

# Etude morphométrique et histochimique des fibres musculaires des lapereaux issus de mères nourries avec un aliment supplémenté en lysine

\* A. DALLE ZOTTE<sup>1</sup>, SZ. METZGER<sup>2</sup>, H. RÉMIGNON<sup>3</sup>, Zs. SZENDRŐ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University of Padova, Department of Animal Science, Viale dell'Università, 16 – 35020, Legnaro, Italie

<sup>2</sup>University of Kaposvár, Faculty of Animal Science, Kaposvár, Guba S. str. 40., Hongrie

<sup>3</sup>ENSAT, BP 107, 31326 Castanet-Tolosan Cedex, France

\*Corresponding Author: Tel.: +39-0498272640; fax: +39-0498272669. E-mail address: antonella.dallezotte@unipd.it.

**Résumé** - L'effet d'une supplémentation en lysine de l'aliment de mères gestantes et allaitantes a été analysé sur les caractéristiques des fibres musculaires de leur descendance. 43 lapines ont été nourries avec l'aliment contrôle (C; Lysine: 0,68%) et 43 avec l'aliment supplémenté en lysine (L; Lysine: 0,80%). A la naissance, la moitié de la portée des mères contrôles a été allaitée par des mères contrôles (animaux CC) ou par des mères supplémentées en lysine (animaux CL). La même chose a été faite avec les animaux descendants des mères supplémentées pour donner les groupes LC et LL. 10 animaux de chacun des groupes ont été sacrifiés à la naissance, à 17 jours et à 81 jours d'âge. Sur le muscle *Longissimus Dorsi* de chacun des animaux ont été effectuées des mesures histomorphométriques sur les fibres musculaires. A la naissance, la sphéricité des fibres était supérieure chez les animaux LL comparés aux animaux CC (P<0,01). Par contre des niveaux supérieurs en lysine durant la lactation tendent à réduire la taille et le pourcentage des fibres  $\beta$  chez les jeunes de 17 jours (P<0,10). A l'âge d'abattage commercial (81 jours), les animaux LL avaient des pourcentages de fibres  $\beta$ R inférieurs à ceux des animaux de type CC (P<0,05).

**Abstract - Muscle fibre types in rabbit offspring in relation to different maternal dietary lysine contents.** Forty-three does were fed control (C; Lysine: 0.68%) and 43 does a lysine supplemented diet (L; Lysine: 0.80%) during pregnancy and lactation. At birth, half litters of C does were put under C does (CC group), the other half under L does (CL group). The same procedure was followed for offspring of L does (LC and LL groups). Ten CC and 10 LL rabbits were slaughtered at kindling, 10 rabbits of each group (CC, CL, LC and LL) were slaughtered at 17d of age, 10 CC and 10 LL rabbits were slaughtered at 81d of age. The *Longissimus Dorsi* muscles were removed after death and fibre type percentage ( $\alpha$ W,  $\alpha$ R,  $\beta$ R) and morphometric traits were determined. At kindling age, the sphericity was higher in LL than in CC rabbits (P<0.01). Higher dietary lysine during lactation reduced the size and the percentage of  $\beta$  fibres in 17-days pups (P<0.10). At commercial slaughter age the LL rabbits showed lower percentage of  $\beta$ R fibres (P<0.05) than CC rabbits.

## Introduction

Plusieurs chercheurs ont déjà étudié les besoins en thréonine, méthionine et lysine chez les femelles en reproduction et les lapins en croissance, ainsi que leurs effets sur leur performance (Colin et Allain, 1978; Maertens et De Groote, 1988; Taboada *et al.*, 1994, 1996; De Blas *et al.*, 1996). La production de viande dépend du développement musculaire, qui a lieu durant la vie foetale et la vie post-natale précoce (Ouhayoun et Dalle Zotte, 1993).

