



Journée des doctorant.e.s
et postdoctorant.e.s
de
l'UMR BOA

Mardi 6 juin 2023

Organisation :

Sonia METAYER-COUSTARD & Nicolas GUYOT

Programme

13h15	Introduction	
13h25	Session 1 : Durabilité des systèmes d'élevage (Julie COLLET & Laurence GUILLOTEAU)	
18' + 5'	Claire BONNEFOUS - Indicateurs comportementaux, physiologiques, métaboliques et zootecniques de l'utilisation des parcours chez quatre souches de poulets de chair dans un système de production biologique	p.4
10' + 5'	Salomé CHAUMONT - Analyse génétique des compromis entre efficacité alimentaire et qualités d'élevage et du produit pour une sélection de poulet label durable	p.5
18' + 5'	Théophile de RAUGLAUDRE - Quel niveau de protéines brutes et de tourteau de soja pour améliorer les performances environnementales de la production de poulet de chair ?	p.6
14h30	Session 2 : Régulation nutritionnelle du métabolisme (Joël GAUTRON & Vincent JONCHERE)	
14' + 5'	Baraa EZZO - FGF23, acteur majeur dans la régulation du métabolisme phosphocalcique chez la poule et marqueur pour le pilotage de la carrière des pondeuses ?	p.7
18' + 5'	Angélique PETIT - Nutrition in ovo et mise en place précoce de l'orientation métabolique chez les poulets de chair	p.8
18' + 5'	Fabien HERVO - <i>Présence non confirmée</i>	
15h35	Pause café (15 min)	
15h50	Session 3 : Qualité des produits avicoles (Sophie TESSERAUD & Michel DUCLOS)	
10' + 5'	Orapin JANTASAENG - 1H-NMR modification induced by low purine diet in combination with <i>Sida acuta</i> Burm.f. in muscle of slow growing chicken	p.9-10
10' + 5'	Piyarattana HOMOYOK - Enhanced accumulation of n-3 fatty acids in Korat chicken by using glucose transporter-targeted nanoparticles	p.11-12
10' + 5'	Océane HERVE - Caractérisation fonctionnelle de la protéine VM01, potentiel biomarqueur de la qualité de la membrane vitelline de l'œuf de poule	p.13
14' + 5'	Philippe BOCHEREAU - Etude génomique des interactions entre le métabolisme digestif et musculaire : rôle dans le contrôle des réserves énergétiques chez le poulet de chair	p.14
16h55	Conclusion	
17h	Fin	

Indicateurs comportementaux, physiologiques, métaboliques et zootechniques de l'utilisation des parcours chez quatre souches de poulets de chair dans un système de production biologique

Claire BONNEFOUS

Encadrante : Anne COLLIN (INRAE UMR BOA)

Résumé :

Les systèmes de productions avicoles biologiques donnant accès au plein air aux poulets de chair sont en forte expansion en Europe. Cependant, plusieurs études montrent que l'espace extérieur n'est utilisé que par 15 à 50 % des animaux. Ceci révèle une hétérogénéité des capacités d'adaptation des poulets aux parcours et a pour conséquence une hétérogénéité de distribution des rejets sur l'espace alloué. Il est donc nécessaire d'identifier les leviers pouvant améliorer de manière significative l'utilisation et l'exploration des parcours. L'objectif principal de cette thèse est d'évaluer si la variabilité, notamment génétique, du comportement exploratoire en système de production biologique de poulet de chair est associée à des signatures physiologiques, métaboliques et de santé au niveau de l'animal.

Pour atteindre cet objectif, nous avons étudié quatre souches à croissance intermédiaire à lente en système d'agriculture biologique : JA757 (734 animaux, durée d'élevage (DE) : 71 jours), S757N (735 animaux, DE : 85 jours), Gauloise blanche (747 animaux, DE : 106 jours) et une souche double-fin (771 animaux, DE : 99 jours). L'accès au parcours arboré (50m*50m) a été donné à 36 jours de vie. L'utilisation du parcours a été caractérisée et quantifiée pour 100 mâles au sein de chacune des souches. Cet indicateur se révèle être linéairement croissant dans le temps à l'échelle de l'animal, nous permettant de qualifier l'utilisation du parcours comme un trait de personnalité stable dans le temps chez les quatre souches étudiées.

Les comportements mesurés avant accès au parcours comme le fourragement, la locomotion ou la motivation sociale n'ont pas montré de lien robuste, sans corrélation forte observable pour les quatre souches étudiées, avec l'indicateur de l'utilisation du parcours. Cependant, l'activité de fourragement, mesurée sur plusieurs tests comportementaux, est corrélée à l'utilisation du parcours chez trois des quatre souches étudiées. De multiples indicateurs physiologiques (statut métabolique, redox ...), zootechniques (poids vifs, poids carcasses ...) et de bien-être (pododermatites, brûlures des tarsi ...) ont été mesurés à l'abattage au sein de deux groupes de 25 individus extrêmes en utilisation du parcours par souche. Nous avons pu voir les conséquences de l'utilisation du parcours sur le poids chez les souches lentes ainsi que sa potentialité de cause d'utilisation du parcours chez la souche intermédiaire comme cela a été montré sur les souches rapides précédemment. Nous avons observé des différences significatives pour de multiples paramètres (notamment biochimiques du sang ou de la viande) pour la souche à croissance intermédiaire ainsi que des tendances similaires chez deux des souches lentes étudiées, S757N et la souche double-fin, tandis que la souche Gauloise blanche montre des singularités concernant l'adaptation physiologique à l'utilisation du parcours. Des indicateurs physiologiques (de stress oxydatif par exemple) ont été mesurés et une étude métabolomique a été réalisée avant accès au parcours sur la souche S757N. Les données sont en cours d'analyses pour déterminer de nouveaux biomarqueurs et prédicteurs de l'utilisation du parcours.

