

Dossier :

Le déterminisme génétique du développement musculaire

INRA - Groupe Croissance et différenciation tissulaire

B. FAUCONNEAU
INRA Physiologie
des Poissons,
Campus de Beaulieu
35042 Rennes Cedex

Les rendements en viande et leur qualité sont étroitement liés au développement musculaire. Les caractéristiques quantitatives et qualitatives des muscles se mettent en place essentiellement dans les phases embryonnaire et néonatale du développement musculaire. Le nombre de fibres musculaires, qui conditionne la taille adulte des muscles, est ainsi déterminé très précocement. Une part du pourcentage des différents types de fibres, qui conditionnent les caractéristiques contractiles et métaboliques des muscles, et donc leur aptitude à la transformation en viande, est également déterminée précocement. Les phases post-natales d'élevage, et notamment la puberté, contribuent pour une part plus modeste à la détermination des caractéristiques qualitatives. Le contrôle du développement musculaire dans les stades précoces représente donc un enjeu important pour la maîtrise de la production de viande.

Les facteurs qui régulent le développement des muscles dans les stades précoces sont encore peu connus. Les facteurs intrinsèques, et surtout l'origine génétique, jouent un rôle prépondérant. L'INRA s'intéresse au déterminisme génétique du développement musculaire chez différentes espèces d'intérêt zootechnique depuis les volailles jusqu'aux bovins. Les recherches s'appuient en particulier sur des modèles génétiques (souches, lignées, variants génétiques) ayant des performances de croissance globale et/ou des potentialités de développement musculaire très différentes. La confrontation des résultats obtenus sur le développement musculaire précoce de modèles génétiques chez différentes espèces est particulièrement intéressante sur deux points : l'apport de ces modèles génétiques sur la connaissance des mécanismes de différenciation musculaire précoce et les indications fournies par ces modèles sur l'hypothèse d'un déterminisme précoce de la croissance musculaire.

Au sein de la Direction Scientifique des Productions Animales, une réflexion propre sur le contrôle de la croissance et du développement des animaux domestiques a été menée grâce à des actions de type AIP et à la constitution d'un groupe Croissance en 1993. Ce groupe a

organisé une réunion scientifique ayant pour objectif de faire l'état des recherches menées à l'INRA sur le contrôle du développement musculaire de modèles génétiques dans différentes espèces domestiques. Les réflexions issues de cette réunion et les principaux résultats qui y ont été présentés font l'objet du présent dossier. Ce dossier est introduit par une contribution générale sur l'intérêt des modèles pour la connaissance de la variabilité génétique globale du développement musculaire. Une autre contribution, réalisée par un chercheur étranger, permet à titre introductif d'insister sur l'importance relative des facteurs environnementaux par rapport aux facteurs génétiques sur la variabilité globale du développement musculaire précoce. Les contributions suivantes font le point des connaissances acquises par des équipes INRA sur le porc, le bovin, le lapin et la volaille.

L'ensemble des résultats montre que, comparées aux lignées ou souches à croissance lente, les lignées ou souches à croissance rapide possèdent une aptitude plus importante à un développement hyperplasique du muscle dans les phases fœtale (bovins, porc, poulet) et néonatale (dinde). Il n'est pas encore établi s'il s'agit d'une susceptibilité intrinsèque des cellules précurseurs aux facteurs qui contrôlent le développement musculaire ou si des différences dans l'expression de facteurs humoraux ou paracrines sont le support de cette aptitude. Ces différences d'intensité dans le développement musculaire sont parfois associées à des différences de précocité.

Les travaux présentés permettent notamment de définir des critères directs ou indirects d'évaluation du nombre et du type de fibres de certains muscles dans un objectif d'amélioration quantitative et qualitative de la viande par sélection génétique, mais aussi par la maîtrise des conditions environnementales particulières dans les jeunes stades de développement. Il apparaît également important d'approfondir ce type de recherche pour identifier s'il existe des gènes plus spécifiquement responsables des différences de développement musculaire dans les stades précoces et dans les phases néonatales. Ces gènes

pourraient par exemple être utilisés comme gènes marqueurs en sélection génétique sur la croissance musculaire. Il semblerait enfin intéressant de tenter d'établir un lien entre les travaux sur le développement musculaire

et sa réceptivité à des facteurs de croissance et les quelques gènes majeurs impliqués dans des défauts de qualité (gène halothane) ou des caractéristiques qualitatives du muscle (potentiel glycolytique, génotype culard).

G. RENAND,
P. SELLIER
INRA Station
de Génétique
Quantitative
et Appliquée 78352
Jouy-en-Josas Cedex

Variabilité génétique du développement tissulaire. Apport des modèles génétiques

Comme tout autre caractère zootechnique, la croissance musculaire observée au sein d'une même espèce varie considérablement d'un animal à l'autre. Les facteurs à l'origine de cette variabilité sont très nombreux.

Variabilité entre individus

Certains de ces facteurs, tels que l'âge de l'animal, son sexe, son régime alimentaire, etc, sont clairement identifiés et leurs effets peuvent être quantifiés. Leur étude permet d'analyser les mécanismes biologiques mis en jeu par l'animal en réponse à leurs variations. Toutefois, même avec un dispositif expérimental parfaitement maîtrisé, il subsiste une variabilité non négligeable entre individus soumis aux mêmes conditions de milieu, toutes choses étant égales par ailleurs. Cette variabilité entre individus (ou variabilité phénotypique) trouve son origine non seulement dans le patrimoine génétique des animaux, mais aussi dans les effets de tous les facteurs du milieu qui ne peuvent être ni identifiés, ni quantifiés, et qui interviennent dès la fécondation jusqu'au stade de la mesure expérimentale. La part relative de cette variabilité individuelle liée au déterminisme génétique est appréhendée par le coefficient d'héritabilité (h^2) égal au rapport de la variance génétique à la variance phénotypique (somme de la variance génétique et de la variance de milieu résiduelle).

La croissance musculaire dépend de l'expression d'un nombre élevé de gènes. Ceux-ci peuvent intervenir directement sur les mécanismes mis en jeu en modulant la durée et l'intensité des différentes transcriptions du message génétique. De plus, l'existence d'interactions entre fonctions biologiques implique qu'un nombre de gènes encore plus élevé est susceptible d'agir indirectement par leur action sur l'environnement cellulaire.

Origine de la variabilité génétique

La variabilité génétique trouve son origine dans l'existence d'une variabilité des messages transcrits au niveau d'un certain

nombre de gènes du fait de l'existence d'un polymorphisme moléculaire (au moins deux copies différentes ou allèles). Ce polymorphisme intervient sur la variabilité à travers l'amplitude des effets et la fréquence des différents allèles.

Modèle infinitésimal

Parmi tous les gènes qui peuvent intervenir sur l'expression d'un caractère, il suffit que certains soient polymorphes, même en nombre réduit, pour que l'ensemble des valeurs génétiques possibles présente une distribution proche de la normalité (figure 1). La génétique quantitative est fondée en règle générale sur un modèle polygénique infinitésimal qui suppose l'existence d'un nombre élevé de gènes, chacun ayant un effet de petite amplitude sur la valeur génétique finale. Dans un tel modèle, les valeurs génétiques se distribuent selon une loi normale.

Gènes majeurs

Toutefois il a été montré qu'un certain nombre de gènes pouvaient avoir un effet particulièrement marqué et pouvaient « expliquer » une part importante de la variabilité génétique d'un caractère. Ils ont été nommés gènes majeurs : la différence entre les individus homozygotes qui possèdent soit une double copie de l'allèle favorable au gène considéré, soit une double copie de l'allèle défavorable, peut être bien supérieure à l'écart-type phénotypique du caractère. Dans les espèces domestiques destinées à la production de viande, les gènes suivants ont été mis en évidence et éventuellement exploités : le gène du nanisme chez la poule (revue de Mérat 1990), le gène culard chez les bovins (revue de Ménissier 1982), le gène de la sensibilité à l'halothane (Ollivier *et al* 1975) et le gène de la « viande acide » (potentiel glycolytique du muscle très élevé, LeRoy *et al* 1990) chez le porc.

Variabilité génétique et sélection

L'exploitation de la variabilité génétique par les organismes de sélection consiste en fait à augmenter la fréquence des allèles favorables dans une population en ne retenant comme reproducteurs que les individus qui

présentent les meilleures valeurs génétiques individuelles. Pour les caractères liés à la croissance et à la composition corporelle, les valeurs relativement élevées des coefficients d'héritabilité ($h^2 > 0,30$) permettent d'expliquer les réponses significatives à la sélection pratiquée dans diverses populations sans pour autant qu'il soit possible d'expliquer les raisons de ces réponses au niveau moléculaire : quels allèles de quels gènes ? L'existence d'un gène majeur permet d'obtenir une réponse encore plus rapide si son effet est vraiment très marqué. Dans le cas d'un gène majeur à effet plus discret, une réponse accrue peut être obtenue si le gène peut être sélectionné directement (gène connu et allèles facilement détectables) ou sélectionné indirectement à l'aide d'un gène marqueur (gène lié dont les allèles sont facilement détectables).

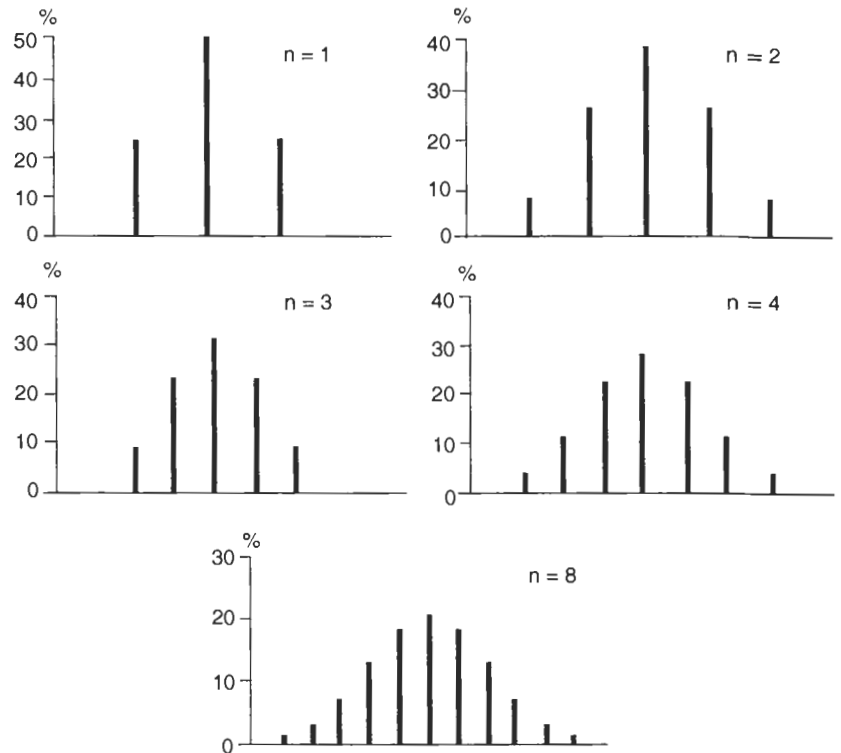
Prédiction des différences génétiques à partir des paramètres génétiques

Les corrélations génétiques entre caractères trouvent leur origine dans le fait que des gènes peuvent intervenir directement ou indirectement dans l'expression de plusieurs fonctions (effets pléiotropiques). Dans des populations soumises à la sélection, les corrélations génétiques sont également dues à l'existence de déséquilibres de liaison entre gènes : soit parce qu'il existe une liaison physique suffisamment étroite pour ne pas être systématiquement détruite par les recombinaisons chromosomiques, soit parce que la sélection ou la dérive génétique a modifié simultanément les fréquences alléliques de gènes a priori indépendants.

La prédiction des modifications possibles dans une population par la sélection des reproducteurs nécessite l'estimation des paramètres génétiques (coefficients d'héritabilité et corrélations génétiques) du caractère étudié et des composantes de la fonction biologique mise en jeu. Il est également possible de prédire les réponses corrélatives sur divers caractères non pris en compte dans la sélection grâce à l'estimation des variabilités génétiques conjointes de ces différents caractères. Cette démarche a été choisie pour connaître les éventuelles modifications des caractéristiques du muscle à la suite d'une sélection visant à accroître la croissance musculaire chez les bovins. En effet, ces caractéristiques musculaires à l'abattage étant en relation avec les qualités de la viande, il est important de savoir si la poursuite ou l'intensification de la sélection sur la croissance musculaire peut avoir des conséquences (favorables ou défavorables) dans nos races à viande spécialisées.

Deux expériences, soutenues par le programme « Agriculture-Demain », ont été menées en collaboration étroite avec le Laboratoire Croissance et Métabolisme des Herbivores. La première a porté sur 147 taurillons issus de 15 pères contrôlés sur descendance

Figure 1. Distribution des valeurs génétiques possibles pour un caractère en fonction du nombre de gènes (n) qui déterminent ce caractère (chaque gène possède 2 allèles de même fréquence, à effets additifs et égaux).

