

La sélection divergente pour la consommation alimentaire journalière résiduelle chez le porc modifie l'expression des gènes dans les tissus adipeux, hépatique et musculaire

Annie VINCENT (1,2), Florence GONDRET (1,2), Christine TREFEU (1,2), Hélène GILBERT (3), Isabelle LOUVEAU (1,2)

(1) INRA, UMR1348 Pegase, F-35590 Saint-Gilles, France

(2) Agrocampus Ouest, UMR1348 Pegase, F-35000 Rennes, France

(3) INRA, UMR444, LGC, F-31326 Castanet-Tolosan, France

(4) INRA, UE967 GEPA, F-17700 Surgères, France

Annie.vincent@rennes.inra.fr

Avec la collaboration du personnel de l'élevage et de l'abattoir (1,2) et d'Yvon BILLON (4)

Changes in the expression of genes in adipose tissue, liver and skeletal muscle in response to divergent selection for residual feed intake in growing pigs

Residual feed intake (RFI) is a selection criterion alternative to feed:gain ratio to improve feed efficiency, and thus to reduce production costs and the negative environmental impacts of pig production. Several studies based on RFI selection experiments have indicated that low RFI is associated with lower body fat content and decreased meat quality; these differences might arise from tissue metabolic reorientations for the storage and use of nutrients. To gain insights into the molecular mechanisms underlying these differences, gene expression profiles in liver, skeletal muscle and subcutaneous adipose tissue were examined in 16 pigs (115 kg) from lines divergently selected for RFI. Transcriptomics analyses using a commercial microarray (Agilent-026440 *Sus scrofa* Oligo Microarray v2, 44K) revealed large differences between high and low RFI pigs in the three tissues examined. The number of oligonucleotides found to be differentially expressed ($P < 0.01$) between lines was much higher in muscle (1013) than in liver (809) and adipose tissue (657). Gene functional classification indicated that pigs selected for low RFI generally exhibited a higher expression level of genes known to be involved in mRNA translation in liver and muscle, and of genes associated with mitochondrial energy metabolism in adipose tissue. In contrast, the expression of genes linked to amino acid catabolism in liver was lower in low RFI than in high RFI pigs. These suggested differences in amino acid synthesis and protein catabolism may be involved in the differences in body composition observed between the two RFI lines.

INTRODUCTION

La consommation moyenne journalière résiduelle (CMJR) a été proposée comme alternative à l'indice de consommation (IC) pour sélectionner des porcs en croissance sur l'efficacité alimentaire, et par conséquent réduire les coûts de production et l'impact environnemental associés à la production porcine.

Les expériences de sélection sur la CMJR montrent une réduction de l'engraissement des carcasses chez les porcs les plus efficaces (Gilbert *et al.*, 2007) et une détérioration de la qualité de viande (Lefaucheur *et al.*, 2011).

Elles suggèrent des réorientations métaboliques impliquées dans le stockage et l'utilisation de l'énergie alimentaire (Le Naou *et al.*, 2012).

Pour mieux comprendre les mécanismes impliqués dans ces différences, l'expression des gènes dans les tissus adipeux, hépatique et musculaire a été étudiée chez des porcs de 115 kg de poids vif moyen appartenant à deux lignées Large White issues d'une sélection divergente sur la CMJR.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental, analyse des performances et collecte des échantillons

Une expérience de sélection divergente sur la CMJR mesurée entre 35 et 95 kg de poids vif a été conduite à l'INRA chez des porcs de race Large White (Gilbert *et al.*, 2007). Dans cette étude, seize porcs femelles issus des générations 6 et 7 de sélection (divergence génétique pour la CMJR d'environ 120 g/j d'aliment entre animaux des deux lignées de cet essai) ont été élevés à l'INRA de Saint-Gilles (UMR Pegase). Du début de la période d'engraissement (68 jours) à l'abattage, les animaux des deux lots expérimentaux à CMJR élevée (CMJR+) ou faible (CMJR-) ont été logés en cases individuelles et nourris à volonté avec le même aliment (16,5% de protéines ; 4,2% de matières grasses ; 8,4 g/kg de lysine digestible ; 2,31 Mcal/kg d'énergie nette) et avec libre accès à l'eau. Les animaux ont été abattus à l'abattoir expérimental de Saint-Gilles à un poids moyen de 115 kg deux heures après leur dernier repas. Un échantillon de tissu adipeux sous-cutané dorsal (TASC) a été prélevé avant échaudage (dernière côte). Après échaudage et

fente de la carcasse, des échantillons de foie et de muscle long dorsal (LD ; dernière côte) ont été prélevés. Après congélation immédiate, ces échantillons ont été conservés à -70°C jusqu'à la réalisation des analyses. L'épaisseur de lard dorsal (ELD) a été calculée comme la moyenne des mesures (CGM, Sydel, Lorient) sur la carcasse aux sites G1 et G2. Le TMP a été calculé à partir des mesures CGM d'épaisseur de gras et de muscle (Daumas, 2008). Les performances de croissance et les données d'abattage ont été analysées par ANOVA (modèle GLM) avec le logiciel SAS (SAS Inst. Inc., 1999-2000. Version 8.1, Cary, NC) en considérant l'effet du lot expérimental.