Analyse génétique des compromis entre efficacité alimentaire et qualités d'élevage et du produit pour une sélection de poulet label durable

Salomé CHAUMONT

Encadrantes : *Sandrine MIGNON-GRASTEAU, Elisabeth LE BIHAN-DUVAL et Elodie GUETTIER (INRAE UMR BOA)*

Résumé :

La production de poulet Label Rouge, qui représente 15% de la production nationale (SYNALAF, 2020), se distingue du poulet standard à plusieurs titres : durée d'élevage minimale de 81 jours impliquant l'utilisation d'une souche à croissance lente, faible densité (11 animaux/m² vs 22 animaux/m²) et accès à l'extérieur pendant au moins 6 semaines, taux minimum de 75% de céréales dans le régime... Cette production participe au maintien de la biodiversité grâce à la présence de prairies et bénéficie d'une image positive auprès des consommateurs du fait de l'accès à l'extérieur et de la qualité gustative supérieure des volailles entières. Néanmoins son développement est aujourd'hui limité du fait d'une faible efficacité alimentaire qui dégrade l'impact environnemental et représente 42% de l'écart de coût avec les souches conventionnelles (1,83€/poulet vs 0,89€), et de propriétés technologiques moins adaptées (faible rendement découpe, risque accru d'acidité) au marché en forte expansion des produits découpés et élaborés. Concernant le bien-être des animaux, si l'accès à l'extérieur stimule l'expression des comportements naturels de l'espèce, il expose davantage les animaux aux variations climatiques avec des effets parfois délétères comme la baisse de consommation alimentaire en cas de forte chaleur.

La thèse vise à revisiter les objectifs de sélection du poulet Label Rouge en évaluant les synergies ou antagonismes génétiques entre caractères de production, d'adaptation et de qualité du produit, ainsi que les interactions entre génétique et conditions d'élevage, ces dernières étant très différentes entre l'étape de sélection et l'étape de production. Elle s'appuie pour cela sur un dispositif expérimental de 1200 poulets pedigree élevés sur deux années (2022 et 2023) en période estivale, soit en claustration (condition de sélection) soit avec un accès à l'extérieur (condition de production). L'ensemble des animaux a été nourri avec un aliment standard représentatif de celui donné en sélection. L'analyse phénotypique des données acquises en 2022 a déjà permis de montrer que les poids à l'abattage sont similaires dans les 2 groupes (2,5 kg), malgré un âge d'abattage légèrement plus élevé pour les animaux sur parcours (82 vs 78 jours). Les rendements en filet et en cuisse ne sont pas non plus affectés par l'accès au parcours. En revanche, l'engraissement des carcasses est limité par un élevage sur parcours qui est également associé à un filet plus acide, plus pâle, plus exsudatif et moins tendre que pour les poulets élevés sans accès à l'extérieur.

La seconde série d'expérimentation, prévue cet été, va permettre de confirmer ou d'infirmier ces premières tendances et d'acquérir les phénotypes sur suffisamment d'animaux pedigree (600 par condition) pour estimer l'héritabilité et les corrélations génétiques entre caractères et entre milieux. L'ensemble de ces résultats permettront enfin d'élaborer différents scénarios de sélection et d'estimer leur impact économique, environnemental et social.

Quel niveau de protéines brutes et de tourteau de soja pour améliorer les performances environnementales de la production de poulet de chair ?

Théophile de RAUGLAUDRE

Encadrant.e.s : Marie-Pierre LÉTOURNEAU-MONTMINY (ULaval, Québec ; Département Sciences animales), Bertrand MÉDA (INRAE UMR BOA) et Sébastien FOURNEL (ULaval, Québec ; Département des sols et de génie agroalimentaire)

Résumé :

La réduction de la teneur en protéines brutes (PB) des aliments pour poulets de chair permet de réduire les impacts environnementaux liés à la volatilisation de l'azote (N), en particulier l'acidification des sols et l'eutrophisation des eaux. La principale matière première riche en protéines utilisée étant généralement le tourteau de soja (TS), la réduction de la teneur en PB permet également de réduire des impacts environnementaux comme le changement climatique, lorsque la production de soja, en Amérique du Sud, est associée à la déforestation. Cependant, dans la plupart des essais sur les aliments à faible teneur en protéines, les effets des teneurs en PB et en TS sont confondus. L'objectif de cette étude était donc d'étudier l'effet d'une diminution de la teneur en protéines à différents niveaux d'incorporation de tourteau de soja sur les performances de croissance et la volatilisation de l'azote.

Au total, 2961 mâles Ross 308 âgés d'un jour ont été répartis au hasard dans 63 parquets. Après avoir reçu le même aliment au démarrage, 7 régimes expérimentaux ont été utilisés pendant les périodes de croissance (C ; 11-22 j) et de finition (F ; 23-34 j) : un régime témoin (T) avec 204 et 195 g/kg de PB respectivement en période C et F ainsi que 6 régimes expérimentaux formulés avec deux niveaux de réduction de PB (-15 et -30 g/kg) et 3 niveaux de TS (100%TS, 0%TS, et 50%TS une moyenne des deux précédentes formules). Les performances de zootechniques ont été mesurées par période. Le rendement filet des traitements 100%TS et du témoin, ont été mesurés à 34 j avec 36 poulets par traitements. À l'abattage, un bilan de masse sur l'azote a été réalisée en évaluant la rétention corporelle d'azote (scan DXA de poulets par régime à 23 j et à l'abattage) et en mesurant la masse finale de litière et sa teneur en N.