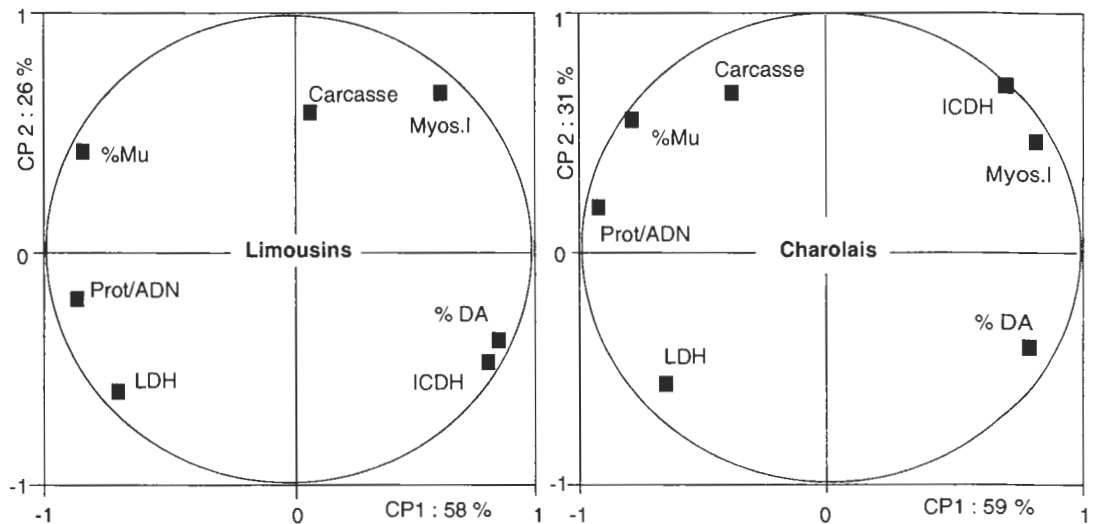


par une unité de sélection en race Limousine. La deuxième est actuellement réalisée en race Charolaise sur le domaine expérimental de Bourges (expérience « Vachotron II ») où, pour l'instant, 318 taurillons issus de 60 pères ont été contrôlés. Dans ces deux expériences, les performances de croissance et d'abattage ont été étudiées simultanément avec les caractéristiques musculaires suivantes : teneur en ADN et rapport protéines/ADN, activités enzymatiques du métabolisme glycolytique (LDH) et du métabolisme oxydatif (ICDH), type contractile avec la proportion de chaînes lourdes de la myosine de type I (lente). Malgré des effectifs relativement modestes, les deux expériences donnent des résultats proches sur la relation entre le type de fibres et la composition corporelle : la proportion de fibres rapides et glycolytiques augmente avec le rapport muscle/gras (Renand *et al* 1994 et 1995, figure 2).

Comparaison de sous-populations génétiquement distinctes

Pour étudier la croissance musculaire et les phénomènes biologiques qui lui sont associés, il est possible d'envisager non plus une approche quantitative de la variabilité mais une comparaison de deux échantillons d'individus qui se distinguent par des niveaux génétiques de croissance musculaire très différents. L'avantage d'une telle approche basée

Figure 2. Représentation des relations génétiques entre performances d'abattage (poids de la carcasse, %Mu : teneur en muscles et %DA : teneur en dépôts adipeux) et caractéristiques de différenciation du muscle long dorsal (rapport protéines/ADN, Myos.I : pourcentage de chaînes lourdes de la myosine de type I, ICDH : activité de l'isocitrate déshydrogénase et LDH : activité de la lactate déshydrogénase). Projection des variables sur les 2 premiers axes de l'analyse en composantes principales.



sur des moyennes et non pas des variances est de pouvoir travailler sur des effectifs de taille plus réduite. Il faut toutefois que la différence entre les deux échantillons soit nettement supérieure à la variabilité individuelle intra échantillon.

Comparaison de lignées sélectionnées divergentes

Ces deux échantillons peuvent être issus d'une expérience de sélection divergente dans deux lignées issues d'une même population initiale. Les différences observées peuvent être considérées a priori comme des réponses corrélatives à la sélection pratiquée. Des précautions doivent être prises car les réponses (directes ou corrélatives) à la sélection dépendent des allèles présents dans la population initiale et de la taille des lignées expérimentales : il peut y avoir des dérives aléatoires des fréquences alléliques qui ne sont pas forcément répétables d'une expérience de sélection à l'autre. A moins qu'il existe un gène à effet majeur en ségrégation dans la population initiale, les différences observées entre lignées résultent du cumul d'un nombre important d'allèles favorables sans qu'il soit possible de les identifier. De plus, cette démarche est forcément limitée car la comparaison des réponses corrélatives sur deux caractères distincts ne permet pas de conclure sur les relations entre ceux-ci : chacun d'eux ne peut être que rapporté au critère de sélection. Ces expériences étant forcément longues à mettre en place, il est difficile de les répéter pour étudier un nouveau critère de sélection.

Comparaison de races ou de souches

Pour s'affranchir de cette contrainte très forte liée à la réalisation préalable d'une expérience de sélection visant à créer une diffé-

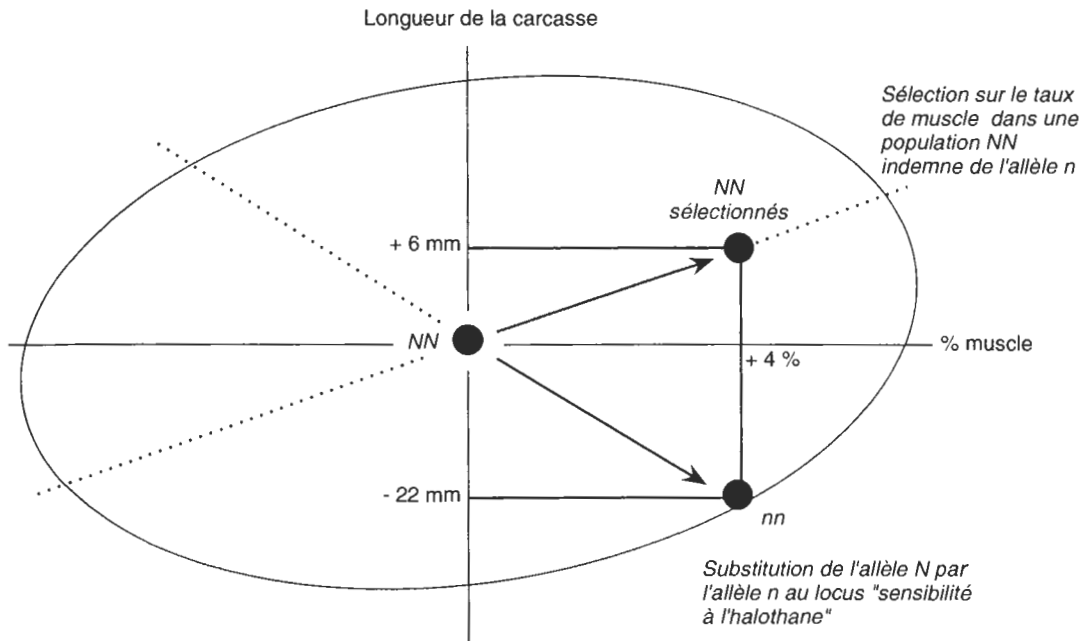
rence sur un caractère donné, les échantillons sont parfois choisis dans des races ou des souches déjà existantes qui se distinguent nettement quant à leur performances de croissance ou de composition corporelle. Même s'il est possible de procéder à une description minutieuse des différences, leur interprétation reste problématique puisque chaque race ou souche résulte d'un processus de sélection différent à partir de populations initiales différentes. Il est ainsi difficile d'établir une relation entre les divers caractères contrôlés : ils peuvent avoir évolué différemment en réponse à des critères de sélection différents. Les différences observées risquent d'être d'une utilité limitée pour prédire l'évolution des composantes de la croissance et des caractères associés si une sélection est appliquée dans une population.

Comparaison de génotypes différents pour un gène majeur

Enfin, il est possible d'utiliser des animaux qui se distinguent par des génotypes différents pour un gène majeur en comparant les homozygotes extrêmes. Dans ce cas, l'étude détaillée des fonctions biologiques impliquées doit permettre la mise en évidence du gène et de la mutation responsable du polymorphisme. Ce type d'analyse nécessite la localisation de la région du génome impliquée à l'aide d'études de ségrégation conjointe du gène majeur et de gènes marqueurs afin de restreindre le champ des gènes candidats possibles. Cette double approche a permis de mettre en évidence la mutation à l'origine de la sensibilité à l'halothane chez le porc (gène codant pour le récepteur de la ryanodine, Fujii *et al* 1991) et les mutations responsables du nanisme chez la poule (gène codant pour le récepteur de l'hormone de croissance, Burnside *et al* 1991). La recherche des gènes res-

On peut mettre en évidence les mécanismes d'expression de la croissance musculaire en comparant des populations génétiquement très différentes.

Figure 3. Représentation des effets d'un gène majeur (sensibilité à l'halothane) et de ceux d'une sélection du taux de muscle chez le porc, sur ce taux et sur la longueur de la carcasse (génotype normal : NN, génotype sensible : nn).



ponsables de la « viande acide » chez le porc et de l'hypertrophie musculaire chez les bovins est en cours grâce à l'établissement des cartes génétiques chez ces deux espèces. Le premier a été localisé sur le chromosome 15 du porc (Milan *et al* 1995) et le second sur le chromosome 2 des bovins (Charlier *et al* 1995).

Le gène majeur étudié peut avoir des effets pléiotropiques sur différents caractères qui induisent des relations entre ces derniers lorsqu'on compare les génotypes, mais ces relations peuvent être différentes des relations dues à la variabilité polygénique. A titre d'illustration, chez le porc, l'animal homozygote au gène de sensibilité à l'halothane (nn) présente une teneur en muscles plus élevée (+4 %) et une carcasse plus courte (-22 mm) que l'animal homozygote (NN), alors que les valeurs des corrélations génétiques estimées montrent qu'une sélection

pour accroître la teneur en muscles de 4 % doit simultanément accroître la longueur de la carcasse de 6 mm (Tibau i Font et Ollivier 1984, Gueblez *et al* 1995, figure 3). Ainsi, si l'effet d'un gène à effet majeur peut être précisément décrit, il est imprudent d'extrapoler systématiquement les résultats obtenus pour expliquer la variabilité génétique dans une population donnée.

En conclusion, si la comparaison de sous-populations génétiquement distinctes ainsi que l'étude des modes d'action de certains facteurs de variation du milieu, sont d'un intérêt indéniable pour mettre en évidence les mécanismes mis en jeu dans l'expression de la croissance musculaire, seule l'estimation des paramètres génétiques des composantes de cette croissance musculaire permet de quantifier leur possible évolution lors d'un processus de sélection dans une population.

Mais, dans les populations sélectionnées, l'estimation des paramètres génétiques reste indispensable pour prédire l'évolution des performances.

Références bibliographiques

Burnside J., Shuenn S.L., Cogburn L.A., 1991. Molecular cloning of the chicken growth hormone receptor complementary deoxyribonucleic acid : mutation of the gene in sex-linked dwarf chicken. *Endocr.*, 128, 3183-3192.

Charlier C., Coppieters W., Farnir F., Grobet L., Leroy P.L., Michaux C., Mni M., Schwens A., Vanmanshoven P., Hanset R., Georges M., 1995. The *mh* gene causing double-muscling in cattle maps to bovine Chromosome 2. *Mammalian Genome*, 6, 788-792.

Fujii J., Otsu K., Zorgato F., DeLeon S., Khanna V.K., Weiler J.E., O'Brien P.J., MacLennan D.H., 1991. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science*, 253, 448-451.

Gueblez R., Pabœuf F., Sellier P., Bouffaud M., Boulard J., Brault D., Le Tiran M.H., Petit G., 1995. Effet du génotype halothane sur les performances d'engraissement, de carcasse et de qualité de la viande du porc charcutier. *Journées Rech. Porcine en France*, 27, 155-164.

LeRoy P., Naveau J., Elsen J.M., Sellier P., 1990. Evidence for a new major gene influencing meat quality in pigs. *Genet. Res.*, 55, 33-40.

Ménissier F., 1982. Present state of knowledge about the genetic determination of muscular hypertrophy or the double muscled trait in cattle. *Current Topics Vet. Med. Anim. Sci.*, 16, 387-428.

Mérat P., 1990. Effets associés et utilisation de gènes majeurs réduisant la taille chez la poule domestique. *INRA Prod. Anim.*, 3, 151-158.

Milan D., LeRoy P., Woloszyn N., Caritez J.C., Elsen J.M., Sellier P., Gellin J., 1995. The RN locus for meat quality maps to pig chromosome 15. *Genet. Sel. Evol.*, 27, 195-199.

Ollivier L., Sellier P., Monin G., 1975. Déterminisme génétique du syndrome d'hyperthermie maligne chez

le porc de Piétrain. *Ann. Génét. Sél. Anim.*, 7, 159-166.

Renand G., Berge P., Picard B., Robelin J., Geay Y., Krauss D., Ménissier F., 1994. Genetic parameters of beef production and meat quality traits of young Charolais bulls progeny of divergently selected sires. 5th World Congress Genet. applied Livest. Prod., 19, 446-449.

Renand G., Jurie C., Robelin J., Picard B., Geay Y., Ménissier F., 1995. Genetic variability of muscle biological characteristics of young Limousin bulls. *Genet. Sel. Evol.*, 27, 287-298.

