



HAL
open science

Effets de la vitesse de glycolyse post mortem du muscle de dinde : Une analyse biochimique et protéomique

Sunee Eadmusik

► **To cite this version:**

Sunee Eadmusik. Effets de la vitesse de glycolyse post mortem du muscle de dinde : Une analyse biochimique et protéomique. Sciences du Vivant [q-bio]. Institut National Polytechnique (Toulouse), 2008. Français. NNT : 2008INPT015A . tel-02818841

HAL Id: tel-02818841

<https://hal.inrae.fr/tel-02818841>

Submitted on 21 Feb 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par *S.E.V.A.B.*

Discipline ou spécialité : *Sciences Agronomiques*

Présentée et soutenue par *Mlle Sunee EADMUSIK*

Le 24 Novembre 2008

Titre : *Effets de la vitesse de glycolyse post mortem du muscle de dinde :
Une analyse biochimique et protéomique*

JURY

Mme BERRI Cécile : Chargée de recherches INRA de Tours
Mme MOLETTE Caroline : Maître de Conférences INPT-ENSAT
Mr. REMIGNON Hervé : Professeur INPT-ENSAT

Ecole doctorale : *S.E.V.A.B.*
Unité de recherche : *UMR 1289 TANDEM*
Directeur(s) de Thèse : *Pr. REMIGNON hervé*
Rapporteurs : *Mme PICARD Brigitte*
Mr. CLINQUART Antoine

À mes parents

Pour leur soutien et leur patience à attendre mon retour

Et à tous ceux qui me sont chers

REMERCIEMENTS

Ce travail a été effectué au sein de l'UMR INRA/INPT-ENSAT/ENVY 1289 « Tissus Animaux, Nutrition, Digestion, Ecosystèmes et Métabolisme (TANDEM) » à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse (ENSAT). Je tiens à exprimer ici mes remerciements à toutes les personnes qui m'ont permis de réaliser ce travail.

Je remercie M^{me} Brigitte PICARD et M. Antoine CLINQUART pour avoir accepté d'évaluer ce travail en tant que rapporteurs.

Je remercie également M^{me} Cécile BERRI qui m'a fait l'honneur d'examiner ma thèse.

J'exprime mes plus sincères remerciements à M. Hervé REMIGNON, Professeur à l'ENSAT et le président du jury, pour avoir accepté de diriger mon travail de thèse, pour m'avoir conseillée et guidée dans la réalisation scientifique de ce travail.

J'adresse mes remerciements à M^{me} Caroline MOLETTE, Maître de Conférences à l'ENSAT, qui depuis la première année, n'a cessé de me faire bénéficier de ses conseils et de son soutien. Qu'elle soit assurée de ma plus profonde reconnaissance et de tous mes remerciements pour son aide et ses suggestions lors de la rédaction de ce manuscrit.

Je souhaite également remercier M. Michel DUCLOS, Directeur de l'Unité de Recherches Avicoles de l'INRA de Tours-Nouzilly et M^{me} Estelle GODET qui m'ont accueillie et m'ont aidée pour les expériences de transcriptomique.

Merci à M. Christophe CHAMBON et à M. Jérémy PINGUET de la Plateforme d'Exploration du Métabolisme : Pôle protéomique de l'INRA de Clermont-Ferrand-Theix et aussi à M. Michel ROSSIGNOL et M^{me} Carole PICHEREAUX de l'Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale-Plateforme

Protéomique de Toulouse pour leur soutien technique et leurs analyses en spectrométrie de masse.

Je souhaite également présenter ici tous mes remerciements à M. Jean-François HOCQUETTE, Directeur de l'Unité de Recherche sur les Herbivores de l'INRA de Clermont-Ferrand-Theix, et à M. David CHADEYRON pour avoir réalisé une partie des mesures d'activité enzymatique.

Merci à M. F. BERTEAUD, responsable qualité de l'abattoir Gastronomique à Moncoutant pour avoir permis l'accès à leurs installations pour faire des prélèvements d'échantillons et à M. Rabih EL RAMMOUZ sans qui une partie de ce travail n'aurait pas pu être réalisée.

Je remercie aussi M. Xavier FERNANDEZ, Directeur de l'UMR TANDEM de l'ENSAT, qui m'a accueilli au sein de son laboratoire. Je souhaite également présenter ici tous mes remerciements à Mesdames Hélène MANSE, Valérie MONTEILS, Corinne PAUTOT, Zulma VITEZICA et Messieurs René BABILE, Michel BOUILLIER-OUDOT, Dominique HAZARD et Stéphane SEIDLINGER pour leurs conseils techniques avisés, leur amitié, leur gentillesse et leur participation lors des prélèvements sur les animaux.

Merci aussi à l'ensemble du personnel du laboratoire et aux doctorants et stagiaires et plus particulièrement à M. Wittawat MOLEE et à M^{me} Awanwee PETCHKONGKEAW qui m'ont gentiment accueilli lors de mon premier jour en France. Merci à tous mes amis qui m'ont soutenu pendant ces années difficiles.

Je voudrais enfin remercier l'Ambassade de France en Thaïlande et M. Teeravut BOONYASOPON, le Président de King Mongkut's University of Technology North Bangkok (KMUTNB, Thaïlande) et M^{me} Kamontip SAJJAANATAKUL, Vice Doyen de la faculté des Industries Alimentaires qui m'ont permis de réaliser mon doctorat en France.

Que chacun veuille trouver ici le témoignage de mon amitié

LISTE DE PUBLICATIONS

Article :

EADMUSIK S., MOLETTE C., REMIGNON H. et FERNANDEZ X.
Different rates of glycolysis affect glycolytic activities and protein properties in turkey breast. *Animal* : (2008, in press).

Communication orale :

REMIGNON H., MOLETTE C., **EADMUSIK S.**, FERNANDEZ X., 2007,
Coping with the PSE syndrome in poultry meat. *Proceedings of XVIII European Symposium on the Quality of Poultry Meat*, Prague, (République Tchèque). 2-5 Septembre (8 pages).

Poster :

EADMUSIK S., MOLETTE C., EL RAMMOUZ R., HOCQUETTE J.F.,
REMIGNON H., FERNANDEZ X. Vitesse de chute du pH et profils biochimiques et enzymatiques du muscle pectoral de dinde. *Proceedings des 12^{èmes} Journée de Sciences du Muscle et Technologies de la Viande*, Tours, France, 8-9 Octobre 2008.

LISTE DES ABREVIATIONS

ACP	Analyses en Composantes Principales
ADNc	Acide DésoxyriboNucléique complémentaire
ADP	Adénosine DiPhosphate
AMP	Adénosine MonoPhosphate
ASS	Avian Stress Syndrome
ATP	Adénosine TriPhosphate
BUT	British United Turkey
CIE	Commission International de l'Eclairage
COX	Cytochrome c Oxidase
DFD	Dark Firm Dry
DHAP	DiHydroxyAcétone Phosphate
DTNB	5,5' DiThiobis-2-NitroBenzoate
EC	Enzyme Commission number
G-3-P	Glycéraldéhyde-3-Phosphate
GAPDH	GlycérAldéhyde 3-Phosphate DésHydrogénase
Glucose-6-P	Glucose-6-Phosphate
GN	Glycolyse Normale
GR	Glycolyse Rapide
HIS	High Ionic Strength
HMM	Méromyosine lourde
IMP	Inosine MonoPhosphate
<i>K_m</i>	constante de Michaëlis
LDH	Lactate DésHydrogénase
LIS	Low Ionic Strength
LMM	Light MéroMyosine
MALDI-TOF	Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time of Flight Mass Spectrometry
NCBI	National Centre for Biotechnology Information
PC	PhosphoCréatine
PFK	PhosphoFructoKinase

PG	Potentiel Glycolytique
pHu	pH ultime
pI	point Isoélectrique
<i>PM</i>	<i>Pectoralis major</i>
PM	Poids Moléculaire
PRE	Pouvoir de Rétention en Eau
PSE	Pale, Soft, Exudative
qRT-PCR	quantitative-Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
RFN	Red, Firm, Dry
RN	Rendement technologique Napole
RYR	Récepteur à la Ryanodine
SDS-PAGE	Sodium DodecylSulfate PolyAcrylamide Gel Electrophoresis
TnC	Troponine C
TnI	Troponine I
TnT	Troponine T
<i>Vmax</i>	Vitesse maximale

TABLE DES MATIERES

I. INTRODUCTION	1
II. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
1. Les muscles	3
<i>1.1 Les protéines sarcoplasmiques</i>	<i>6</i>
<i>1.2 Les protéines myofibrillaires</i>	<i>6</i>
1.2.1 Les protéines des filaments épais.....	7
1.2.2 Les protéines du filament fin	8
<i>1.3 Les protéines cytosquelettiques</i>	<i>9</i>
1.3.1 La titine	9
1.3.2 La nébuline.....	10
1.3.3 La desmine	10
2. Transformation du muscle en viande: rôle fondamental de la glycolyse.....	10
<i>2.1 Rigor mortis</i>	<i>11</i>
<i>2.2 La chute de pH.....</i>	<i>13</i>
3. Le syndrome PSE.....	15
<i>3.1 Caractéristiques des viandes PSE</i>	<i>15</i>
3.1.1 La couleur pâle.....	16
3.1.2 Le faible pouvoir de rétention en eau.	17
3.1.3 La texture molle	19
<i>3.2 Origines des viandes PSE.....</i>	<i>21</i>
3.2.1 Le type génétique	22
3.2.2 Les facteurs ante mortem	24
3.2.3 Les facteurs post mortem	26
4. Les modifications des protéines dans les viandes PSE	27
<i>4.1 Les enzymes glycolytiques et la qualité de la viande PSE</i>	<i>30</i>
4.1.1 la phosphofruktokinase ou PFK.	30
4.1.2 la GAPDH.....	31

4.1.3 l'aldolase A	33
4.2 Interactions entre enzymes glycolytiques.....	34
4.2.1 PFK et Fructose-1,6-bisphosphatase.....	34
4.2.2 Aldolase A et Fructose-1,6-bisphosphatase	34
4.2.3 Aldolase A et Lactate déshydrogénase	35
III. MATERIEL ET METHODES.....	36
Les animaux et les prélèvements	36
1. Mesure des propriétés technologiques	37
1.1 Mesures du pH.....	37
1.2 Mesure de la couleur	37
1.3 Evaluation du pouvoir de rétention en eau.....	37
1.3.1 Mesures des pertes à la conservation, à la décongélation et à la cuisson ...	38
1.3.2 Mesure du rendement technologique NAPOLE	38
1.3.3 Elaborations de pâtes fines.....	39
1.4 Mesure de la texture	39
1.4.1 Test de cisaillement.....	39
1.4.2 Test de compression bicyclique	40
2. Les analyses des protéines musculaires	41
2.1 Extractabilité et dosage des protéines musculaires	41
2.2 Chromatographie échangeuse d'ions	42
2.3 Electrophorèse mono-dimensionnelle en conditions dénaturantes SDS-PAGE.....	43
2.4 Electrophorèses bidimensionnelles	44
2.4.1 L'isoélectrofocalisation (IEF).....	44
2.4.2 La deuxième dimension (SDS-PAGE)	45
2.5 Analyse d'image des gels d'électrophorèse bidimensionnelle.....	45
2.6 Spectrométrie de masse.....	46
2.6.1 Préparation des échantillons	47
2.6.2 Spectrométrie de masse de type MALDI-TOF.....	48
2.6.3 Q-TRAP	48

3. Analyses de propriétés biochimiques des protéines	49
3.1 L'activité enzymatique, l'activité spécifique et les paramètres cinétiques	49
3.1.1 Aldolase A	49
3.1.2 GAPDH.....	51
3.1.3 PFK	51
3.1.4 COX	52
3.2 Western Blot	53
3.3 Détermination du potentiel glycolytique	55
3.4 quantitative-Reverse Transcription PCR (qRT-PCR)	57
3.4.1 L'extraction d'ARN et sa préparation pour la transcription reverse.....	58
3.4.2 Transcription inverse et quantification par PCR.....	59
4. Les analyses statistiques	60
IV. RESULTATS	61
1. Les valeurs du pH à 20 min et à 24h post mortem	61
2. Les propriétés technologiques et organoleptiques de la viande	61
2.1 Les caractéristiques de la viande fraîche	61
2.1.1 La couleur de la viande	62
2.1.2 Le pouvoir de rétention en eau.....	62
2.1.3 Test de cisaillement.....	62
2.2 Les produits transformés	62
2.2.1 Rendement NAPOLE.....	63
2.2.2 Pâte fine de viande	64
3. Les protéines musculaires	64
3.1 Extractabilité des protéines musculaires	64
3.2 Electrophorèses monodimensionnelle de type SDS-PAGE	66
3.3 Western Blots anti-actine et anti- myosine	66
3.4 Chromatographie avec échange d'ions	68
3.4.1 Les protéines à pI acide ou neutre.....	68

3.4.2 Les protéines basiques	68
3.5 <i>Electrophorèses bidimensionnelles et Analyse d'image</i>	70
4. Propriétés biochimiques de certaines protéines	73
4.1 <i>Les activités spécifiques de l'aldolase A, de la GAPDH, de la PFK et de la COX ainsi que les paramètres Michaëliens de l'aldolase A et de la GAPDH.</i>	73
4.2 <i>Western Blot anti- GAPDH</i>	73
4.3 <i>Potentiel glycolytique et principaux produits de la glycolyse anaérobie</i>	73
4.4 <i>Produit de la qRT-PCR pour l'aldolase A</i>	75
V. DISCUSSION	76
1. <i>Paramètres technologiques et sensoriels de la viande</i>	77
2. <i>Paramètres biochimiques et protéomiques</i>	82
3. <i>Hétérogénéité des viandes du groupe GR</i>	93
VI. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	97
VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	100
VIII. ANNEXE	119
LISTE DES TABLEAUX	120
LISTE DES FIGURES	122
RESUME	

INTRODUCTION

TABLEAU 1. Tendance de la consommation de viande (d'après Barbut, 2002)

Type de viande	Croissance de la production (% / an)		Production totale (Millions tonnes)			Consommation (kg/personne)		
	1983-1993	1993-2020	1983	1993	2020	1983	1993	2020
Les pays développés								
Volailles	2,8	1,2	17	26	37	14	20	27
Bœuf	0,4	0,8	32	33	40	27	25	29
Porc	0,9	0,4	35	37	42	29	29	30
Les pays au cours de développement								
Volailles	7,4	3,0	9	21	46	3	5	7
Bœuf	2,8	2,4	17	22	42	4	5	7
Porc	6,1	2,8	21	39	84	6	9	13

I. INTRODUCTION

La viande de volailles est aujourd'hui plus que jamais appréciée des consommateurs (Barbut, 2002 ; Magdelaine *et al.*, 2008). En Europe, elle est le deuxième type de viande le plus consommée après la viande de porc. De l'année 1993 à l'année 2003, la consommation de viande de volailles a augmenté dans presque tous les pays de l'Union Européenne. En 2005, la valeur moyenne de la consommation de viande des volailles en Europe était d'environ 23 kg/personne/an (Magdelaine *et al.*, 2008). La tendance de consommation de viande des volailles est globalement la même dans le monde entier (Barbut, 2002, **TABLEAU 1**).

A coté de cela, les industriels de la viande de volailles font face à de nouveaux problèmes de qualité de la viande et notamment à celui des viandes de couleur pâle, de texture molle et ayant un faible pouvoir de rétention en eau (viande PSE). Ce type de viande est souvent supposé être associé à la sélection d'oiseaux ayant une croissance rapide et/ou avec de hauts rendements en viande (Rémignon, 2007) mais rien n'a encore été démontré de façon claire sur l'étiologie de ce syndrome. Ce défaut de viande ne donne pas seulement des caractéristiques inacceptables du produit fini pour le consommateur, mais doit aussi être considéré comme une source de pertes économiques pour les transformateurs.

L'origine et les facteurs favorables à l'apparition de viande PSE sont bien définis chez le porc. Ces facteurs sont essentiellement une prédisposition génétique associée à des conditions de stress *ante mortem* importantes. Par contre, ceux chez les volailles restent toujours très controversés. Les mauvaises caractéristiques des viandes PSE des volailles sont réputées être le résultat de la combinaison initiale d'un bas pH et d'une température élevée dans le muscle ce qui conduit à une dénaturation des protéines musculaires. Pour expliquer cela, on peut évoquer un phénomène d'accélération de la glycolyse musculaire *post mortem* qui accélérerait la chute du pH musculaire. Récemment, des différences au niveau des deux enzymes les plus représentées dans la voie de la glycolyse (Aldolase A et GAPDH) ont été mises en évidence dans des viandes de dinde ayant une vitesse de chute du pH augmentée (Molette *et al.*, 2005).

Les objectifs de cette étude sont donc d'étudier quelques enzymes glycolytiques qui pourraient être importantes dans le déterminisme de la vitesse de chute du pH chez les volailles mais aussi d'identifier d'autres différences au niveau du protéome en fonction de cette même vitesse de chute du pH. Ceci pourrait conduire à des nouvelles hypothèses sur l'étiologie du syndrome PSE-like chez les oiseaux.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

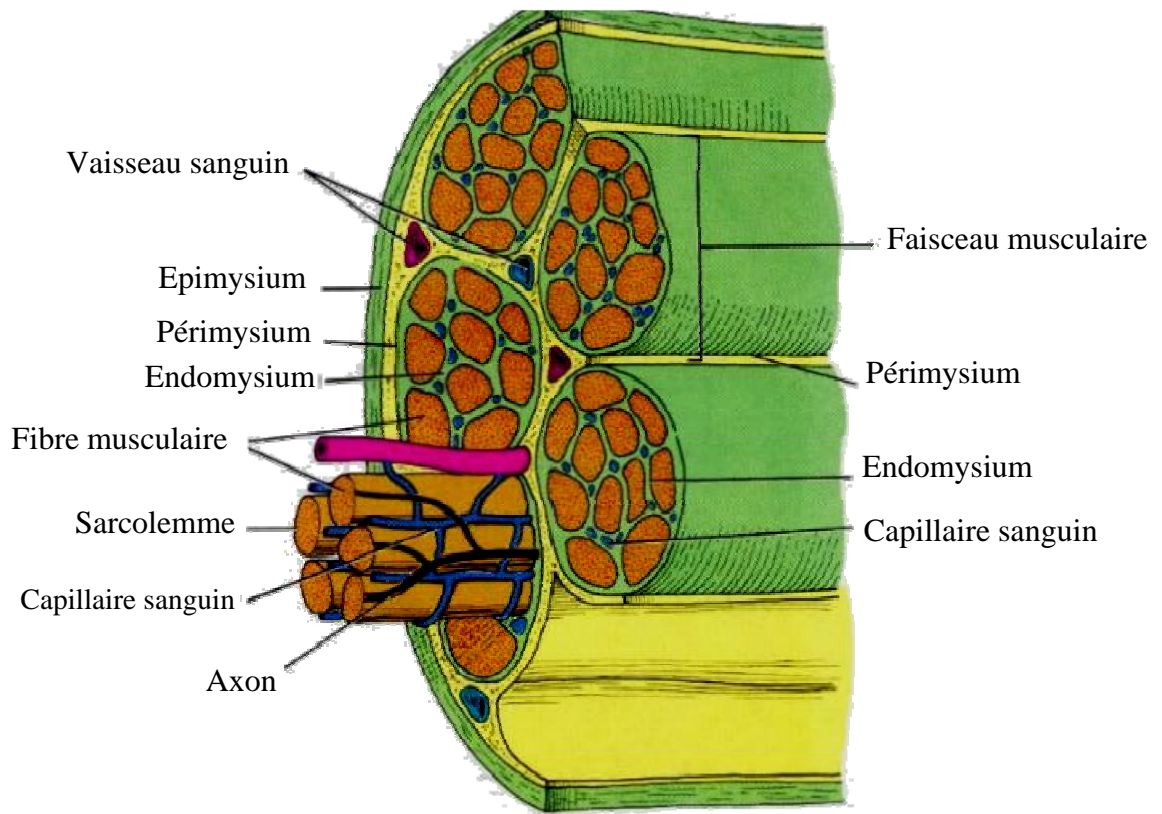


FIGURE 1. Structure du muscle squelettique mettant en évidence l'organisation du tissu conjonctif (<http://www.guntherclass.com/Lecture6.html>, consulté 09/2008)

II. Etude Bibliographique

Dans cette partie bibliographique, nous allons parler de la structure du tissu musculaire et plus particulièrement de la structure des muscles squelettiques qui jouent un rôle essentiel dans le mouvement des animaux vivants et représentent l'essentiel de leur viande après leur mort. La transformation *post mortem* du muscle en viande faisant essentiellement appel aux mécanismes de la voie glycolyse, celle-ci sera aussi détaillée. Enfin, le travail expérimental étant centré autour des problèmes des viandes PSE des volailles, les caractéristiques ainsi que les origines des viandes PSE seront détaillées. Nous nous intéressons aussi aux modifications des protéines musculaires (approche protéomique) telles qu'elles ont pu être étudiées dans les viandes PSE et normales. Enfin, les propriétés biochimiques de quelques enzymes clés du métabolisme musculaire seront également décrites.

1. Les muscles

Chez les vertébrés, il existe trois types de muscles (Beaumont *et al.*, 2004) : i) ; les muscles lisses qui entrent dans la constitution des parois des viscères creux et des vaisseaux ii) ; le muscle cardiaque qui constitue la paroi musculaire du cœur et iii) ; les muscles squelettiques (ou striés) qui s'insèrent sur le squelette par des tendons et apparaissent striés à l'examen microscopique. La fonction principale de ces derniers est la production de force de mouvement par un mécanisme spécifique : la contraction musculaire (Kwasiborski, 2008). Ils permettent donc la conversion d'énergie chimique (sous la forme d'adénosine triphosphate, ATP) en énergie mécanique.

Les muscles squelettiques représentent environ 40 % du poids vif de l'animal et sont constitués à 75 % d'eau, 18-20 % de protéines et 2,5 % de lipides (Lawrie, 1998 et Barbut, 2002) (**TABLEAU 2**). La structure macroscopique du muscle squelettique est illustrée dans la **FIGURE 1**. On y voit que les muscles squelettiques sont composés de nombreux faisceaux de fibres musculaires entourées par un tissu conjonctif nommé **épimysium**. Chaque faisceau musculaire est séparé des autres par un tissu conjonctif appelé **périmysium**. Le faisceau musculaire est donc composé de fibres musculaires qui sont elles-mêmes entourées par une mince gaine de tissu conjonctif appelé **endomysium** (Barbut, 2002).

TABLEAU 2. Composition chimique principale du muscle (d'après Lawrie, 1998)

Composés	%
1. Eau	75
2. Protéines	19
(a) Myofibrillaires	11,5
Myosine	5,5
Actine	2,5
Autres	3,5
(b) Sarcoplasmiques	5,5
Glycéraldéhyde phosphate déshydrogénase	1,2
Aldolase	0,6
Créatine Kinase	0,5
Autre enzymes glycolytiques	2,2
Myoglobine	0,2
Hémoglobine et autres	0,6
3. Lipides	2,5
Triglycérides, Phospholipides	2,5
4. Hydrocarbures	1,2
Dont le glycogène	0,1
5. Sels minéraux (Substances non protéiques)	2,3
Potassium	0,35
Sodium	0,05
Calcium, zinc et traces	0,03
Magnésium	0,02

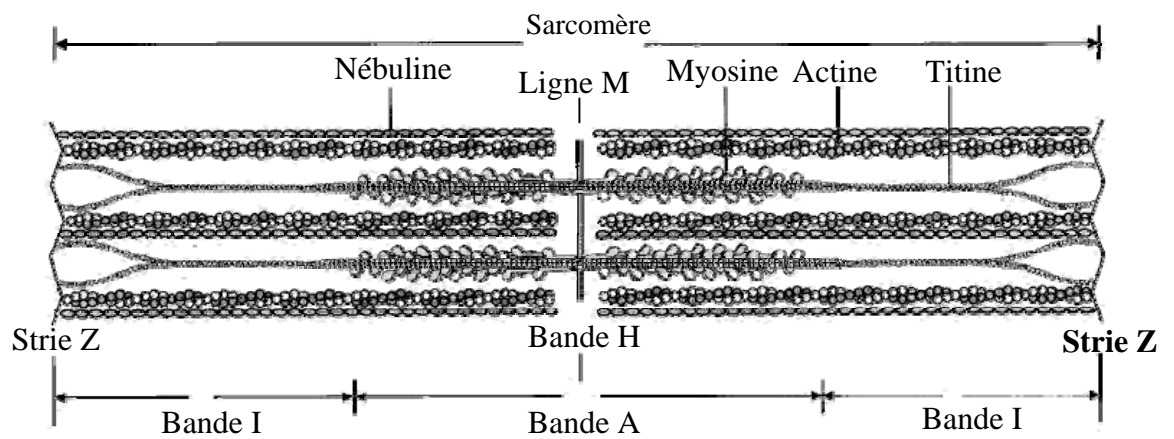


FIGURE 2. Les différents constituants du sarcomère (Keller III, 1995)

TABLEAU 3. Caractéristiques des différents types des fibres musculaires (Von Lengerken *et al.*, 2002)

	Type de fibres			
	Type I	Type IIa	Type IIx	Type IIb
Couleur	rouge	rouge pâle	rouge pâle	blanc
Diamètre de section	petit	moyen	large	très large
Vitesse de contraction	lente	moyenne	rapide	très rapide
Endurance (résistance à l'effort)	forte	moyenne	faible	très faible
Teneur en myoglobine	élevée	moyenne	moyenne	faible
Teneur en lipides	très élevée	élevée	moyenne	faible
Teneur en glycogène	faible	élevée	élevée	élevée
Densité mitochondriales	élevée	élevée	moyenne	faible
Métabolisme énergétique	oxydatif	oxydatif/ glycolytique	oxydatif/ glycolytique	glycolytique

La fibre musculaire striée (10 à 100 μm de diamètre) est entourée d'une membrane formée par l'association de la membrane plasmique et d'une épaisse lame basale riche en glycoprotéines et en fibres conjonctives : l'ensemble forme le sarcolemme (Gilles, 2006). Le sarcolemme délimite le sarcoplasme, cytoplasme de la cellule musculaire. La fibre musculaire est un élément plurinucléé et est occupée par de très nombreuses myofibrilles.

En microscopie optique, les myofibrilles (1 à 2 μm de diamètre) apparaissent striées transversalement et sont formées de sarcomères : des éléments cylindriques de 2 μm de long disposés bout à bout et séparés par les stries Z (Beaumont *et al.*, 2004) (**FIGURE 2**).

Les bandes A (Anisotrope) sont biréfringentes et chacune d'elles occupent le centre du sarcomère alors que les bandes I (Isotrope) chevauchent les stries Z et s'étendent sur deux sarcomères contigus. Enfin, au milieu de la bande A, une zone plus claire constitue la bande H (Beaumont *et al.*, 2004).

Type de protéines de la fibre musculaires

Le type de fibre musculaire est généralement divisé en deux types principaux (**TABLEAU 3**, selon Von Lengerken *et al.*, 2002). **Le type I** (slow twitch oxidative) représente les fibres rouges car riches en myoglobine. Ces fibres ont une faible vitesse de contraction et leur métabolisme principal pour la régénération de l'ATP est essentiellement oxydatif. **Le type II** (fast twitch) représente les fibres blanches car pauvres en myoglobine. Leur métabolisme principal est plutôt de type glycolytique. Ce type de fibre peut encore être subdivisé en 2 sous-groupes : oxido-glycolytic (type IIa) et glycolytique (type IIb). **Le type IIa** (fast twitch oxido-glycolytic) représente les fibres aux caractéristiques intermédiaires ou mixtes et sont de couleur plus rouge. **Le type IIb** (fast twitch glycolytique) représente les fibres purement blanches au métabolisme essentiellement glycolytique, sont très pauvres en myoglobine et riches en enzymes de la glycolyse (Von Lengerken *et al.*, 2002). Ces trois grands types de fibres restent les principaux même si des travaux récents ont mis en évidence la présence de nombreuses autres sous-catégories notamment grâce à l'emploi d'anticorps spécifiques dirigés contre les protéines contractiles. Par exemple, le type IIx a des caractéristiques intermédiaires à celles des fibres de type IIa et IIb (Picard *et al.*, 1998).

TABLEAU 4. Les protéines sarcoplasmiques les plus abondantes dans le muscle, d'après Kijowski (2001)

Nom	Poids Moléculaire (kDa)	Nb de chaînes polypeptidiques	Quantité (g/100g de muscle)	Point isoélectrique (pI)
Glycéraldéhyde-3-phosphate-déshydrogénase	143	4	1,2	8,5
Aldolase	157	4	0,6	9,5
Créatine kinase	86	2	0,5	6,4
Enolase	82	2	0,5	8,8
Lactate déshydrogénase	146	4	0,4	8,6
Pyruvate kinase	231	4	0,3	8,5
Phosphorylase	194	2	0,2	6,3
Triosephosphate isomérase	53	2	0,2	7,0
Phosphoglycéromutase	58	2	0,1	6,2
Phosphoglucose isomérase	132	2	0,1	-
Phosphofructokinase	320	4	0,1	-

Cette typologie classique des fibres musculaires est basée sur leurs propriétés fonctionnelles (vitesse de contraction) et biochimiques (type de métabolisme énergétique dominant). Ces caractéristiques différentes des fibres peuvent également être reliées à des propriétés différentes des protéines qui les constituent. Les protéines musculaires peuvent ainsi être divisées en trois groupes principaux : les protéines sarcoplasmiques, les protéines myofibrillaires et les protéines cytosquelettiques.

1.1 Les protéines sarcoplasmiques

Les protéines sarcoplasmiques composent environ 25% des protéines musculaires. Elles sont solubles dans l'eau ou dans un tampon de faible force ionique (Kijowski, 2001). Elles contiennent une majorité d'enzymes de la glycolyse (**TABLEAU 4**, Kijowski, 2001). Ces enzymes glycolytiques sont physiquement localisées à proximité de l'actine ce qui conduirait à une meilleure efficacité des réactions enzymatiques (Lawrie, 1998). Les enzymes les plus représentées quantitativement sont la glycéraldéhyde-3-phosphate-déshydrogénase (GAPDH) et l'aldolase A (Kijowski, 2001).

Les autres protéines les plus importantes sont des hydrolases, des oxydoréductases et des transférases ainsi que la myoglobine. Parmi les enzymes hydrolytiques, les protéinases ont une importance toute particulière pour le métabolisme *post mortem* dans le muscle et la maturation de la viande (Kijowski, 2001)

1.2 Les protéines myofibrillaires

Les protéines myofibrillaires ne sont pas solubles dans l'eau mais elles le sont dans des solutions salines à 0,6 - 1,0 M (Smyth *et al.*, 1999). Les protéines myofibrillaires occupent 75 à 85 % du volume du sarcoplasme (Xiong, 1994) et constituent 55 % des protéines musculaires (Barbut, 2002). La myosine et l'actine sont les principaux constituants des protéines myofibrillaires (Pérez-Juan *et al.*, 2007). Elles peuvent aussi être identifiées en protéines des filaments épais ou fins.

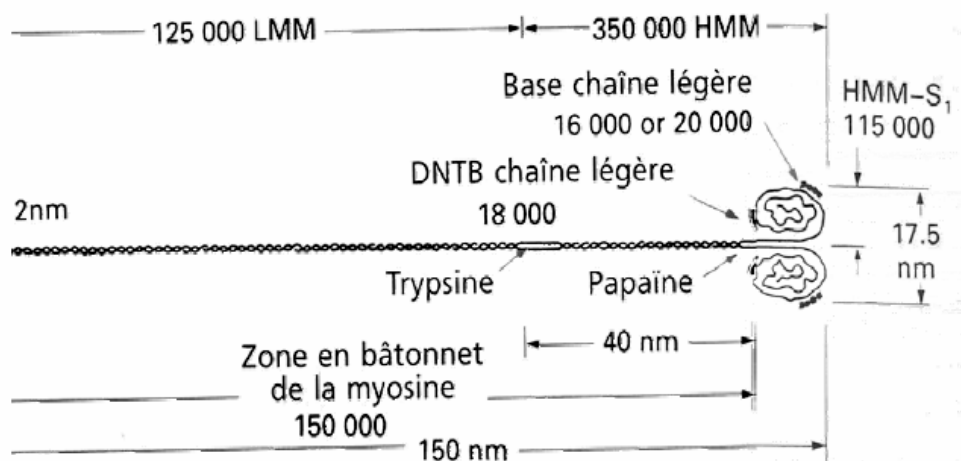


FIGURE 3. Représentation schématique d'une molécule de myosine (Campbell et Smith, 2002)

1.2.1 Les protéines des filaments épais

Les myofilaments épais (diamètre autour de 14 nm) forment un faisceau occupant la partie moyenne du sarcomère correspondant à la bande A (Beaumont *et al.*, 2004). Elles sont constituées de 3 types majeurs de protéines :

- La myosine

La myosine est une protéine contractile et représente 45 % des protéines musculaires (Smyth *et al.*, 1999). La myosine est une protéine de 520 kDa et de point isoélectrique de 5,3 (Campbell et Smith, 2002). Sa structure est celle d'une molécule composée de chaînes différentes dites lourdes et légères : les deux chaînes lourdes s'enroulent de façon hélicoïdale et forment une structure fibrillaire (méromyosine légère, LMM, enroulée en hélice formant une queue mesurant 150 nm) et une tête globulaire (méromyosine lourde, HMM). La méromyosine lourde peut aussi être divisée en deux sections : section 1 (HMM-S1, la tête) et la section 2 (HMM-S2, le col) (**FIGURE 3**) (Campbell et Smith, 2002). Le traitement par la chymotrypsine permet la séparation de LMM de HMM. La HMM-S1 et HMM-S2 se dissocient par un clivage protéolytique avec la papaine.

Il existe deux types de chaînes légères associées à chaque HMM-S1. L'une a une propriété de phosphorylation et est nommée DTNB (18 kDa) car elle peut être séparée de la HMM-S1 par le 5,5' dithiobis-2-nitrobenzoate (DTNB). L'autre est essentielle pour l'activité adénosine triphosphatasique (ATP-asiq) et est appelée chaîne légère alcaline car elle peut être dissociée de la HMM-S1 par une solution alcaline (pH = 11). Elle se présente sous 2 formes : alcali 1 (25 kDa) et alcali 2 (16 kDa).

La myosine possède trois propriétés biologiques essentielles : les molécules de myosine (1) s'assemblent spontanément pour constituer des filaments épais, (2) elles peuvent former un complexe avec l'actine appelé l'actomyosine et (3) elles possèdent une activité ATP-asiq, c'est-à-dire qu'elles peuvent utiliser l'énergie libre dans la cellule (sous forme d'ATP) nécessaire à la contraction musculaire.

- La ligne M

La ligne M est située au milieu de la bande A. Elle maintient l'alignement des filaments épais. Les protéines associées à la ligne M sont la myoméline, la protéine M, la créatine kinase (l'enzyme qui catalyse la phosphorylation de l'adénosine

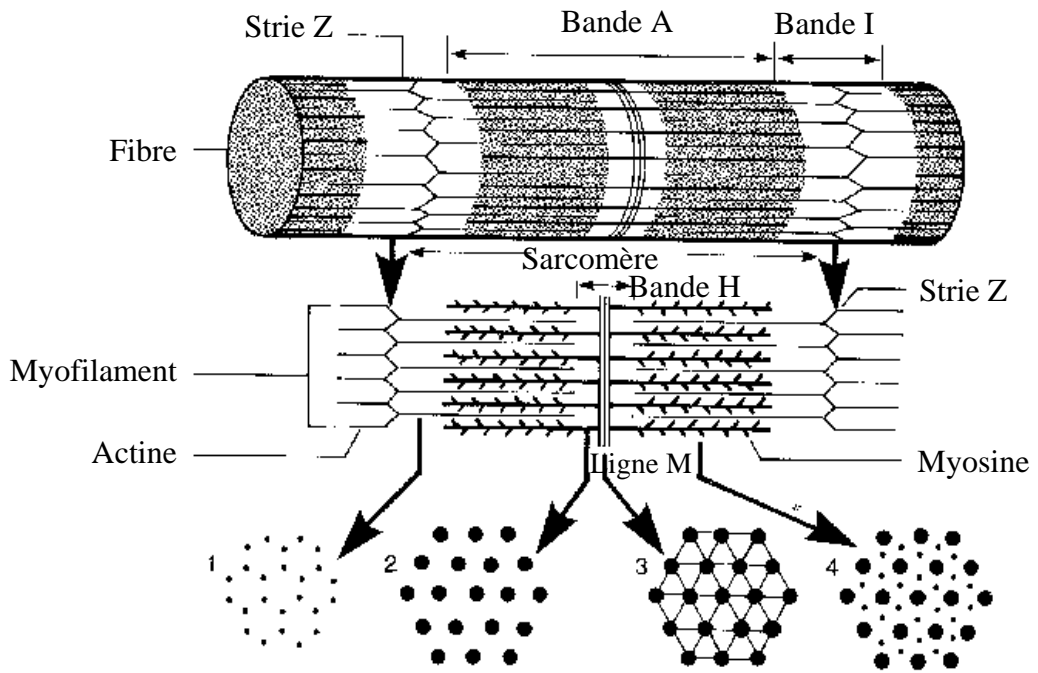


FIGURE 4. Disposition hexagone d'actine et de myosine
 (www.edcentre.sdsu.edu/cso/paper.html, consulté 09/2008)

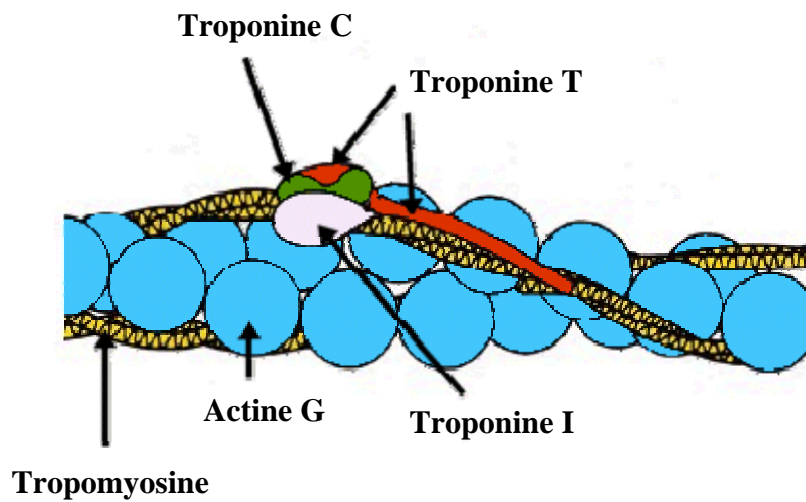


FIGURE 5. Structure des filaments fins
 (http://www.med4you.at/laborbefunde/lbef2/lbef_troponin.htm, consulté 09/2008)

diphosphate (ADP) en ATP) et deux enzymes du métabolisme du glycogène : la phosphorylase et la glucosidase (McCormick, 1994)

- *Les protéines de la bande A*

La bande A est composée de protéines telles que la protéine H, la protéine I, la protéine F et la protéine C qui peuvent former un anneau de 3 à 5 molécules et enlacer la LMM pour former un filament plus épais (Kijowski, 2001). Ces protéines jouent un rôle dans la stabilisation de la structure des filaments et dans l'assemblage des molécules de myosine (McCormick, 1994).

1.2.2 Les protéines du filament fin

Les myofilaments fins (diamètre 7 nm) sont attachées à la strie Z du sarcomère, essentiellement composée d' α -actinine (PM = 95 kDa). Chaque filament fin s'insinue et s'imbrique dans le filament épais. Cependant, il y a une partie du filament fin qui reste libre au centre du sarcomère. Cette zone est appelée la bande H (Beaumont *et al.*, 2004). En coupe transversale, les filaments fins sont disposés en hexagone autour des filaments épais qui se disposent en quinconce (**FIGURE 4**). Ainsi, un filament épais peut être en contact avec 6 filaments fins (Pearson et Young, 1989). Les myofilaments fins sont constituées des trois protéines majeures suivantes :

- *l'actine*

L'actine est une molécule globulaire (actine G, PM= 42 kDa, pI = 4,8) (**FIGURE 5**). Elle représente 20% des protéines musculaires (Smyth *et al.*, 1999). Elle peut se polymériser pour former deux longs filaments torsadés (actine F). L'actine F possède également une activité ATP-asiqque mais elle ne provoque pas la contraction musculaire (Campbell et Smith, 2002).

- *la tropomyosine*

La tropomyosine est une protéine filamenteuse formée de 2 chaînes hélicoïdales α et β de 34 kDa et 36 kDa respectivement. Ces deux chaînes de tropomyosine s'enroulent le long de l'actine F (McCormick, 1994 ; Gilles, 2006) et peuvent se lier à la troponine. Chaque chaîne de tropomyosine s'étend sur une

Constituants du sarcomère

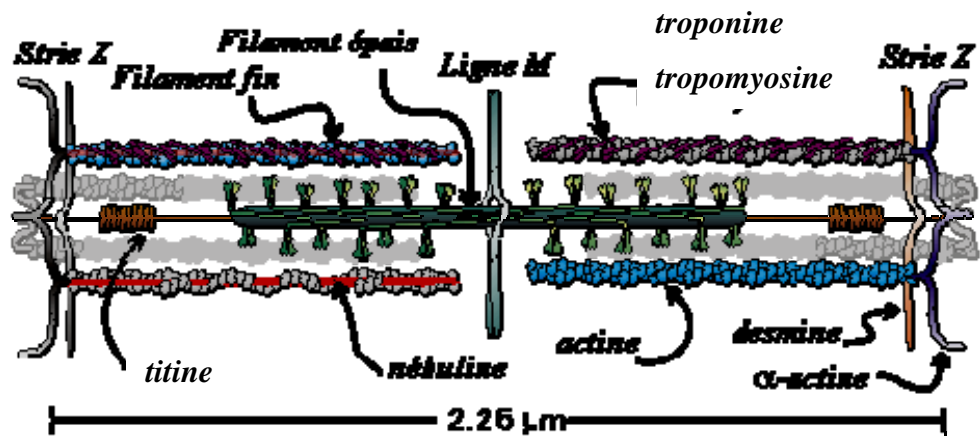


FIGURE 6. Structure des protéines cytosquelettiques

(http://prevost.pascal.free.fr/theorie/muscle/anat_muscle.htm, consulté 09/2008)

longueur correspondant à 7 molécules d'actine G et à 1 molécule de troponine (McCormick, 1994). La tropomyosine régule l'activité ATP-ase de la myosine et montre une grande résistance à la dénaturation (Kijowski, 2001).

- *la troponine*

La troponine est une protéine globulaire asymétrique de 80 kDa, composée de trois sous-unités : la troponine C (TnC), la troponine I (TnI) et la troponine T (TnT) (McCormick, 1994 ; Campbell et Smith, 2002 ; Gilles, 2006). La tropomyosine et la troponine sont associées dans le contrôle de la contraction par des ions calcium (Lawrie, 1998).

La troponine C (PM = 18 kDa) peut lier 4 ions calcium. Elle confère ainsi sa sensibilité au calcium au complexe actine/troponine/tropomyosine. La liaison entre la TnC et le calcium conduit à une modification de la structure tridimensionnelle de la tropomyosine et de l'actine ce qui conduit à la liaison actine-myosine nécessaire à la contraction musculaire.

La troponine I (PM = 23 kDa) constitue un facteur d'inhibition de l'interaction entre l'actine et la myosine. Elle se lie fortement avec la TnC et l'actine et très peu avec la TnT et la tropomyosine (McCormick, 1994 et Gilles, 2006).

La troponine T (PM = 37 kDa) stabilise le complexe et le fixe à la tropomyosine.

1.3 Les protéines cytosquelettiques

Les protéines cytosquelettiques représentent 10 à 15% des protéines musculaires (**FIGURE 6**). Ces protéines ne sont pas solubles dans l'eau ou dans des solutions salines. Elles sont essentiellement constituées par les trois protéines suivantes cependant il en existe de nombreuses autres :

1.3.1 La titine

La titine (ou connectine) représente 8% des protéines cytosquelettiques (McCormick, 1994). Son poids moléculaire (3000 kDa) en fait la protéine monomérique avec la poids moléculaire le plus élevé du monde vivant (Tskhvrebava et Trinick, 2002). Elle se présente sous la forme d'un filament élastique qui se

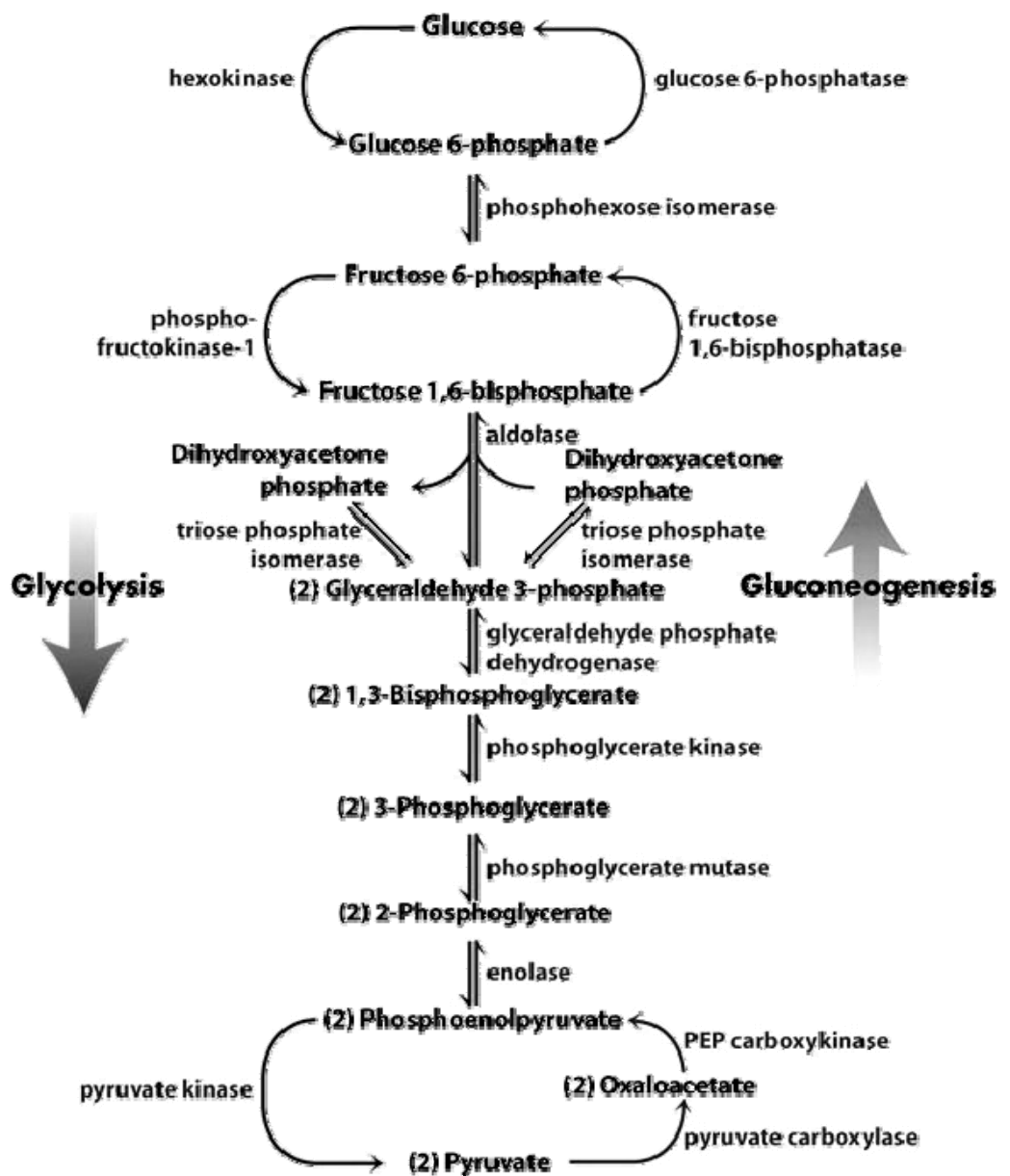


FIGURE 7. Schéma de la voie glycolyse

(<http://www.biochem.arizona.edu/classes/bioc462/462b/glycolysis.html>, consulté 09/2008)

positionne parallèlement aux filaments épais et couvre un demi sarcomère. Elle commence au niveau de la ligne M (région rigide) et se termine dans la strie Z (région élastique). Dans la bande A, la titine fait partie intégrante des filaments épais pour les joindre à la strie Z (Lawrie, 1998). Par contre, elle ne semble pas être liée à d'autres protéines dans la bande I. La titine assure donc une intégrité du sarcomère et maintient les filaments épais au centre du sarcomère (Kijowski, 2001).

1.3.2 La nébuline

La nébuline (PM = 600 kDa) représente environ 4% des protéines cytosquelettiques (Wang, 1982, Keller III, 1995). C'est un filament non étirable, ancré dans la strie Z et courant le long des filaments fins (McCormick, 1994). Son rôle est de stabiliser et de réguler la longueur des filaments fins. Elle empêche aussi l'excès d'extension du sarcomère (Lawrie, 1998).

1.3.3 La desmine

La desmine est un filament intermédiaire d'environ 55 kDa. Elle est présente dans et entre les stries Z de deux myofibrilles adjacentes. Sa principale fonction est le maintien de l'alignement des différents sarcomères.

2. Transformation du muscle en viande: rôle fondamental de la glycolyse

La glycolyse est une voie métabolique activée par des enzymes localisées dans le sarcoplasme (**FIGURE 7**) (Constantinescu, 2005). Elle permet la dégradation du glucose en deux molécules d'acide pyruvique et mène ainsi à la production d'ATP. Il existe deux types de voie de la glycolyse : aérobie (dans le système vivant) et anaérobie (au cours d'un exercice intense ou après la mort du tissu musculaire). La glycolyse aérobie produit au total 36 molécules d'ATP (en combinaison avec d'autres voies métaboliques aérobies comme le cycle de Krebs et la chaîne respiratoire) par molécule de glucose dégradée. L'acide pyruvique formé étant alors oxydé par le cycle de Krebs dans les mitochondries.

En absence d'oxygène, seule la glycolyse anaérobie reste fonctionnelle. Bien que cette voie anaérobie produise une quantité d'ATP moins importante (3 molécules d'ATP/glucose dégradé) que la glycolyse aérobie, la glycolyse anaérobie joue un rôle important sur la qualité de la viande. Par cette voie, l'acide pyruvique est converti en

acide lactique que le sang est incapable d'évacuer à cause de l'absence de circulation sanguine chez l'animal mort. On assiste donc, *post mortem*, à l'accumulation d'acide lactique dans la cellule musculaire ce qui va provoquer une baisse de la valeur du pH et avoir pour conséquence des modifications de certaines propriétés des protéines musculaires.