Pendant la période C, le gain moyen journalier et l'ingéré moyen quotidien ont diminué linéairement avec la PB indépendamment de la teneur en TS ($P < 0,001$), mais l'indice de consommation n'a pas été affecté. Au cours de la période F, aucun effet sur les performances n'a été observé. Sur l'ensemble de la période expérimentale (C+F ; 11-34 j), seules la croissance et la consommation d'aliment dans le régime sans soja à -30 g CP/kg étaient inférieures à celles du régime T d'environ 5% ($P < 0,01$). Le rendement filet des traitements 100%TS ont été significativement augmenté comparativement au témoin ($P < 0,01$).

La réduction de la teneur en PB a entraîné une diminution linéaire de l'azote ingéré et excrété, indépendamment de la teneur en TS, tandis que l'efficacité de la rétention d'azote a augmenté de façon linéaire ($P < 0,001$). Cette diminution de l'azote excrété a entraîné une diminution de l'azote perdu par volatilisation ($N \text{ volatilisé} = -0,44 + 0,58 * N \text{ excrété}$; $RMSE = 0,20$; $P < 0,001$).

Ces résultats montrent qu'il est possible de réduire simultanément la teneur en PB de 30 g/kg et le taux d'incorporation du TS de 50 % sans nuire aux performances des animaux. Les stratégies de réduction de la teneur en PB et en TS peuvent donc être utilisées conjointement pour améliorer la durabilité de la production de poulets de chair. Les données produites par cet essai seront prochainement utilisées pour construire et évaluer des scénarios (Analyse du Cycle de Vie) en contexte français, québécois et brésilien.

FGF23, acteur majeur dans la régulation du métabolisme phosphocalcique chez la poule et marqueur pour le pilotage de la carrière des pondeuses ?

Baraa EZZO

Encadrant : *Michel DUCLOS (INRAE UMR BOA)*

Résumé :

La production d'œufs induit chez la poule un besoin élevé en calcium (Ca) pour la synthèse de la coquille. Celui-ci provient, pour une part du contenu digestif, pour l'autre part du stock présent dans l'os médullaire. Cette perte doit être compensée par le remodelage osseux sous peine de fragiliser l'os et de causer l'apparition de fractures. Il est donc très important de développer de nouvelles stratégies alimentaires pour conserver la qualité de l'os et de la coquille jusqu'aux stades tardifs de la carrière productive des poules. Des travaux récents ont mis en évidence des perturbations des acteurs du métabolisme phosphocalcique dans différents tissus chez la poule âgée, parmi lesquelles une diminution de la concentration en vitamine D3 active et une augmentation de l'expression de FGF23 dans l'os médullaire. Par analogie avec les autres espèces, FGF-23 doit être libéré dans le sang pour agir sur le rein, favorisant l'élimination urinaire du P, mais limitant aussi la production de vitamine D3 active et par conséquent la rétention calcique. Pour mieux évaluer le rôle de ce facteur et son usage possible comme prédicteur de perturbations de l'homéostasie calcique. En faisant varier la qualité de l'apport en vitamine D3 (forme native ou monohydroxylée) apportée dès l'éclosion chez la poulette ou seulement chez la poule, nous espérons influencer sur la construction et le maintien du stock osseux, ainsi que sur la qualité de coquille aux différentes phases de production.

Plusieurs tissus candidats ont été prélevés à différentes âges et stades pour étudier l'expression des gènes candidats qui ont été choisis. Des effets Diet et âge ont été montrés sur la qualité des os et des œufs. Les analyses biochimiques montrent un effet d'âge sur les deux formes de la vitamine D, en plus pour la vitamine D active il y a un effet de stade. L'expression de FGF23 dans les différents tissus, sa concentration circulante pour les autres âges seront mesurées en même temps qu'un large éventail de marqueurs moléculaires préalablement identifiés comme perturbés avec l'âge chez la poule. Ces paramètres seront ensuite mis en relation dans une analyse multicritère pour évaluer leur valeur prédictive en lien avec le développement de troubles ostéoporotiques ou avec la dégradation de la qualité de coquille

Nutrition *in ovo* et mise en place précoce de l'orientation métabolique chez les poulets de chair

Angélique PETIT

Encadrantes : *Sophie TESSERAUD et Sonia METAYER-COUSTARD (INRAE UMR BOA)*

Résumé :

Améliorer la robustesse des animaux vise à promouvoir leurs capacités d'adaptation à des ressources alimentaires variées et au changement climatique, tout en préservant leurs capacités de reproduction, leur santé et leur bien-être. Le projet de thèse vise donc à mieux comprendre l'impact des nutriments disponibles dans l'œuf (e.g. glucides, protéines...) et de la sélection génétique sur la mise en place précoce de l'orientation métabolique. Nos travaux ont été réalisés sur un modèle unique de deux lignées divergentes pour le pH ultime de la viande (pHu+ et pHu-), critère reflétant les réserves en glycogène musculaire ($r^2 = -0,97$) pouvant impacter la qualité des produits, les performances des animaux et leur robustesse depuis l'éclosion jusqu'à l'âge d'abattage.