Tibau i Font J., Ollivier L., 1984. La sélection en station chez le porc. *Bull. Tech. Dép. Génét. Anim.* n° 37, INRA, Versailles, 69 p.

N.C. STICKLAND
The Royal Veterinary
College, University of
London, London, U.K.

Rôles de la génétique et de l'environnement dans la variabilité du développement musculaire chez le porc et le cobaye

Dans de nombreuses espèces et notamment chez le porc, les souches à croissance rapide se caractérisent par un nombre plus important de fibres musculaires que les souches à croissance lente. Une étude récente sur la variabilité intra population du développement musculaire chez le porc (Dwyer *et al* 1993) montre que le taux de croissance journalier jusqu'à 25 kg de poids vif est corrélé avec le poids à la naissance, mais pas avec le nombre de fibres des muscles. Par contre, de 25 à 80 kg de poids vif, le taux de croissance journalier est corrélé avec le nombre de fibres musculaires, mais pas avec le poids à la naissance. De plus, au cours de cette période, il existe une corrélation significative entre l'efficacité alimentaire et le nombre de fibres musculaires. Le nombre de fibres musculaires est déterminé au cours de la vie fœtale avant la naissance et résulte des processus de différenciation myogénique en terme de générations primaire et secondaire de myofibrilles. La connaissance de ces

processus est déterminante pour identifier les facteurs susceptibles de contrôler le nombre de fibres à la naissance.

Les fibres musculaires se développent avant la naissance en deux populations distinctes. Les fibres primaires résultent de la fusion des myoblastes à un stade très précoce et fournissent une trame pour la formation d'une population plus importante de myotubes secondaires. Les techniques de révélation histo-chimique de l'activité ATPasique permettent de classer les fibres primaires en fibres de type lent et les fibres secondaires en fibres de type rapide (photo 2). Au cours du développement fœtal tardif et d'une partie de la croissance post-natale, certaines fibres secondaires deviennent de type lent et ainsi apparaissent des faisceaux de fibres lentes (provenant chacun d'une seule fibre primaire) entourés de fibres rapides (photo 1). Cet agencement en faisceaux de fibres persiste au cours de la croissance post-natale du porc et, en consé-

Photo 1

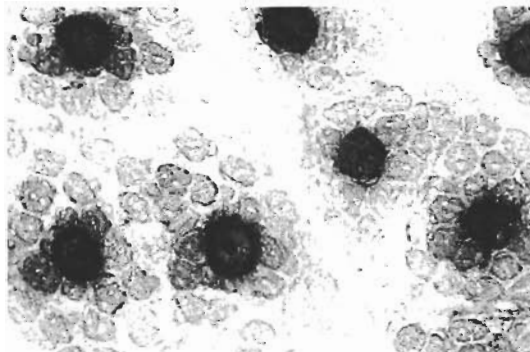
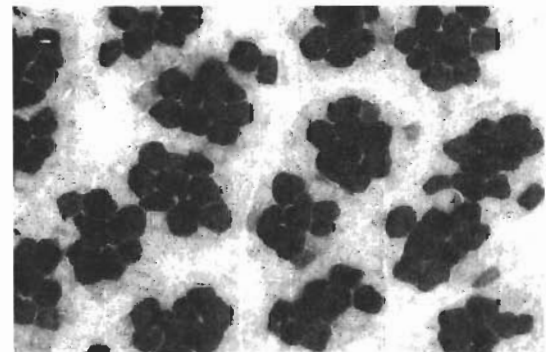


Photo 2



Coupe transversale de muscle de porc à un stade fœtal (photo 1) et à la taille commerciale (photo 2). Activité actomyosine ATPasique révélée après pré-incubation à pH basique permettant de révéler les fibres de type rapide.

quence, il est possible d'évaluer, même chez le porc adulte, le nombre de fibres primaires et secondaires qui ont participé au développement d'un muscle donné.

Dans une étude réalisée sur 48 porcs issus de 5 portées, Dwyer et Stickland (1991) ont montré que le nombre de fibres primaires est responsable de la plus grande part de la variation entre portées du nombre total de fibres d'un muscle. Le nombre de fibres mesuré au cours de la gestation sur des animaux de petite taille et de grande taille d'une même portée (en excluant les animaux attardés) n'est pas significativement différent en ce qui concerne les fibres primaires, mais est différent pour les fibres secondaires à partir du 65^e jour de gestation. Les porcs de petite taille dans une même portée ont certainement subi une sous-nutrition *in utero* et ceci est particulièrement mis en évidence par la forme en U de la distribution des poids des fœtus le long de chaque corne utérine. La diminution de la multiplication du nombre de fibres secondaires résulterait d'une part de la taille réduite des fibres primaires, ce qui restreint la surface pour la formation de fibres de deuxième génération, et, d'autre part, d'une moindre capacité de multiplication des myoblastes. L'ensemble de ces résultats suggèrent que le nombre de fibres primaires est certainement plus déterminé génétiquement que le nombre de fibres secondaires, qui, lui, serait plus sensible aux facteurs de l'environnement *in utero*, notamment la nutrition.

Les mécanismes par lesquels la sous-nutrition affecte la détermination du nombre de fibres ont été étudiés chez le cobaye. Chez cette espèce, la restriction alimentaire à 40 % de l'alimentation *ad libitum* au cours de la totalité de la gestation entraîne une réduction de 33 % de la surface d'échange du placenta et, en conséquence, une réduction du poids du fœtus vers la naissance (Dwyer *et al* 1992). La sous-nutrition diminue significativement les niveaux circulants d'IGF1 et d'IGF2 du sérum maternel et du sérum fœtal. Le taux de cortisol circulant semble inversement corrélé avec les niveaux circulants d'IGF1, alors que les hormones thyroïdiennes ne semblent pas jouer un rôle important avant la fin de la ges-

tation (Dwyer et Stickland 1992). Dans une expérience récente réalisée également chez le cobaye, Dwyer *et al* (1995) ont montré que la restriction alimentaire de 40 % depuis la fécondation jusqu'à 25 jours de gestation (suivie d'une alimentation *ad libitum*) était suffisante pour obtenir une diminution significative de 20 à 28 % du nombre de fibres musculaire à la naissance, cette diminution étant équivalente à celle observée sur des femelles restreintes pendant toute la gestation (jusqu'à 70 j). Une alimentation inadaptee pendant des périodes critiques du début de la gestation peut donc avoir un effet important sur le développement des fibres musculaires, réalisé plus tardivement au cours de la gestation. Le maximum de la formation des fibres secondaires est en effet observé entre 35 et 45 j de gestation.

Le plus faible nombre de fibres chez les porcelets de faible poids à la naissance pourrait donc résulter d'une sous-nutrition *in utero*, particulièrement au cours du début de la gestation. Une expérience a été mise en place chez le porc pour tenter d'augmenter le nombre de fibres musculaires chez les porcelets (Dwyer *et al* 1994). L'alimentation des truies a été doublée à différentes périodes de la gestation : 25 à 50 j, 50 à 80 j ou 25 à 80 j. Le ratio fibres secondaires / fibres primaires a été plus élevé chez les porcelets issus des truies suralimentées que chez ceux issus des truies témoins. De plus, la croissance après la naissance (de 70 j jusqu'à l'abattage) des porcelets issus des truies supplémentées sur toute la période de gestation (les autres lots supplémentés n'ont pas été mesurés) est plus élevée de 10 % et l'efficacité alimentaire est augmentée de 8 % par rapport aux porcelets témoins.

En conclusion, il est suggéré que l'amélioration du nombre de fibres secondaires par une alimentation renforcée des truies au début de la gestation permet d'améliorer les performances de croissance et l'efficacité alimentaire des descendants. La sélection génétique, au travers d'une sélection sur un plus grand nombre de fibres primaires, peut également améliorer ces performances.

Références bibliographiques

Dwyer C.M., Stickland N.C., 1991. Sources of variation in myofibre number within and between litters of pigs. *Anim. Prod.*, 52, 527-533.

Dwyer C.M., Stickland N.C., 1992. The effect of maternal undernutrition on maternal and fetal serum insulin-like growth factors, thyroid hormones and cortisol in the guinea pig. *J. Dev. Physiol.*, 18, 303-313.

Dwyer C.M., Madgwick A.J.A., Crook A.R., Stickland N.C., 1992. The effect of maternal undernutrition on the growth and development of the guinea pig placenta. *J. Dev. Physiol.*, 18, 295-302.

Dwyer C.M., Fletcher J.M., Stickland N.C., 1993. Muscle cellularity and post natal growth in the pig. *J. Anim. Sci.*, 71, 3339-3342.

Dwyer C.M., Stickland N.C., Fletcher J.M., 1994. The influence of maternal nutrition on muscle fibre number development in the porcine fetus and on subsequent postnatal growth. *J. Anim. Sci.*, 72, 911-917.

Dwyer C.M., Madgwick A.J.A., Ward S.S., Stickland N.C., 1995. The effect of maternal undernutrition in early gestation on the development of fetal myofibres in the guinea pig. *Reprod. Fert. Dev.* (in press).

B. PICARD,
H. GAGNIÈRE,
A. LISTRAT,
J. ROBÉLIN,
Y. GEAY
INRA Laboratoire
Croissance
et Métabolismes
des Herbivores, Theix
63122 Saint Genès
Champanelle

Différenciation musculaire au cours du développement fœtal et néonatal chez les bovins normaux et culards

La composition du muscle squelettique en ses différents types de fibres, lentes et rapides : I, IIA, IIB, conditionne en partie sa vitesse de maturation après l'abattage, et donc sa tendreté. C'est au cours du développement fœtal qu'apparaissent ces fibres dont la proportion respective évolue tout au long de la vie de l'animal. Chez le bovin, qui est une espèce relativement mature, la différenciation contractile des muscles est très avancée à la naissance. Les études concernant cette espèce ont montré que le développement musculaire fœtal est caractérisé principalement par une augmentation importante du poids du muscle dû à une multiplication cellulaire et une synthèse protéique intenses. Le nombre de fibres est fixé à la naissance, et leur taille évolue peu au cours de la vie fœtale. L'utilisation d'anticorps spécifiques de différentes isoformes de chaînes lourdes de myosine (MHC) a permis de montrer que la différenciation contractile met en jeu deux générations de cellules (Robelin *et al* 1993, Picard *et al* 1994). Une première génération, qui apparaît très tôt, dès 50 jours, a une différenciation très précoce puisque dès 180 jours elle n'exprime plus que la forme MHC1. Elle va donner naissance aux fibres lentes de type I adultes dans tous les muscles. Une seconde génération de cellules, plus petites, apparaît vers 120 jours, et donne naissance en majorité aux fibres adultes de type rapide IIA et IIB, à une proportion de fibres de type IIC (rapides et lentes), ainsi qu'à une faible proportion de fibres lentes mais uniquement dans les muscles lents. Ces deux générations expriment transitoirement 5 isoformes de MHC spécifiques, de type embryonnaire, fœtal et adulte. La chronologie de cette différenciation varie selon les muscles et selon les types génétiques. L'étude de la variabilité génétique de la différenciation musculaire a été réalisée d'une part au cours de la vie fœtale, en comparant le développement musculaire de fœtus normaux et de fœtus présentant le gène d'hypertrophie musculaire « culard », et d'autre part durant la vie post-natale sur des bovins de différents types génétiques.

Différenciation fœtale

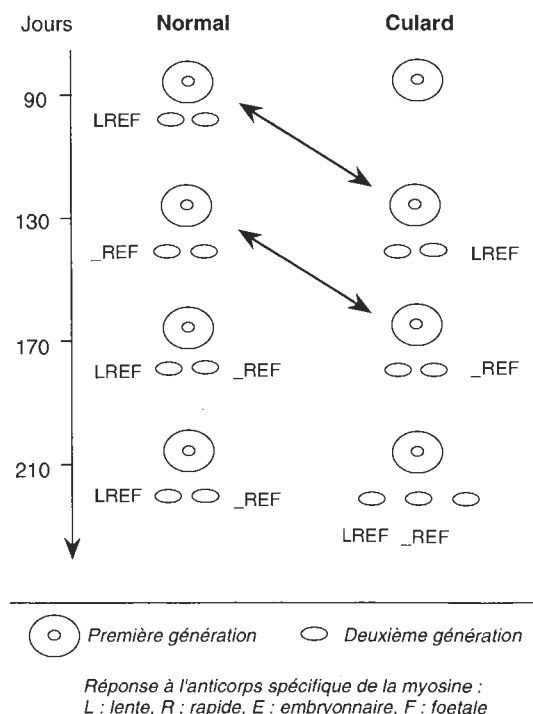
Les fœtus normaux ont été obtenus par insémination artificielle et les fœtus culards, issus de la souche INRA 95, par transplantation. L'évolution des différentes isoformes de myosine a été étudiée par immunohistochimie, électrophorèse, immunoblotting et ELISA, *in vivo* et *in vitro*, sur plusieurs muscles (*Semitendinosus*, *Longissimus thoracis*, *Masseter*, *Cutaneus trunci*, Dia-

phragme) prélevés sur ces fœtus à 90, 130, 170 et 210 jours de gestation.