L'étude des fibres musculaires présente un fort intérêt puisque leurs propriétés sont impliquées dans le déterminisme de divers aspects de la qualité de la viande. Récemment, chez le lapin, il a été montré que la restriction maternelle peut modifier le pourcentage des différents types de fibres de la progéniture (Dalle Zotte *et al.*, 2005). Par ailleurs, des travaux (Tesseraud *et al.*, 2003) ont montré tout l'intérêt d'une supplémentation en lysine de la ration pour modifier les caractéristiques morphométriques et histochimiques des fibres musculaires.

Le but de ce travail a été d'étudier l'effet d'un supplément alimentaire maternel de lysine sur les

propriétés morphométriques et le type métabolique et contractile des fibres du muscle *Longissimus dorsi* des lapereaux.

## 1. Matériel et Méthodes

### 1.1. Aliments et animaux

Trois jours avant l'insémination, des lapines multipares ont été réparties en 2 groupes de 43 individus. Un groupe a reçu un aliment commercial sans supplément en lysine (groupe C ; taux de lysine = 0,68%). L'autre groupe a reçu le même aliment mais avec une supplémentation en lysine (groupe L ; taux de lysine = 0,80% ; Tableau 1). Pendant la gestation aucune lapine n'était allaitante. Après la mise-bas, le nombre de lapereaux a été égalisé à 9 par portée dans chacun des groupes (C et L). Ensuite, la moitié des portées dérivées des lapines C est restée sous la mère C (groupe CC), l'autre moitié a été mise sous les mères L (groupe CL). La même procédure a été conduite pour les lapereaux des mères L pour générer respectivement les groupes LL et LC. Le 17ème jour les cages à nid ont été ouvertes et tous les lapins ont pu consommer, jusqu'à l'abattage, le même aliment d'engraissement (Tableau 1).

**Tableau 1.** Composition chimique et valeur nutritionnelle des aliments

Composition chimique	Aliment maternel		Aliment engraissement
	Contrôle (C)	Supplémentation en lysine (L)	
MAT (Nx6,25), %	18,09	18,07	16,00
Matière grasse, %	4,11	4,10	3,00
Cellulose brute, %	14,51	14,50	16,00
Lysine, %	0,68	0,80	0,68
Méthionine + Cystine, %	0,64	0,63	0,53
ED MJ/kg MS	10,68	10,67	10,60

Les lapereaux ont été sevrés à 21 jours d'âge. Dix lapins C et 10 lapins L ont été abattus à la naissance. Dix lapins par groupe (CC, CL, LC, LL) ont été abattus à 17 jours d'âge. Dix lapins CC et 10 lapins LL ont été abattus à 81 jours d'âge. Les groupes CL et LC n'ont pas été utilisés car on a supposé une absence d'effets due à la faible exposition des mères à la supplémentation. Sur tous les lapins, un échantillon du muscle *Longissimus dorsi* (LD) a été prélevé dans les 10 minutes suivant l'abattage. Ces échantillons ont été congelés dans de l'isopentane refroidi par de l'azote liquide et conservé à  $-80^{\circ}\text{C}$ .

### 1.2. Analyses

Sur chaque muscle, 6 coupes sériées ont été obtenues à l'aide d'un cryostat à  $-20^{\circ}\text{C}$ . Une coupe a été colorée avec de l'azorubine pour servir de référence. Quatre coupes ont été traitées pour révéler l'activité de la mATPase, après une pré-incubation acide ou alcaline (Guth et Samaha, 1970). La sixième coupe a été colorée pour mettre en évidence l'activité de la succino-dehydrogenase (SDH) selon Nachlas *et al.* (1957). L'analyse des coupes histologiques a été faite à l'aide du logiciel Racine (Buche, 1990) et a permis de classer les fibres en  $\beta\text{R}$  (lentes et oxydatives),  $\alpha\text{R}$  (rapides et oxydatives) ou  $\alpha\text{W}$  (rapides et glycolytiques) selon Ashmore et Doerr (1971). Le logiciel d'analyse d'images combine les différents intensités des colorations révélant l'activité mATPase ou SDH de chacune des fibres traitées. Sur chaque type de fibre les mesures suivantes ont été obtenues : pourcentage, surface ( $\mu\text{m}^2$ ), périmètre ( $\mu\text{m}$ ) et sphéricité (petit diamètre/grand diamètre).