La caractérisation fine du vitellus, du liquide amniotique et du liquide allantoïque par des approches de biochimie et/ou de métabolomique (spectroscopie RMN du proton) a permis d'obtenir une vision d'ensemble sur l'environnement nutritionnel des embryons pHu+ et pHu- (*Petit et al., 2022*) et d'évaluer leur métabolisme de manière indirecte (*Petit et al., 2023*). En plus des différences observées pour les nutriments disponibles dans l'œuf (e.g. teneur en lipides, acides aminés ramifiés), l'orientation métabolique semble établie précocement. Dès le stade E10, des signatures métaboliques spécifiques ont été mises en évidence chez les deux lignées.

Afin de déterminer l'impact des nutriments (*in ovo* et post-éclosion) sur le métabolisme des embryons et de définir la fenêtre durant laquelle l'orientation métabolique se met en place, nous avons étudié l'expression de gènes d'intérêt dans le foie (véritable carrefour du métabolisme) et le muscle *Pectoralis major* (tissu cible de la sélection). Pour atteindre ces objectifs, nous avons établi une cinétique avec des mesures d'expression à différents stades du développement embryonnaire (E12, E14, E18) et post-éclosion (J0, J8 état nourri). Les analyses ont été effectuées grâce au système BioMark™ HD développé par Fluidigm, en partenariat avec la plateforme GenomEast de Strasbourg.

Grâce aux heatmaps et au regroupement hiérarchique des gènes, nous avons identifié huit profils d'expression dans le foie des animaux pHu+ et pHu-, nous permettant ainsi de visualiser l'évolution des principales voies métaboliques au cours du développement. Au vu des résultats obtenus pour les gènes différentiels entre lignées, l'orientation métabolique semble établie dès les stades E12 et E14 au niveau hépatique. A l'éclosion, deux clusters ont été observés chez les pHu+ avec des niveaux d'expression plus élevés dans le groupe 1, pour un des 8 profils d'expression. Les paramètres phénotypiques et les dosages biochimiques ont également permis de mettre en évidence un poids de foie, une activité créatine kinase et des teneurs en métabolites sériques plus élevés chez les poussins du groupe 1. Cette disparité des pHu+ ne semble pas liée au sexe mais plutôt à une cinétique de développement plus hétérogène et/ou à une fenêtre d'éclosion plus étendue.

Bien que le foie ne soit pas le tissu cible de la sélection, plusieurs voies métaboliques (e.g., dégradation des protéines, oxydation des acides gras, défense antioxydante) ont été impactées et ce très précocement, lors du développement embryonnaire, avec des différences entre lignées. Ces données seront complétées par l'étude, en cours, de gènes d'intérêt dans le muscle *Pectoralis major*.

1H-NMR modification induced by low purine diet in combination with *Sida acuta* Burm.f. in muscle of slow growing chicken

*Orapin JANTASAENG*¹, *Camille DUPU*², *Michel J. DUCLOS*³, *Sutisa KHEMPAKA*¹, *Lydie NADAL-DESBARATS*^{*2}

¹School of Animal Technology and Innovation, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand ; ²UMR 1253, iBrain, Université de Tours, Inserm, 37032 Tours cedex 1, Tours, France ; ³UMR 0083 – BOA, INRAE-Université de Tours, 37380 Nouzilly, France

Abstract :

Korat chicken (KC) is a slow-growing breed developed as an alternative breed for Thai chicken producers. This study aims to investigate the effect of different low purine diets (LPD) in combination with *Sida acuta* Burm.f. (SA) in slow-growing chicken using 1H nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy combined with multivariate data analysis. A total of 480 one-day-old of KC (mixed-sex) were randomly allotted to five dietary treatments with 16 birds/pen and 6 replicates/treatment. The experimental diets were formulated and considered feed ingredients to provide 30-45% of purine content less than the control (standard diet). In addition, SA was supplemented with two level include 0.3 and 0.6%, respectively. Five experimental diets consistent of standard diet group (T1; CON) and treatment groups with different levels of purine combined with SA (T2; 30%LPD+0.3%SA, T3; 30%LPD+0.6%SA, T4; 45%LPD+0.3%SA and T5; 45%LPD+0.6%SA. At 63 days of ages, six chickens per group (female) were slaughtered, the Pectoralis major muscle were collected and analyzed by 1H NMR spectroscopy. The results demonstrated that KC muscle consisted of 75 identified metabolites, including amino acids, amino acid derivatives, purines and derivatives, organic acids, vitamins, alcohols, sugars, small peptides, pyrimidines and derivatives, and other components. The PLS-DA method uses multivariate data showed excellent discrimination all 4 comparison groups between CON and treatment group (CON vs T2, CON vs T3, CON vs T4 and CON vs T5) along with very strong fit and perdition base on a variable of importance (VIP) >1.0 and p < 0.05. Each comparison group, a total of 18 metabolites with 17 up-regulated and 1 down-regulated in CON vs T2, 23 ones with 21 up-regulated and 2 down-regulated in CON vs T3, 34 ones with 31 up-regulated and 3 down-regulated in CON vs T4, 34 ones with all 34 up-regulated in CON vs T5, respectively. The data showed an increasing trend in the number of identified metabolites, accompanied by the reducing purine in diet up to 45% and supplementation of SA. The Venn diagram of muscle showed ten metabolites were screened as the common metabolites existing among all comparison groups including six amino acids (arginine, glutamine, histidine, proline, asparagine, tryptophan and aspartate), two amino acid derivatives (2-phenylpropionate and pyruvate) and one organic acids substance (butyrate). Pathway analysis (KEGG) showed that glycolysis/gluconeogenesis, citrate cycle, amino acid metabolism were the main metabolic processes that involved alterations of purine metabolism in muscle of KC. In conclusion, results indicated that the muscle metabolite of KC with different low purine in combination with SA diet could be distinguished using 1H-NMR metabolomics and multivariate analysis approach. The results provided valuable information on accurate assessment of muscle composition and contribute to a better understanding of changes in chicken muscle metabolism as different dietary, which could be used to help assess the quality of slow growing chicken as a premium food in future research.