Les résultats obtenus révèlent un retard dans la différenciation musculaire chez les fœtus culards (figure 1), qui touche la différenciation des deux générations de cellules ainsi que l'organisation structurale des fibres. Ce retard est surtout marqué à 90, 130 et 170 jours ; il semble être rattrapé à 210 jours. Par contre, à ce stade, des fibres reconnues par aucun des anticorps utilisés sont présentes en proportion importante dans tous les muscles des fœtus culards, et uniquement dans le muscle *Cutaneus trunci* (entièrement rapide) des fœtus normaux. Les études réalisées sur cultures primaires de fœtus de 90 jours montrent également un retard dans la différenciation chez les fœtus culards. En effet, à tous les stades, le nombre de myoblastes est supérieur chez les fœtus culards, alors que le pourcentage de fusion des myoblastes est inférieur. De plus, des striations sont visibles à l'intérieur des myotubes à 6 jours chez les fœtus normaux et seulement à 8 jours chez les culards, ce qui montre que l'organisation des protéines myofibrillaires en sarcomères est retardée chez ces derniers. Enfin, l'activité phosphocréatine kinase, marqueur de différenciation musculaire, est plus faible chez les culards à chaque stade.

**La comparaison
de fœtus bovins
culards
et normaux
montre que la
différenciation
musculaire
est retardée
chez les culards.**

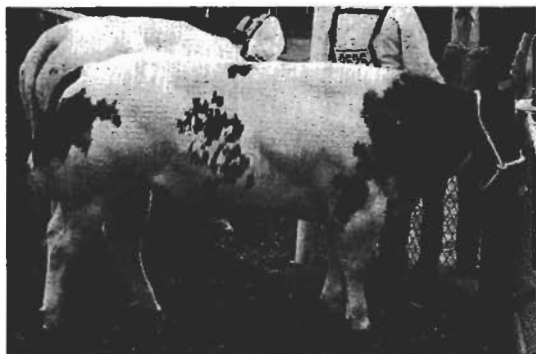
Figure 1. Différenciation musculaire chez des fœtus bovins normaux et culards.



Différenciation postnatale

Les études concernant la variabilité génétique de la différenciation musculaire après la naissance ont été réalisées sur des animaux de race Blanc-Bleu-Belge âgés de 9 mois, culards et normaux, sur des bovins des races Limousine (Jurie *et al* 1995) et Charolaise issus de pères sélectionnés sur leur vitesse de croissance. Les résultats obtenus montrent

Bovin culard de race Blanc-Bleu-Belge
(cliché : X. Malher, ENV Nantes).



que les animaux à forte vitesse de croissance ont des muscles présentant un métabolisme plus glycolytique. Ils sont constitués de fibres de plus grande taille avec une plus forte proportion de fibres de type IIB.

Conclusion

L'ensemble de ces résultats montre que le type génétique a une influence sur la différenciation musculaire. Les bovins issus de lignées à développement musculaire plus élevé présentent à l'abattage des muscles plus glycolytiques renfermant des fibres de taille supérieure à celles des bovins normaux, et une plus forte proportion de fibres IIB, composition favorable à une amélioration de la tendreté de la viande puisque ces fibres mûrissent plus vite. Cette composition des muscles semble avoir une origine précoce. En effet, le retard dans la différenciation observé chez les fœtus culards paraît être dû à une phase de prolifération cellulaire plus intense chez ces derniers, et soumise à des systèmes de régulation particuliers qui demandent à être précisés.

Ce retard serait dû à une phase de prolifération cellulaire plus intense.

Références bibliographiques

Jurie C., Robelin J., Picard B., Renand G., Geay Y., 1995. Inter-animal variation in the biological characteristics of muscle tissue in male Limousin cattle. *Meat Sci.*, 39, 415-425.

Picard B., Robelin J., Pons F., Geay Y., 1994. Comparison of the fetal development of fibre types in

four bovine muscles. *J. Muscle. Res. Cell Motil.*, 15, 473-486.

Robelin J., Picard B., Listrat A., Jurie C., Barboiron C., Pons F., Geay Y., 1993. Myosin transitions in *Semitenidinosus* muscle during fetal development of cattle : immunocytochemical and electrophoretic analyses. *Reprod. Nutr. Develop.*, 33, 25-41.

Intérêt et limites du modèle Meishan pour l'étude de la croissance musculaire chez le porc

En comparaison des porcs conventionnels, comme par exemple ceux de race Large White, les porcs de race Meishan se caractérisent par des performances de reproduction très supérieures (en particulier un développement sexuel beaucoup plus précoce et une plus grande prolificité) et par des performances de croissance très inférieures (une croissance plus lente et une plus grande adiposité de la carcasse). Au cours des dernières années, nous avons réalisé plusieurs études visant à mieux comprendre pourquoi les performances de croissance du porc Meishan sont inférieures à celles du porc Large White. Ce texte résume les principaux résultats

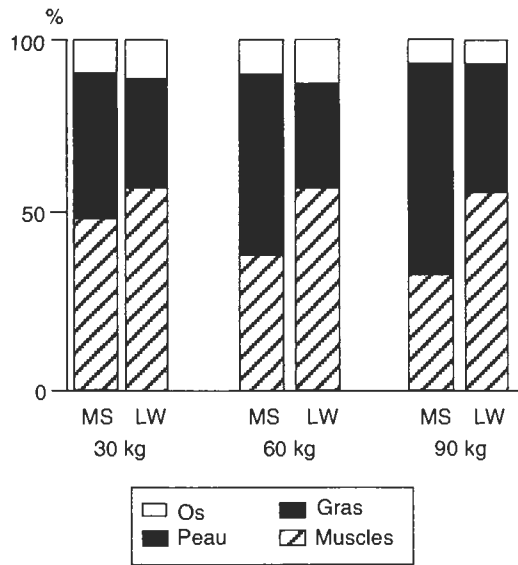
acquis à la Station de Recherches Porcines concernant la croissance musculaire et sa régulation par les hormones de l'axe somatotrope.

Croissance tissulaire

Par rapport aux porcs Large White (LW), les porcs Meishan (MS) sont plus légers à la naissance et leur vitesse de croissance est au moins inférieure de 30 % pendant les phases d'allaitement et de post-sevrage (Legault et Caritez 1982). Chez le jeune animal (moins

L. LEFAUCHEUR,
I. LOUVEAU,
S. SCHNOEBELEN,
P. ECOLAN,
M. BONNEAU
INRA Station
de Recherches Porcines
35590 Saint Gilles

Figure 1. Evolution entre 30 et 90 kg de poids vif de la composition tissulaire de porcs mâles castrés des races Meishan (MS) ou Large White (LW).



de 30 kg), la quantité d'aliment ingérée est similaire dans les 2 races. Plus tard, l'augmentation de l'ingéré en fonction du poids de l'animal est plus faible chez les MS que chez

les LW. Chez les porcs MS, l'ingéré alimentaire plafonne après 60 kg de poids vif (à environ 1,8 kg de matière sèche par jour, Noblet et Dubois 1990). La vitesse de croissance des MS est constante (0,40-0,45 kg/j) entre 15 et 100 kg de poids vif (Noblet et Dubois 1990, Prunier *et al* 1990).

La dissection de carcasses de porcs MS ou LW abattus à 80-90 kg de poids vif (Poilvet *et al* 1990) indique que le taux de muscle est de l'ordre de 30 % chez les porcs MS contre 47 % chez les porcs LW. Le contenu en os est similaire dans les 2 races (environ 10 %). Les porcs MS contiennent plus de gras (MS : 45 %, LW : 32 %) et de peau (MS : 9 %, LW : 3 %).

Nous empruntons à J. Noblet les résultats décrivant l'évolution avec le poids de la composition tissulaire (figure 1) et du dépôt journalier de gras et de muscle (figure 2) chez des porcs mâles castrés des races LW et MS entre 30 et 90 kg de poids vif. Le dépôt de gras est similaire ou même plus faible chez les MS que chez les LW. Le dépôt journalier de muscles est 2,6 à 3,2 fois plus faible chez les MS que chez les LW. Il ne représente que 22 à 24 % du gain de poids quotidien chez les MS, contre 41 % chez les LW.

Le dépôt journalier de muscle est plus faible chez les porcs Meishan que chez les porcs Large White.

Figure 2. Evolution entre 30 et 90 kg de poids vif du dépôt journalier de muscles et de gras chez des porcs mâles castrés des races Meishan (MS) ou Large White (LW).

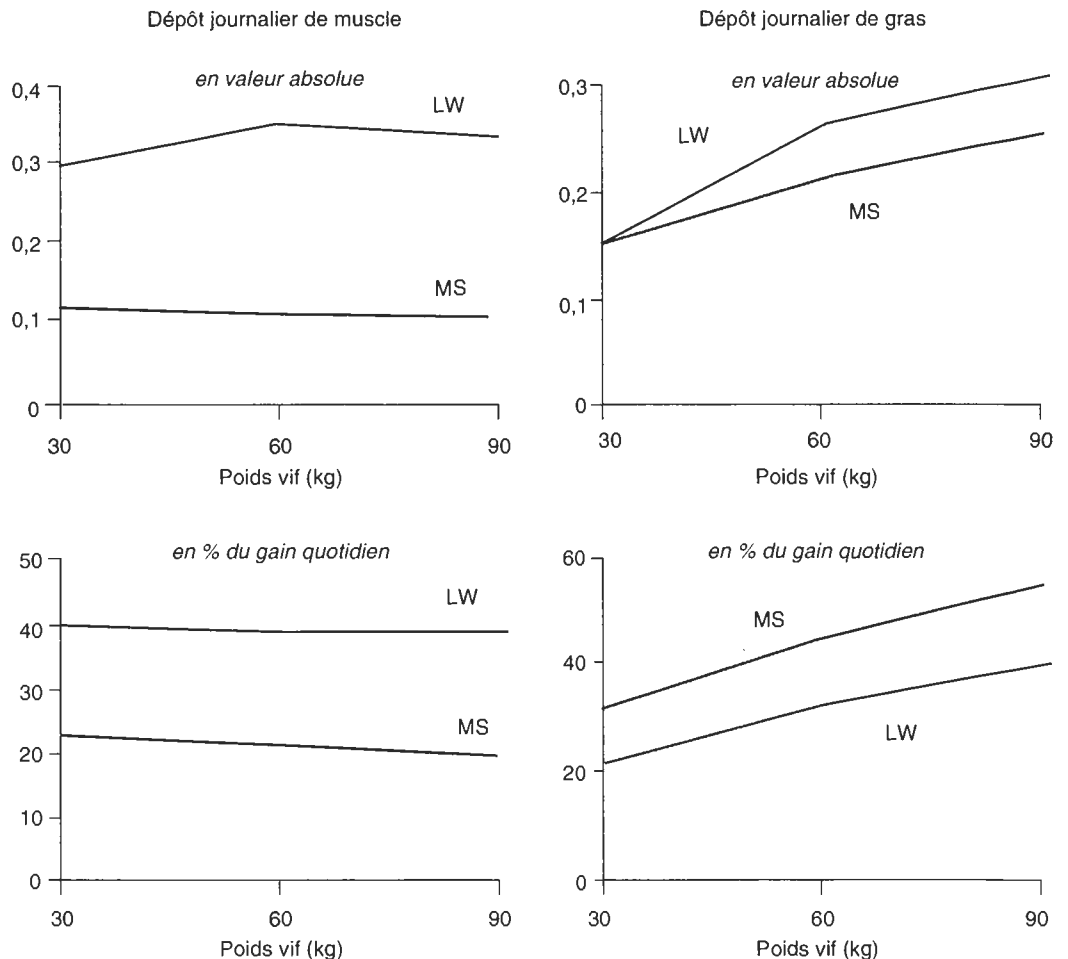


Tableau 1. Comparaison des caractéristiques histologiques du muscle semitendinosus (ST) chez des fœtus de porcs des races Meishan (MS) et Large White (LW).

Jours de gestation Race	75 jours			114 jours		
	LW	MS	Sign.	LW	MS	Sign.
Muscle total						
Poids du ST (g)	0,63	0,35	***	2,73	1,60	***
Nombre fibres (x 10 ⁻³)	283	200	**	425	263	***
Partie rouge						
Nombre de fibres						
total (x 10 ⁻³)	116	91	ns	205	131	***
myotubes (x 10 ⁻³) ⁽¹⁾	6,52	5,20	ns	7,72	6,88	ns
second./myot. ⁽²⁾	17,9	17,4	ns	26,7	19,2	***
Surface (µm ²)						
myotubes	177	161	ns	229	258	ns
secondaires	25	29	ns	100	129	*
Partie blanche						
Nombre de fibres						
total (x 10 ⁻³)	167	109	**	220	132	***
myotubes (x 10 ⁻³)	9,58	5,80	***			
second. / myot.	17,4	18,7	ns			
Surface (µm ²)						
myotubes	182	158	ns			
secondaires	21	27	ns			

(1) A 114 jours : nombre d'ilots. Un îlot de fibres lentes correspond à un myotube primaire.

(2) A 114 jours, nombre de fibres secondaires par îlot.

Caractéristiques du tissu musculaire

Des observations préliminaires réalisées au laboratoire suggèrent que la plus faible croissance musculaire du porc MS provient de l'effet cumulatif d'un plus faible nombre de fibres musculaires (déterminisme prénatal) et d'une plus faible croissance radiale de ces mêmes fibres après la naissance.

