governing these traits is still limited. Going from QTLs to causative polymorphisms is still a long process, as quality traits are the result of complex physiological and biochemical processes taking place in muscle during the conversion of muscle to meat and depend on muscle structural and metabolic properties.

Considering that some gene expression is influenced by genetic variations and that variable mRNA expression plays a key role in complex traits [5, 6], combining gene expression and genotype data in an integrative genomics approach may help to identify regulatory networks and pathways underlying complex traits [7–9]. The identification of eQTLs highlights loci that may harbor gene expression regulators and hence provides opportunities to identify regulatory networks governing complex traits. Several studies have mapped eQTLs in pigs to decipher the genetic architecture of carcasses and meat quality traits. However, most of these studies were carried out on experimental crosses between pig lines exhibiting extremes for the phenotypes of interest [10–12], or focused on a subset of functional and/or positional candidate genes [10, 12–14] or genes with expression correlated with phenotypic traits [11, 15–19].

In the present study, we used a subsample of a larger resource population issued from an F2 cross design between commercial pig populations produced for carcass and meat quality QTL mapping [20, 21]. Using gene expression data obtained from a dedicated pig skeletal muscle microarray [22], we combined genome-wide association study (GWAS) and linkage disequilibrium linkage analysis (LDLA) approaches to identify *longissimus* muscle (LM) and *semimem-*

branosus muscle (SM) eQTLs. Subsequently, we merged eQTL locations without preselecting trait-associated gene expression levels with pQTL locations previously mapped with the same design to determine colocalized eQTLs/pQTLs, and then identified genes and pathways involved in the determination of carcass and meat quality traits.

Results

Quality control and filtering

Genotype data were obtained using the Illumina PorcineSNP60 BeadChip platform [23]. Raw genotypes were obtained from 497 animals. Genotype quality was checked for marker quality criteria, including single nucleotide polymorphism (SNP) call rate, minor allele frequency and Hardy-Weinberg equilibrium, as well as for individual genotype quality criteria using individual call rate or family genotype incompatibilities. SNPs with no chromosome assignation (mapping based on the Sscrofa10.2 assembly) were removed from the analysis. A subset of 342 genotyped animals corresponding to the animals used for transcriptome analysis and their parents and grandparents (329 F2, 8 F1 and 6 F0) and 39,557 autosomal SNPs were retained for the present study.

Gene expression data sets for 325 LM samples and 112 SM samples were also checked for quality criteria. Following quality filtration, 7,905 and 6,665 probes (52% and 44% of the "GenmascqChip" [22]), mapped to 4,920 and 4,365 genes, were considered expressed in LM and SM samples, respectively. Three animals with LM expression data and one animal with SM expression data were removed before the eQTL analysis, as they had no genotype data, as well as one animal with LM and SM expression data, which had no carcass weight record. Finally, taking all of these quality checking steps into consideration, the eQTL analysis included 321 and 110 animals for LM and SM gene expression, respectively.

eQTL detection

Expression QTL detection was conducted applying both GWAS and LDLA approaches to gene expression data independently from LM and SM. Summary statistics concerning detected eQTLs are reported in table 1.

In LM, GWAS and LDLA approaches identified 955 and 298 genome-wide significant eQTLs (1,294 and 8,461 significant SNPs, respectively; whole genome $p<0.05$) for 404 and 290 probes, corresponding to 249 and 169 annotated genes, respectively. Their confidence intervals (CIs) ranged from 1 base (only one significant SNP) to 1.7 megabases (Mb) for GWAS analysis and from 1.1 Mb to 8 Mb for LDLA analysis, with average lengths of 0.03 and 2.61 Mb, respectively.

The average number of transcripts affected by a significant eQTL was 1.18±0.86 and 1.58±1.25 for GWAS and LDLA, respectively. The largest number of transcripts affected by a single eQTL was 24 for GWAS analysis and 11 for LDLA analysis. Significant eQTLs were located on all autosomes for GWAS analysis and all autosomes except SSC14 for LDLA analysis (figure 1).

As shown in table 1, in SM, GWAS and LDLA approaches led to the identification of 619 and 490 genome -wide significant eQTLs (875 and 12,214 significant SNPs, respectively; whole genome p<0.05) for 169 and 467 probes, corresponding to 101 and 273 annotated genes, respectively. Their CIs ranged from 1 bp to 1.9 Mb in the GWAS analysis and from 1.6 to 42 Mb in the LDLA analysis, with average lengths of 0.07 and 3.85 Mb, respectively. The average number of transcripts affected by a significant eQTL was 1.49±1.30 and 2.73±6.88 for GWAS and LDLA, respectively, with a maximum of 12 transcripts regulated by a single eQTL in the GWAS analysis and 81 transcripts affected by a single eQTL in the LDLA analysis. Significant eQTLs were located on all autosomes in the GWAS analysis and all autosomes except SSC11 in the LDLA analysis (figure 1).

Table 1 Genome-wide significant eQTLs according to the muscle sample and detection method.

Muscle	LM		SM	
Method	GWAS	LDLA	GWAS	LDLA
Significant eQTL [a]	955	298	619	490
Regulated transcripts [b]	404	290	169	467
Annotated genes [c]	249	169	101	273
eQTL confidence interval [d]				
Min	1 bp	1.1	1 bp	1.6
Max	1.7	8	1.9	42
Mean	0.03	2.61	0.07	3.85
SD	0.13	0.93	0.19	3.97
Number of regulated transcripts [e]				
Min	1	1	1	1
Max	24	11	12	81
Mean	1.18	1.58	1.49	2.73
SD	0.86	1.25	1.3	6.88

[a] Number of genome-wide significant eQTLs (p ¡0.05).

[b] Number of regulated transcripts.

[c] Number of annotated genes (from Ensembl database release 89 based on Sscrofa10.2) regulated by an eQTL.

[d] Confidence interval of the eQTL location (Mb).

[e] Number of transcripts affected by a single eQTL.

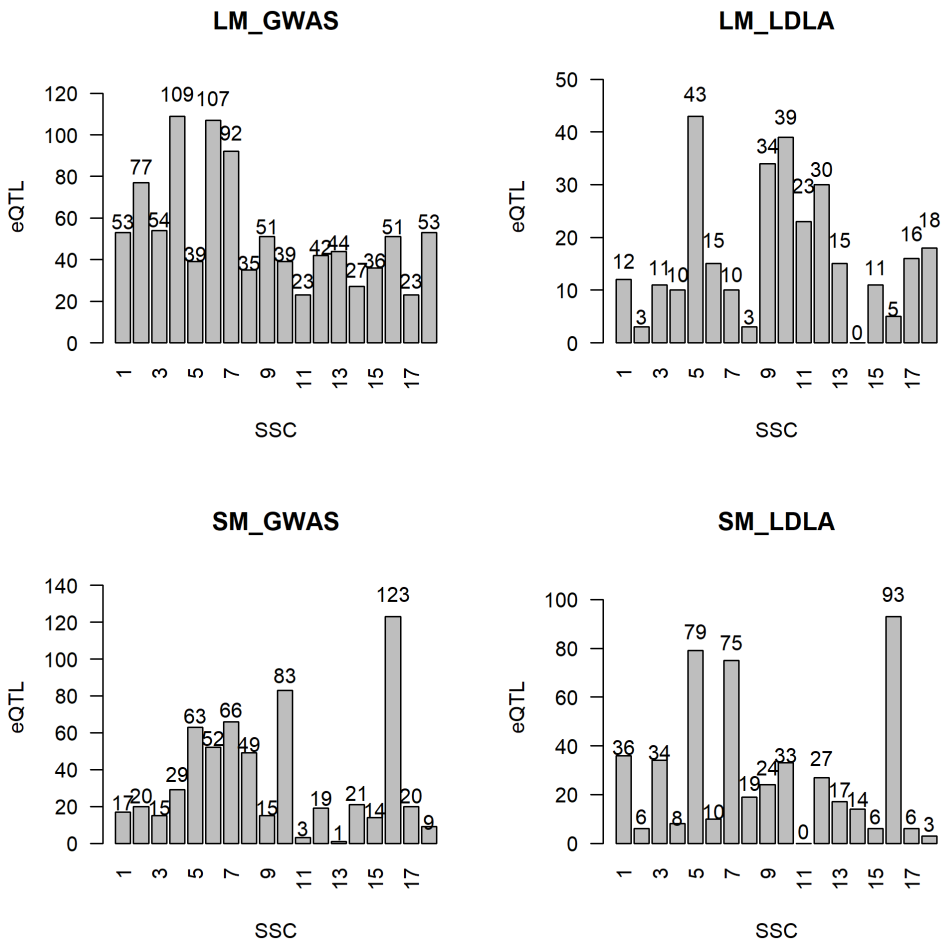


Figure 1 Number of eQTLs detected on each chromosome according to muscle sample and detection method.

eQTL characterization

The confidence interval of the eQTL location was compared to the location of the regulated gene, allowing the classification of eQTLs as cis, distant on the same chromosome or trans-acting eQTLs. As indicated in table 2, this comparison led to the characterization of 54% and 52% of the eQTLs detected using LM expression data with the GWAS and LDLA approaches, respectively, and 64% and 57% of the eQTLs detected using SM expression data with the GWAS and LDLA approaches, respectively. In most cases, regulated transcripts and eQTLs were located on different chromosomes, and eQTLs were classified as trans-acting eQTLs. A few eQTLs, approximately 10% (for GWAS and LDLA approaches using either LM or SM expression data), were categorized as distant eQTLs localized on the same chromosome. Only one cis-acting eQTL

was identified using GWAS analysis with SM expression data. For regulated genes and eQTLs located on the same chromosome, the distance between the eQTL and the corresponding gene location was estimated as the absolute value of the difference between the top SNP location (maximum p-value in the GWAS analysis) or the maximum LRT location (in the LDLA analysis) and the 5' end position of the corresponding gene (table 2). On average, this distance was 58.04±33.16 Mb in GWAS using LM expression data, 30.89±19.14 Mb in LDLA using LM expression data and 15.25±19.21 Mb and 40.48±37.83 Mb in GWAS and LDLA using SM expression data, respectively.

Table 2 Number of eQTLs by category and distance from regulated genes for distant eQTLs.

Muscle	LM		SM	
Method	GWAS	LDLA	GWAS	LDLA
eQTL categories and numbers				
Cis-acting eQTL	0	0	1	0
Distant eQTL	60	6	43	17
Trans-acting eQTL	455	150	354	265
Distance from regulated gene[a]				
Min	6.1	11.2	0.2	3.2
Max	128.7	55.0	77.4	123.6
Mean	58.0	30.9	15.2	40.5
SD	33.1	19.1	19.2	37.8

[a] Distance between the top SNP location (in the GWAS analysis) or the maximum LRT location (in the LDLA analysis) and the 5' end location of the regulated gene in megabases (Mb).

Colocation of eQTL and pQTL

The confidence interval of each of the 2,361 eQTLs detected was compared to the confidence intervals of the 32 pQTLs previously detected for carcass and meat quality traits using the same experimental design [21] according to muscle-specific eQTLs and traits. Hence, SM eQTL locations were compared to ham meat color and ham weight pQTLs, whereas LM eQTL locations were compared to loin meat quality traits (meat color, pH, shear force, drip loss, intramuscular fat content and glycolytic potential) and carcass quality traits (back-fat, muscle depth, loin weight and estimated carcass lean content). This comparison led to the identification of 192 eQTLs colocalized with one pQTL. Sixty-eight eQTLs identified using LM expression data were colocalized with 20 pQTLs related to back-fat thickness, loin drip loss, carcass lean content, loin intramuscular fat content, loin depth, loin meat redness, loin ultimate pH and loin raw shear force. These eQTLs regulate 49 annotated genes. They were localized on 10 chromosomes (SSC1, SSC4, SSC5, SSC6, SSC7, SSC8, SSC10, SSC11, SSC16 and SSC18) (table 3). Compar-

ing the eQTLs identified using SM expression data with pQTLs led to the identification of 124 eQTLs colocalized with 4 pQTLs related to ham weight and SM redness. They were localized on 3 chromosomes (SSC8, SSC16 and SSC17) and corresponded to 59 annotated genes (table 4).

Table 3 Colocation between eQTLs detected using LM expression data and carcass and meat quality traits pQTLs related to loin.

pQTL Location (CI) [a]	Trait [b]	Number of eQTL [c]	eQTL Gene symbol [d]
1 (43.67-60.12)	BF	4	CCDC50, CD109, NAPSA, PATL1
1 (72.30-75.30)	SHEAR-raw	1	N/A
1 (88.37-115.02)	BF	4	LOC100153420, TMEM86A
1 (285.22-291.58)	ECLC	1	GPALPP1
4 (22.15-22.32)	IMF	1	TCP11L1
5 (70.98-83.05)	BF	4	KPNA5, LOC100152866, MPZL1, RPL35
6 (24.52-37.07)	MCOLOR-a	1	LOC100152303
6 (62.00-65.00)	SHEAR-raw	2	CTNNBIP1, LOC100152303
6 (89.00-91.00)	BF	2	LGI4, LOC100152303
7 (7.20-9.20)	LMDEP	2	CCDC177, GRAMD3
8 (139.4-141.4)	IMF	1	MID1
10 (66.57)	BF	3	CHORDC1, UBC, VGLL2
11 (16.15-23.20)	LMDEP	6	GMPR, LPIN1, TATDN1, WIPF3, ZBTB16
11 (25.00-27.00)	BF	2	WIPF3
11 (28.00-34.00)	BF, ECLC	4	CRTAP, P3H4, PLPBP
11 (50.00-53.00)	pH24	2	MAP2K3, YWHAG
16 (0.34-5.01)	BF	3	STRIP2
16 (24.20-27.20)	BF	3	C2, PTPRD
18 (6.10-9.10)	BF, IMF	4	BTG2, LOC100156869, PRPF38B, RFESD
18 (56.54)	DRIPL	2	NFYC

[a] pQTL location: chromosome and confidence interval in Mb (see[21]).

[b] Trait affected by the pQTL: Back-fat thickness (BF), Drip loss (DRIPL), Estimated carcass lean content (ECLC), Loin intramuscular fat content (IMF), Loin muscle depth (LMDEP), meat redness (MCOLOR-a), Ultimate meat pH 24 h postmortem (pH24), Shear force on raw loin (SHEAR-raw).

[c] Number of transcripts with an eQTL that colocalized with pQTL.

[d] Gene symbol of annotated transcripts with an eQTL that colocalized with pQTL. N/A corresponds to a regulated probe with no gene annotation.

To identify colocalized regulated transcripts related to phenotypic traits, functional characterization of the genes impacted by these colocalized eQTLs was assessed using Gene Ontology biological process (GO BP) terms. GO BP terms were extracted from the Ensembl database using the "biomaRt" package for R [24, 25]. Among these regulated transcripts, Vestigial Like Family Member 2 (VGLL2) transcript related to skeletal muscle tissue development (GO:0007519) and BTG Anti-Proliferation Factor 2 (BTG2) transcript involved in skeletal muscle cell differentiation (GO:0035914) were colocalized with the back-fat thickness QTL located on SSC10 and SSC18, respectively. The latter QTL was also involved in the regulation of loin intramuscular fat content. The Lipin 1 (LPIN1) transcript and Zinc Finger And BTB Domain Containing

Table 4 Colocation between eQTLs detected using SM expression data and carcass and meat quality trait pQTLs related to ham.

pQTL Location (CI) [a]	Trait [b]	Number of eQTL [c]	eQTL Gene symbol [d]
8 (13.40-15.40)	HW	1	FCHO1
16 (1.20-3.20)	MCOLOR-a	87	ARID1B, ASPH, BCL2L13, BOLL, BVES, CACNA1S, Cacnb3, CAV3, CTRB2, DYNC2LI1, EML4, EPB49, GAMT, HAO2, HRC, IFNGR2, KLHL26, LAMP2, LIMK2, LOC100151774, LOC100152866, LOC100153301, LOC100153809, LOC100155676, LOC100155723, LOC100156915, LOC100158168, LOC448984, MAPK8IP2, MUC13, PLPPR3, Prkd1, PSMC3, PTPRK, RFNG, RHBDF2, RPS10, RPS5, RPSA, SLC28A1, SMCR7, SNRPG, Ssna1, STAB1, TBC1D25, TMEM52, TNNT3, TRAF1, TTC7B, USP9Y, WDR18
16 (6.20-12.23)	MCOLOR-a	31	ASPH, C8orf37, CAV3, DNAL1, GAMT, HAO2, HRC, KLHL26, LAMP2, LOC100152866, LOC100153301, LOC100155676, LOC100158168, PDE5A, Pdlim7, PSMC3, PTPRK, RPSA, SLC39A7, SNRPG, Ssna1, TDP2, USP9Y
17 (58.93-63.36)	MCOLOR-a	2	IRAK3

[a] pQTL location: chromosome and confidence interval in Mb (see[21])

[b] Trait affected by the pQTL: Ham weight with feet (HW), meat redness (MCOLOR-a).

[c] Number of transcripts with an eQTL that colocalized with pQTL.

[d] Gene symbol of annotated transcripts with an eQTL that colocalized with pQTL. N/A corresponds to a regulated probe with no gene annotation.

16 (ZBTB16) transcripts involved in lipid and fatty acid metabolic process (GO:0006629 and GO:0006631) and positive regulation of fat cell differentiation (GO:0045600) were colocalized with the same loin muscle depth QTL localized on SSC11. Several regulated transcripts were colocalized with meat redness in SM on SSC16. Among them, Caveolin3 (CAV3), Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 S (CACNA1S) and Histidine Rich Calcium Binding Protein (HRC) were related to regulation of calcium ion transport (GO:0051924) and regulation of calcium ion import (GO:0090279), calcium ion transport (GO:0006816) and regulation of calcium ion transmembrane transport (GO:1903169) and calcium ion homeostasis (GO:0055074), respectively. CAV3 and Lysosomal Associated Membrane Protein 2 (LAMP2) were related to muscle cell cellular homeostasis (GO:0046716), while Blood Vessel Epicardial Substance (BVES) and Troponin T3, Fast Skeletal Type (TNNT3) were implicated in skeletal muscle tissue development (GO:0007519) and striated muscle cell differentiation (GO:0051146) for the first and in regulation of muscle contraction (GO:0006937) and regulation of striated muscle contraction (GO:0006942) for the second.

Identification of eQTL regulatory hotspots

A location affecting the expression of more than 10 transcripts was considered a regulatory hotspot. A total of 455 SNPs was identified affecting more than 10 transcripts. Few of them were identified using the GWAS approach. One SNP considered a regulatory hotspot was identified using GWAS analysis with LM expression data, and 2 were identified using GWAS with SM expression data. Thirty-eight SNPs considered regulatory hotspots were identified using the LDLA approach using LM expression data, and 414 were identified using SM expression data. No common regulatory hotspot was detected across muscle type (LM or SM) or eQTL detection approaches (GWAS or LDLA).

These regulatory hotspots were clustered according to their locations, i.e., significant consecutive SNPs were considered unique loci. The 455 SNPs considered regulatory hotspots were clustered in 8 regulatory hotspot clusters. They were located on chromosomes SSC3, SSC5, SSC7, SSC10 and SSC16 (figure 2). Two regulatory hotspot clusters were identified on SSC7 and SSC10 using LM expression data, whereas 6 were identified using SM expression data and located on SSC3, SSC5, SSC7 and SSC16. Three hotspot regions consisted of one SNP, whereas two loci included more than one hundred consecutive SNPs. The length of these regulatory hotspot loci ranged from 0 to 9 Mb. Four of them were larger than 1 Mb. These regulatory hotspot loci regulated 11 to 83 gene transcripts. Across these loci, a single SNP may affect up to 81 transcripts. Regulatory hotspot cluster information is reported in table 5 and table 6.

Table 5 LM Regulatory hotspot clusters.

Method	SSC	location (bp)	Cluster size (Mb)	SNP	Regulated transcripts [a]	Top SNP	
						location (bp)[b]	regulated transcript[c]
GWAS	7	4,235,615	0	1	24 4,235,615	24	
LDLA	10	36,768,057-39,007,437	2.24	38	11	All	11

[a] Total number of transcripts regulated by the whole regulatory hotspot locus.
[b] Location of the top hotspot SNP.
[c] Number of transcripts regulated by the top hotspot SNP.

To identify biological events involving hotspot-regulated transcripts, an overrepresentation analysis was conducted using the WebGestalt R package version 0.4.2. Among the 8 regulatory hotspots identified, only one exhibited significant overrepresentation. Functional analysis of gene transcripts regulated by the hotspots identified using GWAS for SM expression data on SSC7 highlighted a significant overrepresentation of genes involved in the immune response. These regulated transcripts were notably assigned to cell activation involved in the immune response (GO:0002263), neutrophil and granulocyte activation (GO:0042119 and GO:0036230), leukocyte

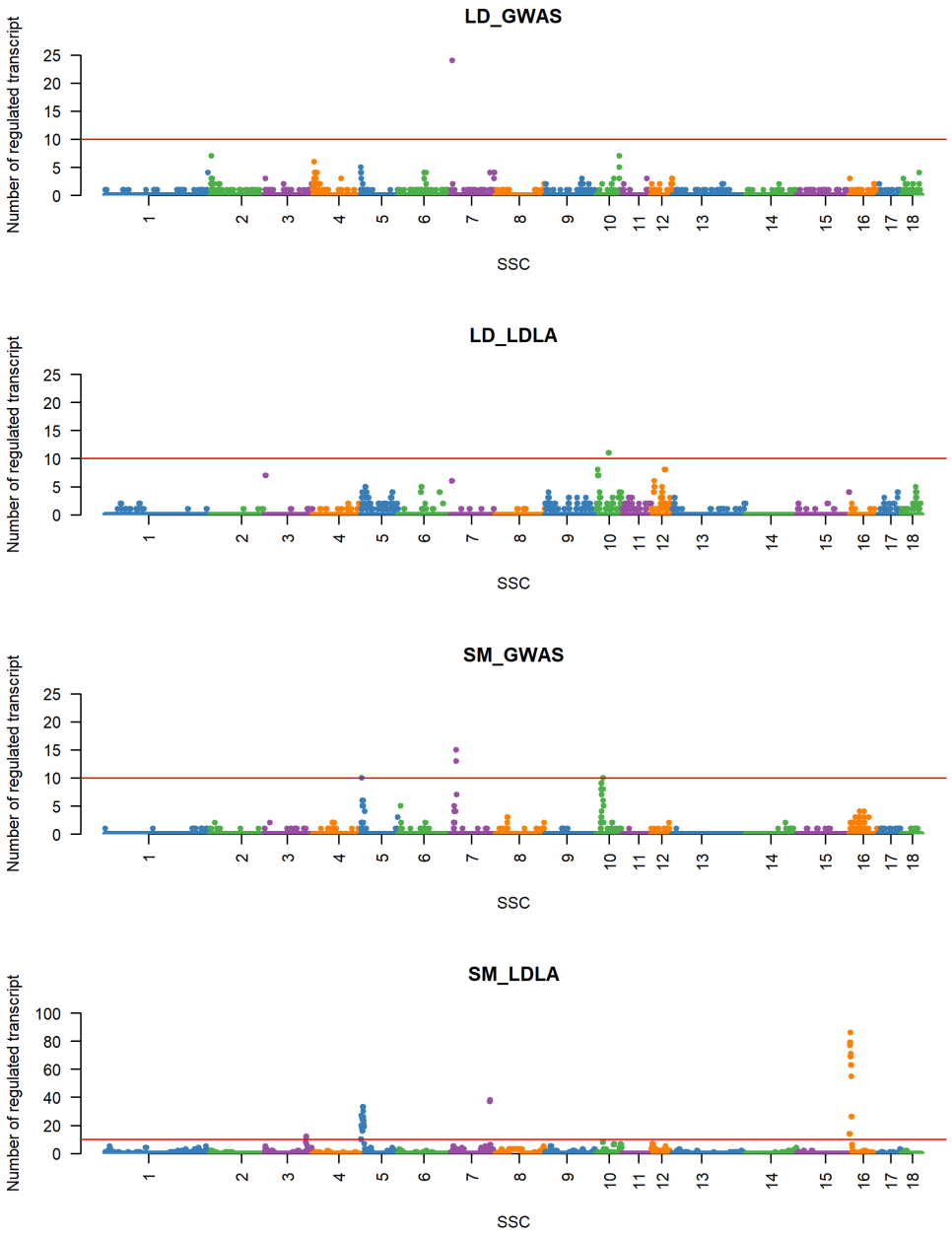


Figure 2 Number of eQTLs detected on each chromosome according to muscle sample and detection method.

degranulation (GO:0043299), phagocytosis, engulfment (GO:0006911) and plasma membrane invagination (GO:0099024).

Table 6 SM Regulatory hotspot clusters.

Method	SSC	location (bp)	Cluster size (Mb)	SNP	Regulated transcripts [a]	Top SNP	
						location (bp)[b]	regulated transcript[c]
GWAS	7	16,331,993	0	1	11	16,331,993	11
GWAS	7	17,200,808	0	1	12	17,200,808	12
LDLA	3	124,357,396-125,293,055	0.94	15	12	124,357,396	12
LDLA	5	1,066,516-10,184,292 9.12	187	63	6,148,810	33	
						6,212,431	33
						8,146,209	33
						8,184,337	33
LDLA	7	116,202,304-118,224,079	2.02	59	35	118,224,079	35
LDLA	16	176,128-7,300,334	7.12	153	83 3,167,796	81	
						3,227,606	81

[a] Total number of transcripts regulated by the whole regulatory hotspot locus.

[b] Location of the top hotspot SNP.

[c] Number of transcripts regulated by the top hotspot SNP.

Discussion

Meat quality traits play a key role in consumer purchase intent and meat industry processing, whereas carcass composition traits are of prominent importance for breeders and slaughtering industries, as these traits determine the carcass value. Despite an increasing number of QTLs related to carcass and meat quality traits in pigs, the genetic architecture controlling these complex traits remains largely unknown. In pig carcass, the two main cuts used for fresh or processed product consumption are the loin and the ham. Although predicting ham meat quality from loin cut measurement is unsuitable and leads to relatively poor accuracies [26], a large number of studies dealing with pork quality still focus only on loin measurements. QTLs for meat quality and carcass traits related to ham and loin were previously mapped in the population used in the present study [21]. To decipher the genetic architecture underlying carcass and meat quality trait determination, the objectives of the present study were to identify eQTLs using linkage and association methodologies and to combine them with previously identified carcass and meat quality trait QTLs to detect colocalized eQTLs/pQTLs and identify genes and pathways involved in the development of these traits. The two muscles selected for measuring expression data were *longissimus* and *semimembranosus* muscle, as they represented fresh meat and processed meat, respectively.

LM and SM analysis led to different eQTLs

In the present study, we analyzed expression data using a custom 15k skeletal muscle microarray "GenmascqChip" [22]. This custom microarray allowed the analysis of 7,905 and 6,665 expressed probes for LM and SM, respectively. In our study, we identified 1,253 genome-wide significant

eQTLs for LM and 1,109 genome-wide significant eQTLs for SM. Although the number of identified eQTLs was similar in both muscles, we identified only one common eQTL between LM and SM analysis. This trans-eQTL located on SSC10 controlled the mRNA expression of the calreticulin (CALR) gene, a calcium-binding protein of the endoplasmic reticulum. This gene is known to play a role in intracellular calcium homeostasis (GO:0006874: cellular calcium ion homeostasis) as well as in cutaneous wound healing, repair processes and immune responses [27, 28]. The fact that only one common eQTl was identified could be due to the difference between the number of analyzed expression data in SM and LM samples, resulting in a lack of power to detect significant eQTLs in SM. However, although the number of SM samples was only one-third that of LM samples, the number of significant eQTLs detected in both muscles was similar. A second explanation could result from the muscle properties themselves. We previously analyzed the mRNA expression of the same samples and identified a large number of differentially expressed genes (DEGs). These DEGs were mainly involved in energy metabolism, the cell cycle, gene expression, anatomical structure development and the cell communication/immune response and shed light on dissimilar postnatal myogenic activity between the two muscles [29].

In their study comparing the mRNA expression profile and eQTL detection in the porcine *gluteus medius* (GM) and *longissimus dorsi*, González-Prendes *et al.* [14, 30] reported a similar discrepancy in the mRNA expression profile of the two muscles and a weak number of common eQTLs. In both cases, the studies compared two white skeletal muscles chosen for their representation of fresh and processed meat consumption. These three different muscles are all classified as glycolytic, even if slight differences have been described in their myofiber composition (higher proportion of type IIa myofibers and lower proportion of type IIb myofibers in SM) and metabolic properties: higher glycolytic activity in LM, higher oxidative capacity in SM and GM exhibiting intermediate glycolytic and oxidative activity [31–34]. The main difference between LM on the one side and SM and GM on the other side resides in their anatomical location and their postural or locomotor purpose. To emphasize these differences between muscles, it should be noted that when our group [21] or Gallardo *et al.* [35] studied meat color in both muscles, we did not find any common loci controlling these traits. Taken together, these results suggest that muscle mRNA expression is not only dependent on the myofiber composition and metabolic properties but probably also on their anatomical location and function, and that skeletal muscle specificity may be a determinant for the development of meat quality traits. Taking this information into account, all subsequent analyses were performed in a muscle-specific manner.