Key words: metabolomics, low purine, slow-growing chicken, NMR

Résumé en français :

Le poulet Korat (KC) est une race à croissance lente développée en tant que race alternative pour les producteurs de poulet thaïlandais. Cette étude vise à examiner l'effet de différents régimes alimentaires à faible teneur en purine (LPD) en combinaison avec *Sida acuta* Burm.f. (SA) une plante contenant une activité inhibitrice de la xanthine oxydase, enzyme impliquée dans la dégradation des purines. L'étude a été conduite sur les poulets KC en utilisant la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) 1H combinée à une analyse de données multivariée. Au total, 480 poulets KC âgés d'un jour (sexes mélangés) ont été répartis de manière aléatoire dans cinq traitements alimentaires, à raison de 16 oiseaux par parquet et de 6 répliquas par traitement. Les régimes alimentaires expérimentaux ont été formulés en tenant compte des ingrédients alimentaires afin de fournir 30 à 45 % de purine en moins par rapport au contrôle (régime standard). En outre, SA a été supplémenté à deux niveaux, à savoir 0,3 et 0,6 %, respectivement. Cinq régimes alimentaires expérimentaux ont été constitués d'un groupe de régime standard (T1 ; CON) et de groupes de traitement avec différents niveaux de purine combinés avec SA (T2 ; 30%LPD+0,3%SA, T3 ; 30%LPD+0,6%SA, T4 ; 45%LPD+0,3%SA et T5 ; 45%LPD+0,6%SA). À l'âge de 63 jours, six poulets femelles par groupe ont été abattus, les muscles Pectoralis major ont été prélevés et analysés par spectroscopie RMN 1H. Les résultats ont permis d'identifier 75 métabolites, dont des acides aminés, des dérivés d'acides aminés, des purines et dérivés, des acides organiques, des vitamines, des alcools, des sucres, des petits peptides, des pyrimidines et dérivés, et d'autres composants. La méthode PLS-DA utilisant des données multivariées a montré une excellente discrimination entre CON et traitement pour les 4 modalités testées (CON vs T2, CON vs T3, CON vs T4 et CON vs T5) ainsi qu'une très forte adéquation et prédiction à partir des variables d'importance (VIP, >1,0 et $p < 0,05$). Selon le traitement, 18, 23, 34, 34 métabolites sont affectés, dont 17, 21, 31, 34 à la hausse et le reste à la baisse, respectivement pour T2, T3, T4 et T5. Les données ont montré une tendance à l'augmentation du nombre de métabolites identifiés, accompagnée d'une réduction de la purine dans le régime alimentaire jusqu'à 45% et d'une supplémentation en SA. Le diagramme de Venn met en évidence dix métabolites communs à tous les groupes de comparaison, dont six acides aminés (arginine, glutamine, histidine, proline, asparagine, tryptophane et aspartate), deux dérivés d'acides aminés (2-phénylpropionate et pyruvate) et une substance d'acide organique (butyrate). L'analyse des voies (KEGG) a montré que la glycolyse/gluconéogenèse, le cycle du citrate, le métabolisme des acides aminés étaient les principaux processus métaboliques en lien avec le métabolisme des purines dans le muscle de KC. En conclusion, les résultats ont indiqué que les métabolites musculaires de KC avec différents régimes à faible teneur en purine en combinaison avec le régime SA pouvaient être distingués en utilisant la métabolomique 1H-NMR et une approche d'analyse multivariée. Les résultats ont fourni des informations précieuses sur l'évaluation précise de la composition musculaire et contribuent à une meilleure compréhension des changements dans le métabolisme musculaire du poulet en fonction des différents régimes alimentaires, ce qui pourrait être utilisé pour aider à évaluer la qualité du poulet à croissance lente en tant qu'aliment de qualité supérieure dans le cadre de futures recherches.

Enhanced accumulation of n-3 fatty acids in Korat chicken by using glucose transporter-targeted nanoparticles

Piyarattana HOMYOK

Encadrant.e.s : *Elisabeth BAEZA (INRAE UMR BOA) ; Cécile BERRI (INRAE UMR BOA) ; Wittawat MOLEE (School of Animal Technology and Innovation, Institute of Agricultural Technology, Muang District, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand)*

Abstract :

In the last decades, there has been an increasing interest in the functional foods for human health such as n-3 fatty acid enrichment in meat products, which can be achieved with n-3 oil source supplementation in animal feed formulation. However, n-3 oil source exhibits numerous challenges such as disagreeable taste and aroma, low storage ability, decreasing the bioavailability of important fatty acids such as EPA and DHA. Improving the stability of n-3 fatty acids by using lipid-based nanoparticles could increase the use of these n-3 fatty acid sources.

