

SELECTION GENETIQUE SUR LA REPONSE AU STRESS ET STRESS A L'ABATTAGE: CONSEQUENCES SUR LE PROTEOME MUSCULAIRE ET LIEN AVEC LA QUALITE DE LA CHAIR CHEZ LA TRUITE ARC-EN-CIEL

LEFEVRE F.¹, PABOEUF, G.¹, POTTINGER, T.G.², BUGEON J.¹

1 : INRA, UR1037, SCRIBE, IFR 140, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes cedex France

2 : Centre for Ecology and Hydrology, Lancaster LA1 4YQ, England

Introduction

L'origine génétique des animaux est un des facteurs déterminants des caractéristiques des poissons en élevage (croissance, morphologie...) et de la qualité de leur chair. Une sélection divergente, basée sur la réponse individuelle de truite, en terme de niveau plasmatique de cortisol, suite à un stress aigu de confinement, a permis de montrer que ce paramètre est héritable, et d'obtenir des familles de truites présentant des niveaux de réponse à un stress aigu bien distincts (Pottinger et Carrick, 1999). Les animaux de ces familles divergentes ont été caractérisés pour leur croissance, qui s'avère meilleure pour les poissons répondant faiblement au stress, leur morphologie, et la qualité de leur chair. Les poissons répondant faiblement au stress présentent une chair moins lumineuse, plus jaune, et une résistance mécanique moindre associée à des fibres musculaires plus grosses et une teneur en lipides plus importante (Lefèvre et al., 2008a).

Un stress au moment de l'abattage modifie le métabolisme *post-mortem* et conduit, la plupart du temps chez les salmonidés, à une chair moins ferme et plus pale (Lefèvre et al., 2008b). Un tel effet a été confirmé dans cette expérimentation de façon similaire pour les deux souches sélectionnées. Les protéines permettant d'expliquer potentiellement ces différences de qualité ne sont pas connues.

L'objectif de ce travail était d'identifier les protéines différenciellement exprimées entre les deux souches sélectionnées et ayant subies ou non un stress de confinement juste avant l'abattage et de faire le lien avec les paramètres de qualité déjà mesurés.

Matériels et Méthodes

Vingt truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) répondant fortement (**HR** pour "High Responding") et 20 truites répondant faiblement (**LR** pour Low Responding") à un stress aigu, ont été analysées au stade portion (poids vif moyen 254g). Les poissons ont été abattus soit selon une procédure non stressante (groupe **NS**, anesthésie et coup sur la tête), soit selon une procédure stressante (groupe **S**, 15 min de confinement, anesthésie, coup sur la tête). Des prélèvements de muscle blanc profond dorsal 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'IsoElectroFocalisation (IEF) a été réalisée sur un gradient de pH 3-10 non linéaire (24 cm) sur IPG-Phor (GE Healthcare) et la deuxième dimension sur SDS-PAGE sur des gels à 12,5% d'acrylamide avec un Dalt VI (GE Healthcare). Les gels ont été colorés avec du "silver blue" (Candiano et al. 2004), scannés et analysés avec Image Master Platinum (GE Healthcare). Les spots d'intérêt ont été prélevés manuellement, digérés par la trypsine et les peptides obtenus ont été analysés par spectrométrie de masse MALDI-tof et MS-MS quand le profil le permettait.