Partial matching of the GWAS and LDLA eQTL analysis

In the present study, two strategies were employed to identify eQTLs: genome-wide association studies (GWAS) and linkage disequilibrium-linkage analysis (LDLA). The two analysis methodologies used led to different results, although a few significant eQTLs common to both approaches were identified. Sixteen common eQTLs were identified using SM expression data, and one was identified using LM. Such differences between association studies and linkage analyses have been previously observed and several explanations for these discrepancies have been discussed [12, 21, 36, 37]. First, each method is based on different assumptions. GWAS relies on population information and the marker density to capture enough LD to identify SNPs that are statistically associated with the trait. The LDLA method exploits LD as well as allele segregation within families when the F1 sire and/or the dam are heterozygous at the putative QTL. When the QTL stands in a chromosomal region in weak LD, GWAS loses its ability to detect QTLs. Conversely, when QTL allele frequencies are not sufficiently different in grand-parental F0 lines, linkage analysis is not able to detect QTLs. Both methodologies take advantage of different information levels, populational or within-family information. Consequently, when one of them fails to identify a QTL, the other has the ability to detect such a QTL. Another point concerns the methodology used to assess statistical significance in GWAS and LDLA analyses. For GWAS, the null hypothesis was that there is no QTL at one location, whereas for LDLA, the null hypothesis was that there is no QTL on the chromosome. To take into account multiple testing during GWAS, rejection thresholds are empirically estimated through simulations with the method proposed by Müller *et al.* [38]. This strategy may lead to different levels for GWAS and LDLA. Moreover, the fact that the null hypothesis (i.e., no QTL) is biologically unreasonable may affect the estimated rejection threshold and hence impact the power of QTL detection [39].

All of these differences may explain the contrasting results. However, comparisons of different methods for whole-genome QTL mapping led Legarra *et al.* [39] to conclude that each approach is relevant for QTL detection. Rather than differences, mutual combination of these results represents an opportunity to obtain a global overview of the QTLs that segregate in the studied population [21, 36, 39].

Gene expression regulators

Several studies have focused on eQTL identification in pig muscle. While many studies defined cis regulator activity when the associated SNP was located within an area of 1 Mb from the

regulated gene [10, 30, 40, 41] or when the regulated gene was located between the two markers flanking the most likely eQTL position [42, 43], we chose to characterize the regulator as a cis-acting, distant regulator on the same chromosome (putative cis-acting) and trans-acting regulator as proposed by Velez-Irizarry *et al.* [44], meaning that a cis-regulatory element was defined by an overlap of the eQTL confidence interval and the regulated gene location. Using this definition, we identified a single cis-acting SNP, which is very different from previous reports of tens or more cis-acting eQTLs. Using a 1-Mb window surrounding the regulated gene location, González-Prendes *et al.* [30] identified 19% cis-acting eQTLs in gluteus medium muscle. Moreover, it should be noted that they focused on 74 positional candidate genes, while we studied the expression of 7,905 and 6,665 expressed probes in LM and SM samples, respectively. The use of different definitions to qualify cis-eQTLs and the use by the previous authors of a preselected genes set may have an effect on the identification of cis-acting eQTLs and may also explain the discrepancy in the results. Based on an overlap of the eQTL location and the regulated gene, Liaubet *et al.* [43] and Cánovas *et al.* [42] identified 5% and 13% cis-acting eQTLs, respectively. Nonetheless, it should be noted that both studies reported large confidence intervals for the eQTL locations, which may account for the difference in cis-eQTL identifications. Finally, Velez-Irizarry *et al.* [44] identified 50% local eQTLs (eQTL confidence interval even partially overlapping the regulated gene location), which is very different from our results. However, it is worth noting that the average length of the local eQTL confidence intervals they identified was 21 Mb, while the average confidence interval length of eQTLs qualified as "Distant eQTLs" but on the same chromosome was 2 Mb. These large confidence intervals explain the high levels of identified cis-eQTLs. In the present study, the average eQTL confidence intervals were less than 0.1 Mb in the GWAS analysis and less than 3.9 Mb in the LDLA analysis.

Trans-eQTL regulatory hotspot

Regulatory hotspots are defined as loci that affect a large number of transcripts. It is thought that regulatory hotspots highlight master regulators influencing the expression of a batch of genes. Hence, identifying such a particular locus will help decipher regulatory and biochemical networks underlying complex traits [6]. However, Pérez-Enciso [45] and Wang *et al.* [46] warned about the risk of misinterpretation of such loci. They especially questioned the reliability of the eQTL position and highlighted that these hotspots might be due to a combination of highly correlated gene expression and a particular pattern of linkage disequilibrium between markers. To mitigate these risks, Pérez-Enciso [45] suggested the use of a structured family design al-

lowing linkage analysis and resulting in the simplest LD pattern due to the limited number of haplotypes present in the studied population. In the present study, which relied on a family experimental design, significant SNPs affecting the expression of more than 10 transcripts were considered regulatory hotspots. We defined a regulatory hotspot cluster as a locus that gathered all consecutive significant SNPs affecting the expression of more than 10 transcripts. Regulatory hotspot clusters were identified in both muscle type and both QTL detection approaches. To characterize these regulatory hotspot clusters, we analyzed the GO BP associated with the genes regulated by such a locus through overrepresentation analysis. Among the 8 hotspot clusters identified in the present study, only one exhibited significant overrepresentation. This hotspot cluster was not related to genes involved in meat quality traits but in the immune response. Regardless, we should be cautious before drawing any conclusions regarding the identification of master regulators. Further investigation will be necessary to unravel whether these loci are true regulatory hotspots.

Positional Location concordance between eQTLs and pQTLs

Genetic genomics postulates that the expression of some genes is influenced by genetic variations and that the expression of these variable mRNAs may play a key role in complex trait variations [5, 6]. Thus, the identification of eQTLs provides opportunities to identify regulatory networks and pathways governing quality trait variations through changes in gene expression and to identify gene transcripts that regulate these traits [7–9]. To identify such genes, we combined previously identified pQTLs [21] and eQTLs detected in the present study to highlight colocalized QTLs. To take into account that expression profiles differed between muscles [29, 30], the genomic location comparison of pQTLs and eQTLs was determined for each muscle separately. Among the 1,253 LM eQTLs identified, 68 colocalized with 20 pQTLs related to loin, and 124 of the 1,109 SMs identified eQTLs colocalized with 4 pQTLs related to ham.

Interestingly, several colocalized regulated transcripts were annotated by GO BP terms related to the colocalized phenotype. Among them in LM, the BTG2 eQTL was located in the same genomic region as a pQTL related to back-fat thickness and intramuscular fat content on SSC18. BTG2 is known to be involved in skeletal muscle cell differentiation (GO:0035914). A second eQTL was colocalized with a pQTL controlling back-fat thickness. This eQTL regulated VGLL2, another gene known to be involved in skeletal muscle tissue development (GO:0007519). BTG2 was previously identified as a candidate gene for buttock fat thickness, fat percentage, lean muscle percentage, ratio of lean to fat and carcass length in a Large White × Meishan F2

population [47] and for intramuscular fat content in cattle [48]. Moreover, S. Kim *et al.* [49] showed that the expression of BTG2 plays an important role in the adipogenesis process. Thus, BTG2 may be considered to be a part of the pathways controlling adipose tissue deposition in pigs even though BTG2 is known to be involved in skeletal muscle cell differentiation.

A third interesting colocalized eQTL identified in the present study concerns LPIN1 and ZBTB16 genes. This eQTL colocalized with the pQTL controlling the loin muscle depth on SSC11. LPIN1 is a gene known to be implicated in lipid and fatty acid metabolic processes (GO:0006629 & GO:0006631) whereas ZBTB16 is known to be involved in positive regulation of fat cell differentiation (GO:0045600). Although related to lipid metabolism, several studies have implicated LPIN1 in the muscle development process in sheep, resulting in a better loin yield [50], improving breast muscle fiber diameter in chicken [51] and causing changes in skeletal muscle fibers in mice [52, 53]. Thus, the LPIN1 gene may belong to the genetic architecture governing muscle trait development.

Finally, eQTLs controlling BVES, CACNA1S, CAV3 and TNNT3 gene expression were identified in the same chromosomic region as a pQTL for meat redness in SM on SSC16. Meat color is the most important criterion in consumer acceptance of meat and purchase intention [54]. Fresh meat color depends on myoglobin content (i.e., after bleeding), which affects redness and light reflectance on the meat surface. Both are affected by the protein denaturation that occurs during muscle-to-meat transformation [55]. Following slaughter, muscle and muscle cells remain “alive” until total depletion of the available energy. As there is no more oxygen supply, muscle metabolism changes from aerobic to anaerobic, resulting in muscle acidification, protein degradation and protein oxidative damage [56–58]. Meat color and notably redness are highly dependent on the oxidative status of myoglobin, which is influenced by pH [55, 59]. Hence, although meat redness is reported to be less genetically correlated to pH than meat lightness [60, 61], meat redness is impacted by the pH decline that occurs during muscle-to-meat conversion. Since the identification of the halothane gene (RYR1) by Fujii *et al.* [62], it has been well known that the regulation of calcium ion transport and homeostasis play key roles in the speed of the postmortem pH decline and hence may have an impact on meat color traits and drip loss [63]. Thus, a locus-regulating gene implicated in calcium ion transport may have an impact on meat color redness. Malignant hyperthermia (MH) is a skeletal muscle disorder induced by volatile anesthetics such as halothane. It is characterized by a massive and uncontrolled release of calcium ions in the cytoplasm of muscle cells, resulting in an increase in muscle metabolism, intense muscle contraction and a hyperthermic reaction [64, 65]. Pigs susceptible to MH may

produce pale, soft and exudative (PSE) meat characterized by less colored meat and a low water holding capacity. Interestingly, the CACNA1S and CAV3 genes are related to calcium ion transport (GO:0006816) for the first one and muscle cell cellular homeostasis (GO:0046716) and regulation of calcium ion transport (GO:0051924) for the second one. Moreover, similar to RYR1, CACNA1S has been associated with MH [65]. CACNAS1 has also been related to muscle contraction (GO:0006936) as well as the TNNT3 gene. CAV3 and BVES are implicated in muscle organ development (GO:0007517). It is worth noting that BVES expression is known to be correlated with a rapid pH decrease [17] and that TNNT3 polymorphisms are significantly associated with a rapid pH decrease and a low ultimate pH [66]. Similarly, polymorphisms identified in the BVES and CAV3 genes are significantly associated with the ultimate pH in pigs and cattle, respectively [67, 68].

In most cases, these colocalized eQTLs allowed us to refine the location of the pQTL. The colocalization of the BTG2 eQTL and the back-fat/IMF pQTL reduced the locus size from 3 Mb to 1.8 Mb. The colocalization of the LPIN1 and ZBTB16 eQTL and the LMDEP pQTL reduced the locus size from 7 Mb to 4,79 Mb. In contrast, the eQTL regulating the VGLL2 gene expanded the locus size of the colocalized pQTL controlling back-fat thickness. However, it should be noted that the colocalized pQTL was associated with only one SNP. SNPs flanking these refined regions were mapped to the Sscrofa 11.1 assembly (Ensembl database release 98) to extract the list of the encompassed genes. Interestingly, the 4,79 Mb region defined by the colocalization of the LPIN1 and ZBTB16 eQTL and the LMDEP pQTL contains RB1 gene known to be involved in skeletal muscle cell differentiation and striated muscle cell differentiation (GO:0035914 & GO:0051146). We previously identified RB1 gene as a positional and fonctional candidate gene [21] and Muranaka *et al.* [69] highlighted the implication of RB1 in the regulation of LPIN1 expression. Altogether, this observations pointed out that RB1 is a good candidate gene for LMDEP trait. Similarly, the eQTLs regulating BVES, CACNA1S, CAV3 and TNNT3 and colocalized with ham meat redness QTLs spanned a large chromosomic region of 10 Mb. However, by only considering the common overlapping windows for these eQTLs, we improved the locus location by reducing the confidence interval to 60 kb. However, this 60 kb locus pointed out an intergenic region flanked by lncRNA.

Through several projects, such as GENCODE [70, 71], FAANG [72] or FR-AgENCODE [73, 74], efforts were made to improve the annotation of human and animal genomes. These efforts have highlighted the importance of long noncoding RNAs (lncRNAs). In their meta-analysis of the human transcriptome, Iyer *et al.* [75] revealed that over 68% of the transcripts corresponded

to lncRNAs. Concomitantly, several repertories of noncoding RNAs have been elaborated [76, 77]. In this study, we identified loci regulating meat quality traits and functional candidate genes delineating chromosomal regions containing several lncRNAs. It is known that lncRNAs are implicated in cis- or trans-acting gene expression regulation [78] and that they play an important role in the regulation of numerous biological processes, such as adipogenesis or skeletal muscle development and function [79–81]. Several studies have reported the regulation of adipogenic processes or skeletal muscle development by lncRNAs in pigs [82–85], cattle [86], chickens [87–89] or sheep [90, 91]. Moreover, it has been reported that lncRNAs regulate the expression of genes involved in meat quality development, such as BTG2 or BVES. However, most of these findings referred to cancer studies. The regulation of LPIN1 and TNNT3 by lncRNAs has similarly been reported in pigs and chickens, respectively [82, 92]. Further analyses may have to focus on the role played by lncRNAs in the regulation of complex traits to decipher genotype-to-phenotype relationships underlying meat quality traits.

Conclusions

In the present study, we aimed to identify genes and pathways involved in the development of carcasses and meat quality traits in commercial pigs. To achieve this goal, we used GWAS and LDLA analyses to identify muscle eQTLs and merged the identified eQTLs with previously mapped pQTLs. Our results shed light on the muscle-specific regulation of mRNA expression, which may be a determinant for the development of meat quality and carcass traits. These findings imply that assessments of meat quality traits should be evaluated through muscle-specific phenotypes and endophenotypes. Several positional concordances have been identified between eQTLs and pQTLs, highlighting genes involved in muscle development, adipogenic processes or ion calcium homeostasis and hence implicated in meat quality trait pathways. These eQTLs allowed us to refine previously identified QTLs and pointed out the possible implication of RB1 gene in the regulation of loin muscle depth trait. Finally, this study allows us to highlight the possible involvement of lncRNAs in the architecture of regulatory networks governing complex traits such as meat quality and carcass. Future studies may have to focus on lncRNA-regulating functions in regards to complex traits. Achievement of this goal will be facilitated by the growing knowledge of genome annotation and gene expression regulation to decipher genotype-to-phenotype relationships underlying meat quality traits.

Material and methods

Ethics Statement

All samples analyzed in this study were collected postmortem from pigs raised and slaughtered in the context of meat production. All animals were reared and slaughtered in compliance with national regulations pertaining to livestock production and according to procedures approved by the French Veterinary Services. Pigs were raised on the France Hybrides nucleus herd of Sichamps and slaughtered on the ORLEANS Viandes commercial EU approved slaughterhouse according to standard procedures (ORLEANS Viandes, Fleury-les-Aubrais, France). These animals are therefore not to be considered experimental animals per se, as defined in EU directive 2010/63 and subsequent national application texts. Consequently, we did not seek ethical review and approval of this study regarding the use of experimental animals (also see [20, 21, 29]).

Animals and Study design

The animals and study design have been previously described [21]. Briefly, the animals considered in the present study were a subset of a larger F2 population produced by mating 18 F1 boars to two to five full sib F1 sows issued from intercrosses between two terminal sire lines (France Hybrides, St-Jean-de-Braye, France)[20]. Among the 18 families produced, 4 were used for transcriptome analysis [29, 93] and subsequently used for this study. The animals were produced using 4 F1 males and 15 F1 females. They were raised on the same farm and slaughtered at an average body weight of 110 kg. Muscle samples from *longissimus* and *semimembranosus* muscles were collected 20 minutes postmortem and immediately frozen in liquid nitrogen. Details have been provided by Hérault *et al.* [29].

Transcript quantification

Transcriptional data were obtained for 333 F2 animals, of which 325 were quantified using LM samples and 112 using SM samples. Total RNA extraction, microarray hybridization conditions and microarray data analysis have been previously described. The detailed procedure was reported by Hérault *et al.* [29] and Cherel *et al.* [93].

RNA extraction and microarray hybridization

Total RNA was extracted using TRIzol reagent (Invitrogen, Cergy-Pontoise, France) and purified using a Nucleospin RNA II Kit (Macherey-Nagel, Lyon, France). Total RNA quantification was performed using a NanoDrop ND-1000 spectrophotometer (Thermo Scientific, Illkirch, France), and RNA integrity was assessed using an Agilent RNA 6000 Nano kit with

an Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies France, Massy, France). The RNA integrity number (RIN) was greater than eight for all samples. The custom 15-k pig skeletal muscle microarray "GenmascqChip", corresponding to 9,169 unique annotated genes, was used in this study [22]. A description of this microarray is publicly available in the GEO repository (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/) through GEO platform accession no. GPL11445. Total RNA was individually labeled with Cy3 using the Low RNA Input Linear Amplification Kit PLUS, One-Color (Agilent Technologies, Massy, France) following the manufacturer's instructions. Microarray hybridizations were carried out at 65°C for 17 h in Agilent's SureHyb Hybridization Chambers containing Cy3-labeled cRNA samples. Microarrays were then washed and scanned using the Agilent DNA Microarray Scanner G2505B. Individual scanned images were analyzed with Agilent Feature Extraction Software (Version 9.5) using the GE2-v5_95_Feb07 FE extraction protocol to produce microarray data. These data have been deposited in a MIAME compliant format into the GEO repository (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/) and are publicly available through the GEO Series accession nos. GSE145892 and GSE145893.

Microarray Data Analysis

Spot quality was assessed regarding intensity, uniformity and saturation criteria. Signal intensities from quality-filtered probes were natural log transformed and centered within samples by subtraction of the sample median value. Within probes, outliers, i.e., spots with transformed signal intensities deviating by more than three times the standard deviation from the mean were removed from this study. All probes with more than 50% quality flagged spots within muscle were discarded from this study. Moreover, all probes with quality flagged spots or spots detected as outliers within more than 50% of samples per muscle were also removed from the analysis. Finally, to increase the robustness of the GWAS and LDLA analyses, probes with the smallest expression variability across samples were filtered out using the K-means algorithm (k = 3) [94]. A total of 7,905 and 6,665 expressed probes were retained for eQTL detection in LM and SM, respectively.

Genotyping and quality control

Genotyping and quality control have been previously described [21]. Briefly, genotype data were obtained for 497 F2 animals, including the 333 F2 animals used in this study and their 19 parents and 10 grandparents. DNA samples were genotyped at the animal genotyping platform LABOGENA (Jouy-en-Josas, France) using the Illumina PorcineSNP60 BeadChip platform (Illumina, San Diego, USA) [23] according to the manufacturer's protocol. SNPs with no chromosome assig-

nation (mapping based on the Sscrofa10.2 assembly) were removed from the analysis. Genotype quality was assessed using the PLINK whole-genome association analysis toolset (PLINK version 1.07) [95] and filtered according to the SNP call rate (≤95%, 6,306 SNPs removed), minor allele frequency (p<0.05, 11,976 SNPs removed) and Hardy-Weinberg equilibrium (p<0.05, 3,631 SNPs removed). A total of 39,557 SNPs remained available on autosomes for eQTL detection. All animals were checked for the call rate quality (<95%) or family genotype incompatibility (>2%). Three animals were discarded due to family genotype incompatibility, and 18 animals were removed due to a low call rate. Finally, 342 genotypes (329 F2, 8F1 and 5 F0) were used for this study.

QTL expression analysis

QTL expression detection was achieved using both GWAS and LDLA approaches. For each trait (i.e., normalized RNA expression), sex (2 levels: female and castrated male), slaughter season (2 levels: summer and winter) and hybridization date (15 levels for LM and 5 levels for SM) were set as fixed effects, and carcass weight was set as a covariate.

GWAS

GWAS analysis, which relies on the analysis of population-wide linkage disequilibrium (LD), was performed using "GWAS-Müller" software [96]. This software uses the blupF90 program [97–99] to fit a mixed model that takes pedigree kinship into account using a four-generation pedigree. For each marker (1 to 39,957 SNPs) and each trait (1 to 7,905 RNAs expressed for LM and 1 to 6,665 for SM), the following mixed model was applied to the data:

$$y = 1\mu + Xb + Zu + e, \text{ with } V(u) = A\sigma_g^2$$

where y is the vector of phenotypes, µ is the general mean, X is the vector of the genotypes for the SNP evaluated (0, 1 or 2), b is the allele substitution effect determined by the SNP genotype, Z is a matrix associating random additive polygenic effects to individual, u is a vector containing the random polygenic effects, e is the random residual, A is the pedigree kinship matrix, and σ_g^2 is the polygenic genetic variance.

Chromosome-wide significance thresholds were estimated through a total of 5,000 simulations for each chromosome using the method proposed by Müller *et al.* [38] implemented in "GWAS-Müller" software. The null hypothesis was that b is null.

LDLA

QTL expression detection was also performed using the interval mapping method implemented in QTLmap software [100, 101] using the LDLA approach based on Legarra and Fernando [102], which exploits both the linkage information obtained at the within-family level and the LD information obtained at the population level. A half/full-sib model was used, which assumed that the population was a mixture of half and full-sib families. The order and position of the SNPs were calculated according to their physical location on the chromosome assuming a correspondence of 100 Mb to 1 Morgan. The haplotype length was set to 4 SNPs, and genome scans were performed using a 1-centimorgan step. QTLs were detected based on the likelihood-ratio test (LRT) along chromosomes. Chromosome-wide significance thresholds were estimated through a total of 1,000 simulations for each chromosome under the null hypothesis of the test (no QTL on the chromosome).

Significance threshold

QTL expression detection (GWAS and LDLA interval mapping) was carried out on autosomes in a chromosome-by-chromosome manner. Genome-wide thresholds (p ¡ 0.05) were calculated according to Bonferroni correction as chromosome-wide thresholds at p ¡ 0.0027 (0.05/18 chromosomes). An eQTL was considered to be significant for a genome-wide significance level of 5%. Using the GWAS approach, only maximum QTL detection statistics across all positions along each linkage group were considered. For each eQTL detected, the SNP with the lowest p-value was called the "top SNP". Confidence intervals (CIs) of these eQTLs were defined with SNPs having detection statistics above the chromosome-wide threshold (p ¡ 0.05) in the neighborhood of the top SNP, i.e., between the first and the last consecutive suggestive marker. The location of the maximum LRT was considered the most likely eQTL location for LDLA analysis. The drop-off method [103] implemented in QTLmap was applied to obtain the 95% confidence interval of the eQTL location.

Genomic location analysis

Expressed gene chromosomal locations were extracted from Ensembl database release 89 (May 2017, http://may2017.archive.ensembl.org/index.html) [104] based on the Sscrofa10.2 assembly using the "biomaRt" package for R [24, 25]. Gene chromosomal locations were used to characterize local or distant regulators of gene expression. As described in Velez-Irizarry *et al.* [44], local or distant acting regulators were classified into three categories depending on the gene chromosomal location and eQTL interval confidence: 1- for gene location and eQTL confidence

intervals overlapping even partially, eQTLs were classified as cis-acting regulators; 2- for gene location and eQTL confidence intervals localized on the same chromosome but not overlapping, eQTLs were classified as distant eQTLs on the same chromosome; 3- for genes and eQTLs localized on different chromosomes, eQTL was classified as a trans-acting eQTL.

Colocalization analysis

Muscle-specific eQTL chromosomal locations were compared to the corresponding muscle-specific pQTLs [21]. SM eQTL locations were compared to ham meat color and ham weight pQTLs, whereas LM eQTL locations were compared to loin meat quality traits (meat color, pH, shear force, drip loss, intramuscular fat content and glycolytic potential) and carcass quality traits (back-fat, muscle depth, loin weight and estimated carcass lean content). An eQTL was considered colocalized if its confidence interval overlapped with a pQTL confidence interval location.

Regulatory hotspot

For each SNP, we counted the number of times it was located in an eQTL confidence interval. SNPs located in more than 10 eQTL CIs were considered regulatory hotspots. Consecutive regulatory hotspots were clustered and considered unique regulatory hotspot loci. For each regulatory hotspot locus, the SNP affecting expression of the largest number of genes was called the "top hotspot SNP".

Functional annotation

To identify regulated metabolic pathways or functional candidate genes, human gene ontology annotations [105, 106] were used. Functional characterization of genes was assessed using Gene Ontology Biological Process terms. Functional annotations were extracted from the Ensembl database using the "biomaRt" package for R [24, 25]. To characterize enriched biological processes or pathways under regulatory hotspots, eQTL overrepresentation analysis (ORA) was performed using the WebGestalt R package version 0.4.2 [107, 108]. The lists of genes were uploaded using human gene symbols. A minimum of five genes was required for a term to be considered of interest. For each term of interest, significance levels were calculated using the GenmascqChip 15K gene symbol as background. A multiple testing correction P-value was calculated according to the Benjamini and Hochberg procedure, and an adjusted p- value of 0.05 or less was retained for significance.

Abbreviations

BF: Back-fat thickness; bp: base pair; BP: Biological process; DNA: Deoxyribonucleic acid; DRIPL: Drip loss (DRIPL); ECLC: Estimated carcass lean content; eQTL: Expression quantitative trait loci; F0: Grand parental generation; F1: Partental generation; F2: Progeny; GM: Gluteus medius; GO: Gene ontology; GWAS: Genome-wide association study; HW: Ham weight with feet; IMF: Loin intramuscular fat content; LDLA: Linkage disequilibrium linkage analysis; LM: Longissimus muscle; LMDEP: Loin muscle depth; lncRNA: Long noncoding ribonucleic acid; LRT: Likelihood-ratio test; Mb: Megabase; MCOLOR-a: Meat redness; MIAME: Minimum Information About a Microarray Experiment; mRNA: Messenger ribonucleic acid; pH24: Ultimate meat pH 24 h postmortem; pQTL: Phenotypic quantitative trait loci; QTL: Quantitative trait loci; RNA: Ribonucleic acid; SHEAR-raw: Shear force on raw loin; SM: Semimembranosus muscle; SNP: Single nucleotide polymorphism; SSC: Sus scrofa chromosome.

Acknowledgements

The authors thank Jean-François Nicolaon and the staff from the France Hybrides nucleus herd of Sichamps for experimental animal care and identification and Rachel Marie, Laurent Letelu, Caroline Cordebois and Najate Aït-Ali for excellent technical assistance. The author would like to thank Christian Diot for constructive criticism of the manuscript. We would also like to thank Labogena for microarray genotyping and the SIGENAE group for SNP mapping of the pig genome.

Funding

This work was carried out with financial support from the ANR- Agence Nationale de la Recherche–The French National Research Agency under the Programme National de Recherche en Alimentation, project ARN-PNRA-2006-25, GENMASCQ. The funders had no role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Availability of data and materials

The expression data sets used during the current study are publicly available in the GEO repository (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/) under GEO Series accession nos. GSE145892 and GSE145893.

Authors' contributions

FH performed the expression and genotyping quality control, eQTL detection, and postQTL bioinformatics analyses and drafted the manuscript. AV performed the mRNA expression experiments. AYR performed the eQTL detection. MD, PC and PLR conceived and designed the experiments. PLR supervised the QTL analysis and participated in drafting the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Ethics approval

No ethics approval was required for this study because all samples analyzed were collected postmortem from pigs raised and slaughtered in the context of meat production. These animals are therefore not to be considered experimental animals per se, as defined in EU directive 2010/63 and subsequent national application texts. Consequently, we did not seek ethical review and approval of this study regarding the use of experimental animals (also see [20, 21, 29]).

Consent for publication

"Not applicable"

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Author details

[1]PEGASE, INRAE, Institut Agro, 35590 Saint Gilles, France. [2]AiBV-institut de Biologie Valrose, Université Nice-Sophia Antipolis UMR CNRS 7277 Inserm U1091, Parc Valrose, 06108 Nice, France.