1.2. Analyse du transcriptome

Les ARN totaux ont été extraits (Trizol, Invitrogen) puis purifiés sur colonnes (Nucleospin RNAII, Macherey-Nagel). La quantification des ARN a été réalisée par spectrophotométrie (NanoDrop®) et leur qualité a été vérifiée à l'aide du Bioanalyseur Agilent 2100. L'expression des gènes a ensuite été mesurée à partir d'une puce d'oligonucléotides (Agilent-026440 *Sus scrofa* OligoMicroarray v2, 44K, GPL 15007). Les échantillons ont été marqués au Cy3 à l'aide d'un kit, Agilent). Après hybridation, les puces ont été numérisées à l'aide du scanner de lames Agilent G2505B. Le prétraitement des données brutes, la normalisation et les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R version 2.10.0 (R Development Core Team, 2008; LIMMA ; <http://www.cran.r-project.org>). En bref, une analyse de variance a été réalisée pour chaque tissu pour tester l'effet du génotype. Un seuil de probabilité $P < 0,01$ a été retenu pour établir une liste de gènes présentant une différence d'expression entre les deux lots. A partir de cette liste, une analyse fonctionnelle a été réalisée à l'aide de l'outil DAVID (the Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID) bioinformatics resources (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/home.jsp> ; Huang *et al.*, 2009). Les groupes fonctionnels significativement enrichis ($P < 0,05$) ont été retenus.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 1 -Données d'abattage

	CMJR- n=8	CMJR+ n=8	P
Âge abattage (jours)	168,5	158,0	< 0,001
Poids abattage (kg)	115,8	114,9	> 0,1
IC (kg aliment/kg gain)	2,52	2,90	< 0,001
ELD (mm)	17,1	19,8	< 0,01
TMP (%)	59,0	57,2	≤ 0,05

Les porcs CMJR- sont abattus en moyenne 10 jours plus vieux que les animaux CMJR+ (Tableau 1) au poids vif de 115 kg, ce qui est supérieur aux différences de vitesse de croissance généralement rapportées entre ces lignées ; ils sont plus

maigres que leurs congénères CMJR+ comme rapporté précédemment (Le Naou *et al.*, 2012). L'analyse des transcriptomes révèle des différences importantes dans l'expression des gènes entre les deux lignées et pour les trois tissus considérés. Le nombre d'oligonucléotides différemment exprimés ($P < 0,01$) est plus élevé dans le muscle (1013) et le foie (809) que dans le tissu adipeux sous-cutané (657). L'analyse des catégories fonctionnelles montre que les porcs CMJR- ont des niveaux d'expression plus élevés pour les gènes associés à la traduction des ARNm dans le foie et le muscle, et pour les gènes associés au métabolisme énergétique mitochondrial dans le tissu adipeux (Tableau 2).

A l'inverse, les gènes du catabolisme des acides aminés sont plus faiblement exprimés dans le foie de ces animaux comparativement aux porcs CMJR+. Ces résultats suggèrent l'existence de différences de synthèse des acides aminés et de catabolisme protéique, qui pourraient expliquer les différences de composition corporelle entre lignées.

Tableau 2- Principales fonctions des gènes surexprimés chez les porcs CMJR- et CMJR+ (nombre de gènes)

	CMJR-	CMJR+
Foie	Traduction (9) Développement du système immunitaire (8)	Oxydo-réduction (16) Catabolisme des acides aminés (5) Métabolisme lipidique (3)
Muscle	Traduction (41) Différentiation musculaire (9)	Oxydo-réduction (19) Réponse immunitaire (7) Métabolisme énergétique (10)
Tissu adipeux	Oxydo-réduction (22) Métabolisme énergétique (11) Catabolisme des acides aminés (4)	Phosphorylation des protéines (12) Développement (5) Régulation cycle cellulaire (7)

CONCLUSION

Nos résultats montrent que la sélection sur la CMJR, indicateur d'efficacité alimentaire, modifie largement l'expression des gènes dans les tissus, suggérant des différences dans le métabolisme intermédiaire induites par la sélection. L'analyse plus approfondie des gènes mis en évidence associée à des données d'analyse protéomique en cours devraient permettre de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans le contrôle de l'adiposité corporelle en lien avec l'efficacité alimentaire.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été financée par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR - ANR-08-GENM038 PIG_FEED). Les auteurs remercient F. Moreews (équipe SIGENAE, INRA) pour l'annotation de la puce d'oligonucléotides.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Daumas G., 2008. Taux de muscle des pièces et appréciation de la composition corporelle des carcasses. Journées Rech. Porcine, Paris. p 61-68.
- Gilbert H., Bidanel J.P., Gruand J., Caritez J.C., Billon Y., Guillouet P., Lagant H., Noblet J., Sellier P., 2007. Genetic parameters for residual feed intake in growing pigs, with emphasis on genetic relationships with carcass and meat quality traits. J. Anim. Sci., 85, 3182-3188.
- Huang D.W., Sherman B.T., Lempicki R.A., 2009. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. Nat. Protoc. 4, 44-57.
- Lefaucheur L., Lebret B., Ecolan P., Louveau I., Damon M., Prunier A., Billon Y., Sellier P., Gilbert H., 2011. Muscle characteristics and meat quality traits are affected by divergent selection on residual feed intake in pigs. J. Anim. Sci. 89, 996-1010.
- Le Naou T., Le Floc'h N., Louveau I., Gilbert H., Gondret F., 2012. Metabolic changes and tissue responses to selection on residual feed intake in growing pigs. J. Anim. Sci. 2012 Aug 7, doi: 10.2527/jas.2012-5226.