

EFFETS DU JEUNE ET DE LA REALIMENTATION SUR LES CARACTERISTIQUES DU TISSU MUSCULAIRE DE TRUITE ARC-EN-CIEL

LEFEVRE F., PABOEUF G., BUGEON J.

Equipe croissance et qualité de la chair, SCRIBE-INRA, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes cedex

Introduction

Les différents acteurs de la filière piscicole sont demandeurs de critères de qualité du produit. L'identification de protéines dont la présence, l'absence ou le niveau d'expression peuvent être associées à des caractéristiques qualitatives définies permet d'envisager leur utilisation comme critères de classification des produits (carcasses ou filets). Parmi les critères de qualité organoleptique, la texture de la chair des poissons est déterminante pour l'appréciation sensorielle du produit. Ce paramètre dépend de la structure du muscle (organisation tridimensionnelle des fibres musculaires et des tissus conjonctifs et adipeux) et des propriétés des composants, essentiellement protéiques (Dunajski, 1979).

La mise en évidence de marqueurs de qualité implique de disposer de produits ayant des caractéristiques qualitatives différentes. Chez les poissons, une période de jeûne prolongé conduit à un arrêt de la croissance globale et musculaire. Après une phase de réalimentation, la reprise de croissance musculaire (hypertrophique mais aussi hyperplasique chez les poissons) affecte significativement les caractéristiques biochimiques et structurales du tissu musculaire avec pour conséquence une modification des paramètres de qualité et en particulier de la texture (Bugeon et al., 2004).

L'objectif de cette expérimentation était de tester la faisabilité d'une approche protéomique sur le muscle de truite en analysant les effets du jeûne et de la réalimentation sur le protéome du muscle blanc pour identifier des marqueurs différentiellement exprimés dans une démarche sans a priori. Cette approche est mise en parallèle avec le suivi de la structure du muscle en analyse histologique.

Matériel et méthodes

Des truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) monosexes femelles (poids moyen initial : 140g) ont été mises à jeun pendant 4 semaines puis renourries pendant 29 jours. Des prélèvements ont été effectués à la mise en lot (MEL), à la fin de la période de jeûne (J0) et régulièrement pendant la phase de réalimentation (J1 à J29). Des témoins ont été suivis en parallèle et prélevés à la fin de la période de jeûne (T0) et de la phase de réalimentation (T29).

Pour l'analyse histologique du tissu musculaire, des échantillons de muscle blanc profond sont prélevés au niveau de la nageoire dorsale, fixés 24h dans du fixateur de Carnoy (éthanol/chloroforme/acide acétique : 6/3/1), déshydratés dans des bains successifs d'éthanol et de butanol et inclus dans la paraffine. Les coupes (10 µm) sont colorées avec le colorant de "Rojkind" (Rouge Sirius et Fast Green 0.1% dans l'acide picrique saturé) (Lopez-De-Leon et Rojkind, 1985). Elles sont ensuite observées au microscope photonique, les images sont numérisées et la surface de 300 à 500 fibres musculaires par poisson est mesurée à l'aide d'un logiciel d'analyse d'image (Visilog pour Windows).

Pour l'analyse du protéome, des prélèvements de muscle blanc profond ont été effectués en avant de la nageoire dorsale. Les échantillons ont été congelés dans l'azote liquide puis stockés à -80°C. Les protéines musculaires sont extraites par la solution de solubilisation (Urée 8M, Chaps 4%) et analysées par électrophorèse bidimensionnelle (2D-PAGE). L'IEF est réalisée sur un gradient de pH 3-10 non linéaire (18 cm) sur IPG-Phor (Amersham Biosciences) et la deuxième dimension sur SDS-PAGE (excelGel™ gradient 12-14% d'acrylamide) avec le système Multiphor (Amersham Biosciences). Les gels sont ensuite colorés au nitrate d'argent et leur image est analysée avec ImageMaster 2D Elite.

Résultats et Discussion

L'évolution du poids des animaux à jeun/renourris et des animaux témoins est présenté dans la figure 1. Après 1 mois de jeûne, les poissons ont perdu 6,7% de leur poids initial tandis que les témoins ont eu un gain de poids de 80%. La reprise alimentaire conduit à une reprise de croissance des poissons, les animaux à jeun/renourris présentant des taux de croissance spécifiques significativement supérieurs aux témoins ($2.2\% \pm 0.02$ vs $1.7\% \pm 0.03$) démontrant ainsi un phénomène de croissance compensatrice.

L'analyse histologique du muscle montre des effets du jeûne et de la réalimentation (Figures 2 et 3). Alors que chez les animaux nourris, le diamètre moyen des fibres augmente avec la croissance de l'animal, le jeûne induit une diminution du diamètre moyen des fibres musculaires, due à la fois à une augmentation de la proportion de petites fibres et à une diminution de la proportion de grandes fibres. La reprise de croissance, associée à la reprise alimentaire conduit, dans un premier temps (jusqu'à J4), à une diminution de la taille moyenne des fibres, puis à leur augmentation progressive.

La proportion de petites fibres, associées à la croissance hyperplasique, augmente fortement dès les premiers jours de réalimentation pour diminuer progressivement par la suite, jusqu'à atteindre des valeurs équivalentes au témoin à la fin de l'expérimentation.

Quand on compare, à poids égal, les animaux mis à jeun / réalimentés aux animaux témoins nourris en continu, on constate que les premiers conservent une taille de fibre inférieure jusqu'à la fin de la période de réalimentation (**Figure 3**). L'application d'un jeûne prolongé, suivi d'une période de reprise alimentaire, affecte significativement la structure du tissu musculaire, avec à la fois un recrutement très important de petites fibres néoformées et une croissance hypertrophique, associés à la reprise alimentaire.