References

1. Schwab, C.R., Baas, T.J., Stalder, K.J., Mabry, J.W.: Effect of long-term selection for increased leanness on meat and eating quality traits in Duroc swine. Journal of Animal Science **84**(6), 1577–1583 (2006). doi:10.2527/2006.8461577x
2. Rosenvold, K., Andersen, H.J.: Factors of significance for pork quality—a review. Meat Science **64**(3), 219–237 (2003). doi:10.1016/S0309-1740(02)00186-9
3. Hu, Z.-L., Park, C.A., Reecy, J.M.: Building a livestock genetic and genomic information knowledgebase through integrative developments of Animal QTLdb and CorrDB. Nucleic Acids Research **47**(D1), 701–710 (2019). doi:10.1093/nar/gky1084
4. Pig QTL Database; Released 40. https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/SS/index

642 5. Cookson, W., Liang, L., Abecasis, G., Moffatt, M., Lathrop, M.: Mapping complex disease traits with global gene expression.
643 Nature reviews. Genetics **10**(3), 184–194 (2009). doi:10.1038/nrg2537
644 6. Rockman, M.V., Kruglyak, L.: Genetics of global gene expression. Nature Reviews Genetics **7**(11), 862–872 (2006).
645 doi:10.1038/nrg1964
646 7. Kadarmideen, H.N., von Rohr, P., Janss, L.L.G.: From genetical genomics to systems genetics: Potential applications in
647 quantitative genomics and animal breeding. Mammalian Genome **17**(6), 548–564 (2006). doi:10.1007/s00335-005-0169-x
648 8. te Pas, M.F.W., Madsen, O., Calus, M.P.L., Smits, M.A.: The Importance of Endophenotypes to Evaluate the Relationship
649 between Genotype and External Phenotype. International Journal of Molecular Sciences **18**(2), 472 (2017).
650 doi:10.3390/ijms18020472
651 9. Wayne, M.L., McIntyre, L.M.: Combining mapping and arraying: An approach to candidate gene identification. Proceedings of
652 the National Academy of Sciences **99**(23), 14903–14906 (2002). doi:10.1073/pnas.222549199
653 10. Ballester, M., Ramayo-Caldas, Y., Revilla, M., Corominas, J., Castelló, A., Estellé, J., Fernández, A.I., Folch, J.M.: Integration
654 of liver gene co-expression networks and eGWAs analyses highlighted candidate regulators implicated in lipid metabolism in
655 pigs. Scientific Reports **7** (2017). doi:10.1038/srep46539
656 11. Martínez-Montes, A.M., Muiños-Bühl, A., Fernández, A., Folch, J.M., Ibáñez-Escriche, N., Fernández, A.I.: Deciphering the
657 regulation of porcine genes influencing growth, fatness and yield-related traits through genetical genomics. Mammalian Genome
658 **28**(3), 130–142 (2017). doi:10.1007/s00335-016-9674-3
659 12. Muñoz, M., Rodríguez, M.C., Alves, E., Folch, J.M., Ibañez-Escriche, N., Silió, L., Fernández, A.I.: Genome-wide analysis of
660 porcine backfat and intramuscular fat fatty acid composition using high-density genotyping and expression data. BMC
661 Genomics **14**(1) (2013). doi:10.1186/1471-2164-14-845
662 13. Cinar, M.U., Kayan, A., Uddin, M.J., Jonas, E., Tesfaye, D., Phatsara, C., Ponsuksili, S., Wimmers, K., Tholen, E., Looft, C.,
663 Jüngst, H., Schellander, K.: Association and expression quantitative trait loci (eQTL) analysis of porcine AMBP, GC and
664 PPP1R3B genes with meat quality traits. Molecular Biology Reports **39**(4), 4809–4821 (2012). doi:10.1007/s11033-011-1274-4
665 14. González-Prendes, R., Quintanilla, R., Cánovas, A., Manunza, A., Cardoso, T.F., Jordana, J., Noguera, J.L., Pena, R.N.,
666 Amills, M.: Joint QTL mapping and gene expression analysis identify positional candidate genes influencing pork quality traits.
667 Scientific Reports **7** (2017). doi:10.1038/srep39830
668 15. Heidt, H., Cinar, M.U., Uddin, M.J., Looft, C., Jüngst, H., Tesfaye, D., Becker, A., Zimmer, A., Ponsuksili, S., Wimmers, K.,
669 Tholen, E., Schellander, K., Große-Brinkhaus, C.: A genetical genomics approach reveals new candidates and confirms known
670 candidate genes for drip loss in a porcine resource population. Mammalian Genome **24**(9), 416–426 (2013).
671 doi:10.1007/s00335-013-9473-z
672 16. Ponsuksili, S., Murani, E., Trakooljul, N., Schwerin, M., Wimmers, K.: Discovery of candidate genes for muscle traits based on
673 GWAS supported by eQTL-analysis. International journal of biological sciences **10**(3), 327–337 (2014). doi:10.7150/ijbs.8134
674 17. Ponsuksili, S., Murani, E., Schwerin, M., Schellander, K., Wimmers, K.: Identification of expression QTL (eQTL) of genes
675 expressed in porcine M. longissimus dorsi and associated with meat quality traits. BMC Genomics **11**(1), 572 (2010).
676 doi:10.1186/1471-2164-11-572
677 18. Ponsuksili, S., Murani, E., Brand, B., Schwerin, M., Wimmers, K.: Integrating expression profiling and whole-genome association
678 for dissection of fat traits in a porcine model. Journal of Lipid Research **52**(4), 668–678 (2011). doi:10.1194/jlr.M013342
679 19. Ponsuksili, S., Jonas, E., Murani, E., Phatsara, C., Srikanchai, T., Walz, C., Schwerin, M., Schellander, K., Wimmers, K.: Trait
680 correlated expression combined with expression QTL analysis reveals biological pathways and candidate genes affecting water
681 holding capacity of muscle. BMC Genomics **9**(1), 367 (2008). doi:10.1186/1471-2164-9-367
682 20. Cherel, P., Pires, J., Glénisson, J., Milan, D., Iannuccelli, N., Hérault, F., Damon, M., Le Roy, P.: Joint analysis of quantitative
683 trait loci and major-effect causative mutations affecting meat quality and carcass composition traits in pigs. BMC Genetics **12**,
684 76 (2011). doi:10.1186/1471-2156-12-76
685 21. Hérault, F., Damon, M., Cherel, P., Le Roy, P.: Combined GWAS and LDLA approaches to improve genome-wide quantitative
686 trait loci detection affecting carcass and meat quality traits in pig. Meat Science **135**(Supplement C), 148–158 (2018).
687 doi:10.1016/j.meatsci.2017.09.015
688 22. Damon, M., Hérault, F., Vincent, A., Roy, P.L., Cherel, P.: Characterization of a pig skeletal muscle microarray to study pork
689 quality: The GenmascqChip 15K. Nature Precedings (713) (2011). doi:10.1038/npre.2011.5730.1
690 23. Ramos, A.M., Crooijmans, R.P.M.A., Affara, N.A., Amaral, A.J., Archibald, A.L., Beever, J.E., Bendixen, C., Churcher, C.,
691 Clark, R., Dehais, P., Hansen, M.S., Hedegaard, J., Hu, Z.-L., Kerstens, H.H., Law, A.S., Megens, H.-J., Milan, D., Nonneman,
692 D.J., Rohrer, G.A., Rothschild, M.F., Smith, T.P.L., Schnabel, R.D., Tassell, C.P.V., Taylor, J.F., Wiedmann, R.T., Schook,

693 L.B., Groenen, M.A.M.: Design of a High Density SNP Genotyping Assay in the Pig Using SNPs Identified and Characterized
694 by Next Generation Sequencing Technology. PLOS ONE **4**(8), 6524 (2009). doi:10.1371/journal.pone.0006524
695 24. Durinck, S., Moreau, Y., Kasprzyk, A., Davis, S., De Moor, B., Brazma, A., Huber, W.: BioMart and Bioconductor: A powerful
696 link between biological databases and microarray data analysis. Bioinformatics **21**(16), 3439–3440 (2005).
697 doi:10.1093/bioinformatics/bti525
698 25. Durinck, S., Spellman, P.T., Birney, E., Huber, W.: Mapping identifiers for the integration of genomic datasets with the
699 R/Bioconductor package biomaRt. Nature Protocols **4**(8), 1184–1191 (2009). doi:10.1038/nprot.2009.97
700 26. Knecht, D., Duziński, K., Jankowska-Makosa, A.: Pork ham and belly quality can be estimated from loin quality measurements?
701 Meat Science **145**, 144–149 (2018). doi:10.1016/j.meatsci.2018.06.025
702 27. Gold, L.I., Eggleton, P., Sweetwyne, M.T., Van Duyn, L.B., Greives, M.R., Naylor, S.-M., Michalak, M., Murphy-Ullrich, J.E.:
703 Calreticulin: Non-endoplasmic reticulum functions in physiology and disease. The FASEB Journal **24**(3), 665–683 (2009).
704 doi:10.1096/fj.09-145482
705 28. Nanney, L.B., Woodrell, C.D., Greives, M.R., Cardwell, N.L., Pollins, A.C., Bancroft, T.A., Chesser, A., Michalak, M., Rahman,
706 M., Siebert, J.W., Gold, L.I.: Calreticulin enhances porcine wound repair by diverse biological effects. The American Journal of
707 Pathology **173**(3), 610–630 (2008). doi:10.2353/ajpath.2008.071027
708 29. Hérault, F., Vincent, A., Dameron, O., Roy, P.L., Cherel, P., Damon, M.: The Longissimus and Semimembranosus Muscles
709 Display Marked Differences in Their Gene Expression Profiles in Pig. PLOS ONE **9**(5), 96491 (2014).
710 doi:10.1371/journal.pone.0096491
711 30. González-Prendes, R., Quintanilla, R., Mármol-Sánchez, E., Pena, R.N., Ballester, M., Cardoso, T.F., Manunza, A., Casellas,
712 J., Cánovas, Á., Díaz, I., Noguera, J.L., Castelló, A., Mercadé, A., Amills, M.: Comparing the mRNA expression profile and the
713 genetic determinism of intramuscular fat traits in the porcine gluteus medius and longissimus dorsi muscles. BMC Genomics
714 **20**(1), 170 (2019). doi:10.1186/s12864-019-5557-9
715 31. Essén-Gustavsson, B., Fjelkner-Modig, S.: Skeletal muscle characteristics in different breeds of pigs in relation to sensory
716 properties of meat. Meat Science **13**(1), 33–47 (1985). doi:10.1016/S0309-1740(85)80003-6
717 32. Laborde, D., Talmant, A., Monin, G., Dauzat, R., Gardette, J.F., Vernin, P.: Activités enzymatiques métaboliques et
718 contractiles de 30 muscles du Porc. Relations avec le pH ultime atteint après la mort. Reproduction Nutrition Développement
719 **25**(4A), 619–628 (1985). doi:10.1051/rnd:19850503
720 33. Melody, J.L., Lonergan, S.M., Rowe, L.J., Huiatt, T.W., Mayes, M.S., Huff-Lonergan, E.: Early postmortem biochemical factors
721 influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles. Journal of Animal Science **82**(4), 1195–1205 (2004).
722 doi:10.2527/2004.8241195x
723 34. Monin, G., Mejenes-Quijano, A., Talmant, A., Sellier, P.: Influence of breed and muscle metabolic type on muscle glycolytic
724 potential and meat pH in pigs. Meat Science **20**(2), 149–158 (1987). doi:10.1016/0309-1740(87)90034-9
725 35. Gallardo, D., Pena, R.N., Quintanilla, R., Ramírez, O., Almuzara, D., Noguera, J.L., Amills, M.: Quantitative trait loci analysis
726 of a Duroc commercial population highlights differences in the genetic determination of meat quality traits at two different
727 muscles. Animal Genetics **43**(6), 800–804 (2012). doi:10.1111/j.1365-2052.2012.02333.x
728 36. Garcia-Gámez, E., Gutiérrez-Gil, B., Suarez-Vega, A., de la Fuente, L.F., Arranz, J.J.: Identification of quantitative trait loci
729 underlying milk traits in Spanish dairy sheep using linkage plus combined linkage disequilibrium and linkage analysis approaches.
730 Journal of Dairy Science **96**(9), 6059–6069 (2013). doi:10.3168/jds.2013-6824
731 37. Ma, J., Yang, J., Zhou, L., Zhang, Z., Ma, H., Xie, X., Zhang, F., Xiong, X., Cui, L., Yang, H., Liu, X., Duan, Y., Xiao, S., Ai,
732 H., Ren, J., Huang, L.: Genome-Wide Association Study of Meat Quality Traits in a White Duroc×Erhualian F2 Intercross and
733 Chinese Sutai Pigs. PLOS ONE **8**(5), 64047 (2013). doi:10.1371/journal.pone.0064047
734 38. Müller, B.U., Stich, B., Piepho, H.-P.: A general method for controlling the genome-wide type I error rate in linkage and
735 association mapping experiments in plants. Heredity **106**(5), 825–831 (2011). doi:10.1038/hdy.2010.125
736 39. Legarra, A., Croiseau, P., Sanchez, M.P., Teyssèdre, S., Sallé, G., Allais, S., Fritz, S., Moreno, C.R., Ricard, A., Elsen, J.-M.: A
737 comparison of methods for whole-genome QTL mapping using dense markers in four livestock species. Genetics Selection
738 Evolution **47**(1), 6 (2015). doi:10.1186/s12711-015-0087-7
739 40. Drag, M., Hansen, M.B., Kadarmideen, H.N.: Systems genomics study reveals expression quantitative trait loci, regulator genes
740 and pathways associated with boar taint in pigs. PLOS ONE **13**(2), 0192673 (2018). doi:10.1371/journal.pone.0192673
741 41. Ponsuksili, S., Siengdee, P., Du, Y., Trakooljul, N., Murani, E., Schwerin, M., Wimmers, K.: Identification of Common
742 Regulators of Genes in Co-Expression Networks Affecting Muscle and Meat Properties. PLOS ONE **10**(4), 0123678 (2015).
743 doi:10.1371/journal.pone.0123678

42. Cánovas, A., Pena, R.N., Gallardo, D., Ramírez, O., Amills, M., Quintanilla, R.: Segregation of Regulatory Polymorphisms with Effects on the Gluteus Medius Transcriptome in a Purebred Pig Population. PLoS ONE **7**(4) (2012). doi:10.1371/journal.pone.0035583
43. Liaubet, L., Lobjois, V., Faraut, T., Tircazes, A., Benne, F., Iannuccelli, N., Pires, J., Glénisson, J., Robic, A., Le Roy, P., SanCristobal, M., Cherel, P.: 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 (2011). doi:10.1186/1471-2164-12-548
44. Velez-Irizarry, D., Casiro, S., Daza, K.R., Bates, R.O., Raney, N.E., Steibel, J.P., Ernst, C.W.: Genetic control of longissimus dorsi muscle gene expression variation and joint analysis with phenotypic quantitative trait loci in pigs. BMC Genomics **20**(1), 3 (2019). doi:10.1186/s12864-018-5386-2
45. Pérez-Enciso, M.: In Silico Study of Transcriptome Genetic Variation in Outbred Populations. Genetics **166**(1), 547–554 (2004). doi:10.1534/genetics.166.1.547
46. Wang, S., Zheng, T., Wang, Y.: Transcription activity hot spot, is it real or an artifact? BMC Proceedings **1**(Suppl 1), 94 (2007)
47. Mo, X.Y., Lan, J., Jiao, Q.Z., Xiong, Y.Z., Zuo, B., Li, F.E., Xu, D.Q., Lei, M.G.: Molecular characterization, expression pattern and association analysis of the porcine BTG2 gene. Molecular Biology Reports **38**(7), 4389–4396 (2011). doi:10.1007/s11033-010-0566-4
48. Sasaki, Y., Nagai, K., Nagata, Y., Doronbekov, K., Nishimura, S., Yoshioka, S., Fujita, T., Shiga, K., Miyake, T., Taniguchi, Y., Yamada, T.: Exploration of genes showing intramuscular fat deposition-associated expression changes in musculus longissimus muscle. Animal Genetics **37**(1), 40–46 (2006). doi:10.1111/j.1365-2052.2005.01380.x
49. Kim, S., Hong, J.-W., Park, K.W.: B cell translocation gene 2 (Btg2) is regulated by Stat3 signaling and inhibits adipocyte differentiation. Molecular and Cellular Biochemistry **413**(1-2), 145–153 (2016). doi:10.1007/s11010-015-2648-z
50. Wang, G., Zhou, H., Gong, H., He, J., Luo, Y., Hickford, J.G.H., Hu, J., Wang, J., Liu, X., Li, S.: Variation in the Lipin 1 Gene Is Associated with Birth Weight and Selected Carcass Traits in New Zealand Romney Sheep. Animals **10**(2), 237 (2020). doi:10.3390/ani10020237
51. Zhang, S.P., Li, S.Y., Chen, W., Lu, W.W., Huang, Y.Q.: A single-nucleotide polymorphism in the 3' untranslated region of the LPIN1 gene and association analysis with performance traits in chicken. British Poultry Science **54**(3), 312–318 (2013). doi:10.1080/00071668.2013.791383
52. Jama, A., Huang, D., Alshudukhi, A.A., Chrast, R., Ren, H.: Lipin1 is required for skeletal muscle development by regulating MEF2c and MyoD expression. The Journal of Physiology **597**(3), 889–901 (2019). doi:10.1113/JP276919
53. Sellers, R.S., Mahmood, S.R., Perumal, G.S., Macaluso, F.P., Kurland, I.J.: Phenotypic Modulation of Skeletal Muscle Fibers in LPIN1-Deficient Lipodystrophic (fld) Mice. Veterinary Pathology **56**(2), 322–331 (2019). doi:10.1177/0300985818809126
54. Mancini, R.A., Hunt, M.C.: Current research in meat color. Meat Science **71**(1), 100–121 (2005). doi:10.1016/j.meatsci.2005.03.003
55. Aaslyng, M.D.: 8 - Quality indicators for raw meat. In: Kerry, J., Kerry, J., Ledward, D. (eds.) Meat Processing. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, pp. 157–174. Woodhead Publishing, ??? (2002)
56. Huff-Lonergan, E., Lonergan, S.M.: Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. Meat Science **71**(1), 194–204 (2005). doi:10.1016/j.meatsci.2005.04.022
57. Paredi, G., Raboni, S., Bendixen, E., de Almeida, A.M., Mozzarelli, A.: "Muscle to meat" molecular events and technological transformations: The proteomics insight. Journal of Proteomics **75**(14), 4275–4289 (2012). doi:10.1016/j.jprot.2012.04.011
58. Listrat, A., Lebret, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L., Picard, B., Bugeon, J.: How muscle structure and composition influence meat and flesh quality. Scientific World Journal **2016**, (2016). doi:10.1155/2016/3182746
59. Ouali, A., Herrera-Mendez, C.H., Coulis, G., Becila, S., Boudjellal, A., Aubry, L., Sentandreu, M.A.: Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. Meat Science **74**(1), 44–58 (2006). doi:10.1016/j.meatsci.2006.05.010
60. Miar, Y., Plastow, G.S., Moore, S.S., Manafiazar, G., Charagu, P., Kemp, R.A., Van Haandel, B., Huisman, A.E., Zhang, C.Y., McKay, R.M., Bruce, H.L., Wang, Z.: Genetic and phenotypic parameters for carcass and meat quality traits in commercial crossbred pigs. Journal of Animal Science **92**(7), 2869–2884 (2014). doi:10.2527/jas.2014-7685
61. van Wijk, H.J., Arts, D.J.G., Matthews, J.O., Webster, M., Ducro, B.J., Knol, E.F.: Genetic parameters for carcass composition and pork quality estimated in a commercial production chain. Journal of Animal Science **83**(2), 324–333 (2005). doi:10.2527/2005.832324x
62. Fujii, J., Otsu, K., Zorzato, F., de Leon, S., Khanna, V.K., Weiler, J.E., O'Brien, P.J., MacLennan, D.H.: Identification of a

mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. Science **253**(5018), 448–451 (1991). doi:10.1126/science.1862346

63. Salas, R.C.D., Mingala, C.N.: Genetic Factors Affecting Pork Quality: Halothane and Rendement Napole Genes. Animal Biotechnology **28**(2), 148–155 (2017). doi:10.1080/10495398.2016.1243550
64. MacLennan, D.H.: The genetic basis of malignant hyperthermia. Trends in Pharmacological Sciences **13**, 330–334 (1992). doi:10.1016/0165-6147(92)90101-B
65. Riazi, S., Kraeva, N., Hopkins, P.M.: Malignant Hyperthermia in the Post-Genomics Era: New Perspectives on an Old Concept. Anesthesiology **128**(1), 168–180 (2018). doi:10.1097/ALN.0000000000001878
66. Witoń, M., Różycki, M.: Polymorphism in troponin T gene (TNNT3) and its effect on gene expression level and production traits in pigs of selected breeds. Animal Science Papers and Reports **28**(1), 47–59 (2010)
67. Brunner, R.M., Srikanchai, T., Murani, E., Wimmers, K., Ponsuksili, S.: Genes with expression levels correlating to drip loss prove association of their polymorphism with water holding capacity of pork. Molecular Biology Reports **39**(1), 97–107 (2012). doi:10.1007/s11033-011-0714-5
68. Sevane, N., Armstrong, E., Wiener, P., Pong Wong, R., Dunner, S., GemQual Consortium: Polymorphisms in twelve candidate genes are associated with growth, muscle lipid profile and meat quality traits in eleven European cattle breeds. Molecular Biology Reports **41**(7), 4721–4731 (2014). doi:10.1007/s11033-014-3343-y
69. Muranaka, H., Hayashi, A., Minami, K., Kitajima, S., Kohno, S., Nishimoto, Y., Nagatani, N., Suzuki, M., Kulathunga, L.a.N., Sasaki, N., Okada, N., Matsuzaka, T., Shimano, H., Tada, H., Takahashi, C.: A distinct function of the retinoblastoma protein in the control of lipid composition identified by lipidomic profiling. Oncogenesis **6**(6), 350–350 (2017). doi:10.1038/oncsis.2017.51
70. GENCODE - Home Page. https://www.gencodegenes.org/
71. Harrow, J., Frankish, A., Gonzalez, J.M., Tapanari, E., Diekhans, M., Kokocinski, F., Aken, B.L., Barrell, D., Zadissa, A., Searle, S., Barnes, I., Bignell, A., Boychenko, V., Hunt, T., Kay, M., Mukherjee, G., Rajan, J., Despacio-Reyes, G., Saunders, G., Steward, C., Harte, R., Lin, M., Howald, C., Tanzer, A., Derrien, T., Chrast, J., Walters, N., Balasubramanian, S., Pei, B., Tress, M., Rodriguez, J.M., Ezkurdia, I., van Baren, J., Brent, M., Haussler, D., Kellis, M., Valencia, A., Reymond, A., Gerstein, M., Guigó, R., Hubbard, T.J.: GENCODE: The reference human genome annotation for The ENCODE Project. Genome Research **22**(9), 1760–1774 (2012). doi:10.1101/gr.135350.111
72. A Global Network - Functional Annotation of Animal Genomes (FAANG). https://www.faang.org/
73. FR-AgENCODE · Functional Annotation of Livestock Genomes. http://www.fragencode.org/
74. Foissac, S., Djebali, S., Munyard, K., Vialaneix, N., Rau, A., Muret, K., Esquerré, D., Zytnicki, M., Derrien, T., Bardou, P., Blanc, F., Cabau, C., Crisci, E., Dhorne-Pollet, S., Drouet, F., Faraut, T., Gonzalez, I., Goubil, A., Lacroix-Lamandé, S., Laurent, F., Marthey, S., Marti-Marimon, M., Momal-Leisenring, R., Mompart, F., Quéré, P., Robelin, D., Cristobal, M.S., Tosser-Klopp, G., Vincent-Naulleau, S., Fabre, S., Der Laan, M.-H.P.-V., Klopp, C., Tixier-Boichard, M., Acloque, H., Lagarrigue, S., Giuffra, E.: Multi-species annotation of transcriptome and chromatin structure in domesticated animals. BMC Biology **17**(1) (2019). doi:10.1186/s12915-019-0726-5
75. Iyer, M.K., Niknafs, Y.S., Malik, R., Singhal, U., Sahu, A., Hosono, Y., Barrette, T.R., Prensner, J.R., Evans, J.R., Zhao, S., Poliakov, A., Cao, X., Dhanasekaran, S.M., Wu, Y.-M., Robinson, D.R., Beer, D.G., Feng, F.Y., Iyer, H.K., Chinnaiyan, A.M.: The Landscape of Long Noncoding RNAs in the Human Transcriptome. Nature genetics **47**(3), 199–208 (2015). doi:10.1038/ng.3192
76. Li, A., Zhang, J., Zhou, Z., Wang, L., Liu, Y., Liu, Y.: ALDB: A Domestic-Animal Long Noncoding RNA Database. PLOS ONE **10**(4), 0124003 (2015). doi:10.1371/journal.pone.0124003
77. Zhao, Y., Li, H., Fang, S., Kang, Y., wu, W., Hao, Y., Li, Z., Bu, D., Sun, N., Zhang, M.Q., Chen, R.: NONCODE 2016: An informative and valuable data source of long non-coding RNAs. Nucleic Acids Research **44**(Database issue), 203–208 (2016). doi:10.1093/nar/gkv1252
78. Qin, T., Li, J., Zhang, K.-Q.: Structure, Regulation, and Function of Linear and Circular Long Non-Coding RNAs. Frontiers in Genetics **11** (2020). doi:10.3389/fgene.2020.00150
79. Kornfeld, J.-W., Brüning, J.C.: Regulation of metabolism by long, non-coding RNAs. Frontiers in Genetics **5** (2014). doi:10.3389/fgene.2014.00057
80. Sun, L., Goff, L.A., Trapnell, C., Alexander, R., Lo, K.A., Hacisuleyman, E., Sauvageau, M., Tazon-Vega, B., Kelley, D.R., Hendrickson, D.G., Yuan, B., Kellis, M., Lodish, H.F., Rinn, J.L.: Long noncoding RNAs regulate adipogenesis. Proceedings of the National Academy of Sciences **110**(9), 3387–3392 (2013). doi:10.1073/pnas.1222643110

81. Zhao, X.-Y., Lin, J.D.: Long Noncoding RNAs: A New Regulatory Code in Metabolic Control. Trends in Biochemical Sciences **40**(10), 586–596 (2015). doi:10.1016/j.tibs.2015.08.002
82. Huang, W., Zhang, X., Li, A., Xie, L., Miao, X.: Genome-wide analysis of mRNAs and lncRNAs of intramuscular fat related to lipid metabolism in two pig breeds. Cellular Physiology and Biochemistry **50**(6), 2406–2422 (2018). doi:10.1159/000495101
83. Li, L., Cheng, X., Chen, L., Li, J., Luo, W., Li, C.: Long Noncoding Ribonucleic Acid MSTRG.59589 Promotes Porcine Skeletal Muscle Satellite Cells Differentiation by Enhancing the Function of PALLD. Frontiers in Genetics **10** (2019). doi:10.3389/fgene.2019.01220
84. Liu, X., Liu, K., Shan, B., Wei, S., Li, D., Han, H., Wei, W., Chen, J., Liu, H., Zhang, L.: A genome-wide landscape of mRNAs, lncRNAs, and circRNAs during subcutaneous adipogenesis in pigs. Journal of Animal Science and Biotechnology **9**(1) (2018). doi:10.1186/s40104-018-0292-7
85. Wang, J., Ren, Q., Hua, L., Chen, J., Zhang, J., Bai, H., Li, H., Xu, B., Shi, Z., Cao, H., Xing, B., Bai, X.: Comprehensive Analysis of Differentially Expressed mRNA, lncRNA and circRNA and Their ceRNA Networks in the Longissimus Dorsi Muscle of Two Different Pig Breeds. International Journal of Molecular Sciences **20**(5) (2019). doi:10.3390/ijms20051107
86. Li, M., Sun, X., Cai, H., Sun, Y., Plath, M., Li, C., Lan, X., Lei, C., Lin, F., Bai, Y., Chen, H.: Long non-coding RNA ADNCR suppresses adipogenic differentiation by targeting miR-204. Biochimica et Biophysica Acta - Gene Regulatory Mechanisms **1859**(7), 871–882 (2016). doi:10.1016/j.bbagrm.2016.05.003
87. Cai, B., Li, Z., Ma, M., Wang, Z., Han, P., Abdalla, B.A., Nie, Q., Zhang, X.: LncRNA-Six1 encodes a micropeptide to activate Six1 in Cis and is involved in cell proliferation and muscle growth. Frontiers in Physiology **8**(APR) (2017). doi:10.3389/fphys.2017.00230
88. Zhang, M., Ma, X., Zhai, Y., Zhang, D., Sui, L., Li, W., Jiang, R., Han, R., Li, G., Li, Z., Wang, Y., Tian, Y., Kang, X., Sun, G.-R.: Comprehensive Transcriptome Analysis of lncRNAs Reveals the Role of lncAD in Chicken Intramuscular and Abdominal Adipogenesis. ACS Applied Materials and Interfaces (2020). doi:10.1021/acs.jafc.9b07405
89. Zhang, M., Li, F., Sun, J.-W., Li, D.-H., Li, W.-T., Jiang, R.-R., Li, Z.-J., Liu, X.-J., Han, R.-L., Li, G.-X., Wang, Y.-B., Tian, Y.-D., Kang, X.-T., Sun, G.-R.: LncRNA IMFNCR promotes intramuscular adipocyte differentiation by sponging miR-128-3p and miR-27b-3p. Frontiers in Genetics **10**(FEB) (2019). doi:10.3389/fgene.2019.00042
90. Bakhtiarizadeh, M.R., Salami, S.A.: Identification and Expression Analysis of Long Noncoding RNAs in Fat-Tail of Sheep Breeds. G3: Genes, Genomes, Genetics **9**(4), 1263–1276 (2019). doi:10.1534/g3.118.201014
91. Li, C.-Y., Li, X., Liu, Z., Ni, W., Zhang, X., Hazi, W., Ma, Q., Zhang, Y., Cao, Y., Qi, J., Yao, Y., Feng, L., Wang, D., Hou, X., Yu, S., Liu, L., Zhang, M., Hu, S.: Identification and characterization of long non-coding RNA in prenatal and postnatal skeletal muscle of sheep. Genomics **111**(2), 133–141 (2019). doi:10.1016/j.ygeno.2018.01.009
92. Ouyang, H., Wang, Z., Chen, X., Yu, J., Li, Z., Nie, Q.: Proteomic Analysis of Chicken Skeletal Muscle during Embryonic Development. Frontiers in Physiology **8** (2017). doi:10.3389/fphys.2017.00281
93. Cherel, P., Hérault, F., Vincent, A., Le Roy, P., Damon, M.: Genetic variability of transcript abundance in pig skeletal muscle at slaughter: Relationships with meat quality traits. Journal of Animal Science **90**(3), 699–708 (2012). doi:10.2527/jas.2011-4198
94. Hackstadt, A.J., Hess, A.M.: Filtering for increased power for microarray data analysis. BMC Bioinformatics **10**(1), 11 (2009). doi:10.1186/1471-2105-10-11
95. Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M.A.R., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P.I.W., Daly, M.J., Sham, P.C.: PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. The American Journal of Human Genetics **81**(3), 559–575 (2007). doi:10.1086/519795
96. "GWAS-Müller" Software. https://forge-dga.jouy.inra.fr/projects/ldmuller/files
97. BlupF90 Software – Animal Breeding and Genetics Group. http://nce.ads.uga.edu/software/
98. Aguilar, I., Tsuruta, S., Masuda, Y., Lourenco, D., Legarra, A., Misztal, I.: BLUPF90 suite of programs for animal breeding with focus on genomics. In: Proceedings of the World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, vol. Methods and Tools - Software. Auckland, New Zealand, p. 751 (2018)
99. Misztal, I., Tsuruta, S., Strabel, T., Auvray, B., Druet, T., Lee, D.H.: BLUPF90 AND RELATED PROGRAMS (BGF90). In: Proceedings of the World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, vol. 28. France: Montpellier, pp. 21–22 (2002)
100. QTLMap Software - Forge DGA. https://forge-dga.jouy.inra.fr/projects/qtlmap/files
101. Filangi, O., Moreno-Romieux, C., Gilbert, H., Legarra Albizu, A., Le Roy, P., Elsen, J.M.: QTLMap, a software for QTL detection in outbred populations. In: 9. World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Leipzig, France, p. (2010)
102. Legarra, A., Fernando, R.L.: Linear models for joint association and linkage QTL mapping. Genetics Selection Evolution **41**(1), 43 (2009). doi:10.1186/1297-9686-41-43