La composition chimique des aliments a été analysée selon les méthodes de l'A.O.A.C (1984). Les teneurs en acides aminés ont été déterminés par chromatographie en phase gazeuse (MacKenzie,

1987) (Tableau 1). L'ensemble des résultats a été analysé par le logiciel SAS (1990). Le modèle d'analyse de variance utilisé pour les lapins nouveaux nés et ceux âgés de 81 jours incluait l'effet de la supplémentation en lysine (C, L), alors que le modèle utilisé pour les lapins de 17 jours utilisait les effets « lysine durant gestation » et « lysine durant lactation » comme effets fixes, et leur interaction.

## 2. Résultats

Compte tenu qu'à la naissance le muscle LD du lapin ne présente que des fibres  $\alpha\text{R}$  (Dalle Zotte *et al.*, 2005), les caractéristiques morphométriques de ces seules fibres ont été mesurées dans ce travail (Tableau 2). Un ajout de lysine dans l'aliment maternel (L) pendant la gestation n'a pas modifié la surface et le périmètre des fibres du muscle LD des lapereaux sacrifiés à la naissance. Par contre, la sphéricité des fibres a été significativement augmentée chez les nouveau-nés L par rapport aux nouveau-nés C (0,58 vs 0,56 ;  $P<0,01$ ).

Chez les lapereaux de 17 jours d'âge les fibres du muscle LD sont en active différenciation et l'activité de la SDH est prépondérante. Pour cette raison, seule l'activité de la mATPase a été révélée, ce qui a permis de distinguer les fibres  $\alpha$  (contractions rapides) et  $\beta$  (contractions lentes). Le supplément de lysine apporté pendant la gestation n'a pas modifié la taille et le pourcentage des fibres  $\alpha$  et  $\beta$  des lapereaux (Tableau 3). Par contre, le supplément de lysine apportée aux mères pendant la lactation (Tableau 3) a réduit la taille des fibres lentes  $\beta$  ( $P<0,10$ ), a augmenté la sphéricité des fibres rapides  $\alpha$  ( $P<0,10$ ) et a augmenté le pourcentage de fibre  $\alpha$  (96,3 vs 95,2% ;  $P<0,10$ ) au détriment des fibres  $\beta$  (3,68 vs 4,85% ;  $P<0,10$ ).

**Tableau 2.** Caractéristiques morphométriques des fibres du muscle *L. dorsi* des lapins nouveau-nés

	Lysine pendant la gestation		Prob. <sup>a</sup>	ETR
	C	L		
N. lapins	10	10		
Surface ( $\mu\text{m}^2$ )	569	528	ns	132
Périmètre ( $\mu\text{m}$ )	65,5	62,7	ns	7,9
Sphéricité <sup>b</sup>	0,56	0,58	**	0,02

<sup>a</sup> ns, non significatif:  $P>0,10$ ; \*\*:  $P<0,01$ , <sup>b</sup> petit diamètre/grand diamètre

**Tableau 3.** Caractéristiques morphométriques et typage des fibres du muscle *L. dorsi* de lapins de 17 jours d'âge

Variables	Lysine en gestation (G)		Lysine en lactation (L)		Prob. <sup>a</sup>			ETR
	C	L	C	L	G	L	G*L	
N. lapins	10	10	10	10				
<u>Surface (μm<sup>2</sup>):</u>								
α	1523	1600	1641	1482	ns	ns	ns	458
β	1431	1484	1609	1305	ns	†	ns	545
<u>Périmètre (μm):</u>								
α	113,5	117,0	118,3	112,2	ns	ns	ns	19,6
β	112,9	117,4	123,1	107,2	ns	†	ns	25,6
<u>Sphéricité<sup>b</sup>:</u>								
α	0,55	0,56	0,55	0,57	ns	†	ns	0,03
β	0,56	0,56	0,55	0,58	ns	ns	ns	0,10
<u>Types de fibres (%):</u>								
α	95,7	95,8	95,2	96,3	ns	†	ns	2,2
β	4,28	4,25	4,85	3,68	ns	†	ns	2,17

