

Recherche d'indicateurs échographiques et salivaires permettant l'optimisation de l'insémination porcine

Eric VENTURI (1), Marine CIROT (1), Cécile DOUET (2), Frédéric MONTIGNY (3), Jonathan SAVOIE (1), Eric ROYER (1), Anaïs GIOVANETTI (1), Lydie NADAL-DESBARATS (3), Ghylène GOUDET (2), Christophe STAUB (1)

(1) INRAE UE Physiologie Animale de l'Orfrasière, 37380 Nouzilly, France

(2) INRAE UMR Physiologie de la Reproduction et des Comportements, 37380 Nouzilly, France

(3) INSERM U1253 Analyse des Systèmes Biologiques, Université de Tours, 37044 Tours, France

christophe.staub@inrae.fr

Search for ultrasound and metabolic biomarkers to optimize pig insemination

Like for many breeding species, determining the time of ovulation in sows correctly influences the success of insemination and therefore achievement of an optimal fertility rate on economically competitive farms. Today, detecting sow estrus after weaning remains a problem in farm management. It requires a large amount of work for an uncertain result due to its relative inefficiency, involving the libido of the boar used for detection, the sexual behavior of the sow, the level of expertise and the time spent handling animals. These factors contribute to the resulting percentage of infertility on farms and explain why 2 or 3 artificial inseminations (AI) are needed to reach a fertility rate of 90%. The aim of this study was therefore to validate predictive parameters of sow estrus before ovulation. In this study, eight sows were followed after weaning. Ultrasound scanning was used to analyze uterus development, while the metabolome of salivary samples was processed using 1H Nuclear Magnetic Resonance. Ultrasound scanning detected significant changes in uterine development. Based on these analyses, 24 hours after uterine development, two inseminations were performed 12 hours apart with semen from boars of different breeds, showing that the fertile AI was the first AI for 73% of piglets. Finally, analysis of metabolomic profiles showed a significant change in the composition of saliva and differentiated ca. ten compounds of interest that evolved from the weaning of piglets to insemination. Further studies are needed to confirm these preliminary results and to find a biomarker that correlated exactly with uterine and ovarian development during the weaning/estrus period for all sows.

INTRODUCTION

Comme pour de nombreuses espèces d'intérêt agronomique, la qualité de la détermination du moment d'ovulation chez la truie est directement liée au succès de l'insémination, donc à l'obtention d'un taux de fertilité maximal, gage de compétitivité économique de l'élevage. Aujourd'hui, le suivi de la venue en œstrus de la truie suite au sevrage reste perfectible dans la conduite des élevages. Cette étape représente une charge de travail importante pour un résultat aléatoire du fait des incertitudes affectant certains paramètres (libido du verrat souffleur, comportement sexuel peu marqué de la truie, niveau d'expertise et temps consacré par l'animalier). Pour atteindre un taux de fertilité acceptable, de l'ordre de 90%, les éleveurs réalisent le plus souvent 2 à 3 inséminations par truie. Dans ce contexte, l'objectif de cette étude était de valider un paramètre prédictif de la chaleur de la truie, avant l'étape d'ovulation, donc avant la détection de la progestérone plasmatique traduisant que tout ou partie des follicules ont ovulé. Les paramètres prédictifs utilisés sont l'évolution de l'utérus après le sevrage des porcelets et la détection des métabolites salivaires.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Prélèvements des échantillons

Huit truies Large White (LW) ont été suivies pendant une semaine, du sevrage des porcelets un jeudi jusqu'au mercredi de la semaine suivante, donc après l'insémination. Les truies

étaient logées ensemble, sans changement de salle ni de régime alimentaire durant cette période. Au cours de l'étude, l'utérus et les ovaires ont été examinés par échographie (échographe Exapad ECM, sonde transabdominale convexe 6Mhz) deux fois par jour, pour mesurer le développement utérin post sevrage et détecter l'ovulation (Martinat-Botté et al., 2003). En parallèle, des prélèvements de salive ont été réalisés deux fois par jour à l'aide de salivettes (Starstedt). Les échantillons ont été centrifugés à 3000g pendant 10 minutes avant aliquotage du surnageant et conservation des échantillons à -80°C. L'insémination des truies a été réalisée à partir du lundi soir, 24 heures après le développement utérin constaté par échographie, avec de la semence de verrat Meishan (MS) lors de la première IA et de la semence de verrat LW lors de la deuxième IA, 12 heures plus tard. Le but de cette méthode était de phénotyper facilement les porcelets et de déterminer l'IA fécondante sans avoir à génotyper les animaux.