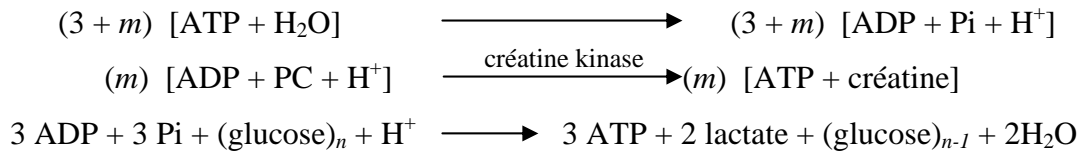
Cette accumulation progressive d'acide lactique dans le muscle va continuer jusqu'à l'épuisement des réserves en glycogène ou des co-facteurs de la glycolyse (AMPc notamment) ou par inhibition des enzymes glycolytiques par une trop faible valeur de pH. On atteint alors une valeur de pH plancher dite pH ultime (ou pHu) et son établissement correspond à la pleine *rigor mortis*.

2.1 Rigor mortis

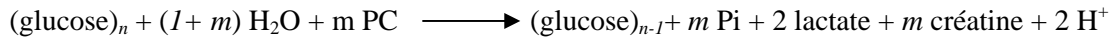
La *rigor mortis* ou rigidité cadavérique est un raidissement progressif du muscle causé par la contraction irréversible de ce muscle après la mort de l'animal. Elle peut être divisée en deux phases : la phase de latence et la phase d'installation de la *rigor*.

La phase de latence se caractérise par le maintien d'un taux constant d'ATP musculaire tandis que les concentrations en phosphocréatine et en glycogène chutent. La phosphocréatine (PC) est un composé chimique important pour la contraction musculaire. Elle sert de stockage du phosphate à haute énergie qui est nécessaire à la régénération de l'ATP à partir de l'ADP grâce à la créatine kinase. Durant cette phase, le muscle garde ses caractéristiques contractiles. L'ATP est donc dégradé par les nombreuses activités ATP-asiques musculaires et est resynthétisé par la dégradation de la phosphocréatine et par la glycolyse. La quantité de PC disponible diminue progressivement car elle n'est pas resynthétisée *post mortem*. Pour compenser cette diminution de la concentration en ATP intramusculaire, seule la glycolyse anaérobie reste active et provoque une acidification du muscle par suite de la libération de lactate et de protons. Les réactions de phase de latence sont présentées ci dessous :

Les réactions de la phase de latence :

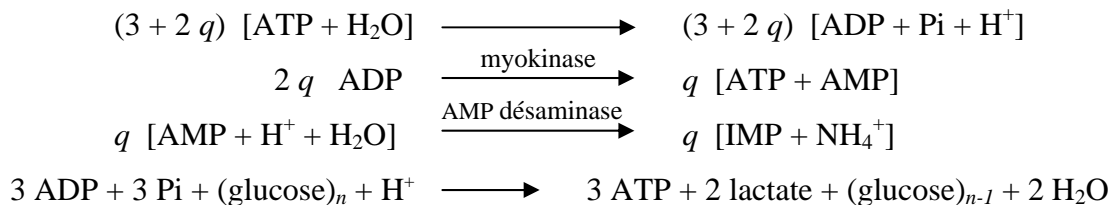


Le bilan de ces réactions s'écrit :

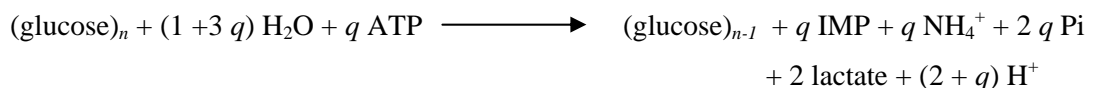


La seconde phase ou phase d'installation de la *rigor mortis* se caractérise par la disparition de l'ATP. Cette dernière s'accompagne de la désamination du nucléotide adénine et de l'apparition d'ions ammonium (NH_4^+) en quantité stœchiométrique. Dans cette phase, il n'y a plus de PC. L'ATP est toujours régénéré dans la cellule musculaire par la myokinase. Cependant, cette réaction ne fournit que 10 % de l'ATP nécessaire. Comme celui-ci (l'ATP) est indispensable pour les mécanismes de la contraction musculaire et de la libération du complexe acto-myosique, la diminution de concentration d'ATP va donc avoir pour cause de verrouiller ce complexe et par conséquent de donner un caractère rigide au muscle.

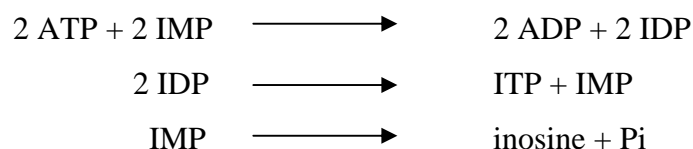
Les réactions biochimiques de la phase d'installation de la *rigor mortis* sont donc les suivantes :



Le bilan de toutes ces réactions s'écrit donc :



La déphosphorylation et désamination :



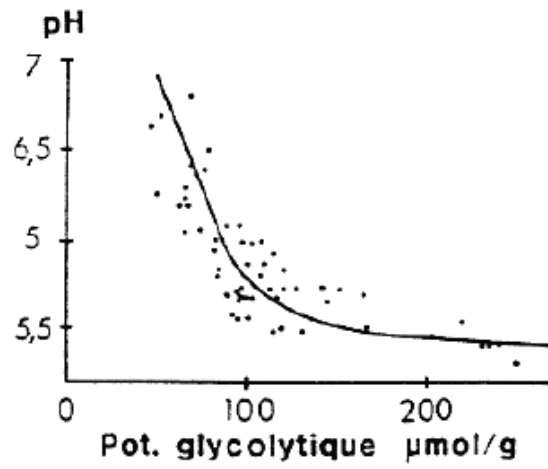


FIGURE 8. Relation entre le potentiel glycolytique et le pH ultime dans le muscle *Longissimus dorsi* du porc (Monin, 1988) (Le potentiel glycolytique correspond à la quantité de glycogène estimée au moment de l'abattage)

La glycolyse, et donc la chute du pH, peuvent cesser soit par absence de glycogène dégradable soit par absence d'ATP. Chez le porc, Monin (1988) a montré qu'il existe une liaison négative entre le pHu et le potentiel glycolytique (correspond à la quantité de glycogène estimée au moment de l'abattage) dans le muscle *Longissimus dorsi* (**FIGURE 8**). Toutefois, la glycolyse peut s'arrêter alors que la quantité de glycogène résiduel est supérieure 150 $\mu\text{mol/g}$ de tissu frais. Donc, la valeur du pHu peut se stabiliser en présence d'une quantité non négligeable de glycogène.

La désamination de l'adénosine monophosphate (AMP) en inosine monophosphate (IMP) par l'action de l'adénosine monophosphate désaminase (AMP désaminase) conduit à sa disparition progressive. La glycolyse s'arrête alors. L'AMP est un cofacteur des enzymes de la glycogénolyse et de la glycolyse. Il se lie à l'enzyme de dégradation du glycogène appelée glycogène phosphorylase et constitue aussi un co-facteur pour la phosphofructokinase (Constantinescu, 2005), une autre enzyme de la glycolyse. Son absence sera donc nécessairement associée à un arrêt de ce processus métabolique.

2.2 La chute de pH

Au cours de la transformation du muscle en viande, le pH joue un rôle essentiel et sert d'indicateur du déroulement des événements *post mortem*. L'acidification progressive du muscle avec la chute du pH musculaire est causée par l'accumulation d'acide lactique et la libération de protons. Les deux paramètres les plus importants de cette chute du pH en sont la vitesse et l'amplitude.

La première dépend essentiellement de la vitesse d'hydrolyse de l'ATP et donc de l'activité ATP-ase de la myosine, alors que la deuxième dépend principalement de la quantité de glycogène en réserve dans le muscle au moment de l'abattage (Bendall, 1973). Une évolution anormale de l'un ou de l'autre de ces paramètres (la vitesse ou l'amplitude) conduit à des défauts de qualité de la viande.

La valeur finale du pH se stabilise toujours finalement à une valeur minimale appelée pHu qui se situe normalement entre 5,6 et 5,8. Le moment auquel cette valeur est atteinte varie selon le type du muscle et l'espèce de l'animal (Lawrie, 1998). Par exemple, Stewart *et al.* (1984) et Schreurs (2000) suggèrent que les réactions

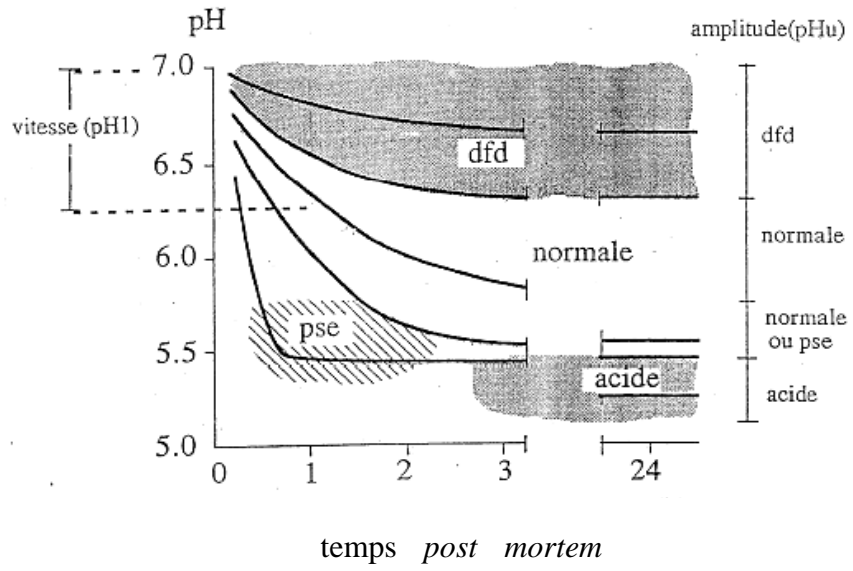


FIGURE 9. Evolution du pH *post mortem* en fonction du temps d'après Monin, 1988

biochimiques *post mortem* chez les volailles s'arrêtent six à huit heures après l'abattage alors que chez les bovins, on admet que cela arrive au-delà de 20 heures *post mortem*.

La **FIGURE 9** montre que des différences de vitesse et/ou d'amplitude de la chute du pH mènent essentiellement à trois types de défauts de qualité de viande : la viande DFD (Dark, Firm, Dry), la viande PSE (Pale, Soft, Exudative) et la viande acide.

La viande DFD est nommée ainsi car ses caractéristiques sont celles d'une viande à couleur sombre, avec une texture ferme et une moindre tendreté. Ce défaut est dû à une baisse de la quantité de glycogène de réserve dans les muscles au moment de l'abattage ce qui donnera une faible amplitude de chute du pH et une valeur anormalement élevée du pHu. Ces viandes ont une bonne capacité de rétention en eau donc elles sont peu adaptées à la conservation en frais en raison d'une sensibilité accrue à la dégradation microbienne. Elles sont aussi peu adaptées au processus de dessiccation (Allen *et al.*, 1997).

La viande PSE est une viande de couleur pâle, de texture molle et ayant un faible pouvoir de rétention en eau. Elle est due à une chute rapide du pH musculaire *post mortem* alors que sa température reste élevée. Néanmoins, le pHu se situe souvent à une valeur normale. C'est la combinaison initiale d'un bas pH et d'une température élevée qui conduit à une dénaturation des protéines principalement sarcoplasmiques et myofibrillaires (Sayre et Briskey, 1963 ; Offer et Knight, 1988 ; Boles *et al.*, 1992 ; Santé *et al.*, 1995 ; Warner *et al.*, 1997 ; Joo *et al.*, 1999 ; Rathgeber *et al.*, 1999a ; Wilson et Van Laack, 1999 ; Kuo et Chu, 2003 ; Molette *et al.*, 2003).

La viande acide a une vitesse de chute de pH normale mais une valeur de pHu particulièrement basse. La viande acide présente aussi une couleur pâle mais cependant généralement moindre que celle de la viande PSE. Elle a été essentiellement décrite chez le porc où elle est causée par une forte concentration en glycogène musculaire au moment de l'abattage. La viande acide a été identifiée comme un problème d'origine génétique dû à la présence d'un gène autosomal dit RN (Naveau, 1986) qui est situé sur le chromosome 15. L'allèle RN⁻ a des effets défavorables sur la qualité de la viande car il induit une augmentation très importante de la concentration en glycogène *ante mortem* ce qui se traduit par un très fort abaissement de la valeur du pHu (Monin et Sellier, 1985).

3. Le syndrome PSE

Depuis une trentaine d'années, l'industrie de la viande de porc et de volailles (porc : Choi *et al.*, 2007 ; volailles : Woelfle *et al.*, 2002), a à faire face au problème de la viande PSE. Celui-ci ne donne pas seulement des caractéristiques inacceptables du produit pour le consommateur, mais peut aussi être considéré comme une source de pertes économiques pour les transformateurs (Woelfle *et al.*, 2002 ; Scheffler et Gerrard, 2007).

Les qualités organoleptiques de la viande telles que la couleur (l'apparence), la texture et la saveur sont des paramètres importants pour le consommateur. Les qualités technologiques telles que l'aptitude à la transformation et/ou le pouvoir de rétention en eau sont eux des facteurs primordiaux pour les transformateurs.

Dans le cas du syndrome PSE, c'est bien une basse valeur du pH combinée à une haute température du muscle, résultant d'un métabolisme glycolytique rapide *post mortem*, qui provoque des dénaturations des protéines musculaires. Cette diminution de la fonctionnalité des protéines est le facteur principal associé aux caractéristiques des viandes PSE (McKee et Sams, 1998).

3.1 Caractéristiques des viandes PSE

Si les viandes PSE chez le porc sont bien documentées, les informations chez les volailles sont plus parcimonieuses mais celles-ci étant le centre de notre étude, nous essaierons d'en rapporter l'essentiel. La couleur, l'apparence, le pouvoir de rétention en eau, l'aptitude à la transformation, la texture et la tendreté sont les facteurs les plus importants de la qualité de la viande (Allen *et al.*, 1998). Comme l'indique son abréviation, la viande PSE se caractérise par une couleur pâle (P : Pale), une texture molle (S : Soft) et un pouvoir de rétention en eau faible (E : Exudative). Dans cette partie de l'étude bibliographique, chaque caractéristique des viandes PSE va être détaillée.

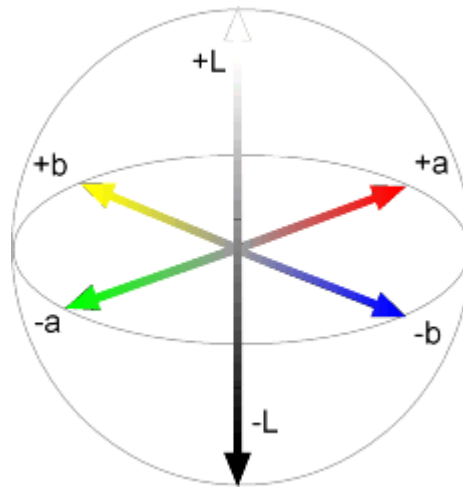


FIGURE 10. Système Lab proposé par la Commission International de l'Eclairage (CIE) (<http://www.tasi.ac.uk/advice/creating/colour.html>, consulté 09/2008)

3.1.1 La couleur pâle

La couleur de la viande est un critère important pour le consommateur car elle lui sert de critère de jugement de la qualité globale de la viande et particulièrement de sa fraîcheur (Tikk *et al.*, 2008).

La couleur est généralement due à la chromaticité et la luminosité de la viande. La chromaticité est directement liée à la teneur et à l'état d'oxydation des pigments héminiques : la myoglobine (50-80% des pigments totaux), l'hémoglobine et le cytochrome c (Miller, 1994), alors que la luminosité est influencée par la structure ouverte ou fermée du muscle (Fernandez *et al.*, 2001). Par ailleurs, la couleur de la viande varie aussi en fonction de l'espèce, du type de muscle, de l'âge, du sexe et des conditions pré- et post abattage (Miller, 1994, Santé *et al.*, 2001).

La couleur de la viande peut être évaluée de manière objective à l'aide d'un chromamètre. L'échelle de mesure la plus couramment utilisée est alors celle établie par la Commission Internationale de l'Eclairage (CIE). Cette échelle exprime la couleur en coordonnées trichromatiques : la luminosité est représentée par la valeur de L^* (0 = noir, 100 = blanc), l'indice de rouge par la valeur de a^* (+60 = rouge, -60 = vert) et l'indice de jaune par la valeur de b^* (+60 = jaune, -60 = bleu) (**FIGURE 10**).

La valeur de L^* de la viande dépend de la diffusion de la lumière. Une augmentation de diffusion de la lumière (la pâleur) de la viande est causée par la dénaturation des protéines sarcoplasmiques et a pour conséquence une augmentation de la quantité d'eau extracellulaire (McKee et Sams, 1998 ; Wynveen *et al.*, 1999 ; Alvarado et Sams, 2004).

Dans le cas des viandes PSE, le critère de caractérisation le plus utilisé est la valeur de L^* . Il a été notamment utilisé pour essayer de trier les viandes PSE chez les volailles. Woelfel *et al.* (2002) indiquent que si une valeur de L^* de plus de 54 est utilisée comme indicateur de la pâleur de la viande, 1670 sur 3554 filets de poulet (47%) ont cette couleur pâle et ont donc potentiellement un faible pouvoir de rétention en eau. Ces auteurs montrent aussi qu'une valeur de L^* comprise entre 50 et 55 coïncide avec une forte dénaturation des protéines musculaires et une diminution du pouvoir de rétention en eau.

Owens *et al.* (2000) et Alvarado et Sams (2004) suggèrent aussi qu'il y a une diminution de la fonctionnalité des protéines musculaires lorsque la valeur de L^* est de 54 ou plus. Cette altération des propriétés des protéines conduit aussi à une

diminution du pouvoir de rétention en eau. Pietrzak *et al.* (1997) et Fernandez *et al.* (2002) mettent en évidence des valeurs de L* plus élevées pour la viande de dinde à glycolyse rapide par rapport à celle à glycolyse normale. Ces derniers auteurs démontrent que la valeur de L* la plus élevée (> 51) se trouve dans le muscle pectoral de dinde en présence d'une faible valeur du pH (pH 20 min *post mortem* < 5,90). Cependant, Rathgeber *et al.*(1999a) et Molette *et al.* (2002) ne rapportent pas de différences des valeurs de L* en comparant des viandes issues d'animaux à glycolyse rapide ou normale.

Le rapport des valeurs de a*/ b* est parfois utilisé comme indicateur de l'état d'oxydation de la myoglobine. Ce rapport a*/b* est en partie lié à la vitesse de chute du pH *post mortem* et est généralement inférieur pour la viande PSE car l'oxydation de la myoglobine est y plus élevée (Fernandez *et al.*, 2001).

3.1.2 Le faible pouvoir de rétention en eau.

Comme mentionné précédemment, la couleur pâle de la viande PSE est essentiellement due à la dénaturation des protéines sarcoplasmiques. Au contraire, le faible pouvoir de rétention d'eau semble dû à 97% aux protéines myofibrillaires (Alvarado et Sams, 2004).

Le pouvoir de rétention en eau représente la capacité de la viande à retenir l'eau qui s'écoule spontanément après la coupe ou au moment des applications de forces externes comme le chauffage et la pression. La capacité de rétention en eau affecte également le rendement technologique de la viande (Fernandez *et al.*, 2002) et elle joue donc un rôle sur le plan économique pour l'industriel mais aussi d'acceptabilité du produit pour le consommateur.

Le pouvoir de rétention en eau est dû à 97% aux protéines myofibrillaires. Au niveau de la cellule musculaire, l'eau est liée aux protéines musculaires par des liaisons hydrogène. Cette eau s'y trouve sous 2 formes : l'eau liée (environ 5% de l'eau totale) et l'eau libre (90-95%) (Monin, 1988). Smyth *et al.* (1999) suggèrent que les principaux composants musculaires capables de fixer l'eau soient la myosine, l'actine et, dans une moindre mesure, la tropomyosine. L'eau libre est retenue dans le tissu par des forces d'interactions électrostatiques. Ces interactions diminuent à

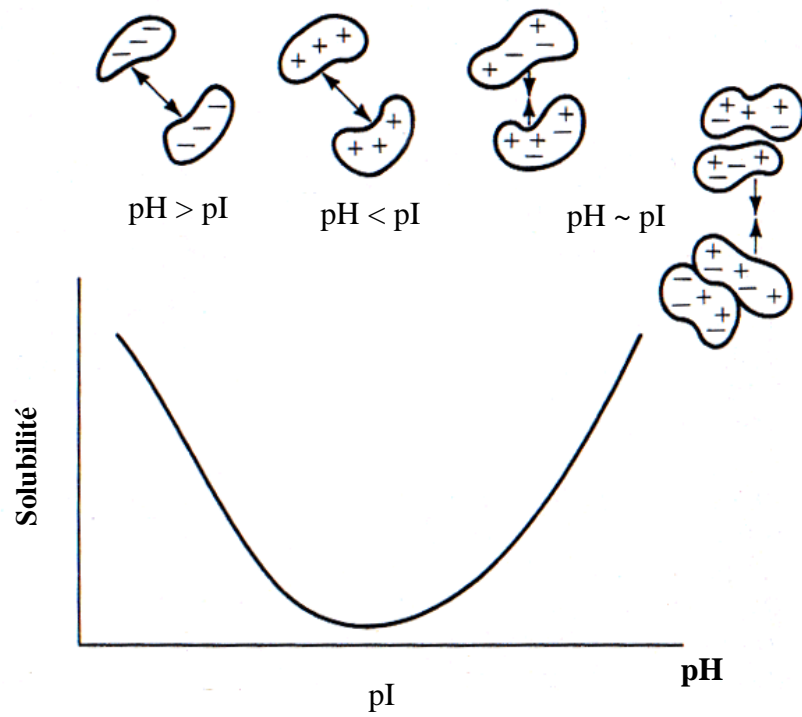


FIGURE 11. Evolution du pouvoir de rétention d'eau en fonction du pH de la viande (http://web.siumed.edu/~bbartholomew/images/protein_methods/solubility_glob_type_prot.gif, consulté 08/2009)

mesure que l'on s'éloigne des protéines. Kijowski (2001) mentionne que l'eau libre affecte fortement la capacité de rétention eau de la viande.

En plus de l'eau intracellulaire, 12 à 15% du volume total de l'eau musculaire est de l'eau localisée dans les espaces extracellulaires. Cette eau extracellulaire représente l'exsudat de la viande (Lawrie, 1998). Après la mort de l'animal, le pH dans le muscle diminue d'environ 6,9-7,3 (Wynveen *et al.*, 1999) à sa valeur du pH ultime normalement fixée autour de 5,7. Cette valeur de pH ultime est proche de la valeur du pI des protéines musculaires (environ 5,2) où les protéines perdent leur capacité de fixation de l'eau car leur charge nette est globalement nulle (**FIGURE 11**). L'eau peut alors se déplacer vers les espaces extracellulaires à cause de la différence de pression osmotique (Offer et Trinick, 1983 ; Hamm, 1986 ; Alvarado et Sams, 2004).

Le pouvoir de rétention en eau de la viande est également affecté par le complexe actine-myosine (Offer et Knight, 1988). Dans le cas des viandes PSE, Offer (1991) rapporte qu'à cause de la dénaturation des têtes de myosine, leur taille serait réduite de 2 nm (de 19 nm à 17 nm). Cette diminution conduit alors au rétrécissement latéral du complexe actomyosine ce qui force l'eau présente entre ces filaments à être évacuée au niveau des espaces extracellulaires. Cela contribue alors à augmenter l'exsudat et la couleur anormalement pâle de la viande PSE.

Fernandez *et al.* (2002) indiquent que les propriétés technologiques de la viande, comme sa capacité de rétention en eau, sont diminuées dans le muscle *Pectoralis superficialis* de dinde présentant une basse valeur de pH_{20min}. Ces auteurs rapportent une diminution significative du rendement technologique (97,4% par rapport à 98,3%, $P < 0,05$) et une augmentation des pertes à la conservation pendant 3 jours (1,5% par rapport à 1%, $P < 0,05$) pour la viande présentant la vitesse de chute de pH la plus élevée (pH = 5,90 vs 6,55 à 20 min *post mortem*). Cependant, l'effet combiné du pH ultime sur le rendement ne peut pas être exclu puisque des différences significatives sont rapportées. Cette étude est en accord avec celle de Wynveen *et al.* (1999) qui trouvent que la viande de dinde avec un pH précoce plus bas (<5,70 à 14 min *post mortem*) présente des pertes à la conservation plus élevés (1,75% par rapport à 0,75%, $P < 0,05$) que la viande dont le pH_{14 min} est supérieur 6,18.

Par ailleurs, Lesiak *et al.* (1996) indiquent que les pertes à la conservation et à la cuisson de la viande de dinde augmentent avec la température *post mortem* du

muscle pectoral (de 0 à 30°C). Ces derniers auteurs expliquent que cette augmentation des pertes en eau correspond à un raccourcissement des sarcomères (Honikel *et al.*, 1986), et que la dénaturation des protéines à 30°C peut être un facteur provoquant l'augmentation de cet exsudat (Bendall et Wismer-Pedersen, 1962). De même, Molette *et al.* (2003) rapportent que les pertes à la conservation sont plus importantes dans des muscles pectoraux de dinde conservés à 40°C pendant 6 h *post mortem* par rapport à des muscles conservés à 4°C. Par contre, ces auteurs ne mentionnent pas de différences au niveau des pertes à la décongélation et à la cuisson.

D'autres facteurs comme l'origine génétique, les stress thermiques *ante mortem* et la stimulation électrique des carcasses peuvent aussi affecter la capacité de rétention en eau de la viande (Fletcher, 2002 ; Rosenvold et Andersen, 2003).

3.1.3 La texture molle

Parmi les qualités organoleptiques de la viande, la tendreté est souvent considérée comme le critère le plus important pour le consommateur (Gerelt *et al.*, 2002). Cette tendreté de la viande dépend du tissu conjonctif et du tissu myofibrillaire et notamment de son évolution au cours de la maturation (Møller, 1980). Trois facteurs principaux semblent affecter principalement la tendreté de la viande, ce sont : la qualité et la quantité de collagène, la longueur des sarcomères et le degré de maturation de la viande c'est-à-dire le niveau de protéolyse des protéines musculaires (Koohmaraie *et al.*, 2002 ; Maltin *et al.*, 2003).

Le collagène est la protéine prédominante du tissu conjonctif du muscle (McCormick, 1994). Il représente environ 50% du tissu conjonctif total (Lawrie, 1998) et au moins 2 à 6% du poids sec du muscle (McCormick, 1994). Une teneur élevée en collagène du muscle est associée à une diminution de la tendreté de la viande (Pascual et Pla, 2008) mais la tendreté de la viande ne dépend pas uniquement de la quantité de collagène dans le muscle mais aussi de son degré de réticulation et de sa solubilité (Bailey et Light, 1989). Ainsi, Touraille (1983) rapporte des teneurs en collagène plus élevées dans la viande de poulet que dans celle de bœuf mais la viande de poulet est généralement plus tendre car son collagène est plus soluble (moins réticulé) à l'âge d'abattage normal des deux espèces.

Ce sont effectivement des facteurs tels que l'espèce animale et le type de muscle qui affectent la quantité et la qualité du collagène. Bailey (1985) observe aussi une augmentation de la formation des liaisons covalentes entre les molécules de collagène avec une augmentation de l'âge des animaux. Cette augmentation du nombre de liaisons conduit à une diminution de la solubilité du collagène et donc de la tendreté de la viande. Ainsi, toutes choses étant égales par ailleurs, un animal plus jeune donnera une viande plus tendre.

Chez le porc, Sellier et Monin (1994) ne rapportent pas de différences du taux de collagène dans des viandes RFN (Red, Firm and Non-exudative) ou PSE. Au contraire, chez la dinde, Fernandez *et al.* (2001) mettent en évidence des différences de teneurs en collagène du muscle pectoral entre des dindes à croissance rapide et à croissance lente. Fernandez *et al.* (2001) montrent que les dindes à croissance lente produisent la viande avec teneurs en collagène plus élevée par rapport à celles à croissance rapide.

Un autre facteur influençant la tendreté de la viande est la longueur des sarcomères. Lorsque la longueur des sarcomère est réduite (à l'état de contraction du muscle), la dureté de la viande augmente (Lawrie, 1998 ; Watanabe *et al.*, 1996). Pour Koohmaraie (1996), la dureté de la viande développée pendant les 24 premières heures *post mortem* est associée à la diminution de la longueur des sarcomères. Dans le cas des viandes PSE, l'effet sur la longueur des sarcomères n'est pas consensuel. Certains auteurs indiquent une augmentation de cette valeur dans les viandes PSE (bovine : Honikel *et al.*, 1986 ; porc : Monin *et al.*, 1999 ; dinde : Molette *et al.*, 2005), alors que d'autres ne trouvent pas de différences de longueur de sarcomères entre des viandes PSE et des viandes normales (porc : Van der Wal *et al.*, 1988 ; Fernandez *et al.*, 1994a ; Van Laack *et al.*, 1994 ; Warner *et al.*, 1997 ; Van Laack *et al.*, 2000 ; dinde : Lesiak *et al.*, 1996).

Le dernier facteur pouvant modifier la tendreté de la viande est son degré de maturation c'est-à-dire le niveau de protéolyse *post mortem* des protéines musculaires. Cette dégradation des protéines musculaires affecte principalement la tropomyosine, la desmine, la titine, la nébuline et la troponine et est le résultat de mécanismes non enzymatiques dépendants du calcium (Jeleníková *et al.*, 2008) et de mécanismes enzymatiques (Lawrie, 1998).

Deux types d'enzymes sont majoritairement impliqués dans la maturation de la viande. Il s'agit des calpaïnes et des cathepsines. Les calpaïnes sont des enzymes

dépendantes du calcium. Deux isoenzymes existent : la μ -calpaïne et la m-calpaïne qui sont nommées ainsi à cause de leurs besoins respectifs en calcium qui sont en quantités micromolaires et millimolaires respectivement. Les calpaïnes et les cathepsines sont inhibées respectivement par la calpastatine et la cystatine (Warriss, 2000 ; Herrera-Mendez *et al.*, 2006). Le système calpaïnes/calpastatine est le plus étudié dans la viande en raison de sa capacité d'altération des stries Z (Herrera-Mendez *et al.*, 2006) mais aussi car le rôle *post mortem* des cathepsines reste très controversé. Les modifications les plus importantes des protéines musculaires observées pendant la maturation sont les suivantes :

- une destruction progressive des stries Z.
- un affaiblissement des interactions protéine-protéine accompagné d'une amélioration progressive de l'interaction eau-protéines musculaires.
- une attaque protéolytique généralisée caractérisée par l'apparition de composés de faibles poids moléculaires (20 à 30 kDa).

Outre ces deux systèmes protéolytiques, la mort cellulaire programmée ou l'apoptose a aussi été récemment évoquée comme représentant un facteur affectant la maturation de la viande (Herrera-Mendez *et al.*, 2006).

Dans le cas des viandes PSE, de nombreux auteurs suggèrent qu'une altération du système calpaïnes/calpastatine pourrait causer une moindre maturation de la viande PSE et par conséquent une moindre tendreté de la viande cuite (Boles *et al.*, 1992 ; Dransfield, 1994 ; Fernandez *et al.*, 1994a ; Warner *et al.*, 1997 ; Monin *et al.*, 1999). Ainsi, chez la dinde, on observe que les myofibrilles des viandes PSE restent intactes alors que les myofibrilles des viandes normales présentent de nombreuses altérations des stries Z (Pospiech *et al.*, 1992) au bout de quelques jours de maturation.

3.2 Origines des viandes PSE

Les défauts de qualité de la viande PSE de porc sont étudiées depuis les années 50-60 (Briskey, 1964) alors que celles des volailles sont apparus beaucoup plus récemment à la fin des années 80-90. Les origines et les facteurs favorisant l'apparition du syndrome PSE chez le porc sont donc assez bien définis alors que cela reste beaucoup plus hypothétique chez les volailles.

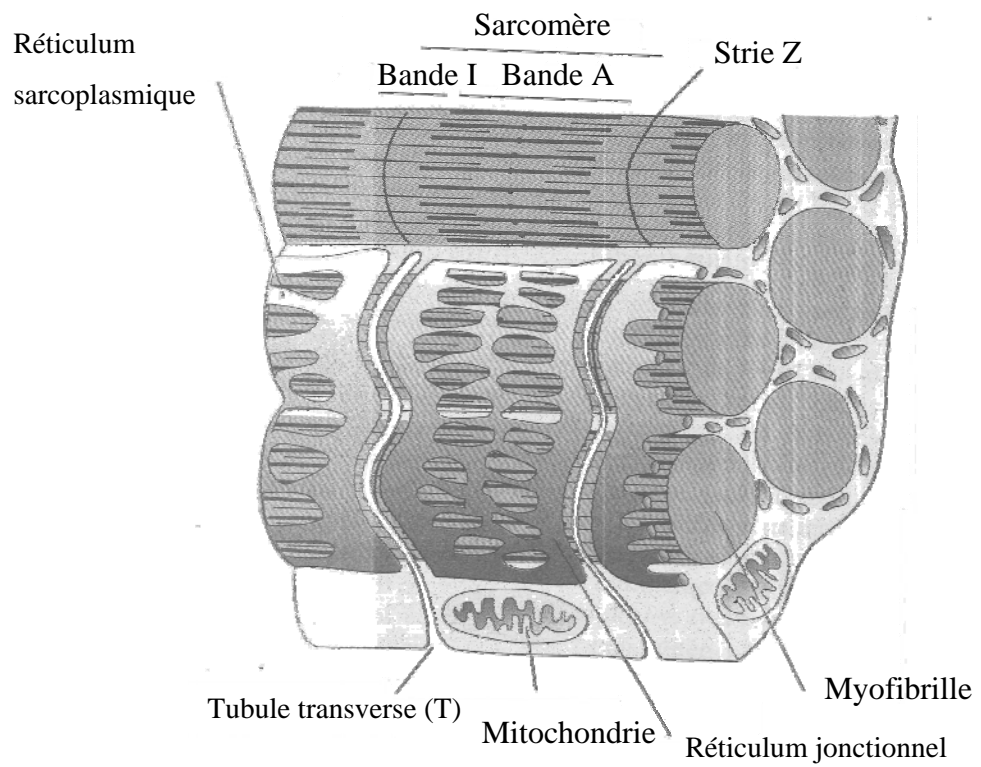


FIGURE 12. Liaison entre les tubes T et les citernes terminales du réticulum sarcoplasmique permettant la diffusion du calcium pour la contraction du muscle.

La combinaison d'une valeur de bas pH et d'une température élevée *post mortem* dans le muscle est considérée comme le facteur majeur conduisant à la dénaturation des protéines et par là même aux viandes PSE (Alvarado et Sams, 2004). C'est sur l'origine de ces facteurs de combinaison que les choses semblent moins claires chez les volailles alors que chez les porcs le contexte génétique est primordial. Néanmoins, pour les volailles, trois facteurs sont régulièrement évoqués ce sont le type génétique, les facteurs *ante mortem* et les facteurs technologiques *post mortem*.

3.2.1 Le type génétique

La libération du calcium dans les muscles est régie par un canal calcique, souvent appelé récepteur à la ryanodine (RYR) (Wang *et al.*, 1999). Le récepteur à la ryanodine (RYR) est une protéine tétramérique dont le poids moléculaire d'une sous-unité est d'environ 560 kDa. Le récepteur à la ryanodine fait non seulement la liaison entre les tubes T et les citernes terminales du réticulum sarcoplasmique mais permet également la diffusion du calcium du réticulum sarcoplasmique dans le sarcoplasme afin d'initier la contraction du muscle (Chiang *et al.*, 2004 ; Scheffler et Gerrard, 2007) (**FIGURE 12**).

Une mutation du récepteur RYR (cas général des viandes PSE de porc) conduit à une régulation impropre du flux de calcium cellulaire ce qui induit une hyper activation de la contraction musculaire. Au niveau de l'animal, la mutation du récepteur RYR entraîne une cyanose, une température élevée du corps (puis de la carcasse) et une acidose extrême. Cette mutation peut conduire à une qualité de viande inférieure comme dans le cas des viandes PSE. Dans les cas les plus sévères, elle peut entraîner une très forte accumulation d'acide lactique et finalement causer la mort de l'animal (Carolino *et al.*, 2007).

Chez le porc sensible à l'halothane, ou porteur de la mutation RYR, cette mutation est due à une substitution d'une thymine par une cytosine dans la séquence des nucléotides ce qui, après traduction, résulte en un remplacement de l'acide aminé arginine 615 par une cystéine (Fujii *et al.*, 1991). Le gène correspondant possède deux allèles : l'allèle dominant (N) et l'allèle récessif (n). Chez le porc, l'animal possédant le génotype nn devient très sensible (porcine stress syndrome ou PSS) ce qui se traduit par une diffusion deux fois plus importante du calcium intramusculaire par rapport à

TABLEAU 5. Effet du gène de sensibilité à l'halothane chez le porc sur différents critères de qualité de viande d'après Fisher *et al.* (2000)

Génotype		NN	Nn	nn
% viande PSE		8	42	100
pH 45 min <i>post mortem</i>		6,22 ± 0,05a	5,94 ± 0,06b	5,36 ± 0,07c
pHu		5,62 ± 0,03a	5,60 ± 0,04a	5,44 ± 0,04b
Pertes (%)	Ressuage	2,25 ± 0,25	2,49 ± 0,29	1,95 ± 0,32
	Conservation à J2	1,53 ± 0,15a	2,30 ± 0,20b	3,67 ± 0,25c
	Cuisson	25,6 ± 0,28a	26,4 ± 0,34a	28,2 ± 0,36b
Couleur	L*	42,0 ± 0,45a	43,5 ± 0,56b	45,6 ± 0,61c
	a*	5,51 ± 0,19	5,40 ± 0,22	5,81 ± 0,24
	b*	6,74 ± 0,20	6,67 ± 0,24	7,20 ± 0,26
Tendreté				
Warner Bratzler (kg/1,27 cm)		2,92 ± 0,08a	3,35 ± 0,09b	3,11 ± 0,10a

Des lettres différentes (a-c) sur une même ligne signifient que les valeurs sont significativement différentes ($P < 0,05$)

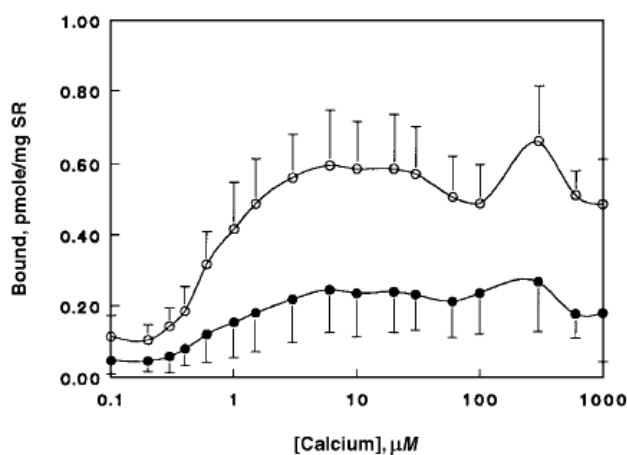


FIGURE 13. Dépendance de la liaison de la ryanodine au Ca^{2+} dans une souche sélectionnée (cercle blanc) et non sélectionnée (cercle noir) dans les vésicules du réticulum sarcoplasmique lourd d'après Wang *et al.* (1999).

un animal NN ou normal (Barbut *et al.*, 2008). Cette augmentation considérable de la quantité de calcium libérée par le réticulum sarcoplasmique entraîne une forte augmentation du taux de glycogénolyse et de glycolyse. La conséquence directe en est donc une consommation accélérée du glycogène musculaire associée à une forte accumulation d'acide lactique donc à une basse valeur de pH, et ce juste après l'abattage, c'est-à-dire à un moment où les muscles sont encore chauds (température > 35°C) : on est bien dans le cas des viandes PSE (Scheffler et Gerrard, 2007).

Chez le porc, les animaux homozygotes récessifs (nn) et hétérozygotes (Nn) donnent des rendements de carcasse plus élevés ainsi que des viandes plus maigres (Rosenvold et Andersen, 2003) d'où leur attrait pour les producteurs. Cependant, ces avantages sont largement contrebalancés par les effets négatifs associés au syndrome PSE et notamment la forte dégradation du pouvoir de rétention en eau et de la couleur de la viande. Les animaux Nn produisent 4 fois plus de viande PSE que les animaux homozygotes dominants (NN) (Channon *et al.*, 2000).

Fisher *et al.* (2000) démontrent que pour la valeur du pH précoce, les pertes en eau au cours de la conservation ainsi que de la valeur du L* de la viande produite à partir des animaux Nn se positionne entre celles de la viande produite à partir des animaux NN et nn (**TABLEAU 5**).

Un test génétique d'identification des animaux hétérozygotes et homozygotes récessifs pour le gène de sensibilité à l'halothane est aujourd'hui largement disponible et est utilisé pour éliminer de manière sélective ce gène des lignées parentales de porc afin d'éviter son impact négatif sur la qualité de la viande (Carolino *et al.*, 2007)

Par similarité avec ce qui a été décrit chez le porc, des auteurs ont cherché à démontrer l'implication du même facteur génétique dans le déterminisme du syndrome PSE chez les volailles. Wang *et al.* (1999) ont réalisé une cinétique de liaison de la ryanodine au récepteur RYR en fonction de la concentration en calcium chez deux souches de dindes (une souche sélectionnée sur la vitesse de croissance et une non sélectionnée). Les résultats montrent une affinité plus élevée pour la ryanodine du récepteur RYR chez le type génétique de dindes sélectionnées par rapport aux dindes non sélectionnées (**FIGURE 13**). De plus, Chiang *et al.* (2004) observent un polymorphisme du récepteur RYR chez la dinde. Ces auteurs trouvent que l'analyse de l'ADNc codant pour la partie du récepteur RYR allant des acides aminés 376 à 615 révèle la présence de trois formes de transcrits différentes qui se distinguent par la présence ou l'absence de 81 ou 193 pb. Les délétions de 81 ou 193

pb conduisent respectivement à une perte de 27 acides aminés et à l'introduction d'un codon stop. Sur la séquence génomique, ces différences se situent toutes les deux sur l'intron 12 ce qui suggère une délétion provenant d'un épissage alternatif. Toutefois, ces observations génomiques ne semblent pas couplées avec des problèmes de qualité de viande chez la dinde ou le poulet ce qui amène de nombreux auteurs à évoquer une autre étiologie du syndrome PSE chez les volailles : on préfère donc parler de d'avian stress syndrome (ASS) (Von Lengerken *et al.*, 2002) ou de syndrome PSE-like chez les oiseaux.

3.2.2 Les facteurs ante mortem

Bien que le type génétique de l'animal soit un facteur important pour la qualité de la viande, d'autres facteurs *ante mortem* tels que l'alimentation, la saison ou les manipulations avant l'abattage pourraient aussi être très impliqués dans le déterminisme de la qualité de la viande (Channon *et al.*, 2000). Une altération de ces paramètres semble pouvoir causer une diminution de la qualité de la viande y compris celle associée à l'apparition des viandes PSE.

3.2.2a L'alimentation

Divers facteurs alimentaires tels que l'acidité de l'eau, la teneur en magnésium et en vitamine E de la ration ainsi que la durée de jeûne *ante mortem* ont été étudiés car considérés comme des facteurs pouvant influencer l'apparition des viandes PSE chez le porc. Par contre, l'impact de ces facteurs semble beaucoup moins évident chez les volailles. Chez celles-ci, seul le rôle de la vitamine E a été profondément étudié (chez les volailles : Olivo *et al.*, 2001). On peut en retenir qu'un apport supplémentaire de vitamine E semble diminuer la fréquence d'apparition des viande PSE chez le porc et les volailles.

Une augmentation du temps de jeûne *ante mortem* conduit normalement à une diminution du glycogène dans le muscle et par conséquent à une augmentation de la valeur du pHu (Fletcher, 2002). La durée de jeûne la plus appropriée semble être d'environ 10 h car une durée plus courte (moins de 8h) augmente le risque de contamination fécale de la carcasse au moment de l'éviscération alors qu'une durée

plus longue (18 h et plus) affecte les valeurs de rendement de production (Warriss *et al.*, 1990). De plus, Eikelenboom *et al.* (1991) et Gispert *et al.* (1996) montrent que le jeûne avant l'abattage diminue la mortalité des animaux au cours du transport. Les premiers suggèrent aussi un effet du jeûne sur la réduction de la fréquence des viandes PSE chez le porc. Par contre, plusieurs études menées chez les volailles ne montrent pas d'effet réel du jeûne sur la valeur du pHu du muscle pectoral (Warriss *et al.*, 1993 ; Warriss *et al.*, 1999 ; Savenije *et al.*, 2002) mais seulement pour les muscles des cuisses où la valeur du pHu est alors plus élevée.

3.2.2b La saison

L'effet de la saison, ou plus particulièrement l'effet de la température ambiante sur la fréquence d'apparition des viandes PSE a été largement étudié. Les stress thermiques *ante mortem* affectent le métabolisme énergétique *post mortem* du muscle par les réponses physiologiques qu'il suscite (sécrétion d'adrénaline, modifications du système respiratoire et cardiovasculaire) ou simplement par la fatigue de l'animal (Lambooi, 1999). Diverses études montrent ainsi que des périodes de température élevées ou de fortes amplitudes thermiques conduisent à une augmentation de la fréquence des viandes PSE (Froning *et al.*, 1978 ; Northcutt, 1994 ; Olivo *et al.*, 2001 ; Début *et al.*, 2003 ; Soares *et al.*, 2003). McCurdy *et al.* (1996) observent la valeur de L* du muscle pectoral des viandes de dinde prélevées à différentes saisons. Les valeurs de L* sont les plus élevées pendant l'été. Au contraire, les valeurs de L* sont les plus faibles pendant l'hiver. Ces auteurs rapportent également une corrélation négative entre la valeur de L* et le pouvoir de rétention en eau de la viande. Au contraire, certains auteurs ne mettent pas en évidence d'effet de la saison sur la qualité des viandes (Holm et Fletcher, 1997 ; Petracci *et al.*, 2001). Si le stress thermique chronique ou aigu peut conduire à une viande PSE chez le porc, il ne semble pas être dans le cas chez les volailles (Rémignon *et al.*, 2007).

3.2.2c Les manipulations avant l'abattage

Les manipulations avant l'abattage telles que le transport, la durée d'attente à l'abattoir et la méthode d'étourdissement affectent la fréquence d'apparition des viandes PSE.

Au cours du transport, les animaux pourraient être soumis à diverses situations de stress comme le changement de température et d'humidité, la vitesse ou

l'accélération du véhicule de transport, les mouvements brusques et les bruits (Nicol et Scott, 1990 ; Mitchell *et al.*, 1997). La fréquence des viandes PSE peut ainsi être réduite par une durée de transport plus longue car les animaux ont alors le temps de se calmer ce qui diminuerait les bouleversements métaboliques associées au chargement/déchargement.

La durée d'attente à l'abattoir peut aussi jouer un rôle sur l'apparition de viande PSE. Cependant, ce facteur est peu documenté chez les volailles car leur durée d'attente est généralement courte (Rémignon *et al.*, 2007). Chez le poulet, Kannan *et al.* (1997) ne montrent pas d'effet de la durée d'attente (4 h) sur la couleur et la texture de viande.

La méthode d'étourdissement pourrait aussi influencer la fréquence d'apparition des viandes PSE. Il existe deux principales méthodes utilisées dans les abattoirs : l'électronarcose et la narcose gazeuse. Chaque méthode a des modalités différentes qui peuvent affecter la qualité de la viande comme le voltage pour l'électronarcose ou la composition du gaz pour la narcose gazeuse. Chez les volailles, les différentes études réalisées montrent que la fréquence d'apparition du syndrome PSE ne semble pas être influencée par la méthode d'étourdissement utilisée avant la saignée (chez la dinde : Froning *et al.*, 1978 ; Northcutt *et al.*, 1998).

En plus des manipulations mentionnées précédemment, d'autres facteurs comme le battement des ailes des volailles sur la chaîne d'abattage et/ou l'activité physique intense pourraient être pris en compte dans les facteurs d'apparition des viandes PSE chez les oiseaux mais peu de données sont disponibles dans ce domaine.

3.2.3 Les facteurs post mortem

Le traitement technologique des carcasses fait partie des facteurs influençant la qualité de la viande. Il en existe principalement deux modalités qui sont la cinétique de refroidissement de la carcasse et la stimulation électrique.

L'objectif essentiel du refroidissement des carcasses est de limiter la croissance bactérienne mais il peut aussi affecter la fréquence d'apparition des viandes PSE puisqu'elles sont causées par la combinaison d'une basse valeur de pH et d'une température élevée dans les muscles. Ainsi, le refroidissement rapide de la carcasse

peut diminuer la fréquence d'apparition des viandes PSE (James *et al.*, 2006). Néanmoins, le refroidissement de la carcasse en phase de *pre-rigor* pourrait causer des contractures au froid de la viande et donc une forte diminution de sa tendreté (James *et al.*, 2006). Alvarado et Sams (2002) recommandent que la température de la carcasse de dinde soit réduite au dessous de 25°C en 60 min *post mortem* pour limiter l'apparition des viandes PSE. Chez les porcs, Kerth *et al.* (2001) montrent que le refroidissement rapide des carcasses réduit fortement la fréquence d'apparition des viandes PSE chez les animaux sensibles à l'halothane (Nn). Plusieurs auteurs notent aussi que le refroidissement rapide des carcasses augmente le PRE des viandes (Rosenvold et Andersen, 2003) et améliore la couleur de la viande refroidie (Rathgeber, 1999a).

La stimulation électrique accélère l'entrée en *rigor* des carcasses et prévient un raccourcissement trop important des sarcomères ce qui va améliorer la tendreté de la viande. Toutefois, chez les volailles, la stimulation électrique semble avoir un faible effet sur la tendreté car celle-ci est naturellement élevée (Sams, 2002). De plus, la disparition *post mortem* de l'ATP dans le muscle de volailles est plus rapide que chez le porc (Bendall, 1973) ou les bovins ce qui réduit considérablement le risque de développement des contractures au froid.

4. Les modifications des protéines dans les viandes PSE

La combinaison bas pH précoce *post mortem* - température élevée des muscles conduit à une dénaturation des protéines musculaires ce qui affecte les propriétés technologiques et sensorielles des viandes. Plusieurs méthodes ont déjà été utilisées pour étudier la dénaturation de ces protéines de manière quantitative et qualitative.