897 103. Lander, E.S., Botstein, D.: Mapping Mendelian Factors Underlying Quantitative Traits Using RFLP Linkage Maps. Genetics
898 **121**(1), 185–199 (1989)
899 104. Aken, B.L., Achuthan, P., Akanni, W., Amode, M.R., Bernsdorff, F., Bhai, J., Billis, K., Carvalho-Silva, D., Cummins, C.,
900 Clapham, P., Gil, L., Girón, C.G., Gordon, L., Hourlier, T., Hunt, S.E., Janacek, S.H., Juettemann, T., Keenan, S., Laird, M.R.,
901 Lavidas, I., Maurel, T., McLaren, W., Moore, B., Murphy, D.N., Nag, R., Newman, V., Nuhn, M., Ong, C.K., Parker, A.,
902 Patricio, M., Riat, H.S., Sheppard, D., Sparrow, H., Taylor, K., Thormann, A., Vullo, A., Walts, B., Wilder, S.P., Zadissa, A.,
903 Kostadima, M., Martin, F.J., Muffato, M., Perry, E., Ruffier, M., Staines, D.M., Trevanion, S.J., Cunningham, F., Yates, A.,
904 Zerbino, D.R., Flicek, P.: Ensembl 2017. Nucleic Acids Research **45**(D1), 635–642 (2017). doi:10.1093/nar/gkw1104
905 105. Ashburner, M., Ball, C.A., Blake, J.A., Botstein, D., Butler, H., Cherry, J.M., Davis, A.P., Dolinski, K., Dwight, S.S., Eppig,
906 J.T., Harris, M.A., Hill, D.P., Issel-Tarver, L., Kasarskis, A., Lewis, S., Matese, J.C., Richardson, J.E., Ringwald, M., Rubin,
907 G.M., Sherlock, G.: Gene Ontology: Tool for the unification of biology. Nature Genetics **25**(1), 25–29 (2000).
908 doi:10.1038/75556
909 106. {The Gene Ontology Consortium}: The Gene Ontology resource: Enriching a GOld mine. Nucleic Acids Research **49**(D1),
910 325–334 (2021). doi:10.1093/nar/gkaa1113
911 107. Liao, Y., Wang, J., Jaehnig, E.J., Shi, Z., Zhang, B.: WebGestalt 2019: Gene set analysis toolkit with revamped UIs and APIs.
912 Nucleic Acids Research **47**(W1), 199–205 (2019). doi:10.1093/nar/gkz401
913 108. Zhang, B., Kirov, S., Snoddy, J.: WebGestalt: An integrated system for exploring gene sets in various biological contexts.
914 Nucleic Acids Research **33**(Web Server issue), 741–748 (2005). doi:10.1093/nar/gki475

Bibliographie

P. Cherel, F. Hérault, A. Vincent, P. Le Roy et M. Damon : Genetic variability of transcript abundance in pig skeletal muscle at slaughter : Relationships with meat quality traits. *Journal of Animal Science*, 90(3):699–708, mars 2012. ISSN 0021-8812. URL https://academic.oup.com/jas/article/90/3/699/4764446. 239

W. Cookson, L. Liang, G. Abecasis, M. Moffatt et M. Lathrop : Mapping complex disease traits with global gene expression. *Nature reviews. Genetics*, 10(3):184–194, mars 2009. ISSN 1471-0056. URL https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4550035/. 239

O. Filangi, C. Moreno-Romieux, H. Gilbert, A. Legarra Albizu, P. Le Roy et J. M. Elsen : QTLMap, a software for QTL detection in outbred populations. *In 9. World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, p. np, Leipzig, France, août 2010. URL https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01193540. 240

F. Hérault, M. Damon, P. Cherel et P. Le Roy : Combined GWAS and LDLA approaches to improve genome-wide quantitative trait loci detection affecting carcass and meat quality traits in pig. *Meat Science*, 135(Supplement C):148–158, jan. 2018. ISSN 0309-1740. URL http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174017309646. 239

F. Hérault, A. Vincent, O. Dameron, P. L. Roy, P. Cherel et M. Damon : The Longissimus and Semimembranosus Muscles Display Marked Differences in Their Gene Expression Profiles in Pig. *PLOS ONE*, 9(5):e96491, mai 2014. ISSN 1932-6203. URL http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0096491. 240

Z.-L. Hu, S. Dracheva, W. Jang, D. Maglott, J. Bastiaansen, M. F. Rothschild et J. M. Reecy : A QTL resource and comparison tool for pigs : PigQTLDB. *Mammalian Genome*, 16(10):792–800, oct. 2005. ISSN 1432-1777. URL https://doi.org/10.1007/s00335-005-0060-9. 239

Z.-L. Hu, E. R. Fritz et J. M. Reecy : AnimalQTLdb : a livestock QTL database tool set for positional QTL information mining and beyond. *Nucleic Acids Research*, 35(Database issue):D604–D609, jan. 2007. ISSN 0305-1048. URL https://dx.doi.org/10.1093%2Fnar%2Fgkl946. 239

Z.-L. Hu, C. A. Park, X.-L. Wu et J. M. Reecy : Animal QTLdb : an improved database tool for livestock animal QTL/association data dissemination in the post-genome era. *Nucleic Acids Research*, 41(D1):D871–D879, jan.

2013. ISSN 0305-1048. URL https://doi.org/10.1093/nar/gks1150. tex.ids= hu_AnimalQTLdbImprovedDatabaseToolLivestockAnimalQTLAssociation_2013a. 239

Z.-L. Hu et J. M. Reecy : Animal QTLdb : beyond a repository. *Mammalian Genome*, 18(1):1–4, jan. 2007. ISSN 1432-1777. URL https://doi.org/10.1007/s00335-006-0105-8. tex.ids= hu_AnimalQTLdbRepositoryPublicPlatformQTLComparisonsIntegrationDiverse_2007, hu_AnimalQTLdbRepository_2007a institution : Springer number : 1 publisher : Springer-Verlag. 239

H. N. Kadarmideen, P. von Rohr et L. L. Janss : From genetical genomics to systems genetics : potential applications in quantitative genomics and animal breeding. *Mammalian Genome*, 17(6):548–564, juin 2006. ISSN 1432-1777. URL https://doi.org/10.1007/s00335-005-0169-x. 239

A. Legarra et R. L. Fernando : Linear models for joint association and linkage QTL mapping. *Genetics Selection Evolution*, 41(1):43, sept. 2009. ISSN 1297-9686. URL https://doi.org/10.1186/1297-9686-41-43. 240

I. Misztal, S. Tsuruta, T. Strabel, B. Auvray, T. Druet et D. H. Lee : BLUPF90 AND RELATED PROGRAMS (BGF90). *In Proceedings of the World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, vol. 28, p. 21–22, France : Montpellier, 2002. 240

B. U. Müller, B. Stich et H.-P. Piepho : A general method for controlling the genome-wide type I error rate in linkage and association mapping experiments in plants. *Heredity*, 106(5):825–831, mai 2011. ISSN 1365-2540. URL https://www.nature.com/articles/hdy2010125. 240

H. Muranaka, A. Hayashi, K. Minami, S. Kitajima, S. Kohno, Y. Nishimoto, N. Nagatani, M. Suzuki, L. a. N. Kulathunga, N. Sasaki, N. Okada, T. Matsuzaka, H. Shimano, H. Tada et C. Takahashi : A distinct function of the retinoblastoma protein in the control of lipid composition identified by lipidomic profiling. *Oncogenesis*, 6(6):e350–e350, 2017. ISSN 2157-9024. URL https://www.nature.com/articles/oncsis201751. 241

A. Ricard, O. Filangi et J. M. Elsen : GWAS Muller - Guide de l'utilisateur, 2013. 240

M. V. Rockman et L. Kruglyak : Genetics of global gene expression. *Nature Reviews Genetics*, 7(11):862–872, nov. 2006. ISSN 1471-0064. URL https://www.nature.com/articles/nrg1964. 239

M. F. W. te Pas, O. Madsen, M. P. L. Calus et M. A. Smits : The Importance of Endophenotypes to Evaluate the Relationship between Genotype and External Phenotype. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2):472, fév. 2017. URL http://www.mdpi.com/1422-0067/18/2/472. 239

M. L. Wayne et L. M. McIntyre : Combining mapping and arraying : An approach to candidate gene identification. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(23):14903–14906, nov. 2002. ISSN 0027-8424, 1091-6490. URL https://www.pnas.org/content/99/23/14903. 239

CHAPITRE 11

Discussion générale

Sommaire

11.1 Des transcriptomes musculaires très différenciés 277
11.2 L'utilisation de phénotypes intermédiaires ou endophénotypes . . 280
11.3 La cartographie génétique de QTL 281
11.4 Une meilleure connaissance des gènes impliqués 284
11.5 Vers toujours plus d'information 285
11.6 La difficile identification du polymorphisme causal 287
Bibliographie 290

Figures

11.1 Différence de significativité des tests d'hypothèse dans les analyses GWAS et LDLA. 283
11.2 Représentation des effets possibles des variants en fonction de leur localisation dans la structure génomique. 289

La qualité de la viande est une préoccupation importante pour le consommateur, qu'il soit un consommateur occasionnel ou régulier. Cette préoccupation est également importante pour la filière porcine qui, au milieu des années 80, s'est fixé pour objectif de stabiliser la qualité des viandes de manière à la maintenir à un niveau acceptable. Ceci s'est fait, pour les trois races en sélection collective (LW, LF et PI), en incluant dans l'objectif de sélection un indice composite, l'IQV, qui est une combinaison prenant en compte le pHu, le L* et le PRE. La mise en place de cet indice a permis, parallèlement au maintien des objectifs d'amélioration des caractères liés à la croissance ou à la composition de carcasse, de stabiliser, ou pour le moins de limiter, la dégradation des caractères de qualité des viandes au sein de ces populations (Bidanel *et al.*, 2020; {Institut Technique du Porc}, 2003; Renand *et al.*, 2003).

L'amélioration de la qualité de la viande par la sélection est cependant un objectif plus complexe à atteindre que l'amélioration de la qualité de carcasse. D'une part, le poids des critères de production dans les objectifs de sélection est toujours important, ces deux objectifs (amélioration des rendements de carcasse et amélioration de la qualité des viandes) étant antagonistes (Ciobanu *et al.*, 2011; Tribout *et al.*, 1996). D'autre part, les mesures phénotypiques utilisées pour estimer la qualité des viandes (pH, couleur et PRE principalement) sont indirectes. Ces mesures ne pouvant être effectuées que *post-mortem*, les caractères associés à la qualité des viandes sont des caractères difficiles à améliorer par les méthodes de sélection traditionnelles basées sur le modèle d'effet polygénique additif infinitésimal utilisant les index de valeur génétique des animaux (Dekkers et Hospital, 2002; Gao *et al.*, 2007). En effet, le phénotypage des individus n'étant réalisable qu'après la mise à mort des animaux, l'évaluation de la valeur génétique des candidats à la sélection ne peut s'effectuer que par un contrôle de performance réalisé sur des collatéraux des candidats à la sélection, ce qui impacte négativement la précision de l'évaluation et donc le gain génétique (Falconer et Mackay, 1996; Jussiau *et al.*, 2013).

L'obtention d'un progrès génétique par sélection est cependant possible. Deux voies, non-exclusives, sont possibles. La première consiste à identifier de nouveaux prédicteurs de la qualité des viandes (biomarqueurs), mesurables *in vivo*, qui devraient permettre d'améliorer notablement la précision des évaluations génétiques des candidats à la sélection et *in fine* la réponse à la sélection. La deuxième voie d'amélioration consiste en l'identification de marqueurs génétiques associés à la qualité des viandes. Lorsque de tels *loci* sont identifiés, ils rendent possible la sélection des reproducteurs sur simple typage génétique des animaux. L'identification et l'utilisation de ces *loci* en sélection permettrait, un gain de progrès génétique substantiel (Chevalet et Boichard, 1992; Ciobanu *et al.*, 2011; Elsen, 2011, 2000; Renand *et al.*, 2003) par la fixation de génotype favorable ou l'élimination de génotype défavorable. Cette deuxième solution a déjà donné d'excellents résultats concernant les défauts de qualité associés aux viandes acides et à la viande PSE avec le contrôle des gènes majeurs « HAL » et « RN ».

En s'appuyant sur des données génétiques et expressionnelles, les travaux présentés dans ce document s'inscrivent dans cette démarche d'identification de nouveaux outils pour l'amélioration génétique de la qualité des viandes de porc.

11.1 Des transcriptomes musculaires très différenciés

Il existe trois types de débouchés possibles pour la viande de porc. La vente de produits frais dont le produit phare est la longe, et la vente de produits transformés cuits ou secs dont les produits vedettes sont le jambon de Paris et le jambon sec. Les qualités attendues pour ces différents débouchés varient de l'un à l'autre. Si une viande de bonne qualité se prête à tout type de débouché, une viande de qualité médiocre de type DFD ou PSE ne peut être valorisée que dans certaines filières. Ainsi, si on attend d'un produit découpé et vendu frais qu'il ne soit

pas suintant (perte en eau à la surface de la viande) ou bicolore, les produits transformés cuits ne doivent pas perdre d'eau à la cuisson (perte de rendement de transformation) et les pièces destinées à la transformation en produits secs doivent pouvoir être salées facilement pour ne pas risquer de développements bactériens. Cette facilité de salaison dépend elle aussi du pouvoir de rétention en eau des viandes. Une viande de type DFD qui a un fort pouvoir de rétention en eau sera plus difficile à saler et à sécher et sera plus facilement sujette à un développement bactérien qu'une viande de bonne qualité.

La qualité des viandes dépend de la composition du tissu musculaire (proportion des différents types de fibres), mais également de la réponse des animaux aux nombreux facteurs environnementaux auxquels ils sont confrontés (mode d'élevage et d'alimentation, conditions *peri-mortem*). Les deux muscles fournissant les principales pièces de découpe sont le LM qui représente la filière « viandes fraîches » et le SM qui représente la filière des produits transformés cuits ou secs. Ces deux muscles, proches physiologiquement, sont tous deux classés comme des muscles blancs à contraction rapide et considérés comme semblables (Hornshøj *et al.*, 2007). Cependant, ces deux muscles diffèrent l'un de l'autre en matière de composition en fibres musculaires et de métabolisme énergétique (Laborde *et al.*, 1985; Melody *et al.*, 2004). Ces différences, ainsi que les différents rôles anatomiques de ces deux muscles, peuvent avoir un impact sur le développement des caractéristiques qualitatives de la viande. Dans la majorité des études transcriptomiques relatives à la qualité des viandes, seul le LM est pris en considération partant sans doute du postulat que la définition et l'estimation de la qualité de la viande dans le LM pouvait se transposer à l'ensemble des produits issus d'un animal. Or la variabilité des niveaux d'expression génique entre ces deux muscles peut affecter le développement musculaire et la qualité des produits. Notre première étude s'est donc intéressée à caractériser le transcriptome *post-mortem* de ces deux muscles afin de mieux juger de leurs différences ou de leurs proximités.

L'utilisation de données transcriptomiques issues de la puce Agilent « GenmascqChip 15K », qui représente 9169 gènes exprimés dans le muscle, nous a permis de mettre en évidence 3823 gènes différentiellement (DEG) exprimés entre ces deux muscles. Ce résultat était d'autant plus surprenant qu'il semblait en contradiction avec différentes études disponibles au moment de la publication de notre article. Ainsi, bien que présentant des contrastes importants, la comparaison du transcriptome de muscles rouges à contraction lente et de muscles blancs à contraction rapide chez le porc (Li *et al.*, 2010), les bovins (Moreno-Sánchez *et al.*, 2010) ou bien chez la souris (Campbell *et al.*, 2001), a conduit à l'obtention de listes de DEG beaucoup moins longue que ce que nous avons mis en évidence. Dans leur étude chez le porc Li *et al.* (2010) identifient 550 DEG à l'aide d'une puce ADNc comportant plus de 20 000 gènes, tandis que Moreno-Sánchez *et al.* (2010) ont identifié 84 DEG en utilisant une puce bovine comportant 17 618 gènes et que Campbell *et al.* (2001) ont mis en évidence 49 DEG en utilisant un support comportant les séquences de plus de 6 000 gènes ou EST. Par ailleurs, dans une étude comparant le transcriptome porcin de 23 tissus Hornshøj *et al.* (2007) ont décrit les profils transcriptomiques du LM et du SM comme étant très similaires.

Dans les études citées, le faible nombre d'individus utilisés pour mettre en évidence le différentiel d'expression (de 3 à 20 individus), ainsi que le choix de faire un pool d'échantillons dans les études conduites par Campbell *et al.* (2001) et Hornshøj *et al.* (2007) ont conduit à limiter, voire à supprimer, toute variabilité inter-individuelle et a moyenner le niveau d'expression des gènes dans chaque tissu conduisant à une puissance moins importante des tests. Dans une étude comparant les profils d'expression musculaire d'hommes et de femmes, Stretch *et al.* (2013) ont ainsi montré l'impact important de la taille du dispositif expérimental sur le nombre et le rang des DEG identifiés au cours des analyses. Ainsi, le simple fait de passer de 134 individus (69 hommes et 65 femmes) à 120 individus (60 hommes et 60 femmes) fait

drastiquement chuter le nombre de DEG de 717 à 47 et l'utilisation d'un nombre encore plus restreint d'individus (5 hommes et 5 femmes) n'a pas permis d'identifier aucun DEG.

Dans l'étude de Hornshøj *et al.* (2007) la comparaison des profils d'expression de 23 tissus conduit à regrouper les transcriptomes de neuf muscles différents dans un seul cluster. Cette étude souligne par ailleurs la très grande similarité qui existe entre les profils des muscles LM et SM. Si, la comparaison des profils transcriptomiques de 23 tissus conduisent à regrouper dans un même cluster l'ensemble des muscles analysés, et que parmi ceux-ci le LM et le SM partagent le plus grand nombre de termes enrichis, cela n'est pas en contradiction avec nos résultats. En effet, nos résultats ne remettent pas en cause la plus grande proximité des muscles SM et LM par rapport aux autres muscles ou tissus, mais soulignent, en se basant sur un dispositif comportant 90 individus pour lesquels nous avions des échantillons de LM et de SM, des différences marquées d'expression géniques entre ces deux muscles.

Outre des différences relatives au métabolisme énergétique, différences en cohérence avec le fonctionnement métabolique de ces deux muscles, l'analyse fonctionnelle réalisée dans notre étude a permis de mettre en évidence une activité myogénique plus importante dans le SM que dans le LM. Cette activité myogénique, qui se caractérise entre autres par une expression plus importante de gènes impliqués dans l'activation de cellules satellites, la différenciation des cellules précurseurs en cellules musculaires et leur fusion en sarcomères, s'accompagne de la surexpression dans le SM de gènes impliqué dans les processus de régénération musculaire. Dans leur étude comparant les muscles *Psoas major* (PM), situé dans le flanc de l'animal, et *Flexor digitorum* (FD), situé dans la jambe de l'animal, Moreno-Sánchez *et al.* (2010) ont également montré une représentation plus importante de gènes impliqués dans le développement musculaire et la régénération musculaire dans le FD que dans le PM. De manière intéressante, le FD, comme le SM, est un muscle situé dans la jambe. Ils sont de ce fait impliqués dans la locomotion des individus et donc physiologiquement plus actifs et sans doute sujet à un plus grand nombre de micro-lésions que les muscles LM ou PM localisés sur le dos ou sur le flanc de l'animal. L'expression plus importante de ces gènes dans les muscles locomoteurs pourrait alors être due au maintien de l'architecture et de l'activité musculaire de ces muscles.

Notre étude a donc mis en évidence une différence marquée dans l'expression des gènes impliqués dans les processus myogéniques et suggère une activité myogénique post-natale plus importante dans le SM que dans le LM. Toutefois, il est impossible d'après nos résultats d'indiquer s'il s'agit d'une activité résultant d'une différence de maturité entre les deux muscles et/ou de processus de régénération musculaire consécutifs aux activités musculaires plus intenses des muscles locomoteurs. Quoiqu'il en soit, ces différences d'expression génique sont à même d'influencer le développement musculaire et par là même la qualité des viandes qui en découle partiellement. Ces résultats sont donc à prendre en considération lors des analyses visant à mieux comprendre les processus génétiques à l'origine du déterminisme de la qualité des viandes. Cette préconisation va dans le même sens que les résultats publiés par Knecht *et al.* (2018) (2018) dans une étude questionnant la prédictibilité de la qualité du jambon ou de l'épaule à partir des mesures de qualité de la longe. Dans cette étude, les auteurs concluent qu'une estimation de la qualité du jambon ou de l'épaule par des mesures faites sur la longe sont sujettes à un grand manque de précision et qu'une bonne qualité de la longe ne se traduit pas systématiquement par une bonne qualité de jambon, même si les mesures faites sur la longe peuvent être une source d'information.

11.2 L'utilisation de phénotypes intermédiaires ou endophénotypes

Dans le cadre des travaux présentés, les données transcriptomiques ont été utilisées afin de caractériser les processus biologiques différenciant le LM du SM et de mieux appréhender les voies métaboliques impliquées dans les mécanismes biologiques responsables du développement des qualités des viandes.

L'analyse de phénotypes intermédiaires ou endophénotypes, tels que le transcriptome, permet par un changement d'échelle d'étudier la variabilité des caractères au niveau cellulaire. En apportant une information au niveau moléculaire, l'analyse du transcriptome permet de compléter notre connaissance des processus en jeu dans la mise en place des caractères complexes.

Le niveau d'expression des gènes est variable d'un individu à l'autre. Cette variabilité inter-individuelle dépend de l'existence de variants génétiques. Une corrélation génétique entre ce phénotype intermédiaire et un caractère complexe traduit soit un déséquilibre de liaison entre le polymorphisme causant la variabilité du caractère complexe et le polymorphisme responsable de la variabilité de l'expression génique, soit un effet pleiotropique d'un seul *locus* agissant sur ces deux caractères (Cookson *et al.*, 2009; Rockman et Kruglyak, 2006). L'analyse du déterminisme génétique de la variabilité du niveau d'expression des gènes et l'identification de eQTL permettent ainsi d'aborder les mécanismes moléculaires sous-jacents aux caractères complexes étudiés. La mise en évidence d'une co-localisation de QTL phénotypiques et de eQTL est donc une clé pour explorer les réseaux de régulations géniques contribuant à l'élaboration des phénotypes complexes, et d'autre part pour l'identification de régulateurs communs (Kadarmideen *et al.*, 2006; te Pas *et al.*, 2017; Wayne et McIntyre, 2002).

Outre le transcriptome, le protéome, qui se réfère à la quantité de protéines, ou le métabolome, qui se réfère à la quantité de métabolites présents dans les tissus cibles, sont également des sources d'informations infra-cellulaire. Ces données complémentaires permettent d'élargir notre connaissance des processus en jeu dans la mise en place des caractères complexes. En effet, entre l'expression d'un gène et le caractère d'intérêt (observable au niveau de l'animal, de l'organe ou du tissu), un ensemble de processus biologiques prennent place impliquant diverses protéines et réactions biochimiques et produisant autant de métabolites eux-mêmes pouvant être impliqués dans des réactions intermédiaires avant de se traduire en phénotype mesurable. Ainsi, la quantification du niveau d'expression des gènes n'est qu'une vision partielle des événements biologiques conduisant au phénotype mesurable et cette vision ne préjuge en rien des différentes modifications post-traductionnelles que peuvent subir les produits des gènes (protéines) avant de pouvoir être actifs ou des vitesses et de l'efficacité des réactions biochimiques mises en jeu dans la transformation du muscle en viande et le développement de la qualité des viandes.

Parallèlement à une meilleure connaissance des mécanismes biologiques en jeu et à l'identification des variants génétiques responsables de la variabilité des phénotypes, l'identification de transcrits, de protéines ou de métabolites, impliqués dans ces processus constitue une source potentielle de nouveaux prédicteurs (biomarqueurs) des caractères complexes. Ceux-ci pourront alors être utilisés dans le cadre de l'amélioration génétique des animaux par la voie de la sélection.

L'efficacité de ces prédicteurs alternatifs en terme de sélection est dépendante de leur héritabilité et de leur corrélation génétique avec le caractère qu'ils doivent remplacer. Ainsi, selon Searle (1965), l'utilisation d'un prédicteur alternatif peut être bénéfique s'il répond à la spécification suivante : le produit de l'héritabilité h^{2}' du prédicteur de remplacement et de la corrélation génétique r_G entre le prédicteur de remplacement et le caractère que l'on souhaite remplacer doit être supérieur à l'héritabilité h^2 du caractère que l'on souhaite remplacer

(cf équation 11.1 - ci-dessous).

$$h^{2\prime} * r_G > h^2 \tag{11.1}$$

Équation 11.1 – $h^{2\prime}$ correspond à l'héritabilité du prédicteur de remplacement, r_G correspond à la corrélation génétique entre le prédicteur de remplacement et le caractère que l'on souhaite remplacer et h^2 est l'héritabilité du caractère que l'on souhaite remplacer.

En considérant que l'héritabilité des caractères associés à la qualité des viandes se situe à 0,25, un prédicteur alternatif devrait présenter une héritabilité au moins égale à 0,5 et une corrélation génétique au moins égale à 0,7 avec le caractère que l'on souhaite remplacer pour présenter un intérêt. L'analyse de la variabilité génétique des transcrits musculaires menée sur le LM a permis de mettre en évidence un nombre important de transcrits possédant ces caractéristiques et qui pourraient de fait remplacer des mesures telles que le pH45, la couleur de la viande (MCOLOR-a), la force de cisaillement de la viande cuite (SHEAR-cook) et les pertes en eau à la cuisson (COOKL). Les résultats obtenus laissent donc envisager la possibilité d'utiliser certaines mesures d'expression génique en sélection. L'utilisation de telles mesures effectuées post-mortem sur les collatéraux à la sélection en lieu et place des mesures physico-chimique actuelles pourrait permettre d'augmenter la précision des valeurs génétiques des candidats à la sélection.

Par ailleurs, si les fortes corrélations obtenues sur des mesures de l'expression génique *post-mortem* étaient validées *in vivo*, la précision des valeurs génétiques des candidats à la sélection serait alors grandement améliorée puisque les mesures pourraient alors être effectuées directement sur les candidats à la sélection et non plus sur leurs collatéraux (Falconer et Mackay, 1996; Jussiau *et al.*, 2013).