Korat chicken is a crossbreed between male Thai indigenous chicken (Lueng Hang Khao) and female Suranaree University of Technology (SUT) breeder line. Korat chicken is a slow-growing chicken that could be used to produce functional meat enriched with n-3 fatty acids. The previous studies showed that dietary 4% tuna oil supplementation increased n-3 fatty acid content in Korat chicken meat (Hang et al., 2018). By the way, the literature research proved that n-3 fatty acid sources are susceptible to lipid oxidation affecting the feed quality (Sanguansri et al., 2013). However, these lipids can be protected with encapsulation, but this tool is insufficient to improve the utilization of n-3 fatty acid source as a part of these fatty acids will be also distributed in non-targeted organs. Until now, the research was mainly focused on the enrichment of meat with n-3 fatty acid rather than the large-scale production of feed supplemented with stabilized sources of n-3 fatty acids.

The incorporation of n-3 fatty acids into skeletal muscle is under vesicle form. The fatty acids are first transferred to hepatocytes (Niot et al., 2009) also known as “hepatic first-pass metabolism” (Poonia et al., 2016). According to Keegan et al. (2019), the accumulation of n-3 fatty acids mostly occurred in the liver, adhering fat, and skin followed by breast and thigh muscles. Therefore, feed formulation requires higher n-3 supplementation to allow meat enrichment with n-3 fatty acids to reach the recommended level. To reduce accumulation in non-target organs, nanotechnology is therefore a more appropriate technology. The lipid-based nanoparticles are suitable carriers for improving bioavailability and nontoxic for the cells (Saedi et al., 2018) and modified surfactant to respect gastrointestinal tolerance (Zhang et al., 2011) and to reach directly skeletal muscles (Yeh et al., 2014). Therefore, this technology might become an opportunity to enhance the precision of utilization of the bioactive compound, and nutritional value of meat.

Regarding the production of meat enriched with n-3 fatty acids, the skeletal muscle is representing the important part of determination for nanoparticle delivery. The literature review demonstrated the modification of targeting nanoparticles with monosaccharide C2C12 to adapt to cellular endocytosis pathways (Yeh et al., 2014). However, this ligand was not studied in an animal model with ingestion by oral route. The research studied galactose, classified as a monosaccharide group to be a ligand of lipid base nanocarriers and an effective penetration in enterocyte cell was described (Siu et al., 2018). The mechanism of fatty acid n-3 accumulation in muscles with a dietary supplementation of lipid-based nanoparticles in animal model needs to be investigated at the cellular level for further development of more efficient nanoparticles.

Therefore, my research study aims to generate lipid-based nanoparticles, which might reduce the utilization of n-3 oil source in feed formulation and increase the efficiency of n-3 fatty acid accumulation in Korat chicken meat. The methodology of nanoparticles synthesis will be optimized to increase the range of possible nanotechnology applications. Furthermore, the effects of this dietary supplementation will be studied on Korat chickens and the molecular mechanism will be investigated to understand the metabolic mechanisms involved in nanoparticles transfer to skeletal muscle cells. Finally, the experimental results will be analyzed and discussed to optimize the production of nanocarriers.

Résumé en français :

Ces dernières décennies ont été marquées par un intérêt croissant pour les aliments tels que les produits carnés enrichis en acides gras n-3 grâce à l'apport alimentaire d'huiles riches en ces acides gras aux animaux de rente. Cependant, cette utilisation d'huiles riches en acides gras n-3 présente plusieurs limites tels que le goût et la saveur désagréable, une mauvaise aptitude à la conservation et une diminution de la biodisponibilité de l'EPA et du DHA. L'utilisation de nanoparticules basées sur des lipides pourrait permettre d'améliorer la stabilité des acides gras n-3.

Le poulet Korat est issu d'un croisement entre un poulet mâle indigène Thai (Lueng Hang Khao) et une femelle d'une lignée reproductrice de l'Université de Technologie de Suranaree (SUT). Le poulet Korat présente une croissance lente et il pourrait être utilisé pour produire de la viande enrichie en acides gras n-3. Des études précédentes ont montré qu'une supplémentation alimentaire avec 4% d'huile de thon permettait d'accroître la teneur en acides gras n-3 de la viande de poulet Korat (Hang et al., 2018). Cependant, une revue de la littérature a montré que les sources de lipides riches en acides gras n-3 sont très sensibles à l'oxydation ce qui altère la qualité des aliments destinés aux animaux de rente (Sanguansri et al., 2013). Ces lipides peuvent être protégés avec une encapsulation, mais cette solution n'est pas suffisante pour améliorer l'efficacité d'utilisation des acides gras n-3 dont une fraction est déposée dans les organes non-cibles des animaux (tissu adipeux, foie). Jusqu'à présent, les efforts de recherche se sont surtout focalisés sur l'enrichissement de la viande avec des acides gras n-3 et peu de travaux ont été réalisés sur la production à grande échelle d'aliments supplémentés avec des sources stabilisées d'acides gras n-3.