Les mesures d'extractibilité ou de solubilité des protéines sont une méthode simple pour évaluer la dénaturation des protéines de la viande. On utilise simplement le fait que les protéines sarcoplasmiques sont solubles dans l'eau ou dans un tampon de faible force ionique alors que les protéines myofibrillaires ne le sont que dans un tampon de haute force ionique (Kijowski, 2001). Ainsi, de nombreux auteurs mettent en évidence des solubilités de protéines sarcoplasmiques (porc : Sayre et Briskey, 1963 ; Lopez-Bote *et al.*, 1989 ; Boles *et al.*, 1992 ; Warner *et al.*, 1997 ; Joo *et al.*,

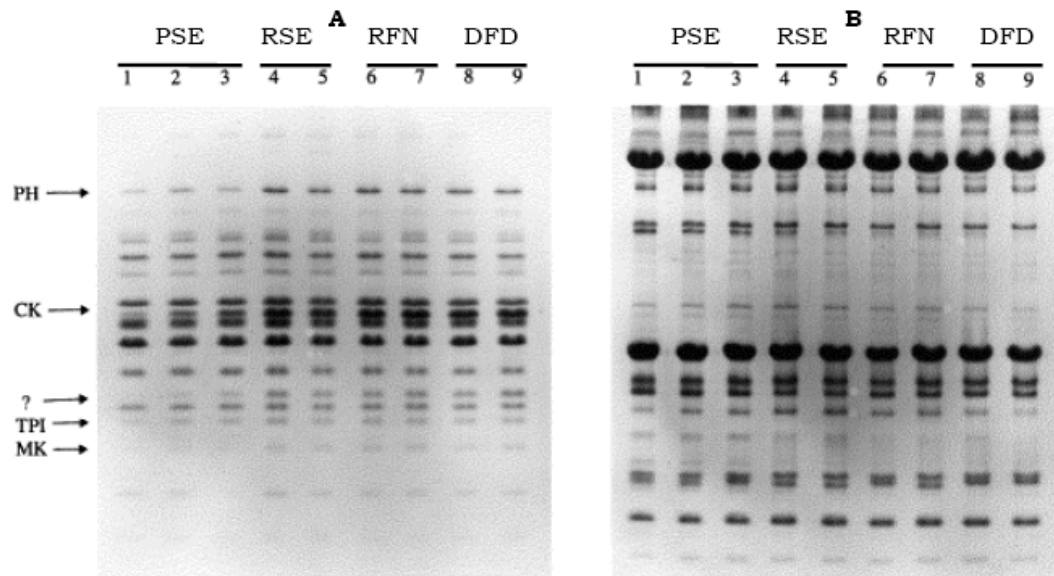


FIGURE 14. Pattern de SDS-PAGE en condition dénaturantes de protéines sarcoplasmiques (A) et myofibrillaires (B) chez le porc, PH = phosphorylase, CK = créatine kinase, TPI = triose phosphate isomérase, MK = myokinase (d'après Joo *et al.*, 1999)

1999 ; Wilson et Van Laack, 1999 ; dinde : Rathgeber *et al.*, 1999a) ou myofibrillaires (porc : Bendall et Wismer-Pedersen, 1962 ; Lopez-Bote *et al.*, 1989 ; Boles *et al.*, 1992 ; Warner *et al.*, 1997 ; Joo *et al.*, 1999 et Kuo et Chu, 2003 ; dinde : Rathgeber *et al.*, 1999a) des viandes PSE inférieures à celles des viandes normales. La dénaturation des protéines sarcoplasmiques conduit à une couleur pâle des viandes PSE (Alvarado et Sams, 2004) alors que celle des protéines myofibrillaires, particulièrement de la myosine (Rathgeber *et al.*, 1999b), diminue principalement la capacité de rétention en eau des viandes PSE et finalement leurs propriétés technologiques de façon générale (McKee et Sams, 1998 ; Wynveen *et al.*, 1999 ; Alvarado et Sams, 2004). Chez le porc, Gratacós-Cubarsí et Lametsch (2008) notent récemment que la valeur du pH (entre 5,0 – 7,5) et la température élevée (40°C) *post mortem* altèrent les propriétés des protéines sarcoplasmiques et particulièrement des enzymes métaboliques. Ces auteurs suggèrent que la conformation modifiée des enzymes métaboliques entraîne des différences d'hydrophobicité de ces enzymes. Cette modification pourrait également affecter le métabolisme cellulaire *post mortem* de la viande.

Par ailleurs, il est généralement admis que la diminution de la solubilité des protéines sarcoplasmiques et myofibrillaires est le résultat de la précipitation des protéines sarcoplasmiques dénaturées sur les protéines myofibrillaires (Alvarado et Sams, 2004). Par contre, chez la dinde, Pietrzak *et al.* (1997) suggèrent que la dénaturation de la myosine des viandes PSE est plus impliquée dans la faible extractabilité des protéines myofibrillaires que la précipitation des protéines sarcoplasmiques sur ces mêmes protéines myofibrillaires. On peut néanmoins aussi noter que la dégradation des protéines en petites fractions (comme au cours de la maturation de la viande) devrait améliorer l'extractabilité des protéines (Rathgeber *et al.*, 1999b). Or, dans les viandes PSE, la maturation est plus faible.

Les modifications des protéines peuvent être examinées par la réalisation de gels SDS-PAGE qui permettent de séparer et de visualiser des protéines ou des fragments protéiques en fonction de leur poids moléculaire

Plusieurs études rapportent une différence au niveau de la phosphorylase extraite des viandes PSE et des viandes normales (**FIGURE 14**) (chez le porc : Fisher *et al.*, 1979 ; Boles *et al.*, 1992 ; Warner *et al.*, 1997 ; Joo *et al.*, 1999 ; Wilson et Van Laack, 1999 ; chez la dinde : Pietrzak *et al.*, 1997 ; Rathgeber *et al.*, 1999b ; Alvarado et Sams ; 2004). Chez la dinde, Pietrzak *et al.* (1997) suggèrent que, dans le cas des viandes PSE, la phosphorylase est insolubilisée car précipitée sur les myofibrilles ce

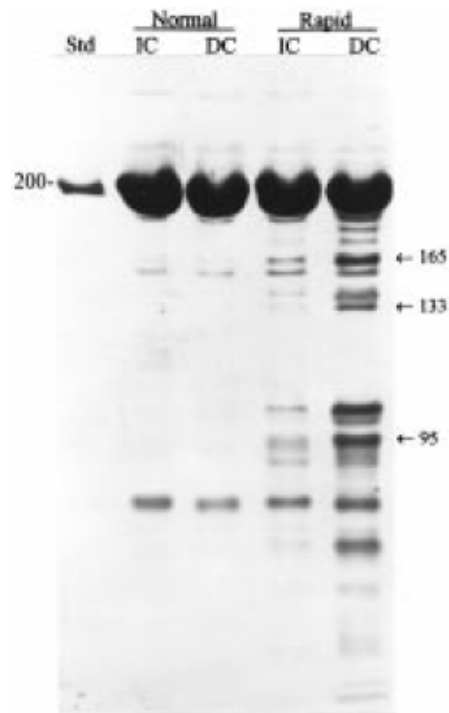


FIGURE 15. Photo de Western Blot de protéines musculaires de dinde GR (rapid) et GN (normal). Les carcasses ont été soit refroidies immédiatement après la mort (IC) soit 90 min après la mort (DC). Quatorze bandes des protéines sont été trouvées après dirigés avec les anticorps contre la méromyosine lourde et la méromyosine légère d'après Rathgeber *et al.* (1999b)

qui a pour conséquence de réduire la solubilité de la myosine. Warner *et al.* (1997) notent quant à eux que les viandes PSE de porc ont des quantités de phosphorylase quatre fois plus importantes que les viandes normales. Par contre, chez la dinde, seule une différence d'un facteur deux est rapportée entre les deux types de viandes (Rathgeber *et al.*, 1999b ; Alvarado et Sams ; 2004).

On peut aussi noter que l'activité de cette enzyme chez le porc est quatre fois plus faible dans les muscles PSE que dans des muscles normaux (Fisher *et al.* (1979).

D'autres protéines sarcoplasmiques telles que la créatine kinase (chez le porc : Boles *et al.*, 1992 ; Warner *et al.*, 1997 ; Joo *et al.*, 1999 ; chez la dinde : Rathgeber *et al.*, 1999b), la triose phosphate isomérase et la myokinase (chez le porc : Joo *et al.*, 1999) sont également été retrouvées dans la fraction des protéines myofibrillaires des viandes PSE.

En ce qui concerne la dénaturation des protéines myofibrillaires, Rathgeber *et al.* (1999b) rapportent que la dénaturation de la myosine est importante chez les dindes ayant une forte vitesse de chute du pH (**FIGURE 15**) alors que cette dénaturation n'est pas marquée pour les viandes normales.

La modification des protéines cytosquelettiques a également été mise en évidence. Ainsi, la vitesse de dégradation de la titine est plus faible dans les viandes PSE de porc par rapport à celle des viandes de porc normaux (Boles *et al.*, 1992 ; Warner *et al.*, 1997). Cette moindre dégradation pourrait s'expliquer par un taux de protéolyse limité dans le cas des viandes PSE. Au contraire, chez la dinde, Rathgeber *et al.* (1999b) ne rapportent pas d'effet de la vitesse de chute du pH *post mortem* sur la dégradation de la titine.

En conclusion, il est bon de rappeler que dans toutes ces études, la définition du syndrome PSE ainsi que le mode de sélection des échantillons (caractéristique technologique des viandes différentes : Warner *et al.*, 1997 ; Joo *et al.*, 1999 ; le génotype différent : Boles *et al.*, 1992 ; vitesse de chute du pH différente : Pietrak *et al.*, 1997 ; Rathgeber *et al.*, 1999b) diffèrent largement (Briskey, 1964 ; Offer et Trinick, 1983) ce qui pourrait amener à une association de modification de la solubilité des protéines non pas spécifique des viandes PSE mais plutôt associée à différentes qualités de viandes aux origines les plus diverses.

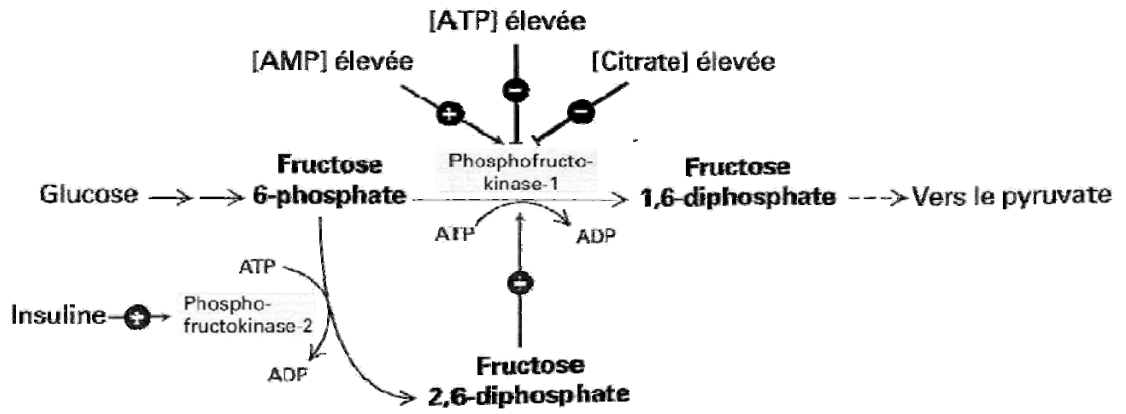


FIGURE 16. Conversion de Fructose-6-phosphate en Fructose-1,6-bisphosphate par Phosphofruktokinase (Campbell et Smith, 2002)

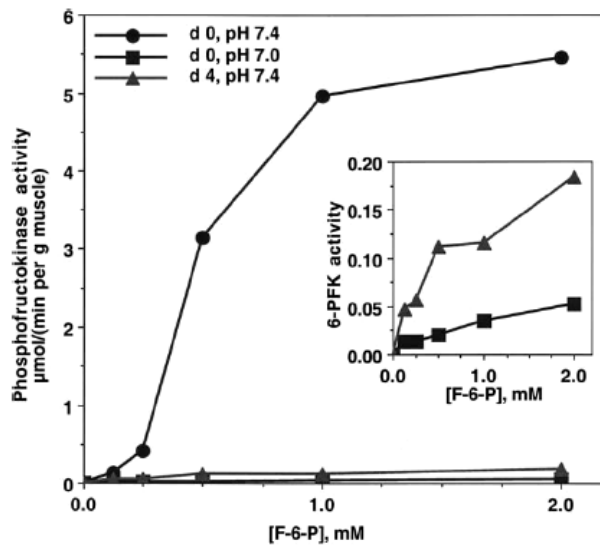


FIGURE 17. Effets du pH et du temps *post mortem* sur l'activité de la PFK du muscle *Sternocephalicus pars mandibularis* chez le bovin après Rhoades *et al.* (2005)

4.1 Les enzymes glycolytiques et la qualité de la viande PSE

Les enzymes glycolytiques représentent 70% des protéines sarcoplasmiques (Kijowski, 2001). Des propriétés différentes de ces enzymes pourraient conduire à des modifications des mécanismes de la glycolyse et donc à des variations de la qualité des viandes. Quelques enzymes glycolytiques importantes (en fonction de leur teneur ou de leur place métabolique clé) ainsi que leurs effets sur la qualité de la viande sont présentées dans cette partie de l'étude.

4.1.1 la phosphofructokinase ou PFK.

La PFK (EC 2.7.1.11, Poids moléculaire ; PM = 320 kDa, pI= 5) convertit le fructose 6-phosphate (F-6-P) en fructose 1,6-diphosphate (F-1,6-P₂) (**FIGURE 16**) (Uyeda et Luby, 1974) et est considérée comme le marqueur majeur de la capacité glycolytique de la cellule car elle est la principale enzyme vitesse limitante de la glycolyse (Constantinescu, 2005 ; Kohn *et al.*, 2005). Il existe deux isoformes de la PFK : la PFK-1 et la PFK-2.

La PFK-1 est activée de manière allostérique par l'AMP et le fructose-2,6-diphosphate (F-2,6-P₂), dont les concentrations sont élevées lorsque les réserves énergétiques de la cellule sont faibles. Par contre, son activité est inhibée par l'ATP et le citrate dont les concentrations sont élevées lorsque la cellule oxyde activement le glucose en CO₂. Comme l'activité de PFK-1 dépend de l'ATP et de l'AMP, l'activité glycolytique de la cellule est donc très sensible à la charge cellulaire de ces deux molécules. L'inhibition de la PFK par l'ATP peut sembler étrange puisque l'ATP est également un substrat de cette enzyme mais l'affinité du site de liaison du substrat pour l'ATP est nettement supérieure à celle du site de régulation allostérique.

La PFK-2 a deux types d'activité enzymatique : l'activité kinase qui forme du F-2,6-P₂ à partir du F-6-P et l'activité phosphatase qui catalyse la réaction inverse. L'activité kinase de PFK-2 est favorisée par l'insuline libérée par le pancréas.

Chez le bovin, Rhoades *et al.* (2005) notent une diminution de la valeur du pH de 7,4 à 7,0 ainsi que de la maturation de la viande pendant 4 jours à 4°C, quand l'activité de la PFK est réduite (**FIGURE 17**). Allison *et al.* (2003) trouvent une corrélation négative ($r = - 0,48$, $P < 0,01$) entre l'activité de la PFK et les pertes à la

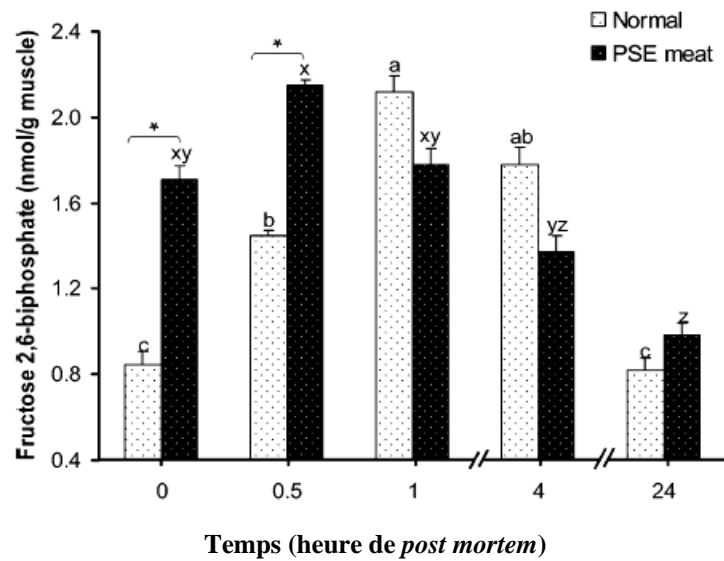


FIGURE 18. La quantité *post mortem* de Fructose-2,6-diphosphate des viande PSE et normale chez le porc après Shen *et al.*, 2006.

* indique un écart significatif ($P < 0,05$) entre les viandes PSE et normale.

^{a-c} Des lettres différentes indiquent un écart significatif ($P < 0,05$) pour la viande normale.

^{x-z} Des lettres différentes indiquent un écart significatif ($P < 0,05$) pour la viande PSE.

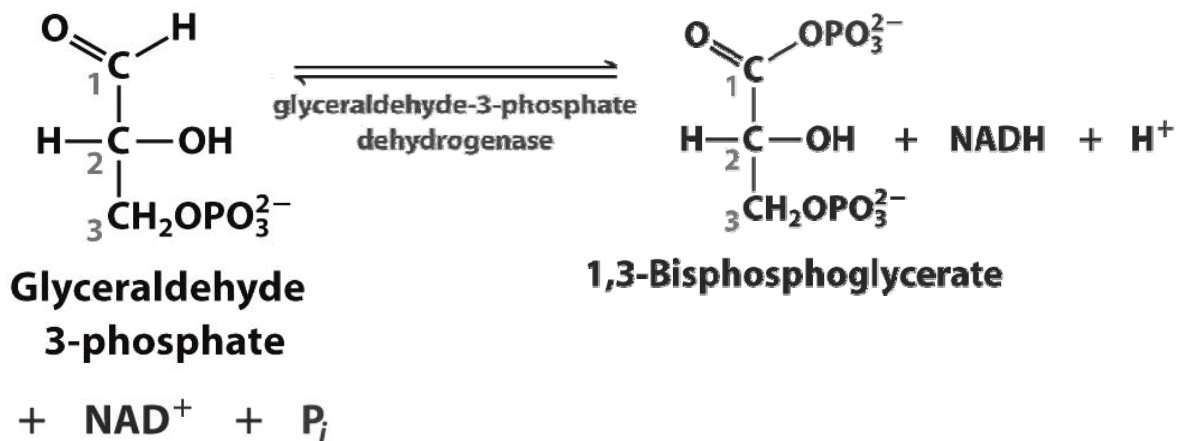


FIGURE 19. Réaction de la phosphorylation oxydative de glycéraldehyde-3-phosphate en 1,3 bisphosphate glycérate par la GAPDH

conservation de la viande de porc à glycolyse rapide. Ces auteurs suggèrent alors que la chute rapide du pH *post mortem* pourrait conduire à une dénaturation partielle et donc à une inactivation de la PFK.

Dans une étude réalisée chez le porc, Shen *et al.* (2006) montrent que la quantité précoce *post mortem* de F-2,6-P₂ de la viande PSE (pH_{30min} environ 6,0) augmente plus rapidement que celle de la viande normale (pH_{30min} autour de 6,3) (**FIGURE 18**). Comme le F-2,6-P₂ est un activateur allostérique de la PFK, l'augmentation de la quantité de F-2,6-P₂ peut élever l'activité de la PFK et en conséquence catalyser la glycolyse *post mortem* ce qui conduit à une qualité inférieure des viandes. Cependant, la quantité de F-2,6-P₂ des viandes PSE et normale n'est pas différente après 30 min *post mortem*. Néanmoins, dans l'étude préliminaire de Gratacós-Cubarsí et Lametsch (2008), la conformation de la PFK ne semble pas être modifiée par le changement de valeur du pH *post mortem*.

4.1.2 la GAPDH

La glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase ou (la NAD⁺-dependent GAPDH, EC 1.2.1.12, PM = 140 kDa, pI = 8,5) est l'enzyme quantitativement la plus présente dans les protéines sarcoplasmiques. Elle catalyse la phosphorylation oxydative du glycéraldéhyde-3-phosphate en 1,3 bisphospho glycérate (**FIGURE 19**). La réaction catalysée par la GAPDH est en fait la somme de deux processus : l'oxydation de l'aldéhyde (l'activité déshydrogénase) en un acide carboxylique par le NAD⁺ et la phosphorylation de l'acide carboxylique (l'activité acyl phosphatase) pour former un acyl phosphate (Mozdziak *et al.*, 2003 ; Styre *et al.*, 2003).

Dans le muscle pectoral de poulet, Mozdziak *et al.* (2003) rapportent une expression du gène codant pour la GAPDH plus élevée avec l'âge et l'état nutritionnel (**TABLEAU 6**). Matsuishi et Okitani (2000) rapportent par ailleurs la dégradation de la GAPDH au cours de la maturation de viande de porc. Ce résultat est aussi en accord avec ceux de Steova *et al.* (2000 : chez le bovin) et Okumura *et al.* (2003 : chez le porc) qui montrent que la dégradation de la GAPDH se poursuit au cours de la conservation sous vide de la viande (**FIGURE 20**). Miyaguchi *et al.* (2004) notent que la teneur en GAPDH affecte la texture d'un gel de viande du porc.

TABLEAU 6. Expression du gène de GAPDH varie selon l'âge et l'état nutritionnel d'animaux (Mozdziak *et al.*, 2003)

L'expression du gène de GAPDH pendant les premiers 7 jours après éclosion				
Groupe*	Jour 0	Jour 2	Jour 3	Jour 7
Nourri	1,17 ± 0,03 ^a	1,17 ± 0,06 ^a	2,02 ± 0,24 ^b	4,64 ± 0,24 ^c
Jeûne	1,17 ± 0,03 ^a	0,97 ± 0,24 ^a	1,02 ± 0,15 ^a	3,81 ± 0,52 ^c

* Les oiseaux sont libérés pour la nourriture (Nourri) ou Jeûne pendant les trois premiers jours. Après 3 jours, les oiseaux des deux groupes sont alimentés jusqu'à 7 jours après éclosion.

^(a-c) Des lettres différents en exposant indiquent un écart significatif ($P < 0,05$).

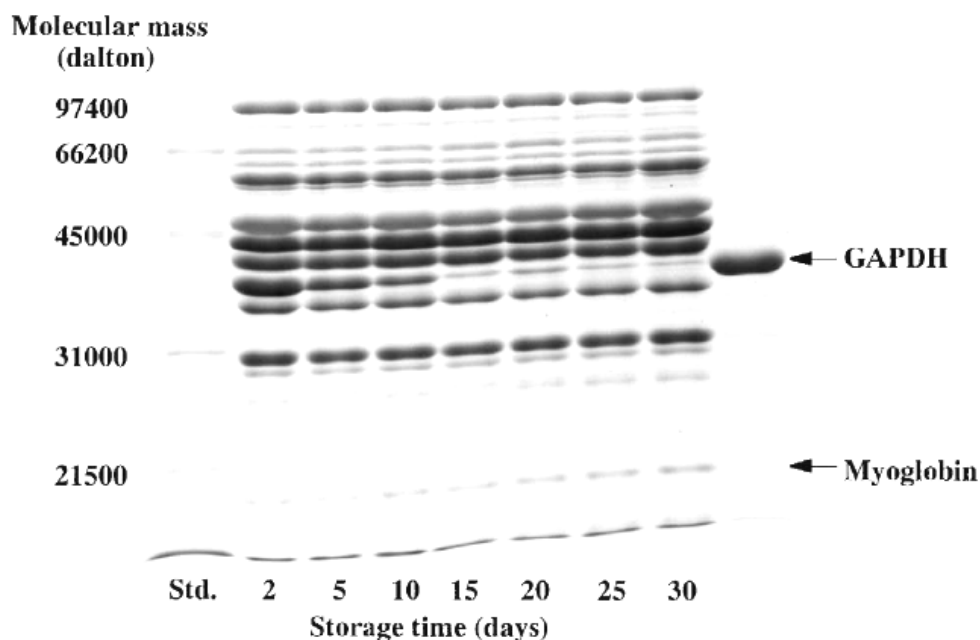


FIGURE 20. Pattern de SDS-PAGE en conditions dénaturantes de protéines sarcoplasmiques montrant la dégradation de la GAPDH au cours de la conservation de viande du porc en sous vide à 4°C (Okumura *et al.*, 2003)

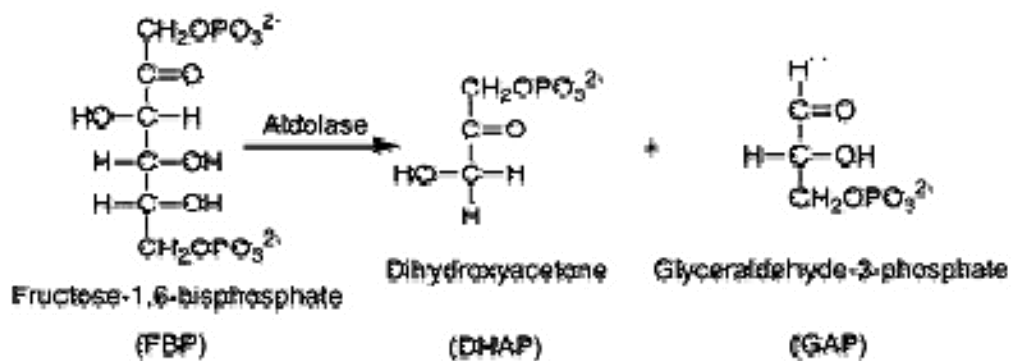


FIGURE 21. Dégradation de Fructose-1,6-bisphosphate en Dihydroxyacétone et Glycéraldéhyde-3-phosphate par Aldolase A

TABLEAU 7. Altération des paramètres cinétiques d'aldolase A en présence des filaments fins (Walsh *et al.*, 1977)

	K_m (μM)	V_{max} ($\mu\text{M}/\text{min}$ par mg d'aldolase A)
Aldolase A	$1,0 \pm 0,15$	$20,1 \pm 0,9$
Aldolase A/F-actine	$8,0 \pm 0,7$	$26,1 \pm 2,0$
Aldolase A/F-actine-tropomyosine	$12,0 \pm 1,0$	$28,1 \pm 3,7$
Aldolase A/F-actine-tropomyosine-troponine/0,1 mM CaCl_2	$20,0 \pm 2,4$	$56,2 \pm 9,8$

Ces auteurs trouvent aussi que la teneur en GAPDH augmente la résistance à la rupture (breaking stress) de ce même gel de viande. Gratacós-Cubarsí et Lametsch (2008) ont aussi suggéré que l'altération de la valeur du pH pourrait modifier la conformation de la GAPDH. Molette *et al.* (2005) trouvent des différences d'expression au niveau de la GAPDH entre les viandes PSE-like et les viandes normales.

4.1.3 l'aldolase A

La fructose-1,6-bisphosphate-D-glyceraldehyde-3-phosphate lyase (ou aldolase A, EC 4.1.2.13, PM = 160 kDa, pI = 9,5) est une enzyme homotétramère. Elle décompose le fructose-1,6-diphosphate (F-1,6-BP) en dihydroxyacétone phosphate (DHAP) et en glyceraldehyde-3-phosphate (G-3-P) (**FIGURE 21**).

Même si l'aldolase A est représentée abondamment dans la voie de la glycolyse, peu d'informations sur ses fonctions sont disponibles. Dans le muscle, l'aldolase A est liée à l'actine (Walsh et Winzor, 1980 ; Wang *et al.*, 1996) ce qui est susceptible de modifier ses paramètres cinétiques. Cette association entre l'aldolase A et l'actine peut aussi influencer la structure de l'actine elle-même (O'reilly et Clarke, 1993). Dans ce modèle, une molécule d'aldolase A est liée à 14 molécules d'actine. Ce ratio est porté à 2 : 14 en présence de tropomyosine et à 3 : 14 lorsque les troponines sont aussi présentes (Lawrie, 1998). Par ailleurs, chez les bovins, Walsh *et al.* (1977) rapportent aussi des valeurs de vitesse maximale (V_{max}) et de constante de Michaëlis (K_m) de l'aldolase A plus élevées en présence d'actine, de tropomyosine et de troponine que sans ces trois protéines. Ces auteurs suggèrent également que la concentration en Ca^{2+} peut aussi affecter les valeurs de V_{max} et de K_m de l'aldolase A (**TABLEAU 7**).

Gratacós-Cubarsí et Lametsch (2008) observent une diminution de l'hydrophobicité de l'aldolase A des muscles *Longissimus dorsi* de porc avec une diminution de la valeur du pH. Cette diminution de l'hydrophobicité est due à une modification de conformation de l'aldolase A ce qui affecte alors probablement le métabolisme énergétique *post mortem*. Molette *et al.* (2005) rapportent aussi des différences qualitatives du niveau de l'aldolase A dans des muscles pectoraux de dindes avec des vitesses de chute du pH différentes.

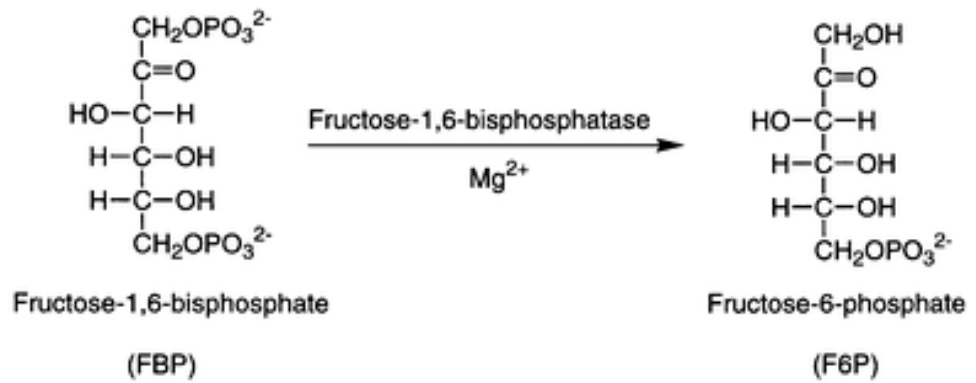


FIGURE 22. Conversion de Fructose-1,6-bisphosphate en Fructose-6-phosphate par Fructose-1,6-bisphosphatase

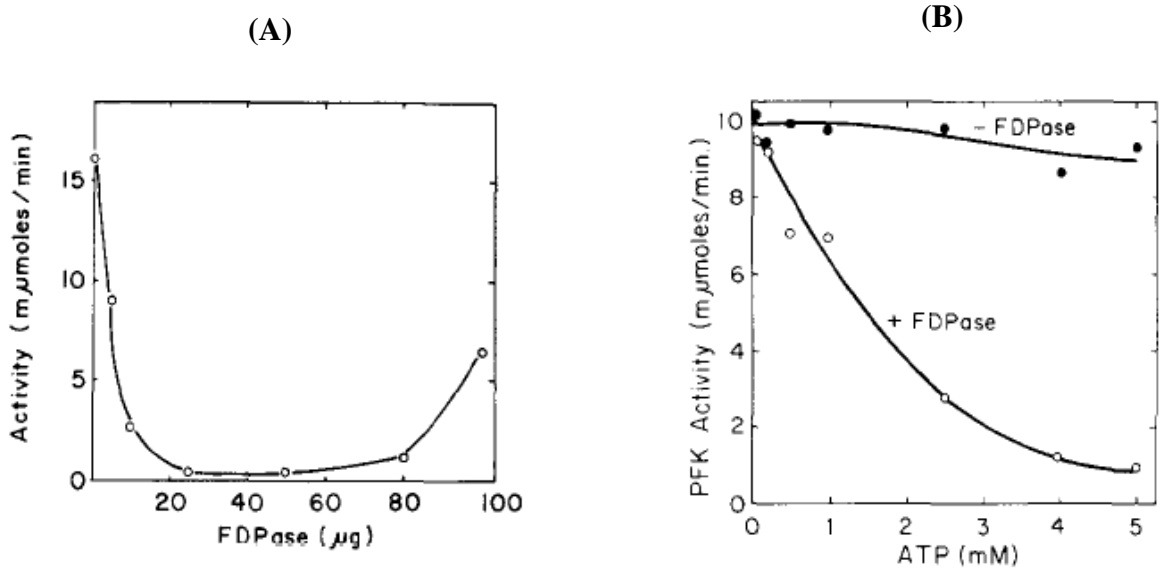


FIGURE 23. Effet of FBPase en l'activité de PFK (A) et l'inhibition de PFK par ATP en présence et absence de FBPase (B) (Uyeda et Luby, 1974)

4.2 Interactions entre enzymes glycolytiques

Plusieurs auteurs suggèrent que les enzymes glycolytiques *in vivo* se lient à l'actine ou forment des complexes avec d'autres enzymes déjà liées à l'actine (Lawrie, 1998 ; MacGregor *et al.*, 1980 ; Walsh *et al.*, 1980 ; Schneider et Post, 1995 ; Wang *et al.*, 1996 ; Rakus, 2003 ; Dziewulska-Szwajkowska *et al.*, 2004 ; Russell *et al.*, 2004 ; Mamczur *et al.*, 2005). Une fois l'interaction ou le complexe enzymatique formé, les caractéristiques individuelles de chaque enzyme ou de l'ensemble des enzymes pourraient être modifiées pour les rendre plus ou moins efficaces. Voici quelques exemples de ces interactions entre enzymes glycolytiques.

4.2.1 PFK et Fructose-1,6-bisphosphatase

La fructose-1,6-bisphosphatase (FBPase, EC 3.1.3.11, pI = 4,5) est une enzyme de la voie de la néoglucogenèse. Elle catalyse l'hydrolyse du fructose-1,6-bisphosphate (FBP) en fructose-6-phosphate et en phosphate inorganique (Uyeda et Luby (1974) **FIGURE 22**). Uyeda et Luby (1974) rapportent que la FBPase augmente l'inhibition de la PFK par l'ATP (**FIGURE 23**). Ces auteurs suggèrent que la PFK serait liée fortement au FBP. Lorsque le FBP lié est hydrolysé par la FBPase, on assiste alors à un changement de conformation de la PFK et ensuite à une inhibition de la PFK par l'ATP. Au contraire, Ovádi *et al.* (1986) trouvent que l'interaction entre la PFK et la FBPase conduit à une augmentation de l'activité de la PFK d'un facteur 4 et à une diminution de l'activité de la FBPase d'un facteur 3.

4.2.2 Aldolase A et Fructose-1,6-bisphosphatase

La FBPase peut également se lier avec l'aldolase A. MacGregor *et al.* (1980) rapportent qu'une molécule d'aldolase A peut former un complexe avec une seule molécule de FBPase. De même, Rakus *et al.* (2003) indiquent que l'aldolase A peut se lier avec une FBPase qui est déjà attachée avec l' α -actinine. Ce complexe a des propriétés cinétiques enzymatiques modifiées comme par exemple une moindre sensibilité de la FBPase à l'AMP (Rakus et Dzugaj, 2000 ; Dziewulska-Szwajkowska

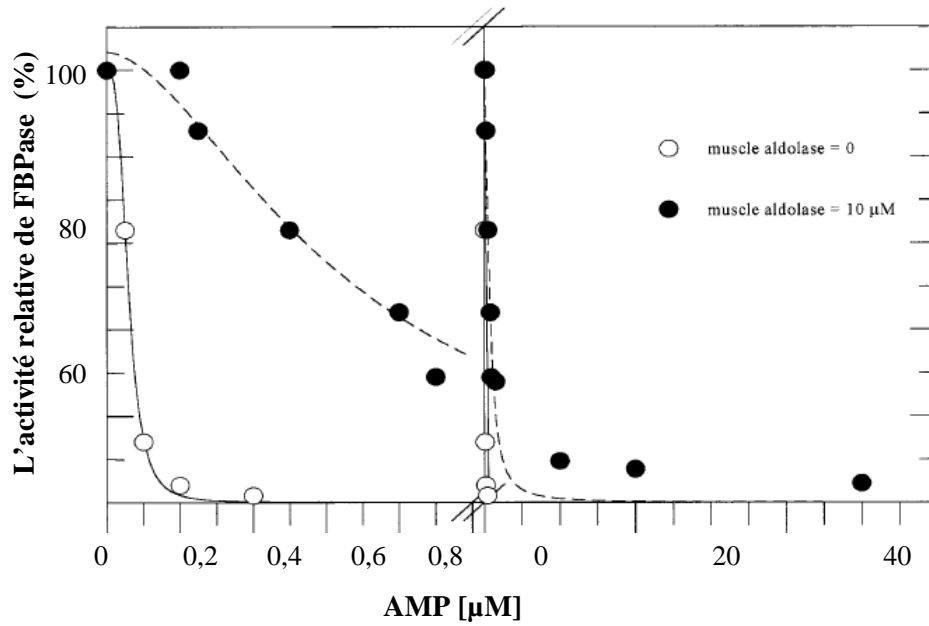


FIGURE 24. Inhibition de FBPase par AMP en absence (cercle blanc) et en présence (cercle noir) d'aldolase A (Rakus et Dzugaj, 2000)

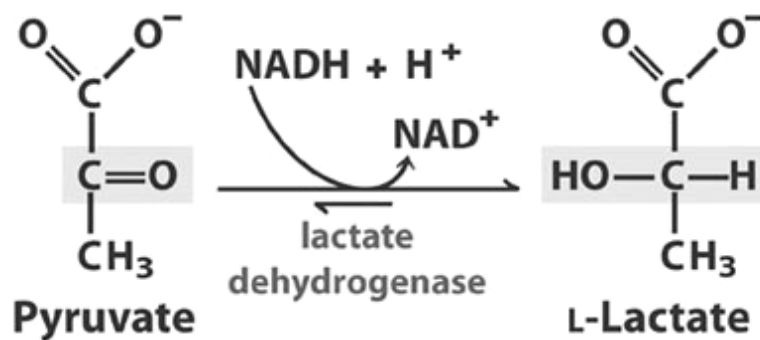


FIGURE 25. Réaction catalysant une conversion d'acide pyruvique et d'acide lactique par lactate déshydrogénase. Cette réaction est accompagnée de la conversion concomitante de NADH et de NAD⁺

et al., 2004) (**FIGURE 24**). Mamczur *et al.* (2005) montrent que l'augmentation de la concentration en calcium du milieu dissocie le complexe aldolase A-FBPase- α -actinine en dissociant la FBPase de la strie Z et en accumulant l'aldolase A sur la bande I. Cette dernière pourrait alors causer l'accélération de la glycolyse.

4.2.3 Aldolase A et Lactate déshydrogénase

L'aldolase A peut se lier à la lactate déshydrogénase (LDH, EC 1.1.1.27, pI = 8,6). La LDH catalyse la conversion réversible de l'acide pyruvique en acide lactique tout en convertissant le NADH en NAD⁺ (**FIGURE 25**). Russell *et al.* (2004) rapportent aussi que l'aldolase A protège la LDH de son inhibition par l'acide ascorbique. Cette protection est mise en place seulement au cours de la contraction musculaire. Ces auteurs expliquent alors que l'aldolase A se lie avec l'actine et qu'elle n'est plus capable de protéger la LDH. Cependant, au cours de la contraction où les autres enzymes glycolytiques liée aussi avec l'actine, l'aldolase A peut, donc, protéger la LDH de l'acide ascorbique.

MATÉRIEL et METHODS

Fréquence (%)

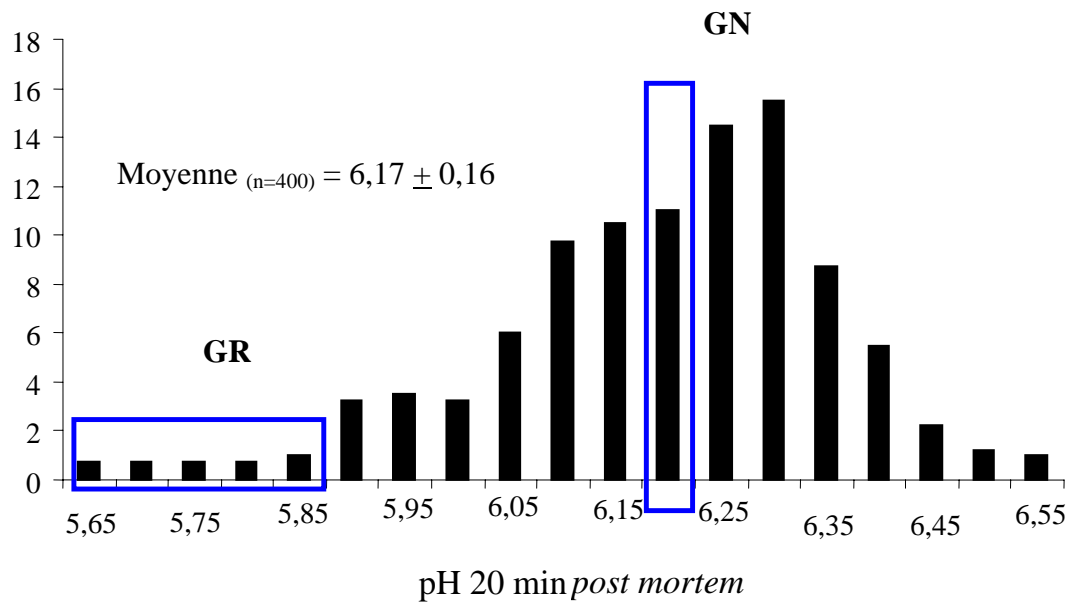


FIGURE 26. Courbe de distribution des valeurs de pH mesurées à 20 min *post mortem* (n= 400) dans le muscle *PM* de dindons BUT9. Les animaux sélectionnés comme animaux à glycolyse rapide (GR, n=20) et à glycolyse normale (GN, n=20) sont signalés sur le graphique.

III. Matériel et méthodes

Les animaux et les prélèvements

Les animaux ont été élevés dans les conditions standard de production des dindes de chair de souche BUT9 (British United Turkey, Chester, Royaume-Uni), chez un éleveur du Groupe Gastronomes S.A., jusqu'à l'âge d'abattage commercial. Les animaux ont été abattus dans des conditions industrielles à l'abattoir Gastronomes S.A. de Moncoutant (Deux-Sèvres). Les échantillons de muscles pectoraux des dindes ont été choisis selon leurs valeurs de pH à 20 min *post mortem*. Des échantillons de ces mêmes animaux ont également été prélevés à 24 h *post mortem*.

Sur un même lot de 2929 dindons BUT9 (19 semaines, 15 kg de poids vif en moyenne), 400 mesures de pH en fin de chaîne d'abattage (pH_{20min}) ont été effectuées au hasard. La valeur moyenne du pH_{20 min} de ce lot de 400 animaux était égale à $6,17 \pm 0,16$. La courbe de distribution des valeurs du pH_{20min} a été réalisée pour sélectionner 2 groupes d'échantillons (**FIGURE 26**). Le groupe des animaux à glycolyse normale (GN, n = 20) est défini comme étant celui qui regroupe les animaux ayant les valeurs de pH_{20min} les plus basses dans le muscle *Pectoralis major* (PM) avec une valeur moyenne de $6,21 \pm 0,01$. Le groupe des animaux à glycolyse rapide (GR, n = 20) est constitué des animaux qui ont les plus basses valeurs de pH_{20min} ($5,80 \pm 0,07$). Les carcasses des animaux ont ensuite été ressuées selon le mode habituel de l'abattoir (air froid pulsé pendant 24 h).

Dans chaque groupe, les valeurs du pH à 24 h *post mortem* (pHu) ont été mesurées au niveau des muscles pectoraux uniquement sur les animaux sélectionnés à 20 min *post mortem*. De plus, des escalopes ont été découpées dans chaque muscle PM pour évaluer **les propriétés technologiques** que sont la couleur, le pouvoir de rétention en eau de la viande fraîche ainsi que la tendreté de la viande cuite. Deux autres prélèvements de muscle PM ont été réalisés à 20 min et à 24 h *post mortem* pour servir de support aux différentes analyses portant sur **les protéines musculaires** et leurs **propriétés biochimiques**. Ces échantillons ont été immédiatement congelés dans de l'azote liquide et conservés à -80°C jusqu'à leur analyse.

Les analyses

1. Mesure des propriétés technologiques

1.1 Mesures du pH

La valeur du $\text{pH}_{20\text{min}}$ a été mesurée, selon la méthode de Jeacocke (1977), après le broyage de 2 g de muscle dans 18 mL d'iodoacétate (5 mM) et à l'aide une électrode de verre combinée.

Le pH_u est mesuré à 24h *post mortem* avec une électrode à viande (M 92136, Fisher Bioblock Scientific, Illkirch, France) directement implantée dans la masse musculaire du *PM*.

1.2 Mesure de la couleur

La couleur des escalopes est mesurée à J1 (le lendemain du jour d'abattage), à J3, à J6 et à J9. Elle est quantifiée avec un chromamètre Minolta CR-300 (illuminant de type C, angle = 65°) dans l'espace CIE Lab avec les coordonnées trichromatiques L^* , a^* et b^* . La valeur L^* représente la luminance, a^* l'indice de rouge et b^* l'indice de jaune.

1.3 Evaluation du pouvoir de rétention en eau

Le pouvoir de rétention en eau (PRE) concerne l'aptitude de la viande à retenir plus ou moins de l'eau qu'elle contient. Elle est estimée ici par la mesure directe des pertes en eau par écoulement spontané au cours de la conservation, à la décongélation et/ou à la cuisson pour les produits non transformés. Pour les produits élaborés, on l'a estimée à travers des mesures de rendement de fabrication car ceux-ci sont très largement dépendants des pertes en eau. Ici, ces mesures de rendement technologique sont abordées à travers des transformations par saumurage-cuisson (rendement NAPOLE) ou par l'élaboration de pâtes fines de type knackies.

1.3.1 Mesures des pertes à la conservation, à la décongélation et à la cuisson

Les pertes par écoulement à la conservation, à la décongélation et à la cuisson sont mesurées sur des escalopes prélevées à 24 h *post mortem*. Afin de déterminer les pertes à la conservation, les escalopes sont pesées à J1, placées dans une barquette contenant un papier absorbant, filmées (film perméable à l'oxygène) et conservées à 4°C pendant 9 jours. Les escalopes sont de nouveau pesées à J3, J6 et J9. A chaque pesée, le papier absorbant est changé. La valeur des pertes est estimée en pourcentage du poids initial à J1

Les pertes à la décongélation sont mesurées à partir d'escalopes conservées à -20°C pendant 2 à 4 semaines. Les escalopes sont pesées après un temps de décongélation à 4°C pendant une nuit. Les pertes à la décongélation sont exprimées en fonction du poids initial avant congélation.

Les escalopes sont ensuite mises dans des poches sous-vide et cuites dans un bain-marie thermostaté à 80°C pendant 15 min (Honikel, 1998). Après cuisson, les échantillons sont refroidis sous de l'eau courante pour leur permettre de s'équilibrer à la température ambiante, puis sont essuyés et pesés. Les pertes à la cuisson sont exprimées en pourcents du poids avant la cuisson.

$$\text{Pertés (\%)} = \frac{[\text{poids avant traitement (g)} - \text{poids après traitement (g)}] \times 100}{\text{poids avant traitement (g)}}$$

1.3.2 Mesure du rendement technologique NAPOLE

Le rendement technologique NAPOLE est estimé selon la méthode de Naveau *et al.* (1985). Les tissus gras et conjonctif de l'échantillon sont éliminés. Environ 100 g de muscle sont découpés en cube de 1 cm³ et mélangés avec 20 g de saumure (136 g de sel nitrité /L). Après 24 h de saumurage à 4°C, la préparation est cuite pendant 15 min dans de l'eau bouillante et égouttée pendant 2 h 30.

$$\text{Rendement technologique NAPOLE (\%)} = \frac{\text{poids après traitement (g)} \times 100}{\text{poids avant traitement (g)}}$$

1.3.3 Elaborations de pâtes fines

Les pâtes fines de viande sont élaborées selon la méthode de Shand *et al.* (1994) à partir des escalopes décongelées. La viande est préalablement parée c'est-à-dire que l'on en retire les principaux morceaux de tissu gras et de conjonctif. La viande (52,5 g) est ensuite coupée en dés de 1 cm de côté environ et mixée avec 21 g d'eau à 0°C dans un mixer Moulinex® ILLICO pendant 10 secondes. Du sel (1,5 g NaCl) est ensuite ajouté. Les échantillons sont à nouveau homogénéisés pendant 3 fois 5 secondes. La température est contrôlée à cette étape. L'air est expulsé de la pâte par trois mises sous vide successives dans une machine Multivac (pression résiduelle < 10 mbar). La pâte est ensuite répartie dans deux tubes de polypropylène à raison de 20 g par tube. Après une centrifugation à 700 g pendant 10 min à 4°C, les tubes sont placés au bain-marie (81-83°C) jusqu'à atteindre une température à coeur de 80°C, puis refroidis dans de l'eau courante pendant 30 min. Les gels sont enfin démoulés et pesés afin d'évaluer le rendement de transformation. La valeur du pH des pâtes fines est aussi mesurée avec une électrode avant la mise sous-vide et après la cuisson.

$$\text{Rendement de transformation (\%)} = \frac{\text{poids après traitement (g)} \times 100}{(52.5 + 21 + 1.5)(\text{g})}$$

1.4 Mesure de la texture

La tendreté est l'une des principales qualités organoleptiques de la viande. Elle est évaluée ici par un test de cisaillement et par un test de compression bicyclique.