Les protéines musculaires totales ont été analysées en électrophorèse bidimensionnelle chez les poissons à jeun ou témoins (**Figure 4**). Environ 900 spots ont été quantifiés en première analyse, dont 27 dont le niveau d'expression varie en fonction du statut nutritionnel et 28 correspondant à des protéines exprimées uniquement chez les animaux nourris (19 spots) ou à jeun (9 spots). Ces résultats sont en cours de validation, par l'analyse d'un plus grand nombre d'animaux, avant identification des spots d'intérêt en spectrométrie de masse de type MALDI-tof. L'effet de la réalimentation des poissons sur leur protéome musculaire sera ensuite abordé par l'étude des animaux prélevés à J4, moment où la proportion de petites fibres est la plus importante, afin de mettre en relation le protéome musculaire et la croissance hyperplasique.

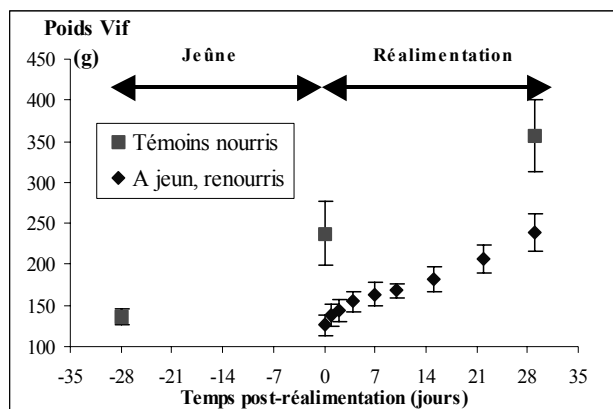


Figure 1 : Effets du jeûne et de la réalimentation sur l'évolution du poids vif de truites arc-en-ciel, n=12.

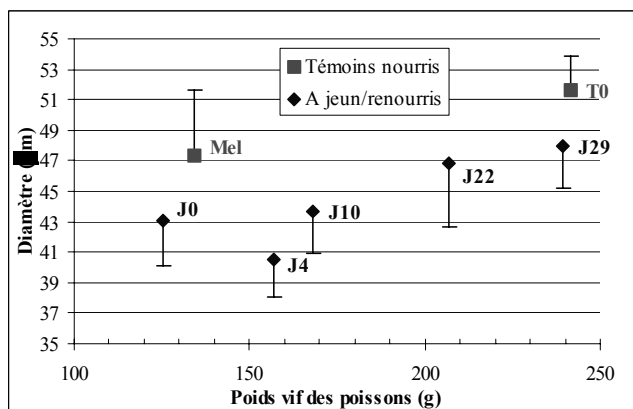


Figure 3 : Diamètre moyen des fibres du muscle blanc de truites témoins ou réalimentées en fonction du poids vif, n=12

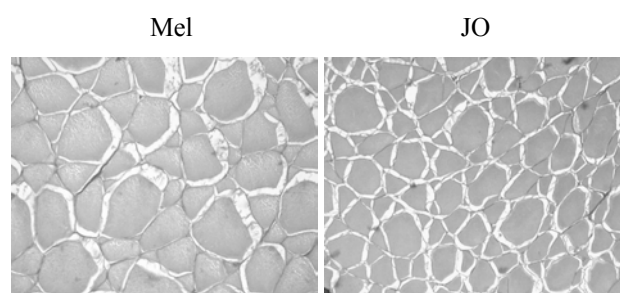


Figure 2 : Coupes histologiques de muscle blanc de truites témoins à la mise en lot (Mel) et après 4 semaines de jeûne (J0)

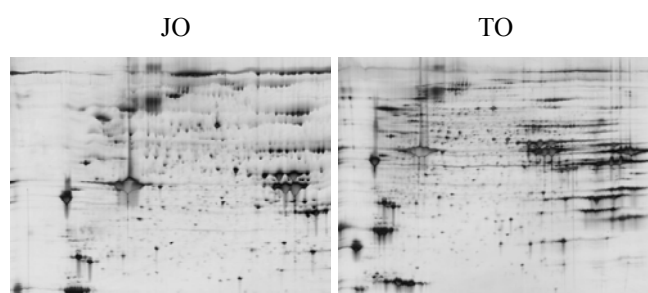


Figure 4 : Comparaison des gels 2D-PAGE des poissons à jeun (J0) ou témoin (T0). IEF : 3-10NL, dépôt : 100 µg de protéines

Conclusions et perspectives

L'application d'un jeûne suivi d'une phase de réalimentation a démontré son efficacité pour affecter la structure du tissu musculaire ce qui explique l'effet majeur de ce type de facteur sur la texture. La faisabilité d'une démarche protéomique dans ce type de protocole est démontrée. La stimulation de croissance, globale et musculaire, associée à la reprise alimentaire permet d'envisager l'identification de marqueurs associés à ces phénomènes par l'analyse du protéome.

Références bibliographiques

- Bugeon J., Lefèvre F., Fauconneau B., 2004. *J. Sci. Food Agric.*, 84, 1433–1441.
 Dunajski E., 1979. *J. Texture Stud.*, 10, 301-318.
 Lopez-De-Leon A, Rojkind M. 1985. *J. Histochem. Cytochem.*, 33, 737-743.

Remerciements

Les auteurs remercient J. Aubin, L. Labbé, I. Quéau et l'ensemble du personnel de la SEMII (Station Expérimentale Mixte INRA-IFREMER, Sizun, 29) pour le suivi de l'expérimentation in vivo et leur aide lors des prélèvements.