Ces conclusions s'étendent à tout phénotype complémentaire pouvant remplacer les mesures *post-mortems* de la qualité des viandes et inclus donc les mesures de protéines ou de métabolites. Cependant, les endophénotypes proposés ici sont issus de prélèvements musculaires et supposent donc la réalisation d'une biopsie musculaire sur le candidat à la sélection. En matière de bien-être animal, la biopsie est une pratique très invasive. Celle-ci gagnerait à être remplacée par un acte moins invasif tel que l'utilisation d'aiguille à micro-biopsie nécessitant une légère incision ou par un prélèvement sanguin, si des prédicteurs alternatifs pouvaient être identifiés dans le compartiment sanguin.

11.3 La cartographie génétique de QTL

Les analyses du déterminisme génétique de la variabilité des caractères, liés à la qualité des viandes ou au niveau d'expression des gènes dans les muscles LM et SM, ont été menées de manière conjointe en GWAS et en LDLA. Dans les deux approches l'hypothèse nulle correspondait à l'absence de QTL, soit à la position testée pour les GWAS, soit sur le chromosome pour l'approche LDLA. Dans un premier temps, seule la localisation correspondant à la statistique de test la plus élevée sur un chromosome a été considérée comme QTL. Dans un second temps, pour les analyses concernant les phénotypes « externes » associés à la qualité des viandes, l'hypothèse de l'existence d'un second QTL sur le chromosome a été testée lorsqu'une seconde région significative apparaissait sur le chromosome. Étant donné le nombre important de tests à réaliser pour les analyses du transcriptome, cette hypothèse de l'existence d'un second QTL sur le chromosome n'a pas été testée pour l'analyse du déterminisme génétique de la variabilité des niveaux de transcrits.

Ces deux approches ont conduit à des résultats différents mettant en avant un très faible recouvrement des QTL détectés. La comparaison des résultats obtenus pour les analyses GWAS et LDLA n'a permis de mettre en évidence que 2 QTL communs pour les analyses des phénotypes externes, 1 eQTL commun pour les analyses du transcriptome de LM et 16 eQTL communs pour le SM. Le nombre plus important de eQTL communs trouvés avec les données issues du SM va de paire avec le fait que les intervalles de confiance des eQTL trouvés pour ce muscle sont de plus grandes tailles. Malgré ce faible taux de recouvrement entre les deux approches, chacune d'entre elles nous a permis d'affiner la position de QTL précédemment identifiés et de mettre en évidence de nouveaux *loci*.

De telles différences de résultats entre les analyses d'association et les analyses de liaison conduites sur un même dispositif sont régulièrement observées et ont déjà été commentées (Gallardo *et al.*, 2012; Ma *et al.*, 2013; Muñoz *et al.*, 2013). Plusieurs raisons permettent d'expliquer de telles différences.

La première réside dans l'utilisation que ces approches font de l'information génétique disponible. Les analyses GWAS exploitent l'information génétique fournie au niveau populationnelle. Elles reposent sur l'utilisation d'un très grand nombre de marqueurs génétiques, garantissant un maillage suffisamment dense pour capturer tout le DL nécessaire à l'identification de marqueurs statistiquement associés au caractère d'intérêt. Les tests se font consécutivement sur l'ensemble des marqueurs disponibles en les considérant indépendants les uns des autres. L'approche LDLA de son côté permet de combiner à la fois l'information génétique au niveau de la population et l'information génétique fournie par la forte structuration familiale du dispositif expérimental. Cette approche permet ainsi de tirer avantage d'une forte densité de marqueurs en exploitant le DL populationnel, tout en prenant en compte l'information génétique intra-famille qui permet de suivre la ségrégation des allèles dans les familles dont l'un des deux parents est hétérozygote au QTL et de tenir compte de la forte structuration familiale induite par le dispositif expérimental dans les analyses d'associations. Ainsi, quand le QTL est localisé dans une région de faible DL, les analyses d'association perdent leur capacité à le détecter. D'un autre côté, si les fréquences alléliques du QTL ne sont pas suffisamment différentes chez les individus fondateurs (génération grand parentale), les analyses de liaison ne seront pas capables de détecter le QTL. Les deux approches utilisant différemment les informations génétiques disponibles dans le dispositif expérimental, quand l'une d'elle échoue à détecter un QTL, l'autre est plus à même de le faire.

Un deuxième point réside dans les hypothèses sur lesquelles sont basées ces approches. Les hypothèses de départ diffèrent d'une approche à l'autre. Pour les analyses GWAS, l'hypothèse nulle correspond à l'absence de QTL à la position du marqueur considéré, tandis que pour les analyses LDLA, l'hypothèse nulle correspond à l'absence de QTL sur le chromosome. Les seuils de rejet n'étant pas théoriques, mais issus de simulation, celles-ci peuvent conduire à des estimations de seuils différentes. Par ailleurs, le nombre de test effectué pour chaque approche est très différent, de l'ordre de 40 000 tests pour les GWAS (1 par marqueur) et 18 tests pour les LDLA (1 par chromosome). Cette différence induit une prise en compte différenciée du problème posé par la multiplicité des tests. Plusieurs approches ont été proposées pour tenir compte du problème généré par les tests multiples et contrôler le taux de faux positifs. Parmi les plus utilisées, notons les corrections de Bonferroni et de Benjamini et Hochberg qui s'appliquent à la correction de tests multiples indépendants. Cependant, étant donné la densité de marqueurs utilisée pour les GWAS, on peut difficilement considérer que les tests sont indépendants les uns des autres si l'on considère le DL existant entre marqueurs. Cette absence d'indépendance est rarement prise en compte et comporte un risque d'introduire des biais dans les résultats produits (Noble, 2009). Afin de prendre en compte la dépendance des marqueurs et la structuration des données, nous avons choisi d'utiliser la procédure proposée

par Müller *et al.* (2011). Cette approche permet d'adapter les seuils de rejet pour contrôler le taux de faux positifs en prenant en compte le DL local et la structuration de la population. Les différentes approches menées pour déterminer les seuils de rejet et contrôler le taux de faux positifs peuvent donc expliquer une partie des différences de résultats observées, comme l'illustre la figure 11.1 « Différence de significativité des tests d'hypothèse dans les analyses GWAS et LDLA » ci-dessous. Bien que non-significatif, le maximum de vraisemblance obtenu par l'analyse LDLA correspond exactement à la localisation du QTL détecté en GWAS. Enfin, comme souligné par Legarra *et al.* (2015) le fait que l'hypothèse nulle d'absence de QTL ne soit pas vraisemblable biologiquement parlant peut également affecter la détermination des seuils de rejet et la puissance des tests.

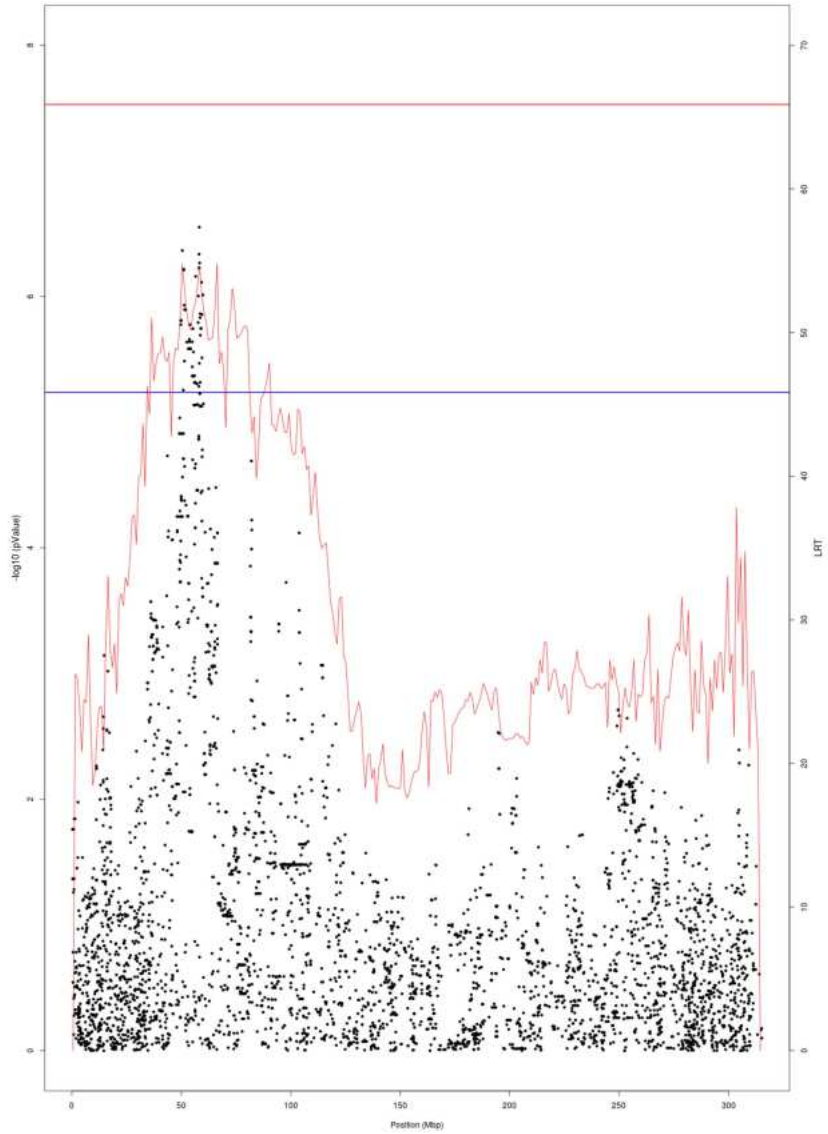


FIGURE 11.1 – **Différence de significativité des tests d'hypothèse dans les analyses GWAS et LDLA.** Cette figure représente un manhattan plot issu d'analyse GWAS en noir et le profil du maximum de vraisemblance d'analyse LDLA en rouge pour l'épaisseur de gras dorsal sur le chromosome 1. L'axe des ordonnées sur la gauche représente la valeur $log_{10}(p-Value)$ obtenue par GWAS et l'axe des ordonnées sur la droite représente la valeur du maximum de vraisemblance obtenue par l'analyse LDLA. L'axe des abscisses représente les positions sur le chromosome 1. La ligne bleue représente le seuil de rejet pour la GWAS et la ligne rouge le seuil de rejet pour l'analyse LDLA. (Hérault *et al.*, 2018)

Malgré les différences de résultats constatées entre les analyses GWAS et LDLA, Legarra

et al. (2015) estiment que les deux approches sont pertinentes pour la détection de QTL. L'ensemble des résultats que nous avons obtenus dans le cadre de ces travaux nous laisse suggérer, comme cela l'a été précédemment par Legarra *et al.* (2015) et Garcia-Gámez *et al.* (2013), que l'utilisation conjointe des analyses GWAS et LDLA est une opportunité pour obtenir un panorama plus large des différents QTL présents dans la population étudiée.

11.4 Une meilleure connaissance des gènes impliqués

L'identification de QTL a pour objectif comme son nom l'indique de détecter des régions du génome ou *loci* responsables de la variabilité d'un caractère quantitatif avec pour ligne de mire l'identification du polymorphisme causal. Dans la pratique, après avoir effectué une primo-localisation la liste des gènes présents dans le QTL est extraite des banques de données d'annotation des génomes de type Ensembl (https://www.ensembl.org/), NCBI genome data viewer (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv/) ou ucsc genome browser (http://genome.ucsc.edu/) puis les annotations fonctionnelles et la bibliographie associées à ces gènes sont exploitées afin d'identifier des gènes dits « gènes candidats positionnels et fonctionnels ». Cependant, cette seconde phase qui cherche à identifier des gènes candidats fonctionnels est grandement dépendante de l'état des connaissances et d'annotation des génomes (Andersson, 2001; Gao *et al.*, 2007; Mullen *et al.*, 2006; Zhu et Zhao, 2007). De manière plus générale, l'ensemble des informations complémentaires permettant d'identifier les « bons » gènes candidats et d'en réduire le nombre sont exploitées. Ainsi, les données d'expression de gènes font-elles parties de ces données qui participent à former un faisceau d'informations complémentaires permettant d'aboutir à une liste restreinte de gènes candidats. L'intégration de l'ensemble de ces données est une étape essentielle pour permettre de mieux comprendre la régulation des caractères complexes (te Pas *et al.*, 2017; Zhu et Zhao, 2007).

Outre le fait que l'identification de eQTL co-localisés au QTL de phénotype externe permet d'affiner la localisation du QTL et donc de restreindre le nombre de candidats positionnels, cette co-localisation permet également d'améliorer nos connaissances des processus biologiques en cause en identifiant des gènes dont l'expression est contrôlée, *a priori*, par le même *locus* que le phénotype d'intérêt. Parmi ces gènes, les gènes dont les annotations fonctionnelles sont en lien avec le phénotype étudié sont probablement impliqués dans les processus biologiques contribuant à la mise en place de ce phénotype.

Dans un premier temps, les travaux présentés ont pu mettre en évidence 26 gènes candidats positionnels et fonctionnels correspondant à 14 QTL. Parmi ceux-ci, 21 gènes impliqués dans la différenciation des cellules adipogéniques, dans le métabolisme des lipides, leur stockage ou leur transport, ont été identifiés dans des QTL relatifs à l'adiposité, 3 gènes impliqués dans la différenciation des cellules musculaires ont été localisés dans des QTL relatifs au taux de muscles des carcasses, enfin deux gènes impliqués dans les réserves énergétiques et catabolisme de l'hème ont été localisés dans des QTL relatifs au pH et au potenitel glycolytique pour le premier et à la couleur de la viande pour le second.

Dans un deuxième temps, l'utilisation des données d'expression de gènes pour l'identification de eQTL a permis, par co-localisation de ces eQTL avec les QTL de phénotypes externes, de réduire l'intervalle de localisation des QTL à la région commune entre eQTL et QTL. De manière surprenante et contre intuitive de prime abord, les résultats obtenus suggèrent que des gènes connus pour jouer un rôle dans les voies de la différenciation des cellules musculaires et le développement du tissu musculaire (*BTG2* et *VGLL2*) soient associés à des QTL gouvernant l'adiposité des carcasses et inversement que des gènes jouant un rôle dans le métabolisme des acides gras (*LPIN1* et *ZBTB16*) soient associés à des QTL régulant la muscularité des carcasses.

Cela étant, les liens de ces gènes avec ces caractères ont déjà été documentés. Ainsi, Kim *et al.* (2016), Mo *et al.* (2011) et Sasaki *et al.* (2006) ont montré l'implication de *BTG2* dans les processus adipogéniques et Jama *et al.* (2019), Sellers *et al.* (2019), Wang *et al.* (2020) et Zhang *et al.* (2013) ont documenté l'implication du gène *LPIN1* dans les processus de développement musculaire.

Dans la majorité des cas, l'analyse des gènes localisés dans ces régions communes n'a pas permis de mettre en évidence l'existence de gènes candidats positionnels et fonctionnels dans ces nouvelles régions. La redéfinition de ces régions a cependant mis en lumière la présence d'ARN non-codants et en particulier de lncRNA dont les rôles dans la régulation de l'expression génique et les processus biologiques liés à l'adiposité et le développement musculaire sont de plus en plus documentés (Bakhtiarizadeh et Salami, 2019; Cai *et al.*, 2017; Huang *et al.*, 2018; Kornfeld et Brüning, 2014; Li *et al.*, 2019a,b, 2016; Liu *et al.*, 2018; Ouyang *et al.*, 2017; Qin *et al.*, 2020; Sun *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2020, 2019; Zhao et Lin, 2015).

De manière intéressante, la localisation du QTL contrôlant l'épaisseur de muscle LM (LMDEP) situé sur le chromosome 11 entre 16,15 et 23,2 Mb a pu être affinée par la co-localisation des QTL d'expressions des gènes *LPIN1* et *ZBTB16* deux gènes impliqués dans le métabolisme des acides gras et la différenciation des cellules adipogéniques. La région nouvellement définie est ainsi passée de 7 Mb à 4,79 Mb. De manière intéressante, le gène *RB1* est localisé dans ce QTL. Ce gène impliqué dans la différenciation des cellules musculaires, et que nous avions identifié comme gène candidat positionnel et fonctionnel dans notre étude précédente, est aussi connu pour influencer le niveau d'expression du gène *LPIN1* (Muranaka *et al.*, 2017). L'ensemble de ces résultats fait du gène *RB1* un très bon gène candidat fonctionnel et positionnel pour la régulation de l'épaisseur de muscle de la longe.

L'utilisation de phénotypes intermédiaires tels que les niveaux d'expression des gènes, ainsi que l'utilisation d'information sur le contenu en gènes des génomes et l'annotation fonctionnelle des gènes, sont des clés pour avancer dans la connaissance des voies métaboliques impliquées dans le contrôle des caractères complexes et leur régulation. Dans les travaux présentés, ils nous ont permis de proposer une liste de gènes candidats fonctionnels, d'apporter des informations complémentaires sur les gènes associés à la mise en place de ces caractères complexes et d'ouvrir des pistes de réflexion quant aux systèmes complexes de régulations mis en jeu.

11.5 Vers toujours plus d'information

En utilisant des données transcriptomiques et génomiques issues de la puce Agilent ADNc « GenmascqChip 15K » (Damon *et al.*, 2011) et de la puce Illumina PorcineSNP60 BeadChip (Ramos *et al.*, 2009) nos analyses nous ont permis d'affiner la localisation de QTL connus et référencés dans la « Pig QTL database » (`https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/SS/index`) (Hu *et al.*, 2013, 2007; Hu et Reecy, 2007; Hu *et al.*, 2005), d'en identifier de nouveaux et de progresser dans notre connaissance des voies métaboliques contrôlant et régulant la mise en place de la qualité des viandes de porc. Ces analyses, réalisées au début des années 2010, ont utilisé ce qui était considéré à l'époque comme des outils d'analyse haut débit. Rappelons que la première séquence du génome porcin n'a été publiée que deux ans plus tard par le Swine Genome Sequencing Consortium (Groenen *et al.*, 2012).

Depuis, les technologies ont grandement évolué vers toujours plus d'information. Les technologies « omique », qui visent à caractériser et à quantifier un très grand nombre de molécules biologiques (ADN, ARN, protéines, métabolites) et qui ont pour objectif de permettre une description toujours plus fine des phénotypes et une meilleure compréhension de leur mise en place, ont ainsi permis un changement d'échelle dans les analyses réalisées.

Des puces ADNc au RNAseq Aux différentes puces ADNc utilisées pour quantifier l'expression de plusieurs milliers de gènes (Bai *et al.*, 2003; Bonnet *et al.*, 2008; Damon *et al.*, 2011; Tuggle *et al.*, 2007) ont succédé les approches par séquençage d'ARN (RNAseq). Ces approches d'analyse du transcriptome par RNAseq ont pu se développer grâce à l'avènement des nouvelles technologies de séquençage à très haut débit (NGS) induisant une baisse des coûts qui rendent ces analyses possibles sur un grand nombre d'échantillons pour un budget raisonnable. En 2019, (Summers *et al.*, 2020) ont ainsi répertorié plus de 900 librairies porcines de RNAseq déposées dans les archives publiques (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/).

En changeant de dimension, le passage des puces à ADNc (limitées aux seuls gènes ou EST identifiés) aux analyses d'expression basées sur le RNAseq permet d'obtenir, en théorie, une mesure du niveau d'expression de l'ensemble des gènes exprimés dans le tissu d'intérêt. Ce passage à la dimension « omique » permet donc d'envisager une meilleure compréhension des mécanismes responsables de la mise en place du phénotype et une identification plus fine des QTL responsables des variations phénotypiques étudiées. Par ailleurs, outre la quantification du niveau d'expression des gènes, les analyses basées sur le RNAseq donnent la possibilité d'accéder à d'autres niveaux d'information jusque-là inaccessibles. Tout d'abord, en plus de permettre la mesure du niveau d'expression au niveau des gènes, les données RNAseq nous donnent l'opportunité d'identifier et de quantifier le niveau d'expression des différentes isoformes d'ARNm produites. Cette quantification des différentes isoformes permet de rendre compte de l'épissage alternatif subit par les transcrit. Ensuite, les données obtenues par RNAseq permettent d'analyser l'expression allèle spécifique (ASE). Cette ASE traduit un biais d'expression allélique, biais correspondant au fait d'exprimer de manière préférentielle (pour un même gène) une forme allélique par rapport à une autre. Ces événements (épissage alternatif et ASE), qui contribuent à la complexité du génome des eucaryotes et aux variations des caractères complexes, peuvent ainsi être utilisés de manière conjointe pour étudier le déterminisme génétique des caractères complexes au travers de l'identification de splicingQTL ou isoform-specificQTL et de aseQTL et ainsi permettre l'identification de polymorphismes situés dans des éléments régulateurs (Chen *et al.*, 2011; Guillocheau *et al.*, 2019; Khansefid *et al.*, 2018; Leal-Gutiérrez *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2020; Sun et Hu, 2013).

Cependant, si le RNAseq permet une quantification en théorie exhaustive des ARN transcrits dans un tissu, l'exploitation de ces données et leur interprétation biologique est limitée par notre niveau de connaissance du génome et par la qualité des annotations de celui-ci. Malgré de nombreux programmes : GENCODE (https://www.gencodegenes.org/ (Harrow *et al.*, 2012), FANNG (https://www.faang.org/, fr-AGENCODE (http://www.fragencode.org/) (Foissac *et al.*, 2019), FANTOM (https://fantom.gsc.riken.jp/) (Forrest *et al.*, 2014) et travaux (Muret *et al.*, 2017; Summers *et al.*, 2020) ayant pour objectif l'amélioration de l'annotation des génomes, et bien que le niveau et la qualité de ces annotations progressent régulièrement, nous sommes encore loin d'une connaissance complète des gènes (codant et non-codant) et de leurs fonctions. Ainsi, si l'on se réfère aux seuls annotations concernant les gènes non-codants, seul 8 979 gènes non-codants dont 6 797 lncRNA sont répertoriés dans la version 11.1 de l'assemblage du génome porcin sur Ensembl (https://www.ensembl.org/Sus_scrofa/Info/Annotation, release 104 consulté le 5 octobre 2021), tandis que 23 982 gènes non-codants dont 16 896 lncRNA sont répertoriés dans la version GRCh38.p13 du génome humain (https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Info/Annotation, release 104 consulté le 5 octobre 2021). Le même écart existe avec l'annotation du génome de la poule qui répertorie 7 166 gènes non-codants dont 5 506 lncRNA (https://www.ensembl.org/Gallus_gallus/Info/Annotation, release 104 consulté le 5 octobre 2021) alors que plusieurs travaux ont identifié plus de 20 000 lncRNA dans cette espèce (Kuo *et al.*, 2017; Muret *et al.*, 2017). Les annotations actuelles sont donc loin d'être complète, et l'interprétation que nous pouvons faire est de ce fait en partie biaisée par notre connaissance partielle du génome et des fonctions de chaque gène.

Des puces de génotypage au DNAseq De nos jours, l'utilisation des puces à très haute densité permet de génotyper un très grand nombre de marqueurs sur un grand nombre d'individus à un coût raisonnable. Ainsi, il n'est pas rare de voir l'utilisation de puces de génotypage contenant plusieurs centaines de milliers de marqueurs, voire plus d'un million de marqueurs (658 692 marqueurs pour la puce Axiom™Porcine Genotyping Array, 580 954 marqueurs pour la puce Axiom™ Genome-Wide Chicken Array et 1 933 117 marqueurs pour la puce humaine Infinium Global Diversity Array). À titre de comparaison, la puce que nous avons utilisée était composée de 64 232 SNP, garantissant la présence d'un marqueur tous les 30 à 40 kb, tandis que la puce haute densité Axiom™Porcine Genotyping Array contient plus de 600 000 marqueurs espacés en moyenne de 4 kb.

Parallèlement à la densification des puces de génotypage, l'évolution des technologies de séquençage permet, dans le cadre du séquençage d'ADN (DNAseq), d'accéder, en théorie, à la totalité des polymorphismes portés par un individu. Il est également possible d'accéder à l'information génétique au niveau de la séquence en partant d'un génotypage sur puce et en imputant le génotype des individus au niveau de la séquence avant d'envisager la détection de QTL (Frischknecht *et al.*, 2017). L'accès à l'ensemble des polymorphismes portés par chaque individu est la promesse de l'identification du polymorphisme causal. Cependant, cette masse d'informations, plusieurs millions de polymorphismes, si elle garantit le génotypage du *locus* responsable de la variation du phénotype, ne garantit pas une identification aisée de celui-ci.

En effet, si on considère d'une part qu'un déséquilibre de liaison avec un r^2 moyen supérieur à 0,3 est suffisant pour capturer l'information génétique lors d'une analyse GWAS (Ardlie *et al.*, 2002; Calus *et al.*, 2008) et d'autre part que l'étendue d'un tel DL se situe entre 280 et 413 kb dans les races porcines occidentales (respectivement Large White et Duroc) (Ai *et al.*, 2013; Amaral *et al.*, 2008), alors avec un marqueur tout les 4 kb et *a fortiori* avec un génotypage obtenu par séquençage on peut estimer que dans le voisinage du variant d'intérêt se trouve d'autres marqueurs, *a priori* neutres, en fort DL. Identifier polymorphisme causal des polymorphismes neutres en DL dans la région peut alors s'avérer compliqué. D'autant plus si celui-ci se situe dans une région à fort DL, faiblement annotée, ou non-codante.

Dans le cadre de nos études, le support que nous avons utilisé pour quantifier l'expression des gènes ne contenait pas de sonde correspondant au gène *RB1*. De ce fait, nous n'avons pas été en mesure d'analyser le niveau d'expression de *RB1* et donc de déterminer si celui-ci pouvait être associé à la variabilité du caractère d'intérêt. L'utilisation de données RNAseq aurait pu nous apporter des informations supplémentaires, nous permettant non seulement d'estimer le lien entre le niveau d'expression de ce gène avec le caractère d'intérêt, mais également d'interroger l'existence d'un cis-eQTL régulant l'expression de ce gène. Parallèlement, l'utilisation de données DNAseq, nous aurait permis d'explorer les polymorphismes présents dans, ou à proximité, du gène *RB1* et ainsi de confirmer ou non le fait que le gène *RB1* soit impliqué dans la régulation de l'épaisseur de muscle LM (LMDEP) et du niveau d'expression des gènes *LPIN* et *ZBTB16*.

11.6 La difficile identification du polymorphisme causal

L'étude du déterminisme génétique de la variabilité des caractères complexes, que ce soit par analyse d'association ou par analyse de liaison conduit à l'identification de QTL dans lesquels on pense trouver un polymorphisme causal. Comme cela a déjà été évoqué, de nombreuses informations complémentaires (phénotypes intermédiaires, annotations fonctionnelles) peuvent permettre de mieux appréhender les processus biologiques en cause et ainsi de mieux cibler parmi les gènes présents quelques gènes candidats. Cependant, ces régions contiennent généralement plusieurs gènes et de nombreux polymorphismes. L'identification du polymorphisme

causal peut donc s'avérer compliquée, du fait du DL existant entre les différents polymophismes situés dans la région, de l'annotation partielle des génomes et de notre connaissance imparfaite des fonctions des gènes et des processus biologiques impliqués dans les phénotypes étudiés.

Comme évoquée dans la section précédente, l'existence d'un fort DL entre polymorphismes voisins ne facilite pas l'identification du polymorphisme causal. En effet, en raison du fort DL existant entre eux, les variants voisins du polymorphisme causal portent la même information génétique que celui-ci et sont donc également associés à la variabilité du caractère par les approches GWAS. La plupart du temps, ceux-ci forment d'ailleurs un pic sur les manhattan plots au niveau du *locus* identifié en GWAS. Les analyses de liaison ne s'en sortent pas mieux puisque le fort DL entre les différents variants forme des haplotypes qui sont généralement transmis d'un bloc aux descendants. Pour identifier le polymorphisme causal, il est alors nécessaire de « casser » ce DL de manière à isoler le variant causal et renforcer le lien de causalité. Cela peut se faire en multipliant les dispositifs de croisements, mais cette approche est longue et coûteuse. Une autre possibilité est de rechercher ce polymorphisme dans des fonds génétiques différents et de confirmer son association à la variabilité du phénotype dans ces nouveaux fonds génétiques.

L'identification d'un polymorphisme causal peut également être rendue plus compliquée par l'existence d'interactions entre l'allèle causal et le fond génétique de l'individu (épistasie). Ces interactions entre gènes peuvent avoir des effets sur la stabilité de l'effet du QTL et rendre difficile sa caractérisation, car la détection du QTL dépendra de l'expression ou non du phénomène épistatique. Ainsi, un polymorphisme peut être associé à un effet sur le caractère dans un fond génétique et ne pas l'être dans un autre, si la combinaison des allèles nécessaires à la variabilité du caractère n'est pas présente.

L'identification du polymorphisme causal peut également bénéficier des inférences fonctionnelles prédisant les conséquences du variant sur les produits de gènes. S'il réside dans une région codante, un polymorphisme peut avoir de nombreux effets sur les produits des gènes. Il peut modifier la structure de la protéine, sa fonctionnalité, son acheminement dans le bon compartiment cellulaire ou sa stabilité. Ces différents effets sont le résultat de substitutions alléliques se traduisant par une substitution d'acide aminé non-synonyme, un arrêt prématuré de la traduction, une modification d'un site d'épissage alternatif... (cf figure 11.2 « Représentation des effets possibles des variants en fonction de leur localisation dans la structure génomique » - page suivante). Ils peuvent également résulter de l'insertion ou de la délétion de séquences nucléotidiques se traduisant par un décalage du cadre de lecture voire, la délétion d'une partie de la protéine.