1.4.1 Test de cisaillement

Les mesures de cisaillement sont effectuées sur la viande cuite après congélation/ décongélation et cuisson. Cinq mesures de cisaillement sont réalisées par échantillon. Les échantillons de muscle sont découpés parallèlement au sens des fibres musculaires (1 x 1 x 3 cm). La force cisaillement est mesurée à l'aide d'une lame d'épaisseur 0,42 cm à ouverture triangulaire (type Warner-Bratzler, hauteur du triangle = 4,2 cm, largeur à la base du triangle = 4,9 cm) à l'aide d'une machine

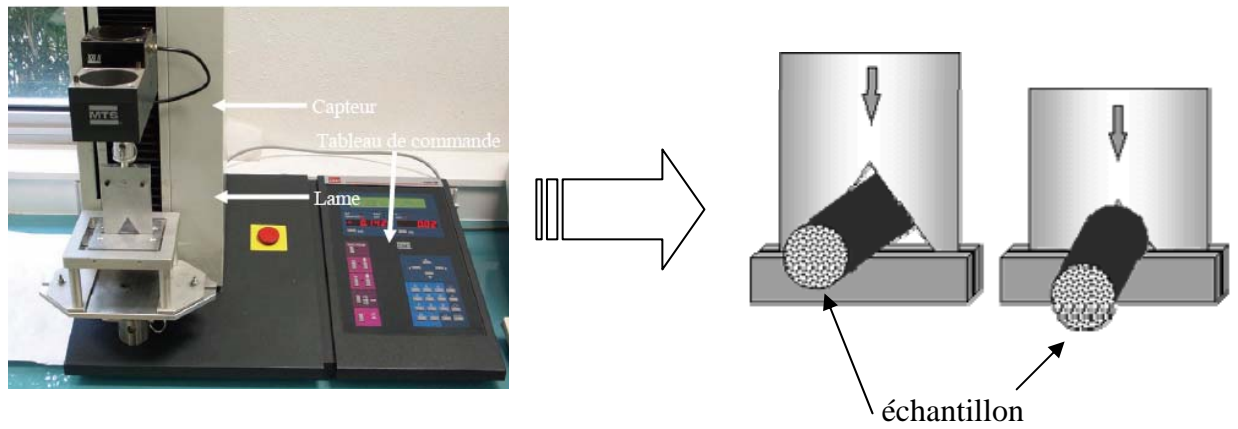


FIGURE 27. Système d'analyse mécanique de la texture : Test de cisaillement à lame simple (test de Warner-Bratzler) pour la viande cuite

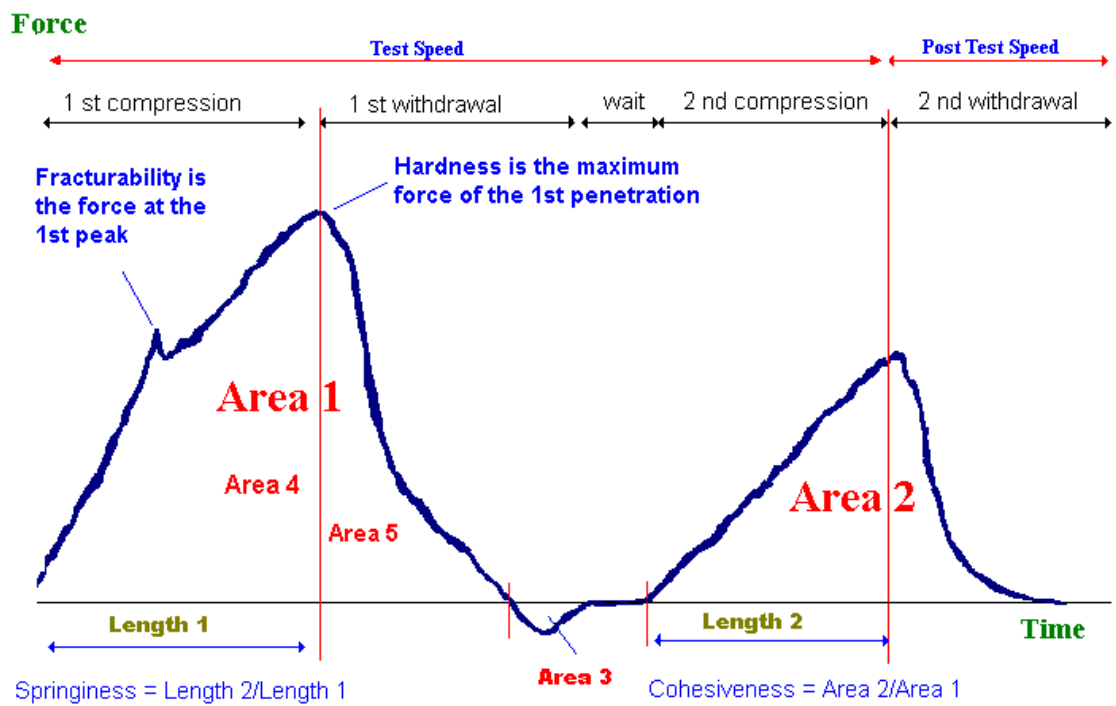


FIGURE 28. Définition des paramètres mesurés dans le test de compression bicyclique selon Meullenet (1997)

(http://www.texturetechnologies.com/texture_profile_analysis.html, consulté 09/2008)

universelle d'essais (MTS[®] 400/M ou MTS Synergie 200) selon Honikel (1998). La vitesse de déplacement de la lame est de 80 mm/min et la force de cisaillement est enregistrée toutes les 100 ms. Les critères retenus pour évaluer la tendreté de la viande sont la force maximale de cisaillement (en N) et le travail mécanique (en mJ) accompli pour cette même opération (**FIGURE 27**).

1.4.2 Test de compression bicyclique

Le test de compression bicyclique a été réalisé sur les gels de viande (ou produits à pâte fine ou knackies) découpés en cylindres de 1,2 cm de hauteur et de 1,2 cm de diamètre. Le test de compression est exercé par un cylindre de section égale à 1 cm², descendant à une vitesse de 80 mm/min. Ce test consiste à faire deux compressions successives jusqu'à 80% de l'épaisseur initiale (Honikel, 1998). Les caractéristiques suivantes sont calculées à partir des paramètres de la courbe enregistrée (**FIGURE 28**)

- Fmax 1 : force maximale lors de la première compression
- Fmax 2 : force maximale lors de la seconde compression
- F80% : force à 80 % de compression de l'épaisseur initiale
- F20% : force à 20% de compression de l'épaisseur initiale
- A1 : surface correspondant à la première compression
- A2 : surface correspondant à la seconde compression
- d1 : temps nécessaire pour l'obtention de Fmax 1
- d2 : temps nécessaire pour l'obtention de Fmax 2

La dureté, la cohésion, l'élasticité et la mâchement sont évalués à partir de ces valeurs primaires selon Meullenet *et al.* (1997).

- Dureté (hardness, N) : Fmax 1
- Cohésion (cohesiveness): Aire2 / Aire1
- Elasticité (springiness): Longueur2 / Longueur1
- Mâchement (chewiness, N) : dureté x cohésion x élasticité

La dureté correspond à la force nécessaire pour mordre complètement l'échantillon entre les molaires.

La cohésion correspond à la quantité de déformation du matériel, avant sa rupture complète, effectuée par les molaires.

L'élasticité correspond au degré auquel l'échantillon retourne à son état d'origine après une compression entre la langue et le palais.

La mâchement correspond au travail nécessaire pour mâcher un échantillon jusqu'à ce qu'il soit prêt à être avalé.

2. Les analyses des protéines musculaires

L'analyse des protéines musculaires peut être faite par différentes méthodes en fonction notamment des propriétés biochimiques des protéines. Les méthodes utilisées dans cette étude sont les suivantes :

2.1 Extractabilité et dosage des protéines musculaires

Les différents types de protéines sont séparés selon leur solubilité dans des tampons de forces ioniques différentes. Les protéines les plus solubles sont d'abord extraites dans un tampon de faible force ionique (LIS : Low Ionic Strength). Ensuite, les protéines moyennement solubles sont isolées par un tampon de haute force ionique (HIS : High Ionic Strength) (Rathgeber *et al*, 1999a). Enfin, les protéines les moins solubles sont extraites avec un 3^{ème} tampon (Boles *et al*, 1994).

Un gramme de viande broyée à l'azote liquide est homogénéisé dans 20 mL de tampon LIS ($\mu = 0,12$) (0,05 M phosphate de potassium, 1 mM NaN_3 , 2 mM EDTA, pH 7,3, 4°C) pendant 10 secondes et laissé incubé sous agitation pendant 30 min à 4°C. Les échantillons sont ensuite centrifugés à 17 500 g pendant 15 min à 2°C. Dix mL de surnageant sont prélevés à 2 cm du fond du tube et conservés dans la glace. Le reste du surnageant est éliminé et le culot est resuspendu dans 20 mL de tampon LIS, homogénéisé, puis centrifugé comme décrit précédemment. Dix mL de surnageant sont récupérés et ajoutés aux 10 mL collectés précédemment (fraction LIS). La procédure est répétée avec un tampon HIS ($\mu = 0,67$) (0,05 M phosphate de

potassium, 1 mM NaN₃, 2 mM EDTA, 0,55 M KCl, pH 7,3, 4°C). Après centrifugation, 10 mL de surnageant sont collectés comme décrit précédemment (fraction HIS). Le reste du surnageant est éliminé. Le culot est resuspendu dans 40 mL d'un tampon contenant 75 mM KCl, 10 mM KH₂PO₄, 2 mM MgCl₂ et 2 mM EGTA, pH 7. Deux mL sont prélevés puis passés aux ultrasons (fraction Culot) afin de solubiliser au mieux les protéines.

Le kit PIERCE BCA™ (bicinchoninic acid) (PIERCE, Rockford, IL, USA) est utilisé pour doser les protéines dans chaque fraction extraite. Le résultat est exprimé en pourcentage des protéines totales.

2.2 Chromatographie échangeuse d'ions

La chromatographie échangeuse d'ions utilisée ici est une méthode qui permet de séparer les protéines selon leur hydrophobicité. Le but de cette opération est de récupérer les protéines basiques des échantillons après un passage sur une colonne échangeuse de cations selon une méthode adaptée de Borderies *et al.* (2003) et Molette *et al.* (2005).

Afin de concentrer les protéines et d'éliminer l'activité des protéases, 2 mL de la fraction LIS sont d'abord mélangés avec un inhibiteur de protéases (GE Healthcare, Buckingham, England) à 1% (v/v) et filtrés sur un tamis moléculaire Ultrafree-4® (Millipore, Bedford, MA, USA) (seuil de coupure 10 kDa) à 7500 g pendant 15 min à 4°C. Après ajout d'eau ultra-pure additionnée de 1% d'inhibiteur de protéases, une seconde centrifugation est réalisée dans les mêmes conditions que précédemment. Les protéines de la partie supérieure du tamis sont récupérées et dosées selon la méthode de Bradford (1976).

L'échantillon à analyser (1,25 mg de protéines dans 10 mM Tris-Cl, pH 8) est déposé sur une colonne Hi Trap SP-Sepharose (GE Healthcare, Buckingham, England). La colonne est préalablement équilibrée avec 5 mL de 10 mM Tris-Cl, pH 8. Les protéines basiques sont fixées sur la colonne et les protéines acides et neutres sont récupérées, par éluions successives, pour être séparées par électrophorèse bidimensionnelle. Deux paliers d'éluion (0,15 M NaCl ou 0,50 M NaCl) sont réalisés

dans une solution à 10 mM Tris-Cl, pH 8. Pour chaque palier, 5 fractions sont collectées en sortie de colonne. Le kit BCA™ (PIERCE, Rockford, IL, USA) est utilisé pour doser les protéines dans chaque fraction éluée. Les fractions qui présentent des quantités de protéines supérieures à 40 µg/mL seront analysées en électrophorèse monodimensionnelle (SDS-PAGE) après précipitation des protéines au TCA.

2.3 Electrophorèse mono-dimensionnelle en conditions dénaturantes SDS-PAGE

L'électrophorèse monodimensionnelle est une méthode de séparation des protéines selon leur poids moléculaire. Les gels de type SDS-PAGE (Sodium DodecylSulfate PolyAcrylamide Gel Electrophoresis) sont réalisés d'après la procédure décrite par Laemmli (1970). Des cuves d'électrophorèse Mini Protean II ou Protean Xi (Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA) sont utilisées. Les fractions LIS, HIS, culot, les protéines acides-neutres et basiques sont analysées dans les mêmes conditions générales.

Quarante µg de protéines de fractions LIS, HIS et culot ou 20 µg de protéines acides-neutres et basiques sont déposés au niveau de chaque piste. Le pourcentage d'acrylamide des gels de séparation est de 12% pour les protéines acides-neutres, basiques et la fraction LIS, 8% pour les fractions HIS et culot. Un gel de concentration (4% d'acrylamide) est utilisé dans tous les cas. Les échantillons sont solubilisés dans 2% (w/v) de SDS, 3,5 M β-mercaptoéthanol, 62 mM Tris-Cl pH = 6,8, 10% (v/v) glycérol et quelques grains de bleu de bromophénol (Laemmli, 1970). Cette solution est ajoutée à raison de 1 :1 à l'échantillon et l'ensemble est placé au bain-marie pendant 5 min à 95°C (Boles *et al*, 1992). La migration est réalisée à 35 mA constant pour 2 mini gels ou 70 mA constant pour 2 grands gels jusqu'à ce que le front de migration atteigne le bas des gels. Les gels sont colorés pendant la nuit dans une solution contenant 0,05% de bleu de Coomassie R-250, 5% (v/v) d'acide acétique et 45% (v/v) d'éthanol absolu. Les gels sont ensuite décolorés dans une solution contenant 5% (v/v) d'acide acétique et 45% (v/v) d'éthanol absolu par 2 bains successifs. Des marqueurs de taille (116-0317, Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA) sont utilisés pour faciliter l'identification des protéines.

2.4 Electrophorèses bidimensionnelles

L'électrophorèse bidimensionnelle est une méthode de séparation des protéines selon leur point isoélectrique (pI) dans la première dimension (isoélectrofocalisation, IEF) et leur masse moléculaire dans la deuxième dimension. Les conditions de préparation et de migration des échantillons en gels bidimensionnels sont basées sur celles décrites par Weekes *et al.* (1999) et Görg *et al.* (2000). Dans chaque groupe d'animaux (GR ou GN), dix échantillons de muscle *PM* prélevés à 20 min *post mortem* sont analysés en double par cette technique.

2.4.1 L'isoélectrofocalisation (IEF)

Des bandelettes (strip) contenant un gradient de pH immobilisé (Immobilized pH Gradient, IPG strip, Bio-Rad laboratories Inc., OR, USA) sont utilisées pour l'IEF. Une gamme de pH 4 à 7 a été utilisée pour l'ensemble des échantillons analysés.

Après extraction des protéines musculaires (voir 2.1) et séparation des protéines basiques par chromatographie échangeuse d'ions (voir 2.2), 300 µg de protéines à pI acides et neutres sont solubilisées dans une solution de réhydratation contenant 8,75 M d'urée, 2,5 M de thiourée, 5% de CHAPS, 50 mM DTT. Les échantillons sont déposés sur chaque strip (pH 4-7) après avoir mélangé l'extrait protéique à la solution de réhydratation. La réhydratation du strip est réalisée pendant 16 h à 20°C, puis l'IEF proprement dite est réalisée de façon progressive jusqu'à atteindre un cumul de 60 000 Vh par strip dans une IEF Cell (Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA). L'intensité maximale est limitée à 50 µA par strip et la température du plateau de migration est régulée à 20°C. Les IPG strips sont congelés immédiatement après la focalisation et stockés à -20°C jusqu'à ce que la 2^{ème} dimension soit réalisée.

2.4.2 La deuxième dimension (SDS-PAGE)

Une fois l'IEF finie, la deuxième migration est réalisée pour séparer les protéines en fonction de leur poids moléculaire. Une cuve Protean XL (Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA) et des gels SDS-PAGE à 12% d'acrylamide sont utilisés. Avant la migration, les strips focalisés sont conditionnés en 2 étapes. Tout d'abord, ils sont équilibrés pendant 10 min dans une solution réductrice (2% DTT, 6 M urée, 30% glycérol, 2% SDS et 50 mM Tris-Cl, pH 8,8) puis mis dans une solution d'alkylation (5% iodoacétamide, 6 M urée, 30% glycérol, 2% SDS et 50 mM Tris-Cl, pH 8,8) pendant 10 min. Les strips sont ensuite placés sur le gel de 2^{ème} dimension. La migration est réalisée à 35 mA par gel. Une fois la migration terminée, les gels sont colorés au nitrate d'argent d'après la méthode décrite par Shevchenko *et al.* (1996) (ANNEXE)

2.5 Analyse d'image des gels d'électrophorèse bidimensionnelle

Pour comparer les profils électrophorétiques du muscle pectoral des dindes à glycolyse rapide (GR) et à glycolyse normale (GN), l'analyse d'image des gels d'électrophorèse bidimensionnelle est utilisée. La stratégie adoptée pour déterminer les différences entre les deux groupes d'animaux a été de choisir des seuils de détection des spots assez élevés afin de retenir ceux qui contiennent une quantité de protéines suffisante pour être analysée en spectrométrie de masse. Si cette stratégie est payante lors du passage au spectromètre de masse, elle est par contre très exclusive et ne permet donc pas de retenir les spots (ou protéines) présents en faibles quantités ou fixant mal le colorant révélateur.

Après avoir été numérisés, les gels d'électrophorèse bidimensionnelle ont été analysés avec le logiciel Image Master 2D Platinum (GE Healthcare, Buckingham, England). La première étape de l'analyse d'image consiste à réaliser la détection automatique des spots. Certains paramètres sont utilisés et, par exemple, prennent en compte une aire minimale des spots. Ensuite, une correction manuelle est effectuée et des points d'amers sont placés à différents endroits du gel. Pour chaque groupe, un gel de référence est choisi et les appariements de spots sont réalisés afin de construire le

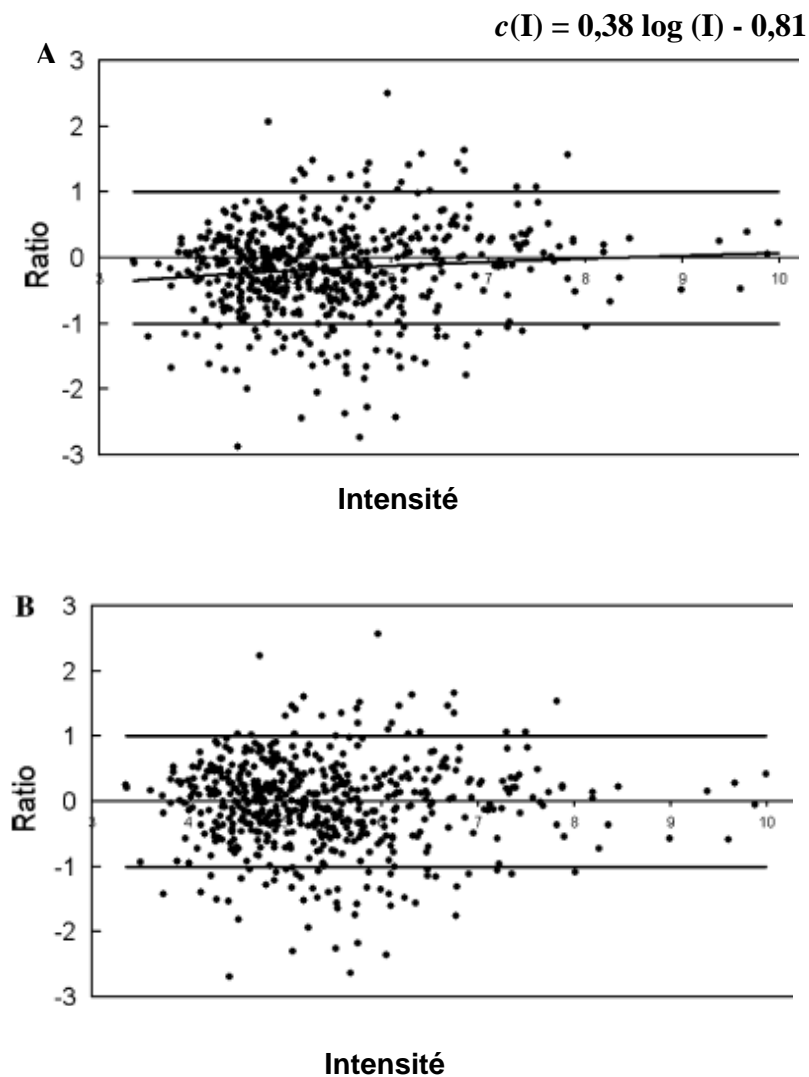


FIGURE 29. Graphique en nuage de points de R-I plot avant (A) et après (B) la normalisation intensité dépendante. Chaque point représente un spot de protéine produit par électrophorèse 2D et caractérisé par son ratio de volume ($R = \log_2 (V_{GRi} / V_{GNi})$) et d'intensité ($I = \log_{10} (V_{GRi} \times V_{GNi})$). Les spots au dessus de la valeur +1 sont retenus comme des spots surexprimés dans groupe GR car l'intensité du spot est plus élevée dans le groupe GR que dans le groupe GN. Au contraire, pour les valeurs inférieures à -1, ce sont les spots du groupe GN qui sont surexprimés. $c(I)$ est une équation de ligne de tendance.

gel de référence dans chaque groupe. Enfin, pour déterminer les différences entre les groupes, les deux gels de référence sont comparés.

Les spots retenus comme différents entre les deux groupes d'animaux le sont selon la méthode décrite par Meunier *et al.* (2005)(**FIGURE 29**). Un seuil de signification de 2 est utilisé pour repérer les spots différents. Le ratio d'intensité prédéfini (Fold Change = FC) est représenté par deux lignes horizontales (+1 et -1 c'est-à-dire que $\log FC = 2$). Les spots situés en dessous de la ligne de -1 sont les spots surexprimés du groupe GN (l'intensité du spot est plus élevée dans le groupe GN). Au contraire, les spots situés au dessus de la ligne +1 sont les spots surexprimés du groupe GR (l'intensité du spot est plus élevée dans le groupe GR).

2.6 Spectrométrie de masse

Les protéines d'intérêts sont identifiées par la spectrométrie de masse. Cette technique analytique est la plus utilisée en protéomique. Après obtention des peptides par digestion protéolytique, deux méthodes sont essentiellement utilisées : la cartographie peptidique et le séquençage en ligne des peptides.

La cartographie peptidique est obtenue à l'aide du spectromètre MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation-Time Of Flight). Elle consiste à comparer la liste des masses des peptides obtenues expérimentalement à celle contenue dans les bases de données qui ont été déduites des séquences génomiques. L'efficacité de cette méthode relativement simple, et très courante dans l'approche protéomique, est donc dépendante du séquençage du génome de l'espèce étudiée. Dans notre cas, aucune donnée n'est disponible dans les bases de données en ce qui concerne l'espèce dinde (*Meleagris galopovo*). Le fait de comparer nos listes de masse à celles d'une autre espèce (poulet ; *Gallus gallus*) conduit à une incertitude lors de la recherche dans ces bases de données. On peut pallier à cette incertitude en effectuant une fragmentation des ions principaux dans le MALDI (mode PSD ; Post Source Decay) et en contrôlant que les fragments obtenus correspondent bien aux séquences peptidiques attendues. Donc, compte tenu des difficultés de recherche dans les bases de données liées à l'espèce, l'utilisation d'un spectromètre de masse dédié au séquençage des peptides couplé à une chromatographie liquide reste la méthode la

plus adaptée. En effet, nous pouvons ainsi obtenir plusieurs séquences peptidiques d'une même protéine qui vont être alignées (BLAST) avec l'ensemble des séquences connues.

L'ensemble de ces analyses a été réalisé sur la plate-forme protéomique de Toulouse (IPBS) et de l'INRA de Clermont-Ferrand-Theix.

2.6.1 Préparation des échantillons

La digestion des protéines dans le gel de migration a été réalisée d'après la méthode décrite par Borderies et al. (2003). Les bandes ou spots contenant les protéines ont été excisés et transférés dans un tube en polypropylène. Les morceaux de gels sont lavés à 2 reprises dans 25 mM NH_4CO_3 /acétonitrile (50%/50%) puis séchés par centrifugation sous vide pendant 30 min. Chaque échantillon est réhydraté avec 10 μL de trypsine modifiée (Promega, France ; sequencing grade) dissoute à raison de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dans 25 mM NH_4CO_3 . L'incubation a lieu à 37°C toute la nuit. L'échantillon contenant le digestat est ensuite séché par centrifugation sous vide pendant 30 min, puis mélangé à 25% d'acétonitrile et 1% d'acide formique pour extraire les peptides du gel. Enfin, ces peptides sont dilués avec 10 μL d'acide trifluoroacétique (TFA) à 0,2%.

Pour l'identification des peptides par cartographie peptidique et PSD (Post Source Decay), les peptides issus de la digestion trypsique sont dessalés et concentrés par utilisation de supports C18 Zip-Tip (Millipore, France) avant l'analyse en spectrométrie de masse. Deux μL de la mixture sont déposés sur le support et celui-ci est lavé avec 0,1% de TFA. Deux éluions sont réalisées directement sur la plaque d'analyse MALDI pour améliorer le signal. Une première élution (2,2 μL) est réalisée avec 35% acétonitrile/0,1% TFA et la seconde avec 70% acétonitrile/ 0,1% TFA. Pour finir, 1 μL de la matrice acide α -cyano-4-hydroxycinnamique (60 mg/mL dans 50% acétonitrile/0,1% TFA) est ajoutée à chaque dépôt de peptides.

2.6.2 Spectrométrie de masse de type MALDI-TOF

Les spectres de masse ont été enregistrés avec un Voyager-DETM STR (PerSpective Biosystems, USA). L'acquisition des spectres se fait en mode positif en utilisant le mode réflectron. L'accélération est de 20 kV, le délai de 200 ns et la tension de grille de 68%. L'acquisition des masses est réalisée entre 750 et 3000 Da. Les spectres sont calibrés de façon interne avec les produits d'autolyse de la trypsine (ions monoisotomiques MH⁺ : 842.51 et 2211.10). Pour la fragmentation en mode PSD, l'accélération est de 20 kV, le délai de 100 ns et la tension de grille à 75%.

L'identification des protéines est réalisée en utilisant le logiciel Protein Prospector (<http://prospector.ucsf.edu/>). Pour la cartographie peptidique, le programme MS-Fit est utilisé et pour les résultats de PSD, les données sont analysées avec MS-Tag (Protein Prospector). Les recherches ont été effectuées sur la base de données protéiques non redondantes du National Centre for Biotechnology Information (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Une seule omission de coupure par peptide a été autorisée et la tolérance de masse est de 20 ppm.

2.6.3 Q-TRAP

Dans le cas des gels bidimensionnels, les spots d'intérêt ont été identifiés avec un spectromètre Q-TRAPTM (AppliedBiosystem/MSD Sciex, USA) équipé d'une source nano-spray et couplé à une chaîne nano-HPLC.

Brièvement, les peptides issus de la digestion trypsique sont injectés (LC Packings Famos autosampler) et concentrés sur une μ -PrecolumnTM Cartridge (PepMapTM, LC Packings) C18, 5 μ m, 100 Å dans le tampon A (0,1% acide formique dans l'eau). Les peptides sont ensuite séparés sur une colonne 75 μ m ID x 150 mm C18, 3 μ m (PepMapTM, LC Packings) par un gradient linéaire de 0 à 60% de tampon B (90% acétonitrile et 0,1% acide formique dans l'eau) durant 30 min. Le débit est de 200 nL/min avec l'utilisation d'une pompe LC Packings UltimateTM LC. Au cours de leur élution, les peptides sont infusés en continu dans la source du spectromètre.

L'acquisition sur le spectromètre est effectuée par une succession de cycles qui durent environ 4 secondes. Chaque cycle comporte une première phase consistant en un balayage pour évaluer les masses des peptides. Dans une deuxième phase, l'état de charge de chaque peptide est évalué par un balayage sélectif à haute résolution sur les ions détectés dans la première phase et, finalement, les ions présentant un état de charge égal à deux ou trois sont fragmentés pendant deux phases successives.

Les données collectées pendant cette analyse sont compilées par le logiciel Analyst (AppliedBiosystems/ MDS Sciex, USA) et soumises au logiciel Mascot (Matrix Science, London, UK) pour réaliser la recherche dans les bases de données. Les recherches sont réalisées avec une tolérance de la mesure de la masse de 0,5 Da en mode MS et 0,3 Da en mode MS/MS. L'identification des protéines est accomplie en utilisant la base de données du NCBI.

3. Analyses de propriétés biochimiques des protéines

3.1 L'activité enzymatique, l'activité spécifique et les paramètres cinétiques

L'activité enzymatique, l'activité spécifique et les valeurs de la vitesse maximale (V_{max}) et de la constante de Michaëlis-Menten (K_m) ont été mesurées pour l'aldolase A (EC 4.1.2.13) et la GAPDH (EC 1.2.1.12). La valeur V_{max} est la vitesse maximale de la réaction enzymatique et la valeur K_m indique l'affinité de l'enzyme pour son substrat.

Pour la PFK (EC 2.7.1.11) et la Cytochrome c oxydase (COX, EC 1.9.3.1) seule l'activité enzymatique a été déterminée par une équipe de l'Unité de Recherche sur les Herbivores de l'INRA de Clermont-Theix.

3.1.1 Aldolase A

Les activités enzymatiques et spécifiques de l'aldolase A sont déterminées d'après la méthode décrite par Koeck *et al.* (2004). Dans la réaction, le substrat (fructose 1,6-biphosphate) est transformé en glycéraldéhyde-3-phosphate (G-3-P) et

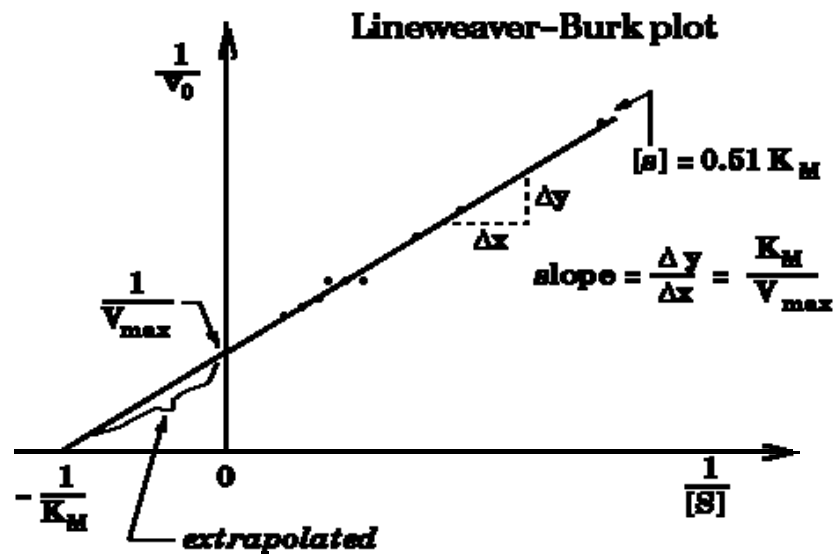
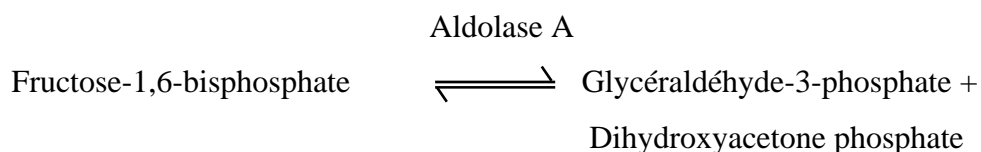


FIGURE 30. Représentation graphique selon Lineweaver-Burk et détermination des valeurs de v_{\max} et de K_m

(http://dept.physics.upenn.edu/courses/gladney/mathphys/subsection4_1_7.html, consulté 09/2008)

en dihydroxyactéone phosphate alors que l'hydrazine se transforme en hydrazone qui absorbe à 240 nm.



Environ cent milligrammes de viande sont homogénéisés dans 10 mL de tampon phosphate (0,1 M phosphate de sodium, 2 mM EDTA pH 7,5, 2°C) pendant 10 secondes et soniqués 2 x 1 min. Les échantillons sont ensuite centrifugés à 1500 g pendant 10 min à 4°C. Le surnageant est prélevé et les protéines présentes sont dosées avec le kit BCA™ (Pierce, Rockford, IL, USA).

Afin de déterminer l'activité de l'aldolase A, le surnageant est dilué 5 fois avec le tampon phosphate. Un mL de substrat (12 mM fructose-1,6-diphosphate, pH 7,5), 2 mL d'indicateur (3,5 mM hydrazine hémisulfate, 0,1 mM EDTA, pH 7,5) et 0,1 mL de surnageant sont mélangés dans la cuve de mesure. Le taux de réduction du substrat est mesuré par un spectrophotomètre à 240 nm et 25°C pendant 15 min. L'activité enzymatique et l'activité spécifique sont ensuite calculées :

$$\text{Activité enzymatique} = \frac{(\text{Pente}_{\text{éch}} - \text{Pente}_{\text{blanc}}) \times \text{dilution}}{\text{poids d'échantillon (g)}}$$

$$\text{Activité Spécifique (Unit/mg)} = \frac{(\text{Pente}_{\text{éch}} - \text{Pente}_{\text{blanc}}) \times \text{dilution}}{\text{protéines (mg/mL)} \times \text{volume final}}$$

Les valeurs de V_{max} et de K_m sont estimées à partir de la représentation graphique de Lineweaver-Burk (**FIGURE 30**). On trace les variations de la valeur de l'inverse de la vitesse de réaction pour différentes concentrations de substrat ($1/v = f(1/s)$). Les valeurs de V_{max} et de K_m sont alors calculées à partir de la droite obtenue.

TABLEAU 8. Concentrations en réactifs des solutions utilisées pour déterminer les valeurs de V_{max} et de K_m de l'aldolase A.

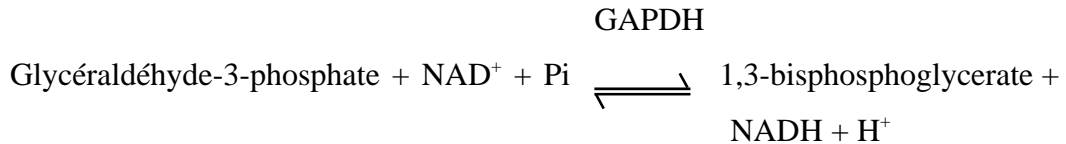
Concentration	Hydrazine (mM)	Fructose-1,6-diphosphate (mM)	EDTA (mM)
1/4x	0,88	3	0,025
1/2x	1,75	6	0,050
1x	3,50	12	0,100
5x	17,5	60	0,500

TABLEAU 9. Concentrations en réactifs des solutions utilisées pour déterminer les valeurs de V_{max} et de K_m de la GAPDH.

Concentration	Arséniate de sodium (mM)	Cysteine-HCl (mM)	NAD ⁺ (mM)	GAP (mM)
1/4x	1,25	1,25	0,25	1
1x	5	5	1	4
5x	25	25	5	20

3.1.2 GAPDH

Les activités enzymatique et spécifique de la GAPDH sont déterminées d'après la méthode décrite par Crow *et al.* (1979). Dans la réaction suivie, le substrat (G-3-P) donne du 1,3 bisphosphoglycérate tout en consommant du NAD⁺. La variation d'absorption mesurée à 340 nm correspond à la diminution de la concentration en co-facteur (NAD⁺).



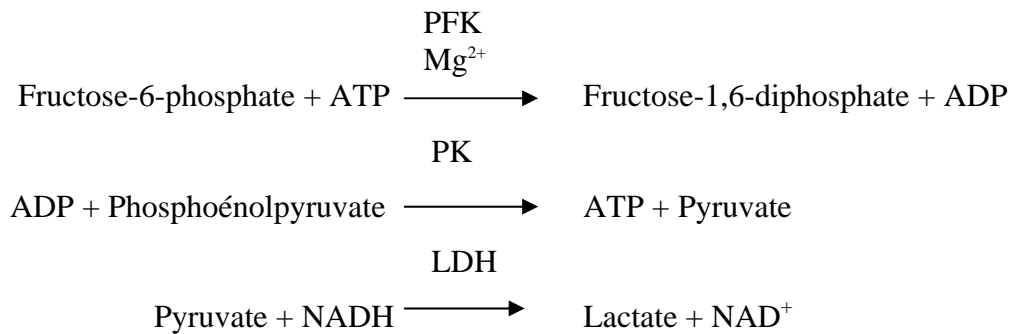
Environ cent milligrammes de viande sont homogénéisés dans 10 mL tampon triéthanolamine (125 mM triéthanolamine ; TEA, 2 mM EDTA, pH 7,8, 2°C) pendant 10 secondes et soniqués 2 x 1 min. Les échantillons sont ensuite centrifugés à 1500 g pendant 10 min à 4°C. Le surnageant est prélevé et les protéines sont dosées avec le kit BCA™ (Pierce, Rockford, IL, USA).

Afin de mesurer les activités de la GAPDH, on mélange 125 mM de tampon Triéthanol amine, pH 7,8, 5 mM d'arséniate de sodium, 5 mM de cysteine-HCl, 1 mM NAD⁺, 4 mM G-3-P et le surnageant dilué dans la cuve de mesure du spectrophotomètre. Comme la réaction débute très rapidement, il est préférable de conserver toutes les solutions à 4°C. La réaction est ensuite suivie par le spectrophotomètre à 340 nm, à 30°C pendant 5 min.

L'activité enzymatique et l'activité spécifique de l'enzyme sont ensuite calculées comme décrit plus haut. Les différentes concentrations en substrats et en co-facteurs utilisées pour l'aldolase A et la GAPDH sont reportées dans les **TABLEAUX 8 et 9**.

3.1.3 PFK

L'activité enzymatique de la PFK est déterminée d'après la méthode décrite par Beutler *et al.* (1971). Dans la réaction suivie, l'activité enzymatique de la PFK est mesurée en présence de la pyruvate kinase (PK) et de la lactate deshydrogenase (LDH). La variation d'absorption mesurée à 340 nm correspond à la diminution de la concentration en NADH.



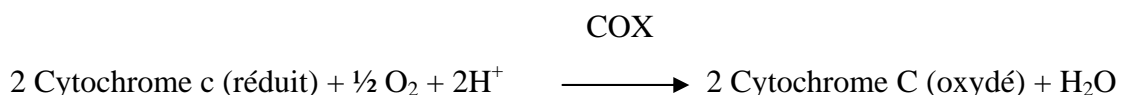
Environ 200 milligrammes de viande sont homogénéisés dans 4 mL de tampon SET (0,25 M sucrose, 2 mM EDTA et 10 mM Tris-HCl, pH 8,0, 4°C) pendant 30 secondes. Les échantillons sont ensuite centrifugés à 10 000 g pendant 5 min à 4°C. Le surnageant est prélevé et conservé à 0°C.

Afin de mesurer l'activité de la PFK, on mélange 1 µL de surnageant avec 1 mL de solution contenant 0,07 M Tris-HCl (pH 8,0), 1,4 mM MgCl₂, 4,5 mM KCL, 0,71 mM Phosphoénolpyruvate, 0,65 mM Fructose-1,6-diphosphate, 0,4 mM NADH, 1 mM ATP, 1,8 mM Fructose-6-phosphate, 0,08 U de PK et 0,96 U de LDH dans la cuve de mesure du spectrophotomètre. La réaction est ensuite suivie par le spectrophotomètre à 340 nm, à 25°C pendant 2 min. L'activité enzymatique de la PFK est exprimée en micromoles de substrat dégradées par minute et par gramme de muscle (µmol. min⁻¹.g⁻¹)

Ces analyses ont été réalisées en collaboration avec l'URH de l'INRA de Clermont-Ferrand-Theix.

3.1.4 COX

La COX est une enzyme de la chaîne respiratoire. Elle catalyse la réaction d'oxydation du cytochrome C (forme réduite). L'activité enzymatique de la COX est déterminée d'après la méthode décrite par Smith et Conrad (1956).



Environ 200 milligrammes de viande sont homogénéisés dans 4 mL de tampon SET (0,25 M sucrose, 2 mM EDTA et 10 mM Tris-HCl, pH 8,0, 4°C) pendant 30 secondes. Les échantillons sont ensuite congelés et décongelés quatre fois dans de

l'azote liquide afin de briser la paroi cellulaire et de relâcher la COX hors de la matrice mitochondriale. L'homogénat est conservé à -20°C.

Afin de mesurer l'activité de la COX, on mélange 20 µL d'homogénat avec 1 mL de solution à pH 7,4 contenant 90 µM de cytochrome C (forme réduite) et 50 mM de phosphate de potassium dans la cuve de mesure du spectrophotomètre. La réaction est suivie par le spectrophotomètre à 550 nm, à 25°C. L'activité enzymatique de la COX est exprimée en micromoles de cytochrome C (forme réduite) dégradées par minutes et par gramme de muscle ($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$).

Ces analyses ont été réalisées en collaboration avec l'URH de l'INRA de Clermont-Ferrand-Theix

3.2 Western Blot

La technique du Western Blot (ou immunoblot) est utilisée pour détecter la présence, en plus ou moins grande quantité, d'une protéine spécifique dans un échantillon à l'aide d'un anticorps reconnaissant cette protéine. Cette technique utilise donc d'abord l'électrophorèse pour séparer les protéines en fonction de leur poids moléculaire, puis ces protéines sont transférées sur une membrane de nitrocellulose. L'anticorps primaire spécifique à la protéine d'intérêt est alors mis au contact de la membrane. Après différents rinçages, l'anticorps secondaire, marqué ici à la peroxydase, est utilisé pour repérer l'anticorps primaire et la présence du complexe protéine - anticorps primaire - anticorps secondaire est finalement révélée par chimioluminescence. Cette méthode utilise des substances chimiques qui émettent une luminescence directement proportionnelle à la concentration en protéines présentes et qui impressionne un film photographique sensible.

Les Western Blots dirigés contre la GAPDH ont été réalisés sur les échantillons prélevés à 20 min *post mortem* alors que ceux dirigés contre l'actine et la chaîne lourde de la myosine ont été réalisées sur les échantillons prélevés à 20 min et à 24 h *post mortem*. Par contre, nous n'avons pas pu utiliser cette méthode contre l'aldolase A et la PFK parce que, à ce jour, il n'existe pas, dans le commerce, d'anticorps spécifiques utilisables chez la dinde pour ces enzymes. Tous nos essais

réalisés à partir d'anticorps disponibles commercialement (généralement spécifiques de l'homme ou d'autres mammifères) se sont en effet tous révélés négatifs.

Pour réaliser le Western Blot de la GAPDH, l'extrait protéique réalisé pour la mesure de l'activité enzymatique a été utilisé. Pour les Western Blots anti-actine et anti chaîne lourde de la myosine, la fraction de protéines extraite par le tampon HIS est utilisée. Les quantités de protéines déposées sont 1, 5 et 10 µg pour la GAPDH, l'actine et la chaîne lourde de la myosine, respectivement.

Un gel SDS-PAGE à 12% d'acrylamide est utilisé pour la GAPDH et à 8% pour l'actine et la chaîne lourde de la myosine. Les conditions de migration sont identiques à celle décrites plus haut. Une fois la migration terminée, le gel, la membrane de nitrocellulose (Hybond™ ECL™, Amersham Pharmacia Biotech, Munich, Germany) et les filtres (Whatman, Sigma, England) sont immergés dans la solution de Trans Blot (25 mM Tris, 192 mM glycine et 20% (v/v) méthanol) pendant 20 min. Le transfert est ensuite réalisé à 100 V à 4°C pendant 1h ou à 30 V et 4°C pendant la nuit. La qualité du transfert est vérifiée par une coloration de la membrane au rouge Ponceau (6,6 mM rouge Ponceau S, 1% acide acétique glacial).

Les membranes sont ensuite placées successivement dans la solution bloquante (3% (w/v) de lait dans du PBS (phosphate buffer saline)) puis avec les anticorps primaires suivants :

- mouse anti-GAPDH (MAB 374, Chemicon, Germany)
- mouse anti-actine (MAB 1501, Chemicon, Germany)
- mouse anti-myosine (F59, DSHB, USA)

Après incubation avec l'anticorps secondaire (goat anti-mouse IgG, AP 127P, Chemicon, Germany), les complexes réalisés sont visualisées grâce à des substances chimioluminescences (Pierce, IL, USA). Le développement du film est réalisé après passage dans une solution de révélation (AL4, Kodak) puis dans une solution de fixation (LX24, Kodak). Enfin, l'intensité des bandes d'échantillons est estimée à l'aide du logiciel Image Master 2D Platinum (GE Healthcare, Buckingham, England). Elle est exprimée en pourcentage des protéines de référence. La quantité de 0,5 µg de protéines GAPDH pure est utilisée comme référence pour le Western Blot de GAPDH alors que 2 et 5 µg de protéines myofibrillaires du muscle pectoral du même poulet sont utilisées comme référence pour celui de l'actine et de la chaîne lourde de la myosine, respectivement. Quelle que soit la série d'analyses, c'est toujours le même

TABLEAU 10. Concentrations en anticorps primaires et secondaires utilisés pour réaliser les Western Blots dirigés contre la GAPDH, l'aldolase A et la chaîne lourde de la myosine (MHC).

Protéine		GAPDH	Actine	MHC
Anticorps primaire	Nom	MAB 374	MAB 1501	F59
	Concentration dans 3% (w/v) de lait	1 : 1000	1 : 1000	1 : 25
Anticorps secondaire	Nom	Goat anti-mouse IgG, AP 127		
	Concentration dans 3% (w/v) de lait	1 : 50 000	1 : 50 000	1 : 25 000

extrait de muscle du même poulet qui a servi de référence. Les concentrations utiles des différents anticorps primaires et secondaires sont présentées dans le **TABLEAU 10**.

3.3 Détermination du potentiel glycolytique

Lorsque l'on cherche à estimer la concentration en glycogène musculaire immédiatement avant l'abattage, à partir d'un échantillon prélevé *post mortem*, il est nécessaire de tenir compte de la dégradation du glycogène survenant entre le moment de l'abattage et le prélèvement (Monin *et al.*, 1981). Monin et Sellier (1985) ont donc proposé une estimation de la concentration musculaire en réserve énergétique au repos par une détermination du potentiel glycolytique (PG). Le PG représente la quantité de composés glucidiques susceptibles de se transformer en acide lactique lors de la glycolyse *post mortem*. Cette quantité est exprimée en μmol d' « équivalents lactate » par gramme de tissu frais :

$$\text{PG } (\mu\text{mol lactate/g}) = 2 ([\text{glycogène}] + [\text{glucose}] + [\text{glucose-6-P}]) + [\text{lactate}]$$

Charpentier (1968) a montré en effet que les principaux composés impliqués dans la glycolyse et la glycolyse, dont les concentrations sont non négligeables dans le muscle *post mortem* quel que soit le stade, sont le glucose libre, le glucose-6-phosphate (G-6-P), le glycogène et l'acide lactique. C'est la raison pour laquelle ces composés entrent dans le calcul du PG.

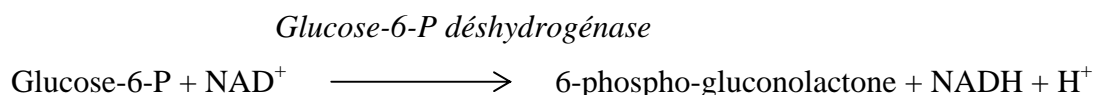
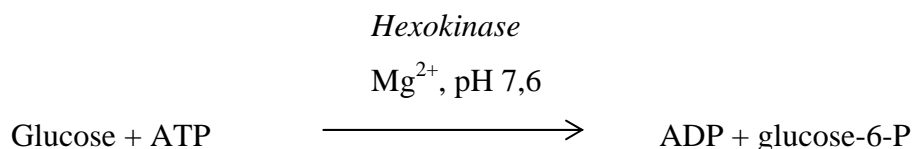
Les teneurs en glycogène, glucose, glucose-6-phosphate (glucose-6-P) et en acide lactique sont mesurées pour estimer la valeur du potentiel glycolytique (Monin et Sellier, 1985) du muscle *PM* dans les échantillons prélevés à 20 min et à 24 h *post mortem*.

Le glycogène, ses métabolites et l'acide lactique sont déterminés par des méthodes enzymatiques après hydrolyse du glycogène par l'amyloglucosidase (Dalrymple & Hamm, 1973, pour le glucose et le glucose-6-phosphate ; Bergmeyer, 1974, pour le lactate). Les échantillons de viande sont préalablement lyophilisés et les concentrations finales sont calculées en g de tissu frais en considérant une teneur en eau du muscle de 75%.

Le protocole est le suivant ; 200 à 300 mg de muscle lyophilisé sont broyés pendant 45 secondes dans 10 mL d'acide perchlorique (PCA) 0,5 M. Des fractions aliquotes de 0,5 mL sont prélevés et le reste est centrifugé pendant 20 min à 1646 g. Après centrifugation, des quantités aliquotes de 0,5 mL de surnageant sont prélevées et neutralisées par 2,5 M de K₂CO₃. Ces quantités aliquotes sont destinées au dosage des métabolites tels que le glycogène, le glucose et le glucose-6-P. Le reste du surnageant est prélevé pour le dosage de l'acide lactique.

Pour le dosage du glycogène avec hydrolyse, 2 mL de tampon acétate (pH = 4,8) contenant 2 mg/mL d'amyloglucosidase, sont ajoutés à l'aliquot, après neutralisation avec 50 µl de potasse à 30%. La préparation est maintenue pendant 3 h à 38°C et elle est régulièrement agitée tous les 20 min. A la sortie du bain- marie, 100 µl de PCA 3 M sont ajoutés pour arrêter la réaction. Les échantillons sont centrifugés pendant 15 min à 2772 g et le surnageant est récupéré par filtration sur laine de verre.

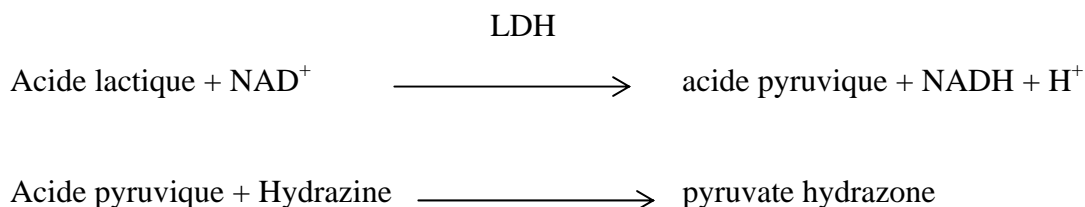
Le principe du dosage du glucose résultant de l'hydrolyse du glycogène est basé sur les réactions suivantes :



Quand on procède à l'hydrolyse, le dosage de ces 3 composés (glucose libre, glucose-6-P et glycogène) se fait simultanément. En ajoutant la glucose-6-P déshydrogénase et l'hexokinase, on obtient alors la concentration en glycogène, en glucose et en glucose-6-P. Quand on procède sans hydrolyse, le dosage de ces 3 composés se fait individuellement en ajoutant séparément les enzymes : on différencie alors le glucose libre (ne provenant pas de l'hydrolyse du glycogène) et le glucose-6-P. Par différence [(glycogène + glucose + glucose-6-P) – (glucose + glucose-6-P)], on obtient alors la concentration en glycogène. Les quantités mesurées sont toujours déterminées par la variation de la densité optique à une longueur d'onde de 340 nm.

Pour l'acide lactique, 2 essais et 1 témoin sont mesurés pour chaque échantillon sur lesquels on ajoute 2 mL de milieu de réaction. Ce milieu de réaction est formé d'un tampon 0,2 M Tris et 0,1 M hydrazine ; pH 9 et de 2 mg NAD⁺ / mL

de tampon. Sur les essais, on ajoute 0,05 mL de lactate déshydrogénase (LDH) alors qu'aux témoins on ajoute 0,05 mL de tampon. Après adjonction de l'enzyme et agitation, on attend 3 h à température ambiante (le temps d'incubation). Le dosage du lactate est basé sur le principe suivant :



La quantité d'acide lactique est proportionnelle à la quantité de NADH, H⁺ formée au cours de la réaction. Cette quantité est mesurée par variation de la densité optique (dosage spectrophotométrie) à une longueur d'onde de 340 nm.

