

Utilisation de données d'expression génique pour prédire la qualité de viande chez le porc

Marie DAMON (1,2), Joanna WYSZYNSKA-KOKO (1,2), Grégory GUERNEC (3), Bénédicte LEBRET (1,2)

(1) INRA, UMR1079 Systèmes d'Élevage et Nutrition Animale et Humaine, F-35590 Saint-Gilles

(2) Agrocampus Ouest, UMR1079 Systèmes d'Élevage et Nutrition Animale et Humaine, F-35000 Rennes

(3) INRA, UR1037 SCRIBE, F-35000 Rennes

Marie.Damon@rennes.inra.fr

Avec la collaboration de Annie VINCENT (1), Nathalie BONHOMME(1), Patrick ECOLAN (1)

et le personnel de l'élevage et de l'abattoir (1)

Using gene expression data to predict pork quality

Availability of biomarkers for pork quality is essential to control its variability and predict meat quality. In this study, two pure pig breeds, Large White (conventional, n=20) and Basque (local breed, high sensory pork quality, n=30) reared in different production systems, were investigated for eight meat quality traits: colour (lightness: L*, redness: a*), ultimate pH, drip loss, intramuscular fat content, shear force, sensory tenderness and juiciness. Not only should a biomarker for meat quality be correlated with a meat quality trait but it should also be useful in predicting it; accordingly, we developed predictive models for each of these eight traits. Two linear statistical methods (regression and sparse PLS) and a nonparametric method (random forest) were applied on gene expression data obtained on 50 *Longissimus* muscle samples. Within each statistical model, the number of factors (or predictors) chosen was the one that minimized the predicted residual error. Afterward, for each trait, the model with the minimum error between the three statistical methods was selected as the best predictive model. Lists of four to eleven predictors, which explained between 36% and 86% of the variability observed, were found for seven of the eight meat quality traits considered. The choice of predictors for the eighth trait, meat juiciness, was not successful. These models remain to be validated on meat samples from other pork chains before they can be considered for use in the development of actual tools for predicting pork quality.

INTRODUCTION

La qualité de la viande de porc résulte d'interactions complexes entre le potentiel génétique, les conditions de production et d'abattage des animaux et les procédés de transformation des produits. Si l'influence de plusieurs facteurs est bien établie (ex. gènes à effet majeur, conditions pré-abattage), leurs effets interactifs sont moins décrits, entraînant une hétérogénéité de la qualité de viande. Améliorer la qualité et réduire sa variabilité nécessitent de mieux connaître les phénomènes biologiques qui gouvernent les caractéristiques tissulaires et leurs conséquences sur la qualité. De plus, la mise en évidence de nouveaux marqueurs de la qualité et le développement d'outils d'évaluation précoce permettraient d'optimiser l'utilisation des viandes (produits frais / transformés,...).

Au cours de ces dix dernières années, l'analyse de l'expression génique à grande échelle (technologie des puces à ADN) a été largement utilisée chez les animaux d'élevage pour essayer de mieux comprendre les mécanismes biologiques qui sous-tendent l'établissement des phénotypes (Davoli et Braglia, 2007 ; Hu *et al.*, 2009).

En revanche, l'utilisation des niveaux d'expression des gènes comme mesure phénotypique permettant de mieux prédire des caractères quantitatifs n'est pas encore très répandue

(Robert-Granié *et al.*, 2009). Cette étude s'inscrit dans le programme européen Q-Porkchains qui vise à identifier des marqueurs de qualité des viandes porcines, afin de mieux évaluer le niveau de qualité et maîtriser sa variabilité.

Nous avons utilisé des porcs de races contrastées (Basque et Large White) élevés dans différents systèmes de production afin de disposer d'une grande variabilité de qualité (Lebret *et al.*, 2011). Nous avons centré l'étude sur 8 critères importants de qualité : la couleur (L*, a*), le pH ultime, les pertes en eau, la teneur en lipides intramusculaires (LIM), la force de cisaillement, la tendreté et la jutosité.

Dans un premier temps, nous avons recherché des gènes dont l'expression est fortement corrélée à un ou plusieurs critères de qualité. Cependant, considérant qu'un biomarqueur de qualité ne doit pas seulement expliquer une part de la variabilité du caractère mais surtout permettre de la prédire, nous avons ensuite utilisé différentes méthodes prédictives afin de sélectionner un modèle minimisant l'erreur de prédiction, pour chacun des 8 caractères étudiés.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

Cinquante porcs mâles castrés de race pure Basque (B, n=30) ou Large White (LW, n=20) élevés en système d'élevage

conventionnel (caillebotis n=10 porcs/race), alternatif (litière avec libre accès à une courette extérieure, n=10 porcs/race) ou extensif Basque (n=10 porcs B) ont été abattus au poids de 150 kg. Trente min post-mortem (p.m.), du muscle *Longissimus* (LL) a été prélevé pour analyses transcriptomiques. Le lendemain, le pH ultime et la couleur (L^* , a^*) ont été déterminés, et du muscle LL prélevé pour détermination de la teneur en LIM et des pertes en eau (1-3 j p.m.). Après 4 j de maturation, du muscle LL a été prélevé, mis sous vide et congelé pour détermination de la force de cisaillement après cuisson, ainsi que de la tendreté et de la jutosité par un jury d'analyse sensorielle (Lebret *et al.*, 2011).