<sup>a</sup> ns, non significatif:  $P > 0,10$ ; †:  $P < 0,10$ ; <sup>b</sup> petit diamètre/grand diamètre

**Tableau 4.** Caractéristiques morphométriques et typage des fibres du muscle *L. dorsi* de lapins de 81 jours d'âge

	Lysine en gestation & lactation		Prob. <sup>a</sup>	ETR
	CC	LL		
N. lapins	9	9		
<u>Surface (μm<sup>2</sup>):</u>				
αR	1386	1506	ns	472
αW	2178	2075	ns	485
βR	1292	1002	ns	473
<u>Périmètre (μm):</u>				
αR	178	184	ns	29
αW	225	221	ns	26
βR	177	142	†	29
<u>Types de fibres (%):</u>				
αR	18,2	22,6	ns	9,1
αW	78,7	76,5	ns	9,3
βR	3,02	0,82	*	1,75
<u>Sphéricité<sup>b</sup>:</u>				
αR	0,57	0,62	ns	0,06
αW	0,59	0,59	ns	0,05
βR	0,59	0,61	ns	0,17

<sup>a</sup> ns, non significatif:  $P > 0,10$ ; †:  $P < 0,10$ ; \*:  $P < 0,05$ ; <sup>b</sup> petit diamètre/grand diamètre

Le Tableau 4 montre l'effet d'une supplémentation en lysine de l'aliment maternel quand il a été administré pendant la gestation et pendant la lactation (groupe LL), par rapport au groupe contrôle (CC), sur la taille et le pourcentage des différents types de fibres du muscle LD de la descendance abattue à 81 jours d'âge. Les fibres lentes oxydatives βR des animaux LL avaient un périmètre significativement plus petit que celui observé chez les animaux CC (142 vs 177 μm;  $P < 0,10$ ). L'écart, au niveau du pourcentage des fibres β, observé à 17 jours entre les animaux CC et les animaux LL s'est encore renforcé à 81 jours d'âge (0,82% pour le groupe LL vs 3,02% pour le groupe CC;  $P < 0,05$ ).

### 3. Discussion

A notre connaissance, il n'existe aucune étude chez le lapin ou un autre animal de rente envisageant l'influence d'une supplémentation en lysine chez la mère pendant la gestation et/ou la lactation sur les caractéristiques des muscles de la progéniture. Les résultats précédents se réfèrent principalement à l'effet direct de différents niveaux de lysine alimentaires des animaux en croissance sur leur performance de croissance et leur rendement en carcasse et en viande. Chez la dinde, l'augmentation du taux de lysine alimentaire, augmente significativement la quantité de filet et de protéines, et réduit la quantité de gras intramusculaire (Lehmann *et*

al., 1996). Concernant le lapin, une augmentation de lysine dans le régime peut améliorer la croissance et le rendement en carcasse (Taboada *et al.*, 1994). Dans le présent travail, la progéniture issue de mères nourries avec un supplément de lysine pendant leur gestation et lactation n'a pas fait observer des variations significatives en termes de croissance et de rendement en carcasse, mais a présenté des membres postérieurs plus riches en protéines et en lysine (Metzger *et al.*, 2005).

### Conclusion

Ce travail a permis de montrer qu'une augmentation du taux de lysine dans l'aliment des lapines gestantes et allaitantes (de 0,68 vs 0,80%) peu modifier la morphométrie et le pourcentage des différents types des fibres dans le muscle LD. Les modifications sont plus importantes avec un supplément de lysine pendant l'allaitement que pendant la période précédente de gestation. Le supplément de lysine a réduit la taille des fibres  $\beta$  (17 jours d'âge) et  $\beta R$  (81 jours d'âge) et a aussi réduit le pourcentage des fibres lentes oxydatives  $\beta R$ .