Résultats et Discussion

L'analyse des protéines totales en 2D-PAGE a révélé 24 spots protéiques différentiels soit entre les deux souches, soit entre animaux stressés ou non stressés, soit pour une interaction entre ces deux facteurs ($P < 0,05$, 32 spots pour un seuil de $P < 0,10$). Parmi eux, 16 spots ont été identifiés à un seuil $P < 0,05$ et 6 spots avec un seuil $0,05 < P < 0,10$. Le Tableau 1 et la Figure 1 présentent respectivement la liste et la localisation de ces spots identifiés. L'effet souche révèle surtout des protéines surexprimées chez les poissons LR (TnT, Pdlm7, Apo A1, TPI et Nme), seule la FABP-H est surexprimée chez les HR. L'effet d'un stress au moment de l'abattage révèle surtout des protéines surexprimées chez les animaux stressés (desmin, myeloperoxidase, MDH, Apo A1, Nme, MyLC3 et PV). Quelques interactions entre les deux facteurs ont été observées avec une sous-expression de plusieurs spots correspondant à Nme chez les HR-NS et une sous-expression d'un spot de MyLC1 chez les LR-NS. Les différences observées entre les deux souches peuvent être reliées aux caractéristiques différentes des poissons de ces deux lignées, les LR étant plus gros et plus gras que les HR. L'effet d'un stress au moment de l'abattage sur le protéome musculaire a déjà été observé chez la truite arc-en-ciel (Morzel et al., 2006) mais dans cette étude le stress conduisait plutôt à une moindre abondance de protéines de structure, telles que la desmine ou CapZ, ou d'enzymes du métabolisme, telles que l' α -enolase, la TPI ou la pyruvate déshydrogénase. La tendance de surabondance du spot de la cCAH que nous observons chez les animaux NS avait déjà été révélée dans cette précédente étude.

L'analyse en composante principale des données de protéomique et des autres caractéristiques des poissons ou de la qualité de leur chair (Figure 2) montre que le niveau d'expression de certains spots (desmin ou FABP-H) est corrélé positivement à la résistance mécanique des filets crus (M/Pcru) tandis que d'autres (myeloperoxidase, Apo A1) sont corrélés négativement avec ce même paramètre. La résistance mécanique du produit cuit est quant à elle corrélée positivement aux niveaux d'expression de spots tels que Apo A1, Nme ou PV. Ce type d'analyse permet d'envisager la mise en évidence de nouveaux marqueurs de la qualité de la chair de truite

Tableau 1 : Spots différenciellement exprimés identifiés.

n°	Protéine identifiée (espèce)	Effet Souche	Effet Stress	Souche x Stress
1	Desmin (RT)	t. HR>LR	-	-
2	Desmin (RT)	-	S>NS	t. inter
3	Myeloperoxidase (PC)	t. LR>HR	S>NS	t. inter
5	TnT (R. trout)	LR>HR	-	-
6	CU-SCAF (AS)	-	S>NS	-
7	Enolase (RT)	-	t. S>NS	-
8	MDH (OL)	-	S>NS	-
11	TnT (RT)	-	-	*
14	Pdlim7 (RT)	LR>HR	-	-
15	cCAH (RT)	-	t. NS>S	-
16	Apo A1 (RT)	-	-	-
17	Apo A1 (RT)	LR>HR	S>NS	-
18	TPI (RT)	LR>HR	-	-
19	MyLC1 (RT)	-	t. S>NS	LR-NS<
23	Nme (RT)	LR>HR	-	HR-NS<
24	Nme (RT)	-	-	t. inter
25	Nme (RT)	-	t. S>NS	HR-NS<
26	Nme (RT)	-	S>NS	HR-NS< HR-S
27	MyLC3 (AS)	-	S>NS	-
29	FABP-H (RTt)	HR>LR	-	-
30	PV beta 1 (RT)	-	t. S>NS	-
31	PV beta 1 (RT)	-	S>NS	-

t=tendance : 0,05<P<0,10, TnT : troponin T muscle rapide; CU-SCAF : Chromosome undetermined SCAF14228; MDH : Malate dehydrogenase; cCAH : Cytoplasmic carbonic anhydrase; Apo A1 : Apolipoprotein A-I-1 precursor; Triosephosphate isomerase : TPI; MyLC1 et 3 : Myosin light chain 1 et 3, respectivement; Nucleoside diphosphate kinase : Nme; FABP-H : Fatty acid-binding protein, heart; PV : Parvalbumin; RT : rainbow trout; PC : Perche chinoise; AS : Atlantic salmon; OL : Oryzias latipes;
* : P<0,05 pour l'interaction mais pas de différences entre les lots dans la comparaison de moyenne.