Un polymorphisme de ce type, qui serait localisé dans un gène candidat fonctionnel, serait un bon candidat et serait probablement associé à un effet important sur le phénotype. C'est notamment le cas des gènes *RYR1* (Fujii *et al.*, 1991) et *PRKAG3* (Milan *et al.*, 2000) pour lesquels une substitution allélique provoque un changement d'acide aminé dans la séquence protéique et du gène myostatin (*MSTN*) pour lequel une substitution allélique ou une délétion de 11 bp dans la partie codante du gène induit la synthèse d'une forme de myostatine dépourvue d'activité et se traduit par une hypertrophie musculaire dans certaines races bovines (Kambadur *et al.*, 1997).

D'un autre côté, si le polymorphisme ne se situe pas dans la région codante d'un gène, il peut impacter la région régulatrice ou promotrice d'un gène ou bien modifier la séquence d'un ARN non-codant et *in fine* moduler le niveau d'expression du gène. L'impact de ces derniers est cependant plus complexe à prédire et leur mode d'action plus difficile à déterminer.

Quoi qu'il en soit, l'association d'un polymorphisme au caractère, aussi forte soit elle, même soutenue par de fortes présomptions fonctionnelles, modifiant la structure du transcrit d'un gène candidat par exemple, ne vaut pas lien de causalité. Bien que cette validation fonctionnelle

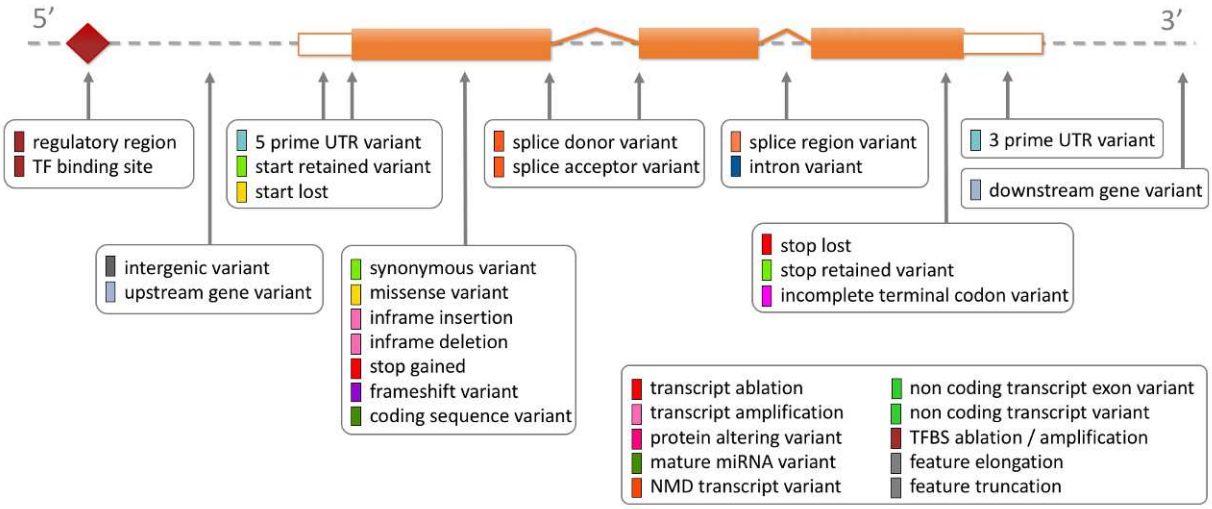


FIGURE 11.2 – **Représentation des effets possibles des variants en fonction de leur localisation dans la structure génomique.** (https://m.ensembl.org/info/genome/variation/prediction/predicted_data.html)

ne soit pas nécessaire pour envisager l'utilisation d'un polymorphisme en sélection, elle est tout de même l'objectif final de nos recherches et permet d'avancer dans la compréhension des mécanismes biologiques responsables du développement des caractères complexes. De nos jours, la validation fonctionnelle et la preuve du lien de causalité sont réalisables par édition du génome via des outils moléculaires tels que CRISPR/Cas9, TALEN ou ZFN. Ainsi, en laissant de côté toutes considérations d'acceptabilité sociale de ces technologies ou de coût, et en considérant par ailleurs une facilité d'utilisation et une précision qui ne sont peut-être pas encore à l'ordre du jour (O'Geen *et al.*, 2015; Salsman et Dellaire, 2017), une preuve de causalité serait de reproduire ce polymorphisme dans un fond génétique indemne et d'en quantifier l'effet sur le caractère. Parallèlement, une double vérification serait de supprimer l'allèle suspect d'être l'allèle causal dans une population porteuse et de contrôler le changement d'effet sur le phénotype.

Bibliographie

H. Ai, L. Huang et J. Ren : Genetic Diversity, Linkage Disequilibrium and Selection Signatures in Chinese and Western Pigs Revealed by Genome-Wide SNP Markers. *PLOS ONE*, 8(2):e56001, fév. 2013. ISSN 1932-6203. URL https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056001. 287

A. J. Amaral, H.-J. Megens, R. P. M. A. Crooijmans, H. C. M. Heuven et M. A. M. Groenen : Linkage Disequilibrium Decay and Haplotype Block Structure in the Pig. *Genetics*, 179(1):569–579, mai 2008. ISSN 1943-2631. URL https://doi.org/10.1534/genetics.107.084277. 287

L. Andersson : Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. *Nature Reviews Genetics*, 2(2):130–138, fév. 2001. ISSN 1471-0064. URL https://doi.org/10.1038/35052563. 284

K. G. Ardlie, L. Kruglyak et M. Seielstad : Patterns of linkage disequilibrium in the human genome. *Nature Reviews Genetics*, 3(4):nrg777, avr. 2002. ISSN 1471-0064. URL https://www.nature.com/articles/nrg777. 287

Q. Bai, C. McGillivray, N. da Costa, S. Dornan, G. Evans, M. J. Stear et K.-C. Chang : Development of a porcine skeletal muscle cDNA microarray : analysis of differential transcript expression in phenotypically distinct muscles. *BMC Genomics*, 4(1):8, mars 2003. ISSN 1471-2164. URL https://doi.org/10.1186/1471-2164-4-8. 286

M. R. Bakhtiarizadeh et S. A. Salami : Identification and Expression Analysis of Long Noncoding RNAs in Fat-Tail of Sheep Breeds. *G3 : Genes, Genomes, Genetics*, 9(4):1263–1276, avr. 2019. ISSN 2160-1836. URL https://doi.org/10.1534/g3.118.201014. 285

J.-P. Bidanel, P. Silalahi, T. Tribout, L. Canario, A. Ducos, H. Garreau, H. Gilbert, C. Larzul, D. Milan, J. Riquet, S. Schwob, M.-J. Mercat, C. Hassenfratz, A. Bouquet, C. Bazin et J. Bidanel : Cinquante années d'amélioration génétique du porc en France : bilan et perspectives. *INRAE Productions Animales*, 33(1):1–16, jan. 2020. ISSN 2273-7766. URL https://hal.inrae.fr/hal-02569226. 277

A. Bonnet, E. Iannuccelli, K. Hugot, F. Benne, M. F. Bonaldo, M. B. Soares, F. Hatey et G. Tosser-Klopp : A pig multi-tissue normalised cDNA library : large-scale sequencing, cluster analysis and 9K micro-array resource generation. *BMC Genomics*, 9:17, jan. 2008. ISSN 1471-2164. URL https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-17. 286

B. Cai, Z. Li, M. Ma, Z. Wang, P. Han, B. Abdalla, Q. Nie et X. Zhang : LncRNA-Six1 encodes a micropeptide to activate Six1 in Cis and is involved in cell proliferation and muscle growth. *Frontiers in Physiology*, 8(APR), 2017. URL https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00230. 285

M. P. L. Calus, T. H. E. Meuwissen, A. P. W. de Roos et R. F. Veerkamp : Accuracy of Genomic Selection Using Different Methods to Define Haplotypes. *Genetics*, 178(1):553–561, jan. 2008. ISSN 0016-6731. URL https://doi.org/10.1534/genetics.107.080838. 287

W. G. Campbell, S. E. Gordon, C. J. Carlson, J. S. Pattison, M. T. Hamilton et F. W. Booth : Differential global gene expression in red and white skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 280(4):C763–C768, avr. 2001. ISSN 0363-6143. URL https://doi.org/10.1152/ajpcell.2001.280.4.C763. Publisher : American Physiological Society. 278

C. Chen, H. Ai, J. Ren, W. Li, P. Li, R. Qiao, J. Ouyang, M. Yang, J. Ma et L. Huang : A global view of porcine transcriptome in three tissues from a full-sib pair with extreme phenotypes in growth and fat deposition by paired-end RNA sequencing. *BMC Genomics*, 12 (1):448, sept. 2011. ISSN 1471-2164. URL https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-448. 286

C. Chevalet et D. Boichard : Sélection assistée par marqueurs. *INRA Productions Animales*, 5(HS):291–294, 1992. URL https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00896034/document. 277

D. C. Ciobanu, S. M. Lonergan et E. J. Huff-Lonergan : 15 - Genetics of Meat Quality and Carcass Traits. *In The Genetics of the pig*, p. 355–390. CABI, 2nd édn, 2011. ISBN 978-1-84593-756-0. 277

W. Cookson, L. Liang, G. Abecasis, M. Moffatt et M. Lathrop : Mapping complex disease traits with global gene expression. *Nature reviews. Genetics*, 10(3):184–194, mars 2009. ISSN 1471-0056. URL https://doi.org/10.1038/nrg2537. 280

M. Damon, F. Hérault, A. Vincent, P. L. Roy et P. Cherel : Characterization of a pig skeletal muscle microarray to study pork quality : the GenmascqChip 15K. *Nature Precedings*, (713), fév. 2011. URL https://doi.org/10.1038/npre.2011.5730.1. 285, 286

J. C. M. Dekkers et F. Hospital : The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Nature Reviews Genetics*, 3(1):22–32, jan. 2002. ISSN 1471-0064. URL https://doi.org/10.1038/nrg701. 277

J.-M. Elsen : Sélection et introgression assistées par marqueurs. *INRA Productions Animales*, 2000. URL https://hal.inrae.fr/hal-02691053. 277

j. M. Elsen : Sélection sur gènes et sélection assistée par marqueurs. *INRA Productions Animales*, 24(4), 2011. URL https://hal.inrae.fr/hal-02641963/document. 277

D. S. Falconer et T. F. C. Mackay : 13 - Selection : III. Information from relatives. *In Introduction to Quantitative Genetic*, p. 229 – 247. Pearson, 4th édn, 1996. ISBN 978-0-582-24302-6. URL https://vulms.vu.edu.pk/Courses/GEN733/Downloads/Introduction%20to%20Quantitative%20Genetic-DS%20Falconer.pdf. 277, 281

S. Foissac, S. Djebali, K. Munyard, N. Vialaneix, A. Rau, K. Muret, D. Esquerré, M. Zytnicki, T. Derrien, P. Bardou, F. Blanc, C. Cabau, E. Crisci, S. Dhorne-Pollet, F. Drouet, T. Faraut, I. Gonzalez, A. Goubil, S. Lacroix-Lamandé, F. Laurent, S. Marthey, M. Marti-Marimon, R. Momal-Leisenring, F. Mompart, P. Quéré, D. Robelin, M. Cristobal, G. Tosser-Klopp, S. Vincent-Naulleau, S. Fabre, M.-H.-V. Der Laan, C. Klopp, M. Tixier-Boichard, H. Acloque, S. Lagarrigue et E. Giuffra : Multi-species annotation of transcriptome and chromatin structure in domesticated animals. *BMC Biology*, 17(1), 2019. URL https://doi.org/10.1186/s12915-019-0726-5. 286

A. R. R. Forrest, H. Kawaji, M. Rehli, J. Kenneth Baillie, M. J. L. de Hoon, V. Haberle, T. Lassmann, I. V. Kulakovskiy, M. Lizio, M. Itoh, R. Andersson, C. J. Mungall, T. F. Meehan, S. Schmeier, N. Bertin, M. Jørgensen, E. Dimont, E. Arner, C. Schmidl, U. Schaefer, Y. A. Medvedeva, C. Plessy, M. Vitezic, J. Severin, C. A. Semple, Y. Ishizu, R. S. Young, M. Francescatto, I. Alam, D. Albanese, G. M. Altschuler, T. Arakawa, J. A. C. Archer, P. Arner, M. Babina, S. Rennie, P. J. Balwierz, A. G. Beckhouse, S. Pradhan-Bhatt, J. A. Blake, A. Blumenthal, B. Bodega, A. Bonetti, J. Briggs, F. Brombacher, A. Maxwell Burroughs, A. Califano, C. V. Cannistraci, D. Carbajo, Y. Chen, M. Chierici, Y. Ciani, H. C. Clevers, E. Dalla, C. A. Davis, M. Detmar, A. D. Diehl, T. Dohi, F. Drabløs, A. S. B. Edge, M. Edinger, K. Ekwall, M. Endoh, H. Enomoto, M. Fagiolini, L. Fairbairn, H. Fang, M. C. Farach-Carson, G. J. Faulkner, A. V. Favorov, M. E. Fisher, M. C. Frith, R. Fujita, S. Fukuda, C. Furlanello, M. Furuno, J.-i. Furusawa, T. B. Geijtenbeek, A. P. Gibson, T. Gingeras, D. Goldowitz, J. Gough, S. Guhl, R. Guler, S. Gustincich, T. J. Ha, M. Hamaguchi, M. Hara, M. Harbers, J. Harshbarger, A. Hasegawa, Y. Hasegawa, T. Hashimoto, M. Herlyn, K. J. Hitchens, S. J. Ho Sui, O. M. Hofmann, I. Hoof, F. Hori, L. Huminiecki, K. Iida, T. Ikawa, B. R. Jankovic, H. Jia, A. Joshi, G. Jurman, B. Kaczkowski, C. Kai, K. Kaida, A. Kaiho, K. Kajiyama, M. Kanamori-Katayama, A. S. Kasianov, T. Kasukawa, S. Katayama, S. Kato, S. Kawaguchi, H. Kawamoto, Y. I. Kawamura, T. Kawashima, J. S. Kempfle, T. J. Kenna, J. Kere, L. M. Khachigian, T. Kitamura, S. Peter Klinken, A. J. Knox, M. Kojima, S. Kojima, N. Kondo, H. Koseki, S. Koyasu, S. Krampitz, A. Kubosaki, A. T. Kwon, J. F. J. Laros, W. Lee, A. Lennartsson, K. Li, B. Lilje, L. Lipovich, A. Mackay-sim, R.-i. Manabe, J. C. Mar, B. Marchand, A. Mathelier, N. Mejhert, A. Meynert, Y. Mizuno, D. A. de Lima Morais, H. Morikawa, M. Morimoto, K. Moro, E. Motakis, H. Motohashi, C. L. Mummery, M. Murata, S. Nagao-Sato, Y. Nakachi, F. Nakahara, T. Nakamura, Y. Nakamura, K. Nakazato, E. van Nimwegen, N. Ninomiya, H. Nishiyori, S. Noma, T. Nozaki, S. Ogishima, N. Ohkura, H. Ohmiya, H. Ohno, M. Ohshima, M. Okada-Hatakeyama, Y. Okazaki, V. Orlando, D. A. Ovchinnikov, A. Pain, R. Passier, M. Patrikakis, H. Persson, S. Piazza, J. G. D. Prendergast, O. J. L. Rackham, J. A. Ramilowski, M. Rashid, T. Ravasi, P. Rizzu, M. Roncador, S. Roy, M. B. Rye, E. Saijyo, A. Sajantila, A. Saka, S. Sakaguchi, M. Sakai, H. Sato, H. Satoh, S. Savvi, A. Saxena, C. Schneider, E. A. Schultes, G. G. Schulze-Tanzil, A. Schwegmann, T. Sengstag, G. Sheng, H. Shimoji, Y. Shimoni, J. W. Shin, C. Simon, D. Sugiyama, T. Sugiyama, M. Suzuki, N. Suzuki, R. K. Swoboda, P. A. C. 't Hoen, M. Tagami, N. Takahashi, J. Takai, H. Tanaka, H. Tatsukawa, Z. Tatum, M. Thompson, H. Toyoda, T. Toyoda, E. Valen, M. van de Wetering, L. M. van den Berg, R. Verardo, D. Vijayan, I. E. Vorontsov, W. W. Wasserman, S. Watanabe, C. A. Wells, L. N. Winteringham, E. Wolvetang, E. J. Wood, Y. Yamaguchi, M. Yamamoto, M. Yoneda, Y. Yonekura, S. Yoshida, S. E. Zabierowski, P. G. Zhang, X. Zhao, S. Zucchelli,

K. M. Summers, H. Suzuki, C. O. Daub, J. Kawai, P. Heutink, W. Hide, T. C. Freeman, B. Lenhard, V. B. Bajic, M. S. Taylor, V. J. Makeev, A. Sandelin, D. A. Hume, P. Carninci, Y. Hayashizaki et The FANTOM Consortium and the RIKEN PMI and CLST (DGT) : A promoter-level mammalian expression atlas. *Nature*, 507(7493):462–470, mars 2014. ISSN 1476-4687. URL https://doi.org/10.1038/nature13182. 286

M. Frischknecht, H. Pausch, B. Bapst, H. Signer-Hasler, C. Flury, D. Garrick, C. Stricker, R. Fries et B. Gredler-Grandl : Highly accurate sequence imputation enables precise QTL mapping in Brown Swiss cattle. *BMC Genomics*, 18(1):999, déc. 2017. ISSN 1471-2164. URL https://doi.org/10.1186/s12864-017-4390-2. 287

J. Fujii, K. Otsu, F. Zorzato, S. d. Leon, V. K. Khanna, J. E. Weiler, P. J. O'Brien et D. H. MacLennan : Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science*, 253(5018):448–451, juil. 1991. ISSN 0036-8075, 1095-9203. URL https://doi.org/10.1126/science.1862346. 288

D. Gallardo, R. N. Pena, R. Quintanilla, O. Ramírez, D. Almuzara, J. L. Noguera et M. Amills : Quantitative trait loci analysis of a Duroc commercial population highlights differences in the genetic determination of meat quality traits at two different muscles. *Animal Genetics*, 43(6):800–804, 2012. ISSN 1365-2052. URL https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2012.02333.x. 282

Y. Gao, R. Zhang, X. Hu et N. Li : Application of genomic technologies to the improvement of meat quality of farm animals. *Meat Science*, 77(1):36–45, sept. 2007. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.03.026. 277, 284

E. Garcia-Gámez, B. Gutiérrez-Gil, A. Suarez-Vega, L. F. de la Fuente et J. J. Arranz : Identification of quantitative trait loci underlying milk traits in Spanish dairy sheep using linkage plus combined linkage disequilibrium and linkage analysis approaches. *Journal of Dairy Science*, 96(9):6059–6069, sept. 2013. ISSN 0022-0302. URL https://doi.org/10.3168/jds.2013-6824. 284

M. A. M. Groenen, A. L. Archibald, H. Uenishi, C. K. Tuggle, Y. Takeuchi, M. F. Rothschild, C. Rogel-Gaillard, C. Park, D. Milan, H.-J. Megens, S. Li, D. M. Larkin, H. Kim, L. A. F. Frantz, M. Caccamo, H. Ahn, B. L. Aken, A. Anselmo, C. Anthon, L. Auvil, B. Badaoui, C. W. Beattie, C. Bendixen, D. Berman, F. Blecha, J. Blomberg, L. Bolund, M. Bosse, S. Botti, Z. Bujie, M. Bystrom, B. Capitanu, D. Carvalho-Silva, P. Chardon, C. Chen, R. Cheng, S.-H. Choi, W. Chow, R. C. Clark, C. Clee, R. P. M. A. Crooijmans, H. D. Dawson, P. Dehais, F. De Sapio, B. Dibbits, N. Drou, Z.-Q. Du, K. Eversole, J. Fadista, S. Fairley, T. Faraut, G. J. Faulkner, K. E. Fowler, M. Fredholm, E. Fritz, J. G. R. Gilbert, E. Giuffra, J. Gorodkin, D. K. Griffin, J. L. Harrow, A. Hayward, K. Howe, Z.-L. Hu, S. J. Humphray, T. Hunt, H. Hornshøj, J.-T. Jeon, P. Jern, M. Jones, J. Jurka, H. Kanamori, R. Kapetanovic, J. Kim, J.-H. Kim, K.-W. Kim, T.-H. Kim, G. Larson, K. Lee, K.-T. Lee, R. Leggett, H. A. Lewin, Y. Li, W. Liu, J. E. Loveland, Y. Lu, J. K. Lunney, J. Ma, O. Madsen, K. Mann, L. Matthews, S. McLaren, T. Morozumi, M. P. Murtaugh, J. Narayan, D. Truong Nguyen, P. Ni, S.-J. Oh, S. Onteru, F. Panitz, E.-W. Park, H.-S. Park, G. Pascal, Y. Paudel, M. Perez-Enciso, R. Ramirez-Gonzalez, J. M. Reecy, S. Rodriguez-Zas, G. A. Rohrer, L. Rund, Y. Sang, K. Schachtschneider, J. G. Schraiber, J. Schwartz, L. Scobie, C. Scott, S. Searle, B. Servin, B. R. Southey, G. Sperber, P. Stadler, J. V. Sweedler, H. Tafer, B. Thomsen, R. Wali, J. Wang, J. Wang, S. White, X. Xu, M. Yerle, G. Zhang,

J. Zhang, J. Zhang, S. Zhao, J. Rogers, C. Churcher et L. B. Schook : Analyses of pig genomes provide insight into porcine demography and evolution. *Nature*, 491(7424):393–398, nov. 2012. ISSN 1476-4687. URL https://doi.org/10.1038/nature11622. 285

G. M. Guillocheau, A. El Hou, C. Meersseman, D. Esquerré, E. Rebours, R. Letaief, M. Simao, N. Hypolite, E. Bourneuf, N. Bruneau, A. Vaiman, C. J. Vander Jagt, A. J. Chamberlain et D. Rocha : Survey of allele specific expression in bovine muscle. *Scientific Reports*, 9(1):4297, mars 2019. ISSN 2045-2322. URL https://doi.org/10.1038/s41598-019-40781-6. 286

J. Harrow, A. Frankish, J. M. Gonzalez, E. Tapanari, M. Diekhans, F. Kokocinski, B. L. Aken, D. Barrell, A. Zadissa, S. Searle, I. Barnes, A. Bignell, V. Boychenko, T. Hunt, M. Kay, G. Mukherjee, J. Rajan, G. Despacio-Reyes, G. Saunders, C. Steward, R. Harte, M. Lin, C. Howald, A. Tanzer, T. Derrien, J. Chrast, N. Walters, S. Balasubramanian, B. Pei, M. Tress, J. M. Rodriguez, I. Ezkurdia, J. van Baren, M. Brent, D. Haussler, M. Kellis, A. Valencia, A. Reymond, M. Gerstein, R. Guigó et T. J. Hubbard : GENCODE : The reference human genome annotation for The ENCODE Project. *Genome Research*, 22(9):1760–1774, sept. 2012. ISSN 1088-9051. URL https://doi.org/10.1101/gr.135350.111. 286

H. Hornshøj, L. N. Conley, J. Hedegaard, P. Sørensen, F. Panitz et C. Bendixen : Microarray Expression Profiles of 20.000 Genes across 23 Healthy Porcine Tissues. *PLoS ONE*, 2(11):e1203, nov. 2007. ISSN 1932-6203. URL https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001203. 278, 279

F. Hérault, M. Damon, P. Cherel et P. Le Roy : Combined GWAS and LDLA approaches to improve genome-wide quantitative trait loci detection affecting carcass and meat quality traits in pig. *Meat Science*, 135(Supplement C):148–158, jan. 2018. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.09.015. 283

Z.-L. Hu, S. Dracheva, W. Jang, D. Maglott, J. Bastiaansen, M. F. Rothschild et J. M. Reecy : A QTL resource and comparison tool for pigs : PigQTLDB. *Mammalian Genome*, 16(10):792–800, oct. 2005. ISSN 1432-1777. URL https://doi.org/10.1007/s00335-005-0060-9. 285

Z.-L. Hu, E. R. Fritz et J. M. Reecy : AnimalQTLdb : a livestock QTL database tool set for positional QTL information mining and beyond. *Nucleic Acids Research*, 35(Database issue):D604–D609, jan. 2007. ISSN 0305-1048. URL https://dx.doi.org/10.1093%2Fnar%2Fgkl946. 285

Z.-L. Hu, C. A. Park, X.-L. Wu et J. M. Reecy : Animal QTLdb : an improved database tool for livestock animal QTL/association data dissemination in the post-genome era. *Nucleic Acids Research*, 41(D1):D871–D879, jan. 2013. ISSN 0305-1048. URL https://doi.org/10.1093/nar/gks1150. 285

Z.-L. Hu et J. M. Reecy : Animal QTLdb : beyond a repository. *Mammalian Genome*, 18 (1):1–4, jan. 2007. ISSN 1432-1777. URL https://doi.org/10.1007/s00335-006-0105-8. 285

W. Huang, X. Zhang, A. Li, L. Xie et X. Miao : Genome-wide analysis of mRNAs and lncRNAs of intramuscular fat related to lipid metabolism in two pig breeds. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 50(6):2406–2422, 2018. URL https://doi.org/10.1159/000495101. 285

{Institut Technique du Porc} : La Sélection Porcine Collective en France. Rap. tech., Institut Technique du Porc, 2003. URL https://www.ifip.asso.fr/sites/default/files/pdf-documentations/selection_collective.pdf. 277

A. Jama, D. Huang, A. A. Alshudukhi, R. Chrast et H. Ren : Lipin1 is required for skeletal muscle development by regulating MEF2c and MyoD expression. *The Journal of Physiology*, 597(3):889–901, 2019. ISSN 1469-7793. URL https://doi.org/10.1113/JP276919. 285

R. Jussiau, J. Rigal et A. Papet : 9 - Mhétodes de sélection. *In Amélioration génétique des animaux d'élevage*, p. 304–331. Educagri Editions, 2013. ISBN 978-2-84444-929-0. 277, 281

H. N. Kadarmideen, P. von Rohr et L. L. Janss : From genetical genomics to systems genetics : potential applications in quantitative genomics and animal breeding. *Mammalian Genome*, 17(6):548–564, juin 2006. ISSN 1432-1777. URL https://doi.org/10.1007/s00335-005-0169-x. 280

R. Kambadur, M. Sharma, T. P. Smith et J. J. Bass : Mutations in myostatin (GDF8) in double-muscled Belgian Blue and Piedmontese cattle. *Genome Research*, 7(9):910–916, sept. 1997. ISSN 1088-9051. URL https://doi.org/10.1101/gr.7.9.910. 288

M. Khansefid, J. E. Pryce, S. Bolormaa, Y. Chen, C. A. Millen, A. J. Chamberlain, C. J. Vander Jagt et M. E. Goddard : Comparing allele specific expression and local expression quantitative trait loci and the influence of gene expression on complex trait variation in cattle. *BMC Genomics*, 19(1):793, nov. 2018. ISSN 1471-2164. URL https://doi.org/10.1186/s12864-018-5181-0. 286

S. Kim, J.-W. Hong et K. Park : B cell translocation gene 2 (Btg2) is regulated by Stat3 signaling and inhibits adipocyte differentiation. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 413 (1-2):145–153, 2016. URL https://doi.org/10.1007/s11010-015-2648-z. 285

D. Knecht, K. Duziński et A. Jankowska-Makosa : Pork ham and belly quality can be estimated from loin quality measurements ? *Meat Science*, 145:144–149, nov. 2018. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.025. 279

J.-W. Kornfeld et J. Brüning : Regulation of metabolism by long, non-coding RNAs. *Frontiers in Genetics*, 5, 2014. URL https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00057. 285

R. I. Kuo, E. Tseng, L. Eory, I. R. Paton, A. L. Archibald et D. W. Burt : Normalized long read RNA sequencing in chicken reveals transcriptome complexity similar to human. *BMC Genomics*, 18(1):323, avr. 2017. ISSN 1471-2164. URL https://doi.org/10.1186/s12864-017-3691-9. 286

D. Laborde, A. Talmant, G. Monin, R. Dauzat, J. F. Gardette et P. Vernin : Activités enzymatiques métaboliques et contractiles de 30 muscles du Porc. Relations avec le pH ultime atteint après la mort. *Reproduction Nutrition Développement*, 25(4A):619–628, 1985. ISSN 0181-1916. URL https://doi.org/10.1051/rnd:19850503. 278

J. D. Leal-Gutiérrez, M. A. Elzo et R. G. Mateescu : Identification of eQTLs and sQTLs associated with meat quality in beef. *BMC genomics*, 21(1):104, jan. 2020. ISSN 1471-2164. URL https://doi.org/10.1186/s12864-020-6520-5. 286