L'incorporation d'acides gras n-3 dans le muscle squelettique est réalisée sous la forme de vésicules. Les acides gras sont tout d'abord transférés aux hépatocytes (Niot et al., 2009), processus connu sous la terminologie de « métabolisme hépatique de premier passage » (Poonia et al., 2016). Selon Keegan et al. (2019), les acides gras n-3 s'accumulent de façon préférentielle dans le foie, puis le tissu adipeux adhérent, la peau et ensuite dans les muscles pectoraux et des cuisses. Par conséquent, la formulation des aliments doit prévoir une supplémentation élevée en acides gras n-3 afin d'obtenir un enrichissement de la viande suffisant pour atteindre les recommandations nutritionnelles pour la consommation ultérieure de la viande par l'homme. Afin de diminuer l'accumulation de acides gras n-3 dans les organes non-cibles des animaux, l'utilisation de nanotechnologie semble plus appropriée. Les nanoparticules basées sur les lipides sont des transporteurs plus adaptés pour améliorer la biodisponibilité des acides gras n-3. Elles ne sont pas toxiques pour les cellules (Saedi et al., 2018) et les surfactants ont été modifiés pour respecter la tolérance gastro-intestinale (Zhang et al., 2011) et pour atteindre directement les muscles squelettiques (Yeh et al., 2014). Cette technologie est donc une opportunité pour améliorer la précision de l'utilisation de composés bioactifs et la valeur nutritionnelle de la viande.

En ce qui concerne la production de viande enrichie en acides gras n-3, le muscle squelettique représente l'organe cible pour la distribution des nanoparticules. Une revue de la littérature a montré qu'il était possible de modifier le ciblage des nanoparticules avec un monosaccharide C2C12 pour l'adressage aux voies d'endocytose cellulaires (Yeh et al., 2014). Cependant ce ligand n'a pas été testé dans un modèle animal avec une ingestion par voie orale. La recherche a plutôt étudié le galactose, classé dans le groupe des monosaccharides comme un ligand pour des nano-transporteurs basés sur des lipides et une pénétration effective dans les entérocytes a été décrite (Siu et al., 2018). Le mécanisme d'accumulation des acides gras n-3 dans les muscles grâce à une supplémentation alimentaire avec des nanoparticules basées sur des lipides doit être élucidé au niveau cellulaire pour permettre le développement ultérieur de nanoparticules plus efficaces.

Par conséquent, ma recherche a pour objectif de produire des nanoparticules basées sur des lipides, qui pourraient diminuer le taux d'incorporation d'huile riche en acides gras n-3 dans les aliments et accroître l'efficacité du dépôt de ces acides gras dans la viande du poulet Korat. La méthodologie de synthèse des nanoparticules sera optimisée ce qui permettra d'accroître le champ des applications potentielles des nanotechnologies. De plus, nous étudierons les effets de cette supplémentation sur les poulets Korat grâce à des essais expérimentaux et nous approfondirons les aspects moléculaires afin de décrypter les processus métaboliques impliqués dans le transfert des nanoparticules aux cellules musculaires. Enfin, les résultats des études expérimentales seront analysés et discutés afin d'optimiser la production des nano-transporteurs.

Caractérisation fonctionnelle de la protéine VMO1, potentiel biomarqueur de la qualité de la membrane vitelline de l'œuf de poule

Océane HERVE

Encadrants : *Thierry MOREAU et Nicolas GUYOT (INRAE UMR BOA)*

Résumé :

La membrane vitelline de l'œuf de poule est une structure protéique à l'interface entre le vitellus et l'albumen. Elle est impliquée dans divers processus biologiques comme la fécondation, le développement embryonnaire précoce et la protection de l'embryon. Cette structure est particulièrement importante pour la filière œuf de l'industrie des ovoproduits car elle permet la séparation du jaune et du blanc de l'œuf. Elle est constituée de deux couches, une couche interne et une couche externe, séparées par une fine « membrane continue ». De par leur profil protéique différent, ces deux couches ont des rôles biologiques distincts (Bregéon et al, 2022). La protéine VMO1 (vitelline membrane outer layer protein 1) est l'une des protéines les plus abondantes de la membrane vitelline externe de l'œuf de poule. Mes travaux de thèse visent d'une part, à identifier la fonction biologique de cette protéine dans l'œuf de poule (volet 1) et d'autre part, à étudier sa contribution à la qualité de l'œuf (volet 2).

Chez la poule (*Gallus gallus*), VMO1 semble spécifiquement exprimée par les tissus reproducteurs, notamment au niveau de la partie supérieure de l'oviducte impliquée dans la synthèse de la membrane vitelline externe et de l'albumen. Bien que cette protéine soit retrouvée dans l'œuf, des séquences homologues de VMO1 sont retrouvées très largement dans le règne animal, autant chez les ovipares que chez les vivipares. La séquence protéique de VMO1 est particulièrement conservée chez les oiseaux mais aussi, dans une moindre mesure, chez les autres espèces animales. Grâce à la structure tridimensionnelle de VMO1, disponible dans la PDB (Protein Data Bank), nous avons localisé trois régions particulièrement conservées qui pourraient être impliquées dans la liaison de ligands. Ainsi, ces travaux préliminaires du premier volet de ma thèse suggèrent que chez la poule, la protéine VMO1 pourrait avoir un rôle dans la reproduction aviaire et mettent en évidence une implication possible de certaines régions de cette protéine dans l'activité biologique de VMO1. La protéine sera purifiée prochainement à partir de l'œuf afin d'identifier des ligands protéiques et/ou glucidiques.

Le deuxième volet de ma thèse s'inscrit dans le cadre du projet ANR EQLIPSE dont le principal objectif vise à étudier l'impact de l'allongement de la durée du cycle de ponte des poules pondeuses sur la qualité de l'œuf. Des échantillons de membranes vitellines d'œufs de poules à différentes périodes du cycle de ponte (32-34, 71-73 et 94-99 semaines) et stockés dans différentes conditions de temps (0, 7, 14 et 28 jours) et de température (4°C et 20°C) ont été solubilisés et analysés par SDS-PAGE. Les résultats montrent que l'altération de la membrane vitelline au cours du stockage est associée à une modification du profil protéique, qui sera prochainement analysé par spectrométrie de masse afin d'identifier les protéines altérées. Une approche *ex ovo* est actuellement développée afin d'étudier plus précisément les facteurs physicochimiques impliqués dans la dégradation de la membrane vitelline.