3.4 quantitative-Reverse Transcription PCR (qRT-PCR)

La méthode de qRT-PCR permet la quantification des acides ribonucléiques messagers (ARNm) présents dans un échantillon. Cette technique transcrit d'abord les brins d'ARNm en acide désoxyribonucléique complémentaire (ADNc), puis amplifie ces ADNc par une réaction en chaîne de polymérisation. Pour cela, l'ARN est tout d'abord extrait, puis rétrotranscrit en ADNc, et enfin quantifié par la PCR en temps réel. Quinze échantillons, prélevés à 20 min *post mortem* dans chaque groupe d'animaux, ont été analysés en triple exemplaire pour l'aldolase A car pour la GAPDH, des amorces spécifiques de la dinde n'ont pas pu être obtenues. Ces analyses ont été réalisées en collaboration avec l'URA de l'INRA de Tours-Nouzilly.

3.4.1 L'extraction d'ARN et sa préparation pour la transcription

reverse

L'ARN total a été extrait selon la méthode de Chomczynski et Sacchi (1987) à l'aide du kit RNA NOW™ (Ozyme, St. Quentin, France). A cause de la fragilité des ARN, les différentes étapes d'extraction sont réalisées à 4°C. Cent mg de tissu musculaire sont homogénéisés avec 1 mL de RNA NOW™ dans un broyeur à bille (Retsch MM 301, Haan, Germany) pendant 4 min à 300 Hz. Deux cents µL de chloroforme pur sont ajoutés à l'homogénat. La solution est ensuite agitée et laissée à reposer dans la glace pendant 5 min. Environ 650 µL de surnageant sont récupérés après centrifugation à 12 000 g pendant 10 min. On ajoute ensuite un volume égal d'isopropanol, on agite et on laisse dans la glace pendant 10 min. Après une nouvelle centrifugation, le surnageant est éliminé. Le culot d'ARN extrait est nettoyé par 2 lavages avec 1 mL d'éthanol 70% froid puis centrifugé 5 min à 5 000 g. Le culot est alors séché à l'air libre. Il est ensuite dissous dans 30 µL d'eau ultra pure et conservé à -80°C.

La concentration en ARN est mesurée par un spectrophotomètre à 260 nm. Le rapport de la densité optique à 260 et à 280 nm, qui permet d'apprécier la contamination des ARN par des protéines, doit être entre 1,8 et 2,0. L'intégrité des ARN est vérifiée en déposant 0,5 µg d'ARN sur un gel d'agarose à 1% préparé avec du tampon Tris-Borate-EDTA (TBE) 0,5X et en présence de bromure d'éthidium (BET).

La solution d'ARN est traitée à la désoxyribonucléase (DNase, kit DNA-free™, Applied Biosystems, CA, USA) pour éliminer toute trace d'ADN génomique : A dix µg d'ARN (solution à 1µg/µL) sont ajoutés 1 µL de Tampon DNase et 1 µL de l'enzyme DNase (rDNase, 2U/µL). Après incubation à 37°C pendant 30 min, 1 µL d'inhibiteur de l'activité DNase est ajouté. La solution est ensuite incubée 2 min à température ambiante. Cinq µL du surnageant sont prélevés après une centrifugation à 10 000 g pendant 2 min. Il peut être stocké à -80°C jusqu'à l'étape de transcription inverse.

TABLEAU 11. Séquençage et caractéristiques des amorces utilisées pour détecter le niveau de transcription du gène codant pour l'aldolase A.

Nom	Séquence	Taille (base)	
		d'amorce	d'amplicon
Aldolase A- F334	CGG-CGG-AGT-CAT-CCT-CTT-C	19	123
Aldolase A- R456	CAC-AAC-GCC-TTT-GTC-AAC-CTT	21	

3.4.2 Transcription inverse et quantification par PCR

A 5 μL de la solution d'ARN traités à la DNase sont ajoutées un mélange contenant 1 μL d'inhibiteur de RNase (RNaseOUT™, 40 U/ μL , Invitrogen™, CA, USA), 1 μL d'hexamères nucléotidiques (Random Primer, 0,5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, Promega, WI, USA), 1 μL de désoxynucléotide (dNTP mix, 10 mM, Sigma, MO, USA), 1 μL d'enzyme reverse transcriptase (SuperScript II™ Reverse transcriptase II, 40 U/ μL , Invitrogen™, CA, USA), 2 μL de DTT (0,1 M), 4 μL de tampon nécessaire pour établir les conditions optimales d'action de l'enzyme (5X First strand buffer, Invitrogen™, CA, USA) et 5 μL d'eau ultra pure. La réaction est réalisée à 42°C pendant 50 min minimum. Les ADNc sont mélangés avec 10 μL d'eau ultra pure avant sa conservation à -20°C.

Les séquences des amorces spécifiques du gène codant pour l'aldolase A sont choisies sur la base des séquences d'ADNc du poulet publiées sur le site du NCBI. Deux amorces différentes (forward et reverse) et la taille de l'amplicon attendu sont présentés dans **TABLEAU 11**.

La qPCR est réalisée à l'aide du kit qPCR MasterMix Plus pour SYBR® Green I (Eurogentec, Seraing, Belgium) et du kit Pre-Developed TaqMan® (Applied Biosystems, Warrington, UK). Le SYBR Green et la sonde TaqMan sont utilisés pour visualiser l'amplification de l'ADNc du gène codant pour l'aldolase A et celui de l'ARN ribosomal 18S respectivement. Ces mélanges sont constitués de dNTPs, d'une ADN polymérase activée à 95°C, d'une Uracile-N Glycosylase (UNG), de 5 mM de MgCl_2 , d'un stabilisateur, d'une référence passive et du SYBR Green ou de la sonde TaqMan. Les ADNc issus de la transcription inverse sont diluées au 1/5000^{ème} et déposés en triple exemplaire sur des plaques de 96 puits. Chaque plaque contient un contrôle négatif (eau) ainsi qu'une référence (préparé à partir de 1,5 μL d'ADNc des 30 échantillons et 15 échantillons pour chaque groupe d'animaux réalisés en trois exemplaires) permettant la comparaison des différentes plaques de PCR.

La réaction de PCR en temps réel est réalisée à partir de 5 μL d'ADNc dilué en présence de 1 μL d'amorce sens (F), 1 μL d'amorce anti-sens (R), 5,5 μL d'eau ultra pur, 12,5 μL des mélanges pour la réaction SYBR® Green ou en présence de 1 μL d'amorce sens (F) et anti-sens (R) et de sonde (Q), 6,5 μL d'eau ultra pure et 12,5 μL des mélanges pour la réaction TaqMan. La réaction de PCR est réalisée à l'aide de l'appareil thermocycleur ABI Prism® 7000 (Applied Biosystems, Applera France

S.A., Courtaboeuf, France) dans les conditions suivantes : une dénaturation initiale (95°C, 10 min), puis 40 cycles d'amplification comprenant une étape de dénaturation (95°C, 15 secondes) suivi par une phase d'hybridation et d'élongation (60°C, 1 min). Dans le cas de l'utilisation de SYBR[®] Green, la spécificité de la réaction est attestée par une courbe de dissociation réalisée (95°C, 15 secondes ; 60°C, 20 secondes et 95°C, 15 secondes) à la fin des 40 cycles.

Une analyse automatique est réalisée par le logiciel 7000 System Software et chaque réaction est caractérisée par un cycle seuil (Ct) correspondant au nombre de cycles nécessaires pour que la fluorescence émise dépasse un seuil de détection préalablement défini. Le Ct est inversement proportionnel au nombre de copies du fragment amplifié. Au cours de la réaction de PCR, les valeurs de Ct sont mesurées à un seuil de détection invariant pour chaque échantillon ainsi que pour une référence constituée d'un pool de tous échantillons des groupes GR et GN. Les niveaux d'expression de l'aldolase A sont ensuite calculés selon l'équation de Pfaffl (2001) :

$$\text{Quantité relative d'ARNm exprimée} = \Delta \text{Ct}_{\text{Aldolase A (référence - échantillon)}} - \Delta \text{Ct}_{\text{18S (référence - échantillon)}}$$

4. Les analyses statistiques

L'ensemble des analyses statistiques est effectué à l'aide du logiciel SAS (SAS Institute, 1989).

Toutes les mesures sont analysées en double sauf celles de la qRT-PCR qui sont réalisées en trois exemplaires. Les résultats sont présentés sous la forme de la moyenne + écart-type. Les valeurs de V_{max} et de K_M sont calculées selon un modèle d'analyse de régression linéaire.

Les analyses de variance à un facteur sont effectuées selon le General Linear Model (GLM) avec l'effet du groupe ou l'effet du temps comme facteur fixé. Pour certaines analyses de variance, le modèle prend aussi en compte l'effet du groupe, du temps, de l'animal dans son groupe ainsi que l'interaction groupe-temps.

Les corrélations entre les variables ont été analysées selon Pearson par le logiciel SAS. Les analyses en composantes principales (ACP) ont été réalisées suivant la procédure Princomp de SAS basée sur la matrice des corrélations.

Les valeurs de $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), et $P < 0,001$ (***) sont considérées comme significatives.

RESULTATS

IV. Résultats

Les dindes de chair de souche BUT 9 utilisées dans cette étude sont des dindes sélectionnées pour leur croissance rapide et leur bons rendements en muscles, notamment pectoraux. Les valeurs des poids vifs obtenues (moyenne de 15 kg à 19 semaines) sont conformes à ce qui est attendu pour des mâles de ce génotype, de cet âge et de ce mode de production.

1. Les valeurs du pH à 20 min et à 24h *post mortem*

La valeur du $\text{pH}_{20\text{min}}$ du groupe GR est inférieure de 0,4 unité à celle du groupe GN ($5,81 \pm 0,07$ et $6,21 \pm 0,01$ pour les groupes GR et GN, respectivement, $P < 0,001$). Au contraire, la valeur du pH_u n'est pas différente entre les deux groupes et se situe autour 5,80. La température intra-musculaire mesurée dans le *PM* à 20 min *post mortem* (environ 42°C) est identique dans les deux groupes.

2. Les propriétés technologiques et organoleptiques de la viande

L'effet de la vitesse de chute du pH sur les propriétés technologiques et organoleptiques de la viande de chaque groupe d'animaux a été étudié. Les propriétés technologiques étudiées concernent le pouvoir de rétention en eau, l'aptitude à la transformation (le rendement NAPOLE et l'élaboration de pâtes fines). Au niveau organoleptique, on a apprécié la couleur de la viande fraîche et la texture de la viande cuite.

2.1 Les caractéristiques de la viande fraîche

Les caractéristiques de couleur, du pouvoir de rétention en eau et de texture de la viande fraîche sont rapportées dans le **TABLEAU 12**, et les **FIGURES 31 et 32**.

TABLEAU 12. Evolution de la couleur du muscle *PM* de dindes à glycolyse rapide (GR) et à glycolyse normale (GN) au cours de la conservation pendant 9 jours à 4°C (moyenne \pm écart-type, n = 20)

		Jours			
		J1	J3	J6	J9
L*	GR	50,14 \pm 2,51	49,64 \pm 2,50	48,97 \pm 2,94	51,87 \pm 3,75
	GN	49,06 \pm 3,00	49,68 \pm 2,34	49,62 \pm 1,89	52,83 \pm 2,63
	Statistiques	NS	NS	NS	NS
a*	GR	5,86 \pm 1,34	5,09 \pm 2,10	4,77 \pm 1,94	4,76 \pm 1,75
	GN	5,06 \pm 0,61	3,61 \pm 0,69	3,35 \pm 0,68	3,50 \pm 0,78
	Statistiques	*	**	**	**
b*	GR	0,26 \pm 0,95	3,68 \pm 1,34	4,02 \pm 0,95	5,56 \pm 1,67
	GN	0,19 \pm 0,66	3,11 \pm 0,81	4,28 \pm 1,09	5,66 \pm 1,23
	Statistiques	NS	NS	NS	NS

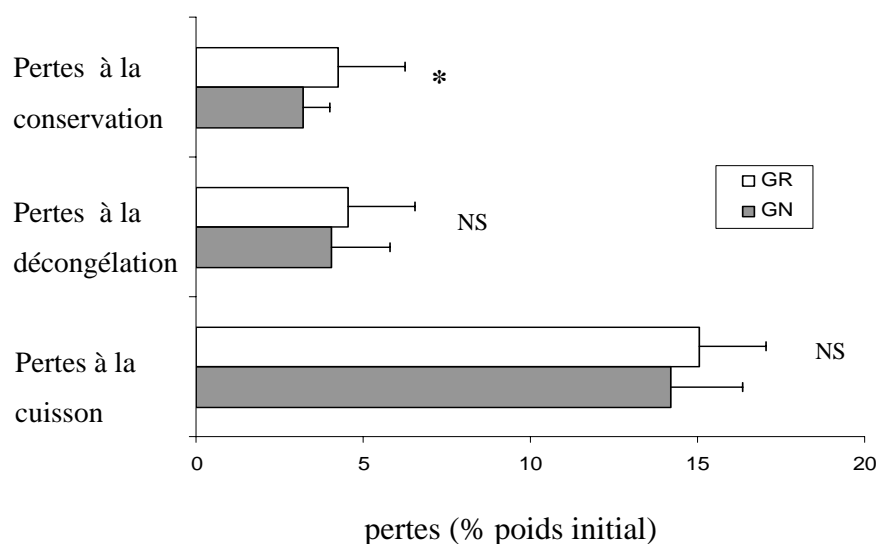


FIGURE 31. Capacités de rétention en eau de muscle *PM* de dindes à glycolyse rapide (GR) et à glycolyse normale (GN). Les résultats (moyenne \pm écart-type, n = 20) sont exprimés en % du poids initial.

2.1.1 La couleur de la viande

La couleur des escalopes du muscle pectoral de dinde est mesurée tous les trois jours pendant 9 jours de conservation à 4°C (**TABLEAU 12**). Les résultats montrent que la valeur de L* (autour de 50) et la valeur de b* (environ 3) ne sont pas différentes entre les groupes GR et GN quel que soit le moment de la mesure. Au contraire, la viande du groupe GR présente des valeurs de a* toujours supérieures à celles du groupe GN et ce à tous les temps *post mortem*.

2.1.2 Le pouvoir de rétention en eau

Les pertes en eau au cours de la conservation en froid positif, à la décongélation et à la cuisson ont été mesurées sous la forme d'écoulement spontané (**FIGURE 31**). Seules les pertes à la conservation sont significativement différentes entre les 2 groupes ($P < 0,05$) avec des valeurs plus importantes dans le groupe GR que dans le groupe GN (environ 4% au maximum après 9 jours de conservation). Les valeurs moyennes des pertes à la décongélation et à la cuisson de l'ensemble des viandes GR et GN sont 4,25% et 14,62%, respectivement.

2.1.3 Test de cisaillement

La viande cuite du groupe GR a une force maximale de cisaillement, ainsi que la valeur de travail associée, plus élevée que dans le groupe GN ($P < 0,01$) (**FIGURE 32**).

2.2 Les produits transformés

Des essais de transformation par saumurage-cuisson (rendement NAPOLE) ont été réalisés pour l'ensemble des échantillons des deux groupes. Un autre test de transformation de la viande par formation d'un produit à pâte fine (type knackies) a également servi à réaliser des tests de compression bicyclique.

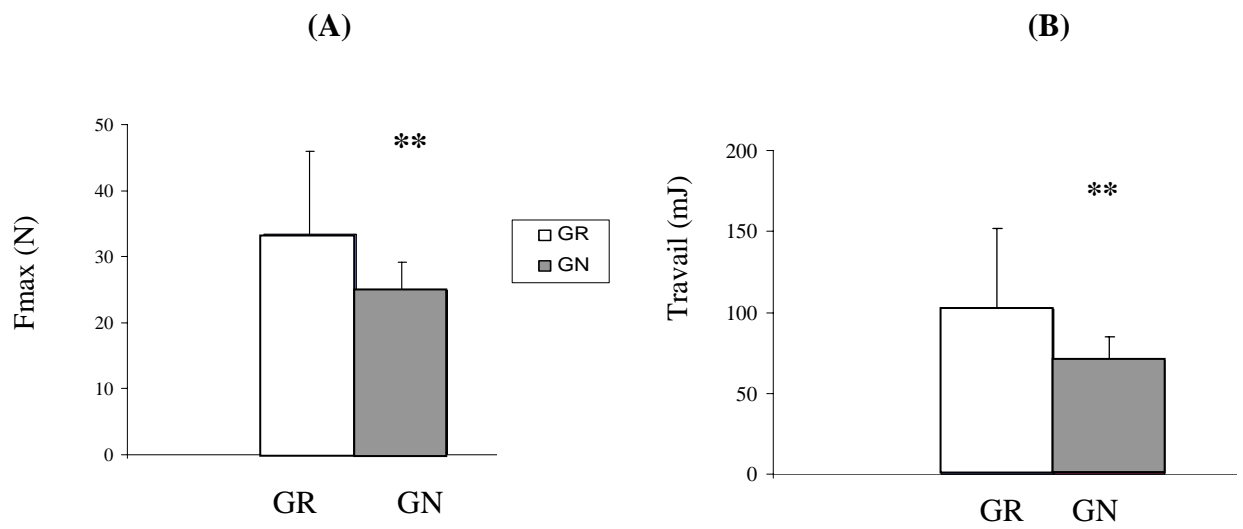


FIGURE 32. Force maximale de cisaillement (A) et valeur du travail mécanique (B) obtenues avec le test de cisaillement (Warner-Bratzler) réalisé sur la viande cuite (moyenne \pm écart-type, n = 20)

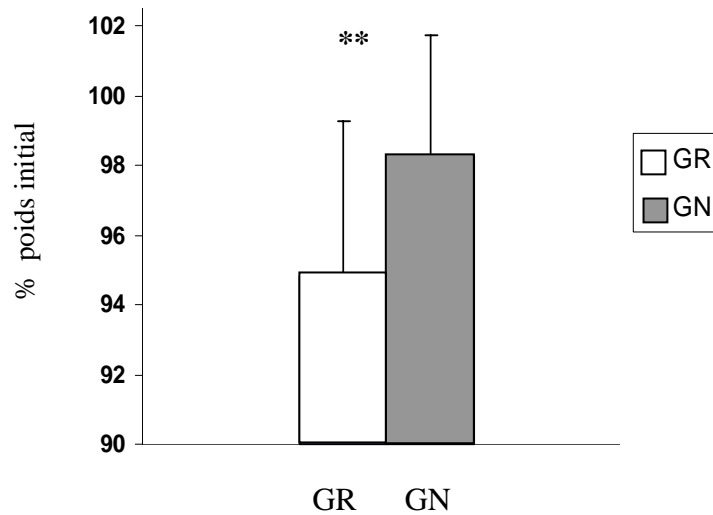


FIGURE 33. Rendement NAPOLE de muscle *PM* de dinde à glycolyse rapide (GR) et à glycolyse normale (GN). Les résultats (moyenne \pm écart-type, $n = 20$) sont exprimés en % du poids initial.

TABLEAU 13. Valeurs du pH, du rendement de transformation et du test de compression bicyclique des pâtes fines cuites élaborées à partir de viande de *PM* de dinde (moyenne \pm écart-type, $n=20$) des groupes GR et GN.

	GR	GN	Statistiques
pH avant cuisson	5,79 \pm 0,10	5,76 \pm 0,09	NS
pH après cuisson	5,72 \pm 0,09	5,69 \pm 0,10	NS
Rendement (%)	87,58 \pm 4,68	90,40 \pm 3,14	*
Dureté (N)	41,86 \pm 6,38	38,76 \pm 5,71	NS
Cohésion	0,34 \pm 0,03	0,32 \pm 0,03	NS
Elasticité	1,0004 \pm 0,003	1,0006 \pm 0,003	NS
Mâchement (N)	14,23 \pm 3,31	12,45 \pm 2,74	NS

2.2.1 Rendement NAPOLE

La viande du groupe GR présente des valeurs de rendement NAPOLE plus faibles que celles du groupe GN (**FIGURE 33**). Un écart de 3,47 points de rendement peut ainsi être mis en évidence entre les 2 groupes ($P < 0,01$).

2.2.2 Pâte fine de viande

Les pâtes fines élaborées avec la viande du groupe GR présentent un rendement de transformation plus faible que celui du groupe GN (**TABLEAU 13**, un écart de 2,82 point, $P < 0,05$). Par contre, aucun des paramètres de texture mesurés ensuite avec le test de compression bicyclique ne permet de distinguer les échantillons GR des GN.

3. Les protéines musculaires

Les protéines des muscles *PM* de dinde GR ou GN prélevés à 20 min et à 24 h *post mortem* ont été étudiées à l'aide de plusieurs méthodes comme l'extractabilité par des tampons de forces ioniques différentes, des techniques de chromatographie échangeuse d'ions, des Western Blots ainsi que des profils électrophorétiques mono- et bidimensionnels.

3.1 Extractabilité des protéines musculaires

Les quantités de protéines extraites du muscle *PM* de dinde par les tampons LIS, HIS et culot sont présentées dans le **TABLEAU 14**.

A 20 min *post mortem*, l'extractabilité des protéines des fraction HIS et culot sont significativement ($P < 0,05$ et $P < 0,001$ pour fraction HIS et culot, respectivement) moindres dans le groupe GR que dans le groupe GN. A 24 h *post mortem*, les échantillons du groupe GR ont également des valeurs d'extractabilité des protéines LIS et HIS plus faibles que celles du groupe GN.

TABLEAU 14. Valeurs de l'extractabilité des protéines musculaires des *PM* de dinde des groupes GR et GN à 20 min et à 24 h *post mortem* (moyenne \pm écart-type, exprimée en pourcentage des protéines totales)

	20 min	24 h	<i>P</i> (temps)
Fraction LIS			
GR	24,81 \pm 0,93	26,29 \pm 2,05	**
GN	24,96 \pm 1,03	29,28 \pm 1,13	***
<i>P</i> (groupe)	NS	***	
Fraction HIS			
GR	6,79 \pm 1,00	14,36 \pm 6,00	***
GN	7,63 \pm 1,17	18,16 \pm 4,66	***
<i>P</i> (groupe)	*	*	
Culot			
GR	26,31 \pm 3,09	28,80 \pm 6,21	NS
GN	30,70 \pm 2,86	26,98 \pm 4,36	**
<i>P</i> (groupe)	***	NS	

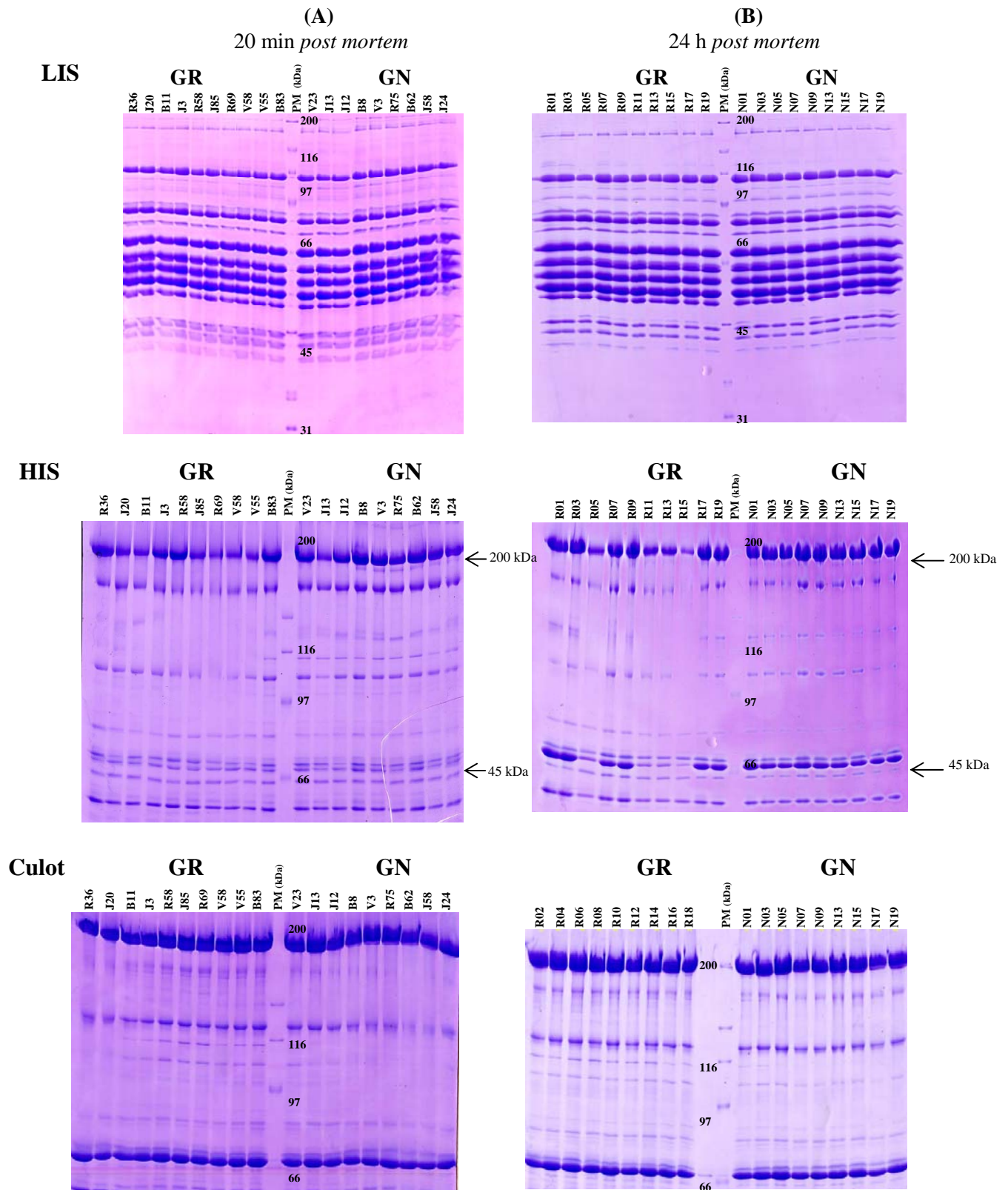


FIGURE 34. Profils électrophorétiques SDS-PAGE des protéines musculaires (40 μg /piste ; gels à 12% acrylamide pour LIS et à 8% pour HIS et Culot) du muscle *PM* de dinde prélevés à 20 min (A) et à 24 h (B) *post mortem*. Les flèches indiquent les bandes des protéines d'intensité différentes.

Dans les groupes GR et GN, les extractibilités des fractions LIS et HIS sont plus grandes à 24 h qu'à 20 min *post mortem*. Pour la fraction des protéines extraites dans le tampon résiduel (culot), les valeurs restent équivalentes entre 20 min et 24 h *post mortem* pour les échantillons GR, alors qu'elles baissent significativement (de 30,70 à 26,98 %, $P < 0,01$) pour les échantillons GN.

3.2 Electrophorèses monodimensionnelle de type SDS-PAGE

Les protéines extraites avec les tampons LIS, HIS et culot à 20 min et à 24 h *post mortem* ont été séparées par la technique SDS-PAGE (**FIGURE 34**).

Quelle que soit la fraction considérée, il n'y a pas de réelles différences entre les profils électrophorétiques des groupes GR et GN à 20 min *post mortem*. Par contre, à 24 h *post mortem*, pour les fractions HIS et culot, des différences sont mises en évidence entre le groupe GR et le groupe GN (**FIGURE 34B**). En effet, quelques animaux ($n = 4$) du groupe GR présentent une forte baisse d'intensité des bandes situées autour de 45 kDa et 200 kDa. L'analyse en spectrométrie de masse (voir **TABLEAU 15**) a révélé la présence de la protéine actine G à 45 kDa. La bande de 200 kDa est considérée comme étant la chaîne lourde de la myosine sur la base de son poids moléculaire de référence.

Les profils obtenus avec les protéines des fractions LIS ne présentent pas de différences entre les deux groupes quel que soit le temps *post mortem* considéré.

3.3 Western Blots anti-actine et anti- myosine

Après l'identification des bandes d'intensités différentes comme celles de l'actine G et de la chaîne lourde de la myosine, la technique du Western Blot a permis de réaliser leurs quantifications relatives. La **FIGURE 35** rapporte les résultats du Western Blot contre l'actine et la chaîne lourde de la myosine à 20 min et 24 h *post mortem*.

Aucune différence n'existe entre les valeurs enregistrées pour les deux groupes à 20 min *post mortem*. Les valeurs relatives estimées augmentent avec le temps *post mortem* quelle que soit la molécule ou le groupe d'animaux considéré.

TABLEAU 15. Identification par MALDI-TOF-MS de la présence d'actine G dans la bande située autour de 45 kDa.

Nom de bande	Base de données	Taxonomie	Référence de la séquence	Nom de la protéine	Score Mascot	Taux de recouvrement	Nombre de peptides alignés	Poids moléculaire (kDa)	pI
GR 05	UniProt. 21.01.2007	Gallus gallus	P68139	Actin, alpha skeletal muscle (Alpha-actin-1)	11 052	33,2%	4	42 051	5,2
GR 11	UniProt. 21.01.2007	Gallus gallus	P68139	Actin, alpha skeletal muscle (Alpha-actin-1)	593 670	35,3%	4	42 051	5,2
GR 13	UniProt. 21.01.2007	Gallus gallus	P68139	Actin, alpha skeletal muscle (Alpha-actin-1)	594 123	35,3%	4	42 051	5,2
GR 15	UniProt. 21.01.2007	Gallus gallus	P68139	Actin, alpha skeletal muscle (Alpha-actin-1)	1,41 e+9	38,5%	4	42 051	5,2

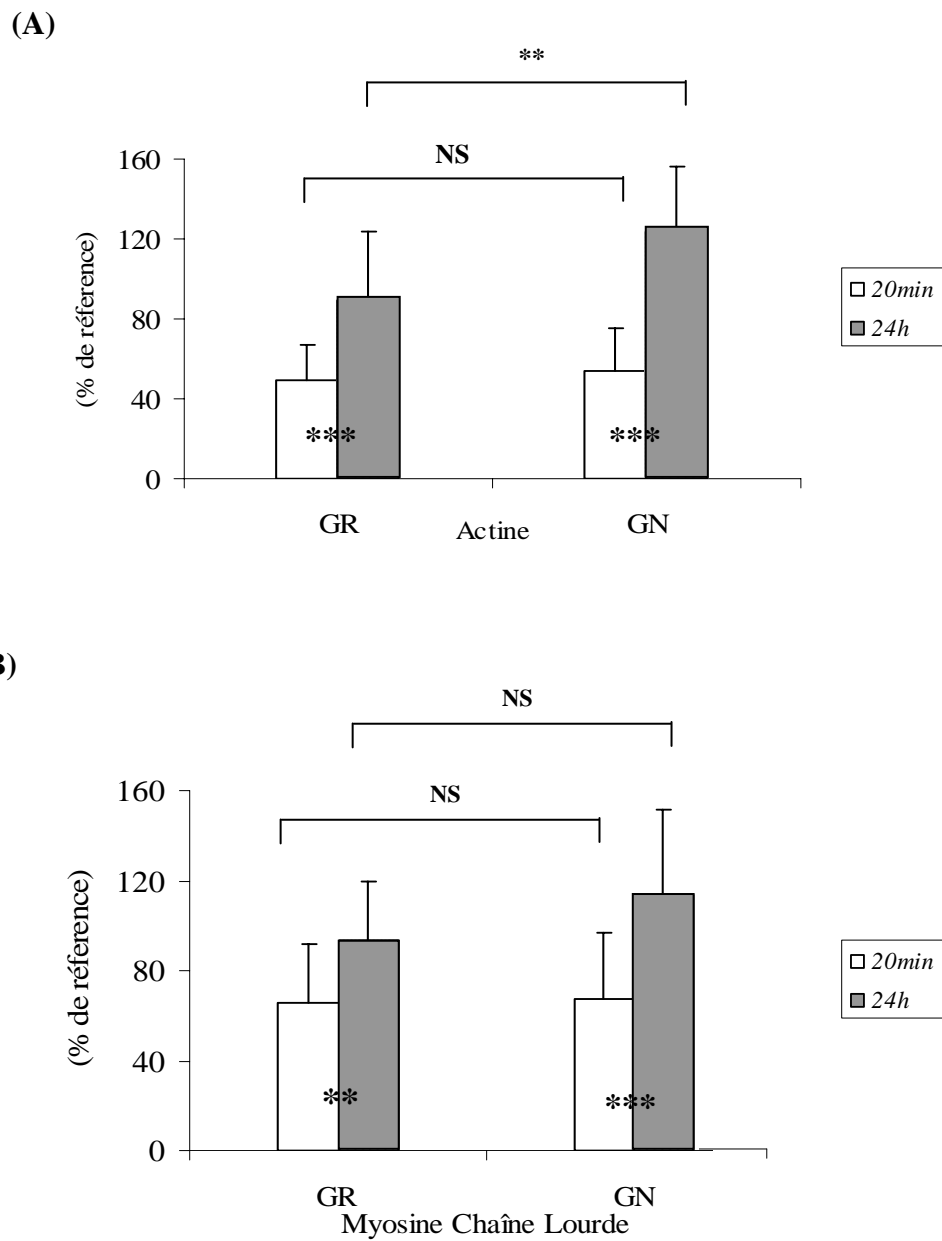


FIGURE 35. Quantités relatives d'actine (A) et de chaîne lourde de la myosine (B) estimées par la technique Western Blot des muscles *PM* de dindes prélevés à 20 min (moyenne \pm écart-type, n=20) et à 24 h *post mortem* (moyenne \pm écart-type, n=19 et 18 pour GR et GN, respectivement).

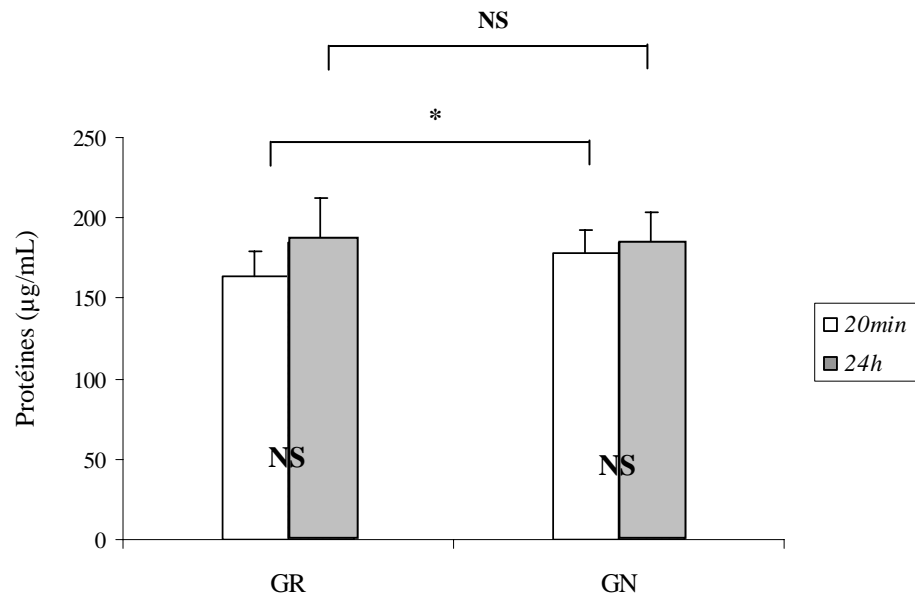


FIGURE 36. Teneur en protéines à pI acide et neutre dans du muscle *PM* de dinde prélevé à 20 min et à 24 h *post mortem* (moyenne \pm écart-type, n=10) dans les groupes GR et GN.

A 24 h *post mortem*, les échantillons du groupe GN présentent une quantité d'actine détectée supérieure à celle du groupe GR ($P < 0,01$). Cette observation n'est par contre pas valable pour la chaîne lourde de la myosine.

3.4 Chromatographie avec échange d'ions

Les protéines musculaires du *PM* de dinde de dix échantillons prélevés à 20 min et à 24 h *post mortem* dans chaque groupe sont séparées selon leur hydrophobicité par passage sur une colonne échangeuse d'ions. Les protéines non retenues par la colonne sont les protéines dont le pI est acide ou neutre. Au contraire, les protéines fixées sur la colonne sont les protéines dont le pI est basique.

3.4.1 Les protéines à pI acide ou neutre

Les quantités éluées de protéines à pI acide ou neutre sont présentées dans la **FIGURE 36**. Quel que soit le groupe considéré, le moment du prélèvement du muscle n'influe pas sur la quantité de protéines acides ou neutres éluées. Par contre, le groupe GN présente des quantités de protéines acides ou neutres supérieures à celles du groupe GR à 20 min *post mortem* ($P < 0,05$). Cette différence n'existe plus à 24 h *post mortem*.

3.4.2 Les protéines basiques

Les protéines basiques sont d'abord éluées avec une solution de NaCl à 0,15 M, puis à 0,50 M. Les concentrations en protéines des 5 fractions finalement collectées sont présentées dans la **FIGURE 37**. Ces graphiques montrent que les quantités de protéines sont maximales dans la deuxième fraction quel que soit le tampon d'éluion et le type d'individu.

Les valeurs de concentration reportées sont identiques dans presque toutes les fractions entre les groupes GR et GN. Cependant, à 20 min *post mortem*, la quantité de protéines de la deuxième fraction éluee avec 0,50 M de NaCl est plus élevée dans le groupe GR que dans le groupe GN (**FIGURE 37A**).

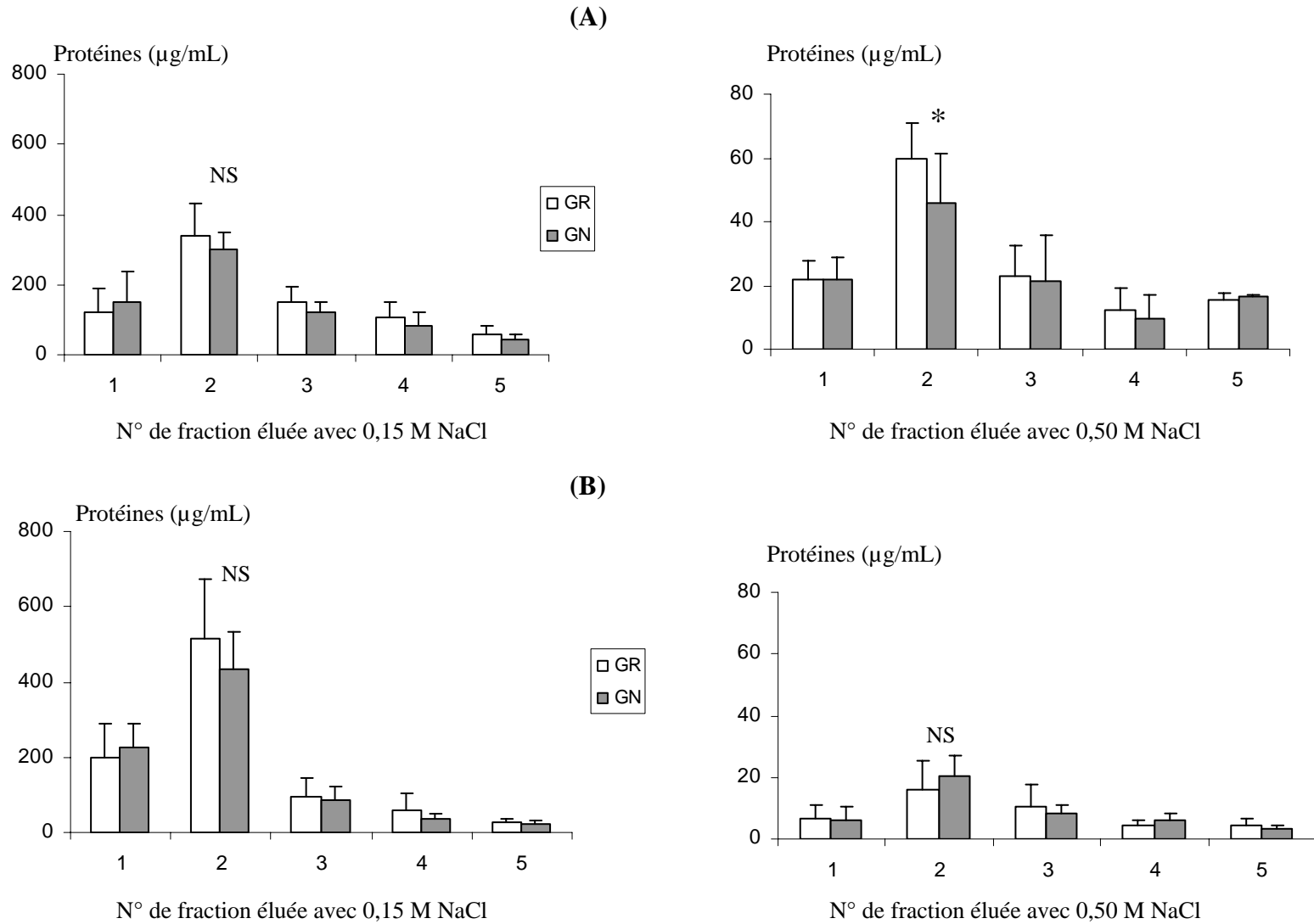
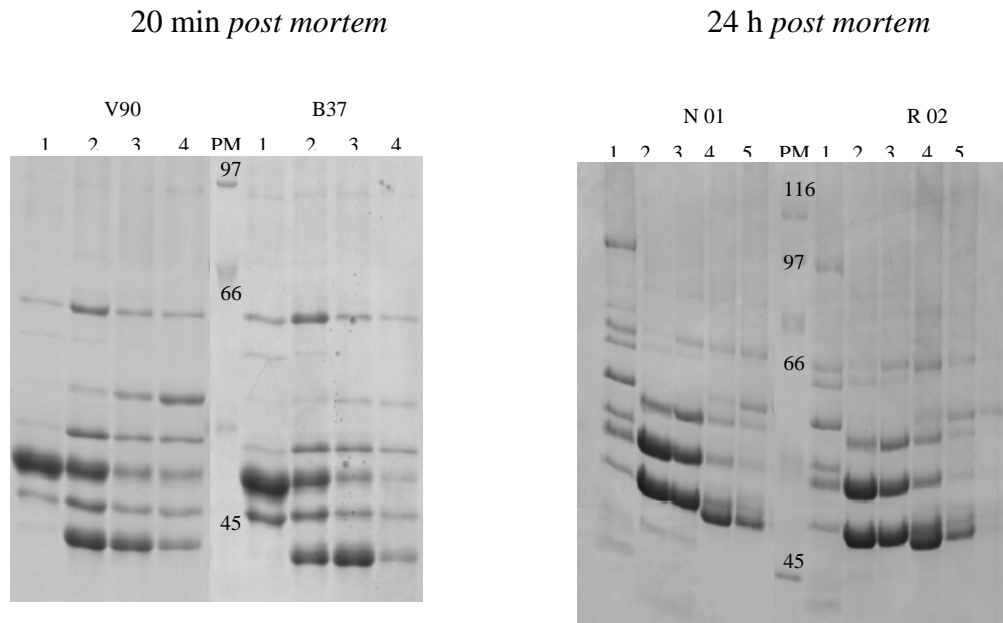


FIGURE 37. Concentrations (en $\mu\text{g/mL}$) des protéines basiques dans les différentes fractions collectées avec 0,15 M NaCl et 0,50 M NaCl à 20 min (A) et à 24 h (B) *post mortem* (moyenne \pm écart-type, n=10) dans les muscles *PM* des dindes GR ou GN.

(A) les protéines basiques éluées avec 0,15 M NaCl



(B) les protéines basiques éluées avec 0,50M NaCl à 20 min *post mortem*

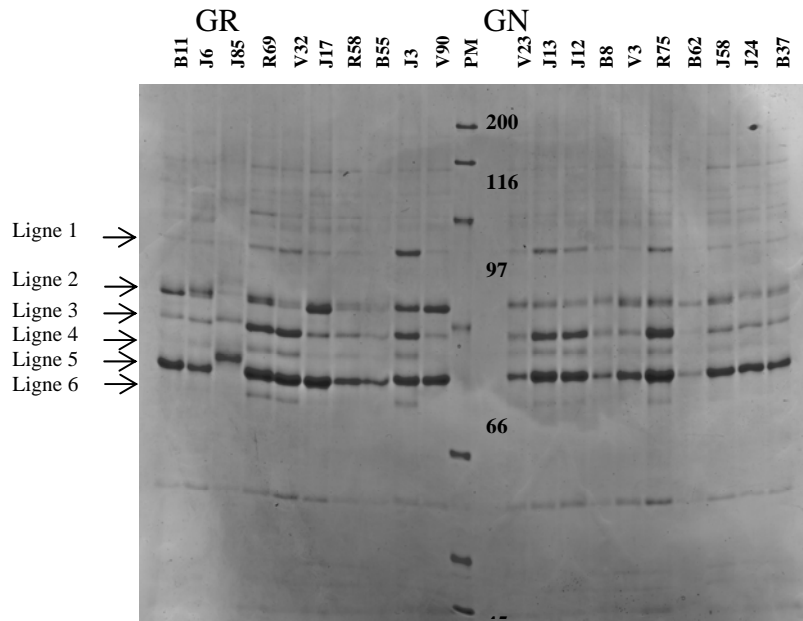


FIGURE 38. Profils électrophorétiques SDS-PAGE des protéines basiques éluées avec 0,15 M NaCl (A) à 20 min et 24 h *post mortem* et éluées avec 0,50 M NaCl (B) à 20 min *post mortem*. Coloration au bleu Coomassie R250. Chaque piste correspond à une fraction (20 µg/piste).

Seules les fractions contenant plus de 40 µg/mL de protéines ont ensuite été déposées sur des gels en conditions SDS-PAGE. Les profils électrophorétiques obtenus avec les tampons 0,15 M et 0,50 M de NaCl sont présentés dans la **FIGURE 38**. Les protéines éluées avec les tampons 0,15 M de NaCl présentent des profils SDS-PAGE similaires (**FIGURE 38A**) à 20 min et à 24 h *post mortem*. Malgré une certaine variabilité individuelle, les profils obtenus avec les tampons 0,50 M de NaCl sont globalement identiques entre les groupes GR et GN (**FIGURE 38B**).

3.5 Electrophorèses bidimensionnelles et Analyse d'image

Après passage sur la colonne échangeuse d'ions, les protéines à pI acides ou neutres de dix échantillons de chaque groupe sont séparées par électrophorèse bidimensionnelle (2 gels/animal).

L'image du gel de référence (ou master gel) du groupe GR et du groupe GN est présentée dans la **FIGURE 39**. Après analyse d'images des gels, environ 300 spots sont détectés dans chaque groupe d'échantillons et 150 sont matchés. Les spots présentant des intensités différentes sont retenus selon la méthode de Meunier *et.al.* (2005). Le graphique de la **FIGURE 40** montre qu'il y a finalement 7 spots dont l'intensité est très fortement différente entre le groupe GR et le groupe GN.

Parmi ces 7 spots, un seul (le numéro 104) a pu être identifié par la spectrométrie de masse en MALDI TOF-TOF comme étant celui de la chaîne A de la transthyrétine (ou préalbumine) (**TABLEAU 16**). Les autres ont ensuite été analysés par la spectrométrie de masse de type Q-TRAP qui est plus performante. La même protéine est identifiée pour le spot numéro 146. Les autres spots ne sont pas identifiés car ils présentent une trop faible quantité de protéines ou bien que leur séquence est indisponible dans la base de données du poulet.

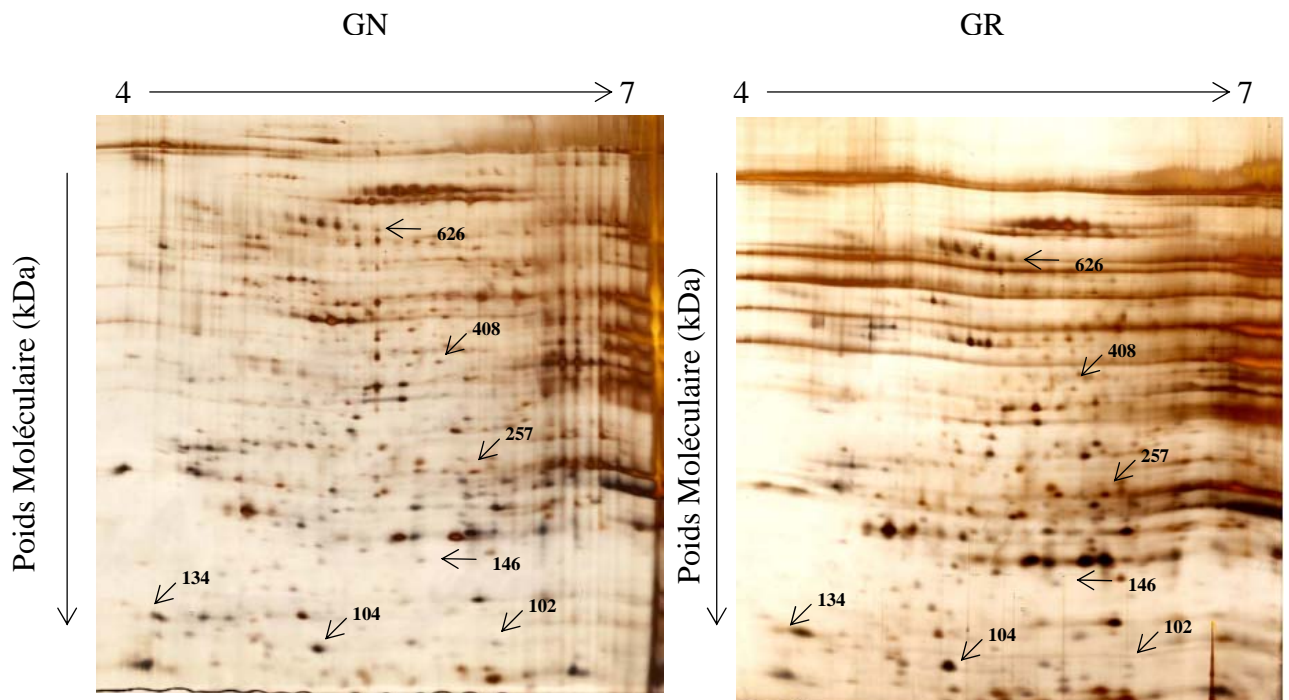


FIGURE 39. Gels bidimensionnels obtenus à partir de 300 μ g de protéines acides et neutres du muscle *PM* de dinde prélevés à 20 min *post mortem*. La première dimension est réalisée entre pH 4 et 7. Le gel de seconde dimension contient 12% d'acrylamide. Coloration au nitrate d'argent.