A. Legarra, P. Croiseau, M. P. Sanchez, S. Teyssèdre, G. Sallé, S. Allais, S. Fritz, C. R. Moreno, A. Ricard et J.-M. Elsen : A comparison of methods for whole-genome QTL mapping using dense markers in four livestock species. *Genetics Selection Evolution*,

47(1):6, fév. 2015. ISSN 1297-9686. URL https://doi.org/10.1186/s12711-015-0087-7. 283, 284

C.-Y. Li, X. Li, Z. Liu, W. Ni, X. Zhang, W. Hazi, Q. Ma, Y. Zhang, Y. Cao, J. Qi, Y. Yao, L. Feng, D. Wang, X. Hou, S. Yu, L. Liu, M. Zhang et S. Hu : Identification and characterization of long non-coding RNA in prenatal and postnatal skeletal muscle of sheep. *Genomics*, 111(2):133–141, 2019a. URL https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2018.01.009. 285

L. Li, X. Cheng, L. Chen, J. Li, W. Luo et C. Li : Long Noncoding Ribonucleic Acid MSTRG.59589 Promotes Porcine Skeletal Muscle Satellite Cells Differentiation by Enhancing the Function of PALLD. *Frontiers in Genetics*, 10, 2019b. URL https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01220. 285

M. Li, X. Sun, H. Cai, Y. Sun, M. Plath, C. Li, X. Lan, C. Lei, F. Lin, Y. Bai et H. Chen : Long non-coding RNA ADNCR suppresses adipogenic differentiation by targeting miR-204. *Biochimica et Biophysica Acta - Gene Regulatory Mechanisms*, 1859(7):871–882, 2016. URL https://doi.org/10.1016/j.bbagrm.2016.05.003. 285

Y. Li, Z. Xu, H. Li, Y. Xiong et B. Zuo : Differential transcriptional analysis between red and white skeletal muscle of Chinese Meishan pigs. *International Journal of Biological Sciences*, 6(4):350–360, juin 2010. ISSN 1449-2288. URL https://doi.org/10.7150%2Fijbs.6.350. 278

X. Liu, K. Liu, B. Shan, S. Wei, D. Li, H. Han, W. Wei, J. Chen, H. Liu et L. Zhang : A genome-wide landscape of mRNAs, lncRNAs, and circRNAs during subcutaneous adipogenesis in pigs. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 9(1), 2018. URL https://doi.org/10.1186/s40104-018-0292-7. 285

Y. Liu, X. Liu, Z. Zheng, T. Ma, Y. Liu, H. Long, H. Cheng, M. Fang, J. Gong, X. Li, S. Zhao et X. Xu : Genome-wide analysis of expression QTL (eQTL) and allele-specific expression (ASE) in pig muscle identifies candidate genes for meat quality traits. *Genetics Selection Evolution*, 52(1):59, oct. 2020. ISSN 1297-9686. URL https://doi.org/10.1186/s12711-020-00579-x. 286

J. Ma, J. Yang, L. Zhou, Z. Zhang, H. Ma, X. Xie, F. Zhang, X. Xiong, L. Cui, H. Yang, X. Liu, Y. Duan, S. Xiao, H. Ai, J. Ren et L. Huang : Genome-Wide Association Study of Meat Quality Traits in a White Duroc×Erhualian F2 Intercross and Chinese Sutai Pigs. *PLOS ONE*, 8(5):e64047, mai 2013. ISSN 1932-6203. URL https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064047. 282

J. L. Melody, S. M. Lonergan, L. J. Rowe, T. W. Huiatt, M. S. Mayes et E. Huff-Lonergan : Early postmortem biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles. *Journal of Animal Science*, 82(4):1195–1205, avr. 2004. ISSN 0021-8812. URL https://doi.org/10.2527/2004.8241195x. 278

D. Milan, J.-T. Jeon, C. Looft, V. Amarger, A. Robic, M. Thelander, C. Rogel-Gaillard, S. Paul, N. Iannuccelli, L. Rask, H. Ronne, K. Lundström, N. Reinsch, J. Gellin, E. Kalm, P. L. Roy, P. Chardon et L. Andersson : A Mutation in PRKAG3 Associated with Excess Glycogen Content in Pig Skeletal Muscle. *Science*, 288(5469):1248–1251, mai 2000. ISSN 0036-8075, 1095-9203. URL https://doi.org/10.1126/science.288.5469.1248. 288

B. U. Müller, B. Stich et H.-P. Piepho : A general method for controlling the genome-wide type I error rate in linkage and association mapping experiments in plants. *Heredity*, 106 (5):825–831, mai 2011. ISSN 1365-2540. URL https://doi.org/10.1038/hdy.2010.125. 283

X. Y. Mo, J. Lan, Q. Z. Jiao, Y. Z. Xiong, B. Zuo, F. E. Li, D. Q. Xu et M. G. Lei : Molecular characterization, expression pattern and association analysis of the porcine BTG2 gene. *Molecular Biology Reports*, 38(7):4389–4396, oct. 2011. ISSN 1573-4978. URL https://doi.org/10.1007/s11033-010-0566-4. 285

N. Moreno-Sánchez, J. Rueda, M. J. Carabaño, A. Reverter, S. McWilliam, C. González et C. Díaz : Skeletal muscle specific genes networks in cattle. *Functional & Integrative Genomics*, 10(4):609–618, 2010. ISSN 1438-793X. URL https://doi.org/10.1007/s10142-010-0175-2. 278, 279

A. M. Mullen, P. C. Stapleton, D. Corcoran, R. M. Hamill et A. White : Understanding meat quality through the application of genomic and proteomic approaches. *Meat Science*, 74(1):3–16, sept. 2006. ISSN 0309-1740. URL https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.015. 284

M. Muñoz, M. C. Rodríguez, E. Alves, J. M. Folch, N. Ibañez-Escriche, L. Silió et A. I. Fernández : Genome-wide analysis of porcine backfat and intramuscular fat fatty acid composition using high-density genotyping and expression data. *BMC Genomics*, 14(1), déc. 2013. ISSN 1471-2164. URL https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-845. 282

H. Muranaka, A. Hayashi, K. Minami, S. Kitajima, S. Kohno, Y. Nishimoto, N. Nagatani, M. Suzuki, L. a. N. Kulathunga, N. Sasaki, N. Okada, T. Matsuzaka, H. Shimano, H. Tada et C. Takahashi : A distinct function of the retinoblastoma protein in the control of lipid composition identified by lipidomic profiling. *Oncogenesis*, 6(6):e350–e350, 2017. ISSN 2157-9024. URL https://doi.org/10.1038/oncsis.2017.51. 285

K. Muret, C. Klopp, V. Wucher, D. Esquerré, F. Legeai, F. Lecerf, C. Désert, M. Boutin, F. Jehl, H. Acloque, E. Giuffra, S. Djebali, S. Foissac, T. Derrien et S. Lagarrigue : Long noncoding RNA repertoire in chicken liver and adipose tissue. *Genetics Selection Evolution*, 49(1):1–17, 2017. 286

W. S. Noble : How does multiple testing correction work ? *Nature Biotechnology*, 27(12):1135–1137, déc. 2009. ISSN 1546-1696. URL https://doi.org/10.1038/nbt1209-1135. 282

H. O'Geen, A. S. Yu et D. J. Segal : How specific is CRISPR/Cas9 really ? *Current opinion in chemical biology*, 29:72–78, déc. 2015. ISSN 1367-5931. URL https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2015.10.001. 289

H. Ouyang, Z. Wang, X. Chen, J. Yu, Z. Li et Q. Nie : Proteomic Analysis of Chicken Skeletal Muscle during Embryonic Development. *Frontiers in Physiology*, 8, mai 2017. ISSN 1664-042X. URL https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00281. 285

T. Qin, J. Li et K.-Q. Zhang : Structure, Regulation, and Function of Linear and Circular Long Non-Coding RNAs. *Frontiers in Genetics*, 11, 2020. URL https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00150. 285

A. M. Ramos, R. P. M. A. Crooijmans, N. A. Affara, A. J. Amaral, A. L. Archibald, J. E. Beever, C. Bendixen, C. Churcher, R. Clark, P. Dehais, M. S. Hansen, J. Hedegaard, Z.-L. Hu, H. H. Kerstens, A. S. Law, H.-J. Megens, D. Milan, D. J.

Nonneman, G. A. Rohrer, M. F. Rothschild, T. P. L. Smith, R. D. Schnabel, C. P. V. Tassell, J. F. Taylor, R. T. Wiedmann, L. B. Schook et M. A. M. Groenen : Design of a High Density SNP Genotyping Assay in the Pig Using SNPs Identified and Characterized by Next Generation Sequencing Technology. *PLOS ONE*, 4(8):e6524, août 2009. ISSN 1932-6203. URL http://doi.org/10.1371/journal.pone.0006524. 285

G. Renand, C. Larzul, E. Le Bihan-Duval et P. Le Roy : L'amélioration génétique de la qualité de la viande dans les différentes espèces : situation actuelle et perpestives à court et moyen terme. *INRA Productions Animales*, 16(3), 2003. URL https://hal.inrae.fr/hal-02679332/document. 277

M. V. Rockman et L. Kruglyak : Genetics of global gene expression. *Nature Reviews Genetics*, 7(11):862–872, nov. 2006. ISSN 1471-0064. URL https://doi.org/10.1038/nrg1964. 280

J. Salsman et G. Dellaire : Precision genome editing in the CRISPR era. *Biochemistry and Cell Biology*, 95(2):187–201, avr. 2017. ISSN 0829-8211. URL https://doi.org/10.1139/bcb-2016-0137. 289

Y. Sasaki, K. Nagai, Y. Nagata, K. Doronbekov, S. Nishimura, S. Yoshioka, T. Fujita, K. Shiga, T. Miyake, Y. Taniguchi et T. Yamada : Exploration of genes showing intramuscular fat deposition-associated expression changes in musculus longissimus muscle. *Animal Genetics*, 37(1):40–46, 2006. ISSN 1365-2052. URL https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2005.01380.x. 285

S. R. Searle : The Value of Indirect Selection : I. Mass Selection. *Biometrics*, 21(3):682–707, 1965. ISSN 0006-341X. URL https://doi.org/10.2307/2528550. 280

R. Sellers, S. Mahmood, G. Perumal, F. Macaluso et I. Kurland : Phenotypic Modulation of Skeletal Muscle Fibers in LPIN1-Deficient Lipodystrophic (fld) Mice. *Veterinary Pathology*, 56(2):322–331, 2019. URL https://doi.org/10.1177/0300985818809126. 285

C. Stretch, S. Khan, N. Asgarian, R. Eisner, S. Vaisipour, S. Damaraju, K. Graham, O. F. Bathe, H. Steed, R. Greiner et V. E. Baracos : Effects of Sample Size on Differential Gene Expression, Rank Order and Prediction Accuracy of a Gene Signature. *PLOS ONE*, 8(6):e65380, juin 2013. ISSN 1932-6203. URL https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065380. 278

K. M. Summers, S. J. Bush, C. Wu, A. I. Su, C. Muriuki, E. L. Clark, H. A. Finlayson, L. Eory, L. A. Waddell, R. Talbot, A. L. Archibald et D. A. Hume : Functional Annotation of the Transcriptome of the Pig, Sus scrofa, Based Upon Network Analysis of an RNAseq Transcriptional Atlas. *Frontiers in Genetics*, 10:1355, 2020. ISSN 1664-8021. URL https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01355. 286

L. Sun, L. A. Goff, C. Trapnell, R. Alexander, K. A. Lo, E. Hacisuleyman, M. Sauvageau, B. Tazon-Vega, D. R. Kelley, D. G. Hendrickson, B. Yuan, M. Kellis, H. F. Lodish et J. L. Rinn : Long noncoding RNAs regulate adipogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(9):3387–3392, fév. 2013. ISSN 0027-8424, 1091-6490. URL https://doi.org/10.1073/pnas.1222643110. 285

W. Sun et Y. Hu : eQTL Mapping Using RNA-seq Data. *Statistics in biosciences*, 5(1): 10.1007/s12561–012–9068–3, mai 2013. ISSN 1867-1764. URL https://doi.org/10.1007/s12561-012-9068-3. 286

M. F. W. te Pas, O. Madsen, M. P. L. Calus et M. A. Smits : The Importance of Endophenotypes to Evaluate the Relationship between Genotype and External Phenotype. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2):472, fév. 2017. URL http://doi.org/10.3390/ijms18020472. 280, 284

T. Tribout, H. Garreau et J.-P. Bidanel : Paramètres génétiques de quelques caractères de qualité de laviande dans les races porcines Large White et Landrace Français. *In Journées de la Recherche Porcine, 28*, Paris, 1996. URL http://www.journees-recherche-porcine.com/texte/1996/96txtGenetique/G9605.pdf. 277

C. K. Tuggle, Y. Wang et O. Couture : Advances in Swine Transcriptomics. *International Journal of Biological Sciences*, 3(3):132–152, fév. 2007. ISSN 1449-2288. URL https://doi.org/10.7150/ijbs.3.132. 286

G. Wang, H. Zhou, H. Gong, J. He, Y. Luo, J. G. H. Hickford, J. Hu, J. Wang, X. Liu et S. Li : Variation in the Lipin 1 Gene Is Associated with Birth Weight and Selected Carcass Traits in New Zealand Romney Sheep. *Animals*, 10(2):237, fév. 2020. URL https://doi.org/10.3390/ani10020237. 285

J. Wang, Q. Ren, L. Hua, J. Chen, J. Zhang, H. Bai, H. Li, B. Xu, Z. Shi, H. Cao, B. Xing et X. Bai : Comprehensive Analysis of Differentially Expressed mRNA, lncRNA and circRNA and Their ceRNA Networks in the Longissimus Dorsi Muscle of Two Different Pig Breeds. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5), mars 2019. ISSN 1422-0067. URL https://doi.org/10.3390/ijms20051107. 285

M. L. Wayne et L. M. McIntyre : Combining mapping and arraying : An approach to candidate gene identification. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(23):14903–14906, nov. 2002. ISSN 0027-8424, 1091-6490. URL https://doi.org/10.1073/pnas.222549199. 280

M. Zhang, F. Li, J.-W. Sun, D.-H. Li, W.-T. Li, R.-R. Jiang, Z.-J. Li, X.-J. Liu, R.-L. Han, G.-X. Li, Y.-B. Wang, Y.-D. Tian, X.-T. Kang et G.-R. Sun : LncRNA IMFNCR promotes intramuscular adipocyte differentiation by sponging miR-128-3p and miR-27b-3p. *Frontiers in Genetics*, 10(FEB), 2019. URL https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00042. 285

M. Zhang, X. Ma, Y. Zhai, D. Zhang, L. Sui, W. Li, R. Jiang, R. Han, G. Li, Z. Li, Y. Wang, Y. Tian, X. Kang et G.-R. Sun : Comprehensive Transcriptome Analysis of lncRNAs Reveals the Role of lncAD in Chicken Intramuscular and Abdominal Adipogenesis. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 2020. URL https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b07405. 285

S. P. Zhang, S. Y. Li, W. Chen, W. W. Lu et Y. Q. Huang : A single-nucleotide polymorphism in the 3' untranslated region of the LPIN1 gene and association analysis with performance traits in chicken. *British Poultry Science*, 54(3):312–318, juin 2013. ISSN 0007-1668. URL https://doi.org/10.1080/00071668.2013.791383. 285

X.-Y. Zhao et J. D. Lin : Long Noncoding RNAs : A New Regulatory Code in Metabolic Control. *Trends in Biochemical Sciences*, 40(10):586–596, oct. 2015. ISSN 0968-0004. URL http://doi.org/10.1016/j.tibs.2015.08.002. 285

M. Zhu et S. Zhao : Candidate Gene Identification Approach : Progress and Challenges. *International Journal of Biological Sciences*, p. 420–427, 2007. ISSN 1449-2288. URL http://doi.org/10.7150/ijbs.3.420. 284

Conclusion

La qualité des viandes est le résultat d'une interaction entre différents facteurs environnementaux tels que la conduite d'élevage, le transport ou les conditions d'abattage, et des facteurs génétiques. Ces caractères sont cependant héritables. L'obtention d'un progrès génétique par sélection est donc possible. Cependant, il n'existe pas à l'heure actuelle de prédicteur fiable de la qualité de la viande mesurable *in vivo*. La sélection s'effectue donc par un contrôle sur performances des collatéraux des candidats à la sélection. L'identification de nouveaux prédicteurs de la qualité des viandes (biomarqueurs) mesurables *in vivo* sur les candidats à la sélection devrait permettre d'améliorer notablement la réponse à la sélection. Parallèlement, l'identification de marqueurs génétiques devrait également permettre un gain de progrès génétique au travers d'une sélection génique.

Les travaux présentés dans le cadre de cette thèse, visaient à mieux appréhender le déterminisme génétique et les processus biologiques responsables de la variabilité des caractères associés à la qualité de la viande de porc et à fournir de nouveaux outils (prédicteurs biologiques de la qualité, marqueurs génétiques) pour la sélection et le contrôle de ces caractères.

En s'appuyant sur des données d'expression génique des deux muscles représentatifs des principaux débouchés de la viande de porc, le *longissimus dorsi* pour la viande vendue à la découpe en frais et le *semimembranosus* pour les produits transformés cuits ou secs, les travaux présentés ont permis de mettre en évidence une forte spécificité musculaire du transcriptome. Ces différences, qui impactent de manière importante l'activité cellulaire des muscles, peuvent avoir des conséquences sur la structure et le développement des tissus, sur les processus de transformation du muscle en viande et *in fine* sur la qualité des viandes qui en résulte. La prise en compte de ces différences, pour étudier le déterminisme génétique de la qualité des viandes ou pour identifier des marqueurs biologiques utilisables en sélection ou pour classer les pièces de viande, nous semble donc indispensable.

D'un point de vue génétique, l'analyse de la variabilité du niveau d'expression des transcrits musculaires nous a permis de démontrer leur intérêt en tant que marqueurs biologiques de la qualité des viandes. L'utilisation du niveau d'expression musculaire de certains gènes permettrait d'améliorer la précision des valeurs génétiques des candidats à la sélection et procurerait de ce fait un gain génétique plus rapide. Cependant, ces mesures étant réalisées sur biopsies musculaires, elles gagneraient à être remplacées par des mesures faites sur prélèvements sanguins, ce qui serait sans doute plus conforme aux attentes des consommateurs en matière de bien-être animal. De telles études n'ont pas été réalisées dans le cadre des travaux présentés ici, mais elles nécessiteraient d'être mises en œuvre pour identifier de tels biomarqueurs.

Enfin, les analyses génétiques menées de manière conjointe en GWAS et LDLA et de manière complémentaire avec des mesures phénotypiques pour l'identification de QTL et des mesures d'expression de gènes pour l'identification de eQTL, ont permis de souligner l'intérêt de conduire des analyses selon plusieurs approches de manière à obtenir un panorama le plus complet possible des différents QTL présents dans la population d'étude. Elles ont aussi permis de confirmer les spécificités du transcriptome musculaire en montrant que la régulation du niveau d'expression des gènes dépend, non seulement de la composition en myofibres et des propriétés métaboliques du muscle considéré, mais probablement aussi de la fonction et de la position anatomique du dit muscle, faisant ainsi écho aux résultats de l'étude comparant les transcriptomes LM et SM et soulignant la spécificité des transcriptomes musculaires. Ces analyses ont par ailleurs permis d'identifier plusieurs gènes candidats dont le gène *RB1* localisé dans un QTL régulant à la fois l'épaisseur musculaire de la longe ainsi que l'expression de deux gènes connus pour être impliqués dans le métabolisme des acides gras et la différenciation des cellules

adipogéniques. Des investigations complémentaires seront cependant nécessaires pour confirmer le rôle de ce gène et identifier un polymorphisme responsable dans cette région.

À terme, le séquençage du génome d'un grand nombre d'individus représentatifs de plusieurs populations serait une ressource utile et précieuse pour explorer plus en avant la diversité des variants génétiques, leur répartition dans les différentes populations et leur impact sur la qualité des viandes. Parallèlement, l'intégration d'une diversité toujours croissante d'information biologique au travers des différentes disciplines « omiques », que ce soit au niveau du transcriptome, des protéines, du méthylome ... et les efforts conduit pour améliorer les annotations fonctionnelles des génomes, devraient également permettre de progresser dans notre compréhension des mécanismes régulant ces caractères. Bien que la connaissance approfondie des processus biologiques en jeu ne soit pas indispensable pour envisager l'utilisation d'un polymorphisme en sélection, elle est tout de même une clé pour avancer dans la compréhension des mécanismes de régulation des caractères complexes et pour identifier des leviers génétiques permettant l'amélioration de la qualité des viandes de porc et ainsi répondre aux attentes des consommateurs en matière de qualité des viandes.

Annexes

Annexe A : Sites de mesure pour l'estimation du TMP.

Ces documents apportent un complément à la section traitant de la qualité des carcasse (1.3.1« La qualité de la carcasse » - page 26) en détaillant les différentes méthodes admises pour la mesure de l'épaisseur du gras dorsal. Ils sont issus du guide « Pesée/Classement/Marquage - Guide technique et réglementaire » édité par FranceAgriMer en 2016. Ce guide est disponnible à l'adresse suivante : https://www.franceagrimer.fr/fam/content/download/49247/document/4%20-%20Guide%20PCM%20des%20carcasses%20de%20porcs..pdf

Notice technique d'utilisation de la réglette

Le classement mesuré à la réglette est basée sur la mesures de 2 variables (*cf.* figure 1) :

• **G** : l'épaisseur de gras, visible sur la fente, à sa partie la plus faible recouvrant le muscle *gluteus medius* (en mm).
• **M** : l'épaisseur de muscle lombaire, visible sur la fente, comme distance la plus courte entre la partie antérieure (crâniale) du muscle *gluteus medius* et le bord supérieur (dorsal) du canal rachidien (en mm).

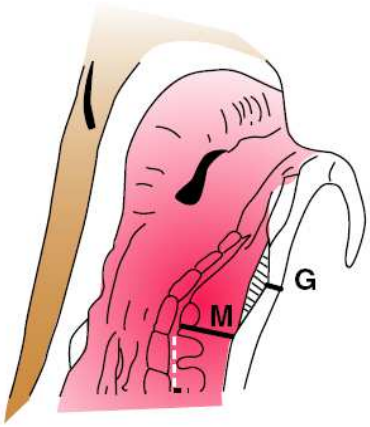


Figure 1

<u>Mode d'emploi de la réglette :</u>

4 étapes sont nécessaires pour effectuer la mesure du classement à la réglette :

1- Repérage du muscle fessier moyen sur la fente,
2- Mesure de l'épaisseur minimale de gras à la fente (G) et lecture directe sur la réglette de la valeur de TMP due au gras, (*cf.* figure 2) : 62 % de TMP

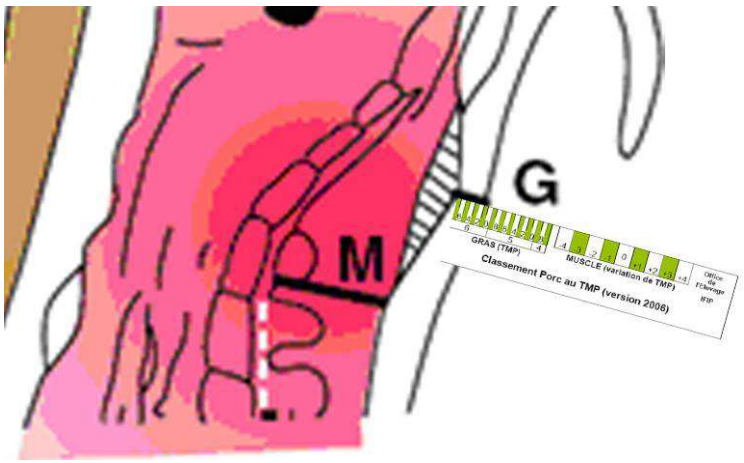


Figure 2

3- Mesure de l'épaisseur minimale de muscle à la fente (M) et lecture automatique sur la réglette de la variation de TMP due au muscle, (*cf.* figure 3) : - 4
4- Calcul du TMP : somme des 2 valeurs précédentes (ex. de la figure 3 : 63 - 4 = 59 TMP) et marquage sur la carcasse.



Figure 3

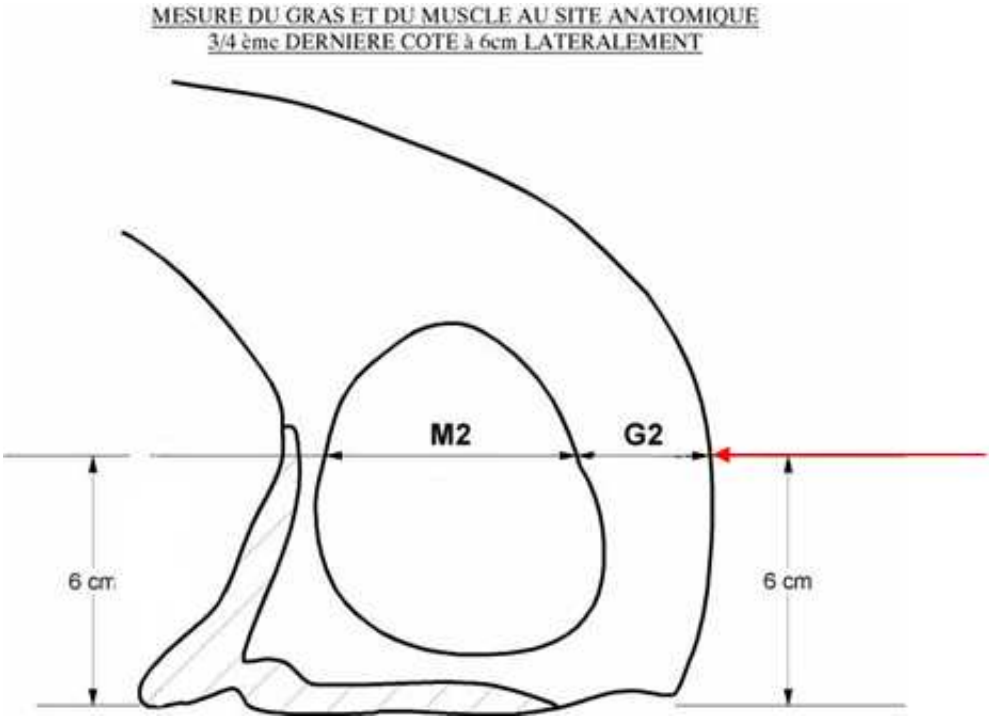
<u>Le TMP calculé doit être de 59 %</u>

Document 3

Le CGM



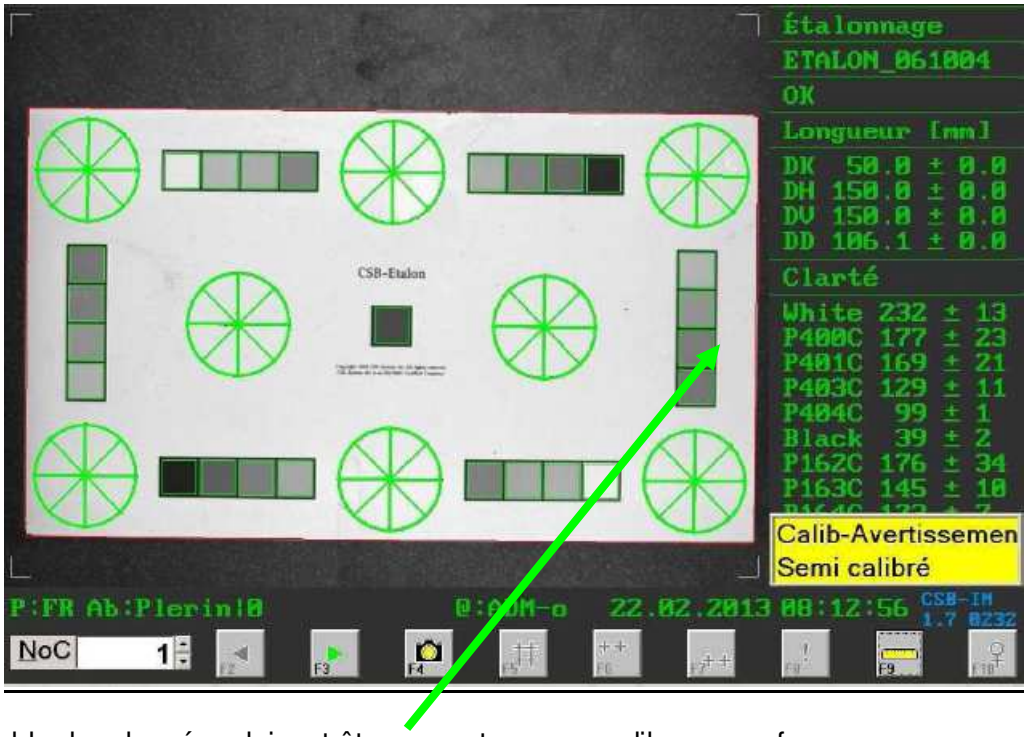
Mesure des 2 variables : G2 et M2 :



Pour être conforme une piqûre doit :
- se situer entre les 3ème et 4ème dernières côtes,
- se situer à 6 cm de l'axe du canal rachidien et parallèle à la colonne vertébrale,
- être horizontale.

