

Recherche de biomarqueurs salivaires de la période de réceptivité à l'effet mâle chez la cochette

Ghylène GOUDET (1), Philippe LIERE (2), Cécile DOUET (1), Jonathan SAVOIE (3), Stéphane FERCHAUD (4),
Florence MAUPERTUIS (5), Antoine ROINSARD (6), Sylviane BOULOT (7), Armelle PRUNIER (8)

(1) PRC, INRA, CNRS, IFCE, Université de Tours, 37380, Nouzilly, France

(2) U1195, INSERM, Université Paris Sud, 94276 Kremlin Bicêtre, France

(3) PAO, INRA, 37380, Nouzilly, France

(4) GENESI, INRA, 17700, Surgères, France

(5) Chambre d'agriculture de Loire Atlantique, 44150 Ancenis, France

(6) ITAB, 49105 Angers, France

(7) IFIP, Institut du Porc, 35650 Le Rheu, France

(8) PEGASE, Agrocampus Ouest, INRA, 35590, Saint-Gilles, France

ghylene.goudet@inra.fr

Avec la collaboration technique d'Anaïs ARNAULT et Eric ROYER (PAO, INRA, 37380, Nouzilly, France)

Search for salivary biomarkers of the period of gilt receptivity to the boar effect

Our objective is to develop alternatives to hormonal treatments for estrus synchronization in gilts. Before puberty, gilts exhibit a "waiting period", related to ovarian development and gonadotrophin secretions, during which external stimulation, such as boar exposure, could induce and synchronize the first ovulation. Practical non-invasive tools for identification of this period are lacking. We searched for salivary biomarkers of this period. In a previous study, gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry (GC/MS/MS) analysis of saliva allowed the identification of two potential biomarkers: 17beta-estradiol (E2) and dehydroepiandrosterone (DHEA), whose concentrations varied at the beginning of the "waiting period". The aim of this study was to check the efficacy of the boar effect and to determine if E2 and DHEA could be biomarkers of the period of gilts receptivity to the boar effect. Salivary samples were collected from 30 Large-White gilts twice a week from 140 to 180 days of age. Starting at 160 days, 15 gilts were exposed to a boar twice a day and subjected to estrus detection using the standing response to a backpressure test, while the other 15 gilts were subjected only to the standing response test. The percentage of gilts detected in estrus between 161 and 166 days was 71% when exposed to a boar vs 23% without boar. GC/MS/MS analysis of saliva showed no significant difference in E2 and DHEA concentrations between gilts that responded to the boar effect vs gilts that did not. These results confirm that boar introduction stimulates puberty attainment. The relevance of E2 and DHEA as biomarkers could not be demonstrated. Further studies are in progress to search for other biomarkers.

INTRODUCTION

L'élevage porcin conventionnel se caractérise par une conduite en bandes qui présente de nombreux avantages techniques (surveillance des mises-bas, ajustement de la taille des portées...) et sanitaires (nettoyage-désinfection des locaux entre bandes). Une majorité d'éleveurs administre des agonistes de synthèse de la progestérone pour synchroniser les cycles des cochettes de renouvellement et les intégrer dans les bandes de truies (Boulot *et al.*, 2005). Les effets négatifs des résidus hormonaux sur la santé humaine et l'environnement conduisent à mettre en place de nouvelles pratiques d'élevage. Notre objectif à long terme est de développer des alternatives aux traitements hormonaux pour la synchronisation des œstrus des cochettes lors de la mise à la reproduction.

Avant la puberté, les cochettes atteignent un stade physiologique de pré-puberté au cours duquel une stimulation externe peut déclencher la première ovulation (Prunier, 1989). L'exposition au verrat (appelée effet mâle) pourrait favoriser le déclenchement et la synchronisation de la puberté si elle est appliquée pendant cette période de pré-puberté. Cette pratique est très peu utilisée en élevage, car le moment optimal et les modalités d'exposition au verrat ne sont pas clairement définis. Notre objectif est de rechercher des biomarqueurs de la phase de pré-puberté à l'aide de techniques non-invasives.

Pendant la phase de pré-puberté, les concentrations d'œstrone urinaire augmentent (Camous *et al.*, 1985). En conditions d'élevage avec logement en groupe, des prélèvements réguliers d'urine sont difficilement

envisageables. Les prélèvements sanguins destinés aux dosages hormonaux classiques sont trop invasifs. En revanche, le suivi de biomarqueurs dans la salive est non invasif et relativement facile à mettre en place.

Lors d'une étude antérieure, des prélèvements de salive analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (GC/MS/MS) ont permis d'identifier deux biomarqueurs potentiels, le 17beta-estradiol (E2) et la déhydroépiandrostérone (DHEA), dont les concentrations présentaient des variations significatives lors de l'entrée dans la phase de pré-puberté (Goudet *et al.*, 2017). Le but de notre étude est de vérifier si l'introduction d'un mâle induit la puberté des cochettes et si E2 et DHEA sont des biomarqueurs de la période de réceptivité à l'effet mâle.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Prélèvements des échantillons

Des échantillons de salive ont été prélevés deux fois par semaine à l'aide d'une salivette (Starstedt) sur 30 cochettes Large-White de 140 à 180 jours d'âge. A partir de 160 jours d'âge (156-161 jours), 15 cochettes ont été exposées à un verrat deux fois par jour pendant 5 minutes et à une détection des chaleurs par le test d'immobilisation, les 15 autres ont seulement été soumises au test d'immobilisation. A 180 jours, les cochettes ont été abattues pour confirmer la puberté en analysant l'état des ovaires et de l'utérus.