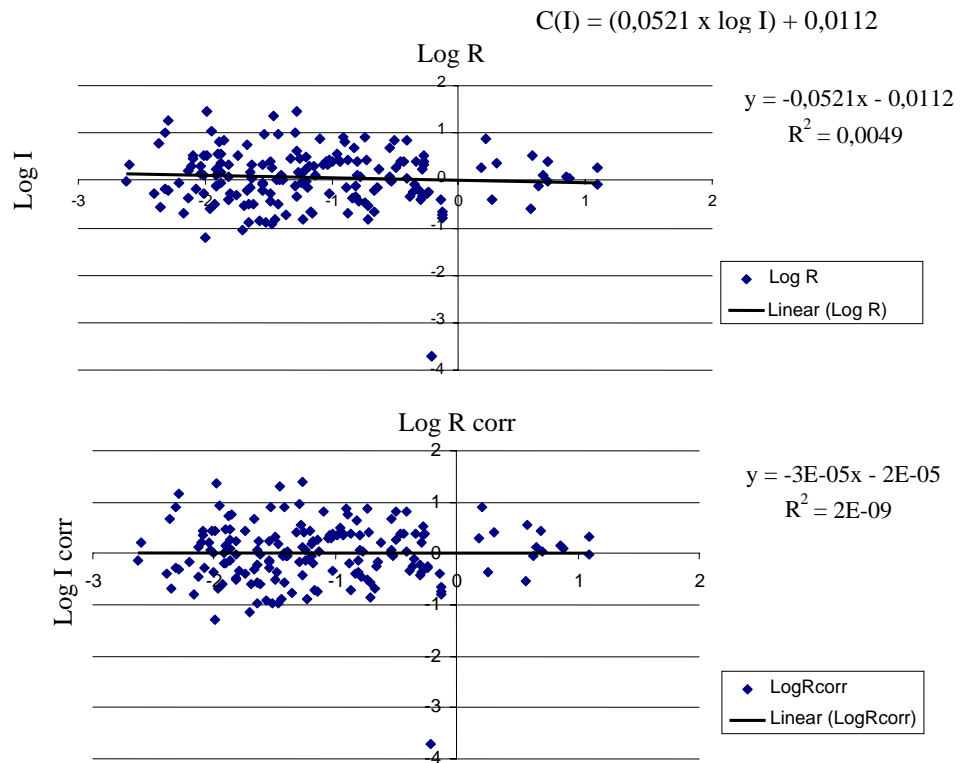


FIGURE 40. Graphiques en nuage de points obtenus avant (A) et après (B) la normalisation d'intensité dépendante selon Meunier *et al.* (2005). Chaque point représente un spot de protéine acide et neutre du muscle *PM* de dinde (à 20 min *post mortem*) séparé par électrophorèse bidimensionnelles. Après la normalisation, il y a 7 spots d'intensité différente entre le groupe GR et le groupe GN.

TABLEAU 16. Les résultats obtenus après analyse par le spectromètre de masse des spots différentiellement exprimés entre les groupes GR et GN

Spots sur exprimés dans le groupe GR										
Nom de spot	Ratio de volume/intensité	Base de données	Taxonomie	Référence de la séquence	Nom de la protéine	Score Mascot	Taux de recouvrement	Nombre de peptides alignés	PM (kDa)	pI
102	1,37	Non identifié ¹	-	-	-	-	-	-	-	-
134	1,39	Non identifié ¹	-	-	-	-	-	-	-	-
146	1,16	NCBI ³	<i>Gallus gallus</i>	gi/1633502	Chaîne A, Transthyretin (Préalbumine)	4227	58%	8	14161	5,1
626	1,31	Non identifié ²	-	-	-	-	-	-	-	-
Spots sur exprimés dans le groupe GN										
104	-3,70	NCBI ⁴	<i>Gallus gallus</i>	gi/1633502	Chaîne A, Transthyretin (Préalbumine)	4227	58%	8	14161	5,1
257	-1,29	Non identifié ²	-	-	-	-	-	-	-	-
408	-1,14	Non identifié ¹	-	-	-	-	-	-	-	-

¹ Non identifié à cause d'une quantité de protéine faible.

² Non identifié à cause d'une base de données indisponible chez le poulet.

³ Identifié par la spectrométrie de masse en Q-TRAP.

⁴ Identifié par la spectrométrie de masse en MALDI TOF-TOF.

TABLEAU 17. Effet de la vitesse de chute du pH sur les activités spécifiques de l'aldolase A, de la GAPDH, de la PFK et de la COX et sur les valeurs de V_{max} et de K_m de l'aldolase A et de la GAPDH dans le muscle *PM* de dindes GR ou GN à 20 min *post mortem* (moyenne + écart-type, n=20). NA = Non Analysé

Aldolase A			
	Activité spécifique (Unit/mg)	V_{max} (Unit/mg)	K_m (mM)
GR	2,35 ± 0,21	1,90 ± 0,45	8,0 ± 2,2
GN	2,61 ± 0,28	1,93 ± 0,54	8,0 ± 2,9
Statistiques	***	NS	NS
GAPDH			
	Activité spécifique (Unit/mg)	V_{max} (Unit/mg)	K_m (mM)
GR	49,38 ± 19,02	15,3 ± 7,2	2,9 ± 1,4
GN	66,59 ± 24,71	19,9 ± 8,8	3,6 ± 1,7
Statistiques	*	NS	NS
PFK			
	Activité spécifique (Unit/mg)	V_{max} (Unit/mg)	K_m (mM)
GR	7,25 ± 3,13	NA	NA
GN	34,01 ± 15,74	NA	NA
Statistiques	***	-	-
COX			
	Activité spécifique (Unit/mg)	V_{max} (Unit/mg)	K_m (mM)
GR	16,81 ± 2,52	NA	NA
GN	23,67 ± 6,84	NA	NA
Statistiques	***	-	-

4. Propriétés biochimiques de certaines protéines

4.1 Les activités spécifiques de l'aldolase A, de la GAPDH, de la PFK et de la COX ainsi que les paramètres Michaëliens de l'aldolase A et de la GAPDH.

Les activités spécifiques de l'aldolase A, de la GAPDH, de la PFK et de la COX ainsi que les paramètres du modèle enzymatique de Michaëlis-Menten pour l'aldolase A et la GAPDH du muscle *PM* de dinde (à 20 min *post mortem*) des animaux GR et GN sont rapportés dans le **TABLEAU 17**.

Les activités spécifiques de l'aldolase A, de la GAPDH, de la PFK et de la COX sont significativement différentes entre les deux groupes d'animaux. Si les muscles du groupe GN présentent des activités spécifiques toujours plus élevées que dans le groupe GR, les valeurs des V_{max} et des K_m de l'aldolase A et de la GAPDH ne sont pas différentes. Les écarts d'activité spécifique sont significatifs mais faibles pour l'aldolase A et relativement élevés pour les trois autres enzymes, notamment pour la PFK car le ratio GN/GR atteint une valeur moyenne de 5.

4.2 Western Blot anti- GAPDH

La quantité relative de GAPDH présente dans les muscles à 20 min *post mortem* a été estimée par Western Blot. L'analyse de l'abondance relative de cette enzyme ainsi mesurée ne montre pas de différence significative entre les deux groupes d'animaux. (**FIGURE 41**)

4.3 Potentiel glycolytique et principaux produits de la glycolyse anaérobie

Toutes ces mesures ont été réalisées sur des échantillons prélevés à 20 min et à 24 h *post mortem*. Les échantillons du groupe GN présentent initialement (à 20 min *post mortem*) une teneur plus élevée en glycogène ($P < 0,001$) et plus faible en glucose et lactate ($P < 0,001$), que ceux du groupe GR (**TABLEAU 18**). Par contre, à 20 min *post mortem*, on ne note pas de différence significative pour la teneur en glucose-6-phosphate entre les deux groupes.

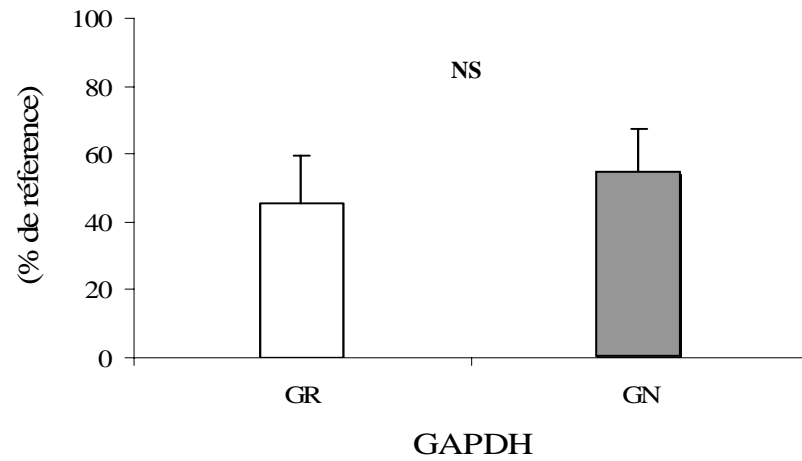


FIGURE 41. Quantité relative de GAPDH en % de la protéine de référence (0,5 µg de GAPDH purifiée) estimée par la technique du Western Blot dans le muscle *PM* de dinde à 20 min *post mortem* (moyenne \pm écart-type, n=20).

TABLEAU 18. Teneurs des principaux produits de la glycolyse anaérobie et valeur du potentiel glycolytique du muscle *PM* de dinde à 20 min (moyenne \pm écart-type, n = 20) et à 24 h *post mortem* (moyenne \pm écart-type, n = 19 et 18 pour GR et GN, respectivement) issues des les groupes GR et GN.

	20 min	24 h	P(temps)
Glycogène ($\mu\text{mol/g}$)			
GR	5,51 \pm 3,67	0,62 \pm 0,50	***
GN	14,06 \pm 5,02	0,79 \pm 0,66	***
<i>P</i> (groupe)	***	NS	
Glucose ($\mu\text{mol/g}$)			
GR	2,50 \pm 0,54	2,45 \pm 0,84	NS
GN	1,62 \pm 0,37	2,16 \pm 0,82	*
<i>P</i> (groupe)	***	NS	
Glucose-6-phosphate ($\mu\text{mol/g}$)			
GR	0,23 \pm 0,22	1,77 \pm 1,91	***
GN	0,21 \pm 0,22	2,29 \pm 1,43	***
<i>P</i> (groupe)	NS	NS	
Lactate ($\mu\text{mol/g}$)			
GR	99,62 \pm 7,68	115,61 \pm 6,78	***
GN	78,05 \pm 6,03	114,85 \pm 10,13	***
<i>P</i> (groupe)	***	NS	
Potentiel glycolytique ¹ ($\mu\text{mol lactate/g}$)			
GR	116,08 \pm 9,63	125,29 \pm 9,96	**
GN	109,83 \pm 10,28	125,34 \pm 13,54	***
<i>P</i> (groupe)	NS	NS	

¹ Potentiel glycolytique = 2 ([glycogène] + [glucose] + [glucose-6-phosphate]) + [lactate]

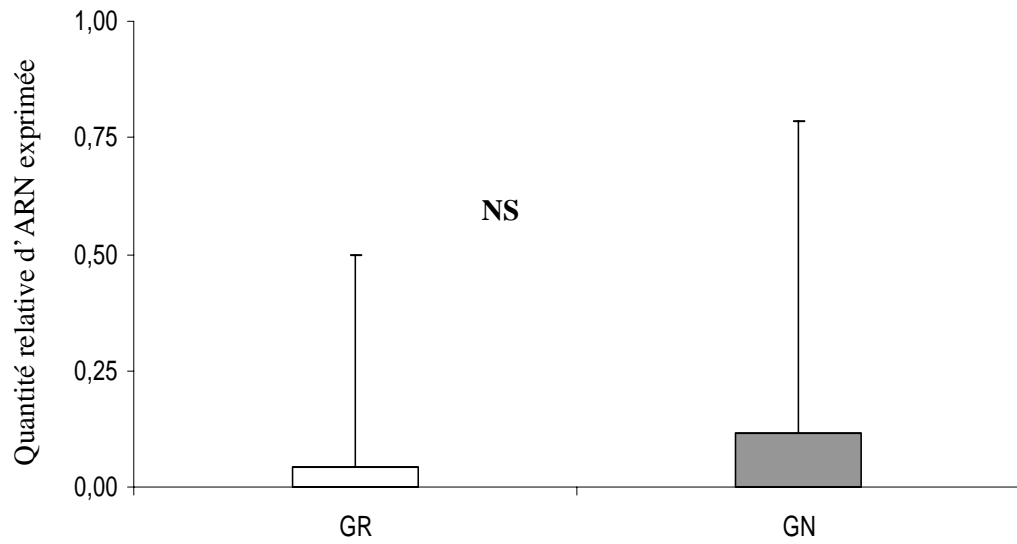


FIGURE 42. Effet de l'origine de l'échantillon sur le niveau d'expression du gène codant pour l'aldolase A à 20 min *post mortem*. La quantité relative d'expression du gène est présentée sous la forme de moyenne \pm écart-type rapportée au taux d'expression de l'ARNm 18S.

A 24 h *post mortem*, il n'y a plus de différences pour les teneurs en différents métabolites (glycogène, glucose, glucose-6-phosphate et lactate) entre les viandes des groupes GR et GN.

Pour les deux groupes d'animaux, la teneur en glycogène est inférieure à 24 h par rapport à 20 min *post mortem*. Au contraire, les teneurs en glucose-6-phosphate et en lactate sont supérieures à 24 h par rapport à 20 min *post mortem*. Seule, pour le groupe GN, la teneur en glucose à 24 h est plus élevée qu'à 20 min *post mortem* ($P < 0,05$).

Même si on observe une augmentation de la valeur du potentiel glycolytique entre 20 min et 24 h *post mortem* dans les deux groupes d'échantillons cette valeur ne diffère jamais d'un groupe à l'autre.

4.4 Produit de la qRT-PCR pour l'aldolase A

Le taux d'expression du gène codant pour l'aldolase A dans chaque groupe d'animaux, à 20 min *post mortem*, a été étudié en qRT-PCR. Le résultat obtenu montre des niveaux moyens d'expression de l'ARNm correspondant équivalents entre les groupes GR et GN (**FIGURE 42**).

DISCUSSION

TABLEAU 19. Synthèse de différentes études rapportant les valeurs de pH précoce et/ou ultime chez le porc, la dinde ou le poulet.

Viande ou génotype	pH précoce	pHu	Référence
PORC (divers muscles)			
NN	6,22	5,62 a	Fisher <i>et al.</i> , 2000
Nn	5,94	5,60 a	
nn	5,36	5,44 b	
NN	6,45	5,61 a	Gil <i>et al.</i> , 2003
nn	6,11	5,58 b	
NN	6,35	5,52 b	Monin <i>et al.</i> , 1999
Nn	6,13	5,56 ab	
nn	5,68	5,60 a	
Normal		5,63 a	Van der Wal <i>et al.</i> , 1988
PSE		5,39 b	
Normal	6,13	5,49	Moya <i>et al.</i> , 2001
PSE	5,73	5,53	
Normal		5,96 a	Kuo et Chu <i>et al.</i> , 2003
PSE		5,60 b	
Normal		5,99 a	Schilling <i>et al.</i> , 2004
PSE		5,36 b	
Normal		5,59 a	Warner <i>et al.</i> , 1997
PSE		5,30 b	
Normal		5,74 a	Joo <i>et al.</i> , 1999
PSE		5,34 b	
Normal		5,60	Van Laack <i>et al.</i> , 1994
PSE		5,40	
Normal	6,05	5,45	Lopez-Bote <i>et al.</i> , 1989
PSE	5,60	5,36	
Normal	6,30	5,90	Shen <i>et al.</i> , 2006
PSE	6,00	5,60	
GN	6,12		Choi <i>et al.</i> , 2007
GR	5,78		
DINDE (muscle PM)			
GN	6,44	5,88	Pietrzak <i>et al.</i> , 1997
GR	5,80	5,69	
Normal	6,18	5,96	McKee et Sams, 1997
PSE	5,95	5,84	
GN	>6,00	5,71	Rathgeber <i>et al.</i> , 1999
GR	<5,80	5,67	
GN	6,24	5,91	Fernandez <i>et al.</i> , 2002
GR	5,90	5,84	
GN	> 6,50	5,66	Hahn <i>et al.</i> , 2002
GR	<6,20	5,70	
GN	6,47	5,67	Molette <i>et al.</i> , 2005
GR	6,04	5,67	
POULET (muscle PM)			
Pale		5,70	Van Laack <i>et al.</i> , 2000
Normale		5,96	
Croissance rapid	6,48	5,93	El Rammouz <i>et al.</i> , 2004a
Croissance lente	6,53	5,73	

V. Discussion

La viande PSE est caractérisée par une couleur pâle, une texture molle et un pouvoir de rétention en eau faible. Ces défauts caractéristiques sont le résultat de l'accélération du métabolisme *post mortem* qui conduit à une chute rapide du pH musculaire alors que la température de la carcasse reste élevée. La combinaison basse valeur du pH – température élevée au cours du développement de la *rigor mortis* entraîne la dénaturation des protéines musculaires (porc : Bendall et Wismer-Perdersen, 1962 ; Fernandez *et al.*, 1994b ; dinde : McKee et Sams, 1998 ; Molette *et al.*, 2003 ; Sams et Alvarado, 2004). Warris et Brown (1987) ont ainsi montré qu'une vitesse de chute du pH élevée entre 30 min et 1 h *post mortem* est le facteur principal qui détermine la sévérité de l'état PSE chez le porc. Lawrie (1998) montre plus précisément que lorsque le muscle est soumis simultanément à un pH inférieur à 6 et à une température supérieure à 35°C, la dénaturation des protéines est maximale.

Alors que la relation pH précoce bas - viande PSE est clairement identifiée, la relation avec la valeur du pHu est moins évidente comme le montre le **TABLEAU 19** dans lequel sont rapportées différentes valeurs de pH précoce et de pHu chez le porc et les volailles. Quelques auteurs y observent une valeur de pHu normale dans le cas de viandes PSE (Briskey, 1964 ; Offer et Knight, 1988 et Van Laack *et al.*, 1994). Par contre, dans certains cas extrêmes de viandes PSE, la valeur du pHu peut être plus faible (Offer et Knight, 1988) que la normale ou au contraire, comme le montrent Fernandez *et al.* (1994a), il peut ne pas y avoir de relation significative entre le pH_{45min} et le pHu dans le muscle *Longissimus dorsi* chez le porc ($r = 0,18$).

Dans notre étude, les viandes du groupe GR ont des valeurs de pH_{20min} inférieures de 0,40 unité à celles du groupe GN. Par contre, les valeurs de pHu et de température à 20 min *post mortem* sont identiques dans les deux groupes (pHu = 5,80 ; T_{20min} = 42°C). Les valeurs de pH_{20min} et de pHu observées dans notre étude sont similaires à celles rapportées par Pietrzak *et al.* (1997)(**TABLEAU 19** ; pH_{20min} = 5,80 et 6,44 ; pHu = 5,69 et 5,88 pour les groupes GR et GN, respectivement). Comme eux, et à la lecture d'une valeur inférieure de pH_{20 min} du groupe GR associée à des valeurs identiques de pHu entre les deux groupes, nous pouvons considérer que la viande du groupe GR a bien une vitesse de la chute de pH *post mortem* plus élevée que celle du

groupe GN. Cette seule accélération de la chute du pH combinée à une température initiale élevée (> à 40°C à 20 min *post mortem*) du muscle nous place idéalement, *sensu stricto*, dans les conditions livresques de développement du syndrome PSE.

1. Paramètres technologiques et sensoriels de la viande

Les attributs majeurs affectant la qualité des viandes de volailles sont l'apparence, la texture, la jutosité, le goût ainsi que le pouvoir de rétention en eau. Parmi ceux-ci, l'apparence, particulièrement la couleur, et la texture sont les plus importantes car elles influencent fortement le choix du consommateur au moment de l'achat et sa satisfaction finale du consommateur (Fletcher, 1999 et 2002 ; Alvarado et Sams, 2004).

L'altération d'apparence des viandes peut être affectée par la combinaison bas pH – température élevée, comme le montrent diverses études réalisées sur ces deux facteurs. Un effet de la température élevée sur la valeur du L* est rapporté par McKee et Sams (1998) et Molette *et al.* (2003). Ces auteurs notent ainsi que les muscles conservés à 40°C pendant les premières heures *post mortem* ont des valeurs de L* supérieures par rapport à ceux conservés à 4°C. Au contraire, Alvarado et Sams (2004) ne mettent pas en évidence d'effets sur la valeur de L* lors du stockage des muscles à température élevée pendant l'installation de la *rigor mortis*.

Plusieurs auteurs observent aussi une relation entre la valeur de L* et une valeur anormalement basse du pHu dans les viandes de volailles. Ainsi, quand des dindes sont placées en conditions de stress thermique aigu juste avant l'abattage, les valeurs de L* de la viande ne diffèrent pas (dinde : Northcutt, 1994 ; Owens *et al.*, 2000b), sont supérieures (dinde : Froning *et al.*, 1978) ou encore, sont inférieures (poulet : Soares *et al.*, 2003) chez les animaux stressés par rapport aux animaux non stressés. L'effet de l'origine génétique des animaux sur la valeur de L* est aussi observé par Le Bihan-Duval *et al.* (2001). Ces auteurs montrent cependant une faible valeur de corrélation entre la valeur de L* et la vitesse de croissance ($r = 0,16$, $P < 0,05$). Lorsque des dindes sont sélectionnées en fonction de la valeur du pH précoce (15 min ou 20 min *post mortem*), Pietrzak *et al.* (1997) et Fernandez *et al.* (2001) mettent en évidence des valeurs de L* plus élevées pour la viande issue de dindes GR par rapport à celle issue de dindes GN. Au contraire, Rathgeber *et al.*

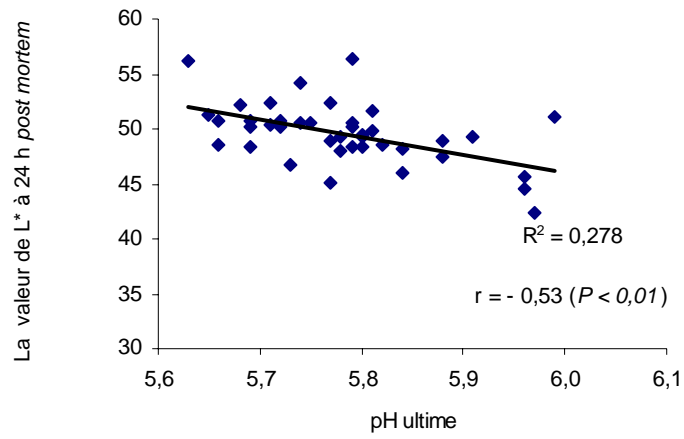


FIGURE 43. Corrélation de Pearson entre la valeur de L* et la valeur du pH ultime de l'ensemble des viandes des groupes GR et GN à 24 h *post mortem*.

(1999a), Hahn *et al.* (2002) et Molette *et al.* (2005) ne rapportent pas de différences de valeurs de L^* entre des viandes de dindes GR ou GN.

Dans notre étude, nous ne mettons pas en évidence de différence de valeurs de L^* (situées autour de 50) entre les viandes des groupes GR et GN. Par contre, nous trouvons une corrélation négative entre la valeur de L^* et la valeur du pHu ($r = -0,53$, $P < 0,01$) (**FIGURE 43**) ce qui est bien en accord avec les résultats rapportés dans des études précédentes (Barbut (1993), $r = -0,71$, $P < 0,01$; McCurdy *et al.* (1996), $r = -0,62$, $P < 0,05$ et Fletcher (1999), $r = -0,64$, $P < 0,001$). On pourrait donc dans notre étude, comme dans certaines citées plus haut, confondre l'effet vitesse et l'effet amplitude de chute du pH mais ce ne sera pas notre cas puisque nos valeurs de pHu sont identiques dans les deux groupes.

Les valeurs de a^* (indice de rouge) obtenues ici sont plus élevées dans la viande du groupe GR que dans celle du groupe GN. Ce résultat est en accord avec d'autres études sur la viande PSE (dinde : Rathgeber *et al.*, 1999a ; Hahn *et al.*, 2002 ; Fernandez *et al.*, 2002 ; Molette *et al.*, 2005 et porc : Joo *et al.*, 1999). Une des explications possibles pourrait être que les pertes en eau sont plus importantes dans le cas des viandes du groupe GR et, en supposant que la quantité initiale de myoglobine est la même dans les deux groupes, on assisterait donc à une augmentation de la concentration en myoglobine présente dans les viandes du groupe GR, donc à une plus forte valeur de l'indice de rouge. Cette hypothèse reste à vérifier notamment en dosant la concentration en myoglobine de la viande des deux types d'animaux. Une autre hypothèse pouvant expliquer la valeur plus élevée de l'indice a^* dans un groupe plutôt que dans l'autre pourrait résider dans une teneur plus grande en hémomyoglobine des muscles les plus rouges à cause d'un nombre plus élevé de battements d'ailes *ante mortem*. C'est ce que rapportent Ngoka et Froning (1982) et Début *et al.* (2003). Ces auteurs expliquent que les battements des ailes conduisent en effet à un afflux sanguin et à une accumulation d'hémoglobine dans le muscle *PM* et donc à une augmentation de la valeur de a^* de la viande. Début *et al.* (2003) rapportent alors une corrélation positive ($r = 0,30$, $P < 0,01$) entre la durée totale des battements des poulets, pendant l'accrochage et l'amenée au poste d'étourdissement, et la valeur de a^* du muscle *PM*. Malheureusement, étant en situation industrielle (cadence élevée de la chaîne d'abattage, peu d'accessibilité aux postes d'accrochage, taille importante du lot), nous n'avons pas pu enregistrer ce paramètre chez les GR et les GN afin de vérifier cette hypothèse.

Notons cependant, qu'à l'opposé, Pietrzak *et al.* (1997) ne trouvent pas de différence de valeurs de a^* dans le muscle *PM* entre des dindes GR et GN.

La valeur de b^* (indice de jaune) n'est généralement pas utilisée pour caractériser la viande PSE que ce soit chez le porc ou chez les volailles car elle n'est pas discriminante pour ce phénomène. Dans la viande, d'une manière générale, la valeur de b^* augmente fortement entre le jour de l'abattage et le 3^{ème} jour de conservation (Santé, 1993) à cause de l'oxydation des pigments carnés. Dans les résultats que nous obtenons, les valeurs de b^* ne sont pas différentes entre les viandes des groupes GR et GN pendant 9 jours de conservation. Par contre, les valeurs de b^* des groupes GR et GN augmentent bien pendant les 3 premiers jours de conservation (de 0,2 à 3,4). Cette augmentation doit être due à l'oxydation des substances colorantes du muscle.

Même si la couleur pâle est un des défauts originels des viandes PSE, ce critère de tri est assez controversé en particulier pour la viande de volailles. En effet, la simple prise en considération de la couleur ne semble pas être suffisante pour distinguer les viandes PSE des viandes normales chez les volailles (Molette *et al.*, 2002).

Un autre paramètre souvent utilisé pour distinguer les viandes PSE des viandes normales est un pouvoir de rétention en eau (PRE) dégradé dans les viandes PSE. Le PRE non seulement affecte la tendreté de la viande, qui est prise en compte par le consommateur dans son appréciation du produit, mais influence aussi les pertes au cours de la transformation de la viande ce qui est un facteur économique important pour les industriels. Ce PRE concerne essentiellement les pertes au cours de la conservation et de la cuisson. Dans de nombreux cas, les pertes à la décongélation et au cours de différents types de transformations peuvent aussi être concernées.

Chez les volailles, des différences de pertes en eau au ressuage (Hahn *et al.*, 2002) et à la cuisson (dinde : Froning *et al.*, 1978 ; McKee et Sams, 1998 ; poulet : Woelfel *et al.*, 2002) sont mises en évidence lors de la présence du syndrome PSE.

Dans notre étude, les pertes à la conservation des viandes GR sont plus élevées de 1% par rapport à celles des viandes GN. Par contre, aucune différence de pertes à la décongélation ainsi qu'à la cuisson n'est mise en évidence entre nos deux groupes de viande.

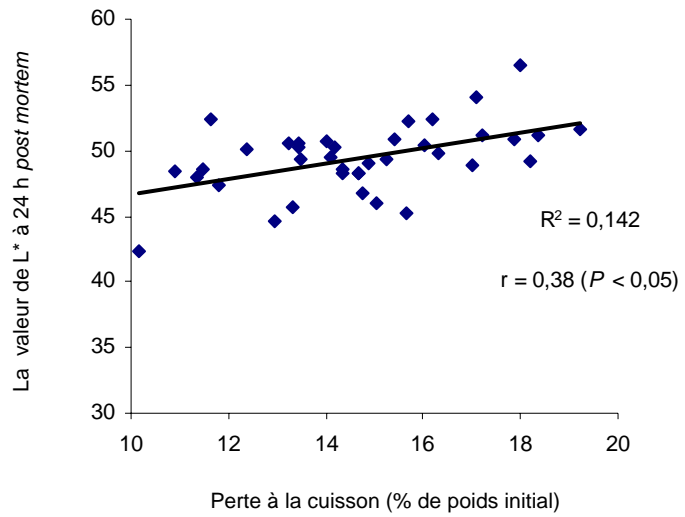


FIGURE 44. Corrélation de Pearson entre la valeur de L* et les pertes à la cuisson de l'ensemble des viandes des groupes GR et GN à 24 h *post mortem*.

Nous trouvons également que la viande du groupe GR présente une aptitude à la transformation en pâte fine et un rendement de saumurage – cuisson (NAPOLE) plus faibles que ceux du groupe GN. (écarts de 3,5% et 2,8%, respectivement). Ces aptitudes inférieures des viandes du groupe GR sont en accord avec les résultats observés par Pietrzak *et al.* (1997), Rathgeber *et al.* (1999a), Fernandez *et al.* (2001) et Molette *et al.* (2005) chez la dinde et par Van Laack *et al.* (2000) chez le poulet. Tous ces auteurs notent que les rendements obtenus sont toujours plus faibles dans le cas des animaux présentant un défaut de type PSE par rapport aux témoins.

Nous rapportons une différence de PRE entre les viandes des groupes GR et GN alors que les valeurs de L* (autour 50) sont similaires entre les deux groupes. Toutefois, une corrélation positive entre la valeur de L* et les pertes à la cuisson ($r = 0,38$, $P < 0,05$, **FIGURE 44**) peut être mise en évidence. Ce résultat est en accord avec ceux de Barbut (1993, $r = 0,87$, $P < 0,01$).

Le PRE plus faible des viandes PSE est généralement considéré comme étant le résultat de la combinaison bas pH – température élevée qui conduit à la dénaturation des protéines musculaires (Joo *et al.*, 1999 ; Alvarado et Sams, 2004 ; Barbut *et al.*, 2008). Dans une étude réalisée chez le porc, Offer (1991) démontre que les têtes de myosine se rétrécissent de 19 nm à 17 nm à la suite d'une exposition à un bas pH dans le muscle et à une température élevée de la carcasse. La diminution de 2 nm des têtes de myosine semble suffisante pour rapprocher les filaments fins et épais les uns des autres. En conséquence, l'eau normalement présente entre ces filaments est évacuée au niveau des espaces extracellulaires ce qui conduit à une augmentation de la quantité d'eau finalement exsudée.

Parmi les qualités organoleptiques de la viande, la tendreté est souvent considérée comme étant le critère le plus important pour le consommateur (Gerelt *et al.*, 2002).

Dans notre étude, la perte en eau plus élevée du groupe GR pourrait être à l'origine d'une diminution de la tendreté de la viande cuite avec une force maximale de cisaillement (+32%) et un travail mécanique (+45%) plus importants dans le cas des viandes du groupe GR. Ces résultats sont en accord avec ceux de Froning *et al.* (1978), Barbut (1993) McKee and Sams (1998) et Molette *et al.* (2003) chez la dinde et ceux de Van der Wal *et al.* (1988) et Monin *et al.* (1999) chez le porc. Ces auteurs suggèrent aussi que la tendreté de la viande PSE est augmentée quand elle est crue

(d'où le caractère « Soft » de la viande), et est, au contraire, diminuée quand elle est cuite.

La texture peut aussi être appréciée sur des produits transformés comme les pâtes fines de viande du type « Knackies ». Dans le cas des viandes PSE, quelques études rapportent alors une plus faible cohésion de celles-ci : chez le porc, Camou et Sebranek (1991) mettent en évidence une moindre résistance au cours du test de compression lorsque ces pâtes fines sont fabriquées avec de la viande PSE. Chez la dinde, Rathgeber *et al.* (1999a) rapportent aussi une plus faible cohésion, indicateur de l'altération de la fonctionnalité des protéines, pour les pâtes fines de viandes issues de dindes GR. Au contraire, dans notre étude, nous ne pouvons pas mettre en évidence de différence des paramètres rhéologiques (la dureté, la cohésion, l'élasticité et le mâchement) pour des pâtes fines fabriquées à partir des viandes GR et GN. Par contre, on peut noter que le rendement de fabrication des pâtes fines est inférieur de 2,82% avec de la viande du groupe GR par rapport à celui du groupe GN ce qui peut avoir un impact non négligeable sur l'intérêt industriel de telles viandes.

En conclusion à cette partie de l'étude, on peut retenir que la viande des volailles présentant une chute rapide du pH ne montre pas toujours tous les caractères de qualité inférieure de la viande PSE : couleur pâle, texture molle et pouvoir de rétention en eau faible. Ainsi, le terme de PSE est-il, peut-être, abusif dans certains cas chez les volailles, et le terme de « PSE-like », par ailleurs utilisé par certains auteurs, semble alors plus approprié. C'est ce que nous ferons dans la suite de notre étude, car si la viande du groupe GR présente une chute rapide du pH *post mortem*, elle n'a pas tous les défauts caractéristiques des viandes PSE notamment chez le porc.

Après avoir vérifié que nos deux groupes d'animaux avaient bien des défauts de qualité de viande imputables à la seule accélération de la chute du pH, nous allons maintenant nous intéresser aux éventuelles origines physico-chimiques de ces défauts c'est-à-dire aux possibles modifications du protéome musculaire.

2. Paramètres biochimiques et protéomiques

En plus des propriétés technologiques et sensorielles, nous avons aussi étudié les propriétés biochimiques et protéomiques du muscle *PM* des viandes des groupes GR et GN. Plusieurs méthodes telles que l'extractabilité des protéines, la séparation des protéines par électrophorèse mono- ou bidimensionnelle, la quantification relative de protéines d'intérêt par la technique de Western Blot ainsi que des mesures de paramètres enzymatiques et métaboliques ont été utilisées.

L'extractabilité des protéines est un bon indicateur de l'altération des protéines musculaires (Van Laack *et al.*, 2000). Pour autant, la comparaison absolue des résultats d'extractabilité pour les protéines sarcoplasmiques et/ou myofibrillaires reste difficile entre les différentes études. En effet, les protocoles diffèrent largement d'une étude à l'autre, notamment vis-à-vis de la force ionique des tampons utilisés, des temps d'extraction et de centrifugation ou bien de la méthode de dosage des protéines. Ainsi, ici, nous ne comparerons que les tendances d'évolution intra-étude.

Plusieurs auteurs rapportent que la viande de type PSE-like présente une extractabilité des protéines musculaires plus faible tant au niveau sarcoplasmique (similaire à notre fraction LIS) qu'au niveau myofibrillaire (similaire à notre fraction HIS) (porc : Bendall et Wismer-Pedersen, 1962 ; Sayre et Briskey, 1963 ; Boles *et al.*, 1992 ; Warner *et al.*, 1997 ; Joo *et al.*, 1999 ; Wilson et Van Laack, 1999 ; Kuo et Chu, 2003 ; dinde : Santé *et al.*, 1995 ; Rathgeber *et al.*, 1999a ; Molette *et al.*, 2003).

Dans notre étude, l'extractabilité des protéines a été mesurée à 20 min et à 24 h *post mortem*. La viande du groupe GR a une extractabilité plus faible que celle du groupe GN à 20 min *post mortem* pour les fractions HIS et Culot, ainsi qu'à 24 h *post mortem* pour les fractions LIS et HIS. Cette diminution de la solubilité des protéines peut être un résultat de la combinaison d'un bas pH et d'une température élevée qui altérerait la structure des protéines et conduirait ainsi à la modification de la solubilité des protéines de la viande du groupe GR (Gil *et al.*, 1998). Toutefois, Ma et Addis (1973) ne trouvent pas de différence d'extractabilité des protéines entre des muscles de dindes de type GR et GN. Au contraire, Rathgeber *et al.* (1999a) rapportent aussi une diminution de l'extractabilité des protéines sarcoplasmiques et myofibrillaires pour la viande de dinde PSE-like à 15 min *post mortem*. Nos résultats obtenus à 24 h

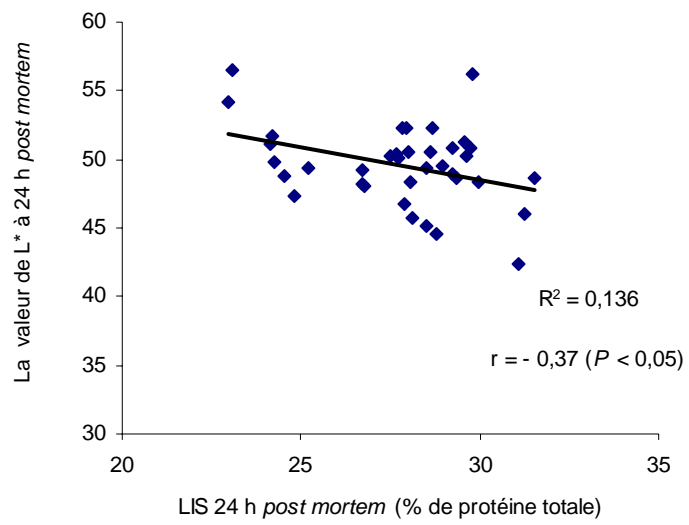


FIGURE 45. Corrélation de Pearson entre la valeur de L* et la quantité de protéines sarcoplasmiques (fraction LIS) de l'ensemble des viandes des groupes GR et GN à 24 h *post mortem*.

post mortem sont également en accord avec ceux de Rathgeber *et al.* (1999a). Chez le porc aussi, Boles *et al.* (1992), Warner *et al.* (1997) et Joo *et al.* (1999) obtiennent les mêmes résultats avec de la viande PSE.

Nous observons également que les extractabilités des protéines sarcoplasmiques et myofibrillaires à 24 h *post mortem* sont supérieures à celles obtenues à 20 min *post mortem*. Cette augmentation peut être un résultat issu du début de la maturation de la viande lorsque des enzymes endogènes, en particulier les protéinases, provoquent l'altération des fibres musculaires (Kijowski, 2001). Dans la viande de porc, Gils *et al.* (1998) rapportent ainsi une augmentation progressive de l'extractabilité des protéines myofibrillaires pendant 4 jours de conservation. Au contraire, Ryu *et al.* (2005) démontrent que les extractabilités des protéines sarcoplasmiques et myofibrillaires de la viande de porc diminuent au cours de la conservation. Il semble donc difficile de trancher même si la théorie prédit que de petits peptides (issus de la dégradation des protéines) seront plus facilement extractibles que de gros fragments protéiques. Selon les résultats d'extractabilité obtenus, nous pourrions néanmoins conclure que la maturation des viandes du groupe GR semble plus lente à démarrer que celle des viandes du groupe GN.

La dénaturation des protéines sarcoplasmiques (Bendell and Wismer-Pedersen, 1962 ; Lawrie, 1998 ; Van Laack *et al.*, 2000 ; Alvarado et Sams, 2004) affecte également la couleur des viandes. Il est ainsi admis que la valeur de L* plus élevée dans le cas des viandes PSE-like est le résultat de la dénaturation des protéines sarcoplasmiques (Bendell and Wismer-Pedersen, 1962 ; Alvarado et Sams, 2004). Cette dénaturation des protéines conduit alors à l'augmentation de la diffusion de la lumière (light scattering) donc à une couleur plus pâle de la viande PSE-like (Lawrie, 1998). Dans notre étude aussi, une corrélation négative ($r = -0,37$, $P < 0,05$) existe entre la valeur de L* et l'extractabilité des protéines sarcoplasmiques (fraction LIS) à 24 h *post mortem* (**FIGURE 45**). Ce résultat est également en accord avec ceux de Joo *et al.*, 1999 ($r = -0,84$, $P < 0,001$).

L'extractabilité met seulement en évidence des différences de quantité de protéines présentes dans chaque tampon mais elle ne renseigne en rien sur la nature des protéines présentes ou absentes. Par le profil SDS-PAGE et par la technique du Western Blot, nous avons essayé d'identifier et de quantifier certaines protéines extraites des viandes des groupes GR et GN à 20 min et 24 h *post mortem*.

Les profils SDS-PAGE des protéines extraites avec les différents tampons à 20 min *post mortem* sont globalement similaires entre les muscles du groupe GR et du groupe GN ce qui pourrait signifier qu'aucun effet majeur sur le protéome ne s'est encore développé à ce stade. Au contraire, à 24 h *post mortem*, des différences de profil SDS-PAGE sont bien marquées particulièrement dans la fraction HIS des muscles du groupe GR. Nous observons alors une importante hétérogénéité puisque 4 animaux, parmi les 20 du groupe GR, présentent des intensités des bandes d'actine et de chaîne lourde de la myosine plus faibles (l'identification précise des protéines a été faite par spectrométrie de masse). Cette hétérogénéité d'intensité dans les muscles du groupe GR pourrait provenir d'une réponse différente des protéines musculaires à l'augmentation de la vitesse de chute du pH parmi les muscles du groupe GR ce qui entraînerait une plus ou moins grande « libération » des protéines myofibrillaires majoritaires que sont l'actine et la myosine.

Lametsch *et al.* (2003) suggèrent aussi que l'extractabilité des protéines plus élevée à 24 h qu'à 20 min *post mortem* peut être causée par la dégradation *post mortem* de l'actine et de la chaîne lourde de la myosine. Dans notre cas, ces différences de dégradation paraissent très évidentes pour un quart des animaux GR. On s'interrogera plus loin sur les caractères spécifiques de ce sous-groupe GR.

Pour aller plus loin dans l'analyse, nous avons essayé de déterminer les quantités relatives d'actine et de chaîne lourde de la myosine des viandes des groupes GR et GN par la technique du Western Blot. Ces analyses confirment bien les résultats annoncés par SDS-PAGE puisque les valeurs relevées sont plus élevées à 24 h qu'à 20 min *post mortem*.

Rathgeber *et al.* (1999b) notent que, parmi les protéines sarcoplasmiques et myofibrillaires, la chaîne lourde de la myosine est la protéine la plus influencée par une variation de la vitesse de glycolyse. Pietrzak *et al.* (1997) trouvent également une moindre solubilité de la chaîne lourde de la myosine dans le muscle *PM* de dinde PSE-like par rapport à celle de dindes normales.

Dans notre étude, nous ne mettons pas en évidence de différence de quantité relative de la chaîne lourde de la myosine entre les groupes GR et GN. Par contre, nous trouvons que la viande du groupe GR présente une quantité relative d'actine plus faible que celle du groupe GN à 24 h *post mortem*.

Les extractibilités inférieures des protéines du groupe GR seraient donc le résultat de la combinaison bas pH - température élevée conduisant à la dégradation

des protéines musculaires. Au contraire, une augmentation de l'extractabilité des protéines avec le temps semble plutôt due au phénomène de maturation de la viande (Kijowski, 2001).

Selon les profils SDS-PAGE des protéines myofibrillaires à 24 h *post mortem*, nous trouvons que le groupe GR est moins homogène que le groupe GN. En effet, quatre des vingt animaux du groupe GR (20 %) ont une réponse SDS-PAGE différente du reste du groupe. Cependant, pour des facilités de raisonnement, nous allons continuer à discuter du groupe GR (20 animaux) dans son ensemble et les caractéristiques et propriétés des viandes de ces 4 animaux du groupe GR seront développées plus tard.

La chute du pH plus rapide dans les viandes du groupe GR est bien la conséquence d'une accélération de la glycolyse. Dans le système musculaire vivant, la voie de la glycolyse anaérobie génère de l'énergie par dégradation du glycogène (principale source d'énergie en réserve dans les muscles) en acide lactique. En présence d'oxygène, l'acide lactique peut ensuite être converti en pyruvate qui alimentera ensuite le cycle de Krebs. Par contre, après la saignée, il n'y a plus d'oxygène et une accumulation d'acide lactique a alors lieu. Nous avons donc mesuré les teneurs en acide lactique, en glycogène et en ses métabolites dans les viandes des groupes GR et GN à 20 min et 24 h *post mortem*. La viande du groupe GR a une teneur en glycogène à 20 min *post mortem* 2,5 fois plus faible que celle du groupe GN. Cette quantité inférieure traduit bien le fait que le glycogène est fortement consommé *post-mortem* chez les GR. L'accumulation d'acide lactique est donc plus importante dans les viandes du groupe GR comme le montre les valeurs mesurées à 20 min *post mortem* (un écart de 22 $\mu\text{mol/g}$ entre GR et GN).

Ces résultats obtenus dans les viandes du groupe GR sont en accord avec ceux de Ryu *et al.* (2005) et Choe *et al.* (2008). Ces auteurs démontrent en effet que la viande de porcs ayant une faible valeur musculaire de pH précoce a une teneur en glycogène plus faible et une teneur en acide lactique plus élevée *post mortem*. Chez la dinde, Fernandez *et al.* (2001) trouvent aussi que la viande de dindes à croissance rapide a une teneur en glycogène à 20 min *post mortem* plus faible que celle des animaux à croissance lente. Par contre, les deux types d'animaux présentent des teneurs en acide lactique à 20 min *post mortem* similaires. El Rammouz *et al.* (2004a) rappellent que, chez les oiseaux comme chez les mammifères, la teneur en glycogène

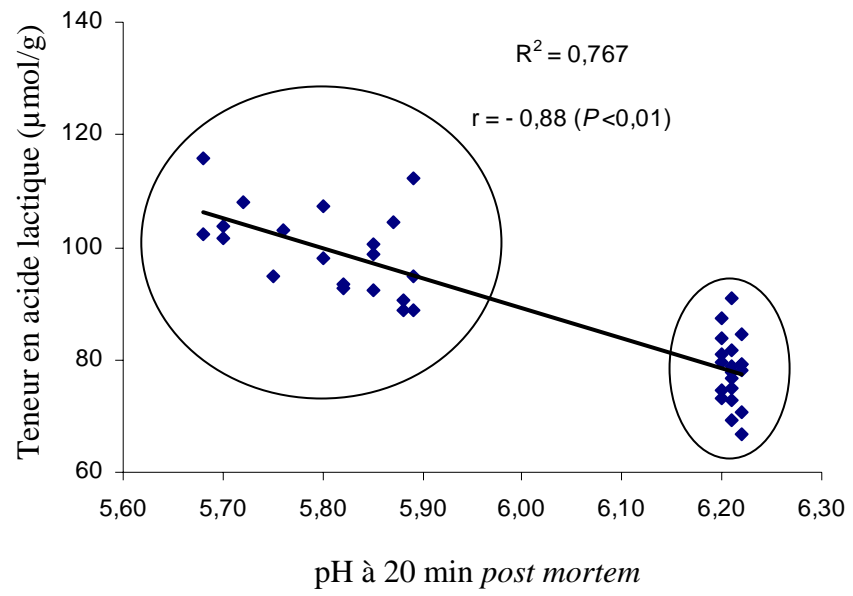


FIGURE 46. Corrélation entre la teneur en acide lactique à 20 min *post mortem* et la valeur du pH de l'ensemble des viandes des groupes GR et GN.

au moment de l'abattage est le facteur métabolique principal de la glycolyse anaérobie dans le muscle après la mort d'animal. Bendall (1973) suggère quant à lui, que chez les mammifères, la valeur du pHu du muscle dépend essentiellement de la teneur en glycogène au moment l'abattage. Warris *et al.* (1988 cité par El Rammouz *et al.*, 2004a) montrent aussi qu'une concentration basse en glycogène au moment de la mort conduit à une valeur de pHu plus élevée dans le muscle *PM* de dinde. La corrélation négative entre la teneur en glycogène au moment l'abattage et la valeur du pHu est également rapportée par El Rammouz *et al.* (2004a) chez le poulet à croissance lente ($r = -0,61, P < 0,01$) et par Henckel *et al.* (2002) chez le porc ($r = -0,88, P < 0,001$).

Cependant, il faut bien noter que la teneur en glycogène à 20 min *post mortem* ne reflète pas directement sa teneur *in vivo*. Le paramètre qui permet d'avoir l'idée la plus précise du niveau d'énergie en réserve dans les muscles *ante mortem* est le PG (Maribo *et al.*, 1999). Dans notre étude, l'égalité des PG à 20 min *post mortem* entre les viandes des groupes GR et GN démontre donc que les animaux avaient le même état de réserves musculaires à leur mise à mort. Les écarts de glycogène et des autres métabolites traduisent ensuite simplement une accélération plus ou moins forte du métabolisme énergétique *post mortem*.