1.2. Analyse des échantillons

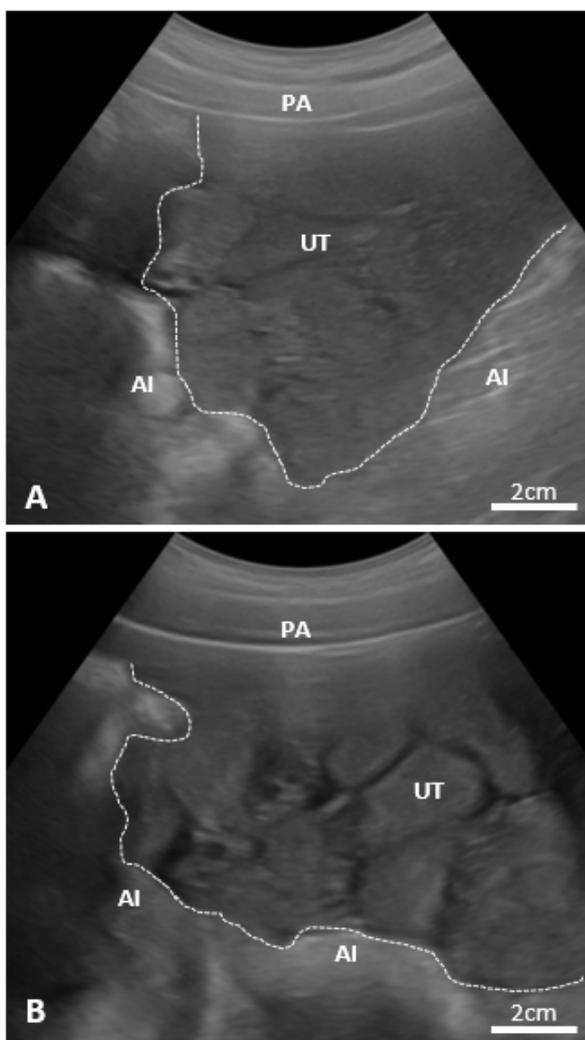
Le métabolome de la salive a été analysé par Résonance Magnétique Nucléaire du proton. Les données ont été analysées par diverses approches statistiques multivariées non-supervisées, de type PCA*, et supervisées, de type PLS-DA** et OPLS-DA***, afin de déterminer des biomarqueurs caractéristiques de l'état physiologique des animaux.

Notes : * Analyse en composantes principales ** Partial Least Squares-Discriminant Analysis *** Orthogonal Partial Least Squares-Discriminant Analysis

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats préliminaires montrent qu'il est possible de mettre en évidence des changements significatifs de la morphologie de l'utérus par échographie en amont de la détection de l'œstrus par le verrat. Après sevrage, l'utérus est peu développé, restreint entre la paroi abdominale, la vessie et l'anse intestinale (Fig 1A). Au moment de l'œstrus, 72 heures plus tard, l'utérus développé présente des coupes larges bien définies séparées par des zones noires peu échogènes (Fig 1B).

Figure 1 - Photos d'utérus de truie après sevrage le vendredi matin (A) et le jour de l'insémination le lundi matin (B)



PA : paroi abdominale ; AI : anse intestinale ; UT : utérus

Tableau 1 – Phénotype des porcelets issus des truies après mise bas (LW x MS = Large White x Meishan issus de la 1^{ère} IA ; LW x LW = Large White x Large White issus de la 2^{ème} IA)

Truies	LW x MS	LW x LW	Total
1	14	0	14
2	7	5	12
3	13	0	13
4	9	2	11
5	0	13	13
6	11	0	11
Total	54	20	74
Pourcentage	72,97%	27,03%	100,00%

Note : sur les huit truies suivies au départ, deux truies n'ont pas été inséminées, l'une pour cause de réforme, l'autre pour cause de métrite.

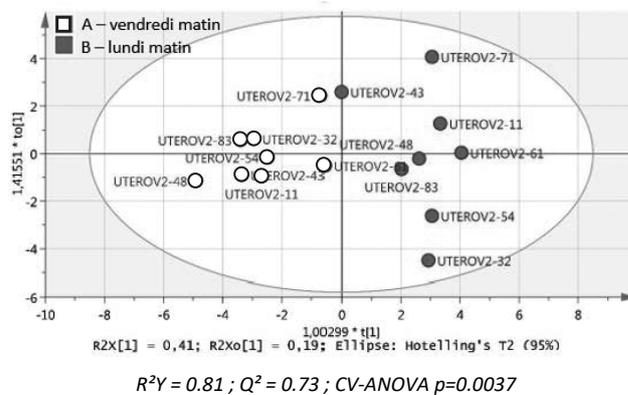
Alors que les inséminations ont été réalisées sur la base des observations échographiques, le tableau 1 montre que le phénotype des porcelets est à 73% LW croisé MS ce qui prouve que la première IA est principalement responsable de la fécondation (pour toutes les truies sauf la truie n°5).

En parallèle, les analyses du métabolome de la salive montrent qu'il existe une ségrégation significative ($p=0,004$) entre les prélèvements réalisés après sevrage (A) et ceux réalisés au moment de l'œstrus, le jour de l'insémination (B) (Figure 2). Le profil métabolomique de la salive évolue très rapidement en 72 heures et les analyses ont permis d'identifier 42 composés parmi lesquels environ 10 métabolites présentent un changement significatif de leur concentration entre le sevrage des porcelets et le moment d'insémination.

Figure 2 – Analyse supervisée OPLS-DA des salives par RMN.

Cercle : les salives du vendredi matin après sevrage (A) ;

Disque : les salives du lundi matin le jour de l'insémination (B)



CONCLUSION

Bien que, parmi les métabolites identifiés, certains soient potentiellement des biomarqueurs du moment d'insémination, nous n'avons pas été capables, à ce stade, de trouver une même combinaison de métabolites exactement corrélée au développement de l'utérus et de l'ovaire pour toutes les truies. Des essais complémentaires sur un nombre d'animaux plus important sont nécessaires pour confirmer ces résultats.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Martinat-Botté F., Royer E., Venturi E., Boisseau C., Guillouet P., Furstoss V., Terqui M., 2003. Determination by echography of uterine changes around puberty in gilts and evaluation of a diagnosis of puberty. *Reprod. Nutr. Dev.*, 43, 225-236.