### Remerciements:

Cette recherche a été financée par OTKA TS 044743, par l'Université de Padova (ex 60%) et par « Hungarian – Italian Intergovernmental S&T Cooperation Programme ».

### Références

- A.O.A.C. 1984. Official Methods of Analyses, 14<sup>th</sup> Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- ASHMORE C.R., DOERR L. 1971. Comparative aspects of muscle fiber types in different species, *Experimental Neurology*, 31, 408–418.
- BUCHÉ P. 1990. RACINE: Un système d'analyse multi-images de coupes sériées. Application à la caractérisation de fibres musculaires. Ph.D. thesis, Université Rennes I, France.
- COLIN M., ALLAIN D. 1978. Étude du besoin en lysine du lapin en croissance en relation avec la concentration énergétique de l'aliment. *Ann. Zootech.*, 27, 17-31.
- DALLE ZOTTE A., RÉMIGNON H., CHIERICATO G.M. 2005. Influence of maternal feed rationing on metabolic and contractile properties of *Longissimus lumborum* muscle fibres in the rabbit offspring. *Meat Sci.*, 70(4), 573-577.
- DE BLAS C., TABOADA E., NICODEMUS N., CAMPOS R., MÉNDEZ J. 1996. The response of highly productive rabbits to dietary threonine content for reproduction and growth. In Proc.: 6<sup>th</sup> World Rabbit Congress, Toulouse, 139-144.
- GUTH L., SAMAHA F.J. 1970. Procedure for the histochemical demonstration of actomyosin ATPase. Research Note, *Experimental Neurology*, 28, 365–367.
- LEHMANN D., PACK M., JEROCH H. 1996. Responses of growing and finishing turkey toms to dietary lysine. *Poult. Sci.*, 75(6), 711-718.
- MACKENZIE S.L. 1987. Gas chromatographic analysis of amino acids as the N-Heptafluorobutyl Isobutyl Ester. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 70, 151-160.
- MAERTENS L., DE GROOTE G. 1988. The effect of the dietary protein:energy ratio and the lysine content on the breeding results of does. *Archiv für Geflügelkunde*, 52, 89-95.
- METZGER SZ., DALLE ZOTTE A., BIRÓ-NÉMETH E., RADNAI I., SZENDRŐ ZS. 2005. Effect of maternal lysine supplementation on the performance of growing rabbits. Preliminary results. *Ital. J. Anim. Sci.*, Vol. 4, Suppl. 3, 39-42.
- NACHLAS M.M., TSOU K., DE SOUZA E., CHANG C., SELIGMAN A.M. 1957. Cytochemical demonstration of succinic dehydrogenase by the use of a new *p*-nitrophenyl substituted ditetrazole, *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 5, 420–436.
- OUHAYOUN J., DALLE ZOTTE A. 1993. Muscular pH metabolism and related traits in rabbit. A Review. *World Rabbit Sci.*, 1(3), 97-108.
- SAS. 1990. SAS/STAT Users' Guide, Version 6 (4th ed.). SAS Institute Inc., Cary, NC.
- TABOADA E., MÉNDEZ J., DE BLAS C. 1996. The response of highly productive rabbits to dietary sulphur amino acid content for reproduction and growth. *Reprod., Nutr. Develop.*, 36, 191-203.
- TABOADA E., MÉNDEZ J., MATEOS G.G., DE BLAS C. 1994. The response of highly productive rabbits to dietary lysine content. *Livest. Prod. Sci.*, 40, 329-337.
- TESSERAUD S., PYM R.A.E., LE BIHAN-DUVAL E., DUCLOS M.J. 2003. Response of broilers selected on carcass quality to dietary protein supply: Live performance, muscle development and circulating Insulin-like factors (IGF-I and -II). *Poult. Sci.*, 82, 1011-1016.