Comme mentionné précédemment, l'accumulation d'acide lactique provoque une diminution de la valeur du pH *post mortem*. Dans notre étude, la forte corrélation négative entre la teneur en acide lactique et la valeur du pH est logiquement mise en évidence à 20 min *post mortem* ($r = -0,51, -0,88, P < 0,01$ pour la viande du groupe GR et l'ensemble des viandes des groupes GR et GN, respectivement, **FIGURE 46**). Nous trouvons aussi une corrélation négative entre la teneur en acide lactique à 24 h *post mortem* et la valeur du pHu ($r = -0,48, -0,73, \text{ et } -0,61, P < 0,01$ pour GR, GN et l'ensemble des viandes des deux groupes, respectivement). Il existe aussi une corrélation négative entre le PG à 20 min *post mortem* et la valeur du pHu ($r = -0,41, -0,63 \text{ et } -0,44, P < 0,01$ pour la viande du groupe GR, du groupe GN et l'ensemble des viandes des deux groupes, respectivement, **FIGURE 47**). Ce résultat est en accord avec celui d'El Rammouz *et al.* (2004b) qui démontrent que le PG du muscle pectoral du poulet est corrélé négativement avec la valeur du pHu ($r = -0,44, P < 0,01$). Par contre, chez le porc, Fernandez et Guéblez (1992) et Van Laack et Kauffman (1999) rapportent pour cette même corrélation des valeurs de r plus élevées (environ $-0,60$ et de $-0,80$, respectivement). La relation entre PG et amplitude de la chute du pH pourrait donc être différente chez les oiseaux et les mammifères et ceci pourrait être

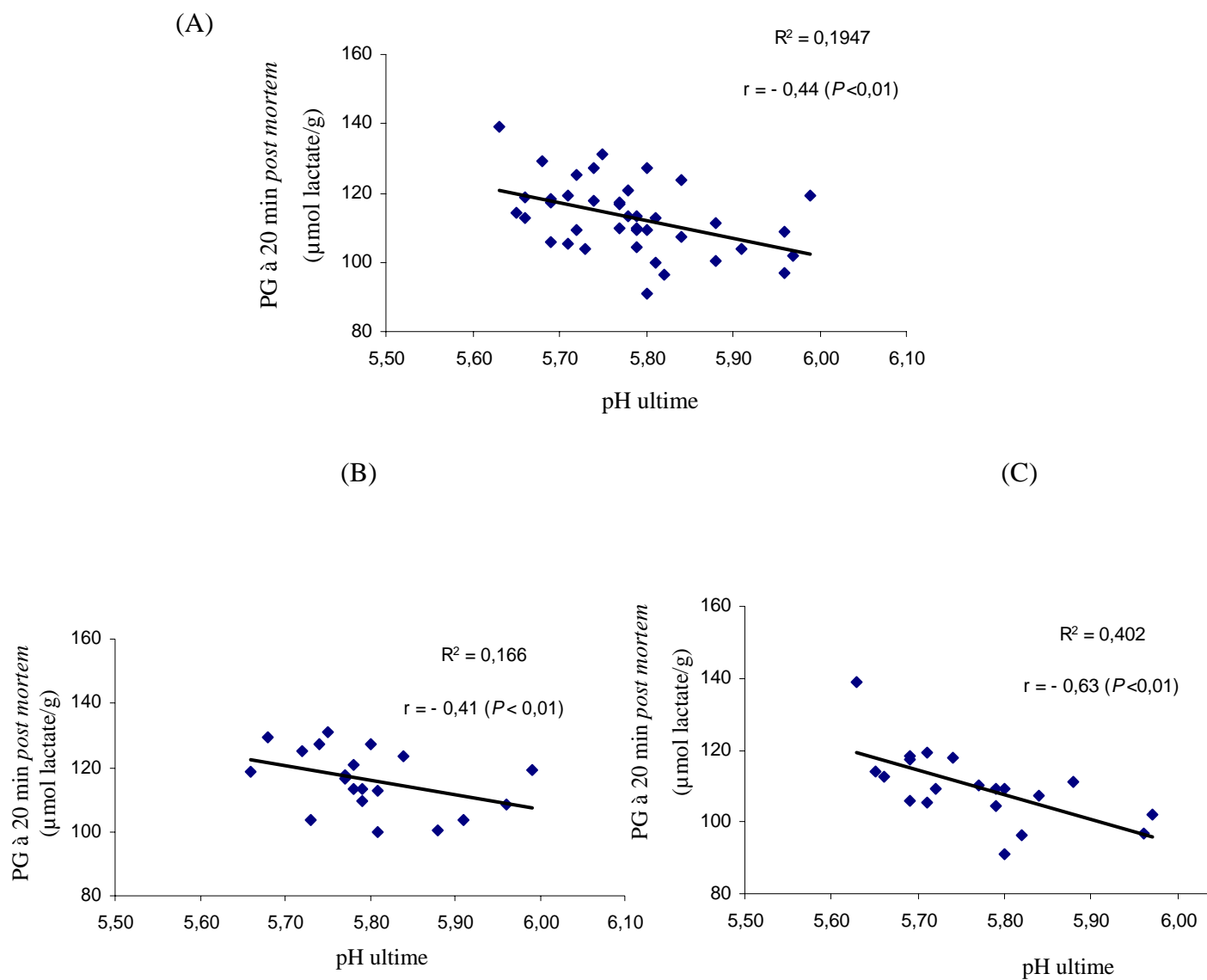


FIGURE 47. Corrélation entre le potentiel glycolytique (PG) calculé à 20 minutes *post mortem* et la valeur du pH ultime des muscles pectoraux de (A) l'ensemble des viandes des groupes GR et GN, (B) des viandes du groupe GR et (C) des viandes du groupe GN.

mis en liaison avec des modalités de régulation de la glycolyse *post mortem* différentes entre les deux types d'animaux.

La teneur en glycogène résiduel (glycogène à 24 h *post mortem*) affecte également la qualité de la viande. Monin et Sellier (1985) suggèrent qu'une basse valeur du pHu ainsi qu'une teneur en glycogène élevée pourraient conduire à une viande de porc avec une couleur pâle, un PRE et des qualités technologiques plus faibles. Chez le bovin, Immonen *et al.* (2000) rapportent aussi que la teneur en glycogène résiduel est corrélée négativement avec la valeur de a^* et de la force maximale de cisaillement des viandes, mais est corrélée positivement avec le PRE. De plus, El Rammouz *et al.* (2004b) trouvent une corrélation positive entre la teneur en glycogène résiduel et le rendement technologique NAPOLE des viandes de poulet. Par contre, ces auteurs ne peuvent pas mettre en évidence de corrélation négative entre la teneur en glycogène résiduel et la valeur de a^* des viandes.

Dans notre étude, nous trouvons une corrélation négative entre la teneur en glycogène résiduel et la valeur de a^* après 6 jours de la conservation des viandes ($r = -0,48$ et $-0,44$, $P < 0,01$ pour le 6^{ème} et le 9^{ème} jour de conservation, respectivement, **FIGURE 48**). Des corrélations négatives entre la teneur en glycogène et les pertes à la cuisson ($r = -0,40$, $P < 0,01$, **FIGURE 49A**) ainsi que la force de cisaillement ($r = -0,35$, $P < 0,05$, **FIGURE 49B**) sont aussi mises en évidence. Ce phénomène pourrait être directement lié aux propriétés de liaison de l'eau au glycogène. Olsson et Saltin (1970 cité par Immonen *et al.*, 2000) montrent en effet qu'une molécule de glycogène peut fixer jusqu'à 4 à 5 fois son poids en eau.

Puisque les animaux du groupe GR semblent avoir une accélération de la chute du pH *post mortem*, nous nous sommes intéressés aux propriétés de certaines de leurs enzymes de la glycolyse afin de savoir si ces paramètres pouvaient avoir une influence directe sur ce phénomène. Le choix de deux de ces enzymes (l'aldolase A et la GAPDH) repose sur leur prépondérance quantitative dans le muscle mais aussi sur les observations faites par Molette *et al.* en 2005. En effet, leurs observations montraient des différences de profil SDS-PAGE au niveau de ces deux enzymes lors de la comparaison de dindes GR et GN à 24 h *post-mortem*. Dans notre étude, nous nous sommes aussi intéressés à l'enzyme limitante de la vitesse de la glycolyse : la PFK (Constantinescu, 2005 ; Kohn *et al.*, 2005).

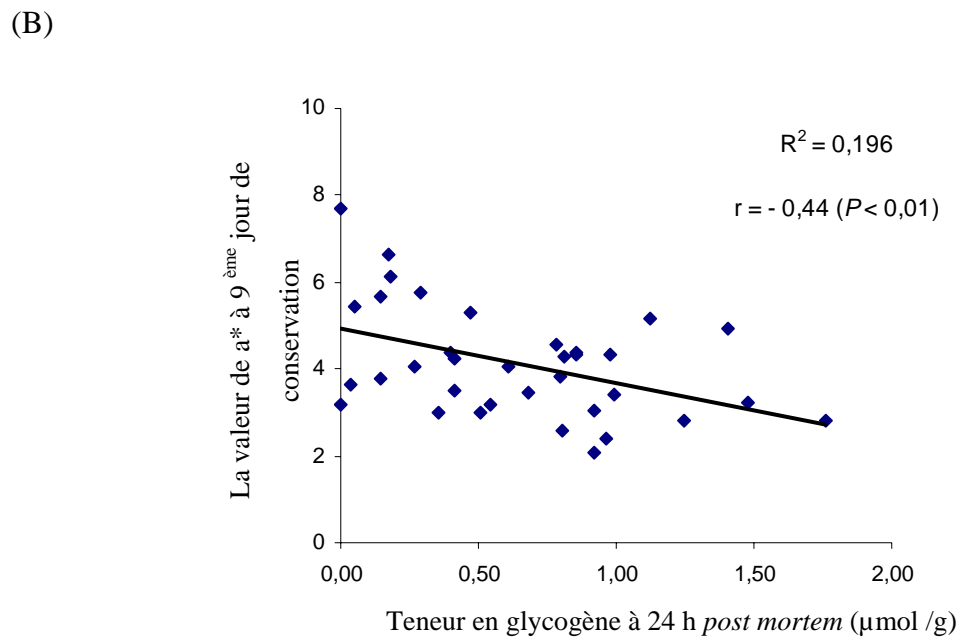
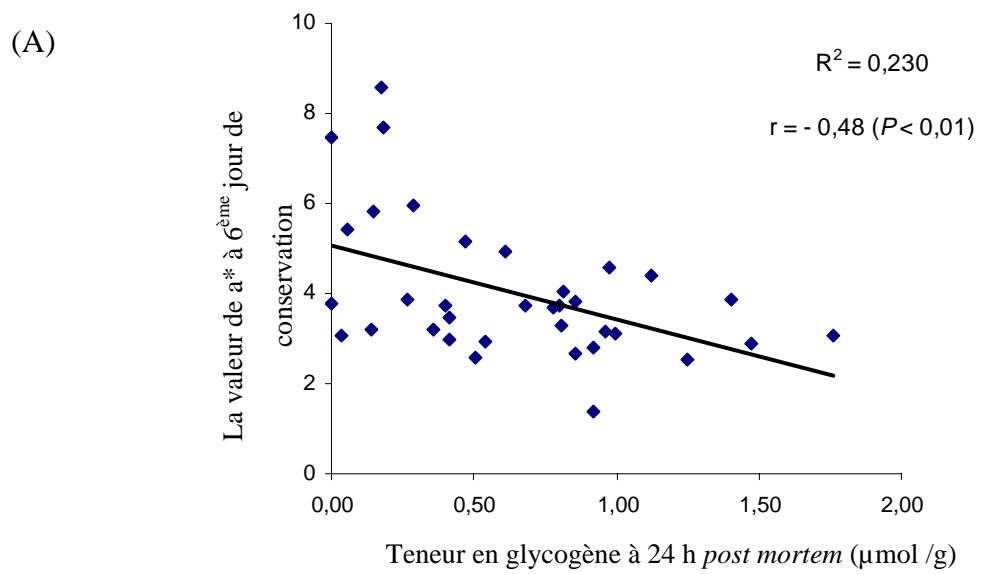
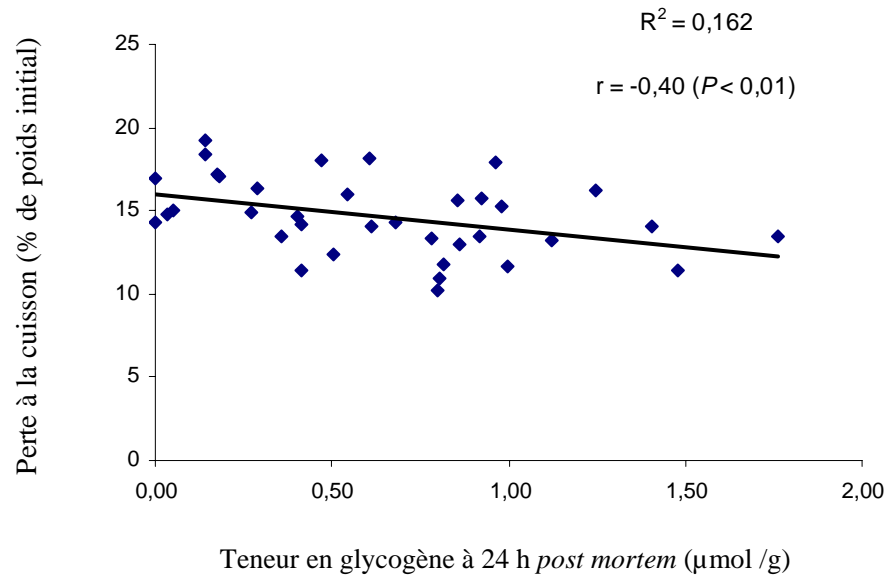


FIGURE 48. Corrélation de Pearson entre la teneur en glycogène à 24 h *post mortem* et la valeur de a^* (A) à 6 jours de conservation et (B) à 9 jours de conservation pour l'ensemble des viandes du groupe GR et du groupe GN.

(A)



(B)

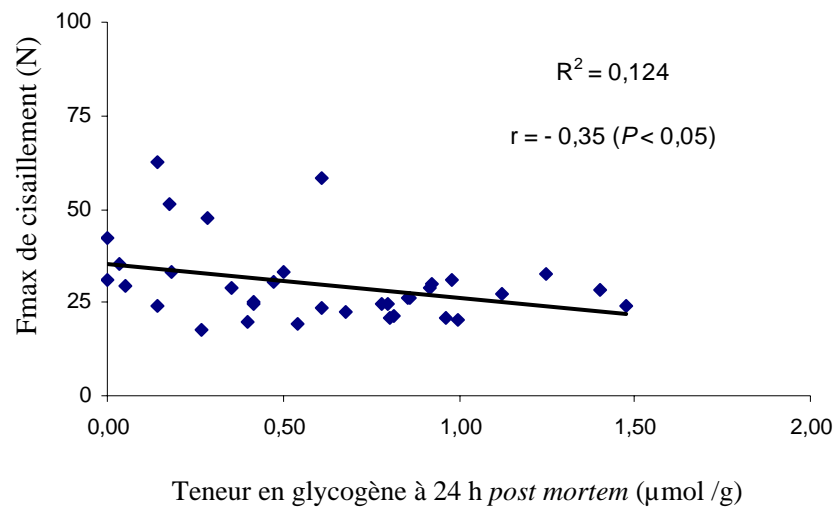


FIGURE 49. Corrélation de Pearson entre la teneur en glycogène à 24 h *post mortem* et (A) les pertes à la cuisson et (B) la force maximale de cisaillement de l'ensemble des viandes du groupe GR et du groupe GN.

Selon les possibilités matérielles et techniques disponibles, l'activité enzymatique ou spécifique, les valeurs de V_{max} et de K_m , la quantité d'enzyme et le niveau d'expression du gène codant pour ces enzymes ont été mesurés à 20 min *post mortem* afin de s'approcher au mieux des conditions *in vivo*.

Les activités spécifiques des enzymes, particulièrement celle de la PFK, sont plus faibles dans les viandes GR que celles dans les viandes GN. Aucune différence n'est mise en évidence sur les valeurs de V_{max} et de K_m entre les deux groupes de viande. L'absence de différence des valeurs de V_{max} et de K_m entre les deux groupes exclut donc des différences notables de conformation et/ou de structure entre les deux enzymes comme pouvaient le laisser supposer les résultats de Molette *et al.* (2005).

Par contre, les résultats d'activités relevés ici sont contraires à ceux que nous attendions car dans la viande du groupe GR, représentant la viande avec la vitesse de glycolyse la plus élevée (voir plus haut), les activités des enzymes glycolytiques pouvaient logiquement être supposées plus fortes que celles du groupe GN. Une des explications possible à ce phénomène pourrait être les conditions dans lesquelles opèrent ces enzymes *in vivo* (pH acide) et celle du test *in vitro* (pH neutre) car Yong *et al.* (2004) et Rhoades *et al.* (2005) suggèrent que les enzymes glycolytiques peuvent voir leur activité modifiée par la condition acide du muscle. Il faudrait donc maintenant essayer de faire d'autres mesures d'activités enzymatiques dans différentes conditions de pH afin de valider ou d'infirmer cette plus ou moins grande affection des enzymes des groupes GR et GN en fonction des conditions de milieu.

Allison *et al.* (2003) suggèrent également que l'activité de la PFK à 20 min *post mortem* de viande de porc est probablement diminuée par une chute rapide de pH. Dans notre étude, la diminution des activités des enzymes des viandes du groupe GR est donc aussi probablement due à une forte modification de ces protéines par la combinaison bas pH - température élevée ce qui conduirait ainsi à une altération de leur fonctionnalité. Et, même si la température musculaire, n'est pas différente entre la viande des groupes GR et GN ($T_{20min} = 42^{\circ}C$), nous pouvons aussi supposer que la viande du groupe GR est exposée à des conditions musculaires plus défavorables (bas pH - température élevée) plus longtemps que celles du groupe GN ce qui doit encore renforcer l'altération de la fonctionnalité de ses protéines (Offer, 1991). Une autre explication possible réside dans le fait que nous mesurons l'activité des enzymes à

partir d'échantillons prélevés à 20 min *post mortem*. Les enzymes sont donc retirées de leur milieu biologique et leur activité est mesurée en conditions contrôlées mais dénaturées (Allison *et al.*, 2003). Or plusieurs études ont indiqué que, dans le système vivant, la plupart des enzymes glycolytiques se lient avec l'actine et la MHC afin de former des complexes d'enzymes glycolytiques. Ces complexes montrent alors des propriétés cinétiques particulières liées à une capacité unique d'interagir avec d'autres enzymes ou avec l'actine (McGregor *et al.*, 1980 ; O'reilly et Clark, 1993 ; Rakus *et al.*, 2003 ; Dziewulska-Szwajkowska, *et al.* 2004). Ces conditions ne sont jamais réalisées dans nos tests *in vivo* et l'effet de protection de telle ou telle interaction enzymatique est complètement occulté. Il serait donc préférable, mais c'est techniquement beaucoup plus complexe, de faire des mesures d'activité enzymatique *in situ* afin de vérifier nos hypothèses.

Afin de compléter notre étude sur ces enzymes, nous avons cherché à évaluer leurs quantités relatives dans les muscles. La méthode que nous avons retenue est celle du Western Blot. Nous avons donc recherché des anticorps adéquats mais nous n'avons pas pu obtenir d'anticorps « croisant » chez la dinde pour la PFK et l'aldolase A malgré différentes tentatives. Ainsi, seules les quantités relatives de GAPDH ont pu être évaluées. Notre résultat ne montre alors pas de différence de la quantité relative de GAPDH entre les deux groupes. Puisque la quantité relative d'aldolase A ne pouvait être mesurée par Western Blot, nous en avons déterminé le niveau d'expression du gène par qRT-PCR. Les résultats obtenus ne mettent pas non plus en évidence de différence d'expression du gène codant pour l'aldolase A dans la viande des groupe GR et GN.

Les différences n'étant donc visiblement pas quantitatives, ces résultats confirmeraient aussi l'hypothèse selon laquelle les différences de vitesse de glycolyse observées entre les deux groupes d'animaux seraient dues au fait que certaines enzymes de la glycolyse seraient plus ou moins dénaturées au cours des premières minutes *post mortem* et ce probablement par une dégradation des conditions cellulaires (interactions protéines-protéines) favorables à leur fonctionnement optimal.

Nous avons également cherché à mettre en évidence les protéines qui permettent d'expliquer l'origine de l'accélération du métabolisme chez les animaux du groupe GR par électrophorèse bidimensionnelle et à l'aide de la spectrométrie de

masse. Nous trouvons que 7 spots de protéines ont une intensité différente entre les deux groupes d'animaux. Malheureusement, la plupart des spots ne peuvent pas être identifiés par spectrométrie de masse à cause d'une quantité de protéine insuffisante ou d'une base de données indisponible chez le poulet. Ce résultat est assez décevant mais s'explique en partie par la coloration choisie. En effet, le nitrate d'argent est une méthode de coloration sensible qui permet de mettre en évidence des protéines faiblement représentées dans le protéome. Le risque pris est donc de visualiser des différences qui ne concernent que des protéines mineures. Ainsi, dans notre étude, nous pouvons penser que l'origine de l'accélération de la chute du pH observée provient de la modification d'une ou plusieurs protéines minoritaires du muscle. Deux spots ont néanmoins été identifiés comme représentant la même protéine : la chaîne A de la transthyrétine ou préalbumine A). Compte tenu de leur localisation sur les gels, nous pouvons supposer soit que l'une est un fragment de l'autre soit qu'il s'agit de deux formes différentes de cette protéine.

Dans la littérature, la préalbumine A est une protéine se liant à la triiodothyronine (T_3) (Blake, 1981). Par ailleurs, elle est un biomarqueur de malnutrition chez l'homme (Beck *et al.*, 2002). Ces auteurs trouvent que la quantité de préalbumine A est inférieure en cas de malnutrition. Chez le porc, Campbell *et al.* (2005) indiquent que le stress et l'inflammation peuvent diminuer la quantité de préalbumine A. Ces auteurs suggèrent également que la préalbumine A peut être un marqueur de malnutrition chez le porc comme chez l'homme. Au contraire, Piñeiro *et al.* (2007) ne trouvent pas d'effet du stress sur la quantité de préalbumine A chez le porc. Du fait de la liaison entre préalbumine A et T_3 , une modification de l'activité de la thyroïde pourrait donc avoir des conséquences sur le fonctionnement du tissu musculaire. Ainsi, Chiang *et al.* (2008) trouvent que le stress thermique diminue la quantité d'hormone thyroïdienne chez la dinde. Ces auteurs suggèrent aussi que l'homéostasie du calcium musculaire peut être affectée par une quantité d'hormone thyroïdienne fluctuante chez les oiseaux à croissance rapide et, par conséquent peut conduire à une qualité de viande différente. Par ailleurs, Van der Geyten *et al.* (1999) montrent aussi que le jeûne peut diminuer la quantité d'hormone thyroïdienne chez le poulet et l'on sait par ailleurs que le jeûne est source de stress qui peut lui-même être à l'origine de phénomène d'accélération de la chute du pH *post mortem*.

TABLEAU 20. Contribution des cinq premiers axes de l'Analyse en Composantes Principales réalisée avec les variables biochimiques

Nomme	Fréquence	Pourcentage	Fréquence cumulée	Pourcent cumulé
Axe 1	6,628	27,62	6,628	27,62
Axe 2	4,541	18,92	11,169	46,54
Axe 3	2,688	11,20	13,857	57,74
Axe 4	2,170	9,04	16,028	66,78
Axe 5	1,677	6,99	17,705	73,77

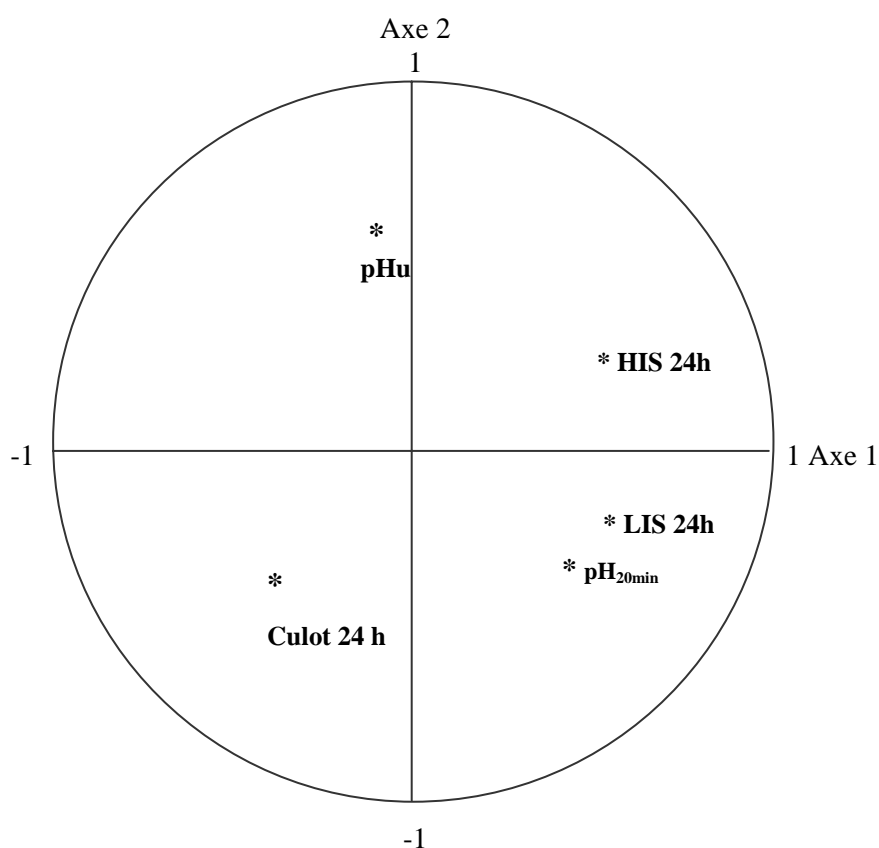


FIGURE 50. Représentation schématique des deux premiers axes de l'Analyse en Composantes Principales réalisée avec les extractabilités des protéines musculaires à 24 h *post mortem*.

Dans notre étude, la différence de quantité de préalbumine A pourrait donc être affectée par l'alimentation ou par le stress. Malheureusement, nous ne pouvons pas confirmer ces hypothèses. En ce qui concerne le statut alimentaire des animaux, une simple évaluation individuelle du poids vif aurait pu nous permettre de mettre en évidence des différences importantes entre les deux groupes de dindes. Malheureusement, à l'échelle industrielle, les données individuelles sur le poids vif ou l'état de remplissage du tractus digestif ne sont pas connues. Bien que la manipulation avant abattage et l'alimentation soient les mêmes pour les oiseaux des groupes GR et GN, le comportement de chaque individu ne peut pas être négligé et il est ainsi fort possible que certains animaux aient subi des stress (alimentaires ou pas) plus importants qui les conduisent à des dysfonctionnements du métabolisme de la préalbumine A.

Pour avoir une vue plus globale des paramètres mesurés, nous avons réalisé une analyse en composantes principales avec les variables biochimiques (variables explicatives = extractabilité des protéines, teneurs en glycogène et ses métabolites ainsi que les activités enzymatiques et leurs paramètres cinétiques) qui peuvent être liées à une vitesse différente de chute du pH dans la viande des groupes GR et GN. Nous trouvons alors que les deux axes principaux de discrimination contribuent seulement à environ 45% de la variance totale ($P < 0,05$) c'est-à-dire que ces variables n'arrivent pas à bien discriminer les viandes des groupes GR et GN (**TABLEAU 20**). Quand on prend en compte uniquement l'extractabilité des protéines, le pourcentage de discrimination est toutefois augmenté. Ce résultat confirme donc le rôle prépondérant de la structure native des protéines musculaires, particulièrement à 24 h *post mortem* quand les deux premiers axes de discrimination contribuent à 74% de la variance totale (**FIGURE 50**).

3. Hétérogénéité des viandes du groupe GR

Les résultats obtenus par électrophorèse SDS-PAGE à 24 h *post mortem* montrent que quatre des vingt animaux du groupe GR présentent un profil protéique différent des 16 autres. Ces animaux seront par la suite identifiés comme étant ceux du groupe AB.

TABLEAU 21. Paramètres technologiques et biochimiques des animaux GN (glycolyse normale), GR (glycolyse rapide), AB (4 animaux du groupe GR) et GR-AB.

	AB (n=4)	GR-AB (n=16)	GN (n=20)	GR (n=20)
pH 20	5,78 ± 0,12 ^a	5,81 ± 0,69 ^a	6,21 ± 0,01 ^{b, Y}	5,80 ± 0,07 ^X
pHu	5,79 ± 0,03 ^a	5,80 ± 0,09 ^a	5,77 ± 0,09 ^{a, X}	5,80 ± 0,08 ^X
Temp 20 min	43,05 ± 2,22 ^b	41,73 ± 0,91 ^{ab}	41,78 ± 0,66 ^{a, X}	42,06 ± 1,37 ^X
(A)	AB (n=4)	GR-AB (n=16)	GN (n=20)	GR (n=20)
Pertes à la cuisson	17,66 ± 1,24 ^b	14,36 ± 2,05 ^a	14,20 ± 2,17 ^{a, X}	15,05 ± 2,34 ^X
Rendement de saucisse	82,11 ± 1,34 ^a	88,95 ± 4,17 ^b	90,40 ± 3,14 ^{b, X}	87,58 ± 4,68 ^X
WB myosine 24 h	64,39 ± 24,25 ^a	100,84 ± 21,16 ^b	113,68 ± 37,87 ^{b, X}	93,17 ± 26,07 ^X
Valeur de L* 24 h	53,03 ± 2,89 ^b	49,43 ± 1,89 ^a	49,06 ± 2,92 ^{a, X}	50,14 ± 2,51 ^X
Rendement NAPOLE	93,32 ± 1,73 ^a	95,20 ± 4,91 ^a	98,29 ± 3,46 ^{b, Y}	94,82 ± 4,48 ^X
F max	43,48 ± 14,83 ^b	30,83 ± 11,04 ^b	24,96 ± 4,25 ^{a, X}	33,36 ± 12,57 ^Y
Energy	141,73 ± 73,39 ^b	92,62 ± 38,86 ^b	70,40 ± 14,75 ^{a, X}	102,44 ± 49,58 ^Y
(B)	AB (n=4)	GR-AB (n=16)	GN (n=20)	GR (n=20)
LIS 24 h	23,63 ± 0,69 ^a	27,00 ± 1,67 ^b	29,28 ± 1,13 ^{c, Y}	26,29 ± 2,05 ^X
WB actine 24 h	54,40 ± 25,63 ^a	98,62 ± 30,40 ^b	124,04 ± 32,11 ^{c, Y}	89,31 ± 34,23 ^X
Glycogène 20 min	1,79 ± 1,42 ^a	6,43 ± 3,48 ^b	14,06 ± 5,02 ^{c, Y}	5,51 ± 3,67 ^X
(C)	AB (n=4)	GR-AB (n=16)	GN (n=20)	GR (n=20)
Pertes à la conservation	6,18 ± 1,47 ^b	3,74 ± 1,06 ^a	3,21 ± 0,08 ^{a, X}	4,23 ± 1,45 ^Y
HIS 20 min	5,91 ± 1,03 ^a	7,02 ± 0,78 ^b	7,63 ± 1,17 ^{b, Y}	6,79 ± 1,00 ^X
HIS 24 h	5,38 ± 0,95 ^a	16,63 ± 4,45 ^b	18,16 ± 4,67 ^{b, Y}	14,36 ± 6,00 ^X

(A) le groupe AB présente des valeurs extrêmes par rapport à GR-AB et GN

(B) les trois groupes AB, GR-AB et GN présentent des valeurs différentes

(C) le groupe AB contribue à l'obtention de différences significatives entre GR et GN

^{a,b,c} Les lettres différentes en exposant indiquent un écart significatif ($P < 0,05$) entre les groupes AB, GR-AB et GN.

^{X,Y} Les lettres différentes en exposant indiquent un écart significatif ($P < 0,05$) entre les groupes GR et GN.

Nous avons cherché à comparer les qualités des viandes et les propriétés des protéines des animaux des groupes AB, GR-AB et GN. Si nous trouvons que les résultats du groupe AB suivent la même tendance que ceux du groupe GR-AB, la viande du groupe AB présente néanmoins des résultats plus maximisés (**TABLEAU 21A**). Ainsi, l'extractabilité des protéines sarcoplasmiques (fraction LIS), la quantité relative d'actine à 24 h *post mortem* ainsi que la teneur en glycogène à 20 min *post mortem* sont différentes entre les trois groupes AB, GR-AB et GN (**TABLEAU 21B**). D'autres variables sont affectées par ce nouveau regroupement des animaux comme les pertes à la conservation ainsi que les extractibilités des protéines myofibrillaires (fraction HIS) à 20 min et à 24 h *post mortem* (**TABLEAU 21C**).

Ces valeurs étaient également décrites initialement (voir plus haut) comme différentes entre les groupes GR et GN. Par contre, elles n'existent plus si on compare les groupes GR-AB et GN. Ainsi, ce seraient, les valeurs obtenues par les viandes du groupe AB qui feraient les valeurs moyennes du groupe GR et donneraient donc des résultats statistiques partiellement « biaisés ».

TABLEAU 22. Les résultats obtenus après analyse par le spectromètre de masse des spots différenciellement exprimés entre les groupes GR et AB

Spots sur exprimés dans le groupe AB										
Nom de spot	Ratio de volume/intensité	Base de données	Taxonomie	Référence de la séquence	Nom de la protéine	Score Mascot	Taux de recouvrement	Nombre de peptides alignés	PM (kDa)	pI
238	+2,06	Phasianidae	<i>Gallus gallus</i>	gi/82082619	Phosphoglycérate mutase 1 (BPG-dépendent PGAM 1)	66	24%	5	28 880	7,03
257		Non identifié ¹	-	-	-	-	-	-	-	-
Spots sur exprimés dans le groupe GR										
32		Non identifié ¹	-	-	-	-	-	-	-	-
92	-1,12	Phasianidae	<i>Gallus gallus</i>	gi/45382717	Histidine triad nucleotide binding protein 1	64	60%	8	13 750	6,28
284	-1,02	Phasianidae	<i>Gallus gallus</i>	gi/57529899	Protéasome (sous unité, alpha type 3)	63	26%	8	28 463	4,93
414	-1,28	Phasianidae	<i>Gallus gallus</i>	gi/118110988	Protein hypothétique	80	33%	9	33 202	5,66

¹ Non identifié à cause d'une basse de donner indisponible chez le poulet

Malheureusement, nous ne disposons pas à l'heure actuelle de moyens pour repérer facilement ces individus AB parmi les GR mais nous mettons ainsi en évidence que l'hétérogénéité des animaux GR reste un facteur primordial. Dans notre cas, des individus représentant seulement 20% de population (= le groupe AB) peuvent affecter significativement la valeur moyenne de quelques paramètres du groupe GR. Même si cette proportion reste faible, elle soulève le problème de l'intensité des conséquences d'une plus ou moins grande affection des propriétés de la viande en cas d'accélération plus ou moins forte, ou plus ou moins durable, par exemples, de la vitesse de la glycolyse musculaire *post mortem*. En effet si quelques auteurs se sont risqués à proposer des valeurs de combinaisons de pH précoces et de températures pour expliquer l'origine du syndrome PSE, aucun ne prend en compte le caractère dynamique de cette relation, or la persistance plus ou moins longue de certains de ces couples pourrait, peut être, à elle seule expliquer le caractère plus ou moins profond du développement de telles affections. On a ainsi jamais mesuré précisément (et sur une plus ou moins longue période) le triplet (temps *post mortem*, pH et température) or c'est peut-être lui le critère le plus déterminant. Est-il plus dommageable pour les protéines de subir des conditions de température entre 35 et 40°C avec un pH variant de 6,2 à 5,8 pendant 35 min, plutôt que ces mêmes conditions pendant 15 min ou même une température de 42 à 32 °C avec un pH variant de 6,5 à 6,0 en 30 ou 45 min ? On ne le sait pas aujourd'hui mais on voit qu'il y a là de multiples combinaisons possibles et des notions de seuil d'efficacité des conditions dénaturantes qui n'ont pour l'instant, à notre connaissance, jamais été abordées mais qui mériteraient sûrement de l'être.

Nous avons aussi cherché à mettre en évidence les protéines expliquant les différences observées entre les groupes AB et GR par électrophorèse bidimensionnelle et à l'aide de la spectrométrie de masse. Nous trouvons qu'il y a 20 spots de protéines différentiellement exprimés entre les deux groupes. Pour 14 de ces spots les quantités de protéine présentes étaient insuffisantes pour permettre une identification certaine des protéines. Parmi les 6 autres, 2 ne peuvent pas non plus être identifiés car il n'y a pas d'homologie de séquence suffisamment importante pour permettre l'identification à partir de la base de données disponible chez le poulet (**TABLEAU 22**). Les quatre spots différents entre les groupes AB et GR finalement identifiés sont la phosphoglycérate mutase, la sous-unité $\alpha 3$ du protéasome, l'histidine triad nucleotide binding protein 1 (ou protein kinase C inhibitor 1) et une protéine hypothétique.

Dans la littérature, la phosphoglycérate mutase (EC 5.4.2.1) (PGAM) est une enzyme glycolytique. Elle catalyse une réaction réversible de conversion de 3-phosphoglycérate en 2-phosphoglycérate. Dans une étude chez le bovin, Clarke *et al.* (1980) trouvent que la stimulation électrique conduit à une accumulation des enzymes glycolytiques y compris la PGAM sur l'actine. Chez le porc, Qiu *et al.* (2008) récemment suggèrent que l'expression de l'ARNm de la PGAM affecte le développement du muscle. En effet, dans cette espèce, le gène codant pour la PGAM se trouve dans une région de QTL contrôlant le pourcentage de viande maigre, de tissu adipeux et le diamètre des fibres musculaires (Qiu *et al.*, 2008). Dans notre étude, cette enzyme est surexprimée dans le groupe AB.

Le protéasome est un complexe de protéases qui jouent un rôle de dégradation des protéines musculaires et qui par conséquent pourrait affecter la tendreté de la viande (Otsuka *et al.*, 1998 ; Robert *et al.*, 1999 ; Houbak *et al.*, 2008).

CONCLUSIONS et PERSPECTIVES

VI. Conclusions et Perspectives

Les objectifs de ce travail étaient d'étudier quelques enzymes glycolytiques qui pourraient être importantes dans le déterminisme de la vitesse de chute du pH chez les volailles mais aussi d'identifier d'autres différences au niveau du protéome en fonction de cette même vitesse de chute du pH.

Pour réaliser ces objectifs, deux groupes de muscles à vitesses de glycolyse différentes sont triés selon la valeur de $\text{pH}_{20\text{min}}$ du muscle *PM*. Ensuite, les propriétés des protéines musculaires ont été étudiées sur le plan biochimique et protéomique dans ces deux groupes de viande. Après le tri des viandes, celles avec une valeur basse du $\text{pH}_{20\text{min}}$ ($5,80 \pm 0,07$) sont considérées comme la viande à glycolyse rapide (GR, $n = 20$) et les viandes avec une valeur normale du $\text{pH}_{20\text{min}}$ ($6,21 \pm 0,01$) sont dites viande à glycolyse normale (GN, $n=20$). Ce tri réalisé sur la vitesse de glycolyse des muscles du groupe GR est aussi en accord avec les mesures de potentiel glycolytique.

Nous trouvons ainsi que la viande du groupe GR a des pertes à la conservation plus élevées, des rendements de transformation ainsi qu'une tendreté plus faibles que la viande du groupe GN. Par contre, la valeur de L^* , qui est souvent utilisée pour discriminer les viandes de type PSE n'est pas différente entre la viande des groupes GR et GN. Nous proposons donc de parler de viande PSE-Like chez les volailles plutôt de véritable viande PSE.

Nous trouvons aussi qu'à 20 min *post mortem*, la viande du groupe GR a des extractabilités des protéines myofibrillaires et cytosquelettiques plus faibles que la viande du groupe GN. Le faible PRE et les faibles extractabilités des protéines des viandes du groupe GR peuvent être un résultat de la combinaison bas pH – température élevée menant à une altération des propriétés des protéines musculaires.

Nos expériences ont également confirmé que l'accélération de la chute du pH *post mortem* conduit à une dégradation de l'actine et de la chaîne lourde de la myosine.

Bien que la viande du groupe GR représente la viande à glycolyse rapide, nous ne trouvons pas de différence de quantité relative de GAPDH, des paramètres cinétiques de l'aldolase A et de la GAPDH ainsi que de l'expression du gène codant pour l'aldolase A entre des viandes des groupes GR et GN. Au contraire, les activités

spécifiques de quelques enzymes glycolytiques (la PFK, l'aldolase A, la GAPDH) des viandes du groupe GR sont plus faibles que ceux du groupe GN.

Ces résultats enzymatiques confortent l'hypothèse selon laquelle les différences de vitesse de glycolyse observées entre les deux groupes d'animaux conduiraient à une dénaturation de certaines enzymes au cours des premières minutes *post mortem*. Par contre, les différences de vitesses de glycolyse ne semblent pas être expliquées par des modifications des enzymes de cette voie métabolique. On peut alors évoquer la fait qu'une vitesse différente de chute du pH pourrait être causée par d'autres facteurs tels que des besoins musculaires en ATP différents et/ou des cofacteurs de glycolyse qui activeraient plus ou moins la voie de la glycolyse.

Au cours de cette étude, nous mettons aussi en évidence une certaine hétérogénéité des animaux GR par la présence du sous-groupe AB qui est différent du reste des GR. Nous trouvons en effet que 20% des animaux du groupe GR présentent quelques résultats plus extrêmes. Ces résultats peuvent affecter la valeur moyenne de certains paramètres du groupe GR et par conséquent conduire à des résultats statistiques biaisés.

Cette hétérogénéité des animaux dans le cas d'une même vitesse de chute du pH soulève une question essentielle : est-ce que la combinaison bas pH- température élevée peut toujours expliquer l'origine du syndrome PSE-like? En effet, un autre paramètre pourrait être associé : la durée de cette combinaison bas pH - température élevée. Nous savons déjà que ces trois facteurs (temps *post mortem*, pH et température) affectent les propriétés des protéines musculaires. Cependant, nous ne savons pas aujourd'hui parmi ces trois facteurs lequel, est le plus important ainsi que les effets de la combinaison temps *post mortem* - pH - température sur l'apparition des viandes PSE-like chez les volailles.

L'étude protéomique (gels 2D) effectuée ici reste relativement décevante dans ses résultats propres mais montre aussi que les protéomes des animaux GR et GN sont probablement très proches. On ne met alors en évidence que quelques rares différences d'expression des protéines (quelques pots seulement sont différents) mais seulement avec des techniques de coloration très sensibles (le nitrate d'argent) ce qui ne permet pas toujours ensuite d'identifier la protéine concernée. Pour la dinde, on se heurte ensuite à la relative pauvreté des bases données contenant la séquence des protéines de volailles. L'intérêt et la fiabilité de la technique protéomique ne sont pas à remettre en cause ici mais on peut simplement noter que cette technique n'a pas pu

permettre de révéler des différences suffisamment grandes des profils protéomiques pour pouvoir suggérer de nouvelles pistes de recherche de l'étiologie du syndrome si ce n'est celles de l'effet d'un stress *antemortem* ou de dysfonctionnements métaboliques (thyroïdien par exemple) entre les animaux GR et AB.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

VII. Références Bibliographiques

1. **Allen, C.D., Fletcher, D.L. and Northcutt, J.K.** 1998. The relationship of broiler breast color to meat quality and shelf-life. *Poultry Science*, **77**: 361-366.
2. **Allen, C.D., Russell, S.M. and Fletcher, D.L.** 1997. The relationship of broiler breast meat colour and pH to shelf life and odour development. *Poultry Science*, **76**: 1042-1046.
3. **Allison, C.P., Bates, R.O., Booren, A.M., Johnson, R.C. and Doumit, M.E.** 2003. Pork quality variation is not explained by glycolytic enzymes capacity. *Meat Science*, **63**: 17-22.
4. **Alvarado, C.Z. and Sams, A.R.** 2002. The role of carcass chilling rate in the development of pale, exudative turkey pectoralis. *Poultry Science*, **81**: 1365-1370.
5. **Alvarado, C.Z. and Sams, A.R.** 2004. Turkey carcass chilling and protein denaturation in the development of Pale Soft and Exudative meat. *Poultry Science*, **83**: 1039-1046.
6. **Bailey, A.J.** 1985. The role of collagen in the development of muscle and its relationship to eating quality. *Journal of Animal Science*, **60**: 1580–1587.
7. **Bailey, A.J. and Light, N.D.** 1989. The role of connective tissue in determining the textural quality of meat. In: *Connective tissue in meat and meat products*, pp. 170–194. Elsevier Applied Science, London, UK.
8. **Barbut, S.** 1993. Colour measurements for evaluating the pale soft exudative (PSE) occurrence in turkey meat. *Food Research International*, **26**: 39-43.
9. **Barbut, S.** (Ed), 2002. *Poultry products processing : An industry guide*, 1 edn. CRC Press LLC, Florida, 564 pp.
10. **Barbut, S., Sosnicki, A.A., Lonergan, S.M., Knapp, T., Ciobanu, D.C., Gatcliffe, L.J., Huff-Lonergan, E. and Wilson, E.W.** 2008. Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat. *Meat Science*, **79**: 46-63.
11. **Beaumont, A., Cassier, P., Truchot, J.-P. and Dauça, M.** 2004. Chapitre 21 Les muscles et la concentration musculaire. In: *Biologie et physiologie animales*, 2edn. Dunod, Paris.

12. **Beck, F.K. and Rosenthal, T.C. 2002.** Prealbumin : A marker for nutritional evaluation. *American of Family Physicians*, **65**: 1575-1578.
13. **Bendall, J.R.** 1973. Postmortem changes in muscle. In: *Structure and function of muscle* (Ed G. Bourne), pp. 243-309. Academic Press, NY.
14. **Bendall, J.R. and Wismer-Pedersen, J.** 1962. Some properties of the fibrillar proteins of normal and watery pork muscle. *Journal of Food Science*, **27**: 144-159.
15. **Bergmeyer, H.U.** (Ed), 1974. *Methods of enzymatic analysis*. (Ed G.H. Bourne). Academic Press, New York, 1127, 1196, 1238, 1464 pp.
16. **Beutler, E.** 1971. Phosphofructokinase. In: *Red cell metabolism. A manual of biochemical methods* (Ed E. Beutler), pp. 42- 44. Grune and Stratton Inc, New York.
17. **Blake, C.C.F.** 1981. Prealbumin and the thyroid hormone nuclear receptor. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, **211**: 413-431.
18. **Boles, J.A., Parrish Jr., F.C., Huiatt, T.W. and Robson, R.M.** 1992. Effect of porcine stress syndrome on the solubility and degradation of myofibrillar/cytoskeletal proteins. *Journal of Animal Science*, **70**: 454-464.
19. **Boles, J.A., Patience, J.F., Schaefer, A.L. and Aalhus, J.L.** 1994. Effect of oral loading of acid or base on the incidence of pale soft exudative pork (PSE) in stress-susceptible pigs. *Meat Science*, **37**: 181-194.
20. **Bonderies, G., Jamet, E., Lafitte, C., Rossignol, M., Jauneau, A., Boudart, G., Monsarrat, B., Esquerré-Tugayé, M.T., Boudet, A. and Pont-Lezica, R.** 2003. Proteomics of loosely bound cell wall proteins of *Arabidopsis thaliana* cell suspension cultures: a critical analysis. *Electrophoresis*, **24**: 3421-3432.
21. **Bradford, M.M.** 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72**: 248-254.
22. **Briskey, E.J.** 1964. Etiological status and associated studies of pale, soft, exudative porcine musculature. *Advances in Food Research*, **13**: 89-78.
23. **Camou, J.P. and Sebranek, J.G.** 1991. Gelation characteristics of muscle proteins from pale, soft, exudative (PSE) pork. *Meat Science*, **30**: 207-220.
24. **Campbell, P.N. and Smith, A.N.** 2002. *Biochimie illustrée*. Edition Maloine, Paris, 374 pp.

25. **Campbell, F.M., Waterston, M., Andresen, L.O., Sorensen, N.S., Heegaard, P.M.H. and Eckersall, P.D.** 2005. The negative acute phase response of serum transthyretin following *Streptococcus suis* infection in the pig. *Veterinary Research*, **36**: 657-664.
26. **Carolino, I., Vicente, A., Sousa, C.O. and Gama, L.T.** 2007. SNaPshot based genotyping of the RYR1 mutation in Portuguese breeds of pigs. *Livestock Science*, **111**: 264-269.
27. **Channon, H.A., Payne, A.M. and Warner, R.D.** 2000. Halothane genotype, pre-slaughter handling and stunning method all influence pork quality. *Meat Science*, **56**: 291-299.
28. **Charpentier, J.** 1968. Glycogenolyse Post Mortem du Muscle Longissimus Dorsi du Porc. *Annales de Zootechnie*, **17**: 429-443.
29. **Chiang, W., Allison, C.P., Linz, J.E. and Strasburg, G.M.** 2004. Identification of two RYR alleles and characterization of RYR transcript variants in turkey skeletal muscle. *Gene*, **330**: 177-184.
30. **Chiang, W., Booren, A. and Strasburg, G.** 2008. The effect of heat stress on thyroid hormone response and meat quality in turkeys of two genetic lines. *Meat Science*, **80**: 615-622.
31. **Choe, J.H., Choi, Y.M., Lee, S.H., Shin, H.G., Ryu, Y.C., Hong, K.C. and Kim, B.C.** 2008. The relation between glycogen, lactate content and muscle fiber type composition, and their influence on postmortem glycolytic rate and pork quality. *Meat Science*, doi:10.1016/j.meatsci.2007.12.019.
32. **Choi, Y.M., Ryu, Y.C. and Kim, B.C.** 2007. Influence of myosin heavy-and light chain isoforms on early postmortem glycolytic rate and pork quality. *Meat Science*, **76**: 281-288.
33. **Chomczynski, P. and Sacchi, N.** 1987. Single-step method of RNA isolation by Acid Guanidinium - Thiocyanate - Phenol - Chloroform extraction. *Analytical biochemistry*, **162**: 156-159.
34. **Clarke, F.M.** 1980. Effect of electrical stimulation *post mortem* of bovine muscle on the binding of glycolytic enzymes : Functional and structural implications. *Biochemical Journal*, **186**: 105-109.
35. **Constantinescu, S.** 2005. *Biologie moléculaire de la cellule* 3 edn. De Boeck & Larcier s.a., Bruxelles.

36. **Crow, V.L. and Wittenberger, C.L.** 1979. Separation and properties of NAD⁺ and NADP⁺-dependent glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenases from *Streptococcus mutans*. *Journal of Biological Chemistry*, **254**: 1134-1142.
37. **Dalrymple, R.H. and Hamm, R.** 1973. A method for the extraction of glycogen and metabolites from a single muscle sample. *Journal of Food Technology*, **8**: 439-444.
38. **Début, M., Berri, C., Baéza, E., Sellier, N., Arnould, C., Guémené, D., Jehl, N., Boutten, B., Jego, Y., Beaumont, C. and Le Bihan-Duval, E.** 2003. Variation of chicken technological meat quality in relation to genotype and preslaughter stress conditions. *Poultry Science*, **82**: 1829-1838.
39. **Dransfield, E.** 1994. Modelling post-mortem tenderisation - V: Inactivation of calpains. *Meat Science*, **37**: 391-409.
40. **Dziewulska-Szwajkowska, D., Zmojdzian, M., Dobryszycy, P., Kochman, M. and Dzugaj, A.** 2004. The interaction of FBPase with aldolase: a kinetic and fluorescence investigation on chicken muscle enzymes. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, **137**: 115-129.
41. **Eikelenboom, G., Bolink, A.H. and Sybesma, W.** 1991. Effects of feed withdrawal before delivery on pork quality and carcass yield. *Meat Science*, **29**: 25-30.
42. **El Rammouz, R., Berri, C., Le Bihan-Duval, E., Babilé, R. and Fernandez, X.** 2004a. Breed differences in the biochemical determinism of ultimate pH in breast muscles of broiler chickens- A key role of AMP deaminase. *Poultry Science*, **83**: 1445-1451.
43. **El Rammouz, R., Babilé, R. and Fernandez, X.** 2004b. Effect of ultimate pH on the physicochemical and biochemical characteristics on turkey breast muscle showing normal rate of postmortem pH fall. *Poultry Science*, **83**: 1750-1757.
44. **Fernandez, X. and Guéblez, R.** 1992. Relationship between lactate and glycogen contents and pH values in post mortem Longissimus muscle of the pigs. In: *Proceedings of Meat Sciences Technology 38th International Congress*, pp. 355-358, Clermont-Ferrand, France.