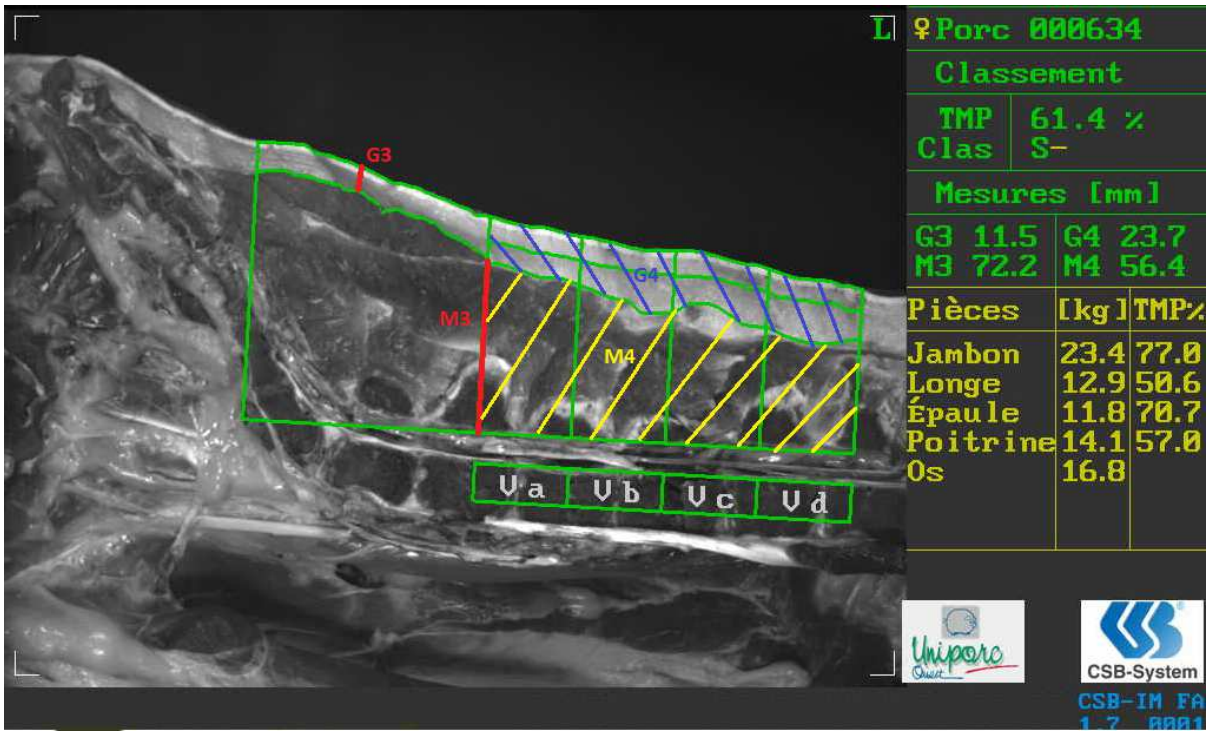
L'Image-Meater

- **Etalon IM :**



L'ensemble des données doivent être en vert pour un calibrage conforme.

Exemple d'image :



Annexe B : Ancrage des myofibrilles dans le costamère.

Cette illustration « Ancrage des myofibrilles dans le costamère et structure détaillée du costamère », d'après Feher, 2017 apporte un complément d'information à la section 2.1.2.4 « Protéines du cytosquelette et transmembranaires » page 48. Elle détaille la structure du complexe protéique formant le costamère ainsi que la façon dont sont reliése les myofibrilles à la matrice extracellulaire permettant la transmission de la force de contraction à l'ensemble du tissu musculaire.

J. Feher : 3.5 - Contractile Mechanisms in Skeletal Muscle. In J. Feher, éd. : Quantitative Human Physiology (Second Edition), p. 305–317. Academic Press, Boston, jan. 2017. ISBN 978-0-12-800883-6. URL https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800883-6.00028-8

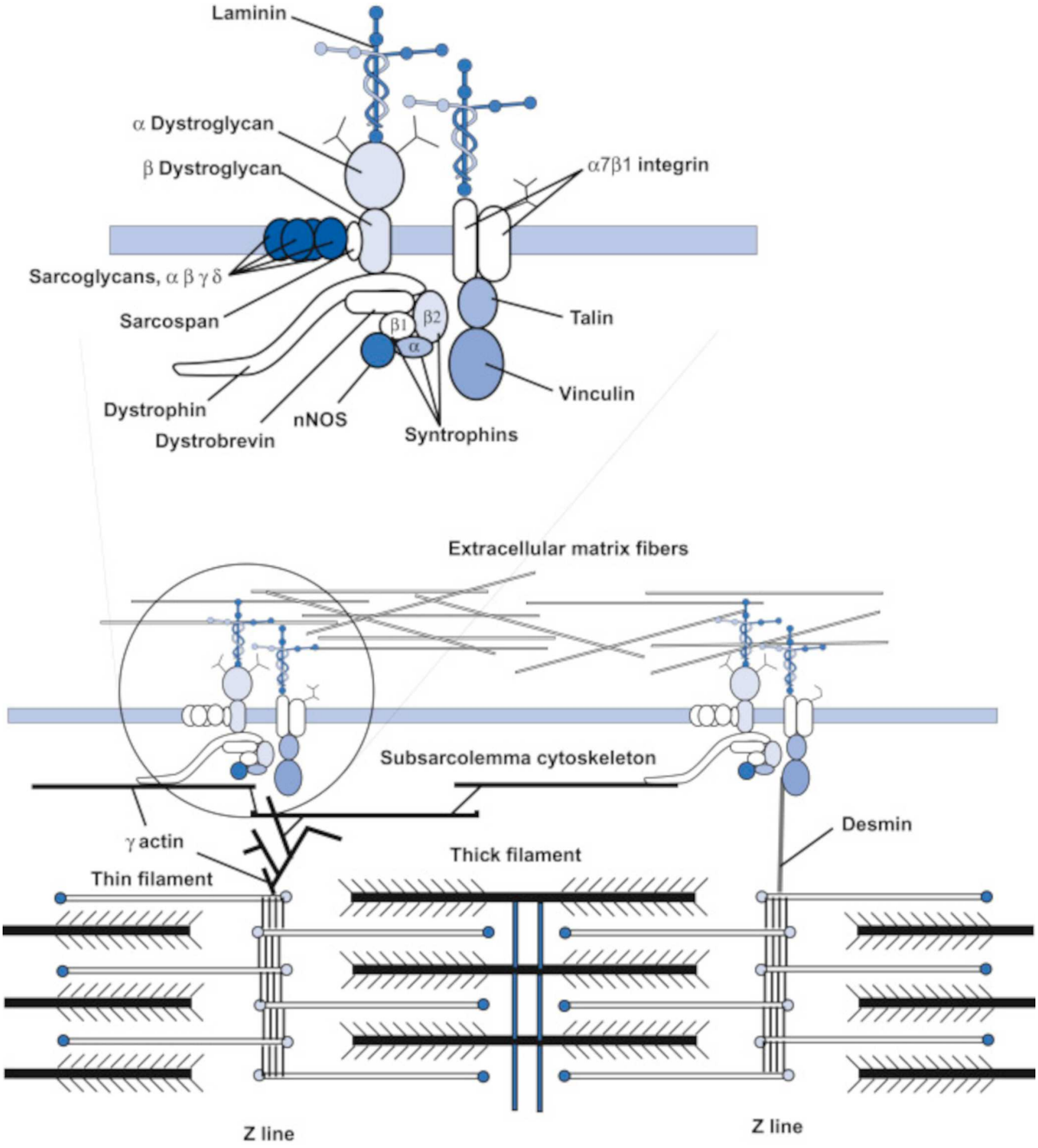


FIGURE 11.3 – **Ancrage des myofibrilles dans le costamère.** D'après Feher, 2017

Annexe C : Protéines impliquées dans l'ultrastructure des myofibrilles et myofibres.

Dans ce tableau, sont listées les protéines impliquées dans la structure des sarcomères et l'ancrage des myofibrilles au sarcolemme tel que discuté dans « Microstructure d'un sarcomère » page 46 et « Protéines du cytosquelette et transmembranaires » page 48. Ces protéines peuvent être regroupées en trois catégories, les protéines contractiles, les protéines de régulation de la contraction sarcomérique et les protéines de structure qui garantissent d'une part l'intégrité de la structure du sarcomère et d'autre part l'ancrage des myofibrilles dans le sarcolemme pour permettre la transmission efficace des forces de contraction au muscle dans son entier et par son intermédiaire à l'organisme (voir Peter et al., 2011 ; Jaka et al., 2015 ; Ca et al., 2017 pour revue), ce qui en fait de bons candidats fonctionnels pour la qualité des produits carnés.

C. A. Henderson, C. G. Gomez, S. M. Novak, L. Mi-Mi et C. C. Gregorio : Overview of the Muscle Cytoskeleton. Comprehensive Physiology, 7(3) :891–944, juin 2017. ISSN 2040-4603. URL https://doi.org/10.1002/cphy.c160033.

O. Jaka, L. Casas-Fraile, A. L. d. Munain et A. Sáenz : Costamere proteins and their involvement in myopathic processes. Expert Reviews in Molecular Medicine, 17, 2015. ISSN 1462-3994. URL https://doi.org/10.1017/erm.2015.9.

A. K. Peter, H. Cheng, R. S. Ross, K. U. Knowlton et J. Chen : The costamere bridges sarcomeres to the sarcolemma in striated muscle. Progress in Pediatric Cardiology, 31(2) :83–88, mai 2011. ISSN 1058-9813. URL https://doi.org/10.1016/j.ppedcard.2011.02.003

Protéines impliquées dans la contraction. Elles interagissent entre elles pour générer le mouvement lors de la contraction musculaire.	
Actine	Composant principal du filament fin. Chaque molécule d'actine possède un site d'ancrage pour les têtes de myosine permettant le déplacement du filament épais sur le filament fin.
Myosine	Protéine constituant le filament épais. Elle possède une tête mobile qui possède un site d'ancrage sur l'actine et dont le mouvement permet une « marche en avant » du filament épais sur le filament fin provoquant ainsi la contraction du sarcomère.
Protéines impliquées dans la régulation de la contraction. Par leur conformation, ces protéines contrôlent le processus de contraction.	
Tropomyosine	Composant du filament fin, cette protéine s'enroule autour de l'actine et couvre les sites de fixation de la myosine lorsque le muscle est au repos.
Troponines	Composant du filament fin, ces protéines forment un complexe qui change de conformation sous l'influence du signal nerveux d'excitation musculaire. Ce changement de conformation permet le déplacement de la tropomyosine libérant ainsi les site de fixation des têtes de myosine sur l'actine.
Protéines impliquées dans la structure du sarcomère. Elles assurent l'alignement et le positionnement correct des myofilaments dans le sarcomère.	
α-actine	Composant principal de la ligne Z, cette protéine assure l'ancrage et le positionnement des filaments fins, de la nébuline et de la titine dans la ligne Z.
Myomésine	Protéine structurale de la ligne M, cette protéine permet l'ancrage de la titine et l'alignement des filaments épais les uns par rapport aux autres.
Nébuline	Protéine de structure qui garantit et assure l'ancrage du filament fin dans la ligne Z. Cette protéine pourrait également un rôle dans la stabilité du filament fin.
Obscurine	Permet l'ancrage du sarcomère au niveau de l'ankyrine une protéine transmembranaire du réticulum sarcoplasmique.
Titine	Protéine élastique impliquée dans le contrôle de l'assemblage des protéines sarcomériques, qui garantit la stabilité du sarcomère et qui régule l'élasticité de celui-ci.
Tropomoduline	Protéine se fixant aux extrémités des fibres d'actines. Cette protéine contrôle la polymérisation donc la croissance des fibres d'actines lors de leurs synthèses et garantit la stabilité de celles-ci.
Protéines impliquées dans l'ultrastructure et le cytosquelette du myocyte. Elles assurent l'alignement et le positionnement correct des myofibrilles dans la cellule musculaire ainsi que la transmission de la force générée par la contraction des sarcomères.	

Desmine	Protéines constituant un filament intermédiaire qui lie les myofibrilles aux membranes nucléaire et cellulaire garantissant l'ancrage et le positionnement de celles-ci dans la cellule.
γ-actine & Kératines	Filaments intermédiaires qui lient les structures sarcomériques au sarcolemme via les protéines transmembranaires du costamère.

Protéines costamérique. Le costamère assure l'ancrage des myofibrilles dans le sarcolemme ainsi que la transmission de la force générée par la contraction des sarcomères. Il est composé de deux éléments : le complexe dystrophine-glycoprotéine et le système vinculine-taline-integrine.

Les protéines du complexe dystrophine–glycoproteine (DGC).

Dystrophine

Dystrobrevine

Syntrophine

Sarcospan

Sarcoglycan

Dystroglycann

Composé d'un assemblage protéique, le DGC assure la connexion physique entre les myofibrilles et la matrice extra-cellulaire. La dystrophine est une protéine du cytosquelette qui relie les filaments fins d'actine du sarcomère au β-dystroglycan protéine transmembranaire du complexe dystrophine–glycoproteine. Les syntrophines α, $\beta 1$ et $\beta 2$ et la dystrobrevine sont des éléments indispensables à la stabilité de la partie sarcoplasmique du complexe. Le sarcospan et les sarcoglycans α, β, γ et δ assurent la stabilité du complexe dans la membrane sarcoplasmique. Enfin, les dystroglycans α et β permettent l'interaction entre les protéines sarcoplasmiques du complexe et la matrice extra-cellulaire via un ancrage dans cette matrice par l'intermédiaire de la laminine.
Plusieurs myopathies ont été associées à l'absence ou à des variants dans les séquences de ces protéines. La Dystrophie Musculaire de Duchenne est due à l'absence de dystrophine. Cette absence se traduit par une fragilité du sarcolemme et une mauvaise transmission mécanique des forces de contraction. Cette fragilité induit un processus de régénération itératif qui *in fine* se traduit par une perte de myofibre et l'apparition de tissus fibreux. D'autres myopathies ont été associées à des variants alléliques affectant les sarcoglycan ou dystroglycan.

Les protéines du système vinculine-taline-integrine.

Vinculine

Taline

Integrine

Localisées dans le sarcoplasme, la vinculine et la taline relient l'α-actine, composant de la ligne Z, au sarcolemme par l'intermédiaire des intégrines α et β qui sont des protéines transmembranaires. L'extrémité extra cellulaire des integrines est quant à elle ancrée dans la matrice extracellulaire par l'intermédiaire de sa liaison avec la laminine.

Annexe D : Métabolisme glycolytique et glycogénolytique.

Détail des réactions composant les voies métabolique de la glycolyse et de la glycogénolyse évoquée dans « Le métabolisme anaérobie lactique ou métabolisme glycolytique » page 56. D'après Baker *et al.*, 2010

J. S. Baker, M. C. McCormick et R. A. Robergs : Interaction among Skeletal Muscle Metabolic Energy Systems during Intense Exercise. Journal of Nutrition and Metabolism, 2010. ISSN 2090-0724. URL https://doi.org/10.1155/2010/905612

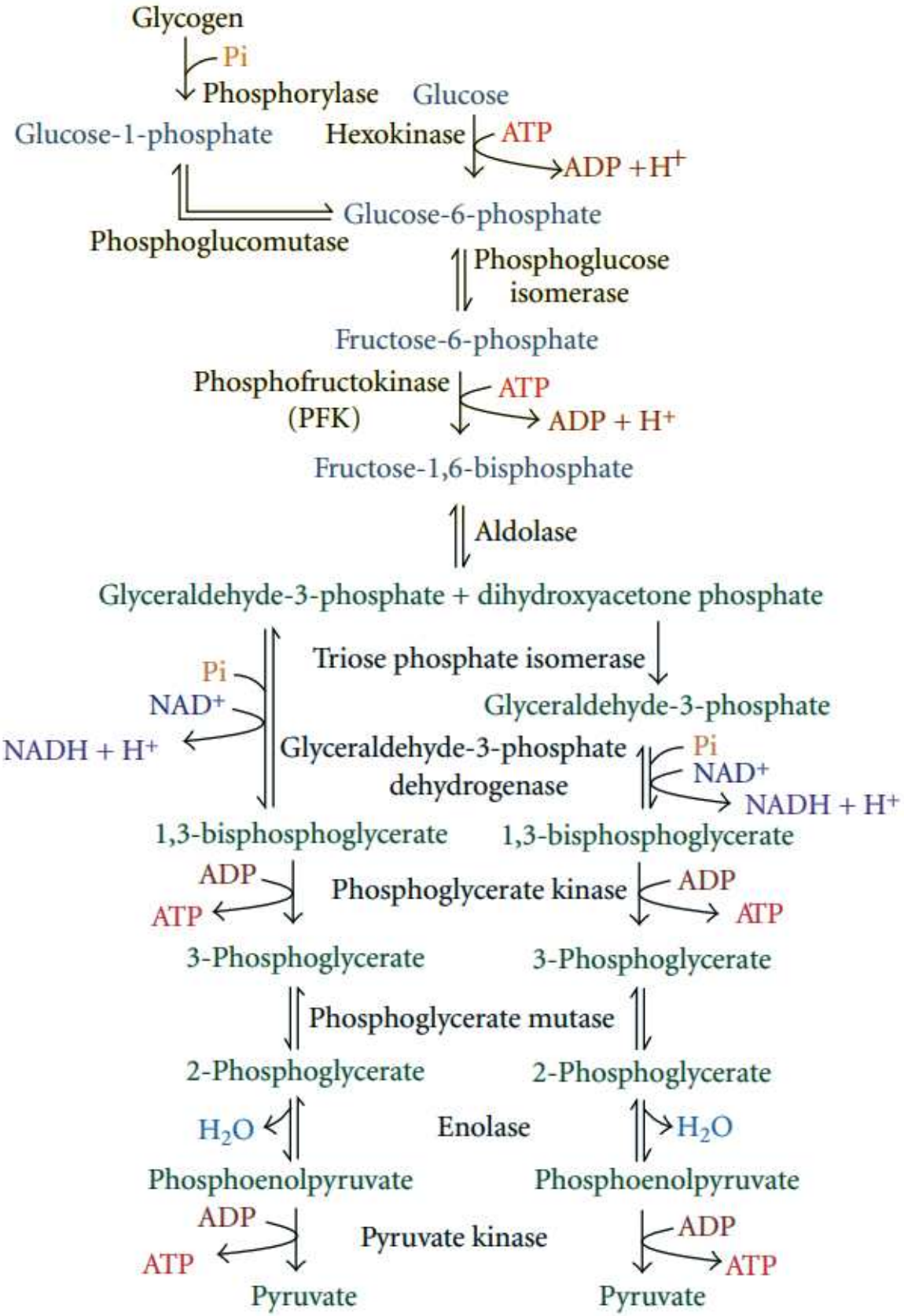


FIGURE 11.4 – **Métabolisme glycolytique et glycogénolytique.** D'après Baker *et al.*, 2010

Annexe E : Sites de mesure du pH sur la carcasse à l'abattoir.

Comme précisé dans la section 3.3.1 « La mesure du pH » page 80, les sites de mesure du pH sur les carcasses sont strictement définis. Sur la figure suivante, les deux sites de mesures sont détaillés.

- La position 1 correspond à une mesure sur le jambon. Cette mesure est effectuée dans le muscle SM (Muscle *semimembranosus*) à 5 cm au-dessus du quasi et entre 2 et 3 cm de profondeur (Ministère de l'alimentation, de l'agriculture et de la pêche, 2010). Ce site est utilisé pour la mesure du pH1 et du pHu sur pièce découpée ;
- La position 2 correspond à une mesure effectuée sur la longe dans le LM (Muscle *longissimus dorsi*) entre la 13ème et la 14ème côte à 5 cm de profondeur.

.

Ministère de l'alimentation, de l'agriculture et de la pêche. Arrêté du 22 juillet 2010 fixant les exigences et recommandations en matière de certification de conformité de la viande de porc, Pub. L. No. AGRT1018108A (2010). URL https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?idTexte=JORFTEXT000022737241&dateTexte=20200813. Consulté le 13 août 2020.

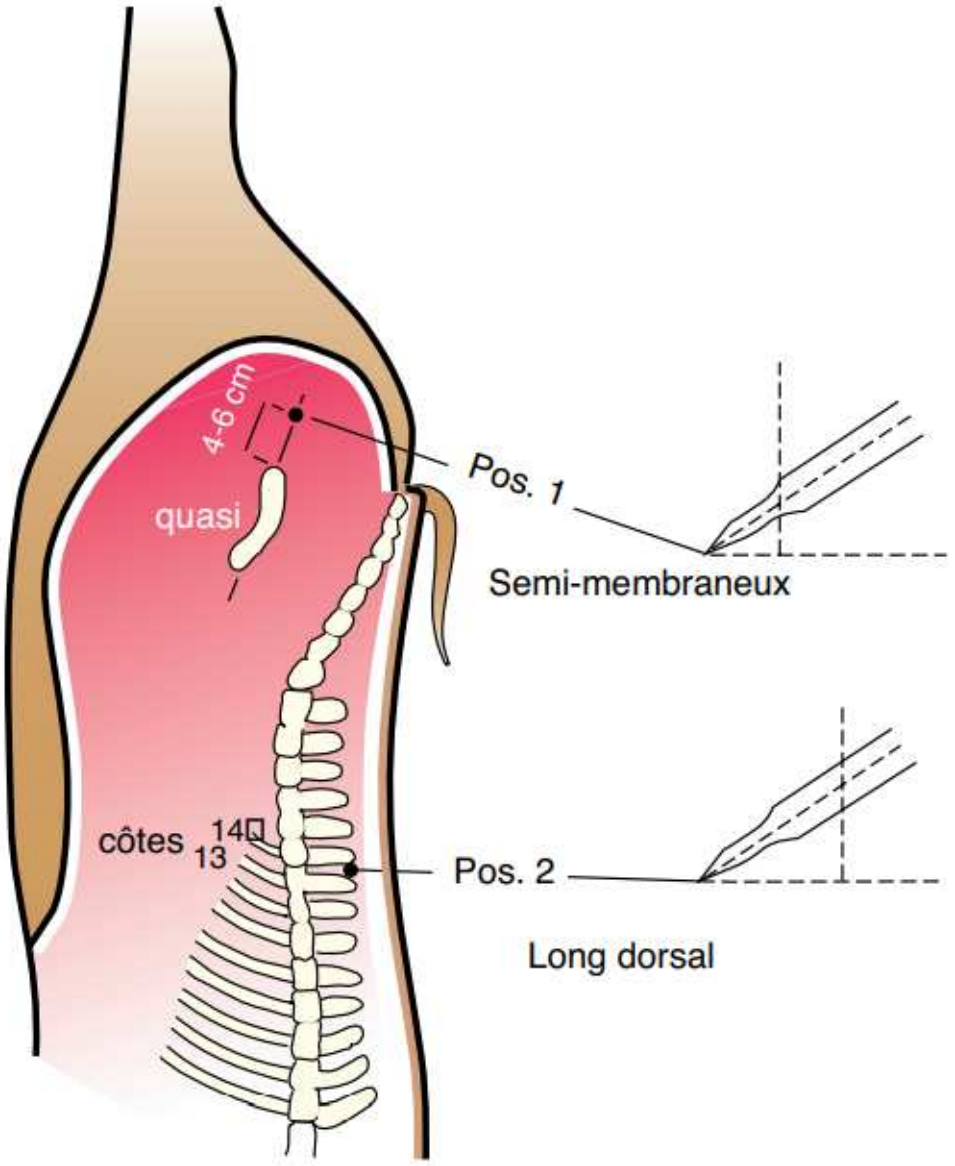


FIGURE 11.5 – **Sites de mesure du pH sur carcasse à l'abattoir.** D'après le fascicule de l'ITP « Trier la viande de porc selon la qualité » consulté le 25 juin 2020 sur le site https://www.ifip.asso.fr/sites/default/files/pdf-documentations/trier_qualite.pdf

Annexe F : Caractéristiques de différentes lignées femelles et lignées mâles utilisées en sélection en France.

Ce document apporte un complément à la section traitant de la sélection porcine Française (5.2« État des lieux pour la filière porcine » - page 135) en détaillant les caractéristiques recherchées dans les différentes populations d'animaux en sélection. Ce document est issu d'une plaquette de l'IFIP présentant « La génétique porcine française » consulté le 10 juin 2021 sur le site https://www.ifip.asso.fr/sites/default/files/pdf-documentations/plaquette_france.pdf

Les lignées femelles ♀

Les principaux axes de sélection des lignées femelles portent sur :
- *La **productivité numérique des truies** (le nombre de porcelets nés vivants, le nombre de porcelets sevrés, le rythme de reproduction,…)*
- *Les **qualités maternelles des truies** (la capacité des truies à sevrer les porcelets, le nombre de tétines, la capacité laitière des truies, l'homogénéité du poids des porcelets à la naissance,…)*
- *Les **caractères de production** (la croissance, la composition corporelle, …)*

♂ Les lignées mâles

Les principaux axes de sélection des lignées mâles portent sur :
- *La **croissance des animaux** en engraissement*
- *L'**efficacité alimentaire***
- *La **composition des carcasses** (épaisseurs de lard, taux de muscle,…)*
- *La **qualité de la viande** (rétention d'eau, gras intramusculaire,…)*

Lignées Large White femelle
- *Grande résistance et facilité d'adaptation*
- *Excellente prolificité*
- *Bonne vitesse de croissance*
- *Bon indice de consommation*
- *Bonne qualité de viande*

Lignées Landrace Français
- *Bonne prolificité*
- *Bonnes qualités maternelles*
- *Bonnes performances d'engraissement*
- *Bonne qualité de viande*

Lignées Piétrain
- *Excellent indice de consommation*
- *Taux de muscle exceptionnel*
- *Prise en compte du génotype Halothane dans les programmes de sélection*
- *Bonne conformation*

Lignées Large White mâle
- *Croissance exceptionnelle*
- *Bon taux de muscle*
- *Bonne qualité de viande*

Lignées sino-européennes
- *Développées à partir des années 1980*
- *Allient la prolificité et les qualités maternelles des races chinoises et les performances de croissance et de composition corporelle des races européennes*

Lignées Duroc femelle
- *Rusticité et robustesse*
- *Excellente qualité de viande*
- *Bonnes performances de croissance*
- *Souvent utilisée en croisement 3 voies*

Lignées Duroc mâle
- *Rusticité et robustesse*
- *Bonnes performances de croissance*
- *Bon indice de consommation*
- *Réputé pour la qualité de viande et le gras intramusculaire*

Lignées synthétiques
Créées à partir des principales races, elles allient :
- *Excellentes performances de croissance*
- *Bon indice de consommation*
- *Taux de muscle élevé*
- *Bonne qualité de viande*

Frédéric Hérault

Analyse du déterminisme génétique de la qualité de la viande de porc : une approche combinant génétique et génomique

Résumé

La qualité de la viande est définie par un ensemble de critères déterminants pour le consommateur ou pour l'industrie de transformation. Cependant, ces caractères (couleur, pH, pertes en eau…) ne peuvent être mesurés que *post-mortem* sur des collatéraux aux candidats à la sélection. L'identification de nouveaux prédicteurs mesurables directement sur les candidats ou de marqueurs génétiques associés à la qualité des viandes devrait permettre d'améliorer la réponse à la sélection. L'analyse des transcriptomes des muscles *longissimus dorsi* et *semimembranosus* a permis de mettre en évidence la forte spécificité du transcriptome musculaire. Parallèlement, l'analyse de la variabilité génétique des transcrits du muscle *longissimus* a permis de montrer leur intérêt en tant que prédicteurs de la qualité des viandes. Enfin, les analyses génétiques ont permis d'affiner la localisation de nombreux QTL et d'identifier plusieurs gènes candidats dont le gène *RB1* localisé dans un QTL régulant à la fois l'épaisseur de la longe et l'expression de deux gènes connus pour être impliqués dans le métabolisme des acides gras et la différentiation des cellules adipogéniques.

Mots clés : Porc, qualité des viandes, QTL, génétique, génomique, expression génique.

Résumé en anglais

Analysis of the genetic determinism of pork meat quality: a study that combined genetic and genomic.

Meat qualities are of the utmost importance for both consumers and the processing industries. However, meat quality trait predictors (meat color, pH, drip loss…) imply *post-mortem* measurements on the relatives of selection candidates. In such a situation, using alternative, non-destructive, selection criteria easily measurable on selection candidates themselves or marker-assisted selection could lead to greater genetic gain than phenotypic selection. *Longissimus dorsi* et *semimembranosus* transcriptome analysis shed light on dissimilar muscular transcriptome profile. Genetic variability of transcript abundance analysis highlighted heritable LM transcripts genetically correlated with pig meat quality traits which could be used as new selection criteria. Finally, genetic analyses allowed us to refine the location of previously identified QTL and pointed out several candidate genes among which *RB1* gene which is located in the same locus than a QTL associated with loin muscle depth variability and transcript abundance variability of two genes involved in lipid and fatty acid metabolic process and positive regulation of fat cell differentiation.

Key words: Pig, meat quality, QTL, genetic, genomic, gene expression