Conclusions

Une sélection divergente sur la réponse à un stress aigu et un stress au moment de l'abattage modifient les niveaux d'expression de certaines protéines musculaires confirmant ainsi l'importance des paramètres génétiques et de la maîtrise des conditions d'abattage dans les caractéristiques du muscle blanc de truite arc-en-ciel. La mise en relation de ces modifications avec les paramètres de qualité permet d'envisager l'obtention de nouveaux indicateurs de la qualité de la chair.

Références bibliographiques

- Candiano G., Bruschi M., Musante L., Santucci L., Ghiggeri G.M., Carnemolla B., Orecchia P., Zardi L., Righetti P.G., 2004. Electrophoresis, 25, 1327-1333.
Lefèvre F., Cos I., Pottinger T.G., Bugeon J., 2008a. V.P.C. Sp. Issue 12^{èmes} JSMTV, 177-178.
Lefèvre F., Bugeon J., Auperin B., Aubin J., 2008b. Aquaculture, 284, 81-89.
Morzel M., Chambon C., Lefèvre F., Paboeuf G., Laville E., 2006. J. Agric. Food Chem., 54, 1997-3001.
Pottinger T.G., Carrick T.R., 1999. Gen. Comp. Endocrinol., 116, 122-132.

Remerciements

Les auteurs remercient Dave Abel pour l'élevage des poissons et son aide lors de l'abattage, et Emmanuelle Com, Régis Lavigne et Djibril Ousmanou de la plateforme protéomique Biogenouest® pour leurs conseils techniques et leur encadrement pour l'identification des protéines en spectrométrie de masse. Ce travail a été financé dans le cadre du projet européen Aquafirst n° 513692.

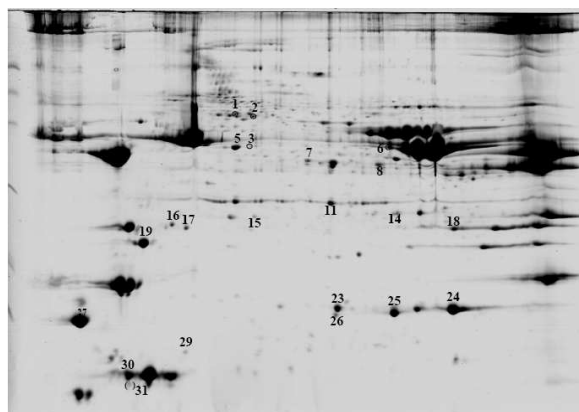


Figure 1 : Localisation des spots d'intérêt identifiés sur un gel 2D-PAGE de muscle blanc de truite, IEF : 3-10NL 24cm, SDS-PAGE : 12,5%.

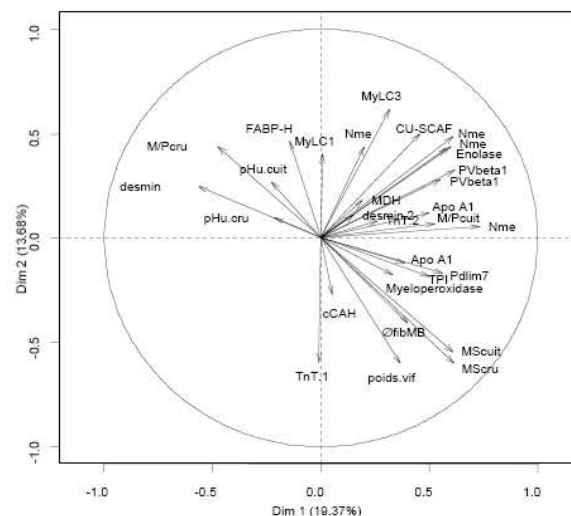


Figure 2 : Analyse en composante principale des spots différenciellement exprimés et des autres paramètres mesurés. M/P: Force max/poids échantillon, MS: teneur en matières sèches, pHu: pH de la chair à 48h *post-mortem*