45. **Fernandez, X. and Tornberg, E.** 1994a. The influence of high post-mortem temperature and differing ultimate pH on the course of rigor and ageing in pig longissimus dorsi muscle. *Meat Science*, **36**: 345-363.
46. **Fernandez, X., Torslid, A. and Tornberg, E.** 1994b. The effect of high post-mortem temperature on the development of pale, soft and exudative pork: interaction with ultimate pH. *Meat Science*, **37**: 133-147.
47. **Fernandez, X., Sante, V., Baeza, E., Lebihan-Duval, E., Berri, C., Remignon, H., Babile, R., Le Pottier, G., N., M., Berge, P. and Astruc, T.** 2001. *Post mortem* muscle metabolism and meat quality in three genetic types of turkey. *British Poultry Science*, **42**: 462-469.
48. **Fernandez, X., Santé, V., Baeza, E., Lebihan-Duval, E., Berri, C., Rémignon, H., Babilé, R., Le Pottier, G. and Astruc, T.** 2002. Effects of the rate of muscle *post mortem* pH fall on the technological quality of turkey meat. *British Poultry Science*, **43**: 245-252.
49. **Fisher, C., Hamm, R. and Honikel, K.O.** 1979. Changes in solubility and enzymatic activity of muscle glycogen phosphorylase in PSE-muscles. *Meat Science*, **3**: 11-19.
50. **Fisher, P., Mellett, F.D. and Hoffman, L.C.** 2000. Halothane genotype and pork quality. 1. Carcass and meat quality characteristics of three halothane genotypes. *Meat Science*, **54**: 97-105.
51. **Fletcher, D.L.** 1999. Broiler breast meat color variation, pH and texture. *Poultry Science*, **78**: 1323-1327.
52. **Fletcher, D.L.** 2002. Poultry meat quality. *World's poultry science journal*, **58**: 131-145.
53. **Froning, G.W., Babji, A.S. and Mather, F.B.** 1978. The Effect of preslaughter temperature, stress, struggle, and anesthetization on color and textural characteristics of turkey muscle. *Poultry Science*, **57**: 630-633.
54. **Fujii, J., Otsu, K., Zorzato, F., de Leon, S., Khanna, V.K., Weiler, J.E., O'Brien, P.J. and Mac Lennan, D.H.** 1991. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science*, **253**: 448-451.
55. **Gerelt, B., Ikeuchi, Y., Nishiumi, T. and Suzuki, A.** 2002. Meat tenderization by calcium chloride after osmotic dehydration. *Meat Science*, **60**: 237-244.

56. **Gil, M., Hortos, M. and Sarraga, C.** 1998. Calpain and cathepsin activities and protein extractability during ageing of *longissimus* porcine muscle from normal and PSE meat. *Food Chemistry*, **63**: 385-390.
57. **Gilles, R.** 2006. Chapter 3 Mouvement. In: *Physiologie animale* 1 edn, pp. 306-351. De Boeck & Larcier s.a., Bruxelles.
58. **Gispert, M., Guardia, M.D., Oliver, M.A. and Diestre, A.** 1996. Mortality rates during transport and lairage in pigs for slaughter. *Meat Focus International*, **10**: 362-365.
59. **Görg, A., Obermaier, C., Boguth, G., Harder, A., Scheibe, B., Wildgruber, R. and Weiss, W.** 2000. The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients. *Electrophoresis*, **21**: 1037-1053.
60. **Gratacos-Cubarsi, M. and Lametsch, R.** 2008. Determination of changes in protein conformation caused by pH and temperature. *Meat Science*, **doi: 10.1016/j.meatsci.2007.11.019**.
61. **Hahn, G., Malenica, M. and Branscheid, W.** 2002. The relationship between pH decline post-mortem and biochemical and physico-chemical properties of turkey breast meat. *Archiv für Geflügelkunde*, **65**.
62. **Hamm, R.** 1986. Functional Properties of the Myofibrillar System and Their measurements. In: *Muscle as Food*. (Ed P.J. Bechtel), pp. 135-199. Academic Press, New York.
63. **Henckel, P., Karlsson, A., Jensen, M.T., Oksbjerg, N. and Petersen, J.S.** 2002. Metabolic conditions in Porcine *longissimus* muscle immediately pre-slaughter and its influence on peri- and post mortem energy metabolism. *Meat Science*, **62**: 145-155.
64. **Herrera-Mendez, C.H., Becila, S., Boudjellal, A. and Ouali, A.** 2006. Meat ageing : Reconsideration of the current concept. *Trends in Food Science & Technology*, **17**: 394–405.
65. **Holm, C.G.P. and Fletcher, D.L.** 1997. Ante mortem holding temperatures and broiler breast meat quality. *Journal of Applied Poultry Research*, **6**: 180-184.
66. **Honikel, K.O., Kim, C.J., Hamm, R. and Roncales, P.** 1986. Sarcomere shortening of prerigor muscles and its influence on drip loss. *Meat Science*, **16**: 267-282.

67. **Honikel, K.O.** 1998. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Science*, **49**: 447-457.
68. **Houbak, M.B., Ertbjerg, P. and Therkildsen, M.** 2008. *In vitro* study to evaluate the degradation of bovine muscle proteins *post-mortem* by proteasome and μ -calpain. *Meat Science*, **79**: 77-85.
69. **Immonen, K., Ruusunen, M. and Puolanne, E.** 2000. Some effects of residual glycogen concentration on the physical and sensory quality of normal pH beef. *Meat Science*, **55**: 33-38.
70. **James, C., Vincent, C., de Andrade Lima, T.I. and James, S.J.** 2006. The primary chilling of poultry carcasses-a review. *International Journal of Refrigeration*, **29**: 847-862.
71. **Jeacocke, R.E.** 1977. The temperature dependence of anaerobic glycolysis in beef muscle held in a linear temperature gradient. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **28**: 551-556.
72. **Jeleníková, J., Pipek, P. and Staruch, L.** 2008. The influence of ante-mortem treatment on relationship between pH and tenderness of beef. *Meat Science*, doi:10.1016/j.meatsci.2008.04.004.
73. **Joo, S.T., Kauffman, R.G., Kim, B.C. and Park, G.B.** 1999. The relationship of sarcoplasmic and myofibrillar protein solubility to colour and water-holding capacity in porcine longissimus muscle. *Meat Science*, **52**: 291-297.
74. **Kannan, G., Heath, J.L., Wabeck, C.J., Souza, M.C.P., Howe, J.C. and Mench, J.A.** 1997. Effects of crating and transport on stress and meat quality characteristics in broilers. *Poultry Science*, **76**: 523-529.
75. **Keller III, T.C.S.** 1995. Structure and function of titin and nebulin. *Current Opinion in Cell Biology*, **7**: 32-38.
76. **Kerth, C.R., Carr, M.A., Ramsey, C.B., Brooks, J.C., Johnson, R.C., Cannon, J.E. and Miller, M.F.** 2001. 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**: 2346–2355.
77. **Kijowski, J.** 2001. Muscle protein. In: *Chemical and functional properties of food proteins* (Ed Z.E. Sikorski), pp. 233-269. Tschnomic Publishing Com, Inc, Pennsylvania.

78. **Koeck, T., Levison, B., Hazen, S.L., Crabb, J.W., Stuehr, D.J. and Aulak, K.S.** 2004. Tyrosine nitration impairs mammalian Aldolase A activity. *Molecular & Cellular Proteomics*, **3**: 548-557.
79. **Kohn, T.A., Kritzing, B., Hoffman, L.C. and Myburgh, K.H.** 2005. Characteristics of impala (*Aepyceros melampus*) skeletal muscles. *Meat Science*, **69**: 277-282.
80. **Koohmaraie, M.** 1996. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. *Meat Science*, **43**: 193-201.
81. **Koohmaraie, M., Kent, M.P., Shakelford, S.D., Veiseth, E. and Wheeler, T.L.** 2002. Meat tenderness and muscle growth : Is there any relationship? *Meat Science*, **62**: 345-352.
82. **Kuo, C.C. and Chu, C.Y.** 2003. Quality characteristics of Chinese sausages made from PSE pork. *Meat Science*, **64**: 441-449.
83. **Kwasiborski, A.** 2008. *Proteome et transcriptome dans le muscle Longissimus de porc : Influence du mode d'élevage, de l'origine génétique et du sexe. Relation avec les qualités des viandes*, Université Blaise Pascal, INRA Centre de Clermont-Ferrand/Theix. Saint-Genès-Champanelle.
84. **Laemmli, U.K.** 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**: 680-685.
85. **Lambooj, E.** 1999. Handling of poultry before slaughter : Some aspect of welfare and meat quality. In: *XIV European symposium on the quality of poultry meat*, pp. 311-321, Bologna, Italy.
86. **Lametsch, R., Karisson, A., Rosenvold, K., Andersen, H.J., Roepstorff, P. and Bendixen, E.** 2003. Postmortem proteome changes of porcine muscle related to tenderness. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **51**: 6992-6997.
87. **Lawrie, R.A.** 1998. *Lawrie's meat science*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, Angleterre, 336 pp.
88. **Le Bihan-Duval, E., Berri, C., Baeza, E., N., M. and Beaumont, C.** 2001. Estimation of the genetic parameters of meat characteristics and of their genetic correlations with growth and body composition in an experimental broiler line. *Poultry Science*, **80**: 839-843.

89. **Lesiak, M.T., Olson, D.G., Lesiak, C.A. and Ahn, D.U.** 1996. Effects of postmortem temperature and time on the water-holding capacity of hot-boned turkey breast and thigh muscle. *Meat Science*, **43**: 51-60.
90. **Lopez-Bote, C., Warriss, P.D. and Brown, S.N.** 1989. The use of muscle protein solubility measurements to assess pig lean meat quality. *Meat Science*, **26**: 167-175.
91. **Ma, R.T.-I. and Addis, P.B.** 1973. The association of struggle during exsanguination to glycolysis, protein solubility and shear in turkey Pectoralis muscle. *Journal of Food Science*, **38**: 995-997.
92. **Maltin, C., Balcerzak, D., Tilley, R. and Delday, M.** 2003. Determinants of meat quality : Tenderness. *Proceeding of the nutrition society*, **62**: 337-347.
93. **Mamczur, P., Rakus, D., Gizak, A., Dus, D. and Dzugaj, A.** 2005. The effect of calcium ions on subcellular localization of aldolase FBPase complex in skeletal muscle. *Federation of Biochemical Societies Letters*, **579**: 1607-1612.
94. **Maribo, H., Stoier, S. and Jorgensen, P.F.** 1999. Procedure for determination of glycolytic potential in porcine m. *longissimus dorsi*. *Meat Science*, **51**: 191-193.
95. **Matsuishi, M. and Okitani, A.** 2000. Elucidation of a basic protein, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, as a contributing factor to raise Mg-ATPase activity of myofibrils during meat conditioning. *Meat Science*, **56**: 369-377.
96. **McCormick, R.J.** 1994. Chapter 2 Structure and properties of tissues. In: *Muscle Foods* (Eds D.M. Kinsman, A.W. Kotula and B.C. Breidenstein), pp. p25-62. Chapman & Hall, Inc., New York.
97. **McCurdy, R.D., Barbut, S. and Quinton, M.** 1996. Seasonal effect on pale soft exudative (PSE) occurrence in young turkey breast meat. *Food Research International*, **29**: 363-366.
98. **McGregor, J.S., Singh, V.N., Davoust, S., Melloni, E., Pontremoli, S. and Horecker, B.L.** 1980. Evidence for formation of a rabbit liver aldolase-rabbit liver fructose 1,6 bisphosphatase complex. *Biochemistry*, **77**: 3889-3892.
99. **McKee, S.R. and Sams, A.R.** 1998. Rigor mortis development at elevated temperature induces pale exudative turkey meat characteristics. *Poultry Science*, **77**: 169-174.

100. **Meullenet, J.-F.C., Carpenter, J.A., Lyon, B.G. and Lyon, C.E.** 1997. Bi-cyclical instrument for assessing texture profile parameters and its relationship to sensory evaluation of texture. *Journal texture Studies*, **28**: 101-118.
101. **Meunier, B., Bouley, J., Piec, I., Bernard, C., Picard, B. and Hocquette, J.F.** 2005. Data analysis methods for detection of differential protein expression in two-dimensional gel electrophoresis. *Analytical biochemistry*, **340**: 226-230.
102. **Miller, R.K.** 1994. Chapter 11 Quality Characteristics. In: *Muscle Foods* (Eds D.M. Kinsman, A.W. Kotula and B.C. Breidenstein), pp. 296-332. Chapman & Hall, Inc., New York, USA.
103. **Mitchell, M.A., Carlisle, A.J., Hunter, R.R. and Kettlewell, P.J.** 1997. Welfare of broilers during transportation: cold stress in winter – causes and solutions. In: *Proceedings of the 5th European symposium on poultry welfare, Working group IX of the European federation of the world's poultry science association* (Eds P. Koene and H.J. Blokhuis), **49 - 52**, Wageningen, The Netherlands.
104. **Miyaguchi, Y., Hayashi, Y. and Nagayama, K.** 2004. Improvement of the gelling properties of meat emulsion gel by the addition of porcine sarcoplasmic proteins. *Journal of Animal Science*, **75**: 161-168.
105. **Molette, C., Rémignon, H. and Babilé, R.** 2002. Differences in color are not sufficient to detect PSE turkey meat. *Archiv für Geflügelkunde.*, (**Septembre**): **165**.
106. **Molette, C., Rémignon, H. and Babilé, R.** 2003. Maintaining muscles at a high post-mortem temperature induces PSE-like meat in turkey. *Meat Science*, **63**: 525-532.
107. **Molette, C., Rémignon, H. and Babilé, R.** 2005. Modification of glycolyzing enzymes lowers meat quality. *Poultry Science*, **84**: 119-127.
108. **Møller, A.J.** 1980. Analysis of Warner Bratzler shear force pattern with regard to myofibrillar and connective tissue components of tenderness. *Meat Science*, **5**: 247-260.
109. **Monin, G.** 1988. Evolution post-mortem du tissu musculaire et conséquences sur les qualités de la viande de porc. *Journées de la recherche porcine en France*, **20**: 201-214.

110. **Monin, G., Larzul, C., Le Roy, P., Culioli, J., Mourot, J., Rousset-Akrim, S., Talmant, A., Touraille, C. and Sellier, P.** 1999. Effects of the halothane genotype and slaughter weight on texture of pork. *Journal of Animal Science*, **77**: 408-415.
111. **Monin, G. and 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**: 49-63.
112. **Monin, G., Sellier, P., Ollivier, L., Goutefongea, R. and Girard, J.P.** 1981. Carcass characteristics and meat quality of halothane negative and halothane positive pietrain pigs. *Meat Science*, **5**: 413-423.
113. **Moya, V.J., Flores, M., Aristoy, C. and Toldra, F.** 2001. Evolution of hydrophobic polypeptides during the ageing of exudative and non-exudative pork meat. *Meat Science* 395-401.
114. **Mozdziak, P.E., Dibner, J.J. and McCoy, D.W.** 2003. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase expression varies with age and nutrition status. *Nutrition*, **19**: 438-440.
115. **Naveau, J.** 1986. Contribution à l'étude du déterminisme génétique de la qualité de la viande porcine – Héritabilité du rendement technologique Napole. *Journées de la Recherche Porcine en France.*, **18**: 265-276.
116. **Naveau, J., Pommeret, P. and Lechaux, P.** 1985. Proposition d'une méthode de mesure du rendement technologique "la méthode Napole". *Techi-Porc*, **8**: 7-13.
117. **Ngoka, D.A. and Froning, G.W.** 1982. Effect of free struggle and preslaughter excitement on color of turkey breast muscles. *Poultry Science*, **61**: 2291-2293.
118. **Northcutt, J.K.** 1994. *Influence of antemortem treatment on post mortem muscle properties of poultry meat*, North Carolina State University, Raleigh, 162 pp.
119. **Northcutt, J.K., Buhr, R.J. and Young, L.L.** 1998. Influence of preslaughter stunning on turkey breast muscle quality. *Poultry Science*, **77**: 487-492.
120. **Offer, G.** 1991. Modelling of the formation of pale, soft and exudative meat: Effect of chilling regime and rate and extent of glycolysis. *Meat Science*, **30**: 157-184.

121. **Offer, G. and Knight, P.J.** 1988. The structural basis of water-holding in meat : General principles and water uptake in meat processing. In: *Developments in Meat Science.*, pp. 63-171. Elsevier Applied Science Publishing Co., Inc., New York.
122. **Offer, G. and Trinick, J.** 1983. On the mechanisms of water holding in meat : The swelling and shrinking of myofibrils. *Meat Science*, **8**: 245-281.
123. **Okumura, T., Yamada, R. and Nishimura, T.** 2003. Survey of conditioning indicators for pork loins: Changes in myofibrils, proteins and peptides during *post mortem* conditioning of vacuum-packed pork loins for 30 days. *Meat Science*, **64**: 467-473.
124. **Olivo, R., Soares, A.L., Ida, E.I. and Shimokomaki, M.** 2001. Dietary vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat functional properties. *Journal of Food Chemistry*, **25**: 271-283.
125. **Olsson, K. and Saltin, B.** 1970. Variation in total body water with muscle glycogen changes in man. *Acta Physiologica Scandinavica*, **80**: 11-18.
126. **O'reilly, G. and Clarke, F.** 1993. Identification of an actin binding region in aldolase. *Federation of European Biochemical Societies*, **321**: 69-72.
127. **Ovádi, J., Aragón, J.J. and Sols, A.** 1986. Phosphofructokinase and fructosebisphosphatase from muscle can interact at physiological concentrations with mutual effects on their kinetic behavior. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **135**: 852-856.
128. **Owens, C.M., Hirschler, E.M., McKee, S.R., Martinez-Dawson, R. and Sams, A.R.** 2000. The characterization and incidence of pale, soft, exudative turkey meat in a commercial plant. *Poultry Science*, **79**: 553-558.
129. **Owens, C.M., Matthews, N.S. and Sams, A.R.** 2000b. The use of halothane gas to identify turkeys prone to developing pale exudative meat when transported before slaughter. *Poultry Science*, **79**: 789-795.
130. **Pascual, M. and Pla, M.** 2008. Changes in collagen, texture and sensory properties of meat when selecting rabbits for growth rate. *Meat Science*, **78**: 375-380.
131. **Pearson, A.M. and Young, R.B.** 1989. Composition and Structure of Skeletal Muscle. In: *Muscle and Meat Biochemistry*, pp. 235-265. Academic Press, Inc, London, UK.

132. **Petracci, M., Fletcher, D.L. and Northcutt, J.K.** 2001. The effect of holding temperature on live shrink, processing yield, and breast meat quality of broiler chickens. *Poultry Science*, **80**: 670-675.
133. **Pfaffl, M.W.** 2001. A new mathematical model for relative quantification in real time RT-PCR. *Nucleic Acids Research*, **29**: 2002-2007.
134. **Picard, B., Duris, M.P. and Jurie, C.** 1998. Classification of bovin muscle fibres by different histochemical techniques. *Histochemical Journal*, **30**: 473-479.
135. **Pietrzak, M., Greaser, M.L. and Sosnicki, A.A.** 1997. Effect of rapid rigor mortis processes on protein functionality in *pectoralis major* muscle of domestic turkeys. *Journal of Animal Science*, **75**: 2106-2116.
136. **Piñeiro, M., Piñeiro, C., Carpintero, R., Morales, J., Campbell, F.M., Eckersall, P.D., Toussaint, M.J.M. and Lampreave, F.** 2007. Characterisation of the pig acute phase protein response to road transport. *The Veterinary Journal*, **173**: 669-674.
137. **Pospiech, E., Greaser, M.L. and Sosnicki, A.** 1992. Titin changes in turkey breast muscles varying in quality. *Journal of animal science*, **73**: (Supple1): 162.
138. **Qiu, H., Zhao, S., Xu, X., Yerle, M. and Liu, B.** 2008. Assignment and expression patterns of porcine muscle-specific isoform of phosphoglycerate mutase gene. *Journal of Genetics and Genomics*, **35**: 257-260.
139. **Otsuka, Y., Homma, N., Shiga, K., Ushiki, J., Ikeuchi, Y. and Suzuki, A.** 1998. Purification and properties of rabbit muscle proteasome, and its effect on myofibrillar structure. *Meat Science*, **49**: 365-378.
140. **Rakus, D.** 2003. Muscle FBPase in a complex with muscle aldolase is insensitive to AMP inhibition. *Federation of Biochemical Societies Letters*, **547**: 11-14.
141. **Rakus, D. and Dzugaj, A.** 2000. Muscle aldolase decrease muscle FBPase sensitivity toward AMP inhibition. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **275**: 611-616.
142. **Rathgeber, B.M., Boles, J.A. and Shand, P.J.** 1999a. Rapid post mortem pH decline and delayed chilling reduce quality of turkey breast meat. *Poultry Science*, **78**: 477-484.

143. **Rathgeber, B.M., Pato, M.D., Boles, J.A. and Shand, P.J.** 1999b. Rapid post mortem glycolysis and delay chilling of turkey carcasses cause alterations to protein extractability and degradation of breast muscle proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**: 2529-2536.
144. **Rémignon, H., Molette, C., Eadmusik, S. and Fernandez, X.** 2007. Coping with the PSE syndrome in poultry meat. In: *XVIII th European Symposium on the Quality of Poultry Meat*, pp. 8 pages, Prague (Republic Czech), 2-5 Septembre.
145. **Rhoades, R.D., King, D.A., Jenschke, B.E., Behrends, J.M., Hively, T.S. and Smith, S.B.** 2005. Postmortem regulation of glycolysis by 6-phosphofructokinase in bovine *M. Sternocephalicus* pars mandibularis. *Meat Science*, **70**: 621-626.
146. **Robert, N., Briand, M., Taylor, R. and Briand, Y.** 1999. The effect of proteasome on myofibrillar structures in bovine skeletal muscle. *Meat Science*, **51**: 149-153.
147. **Rosenvold, K. and Andersen, H.J.** 2003. Factors of significance for pork quality-a review. *Meat Science*, **64**: 219-237.
148. **Russell, P.J., Williams, A., Amador, X. and Vargas, R.** 2004. Aldolase and actin protect rabbit muscle lactate dehydrogenase from ascorbate inhibition. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **19**: 91-98.
149. **Ryu, Y.C., Choi, Y.M. and Kim, B.C.** 2005. Variations in metabolite contents and protein denaturation of the *longissimus dorsi* muscle in various porcine quality classifications and metabolic rates. *Meat Science*, **71**: 522-529.
150. **Sams, A.** 2002. Post Mortem Electrical Stimulation of Broilers. *World's Poultry Science Journal*, **58**: 147-157.
151. **Santé, V.** 1993. *Instabilité de la couleur de la dinde (Méléagris Gallopovo) : influence de la rigor mortis, du mode de conditionnement et d'antioxydants*, Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand, France, 132 pp.
152. **Santé, V., Fernandez, X., Monin, G. and Renou, J.P.** 2001. Nouvelles méthodes de mesures de la qualité des viandes de volaille. *INRA Prod. Anim.*, **14**: 247-154.
153. **Santé, V., Sosnicki, A.A., Greaser, M.L., Pietrzak, M., Pospiech, E. and Ouali, O.** 1995. Impact of turkey breeding and production on breast meat

- quality. In: *12th European symposium of the quality of poultry meat*, pp. 151-156, Zaragoza (Spain).
154. **SAS, I.** 1989. SAS user's guide for personal computers release 6.3. SAS Institute Inc., Cary, NC.
 155. **Savenije, B., Lambooji, E., Gerritzen, M.A., Venema, K. and Korf, J.** 2002. Effects of feed deprivation and transport on preslaughter blood metabolites, early postmortem muscle metabolites, and meat Quality. *Poultry Science*, **81**: 699-708.
 156. **Sayre, R.N. and Briskey, E.J.** 1963. Protein solubility as influenced by physiological conditions in the muscle. *Journal of Food Science*, **28**: 675.
 157. **Scheffler, T.L. and Gerrard, D.E.** 2007. Mechanisms controlling pork quality development: The biochemistry controlling *post mortem* energy metabolism. *Meat Science*, **77**: 7-16.
 158. **Schneider, M.L. and Post, C.B.** 1995. Solution structure of a band 3 peptide inhibitor bound to aldolase: a proposed mechanism for regulating binding by Tyrosine Phosphorylation. *Biochemistry*, **34**: 16574-16584.
 159. **Schreurs, F.J.G.** 2000. Post-mortem changes in chicken muscle. *World's poultry science journal*, **56**: 319-346.
 160. **Sellier, P. and Monin, G.** 1994. Genetics of pig meat quality : a review. *Journal of Muscle Foods* . **5**: 187-219.
 161. **Shand, P.J., Sofos, J.N. and Schmidt, G.R.** 1994. Kappa-carrageenan, sodium chloride and temperature affect yield and texture of structured beef rolls. *Journal of Food Science*, **49**: 447-457.
 162. **Shen, Q.W., Means, W.J., Underwood, K.R., Thompson, S.A., Zhu, M.J., McCormick, R.J., Ford, S.P., Ellis, M. and Du, M.** 2006. Early post mortem AMP-activated protein kinase (AMPK) activation leads to phosphofructokinase-2 and -1 (PFK-2 and PFK-1) phosphorylation and the development of pale, soft and exudative (PSE) conditions in porcine longissimus muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**: 5583-5589.
 163. **Shevchenko, A., Wilm, M., Vorm, O. and Mann, M.** 1996. Mass spectrometric sequencing of proteins from silver-stained polyacrylamide gels. *Analytical chemistry*, **68**: 850-858.

164. **Smith, L. and Conrad, H.** 1956. A study of the kinetics of the oxidation of cytochrome c by cytochrome c oxidase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **63**: 403-413.
165. **Smyth, A.B., O'Neill, E. and Smith, D.M.** 1999. Chapter 18 Functional properties of muscle proteins in processed poultry products. In: *Poultry meat science* (Eds R.I. Richardson and G.C. Mead), **25**, pp. 377-396. CABI Publishing, Wallingford, UK.
166. **Soares, A.L., Ida, E.I., Miyamoto, S.M., Hernandez-Blazquez, F.J., Olivo, R., Pinheiro, J.W. and Shimokomaki, M.** 2003. Phospholipase A2 activity in poultry PSE, *pale, soft, exudative*, meat. *Journal of Food Biochemistry*, **27**: 309-320.
167. **Stewart, M.K., Fletcher, D.L., Hamm, D. and Thomson, J.E.X.** 1984. The influence of hot boning broiler breast muscle on pH decline and toughening. *Poultry Science*, **63**: 1935-1939.
168. **Stoeva, S., Byrne, C.E., Mullen, A.M., Troy, D.J. and Voelter, W.** 2000. Isolation and identification of proteolytic fragments from TCA soluble extracts of bovine *M. longissimus dorsi*. *Food Chemistry*, **69**: 365-370.
169. **Stryer, L., Berg, J.M., Tymoczko, J.L. and Tymoczko, J.L.** 2003. Chapitre 16. Glycolyse et gluconéogenèse. In: *Biochimie* 5 edn, pp. 425-464. Flammarion Médecine-Science, Paris.
170. **Tikk, K., Lindahl, G., Karlsson, A.H. and Andersen, H.J.** 2008. The significance of diet, slaughter weight and aging time on pork colour and colour stability. *Meat Science*, **79**: 806-816.
171. **Touraille, C.** 1983. Méthodes de mesures des qualités organoleptiques des viandes de volailles. In: *VI Symposium on the Quality of Poultry Meat*, pp. 469-494, Ploufragan.
172. **Tskhovrebova, L. and Trinick, J.** 2002. Role of titin in vertebrate striated muscle. *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences*, **357**: 199-206.
173. **Uyeda, K. and Luby, L.J.** 1974. Studies on the effect of fructose diphosphatase on Phosphofructokinase. *Journal of Biological Chemistry*, **249**: 4562-4570.
174. **Van der Geyten, S., Van Rompaey, E., Sanders, J.P., Visser, T.J., Kühn, E.R. and Darras, V.M.** 1999. Regulation of thyroid hormone metabolism

- during fasting and refeeding in chicken. *General and Comparative Endocrinology*, **116**: 272-280.
175. **Van der Wal, P.G., Bolink, A.H. and Merkus, G.S.M.** 1988. Differences in quality characteristics of normal, PSE and DFD pork. *Meat Science*, **24**: 79-84.
176. **Van Laack, R.L. and Kauffman, R.G.** 1999. Glycolytic potential of red, soft, exudative pork longissimus muscle. *Journal of Animal Science*, **77**: 2971-2973.
177. **Van Laack, R.L.J.M., Kauffman, R.G., Sybesma, W., Smulders, F.J.M., Eikelenboom, G. and Pinheiro, J.C.** 1994. Is colour brightness (L-value) a reliable indicator of water-holding capacity in porcine muscle? *Meat Science*, **38**: 193-201.
178. **Van Laack, R.L.J.M., Liu, C.H., Smith, M.O. and Loveday, H.D.** 2000. Characteristics of pale, soft, exudative broiler breast meat. *Poultry Science*, **79**: 1057-1061.
179. **Von Lengerken, G., Maak, S. and Wicke, M.** 2002. Muscle metabolism and meat quality of pigs and poultry. *Veterinarija ir Zootechnika*, **42**: 82-86.
180. **Walsh, T.P., Clarke, F.M. and Masters, C.J.** 1977. Modification of the kinetic parameters of Aldolase on binding to the actin-containing filaments of skeletal muscle. *Biochemical Journal*, **165**: 165-167.
181. **Walsh, T.P., Winzor, D.J., Clarke, F.M., Masters, C.J. and Morton, D.J.** 1980. Binding of Aldolase to actin-containing filaments: Evidence of interaction with the regulatory proteins of skeletal muscle. *Biochemical Journal*, **186**: 89-98.
182. **Wang, J., Morris, A.J., Tolan, D.R. and Pagliaro, L.** 1996. The molecular nature of the F-actin binding activity of aldolase revealed with site-directed mutants. *Journal of Biological Chemistry*, **271**: 6861-6865.
183. **Wang, K.** 1982. Purification of titin and nebulin. *Methods in Enzymology*, **85**: 264-274.
184. **Wang, L., Byrem, T.M., Zarosley, J., Booren, A.M. and Strasburg, G.M.** 1999. Skeletal muscle calcium channel ryanodine binding activity in genetically unimproved and commercial turkey populations. *Poultry Science*, **78**: 792-797.
185. **Warner, R.D., Kauffman, R.G. and Greaser, M.L.** 1997. Muscle protein changes post-mortem in relation to pork quality traits. *Meat Science*, **45**: 339-352.

186. **Warriss, P.D. and Brown, S.N.** 1987. The relationships between initial pH, reflectance and exudation in pig muscle. *Meat Science*, **20**: 65-74.
187. **Warriss, P.D., Kestin, S.C., Brown, S.N. and Bevis, E.A.** 1988. Depletion of glycogen reserves in fasting broiler chickens. *British Poultry Science*, **29**: 149-154.
188. **Warriss, P.D.** 2000. Chapter 5 Post mortem changes in muscle and its conversion into meat. In: *Meat Science : An Introductory Text*, pp. 93-105. CABI Publishing, Wallingford, UK.
189. **Warriss, P.D., Bevan, E.A. and Brown, S.N.** 1990. Time spent by broiler chickens in transit to processing plants. *The Veterinary Record*, **127**: 617-619.
190. **Warriss, P.D., Kestin, S.C., Brown, S.N., Knowles, T.G., Wilkins, L.J., Edwards, J.E., Austin, S.D. and Nicol, C.J.** 1993. The depletion of glycogen stores and indices of dehydration in transported broilers. *British Vet. J.*, **149**: 391-398.
191. **Warriss, P.D., Knowles, T.G., Brown, S.N., Edwards, J.E., Ketlewell, P.J., Mitchell, M.A. and Baxter, C.A.** 1999. Effects of lairage time on body temperature and glycogen reserves of broiler chickens held in transport modules. *The Veterinary Record*, **145**: 218-222.
192. **Watanabe, A., Daly, C.C. and Devine, C.E.** 1996. The effects of the ultimate pH of meat on tenderness changes during ageing. *Meat Science*, **42**: 67-78.
193. **Weekes, J., Wheeler, C., Yan, J.X., Weil, J., Eschenhagen, T., Scholtysik, G. and Dunn, M.J.** 1999. Bovine dilated cardiopathy: proteomic analysis of an animal model of human dilated cardiomyopathy. *Electrophoresis*, **20**: 898-906.
194. **Wilson, G.G.I. and Van Laack, R.L.J.M.** 1999. Sarcoplasmic proteins influence water-holding capacity of pork myofibrils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **79**: 1939-1942.
195. **Woelfel, R.L., Owens, C.M., Hirschler, E.M., Dawson, R.M. and Sams, A.R.** 2002. The characterization and incidence of pale, soft and exudative broiler meat in a commercial processing plant. *Poultry Science*, **81**: 579-584.
196. **Wynveen, E.J., Bowker, B.C., Grant, A.L., Demos, B.P. and Gerrard, D.E.** 1999. Effect of muscle pH and chilling on development of PSE-like turkey breast meat. *British Poultry Science*, **40**: 253-256.

197. **Xiong, Y.L.** 1994. Myofibrillar protein from different muscle fiber types: Implications of biochemical and functional properties in meat processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **34**: 293-320.
198. **Young, O.A., West, J., Hart, A.L. and Van Otterdijk, F.F.H.** 2004. A method for early determination of meat ultimate pH. *Meat Science*, **66**: 493-498.

ANNEXE

VIII. ANNEXE

Coloration des gels au nitrate d'argent

Cette technique est compatible avec des analyses en spectrométrie de masse. Cependant, elle est moins sensible que les techniques utilisant la glutaraldéhyde, composé à éviter lorsque l'on veut réaliser par la suite des analyses de masse

D'après :

Shevchenko, A., Wilm, M., Vorm, O., and Mann, M. 1996. Mass spectrometric sequencing of proteins from silver stained polyacrylamide gels. *Anal.Chem.* 68, 850-858.

Solutions:

Solution de fixation

Ethanol 45%
Acide acétique 5%
Eau UHQ 50%

Solution de sensibilisation

0,1 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,02% (Sigma: S 8503)
dans 500 mL eau UHQ

Solution de nitrate d'argent

0,5 g AgNO_3 0,1% (Sigma: S 0139)
dans 500 mL eau UHQ

Solution de développement

12,5 g Na_2CO_3 (Sigma: 223530)
150 μL formaldéhyde à 37% (Sigma: F 1635)
500 mL eau UHQ

Marche à suivre :

- Fixer le gel d'acrylamide avec la solution de 30 min à une nuit
- Rincer à l'éthanol 30 % 3 fois 10 min
- Rincer à l'eau UHQ 3 fois 10 min
- Sensibiliser le gel avec la solution de sensibilisation pendant 1 à 2 min maximum
- Jeter la solution et rincer avec eau UHQ 2 fois 1 min
- Incuber le gel dans la solution de nitrate d'argent pendant 30 min à 4°C
- Développer la coloration avec la solution de développement
- Agiter sur une table agitante. Remplacer la solution de développement dès qu'elle devient jaune
- Arrêter le développement lorsque la coloration est suffisante avec une solution d'acide acétique à 2.5%
- Stocker le gel à 4°C dans l'acide

LISTE DES TABLEAUX

- TABLEAU 1.** Tendance de la consommation de viande (p.1)
- TABLEAU 2.** Composition chimique principale du muscle (p.4)
- TABLEAU 3.** Caractéristiques des différents types des fibres musculaires (p.5)
- TABLEAU 4.** Les protéines sarcoplasmiques les plus abondantes dans le muscle (p.6)
- TABLEAU 5.** Effet du gène de sensibilité à l'halothane chez le porc sur différents critères de qualité de viande (p.23)
- TABLEAU 6.** Expression du gène de GAPDH varie selon l'âge et l'état nutritionnel d'animaux (p.32)
- TABLEAU 7.** Altération des paramètres cinétiques d'aldolase A en présence des filaments fins (p.33)
- TABLEAU 8.** Concentrations en réactifs des solutions utilisées pour déterminer les valeurs de V_{max} et de K_m de l'aldolase A (p.51)
- TABLEAU 9.** Concentrations en réactifs des solutions utilisées pour déterminer les valeurs de V_{max} et de K_m de la GAPDH (p.51)
- TABLEAU 10.** Concentrations en anticorps primaires et secondaires utilisés pour réaliser les Western Blots dirigés contre la GAPDH, l'aldolase A et la chaîne lourde de la myosine (MHC) (p.55)
- TABLEAU 11.** Séquençage et caractéristiques des amorces utilisées pour détecter le niveau de transcription du gène codant pour l'aldolase A (p.59)
- TABLEAU 12.** Evolution de la couleur du muscle *PM* de dindes à glycolyse rapide (GR) et à glycolyse normale (GN) au cours de la conservation (p.62)
- TABLEAU 13.** Valeurs du pH, du rendement de transformation et du test de compression bicyclique des pâtes fines cuites élaborées à partir de viande de *PM* de dinde des groupes GR et GN (p.64)
- TABLEAU 14.** Valeurs de l'extractabilité des protéines musculaires des *PM* de dinde des groupes GR et GN à 20 min et à 24 h *post mortem* (p.65)
- TABLEAU 15.** Identification par MALDI-TOF-MS de la présence d'actine G dans la bande située autour de 45 kDa (p.67)
- TABLEAU 16.** Les résultats obtenus après analyse par le spectromètre de masse des spots différents entre le groupe GR et GN (p.72)

- TABLEAU 17.** Effet de la vitesse de chute du pH sur les activités spécifiques de l'aldolase A, de la GAPDH, de la PFK et de la COX et sur les valeurs de V_{max} et de K_m de l'aldolase A et de la GAPDH dans le muscle *PM* de dindes GR ou GN à 20 min *post mortem* (p.73)
- TABLEAU 18.** Teneurs des principaux produits de la glycolyse anaérobie et valeur du potentiel glycolytique du muscle *PM* de dinde à 20 min et à 24 h *post mortem* issues des les groupes GR et GN (p.74)
- TABLEAU 19.** Synthèse de différentes études rapportant les valeurs de pH précoce et/ou ultime chez le porc, la dinde ou le poulet (p.76)
- TABLEAU 20.** Contribution des cinq premiers axes de l'Analyse en Composantes Principales réalisée avec les variables biochimiques (p.93)
- TABLEAU 21.** Paramètres technologiques et biochimiques des animaux GN, GR, AB et GR-AB (p.94)
- TABLEAU 22.** Les résultats obtenus après analyse par le spectromètre de masse des spots différenciellement exprimés entre les groupes GR et AB (p.95)

LISTE DES FIGURES

- FIGURE 1.** Structure du muscle squelettique mettant en évidence l'organisation du tissu conjonctif (p.3)
- FIGURE 2.** Les différents constituants du sarcomère (p.5)
- FIGURE 3.** Représentation schématique d'une molécule de myosine (p.7)
- FIGURE 4.** Disposition hexagone d'actine et de myosine (p.8)
- FIGURE 5.** Structure des filaments fins (p.8)
- FIGURE 6.** Structure des protéines cytosquelettiques (p.9)
- FIGURE 7.** Schéma de la voie glycolyse (p.10)
- FIGURE 8.** Relation entre le potentiel glycolytique et le pH ultime dans le muscle *Longissimus dorsi* du porc (p.13)
- FIGURE 9.** Evolution du pH post mortem en fonction du temps (p.14)
- FIGURE 10.** Système Lab proposé par la Commission International de l'Eclairage (p.16)
- FIGURE 11.** Evolution du pouvoir de rétention d'eau en fonction du pH de la viande (p.18)
- FIGURE 12.** Liaison entre les tubes T et les citernes terminales du réticulum sarcoplasmique (p.22)
- FIGURE 13.** Dépendance de la liaison de la ryanodine au Ca^{2+} dans une souche sélectionnée et non sélectionnée dans les vésicules du réticulum sarcoplasmique lourd (p.23)
- FIGURE 14.** Pattern de SDS-PAGE en condition dénaturantes de protéines sarcoplasmiques et myofibrillaires chez le porc (p.28)
- FIGURE 15.** Photo de Western Blot de protéines musculaires de dinde GR et GN (p.29)
- FIGURE 16.** Conversion de Fructose-6-phosphate en Fructose-1,6-bisphosphate par Phosphofructokinase (p.30)
- FIGURE 17.** Effets du pH et du temps *post mortem* sur l'activité de la PFK du muscle *Sternocephalicus pars mandibularis* chez le bovin (p.30)
- FIGURE 18.** La quantité *post mortem* de Fructose-2,6-diphosphate des viande PSE et normale chez le porc (p.31)

- FIGURE 19.** Réaction de la phosphorylation oxydative de glycéraldéhyde-3-phosphate en 1,3 bisphosphate glycérate par la GAPDH (p.31)
- FIGURE 20.** Pattern de SDS-PAGE en conditions dénaturantes de protéines sarcoplasmiques montrant la dégradation de la GAPDH au cours de la conservation (p.32)
- FIGURE 21.** Dégradation de Fructose-1,6-bisphosphate en Dihydroxyacetone et Glyceraldéhyde-3-phosphate par Aldolase A (p.33)
- FIGURE 22.** Conversion de Fructose-1,6-bisphosphate en Fructose-6-phosphate par Fructose-1,6-bisphosphatase (p.34)
- FIGURE 23.** Effet of FBPase en l'activité de PFK et l'inhibition de PFK par ATP en présence et absence de FBPase (p.34)
- FIGURE 24.** Inhibition de FBPase par AMP en absence et en présence d'aldolase A (p.35)
- FIGURE 25.** Réaction catalysant une conversion d'acide pyruvique et d'acide lactique par lactate déshydrogénase (p.35)
- FIGURE 26.** Courbe de distribution des valeurs de pH mesurées à 20 min *post mortem* dans le muscle *PM* de dindons BUT9 (p.36)
- FIGURE 27.** Système d'analyse mécanique de la texture (p.40)
- FIGURE 28.** Définition des paramètres mesurés dans le test de compression bicyclique (p.40)
- FIGURE 29.** Graphique en nuage de points de R-I plot avant et après la normalisation intensité dépendante (p.46)
- FIGURE 30.** Représentation graphique selon Lineweaver-Burk et détermination des valeurs de V_{max} et de K_m (p.50)
- FIGURE 31.** Capacités de rétention en eau de muscle *PM* de dindes à glycolyse rapide et à glycolyse normale (p.62)
- FIGURE 32.** Force maximale de cisaillement et valeur du travail mécanique obtenues avec le test de cisaillement réalisé sur la viande cuite (p.63)
- FIGURE 33.** Rendement NAPOLE de muscle *PM* de dinde à glycolyse rapide et à glycolyse normale (p.64)
- FIGURE 34.** Profils électrophorétiques SDS-PAGE des protéines musculaires du muscle *PM* de dinde prélevés à 20 min et à 24 h *post mortem* (p.66)

- FIGURE 35.** Quantités relatives d'actine et de chaîne lourde de la myosine estimées par la technique Western Blot des muscles *PM* de dindes prélevés à 20 min et à 24 h *post mortem* (p.67)
- FIGURE 36.** Teneur en protéines à pI acide et neutre dans du muscle *PM* de dinde prélevé à 20 min et à 24 h *post mortem* (p.68)
- FIGURE 37.** Concentrations des protéines basiques dans les différentes fractions collectées avec 0,15 M NaCl et 0,50 M NaCl à 20 min et 24 h *post mortem* dans les muscles *PM* des dindes GR ou GN (p.69)
- FIGURE 38.** Profils électrophorétiques SDS-PAGE des protéines basiques éluées avec 0,15 M NaCl et éluées avec 0,50 M NaCl (p.70)
- FIGURE 39.** Gels bidimensionnels obtenus à partir de 300 µg de protéines acides et neutres du muscle *PM* de dinde prélevés à 20 min *post mortem* (p.71)
- FIGURE 40.** Graphiques en nuage de points obtenus avant et après la normalisation d'intensité dépendante (p.72)
- FIGURE 41.** Quantité relative de GAPDH en % de la protéine de référence estimée par la technique du Western Blot dans le muscle *PM* de dinde à 20 min *post mortem* (p.74)
- FIGURE 42.** Effet de l'origine de l'échantillon sur le niveau d'expression du gène codant pour l'aldolase A à 20 min *post mortem* (p.75)
- FIGURE 43.** Corrélation de Pearson entre la valeur de L* et la valeur du pH ultime de viandes des groupes GR et GN à 24 h *post mortem* (p.78)
- FIGURE 44.** Corrélation de Pearson entre la valeur de L* et les pertes à la cuisson viandes des groupes GR et GN à 24 h *post mortem* (p.80)
- FIGURE 45.** Corrélation de Pearson entre la valeur de L* et la quantité de protéines sarcoplasmiques de viandes des groupes GR et GN à 24 h *post mortem* (p.83)
- FIGURE 46.** Corrélation entre la teneur en acide lactique à 20 min *post mortem* et la valeur du pH de viandes des groupes GR et GN (p.86)
- FIGURE 47.** Corrélation entre le potentiel glycolytique calculé à 20 minutes *post mortem* et la valeur du pH ultime des muscles pectoraux de viandes des groupes GR et GN (p.87)
- FIGURE 48.** Corrélation de Pearson entre la teneur en glycogène à 24 h *post mortem* et la valeur de a* de viandes du groupe GR et du groupe GN (p.88)

FIGURE 49. Corrélacion de Pearson entre la teneur en glycogène à 24 h *post mortem* et les pertes à la cuisson et la force maximale de cisaillement de viandes du groupe GR et du groupe GN (p.89)

FIGURE 50. Représentation schématiques des deux premiers axes de l'Analyse en Composantes Principales réalisée avec les extractabilités des protéines musculaires à 24 h *post mortem* (p.93)

RESUME

Deux groupes de dinde sont sélectionnés selon leur valeur du $\text{pH}_{20\text{min}}$ *post mortem* du muscle *Pectoralis major*. Les modifications des protéines sont étudiées dans des muscles du groupe glycolyse rapide (GR, $\text{pH}_{20\text{min}} = 5,80 \pm 0,07$, $n = 20$) et ceux du groupe glycolyse normale (GN, $\text{pH}_{20\text{min}} = 6,21 \pm 0,01$, $n = 20$) à 20 min et à 24 h *post mortem*. La viande GR exhibe les qualités technologiques plus faibles (plus pertes à la conservation et moins aptitudes aux transformations) que la viande GN par contre la valeur de L^* n'est pas différente entre ces deux groupes de viande. Les résultats de teneur en glycogène et en ses métabolites confirment la vitesse plus élevée de glycolyse de viande GR. Les faibles extractabilités des protéines myofibrillaire (fraction HIS) et cytosquelletiques (fraction culot) à 20 min *post mortem* du groupe GR peuvent être un résultat de la combinaison bas pH – température élevée conduisant à la dénaturation des protéines musculaires. Cependant, la viande GR semble avoir une maturation plus faible que la viande GN. Après une séparation des protéines par SDS-PAGE, quelques animaux du groupe GR présentent une forte baisse d'intensité des bandes situées autour de 45 kDa et 200 kDa. Ces protéines sont identifiées comme l'actine et la chaîne lourde de la myosine (MHC), respectivement. Leurs quantités relatives ne diffèrent pas entre les deux groupes à 20 min *post mortem*. Par contre, les viandes GR ont une moins de quantité relative de l'actine à 24 h *post mortem*. Toutefois, les quantités relatives d'actine et de MHC sont augmentées avec le temps *post mortem*. Les activités de la phosphofructokinase, de l'aldolase A et de la GAPDH sont inférieures pour la viande GR. Cependant, les paramètres cinétiques d'aldolase A et de GAPDH, la quantité relative de GAPDH ainsi que l'expression du gène codant pour l'aldolase A ne sont pas différents entre la viande des groupes GR et GN.

Mots clés :

Muscle pectoral de dinde, enzymes glycolytiques, actine, chaîne lourde de la myosine, glycolyse, glycogène, gel électrophorèse

Structure d'Accueil :

UMR 1289 INRA/INPT-ENSAT/ENVT « TANDEM »

Tissus Animaux, Nutrition, Digestion, Ecosystèmes et Métabolisme

Avenue de l'Agrobiopole, BP 32607, 31326 Castanet Tolosan CEDEX, FRANCE

ABSTRACT

Two groups of turkey breast muscle (*Pectoralis major*) were selected according to their rates of glycolysis. Protein alterations of rapid glycolysis group (GR, $\text{pH}_{20\text{min}}=5.80 \pm 0.07$, $n=20$) and that of normal glycolysis group (GN, $\text{pH}_{20\text{min}} = 6.21 \pm 0.01$, $n=20$) were then investigated at 20 min and 24 h *post mortem*. GR meat had lower technological quality (higher drip loss and lower yields of transformations) than GN meat while the lightness is not different between the 2 groups of meat. The results of glycogen and its metabolite contents confirmed that GR represents the higher rate of glycolysis. The lower extractabilities of high ionic strength (HIS) and pellet proteins at 20min *post mortem* in GR could be a result of protein denaturation caused by the combination low pH-high temperature. However, based on the extractabilities at 24 h *post mortem*, GR showed lower meat maturation. From SDS-PAGE of samples at 24 h *post mortem*, GR exhibited lower band intensities at 45 and 200 kDa which further identified as actin and myosin heavy chain (MHC), respectively. Western Blots revealed that relative amounts of actin and MHC at 20 min *post mortem* were not different between groups. However, GR muscles had less relative amount of actin at 24 h *post mortem*. It also indicated that amounts of actin and MHC increased with regard to *post mortem* time. GR muscle showed lower activities of phosphofructokinase, aldolase A and glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) than GN muscle. However, the kinetic parameters of aldolase A and GAPDH, the relative quantity of GAPDH as well as the gene expression coded for aldolase A were not different between GR and GN.

Key words :

turkey breast muscle, glycolytic enzymes, actin, myosin heavy chain, glycolysis, glycogen, gel electrophoresis

Laboratory :

UMR 1289 INRA/INPT-ENSAT/ENVT « TANDEM »

Tissus Animaux, Nutrition, Digestion, Ecosystèmes et Métabolisme

Avenue de l'Agrobiopole, BP 32607, 31326 Castanet Tolosan CEDEX, FRANCE