Les études réalisées jusqu'à présent ont surtout porté sur le muscle *Semitendinosus* (ST). D'un point de vue expérimental, ce muscle a l'avantage d'être facilement dissé- cable et de présenter deux régions très diffé- rentes, l'une présentant les caractéristiques d'un muscle rouge alors que l'autre est repré- sentative d'un muscle blanc.

De 50 jours de gestation à 1 mois d'âge, le muscle ST croît plus lentement chez les MS que chez les LW, aussi bien en valeur absolue qu'en proportion du poids total du fœtus (figure 3).

Le tableau 1 présente les caractéristiques du muscle ST à 75 jours de gestation et à la naissance (113 jours de gestation). A 75 jours de gestation, la totalité des myotubes pri- maires est en place alors que la seconde géné- ration n'est complètement installée qu'à par- tir de 90 jours de gestation. A 75 jours, il est possible de distinguer les myotubes primaires appartenant à la future partie rouge (qui réagissent positivement à l'anticorps anti-MHC lente et négativement à l'anticorps anti-MHC rapide) de ceux appartenant à la future partie rapide (qui réagissent de façon exacte- ment inverse).

Myotubes primaires

A 75 jours de gestation, le nombre de myo- tubes primaires de la future partie blanche est plus faible chez les MS que chez les LW (9 580 vs 5 800 ; P < 0,001). Il en va de même dans la partie rouge bien que la différence entre les 2 races ne soit pas significative (6 520 vs 5 200). Pour l'ensemble du muscle, le nombre de myotubes primaires chez les MS est infé- rieur de 32 % à celui observé chez les LW. L'aire de section transversale des myotubes primaires ne diffère pas entre les 2 races.

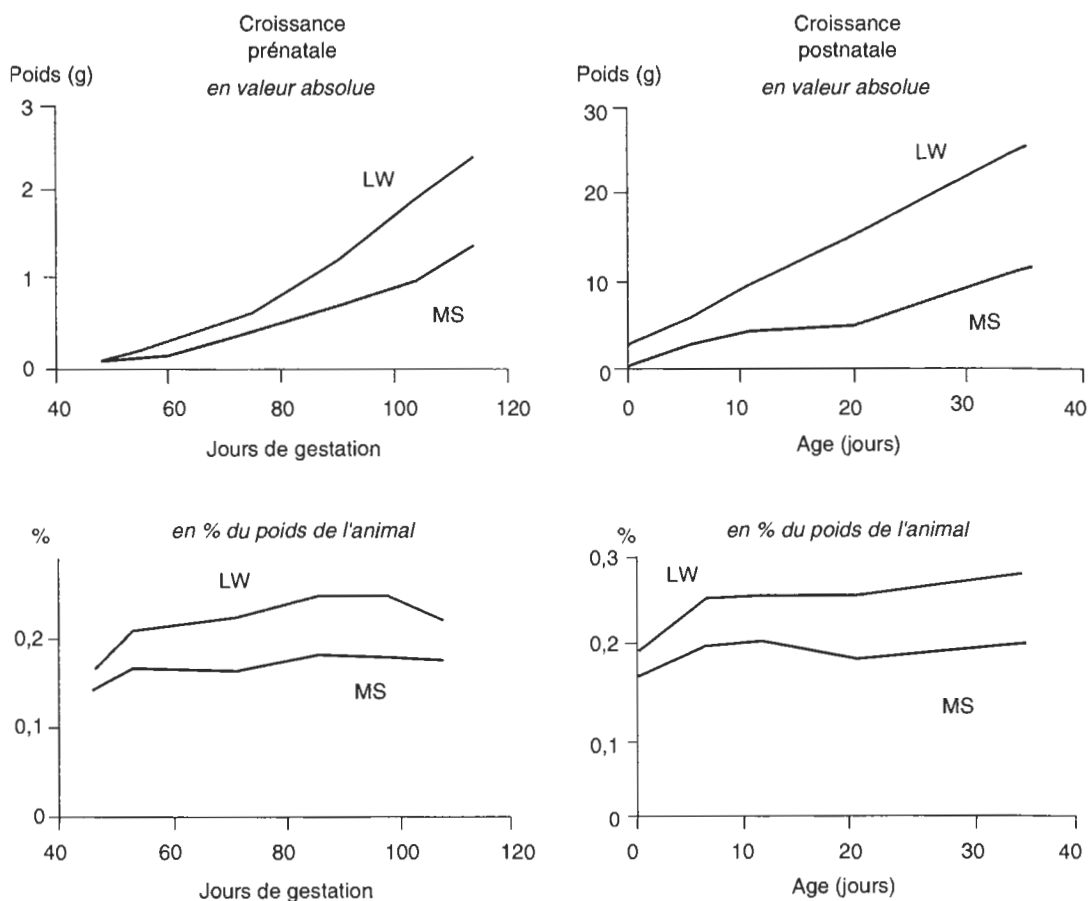
Fibres secondaires

Dans la partie rouge, le nombre de fibres secondaires par myotube primaire ne diffère pas entre les 2 races à 75 jours de gestation alors qu'il est plus faible chez les MS que chez les LW à la naissance (19,2 vs 26,7 ; P < 0,001). Ce résultat montre que la différence entre les 2 races pour le nombre de fibres secondaires par primaire est acquise en fin de gestation, peut-être par une période de mise en place plus longue chez les LW.

Dans la partie blanche, comme dans la par- tie rouge, le nombre de fibres secondaires par myotube primaire ne diffère pas entre les 2 races à 75 jours de gestation. La détermi- nation directe du nombre de myotubes primaires de la partie blanche n'est pas possible à la naissance. Cependant, le calcul du rapport entre le nombre total de fibres à la naissance et le nombre de myotubes primaires présents à 75 jours ne laisse apparaître aucune diffé- rence entre les 2 races pour la partie blanche (22,0 chez les LW vs 21,7 chez les MS).

La croissance musculaire plus faible des porcs Meishan résulterait à la fois d'un plus faible nombre de fibres à la naissance et d'une moindre croissance post-natale de ces fibres.

Figure 3. Croissance du muscle semitendinosus (ST) au cours de la gestation dans les 2 races Meishan (MS) et Large White (LW).



Dans la partie rouge, la surface des fibres secondaires tend à être plus élevée chez les MS que chez les LW. Ce résultat peut traduire un état de maturité plus avancé chez les MS.

Nombre total de fibres

Au total, le nombre de fibres dans l'ensemble du muscle ST est plus faible de 38 % chez les MS que chez les LW. Cette différence s'observe aussi bien dans la partie rouge que dans la partie blanche. Cependant les mécanismes impliqués dans cette différence ne semblent pas être les mêmes dans les 2 zones. Dans la partie rouge, c'est essentiellement le nombre plus faible de fibres secondaires différenciées autour de chaque myotube primaire qui semble devoir être mis en cause. Dans la partie blanche, par contre, la différence semble surtout provenir d'un nombre plus faible de myotubes primaires.

Régulation du développement musculaire par les hormones de l'axe somatotrope

Les niveaux circulants de GH et d'IGF-I ne diffèrent pas entre les porcs LW et MS entre 10 et 150 jours d'âge (Louveau *et al* 1991). Néanmoins, la concentration plasmatique d'IGF-I

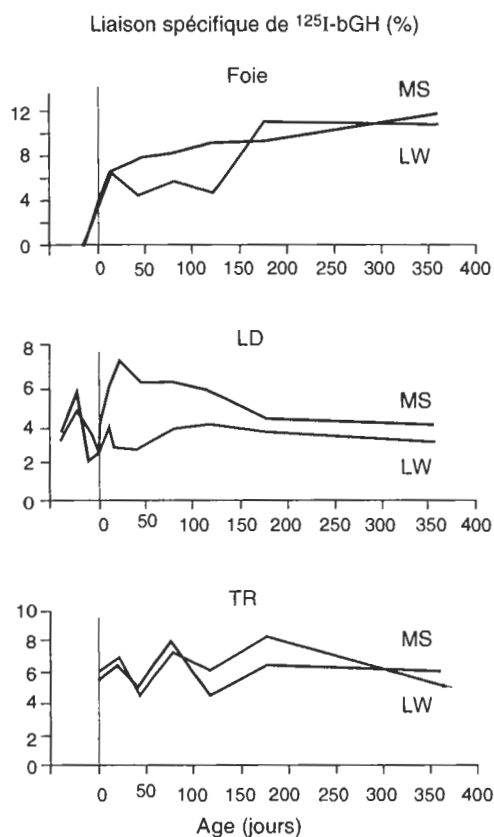
est plus faible chez les porcs MS que chez les porcs LW à 180 et 365 jours d'âge. Cette différence ne permettant pas d'expliquer la différence de croissance entre les 2 races, nous nous sommes attachés à mettre en évidence d'éventuelles différences au niveau des récepteurs à la GH et à l'IGF-I. Pour cela, l'évolution avec l'âge (de 75 jours de gestation à l'âge adulte) du niveau de ces récepteurs a été étudiée dans deux muscles squelettiques, l'un majoritairement de type blanc, le *longissimus dorsi* (LD), l'autre majoritairement de type rouge, le *trapezius* (TZ) en comparaison avec le foie qui est considéré comme le principal tissu cible de la GH (figure 4).

Dans le foie, aucune liaison spécifique n'est observée chez les fœtus entre 75 et 103 jours de gestation. Après la naissance, la liaison spécifique augmente avec l'âge dans les 2 races. La liaison spécifique de la GH est plus élevée chez les porcs MS que chez les porcs LW à 45 et à 120 jours d'âge et ne diffère pas entre les 2 races aux autres stades étudiés. Contrairement à ce qui est observé dans le foie, une liaison spécifique est observable dès 75 jours de gestation dans le LD (liaison non déterminée dans le TZ). La liaison spécifique de la GH aux muscles LD et TZ varie peu avec l'âge et ne diffère pas entre les 2 races.

Dans le muscle LD comme dans le foie, la liaison spécifique de l'IGF-I augmente de 75 jours à 90 ou 103 jours de gestation et

Les différences relatives aux hormones somatotropes sont peu marquées entre Meishan et Large White.

Figure 4. Variation avec l'âge de la liaison spécifique de la GH dans le foie et le muscle squelettique des porcs des 2 races Meishan (MS) et Large White (LW).



diminue ensuite avec l'âge. La liaison spécifique de l'IGF-I est similaire dans les 2 races, sauf à 103 et 113 jours de gestation où elle tend à être plus élevée dans le foie des porcs MS que dans celui des porcs LW.

Au total, la plus faible croissance musculaire des porcs MS par rapport aux porcs LW ne semble pouvoir être reliée à aucun déficit majeur du fonctionnement de l'axe somato-

trope, tout au moins en ce qui concerne les niveaux circulants de la GH et de l'IGF-I ou la liaison spécifique des ces hormones à leurs récepteurs hépatiques ou musculaires. Ces résultats ne permettent pas d'écartier un dysfonctionnement de l'axe somatotrope à un niveau postérieur à celui des récepteurs. Une déficience majeure dans les étapes de transmission du message hormonal entre le récepteur et la réponse cellulaire semble cependant peu probable car il est établi que la croissance musculaire des porcs MS peut être accélérée par l'administration de GH exogène (Bidanel *et al* 1991).

Conclusions

En l'absence de différences marquées entre les porcs MS et LW pour ce qui concerne les niveaux circulants de GH et d'IGF-I ainsi que pour les liaisons spécifiques de ces hormones dans le foie et le muscle squelettique, le modèle Meishan ne présente guère d'attrait pour l'étude du contrôle de la croissance musculaire par les hormones de l'axe somatotrope.

Par contre, le modèle Meishan nous semble particulièrement intéressant pour les études visant à mieux comprendre les aspects cellulaires de la croissance musculaire chez le porc. Le plus faible nombre de fibres musculaires observé chez le porc MS à la naissance en fait un modèle indiqué pour les études sur la différenciation des fibres musculaires *in utero*. Il semble même que, selon la zone musculaire choisie, on puisse avoir accès à des différences concernant plus particulièrement les générations primaire ou secondaire de fibres musculaires. Ce dernier aspect demande cependant à être confirmé. La plus faible croissance radiale des fibres musculaires observée chez le porc MS pendant la période post-natale en fait un modèle intéressant pour les études sur la régulation de la croissance hypertrophique des fibres musculaires.

Références bibliographiques

Bidanel J.P., Bonneau M., Pointillart A., Gruand J., Mourot J., Demade I., 1991. Effects of exogenous porcine somatotropin (pST) administration on growth performance, carcass traits, and pork meat quality of Meishan, Pietrain, and crossbred gilts. *J. Anim. Sci.*, 69, 3511-3522.

Legault C., Caritez J.C., 1982. Premier bilan de l'expérimentation sur le porc chinois en France. 1. Performances de reproduction en race pure et en croisement. *Journées Rech. Porcine en France*, 14, 127-136.

Louveau I., Bonneau M., Salter D., 1991. Age-related changes in plasma porcine growth hormone (GH) profiles and insulin-like growth factor-I (IGF-I) concentrations in Large White and Meishan pigs. *Reprod. Nutr. Develop.*, 31, 205-216.