1.2. Mesure des expressions géniques

Les ARN totaux ont été extraits au Trizol puis les échantillons et la référence (pool des 50 échantillons) ont été marqués au Cy3 ou Cy5, respectivement, avec le kit Low RNA Input Linear Amplification (Agilent) et hybridés une nuit à 65°C sur une puce à ADN 15K muscle spécifique (Agilent). L'acquisition des images a été réalisée avec le scanner Agilent G2505B. Les quantifications des signaux bruts ont été obtenues à l'aide du logiciel Feature Extraction Software (Agilent v9.5). Un filtrage sur l'intensité des spots, une élimination des valeurs aberrantes par la méthode des écart-réduits et une normalisation par spot et par lame (Lowess) ont ensuite été effectués. Après élimination des gènes de faible variance (agrégation par k-means) et des gènes sans annotation valide (homologie de séquence $\leq 85\%$ et/ou moins de 18 pb consécutives), 3501 sondes ont été conservées pour établir les modèles de prédiction.

1.3. Analyses statistiques

1.3.1. ANOVA

Les données de qualité de viande et d'expression génique ont été corrigées par une analyse de variance (ANOVA) en cas d'effet significatif du groupe d'animaux (5 modalités) ou de la série d'hybridation (6 modalités).

1.3.2. Analyses de prédiction

Deux méthodes linéaires, la régression et la sparse PLS (Lê Cao *et al.*, 2008, package mixOmics R) et une méthode non paramétrique (forêts aléatoires, Liaw et Wiener, 2002) ont été comparées pour sélectionner le meilleur modèle de prédiction.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Pour chacun des critères nous avons déterminé à l'aide des trois méthodes (régression, sparsePLS et forêts aléatoires) et en utilisant la procédure du « leave one out », le meilleur

modèle (i.e. combinaison de gènes prédicteurs) qui minimisait l'erreur de prédiction en test. Ensuite, nous avons comparé les 3 analyses et conservé le modèle prédictif qui présentait la plus faible erreur de prédiction. Ainsi, nous avons pu établir pour 7 des caractères de qualité étudiés, un modèle prédictif comportant entre 4 et 11 gènes prédicteurs et expliquant entre 36 et 86% de la variabilité du caractère (Tableau 1). En revanche, nous ne sommes pas parvenus à déterminer de modèle de prédiction pour la jutosité.

Pour ce critère, un modèle de prédiction avec une répartition en classes pourrait être étudié.

Tableau 1 - Modèles de prédiction de la qualité de la viande de porc

Mesures de qualité	Nombre de prédicteurs	R ² (%)	Méthode utilisée
Tendreté	7	86	Régression
pHu	6	60	Forêts aléatoires
a*	11	52	Forêts aléatoires
L*	9	52	Forêts aléatoires
Force de cisaillement	8	51	Forêts aléatoires
LIM	6	44	Forêts aléatoires
Pertes en eau	4	36	Forêts aléatoires

CONCLUSION

Ces analyses confirment la complexité de l'élaboration de la qualité de viande, puisque plusieurs gènes sont nécessaires pour prédire les caractères phénotypiques actuellement évalués. Après la validation de nos résultats par qPCR, ces modèles devront être testés et validés dans d'autres dispositifs expérimentaux avant de pouvoir être considérés comme de nouveaux outils de tri de la qualité des carcasses. A plus long terme, des études combinant plusieurs critères de qualité de viande seraient nécessaires pour définir un véritable index prédictif de la qualité de viande.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les personnes de la Filière Porc Basque et des unités INRA SENAH, EASM et QuaPA qui ont participé à l'étude. Les auteurs remercient la participation de la Communauté Européenne, 6è PCRD, pour le Projet Intégré Q-PORKCHAINS FOOD-CT-2007-036245. Les résultats et conclusions de cet article sont sous la seule responsabilité des auteurs et ne reflètent pas nécessairement la position de la Communauté Européenne.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Davoli R., Braglia S., 2007. Molecular approaches in pig breeding to improve meat quality. *Brief. Funct. Genomic Proteomic.* 6, 313-321.
- Hu X., Gao Y., Feng C., Liu Q., Wang X., Du Z., Wang Q., Li N., 2009. Advanced technologies for genomic analysis in farm animals and its application for QTL mapping. *Genetica.* 136, 371-386.
- Lebret B., Damon M., Gondret F., Lefaucheur L., Louveau I., Prunier A., Bonhomme N., Ecolan P., Wyszynska-Koko J., Lepetit J., Méteau K., Dourmad J.Y., 2011. Variation de la qualité de la viande de porc selon la race : basque ou Large White et le système d'élevage : conventionnel, alternatif ou extensif. *Journées Rech. Porcine*, 43, 39-46.
- Lê Cao K.A., Rossouw D., Robert-Granié C., Besse P., 2008. A Sparse PLS for Variable Selection when Integrating Omics Data. *Stat. Appl. Genet. Mol. Biol.*, 7(1), Article 35.
- Liaw A., Wiener M., 2002. Classification and Regression by randomForest. *R. News* 2, 18-22.
- Robert-Granié C., Lê Cao K.A., Sancristobal M., 2009. Predicting qualitative phenotypes from microarray data - the Eadgene pig data set. *BMC Proc.* 16(3), Suppl 4:S13.