Référence :

Bregéon M, Tomas D, Bernay B, Zatylny-Gaudin C, Georgeault S, Labas V, Réhault-Godbert S, Guyot N. Multifaceted roles of the egg perivitelline layer in avian reproduction: Functional insights from the proteomes of chicken egg inner and outer sublayers. *J Proteomics*. 2022 Apr 30;258:104489. doi: 10.1016/j.jprot.2022.104489.

Etude génomique des interactions entre le métabolisme digestif et musculaire : rôle dans le contrôle des réserves énergétiques chez le poulet de chair

Philippe BOCHEREAU

Encadrantes : Elisabeth DUVAL et Cécile Berri (INRAE UMR BOA)

Résumé :

En conditionnant la valeur du pH ultime (pHu), les réserves musculaires en glycogène sont un déterminant majeur de la qualité de la viande du poulet. Elles modulent également des indicateurs de robustesse de l'animal, comme la qualité du poussin. Récemment plusieurs travaux chez l'homme et la souris ont souligné un lien entre la fonctionnalité musculaire et digestive, révélant l'impact d'une variation du microbiote intestinal sur les réserves en glycogène (Nay et al. 2019). Ce dialogue entre sphère digestive et métabolisme musculaire sera étudié au sein de deux lignées originales de poulet sélectionnées de façon divergente pour le pH ultime du filet (pHu- et pHu+).

L'analyse du premier dispositif expérimental, sur la 15^{ème} génération de sélection, a permis de confirmer une différence du simple au double entre les deux lignées de la teneur en glycogène musculaire mesurée à 4 semaines. L'augmentation des réserves en glycogène est associée à une augmentation du poids de l'animal et du poids relatif du proventricule et gésier, lieux de digestion mécanique et chimique des aliments, ainsi que de la digestibilité iléale de l'azote et du calcium. Au niveau sanguin, aucune différence n'est détectée entre lignées pour les marqueurs du métabolisme, de l'inflammation, du statut redox ou de l'immunité testés. L'activité de la phosphatase alcaline (PAL), marqueur de santé digestive, est également comparable dans le jéjunum des deux lignées.

Au niveau du métabolisme digestif, l'analyse RNA-seq du jéjunum, site d'absorption des nutriments, a permis d'identifier un total de 149 gènes différentiellement exprimés (DE) entre les deux lignées. Leur analyse fonctionnelle fait ressortir 42 GOterms et indique une moindre expression de gènes impliqués dans la réponse immunitaire et hormonale, le comportement rythmique et circadien chez les animaux pHu+ présentant les réserves énergétiques musculaires les plus faibles. D'autres voies liées à la migration et à la prolifération cellulaire, et plus généralement à la morphogenèse tissulaire, diffèrent également entre les lignées. En ce qui concerne le microbiote caecal, les différences d'abondance observées concernent moins de 1% des bactéries présentes, mais sont susceptibles d'impacter le métabolisme énergétique, tels que la fixation du carbone et le cycle de Krebs qui semblent être sous-régulés chez les pHu+.

Au niveau du métabolisme musculaire, les premières analyses du RNA-seq du Pectoralis major (filet) confirment que de nombreux processus biologiques sont impactés par la sélection dans ce tissu, avec un total de 2676 gènes DE entre les lignées. Leur analyse d'enrichissement et fonctionnelle permettra d'illustrer quels processus biologiques sont communs ou différents aux résultats obtenus à la génération 6 (Beauclercq et al. 2017), mais surtout d'identifier d'éventuels modules de gènes co-exprimés au niveau musculaire et digestif et corrélés avec le glycogène musculaire (WGCNA). De plus, les données de séquençage des transcrits seront mises à profit pour détecter des polymorphismes génétiques dans les régions codantes de gènes candidats DE et/ou localisés dans les régions QTLs contrôlant les réserves en glycogène (Bihan-Duval et al. 2018).

Bibliographie :

- Beauclercq, Stéphane, Christelle Hennequet-Antier, Christophe Praud, Estelle Godet, Anne Collin, Sophie Tesseraud, Sonia Métayer-Coustard, et al. 2017. « Muscle Transcriptome Analysis Reveals Molecular Pathways and Biomarkers Involved in Extreme Ultimate PH and Meat Defect Occurrence in Chicken ». *Scientific Reports* 7 (1): 6447. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06511-6>.
- Bihan-Duval, Elisabeth Le, Christelle Hennequet-Antier, Cécile Berri, Stéphane A. Beauclercq, Marie Christine Bourin, Maryse Boulay, Olivier Demeure, et Simon Boitard. 2018. « Identification of Genomic Regions and Candidate Genes for Chicken Meat Ultimate PH by Combined Detection of Selection Signatures and QTL ». *BMC Genomics* 19 (1): 294. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4690-1>.
- Nay, Kevin, Maxence Jollet, Benedicte Goustard, Narjes Baati, Barbara Vernus, Maria Pontones, Luz Lefevre-Orfila, et al. 2019. « Gut Bacteria Are Critical for Optimal Muscle Function: A Potential Link with Glucose Homeostasis ». *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 317 (1): E158-71. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00521.2018>.