Noblet J., Dubois S., 1990. Utilisation de l'énergie et besoins énergétiques des porcs mâles castrés de race Meishan. 41st EAAP Satellite Symposium on Chinese Pigs, M. Molénat et C. Legault eds., 231-232.

Poivet D., Bonneau M., Caritez J.C., Legault C., 1990. Composition tissulaire des carcasses de porcs Meishan (MS), Large White (LW) et F1 (MSxLW). 41st EAAP Satellite Symposium on Chinese Pigs, M. Molénat et C. Legault eds., 237-238.

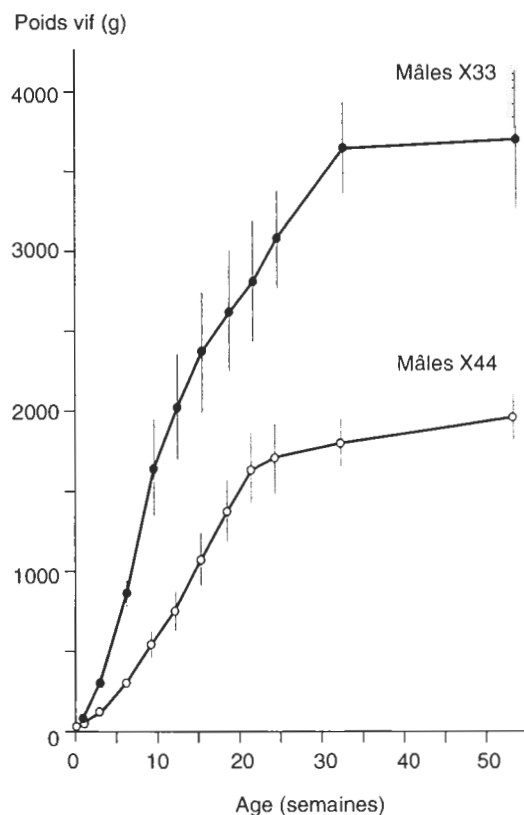
Prunier A., Pointillart A., Bonneau M., 1990. Influence de l'injection de somatotropine porcine (pST) sur le développement corporel, osseux et sexuel de jeunes femelles de race Meishan. *Journées Rech. Porcine en France*, 22, 77-82.

M.J. DUCLOS,
H. RÉMIGNON
INRA Station
de Recherches Avicoles
37380 Nouzilly

Développement musculaire des poulets issus de lignées à croissance rapide ou lente

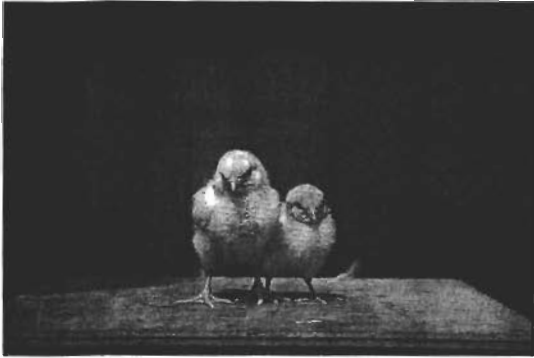
Le développement musculaire de l'oiseau débute avec l'individualisation, à partir des premiers somites, de précurseurs myogéniques, ou myoblastes, qui vont se multiplier, migrer vers leur position finale et fusionner en myotubes qui seront à l'origine des fibres musculaires matures (voir Ott *et al* 1990 pour une revue). Il semble qu'il existe en fait plusieurs lignées de myoblastes dont la diversité participe très probablement à la diversité finale des fibres musculaires. Le nombre final de fibres musculaires est atteint à la fin de l'embryogénèse et ne change plus ensuite, du moins dans des conditions normales. La croissance musculaire post-éclosion résulte d'une augmentation de la taille des fibres qui s'accompagne d'une augmentation du nombre de noyaux par fibres (Moss 1968). Ce phénomène est dû à l'activation des cellules satellites musculaires présentes entre la fibre et la membrane basale qui l'entoure (Mauro 1961). Celles-ci ont conservé la capacité de se multiplier et de fusionner avec les fibres musculaires voisines pour leur apporter de nouveaux noyaux et augmenter ainsi leur potentiel de synthèse protéique. Ce phénomène est à l'origine de l'essentiel du contenu final du muscle en ADN (Moss 1968).

Figure 1. Courbes de croissance des poulets X44 (croissance lente) et X33 (croissance rapide).



Le développement musculaire des oiseaux semble pouvoir être modifié par la sélection. Les approches les plus intéressantes à cet égard s'appuient sur la comparaison de lignées sélectionnées uniquement sur leurs performances de croissance, plutôt que sur celle de lignées de type chair et de type ponte qui ont été sélectionnées de manière indépendante sur des caractères différents. Nous avons pu travailler sur un tel modèle en utilisant des lignées de poulets sélectionnées de manière divergente (Ricard 1975) pour leur croissance lente (X44) ou rapide (X33). Les courbes de croissance de ces poulets sont présentées sur la figure 1. Le développement musculaire de ces animaux a été étudié sur trois muscles indicateurs (*Pectoralis Major*, *Anterior Latissimus Dorsi* (ALD), *Sartorius*) entre 0 et 55 semaines d'âge, à l'aide de trois approches complémentaires : typage histo-enzymologique des fibres, mesure de activités enzymatiques et des formes isozymiques de la myosine. Les résultats montrent que la typologie musculaire dépend avant tout du muscle considéré et de l'âge des poulets, mais n'est pas fondamentalement modifiée par la sélection si ce n'est d'un point de vue cinétique, les muscles de poulets à croissance lente atteignant leur profil mature plus tardivement (Rémignon *et al* 1994). Par contre, le comptage direct sur des coupes de muscle ALD et le calcul du nombre de fibres à partir de la détermination de l'aire de section transversale des fibres, à poids égal de muscle pectoral, montrent que les poulets de la lignée à croissance rapide présentent environ 20 % de fibres en plus (Rémignon *et al* 1994). Dans une étude similaire de Fowler *et al* (1980), des cailles issues d'une lignée à fort développement corporel (lignée P) présentent elles aussi un nombre de fibres 60 % plus élevé dans le muscle *semimembranosus* que les cailles de la lignée de référence (lignée C). Dans ce modèle il a été récemment montré un retard transitoire dans la mise en place des somites pour les cailles de la lignée P par rapport à celles de lignée C (Coutinho *et al* 1993). Ceci s'accompagne d'un retard dans l'expression des facteurs myogéniques de régulation ainsi que dans l'expression des chaînes lourdes de myosine dans les somites. Ces résultats ont conduit les auteurs à suggérer que cette pause dans le programme de différenciation myogénique puisse permettre de prolonger la phase de multiplication des précurseurs myogéniques, ce qui conduirait à un nombre de fibres plus élevé. Le cas de nos lignées de poulet n'a pas encore été étudié aussi en détail. Néanmoins, des études préliminaires (Bretez 1981, Auda-Boucher 1993) suggéreraient que les myoblastes embryonnaires des poulets à croissance rapide puissent se multiplier plus activement que ceux des poulets à croissance

Poussins X33 (à gauche) et X44 (à droite) âgés d'une semaine.



lente, alors qu'ils se différencient de manière identique (Auda-Boucher 1993).

L'étude des lignées sélectionnées d'oiseaux montre aussi qu'une part importante des différences se met en place après l'éclosion. Ces différences entre lignées ne peuvent pas être expliquées entièrement par une différence de nombre de fibres. Les poulets à croissance rapide déposent en effet 2 fois plus de muscle que ceux à croissance lente (Rémignon *et al* 1994). De même, les cailles de la lignée P en déposent 3,5 fois plus que celles de la lignée C (Fowler *et al* 1980). Cette différence résulte en bonne partie d'une taille plus importante des fibres telle qu'elle peut être évaluée par l'aire de section transversale (+89 % chez les poulets à croissance rapide). Puisque l'augmentation en taille des fibres implique un nombre de noyaux plus important par fibre, il faut donc supposer que les lignées à forte croissance possèdent plus de cellules satellites musculaires ou que l'activité de ces cellules est plus importante. La première hypothèse a été testée et infirmée dans le modèle cailles en dénombrant les cellules satellites en microscopie électronique (Campion *et al* 1982). La deuxième a été testée *in vitro* dans le modèle poulet au cours des études décrites dans le paragraphe suivant.

En mesurant la synthèse d'ADN par des cellules satellites de poulets à croissance rapide ou lente, nous avons pu montrer que celle-ci était stimulée de manière plus importante par le sérum pour les poulets à croissance rapide (stimulation maximale de +330 % au-dessus du contrôle) que pour ceux

à croissance lente (+217 %) (Duclos *et al* 1993 et 1994). Un nombre important de facteurs de croissance affecte le développement musculaire *in vivo* et *in vitro* dans différentes espèces (Dayton et Hataway 1991). Parmi ceux-ci, les facteurs de croissance apparentés à l'insuline (Insulin-like Growth Factors : IGF1 et IGF2) présentent la particularité intéressante de stimuler toutes les phases de la croissance musculaire : prolifération, anabolisme et différenciation. Lorsque les cellules issues de poulet à croissance rapide sont cultivées en l'absence de sérum, la synthèse d'ADN est stimulée de manière plus importante par l'IGF1 (Duclos *et al*, 1993 et 1994). Cette différence n'est pas spécifique des cellules satellites puisqu'elle est retrouvée sur des fibroblastes préparés à partir des mêmes poussins. Dans ce dernier modèle, l'étude des récepteurs aux IGF et des protéines de liaisons membranaires des IGF n'a pas permis d'expliquer la différence de réponse (Duclos *et al*, non publié). Il faut donc faire l'hypothèse d'une altération au niveau de la cascade d'événements post-récepteurs conduisant à la mitose. D'autre part, aucune différence significative n'a été observée lors de l'étude du métabolisme protéique (transport d'acides aminés, synthèse et dégradation des protéines) de myotubes dérivés de ces deux lignées de poulets, que ceux-ci soit maintenus en présence ou en absence de sérum ou d'IGF1 (Duclos *et al* 1993 et 1994). Ces résultats diffèrent de ceux obtenus *in vivo* sur les mêmes lignées qui montrent une protéolyse diminuée chez les poulets à croissance rapide à l'âge de 2 semaines (Tesseraud *et al* 1994).

En conclusion, les différences de masse musculaire entre deux lignées de poulet à croissance rapide ou lente résultent d'une part d'une différence de nombre de fibres et d'autre part d'une différence de taille des fibres, sans modification de leur type métabolique. La différence de taille qui s'établit durant la croissance post-éclosion pourrait ainsi résulter en partie d'une activité accrue des cellules satellites musculaires telle qu'elle est observée *in vitro* en réponse au sérum ou à l'IGF1. Cette observation mériterait d'être confirmée *in vivo*. Il pourrait être intéressant d'étendre ces résultats à un modèle de poulets sélectionnés plus spécifiquement pour l'accroissement de leur masse musculaire (Ricard *et al* 1994) et non pas de leur format corporel.

Chez les poulets à croissance rapide, la multiplication cellulaire serait plus intense que chez ceux à croissance lente, la différenciation étant identique dans les deux lignées.

Références bibliographiques

Auda-Boucher G., 1993. La myogenèse dans le myotome somitique au cours du développement chez l'oiseau. Thèse de Doctorat, Université de Nantes.

Bretez M., 1981. Influence sur les caractéristiques histologiques du muscle d'une sélection sur la forme de la courbe de croissance chez le poulet. Diplôme d'Agronomie Approfondie. Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie de Montpellier.

Campion D.R., Marks H.L., Richardson L.J., 1982. An analysis of skeletal muscle response to selection for rapid growth in japanese quail (*coturnix coturnix japonica*). *Acta Anat.*, 112, 9-13.

Coutinho L. L., Morris J., Marks H. L., Buhr R. J., Ivarie R., 1993. Delayed somite formation in a quail line exhibiting myofiber hyperplasia is accompanied by delayed expression of myogenic regulatory factors and myosin heavy chain. *Development*, 117, 563-569.

Dayton W.R., Hataway M.R., 1991. Myogenic cell proliferation and differentiation. *Poult. Sci.*, 70, 1815-1822.

Duclos M.J., Chevalier B., Ricard F.H., Simon J., 1993. Croissance des cellules satellites issues de deux lignées de poulet à croissance rapide ou lente. Communications du 5^e Colloque National sur les Maladies Neuromusculaires, Strasbourg, 21-25 juin 1993. Association Française contre les Myopathies, Paris.

Duclos M.J., Chevalier B., Simon J., 1994. Higher stimulation of DNA synthesis by IGF1 in muscle cells from chickens selected for growth. *Growth Regulation*, 4, suppl. 1, 67.

Fowler S. P., Campion D. R., Marks H. L., Reagan J. O., 1980. Analysis of skeletal muscle response to selection for rapid growth in japanese quail (*coturnix coturnix japonica*). *Growth*, 44, 235-252.

Mauro A., 1961. Satellite cells of skeletal muscle fibres. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 9, 493-495.

Moss F.P., 1968. The relationship between the dimensions of the fibres and the number of nuclei

during normal growth of skeletal muscle in the domestic fowl. *Am. J. Anat.*, 122, 555-564.

Ott M.O., Robert B., Buckingham M., 1990. Le muscle : d'où vient-il ? *Medecine/Sciences*, 6, 653-663.