1.2. Analyse des échantillons

Le microdosage des stéroïdes dans la salive a été réalisé par GC/MS/MS afin d'obtenir un profil stéroïdien salivaire des cochettes ayant répondu ou non à l'effet mâle. Les pourcentages ont été comparés par un test de Chi2.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Parmi les 30 cochettes, trois ont été exclues car l'analyse du tractus à l'abattage n'était pas cohérente avec le résultat de la détection des chaleurs. Parmi les 13 cochettes restant dans le lot avec effet mâle, six étaient déjà en chaleur à 160 jours, leur réceptivité à l'effet mâle n'a pas pu être étudiée et elles ont été exclues, cinq (71%) ont été en chaleur 3 à 6 jours après le début de l'effet mâle, elles ont donc été réceptives à l'effet mâle, et deux sont restées immatures, elles n'ont donc pas été sensibles à l'effet mâle. Parmi les 14 cochettes restant dans le lot sans effet mâle, une était déjà en chaleur à 160 jours, trois (23%) ont été en chaleur entre 161 et 166 jours, 10 sont restées immatures. Le pourcentage de cochettes détectées en chaleur entre 161 et 166 jours tend à être supérieur en présence du mâle : 71% en présence du verrat vs 23% sans verrat, $P \leq 0,1$).

Le microdosage des stéroïdes dans la salive a été réalisé sur les cinq cochettes réceptives à l'effet mâle et les deux cochettes

qui n'ont pas été sensibles à l'effet mâle. Ceci a permis d'identifier 37 stéroïdes, dont 28 ont pu être quantifiés.

La figure 1 présente l'évolution des concentrations en E2 et DHEA pour les cinq cochettes réceptives et les deux cochettes non réceptives à l'effet mâle de 143 à 164 jours d'âge.

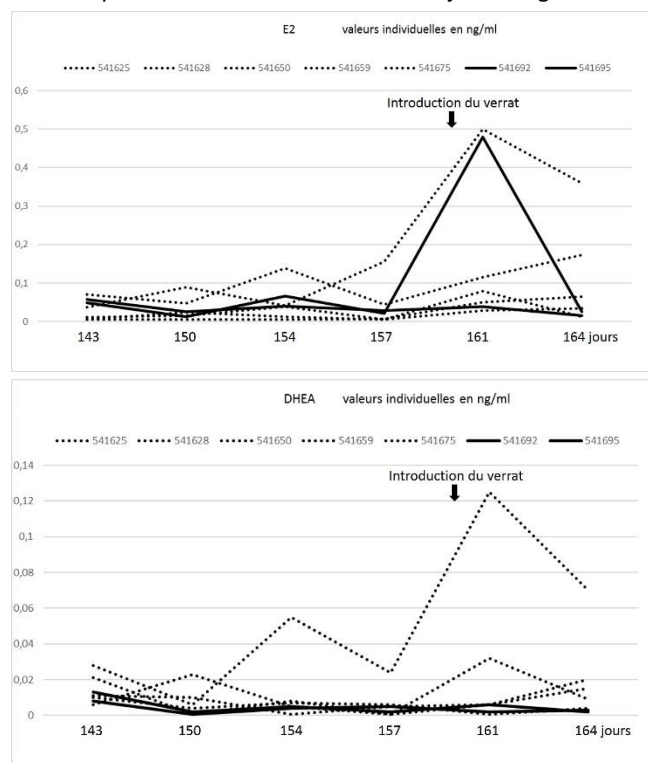


Figure 1 – Concentrations en E2 et DHEA (ng/ml) dans la salive des cinq cochettes réceptives (trait en pointillés) et des deux cochettes non réceptives à l'effet mâle (trait plein).

Aucun profil caractéristique des cochettes réceptives vs non réceptives n'a pu être mis en évidence. Aucune différence significative des concentrations en E2 ou DHEA entre les cochettes réceptives à l'effet mâle et les cochettes non réceptives n'a été observée. Donc la pertinence de ces deux stéroïdes comme biomarqueurs de la période de réceptivité à l'effet mâle n'a pas pu être démontrée. Toutefois, le nombre de cochettes que nous avons pu analyser était très faible, ce qui ne permet pas de conclure de manière définitive.

CONCLUSION

Ce travail confirme l'intérêt de l'introduction du verrat pour stimuler la venue en puberté des cochettes, mais n'a pas permis d'identifier des biomarqueurs salivaires de réceptivité à l'effet mâle. Des travaux sont en cours sur un plus grand nombre de cochettes afin de poursuivre la recherche de biomarqueurs de la période de réceptivité à l'effet mâle. Ils devraient permettre d'améliorer le repérage des femelles à stimuler par le verrat et d'augmenter l'efficacité de la stimulation.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Boulot S., Dubroca S., Badouard B., 2005. Gestion pharmacologique de la reproduction. Techniporc, vol 28 n°5, 9-12.
- Camous S., Prunier A., Pelletier J., 1985. Plasma prolactin, LH, FSH and estrogen excretion patterns in gilts. J. Anim. Sci., 60, 1308-1317.
- Goudet G., Lière P., Douet C., Savoie J., Staub C., Venturi E., Ferchaud S., Boulot S., Prunier A., 2017. Mesure des concentrations en stéroïdes dans la salive de cochettes immatures, pré-pubères et pubères. Journées Rech. Porcine, 49, 175-176.
- Prunier A., 1989. Influence de la présentation au verrat sur l'âge à la puberté des truies. INRA Prod. Anim., 2, 65-72.