Rémignon H., Lefaucheur L., Blum J.C., Ricard F. H., 1994. Effects of divergent selection for body-weight on three skeletal muscles characteristics in the chicken. *Br. Poult. Sci.*, 35, 65-76.

Ricard F. H., 1975. Essai de sélection sur la forme de la courbe de croissance chez le poulet. *Ann. Génét. Sélect. Anim.*, 7, 427-443.

Ricard F.H., Marché G., Le Bihan-Duval E., 1994. Essai d'amélioration par sélection de la qualité de carcasse du poulet de chair. *INRA Prod. Anim.*, 7, 253-261.

Tesseraud S., Cammas J.C., Chagneau A.M., 1994. Effect of age and divergent selection for body weight on muscle protein turn-over in chickens. *Reprod. Nutr. Develop.*, 34, 638-639.

Y. CHEREL,
M. WYERS
INRA URA
Développement et
pathologie du tissu
musculaire
École Nationale
Vétérinaire de Nantes
CP 3013,
44087 Nantes
Cedex 03

Modèles génétiques de différenciation musculaire : croissance et sensibilité aux agressions chez la dinde

Le modèle génétique développé dans le laboratoire pour étudier le développement musculaire et les capacités de réponse du tissu aux agressions est un modèle dinde, comparant deux souches commerciales sélectionnées dans le but de fournir des produits très différents. La souche légère (LW) est une souche dite fermière (Bétina) élevée à l'extérieur en conditions de reproduction naturelle et qui fournit les dindes label consommées rôties entières à Noël. Les animaux abattus sont âgés d'au moins 6 mois. La souche lourde (BUT T9) produit des animaux abattus à 15 semaines et utilisés exclusivement en découpe. A cet âge, les animaux de souche lourde (HW) sont environ 2,5 fois plus lourds que les animaux de souche légère.

Croissance allométrique des différentes parties du corps

Le nombre, la localisation et les points d'insertion des muscles de la cuisse sont identiques dans les deux souches.

Si les proportions corporelles sont identiques pour les ailes (5 %), les pattes (14 %) et le tronc (54 %), les pectoraux représentent 14 % du poids du corps dans la souche légère et 27 % dans la souche lourde. L'étude de l'al-

lométrie de croissance révèle que les proportions corporelles sont stables à partir de l'âge de 30 jours à l'exception des pectoraux de la souche lourde qui continuent à croître aux dépens du tronc pendant toute la durée de l'étude (1 250 jours).

Composition histoenzymologique des muscles

Cinq types histoenzymologiques sont observés chez la dinde : les fibres I (lentes, spastiques), IIa (rapides, oxydo-glycolytiques), IIb (rapides, glycolytiques), IIIa et IIIb (lentes, toniques). Les muscles peuvent être composés d'un seul type de fibres (muscles homogènes) ou d'une mosaïque (muscles hétérogènes). Certains muscles hétérogènes sont mixtes, c'est-à-dire composés d'une portion homogène rapide et d'une portion hétérogène, mélange de fibres rapides et lentes.

Les deux souches de dinde présentent des muscles de même structure générale ; par contre, l'ampleur de la zone homogène et le pourcentage relatif de fibres I (ou III) et II dans la zone hétérogène peuvent varier : le *Plantaris* (hétérogène II-III) possède, par exemple, 46 ± 3 % de fibres III dans la souche légère et 65 ± 8 % dans la souche lourde.

Chez la dinde, le nombre de fibres musculaires à la naissance est identique dans les souches lourde et légère, mais on observe une prolifération post-natale dans la souche lourde.

Phénomènes de prolifération cellulaire

Prolifération cellulaire ante-natale

Le nombre de fibres musculaires est identique dans les deux souches à la naissance, pour l'ALD (*Anterior Latissimus Dorsi*, muscle lent III) comme pour le PLD (*Posterior Latissimus Dorsi*, muscle rapide II).

Prolifération cellulaire post-natale spontanée

Le nombre total de fibres est fixé à la naissance pour le PLD et pour l'ALD de la souche légère. Au contraire, dans la souche lourde, on observe une hyperplasie post-natale marquée (de 12 000 fibres à 1 jour à 20 000 fibres à 15 semaines). En immunocytochimie, la population de fibres néoformées exprime une isoforme de myosine ventriculaire.

Prolifération cellulaire post-natale provoquée par l'étirement (*stretching*)

Nous avons appliqué un poids égal à 7 % du poids vif pendant 15 jours à des animaux de 4 jours d'âge. Rapidement, on observe un œdème interstitiel et l'afflux de cellules inflammatoires dans l'ALD. L'hyperplasie observée au bout de 15 jours est importante pour la souche lourde (+2 127 ± 600 fibres par rapport au muscle controlatéral). Elle est beaucoup plus modérée et significativement inférieure pour la souche légère (+ 968 ± 569). Dans les deux souches, de nombreux noyaux de cellules satellites ayant proliféré (marquage BrdU) sont observés dans des fibres matures.

Prolifération cellulaire post-natale provoquée par la dénervation

Après dénervation par section du nerf sciatique, on observe une activation des cellules satellites (immunocytochimie anti-PCNA). Cette activation est notable dès 10 jours. Elle est beaucoup plus importante pour la souche lourde (90 ± 5 cellules activées pour 100 fibres à 21 jours) que pour la souche légère (10 ± 2) dans le muscle *Tibialis cranialis*. Toutefois cette différence n'est pas observée dans tous les muscles.

Phénomènes de différenciation et de dédifférenciation des myocytes

De 1 jour jusqu'à 5 semaines, la croissance en largeur des fibres de l'ALD est identique dans les deux souches (HW : 10,3 ± 1,3 µm, LW : 10,3 ± 1,4 µm à 1 jour ; HW : 32,6 ± 3,8 µm, LW : 31,7 ± 0,7 µm à 5 semaines).

De 5 à 15 semaines la croissance est beaucoup plus rapide dans la souche lourde, pour atteindre 84,3 ± 12,8 µm contre 51,5 ± 3,5 µm pour la souche légère.

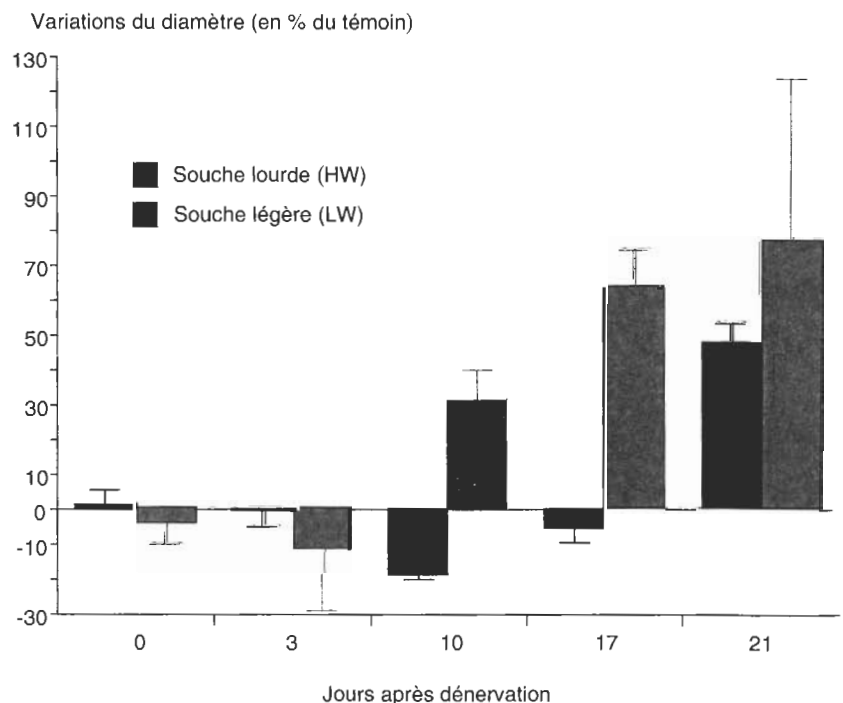
La dénervation provoque une atrophie des fibres de type II qui est identique dans les deux souches pendant les trois premières semaines. Au contraire, l'hypertrophie des fibres lentes (I et III) est plus précoce dans la souche légère que dans la souche lourde. Elle débute dès 10 jours pour LW et atteint + 70 % à 21 jours dans le *Gastrocnemius lateralis* (fibres I) alors qu'elle ne débute qu'à 21 jours pour la souche lourde.

Différenciation des myotubes pendant la régénération musculaire

L'administration d'un antibiotique ionophore provoque une nécrose disséminée des fibres de type II situées en zone hétérogène des muscles. La croissance des myotubes consécutive à cette nécrose est identique dans les deux souches pendant les 12 premiers jours.

Si une dénervation est réalisée sur un membre avant administration du ionophore, dans la souche légère la croissance des myotubes est ralentie de façon très importante dans le muscle dénervé par rapport au muscle témoin. Au contraire, dans la souche lourde, le diamètre des myotubes est peu affecté par la dénervation (figure 1).

Figure 1. Evolution du diamètre des fibres de type I dans le muscle *Gastrocnemius lateralis* après dénervation chez la dinde.



Conclusion

Le modèle dinde est un modèle original du fait de l'existence d'une hyperplasie post-natale, qui n'est pas décrite chez les mammifères ou d'autres oiseaux. Il présente de ce fait, un intérêt zootechnique certain.

Les variations de capacité de prolifération des cellules satellites, qui différencient très nettement les deux souches, en font également un modèle intéressant pour l'étude des mécanismes de la croissance musculaire. Ce modèle semble aussi tout à fait adapté à l'étude des relations nerf-muscle.

Références bibliographiques

Abourachid A., 1990. Etude morpho-fonctionnelle de l'appareil locomoteur de deux souches de dindons domestiques. Thèse de doctorat de l'Université de Rennes I.

Bakou S., Cherel Y., Gabineau B., Guigand L., Wyers M., 1995. Type specific changes in fiber size and satellite cell activation following denervation of two strains turkey muscles. *J. Anat.* (sous presse).

Cherel Y., Bakou S., Wyers M., 1995. Hypertrophy as a response to denervation of multi-innervated fibers in two strains of turkey. *Biology of the cell* (sous presse).

Cherel Y., Bakou S., Wyers M., 1995. Satellite cell activation and evolution following muscle denervation in two strains of turkey. *Biology of the cell* (sous presse).

Abourachid A., 1990. Etude morpho-fonctionnelle de l'appareil locomoteur de deux souches de dindons domestiques. Thèse de doctorat de l'Université de Rennes I.

Bakou S., Cherel Y., Gabineau B., Guigand L., Wyers M., 1995. Type specific changes in fiber size and satellite cell activation following denervation of two strains turkey muscles. *J. Anat.* (sous presse).

Cherel Y., Bakou S., Wyers M., 1995. Hypertrophy as a response to denervation of multi-innervated fibers in two strains of turkey. *Biology of the cell* (sous presse).

Cherel Y., Bakou S., Wyers M., 1995. Satellite cell activation and evolution following muscle denervation in two strains of turkey. *Biology of the cell* (sous presse).

H. JAMMES,
J. DJIANE
INRA Unité d'Endocrinologie moléculaire
78352 Jouy-en-Josas
Cedex

Le récepteur de la GH peut-il constituer un marqueur de la variabilité des capacités de croissance entre types génétiques ? Etude chez le bovin et le lapin

L'implication de l'hormone de croissance (GH) dans la croissance post-natale est clairement établie. Elle se caractérise, entre autres, par une mise en place des récepteurs de la GH (RGH) à la surface des cellules hépatiques, conférant ainsi une sensibilité accrue à la GH. Le clonage de l'ADNc du récepteur de la GH (Leung *et al* 1987) a permis de mettre en évidence une expression du gène du RGH ubiquitaire (cœur, rein, muscle, glande mammaire) et précoce (chez le fœtus ovin : O'Mahoney *et al* 1994 ; rat : Garcia-Aragon *et al* 1992) bien que la détection biochimique du récepteur par mesure de la liaison de la GH fut négative. De plus, des ostéoblastes ou des hépatocytes de fœtus présentent une réponse cellulaire à la GH *in vitro*. Ces résultats suggèrent donc une intervention directe de la GH via son récepteur sur le développement fœtal et néo-natal au niveau de types cellulaires impliqués dans la croissance, telles les cellules musculaires et les ostéoblastes.

Le travail présenté s'organise en trois parties : l'implication de l'axe somatotrope au

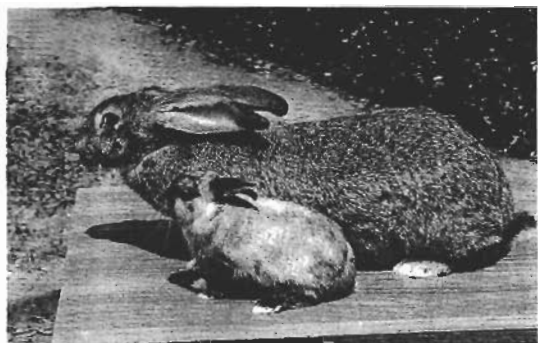
cours du développement post-natal dans le cas de phénotypes extrêmes (espèce cunicole), l'expression du gène du RGH dans le muscle au cours du développement fœtal bovin et la recherche de séquences régulatrices de l'expression du gène du RGH.

Implication de l'axe somatotrope dans les phénotypes « nain » et « géant » chez le lapin

(en collaboration avec J. Ouhayoun et F. Hulot, INRA Recherches Cunicoles, et B. Guillaume, INA P-G)

L'espèce cunicole se caractérise par une grande variabilité de taille et de poids au stade adulte. Les races Géant des Flandres et Nain de couleur représentent les extrêmes : 7 kg et 1 kg respectivement pour l'adulte (figure 1). La race Néo-Zélandaise blanche (NZ)

Figure 1. Lapins « Géant des Flandres » et « Nain de couleur ». (lapins mâles adultes).



est le prototype de la race moyenne (4 kg). Les phénotypes « nain » et « géant » peuvent rendre compte de multiples défauts de régulation de l'axe somatotrope : dérèglement hypophysaire, défaut de réceptivité hépatique ou des tissus périphériques, résistance à la GH et/ou aux somatomédines.

Les profils de GH sérique, déterminés pour ces trois races aux jours 1, 28 et 56 après la naissance ne peuvent rendre compte des phénotypes extrêmes étudiés.

En utilisant la GH bovine comme ligand radioiodé (^{125}I -bGH), une augmentation de la liaison spécifique est observée dans le foie au cours du développement post-natal. Cette augmentation est beaucoup plus marquée pour les lapins nains que pour les NZ (x6 et x4, respectivement), et inexistante pour les géants. L'analyse des courbes de compétition de liaison par régression non linéaire (programme multifit) démontre que ces variations de la liaison spécifique sont principalement la conséquence d'une augmentation du nombre de récepteurs. Au contraire, l'affinité des récepteurs pour l'hormone diminue entre 1 jour et 28 jours après la naissance. Dans le sérum, la protéine de liaison de la GH est détectée par mesure de la liaison de ^{125}I -bGH par HPLC. Les taux de protéine de liaison mesurés dans ces conditions sont corrélés à ceux des récepteurs membranaires. L'analyse de l'expression du gène du récepteur de la GH (RGH), réalisée par Northern blot en utilisant comme sonde un ADNc RGH de lapin, démontre la présence d'un transcrite majoritaire de 4,5 kb spécifique du RGH dans le foie pour les trois races de lapins et à chaque stade étudié. L'expression du gène du RGH augmente de manière significative au cours du développement postnatal chez les NZ et les nains, et non chez les géants. Une excellente corrélation existe entre le taux d'expression du gène du RGH et le taux de récepteurs membranaires.

L'analyse de l'expression du gène de l'IGF1, comme marqueur de la fonctionnalité du RGH dans le foie, a été réalisée par Northern blot en utilisant une sonde ADNc de l'IGF1 humain. Pour les trois races de lapins les taux d'ARNm d'IGF1 augmentent au cours du développement post-natal. Cependant, chez les lapins nains, ces taux restent significativement inférieurs à ceux des lapins NZ de réfé-

rence. Ce résultat est d'autant plus surprenant que les lapins nains possèdent un nombre élevé de RGH hépatiques.

En conclusion, chez le lapin en croissance, le taux de récepteurs hépatiques ainsi que celui de la protéine de liaison sérique sont une conséquence directe du niveau d'expression du gène du RGH. Ainsi, l'expression du gène du RGH au cours du développement est tout à fait dépendante de l'âge. Chez les lapins géants, nous observons une répression très marquée de la transcription du gène du RGH. Chez les lapins nains, la situation est inversée, la transcription du gène du RGH n'est pas soumise à cette régulation négative. Ces deux phénotypes extrêmes sont donc d'excellents modèles de régulation du gène du RGH.

Chez les lapins géants, l'axe somatotrope semble en état de veille et son implication dans le déterminisme de ce phénotype est difficile à définir. Chez les lapins nains, le RGH est présent, capable de lier l'hormone et de transduire le message hormonal puisqu'une synthèse d'IGF1 dépendante de la GH est observée. Toutefois, cette synthèse est réduite comparativement au lapin de référence (NZ) au vu des taux respectifs des récepteurs membranaires et pourrait provenir d'une efficacité médiocre dans la cascade de phosphorylations intracellulaires impliquées dans le mécanisme transductionnel. Cette dernière hypothèse est à explorer.

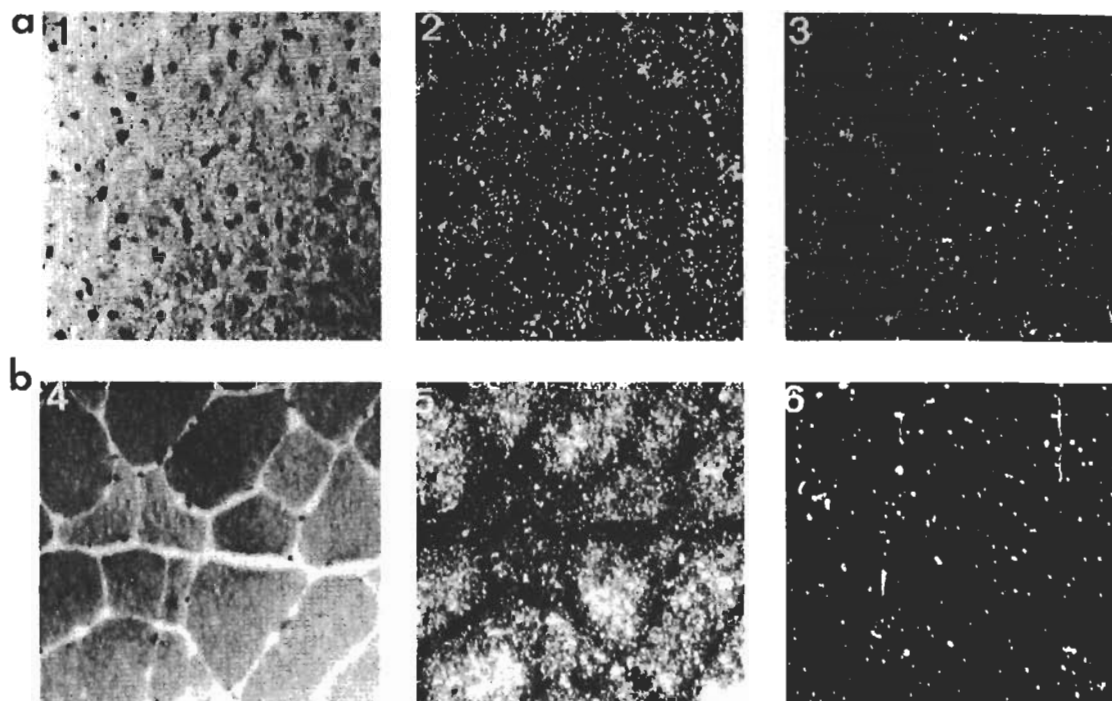
Les lapins de petit format atteignent plus rapidement l'état final de maturation musculaire, c'est-à-dire prédominance des fibres rapides et réduction des fibres lentes, que les lapins de grand format. L'implication de la GH dans ce processus est à démontrer. Dans ce cadre, nous avons mis en évidence une augmentation de l'expression du gène du RGH dans le muscle long dorsal au cours du développement post-natal avec des intensités différentes selon le type de lapins étudié. Cette expression est corrélée à celle du gène de l'IGF1. Toutefois, la liaison de l' ^{125}I -bGH sur des préparations de membranes musculaires reste difficilement détectable et cela malgré l'utilisation d'une technique de purification de fractions de membranes cytoplasmiques plus efficace (Mickelson et Louis 1985). Il reste à déterminer le rôle de la GH et de son récepteur dans la maturation musculaire en fonction du type de lapins et pour les trois stades étudiés.

Ontogénie de l'expression du RGH au cours de la gestation dans le muscle fœtal bovin (Charolais) normal et culard

(en collaboration avec A. Listrat, B. Picard et J. Robelin, INRA Croissance et Métabolismes des Herbivores)

L'ontogénie de l'expression du gène du RGH et sa localisation dans le muscle fœtal bovin

Figure 2. Localisation par hybridation *in situ* des ARNm spécifiques du récepteur de l'hormone de croissance dans le foie (série a) et dans le muscle adulte (série b). En 1 et 4 : coupes histologiques de foie et de muscle ; en 2 et 5 : mise en évidence des signaux spécifiques d'hybridation *in situ* en fond noir, en utilisant une sonde antisens ARN de RGH marquée au ^{35}S ; en 3 et 6 : contrôle de l'hybridation non spécifique en utilisant une sonde sens ARN de RGH marquée au ^{35}S . Agrandissement $\times 13$.



ont été réalisées par Northern blot et hybridation *in situ*, en utilisant une sonde ARN antisens issue du clonage du RGH bovin. La présence de l'ARNm RGH est détectée à tous les stades analysés. L'hybridation *in situ* démontre sa localisation à l'intérieur des fibres musculaires (figure 2). Au cours de la gestation, le taux d'ARNm augmente graduellement et double entre les 130^e et 210^e jours de gestation. De manière surprenante, l'expression du gène du RGH est plus précoce chez les fœtus culards que chez les normaux et d'une intensité plus forte. A l'opposé, la mise en place de l'actine musculaire semble plus précoce chez les fœtus normaux, suggérant un retard de différenciation des fibres musculaires chez les fœtus culards. Ceci serait en faveur d'une prolifération cellulaire plus importante, se poursuivant sur une période plus longue chez ces fœtus et qui pourrait être sous le contrôle de la GH. Des résultats concernant l'expression des différentes isoformes de myosines et l'expression du gène de l'IGF-II chez les fœtus culards renforcent cette hypothèse (cf. texte de Picard *et al* dans ce dossier).

Recherche de séquences régulatrices du gène RGH

(en collaboration avec P. Rubtsov, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Moscou)

L'utilisation de différents promoteurs pour la transcription d'un gène est un mécanisme

efficace dans la régulation de l'expression de celui-ci. Ceci, en association avec les mécanismes d'épissage alternatif, donne naissance à des ARNm se distinguant par leur séquences 5' non codantes. Le gène du RGH est certainement soumis à ce type de régulation. Par des expériences de protection à la RNase, il a été possible de démontrer l'existence d'au moins 5 séquences différentes chez l'homme (Leung *et al* 1987), 2 chez l'ovine (O'Mahoney *et al* 1994) et 2 chez le rat (Baumbach *et al* 1989). Une amplification enzymatique des séquences 5' non codantes (5'RACE system) permet une détermination exacte du nombre de séquences différentes, de leur composition nucléotidique et de leur représentation dans un tissu donné à un stade particulier. Ainsi P. Rubtsov et ses collaborateurs ont mis en évidence 8 variants en 5' non codant chez l'homme avec une représentativité allant de 47 % à 1 %. Un des variants conserve une partie d'un intron et chaque variant présente plusieurs codons ATG, rendant ainsi possible une régulation à un niveau traductionnel. Chez le rat, 2 variants ont été mis en évidence, dont l'un est spécifique de la femelle et certainement responsable de l'augmentation des ARNm du RGH au cours de la gestation. Chez l'ovine, Adams (1995) a décrit un variant spécifique d'un tissu, le foie.

Nous avons entrepris le même type d'études dans les modèles lapin et bovin définis précédemment, afin de tenter de répondre aux questions suivantes :

- Existe-t-il une spécificité tissulaire de l'expression du gène du RGH dans le foie, la glande mammaire et le muscle chez le lapin ?

- Les régulations de l'expression observées chez les lapins de différents formats ou chez les fœtus bovins normaux et culards sont-elles dues à la mise en œuvre de promoteurs spécifiques ?

- De la même façon, peut-on distinguer le stade fœtal du post-natal par une intervention de promoteurs différents ?

En conclusion, l'expression du gène du RGH peut constituer dans l'espèce bovine un marqueur de la variabilité des capacités de croissance entre types génétiques. Les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans ces phénotypes et, en particulier, le rôle de la GH dans la prolifération et la différenciation des cellules musculaires embryonnaires restent à élucider.

Références bibliographiques

Adams T.E., 1995. Differential expression of growth hormone receptor messenger RNA from a second promoter. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 108, 23-33.

Baumbach W.R., Horner D., Logan J.S., 1989. The growth hormone-binding protein in rat serum is an alternatively spliced form of the rat growth hormone receptor. *Genes and Dev.*, 3, 1199-1205.

Garcia-Aragon J., Lobie P.E., Muscat G.E.O., Gobius K.S., Norstedt G., Waters M.J., 1992. Prenatal expression of growth hormone (GH) receptor / binding protein in the rat : a role for GH in embryonic and fetal development. *Development*, 114, 869-876.

Leung D.W., Spencer S.A., Cachianes G., Hammonds R.G., Collins C., Henzel W.J., Barnard R., Waters M.J., Wood W.I., 1987. Growth hormone receptor and serum binding protein : purification, cloning and expression. *Nature*, 330, 537-543.

Mickelson J.R., Louis C.F., 1985. Components of purified sarcolemma from porcine skeletal muscle. *Acad. Press. Inc.*, 242, 112-126.

O'Mahoney J.V., Brandon M.R., Adams T.E., 1994. Identification of a liver-specific promoter for the ovine growth hormone receptor. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 101, 129-139.