



HAL
open science

Etude de la fertilité chez le bouc : analyse métabolomique par RMN

Marylène Bertrand, Hervé Meudal, Florence Bordères, Vincent Furstoss, Louis Wozniak, Alice Fatet, Céline Landon

► **To cite this version:**

Marylène Bertrand, Hervé Meudal, Florence Bordères, Vincent Furstoss, Louis Wozniak, et al.. Etude de la fertilité chez le bouc : analyse métabolomique par RMN. 10. Journées scientifiques du Réseau Francophone de Métabolomique et Fluxomique RFMF 2016, May 2016, Montpellier, France. 155 p., 2016, 10 JS Réseau Francophone de Métabolomique et Fluxomique. hal-01581541

HAL Id: hal-01581541

<https://hal.science/hal-01581541v1>

Submitted on 4 Sep 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Marylène Bertrand*, **Hervé Meudal***, **Florence Borderes°**, **Vincent Furstoss°**, **Louis Wozniak°**,
Alice Fatet° et **Céline Landon***

*Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS, UPR 4301, rue Charles Sadron, CS 80054, 45071 Orléans cedex 2
°Unité FERLUS Fourrages, environnement, ruminants, INRA, UE1373, Les Verrines, BP 80006, 86600 Lusignan

marylene.bertrand@cnrs-orleans.fr

Cette étude concerne la fertilité des caprins de races « Alpine » et « Saanen ». Les taux de fertilité de ces boucs après insémination étant assez variables, il nous est paru important d'étudier les métabolites et les conditions qui pourraient conduire à l'amélioration de ces derniers. Pour ce faire, 204 échantillons de plasmas séminaux de 35 boucs prélevés durant les années 2009 à 2012 et présentant des taux de fertilité de 47% à 74 %, ont été analysés par RMN-1D à l'aide d'un spectromètre RMN 700MHz avec cryosonde.

204 échantillons plasmas séminaux Taux de fertilité de 47% à 74%



104 échantillons
18 boucs race Alpine



100 échantillons
17 boucs race Saanen

Traitement des spectres RMN

- FT, phasage, recalage du 0 et de la ligne de base des spectres.
- Préparation de l'arborescence des spectres pour preprocessing.

Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de la plateforme W4M <http://workflow4metabolomics.org/>

- Bucketing des spectres de 0,02 ppm ou de 0,04 ppm.
- Normalisation.
- Analyse exploratoire des données (Quality Metrics).
- Analyse en composante principale (PCA).
- Analyse PLS, OPLS, ...
- Extraction des zones VIP>1, et VIP>1,2 de la PLS.
- Tests univariés paramétriques et non-paramétriques (Pearson et Spearman).
- Obtention des zones du spectre les plus significatives en fonction du taux de fertilité.

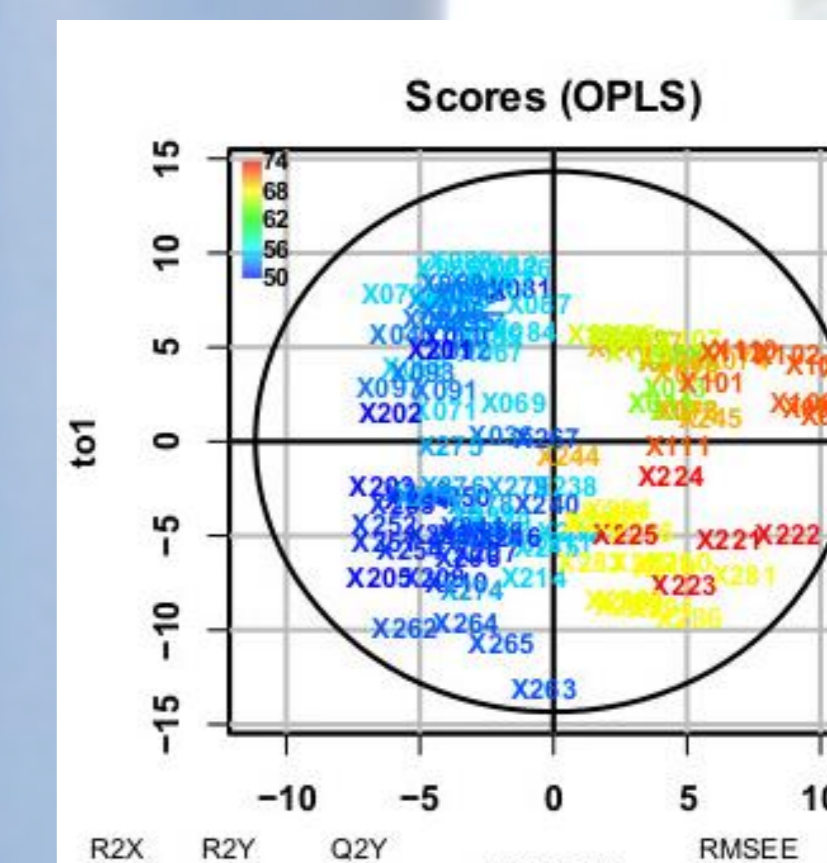
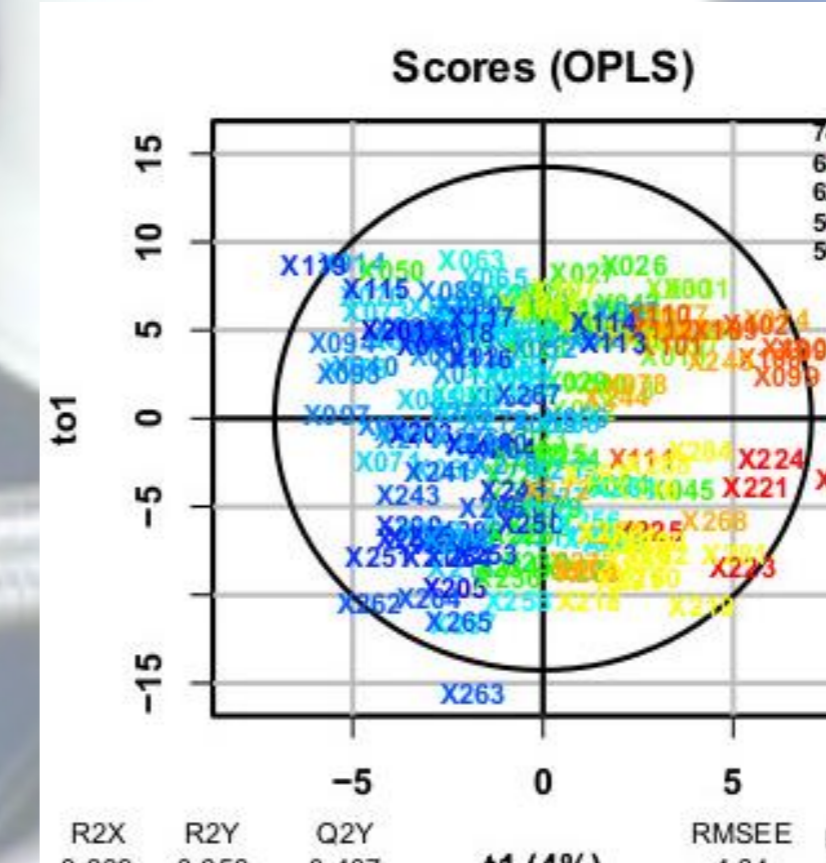
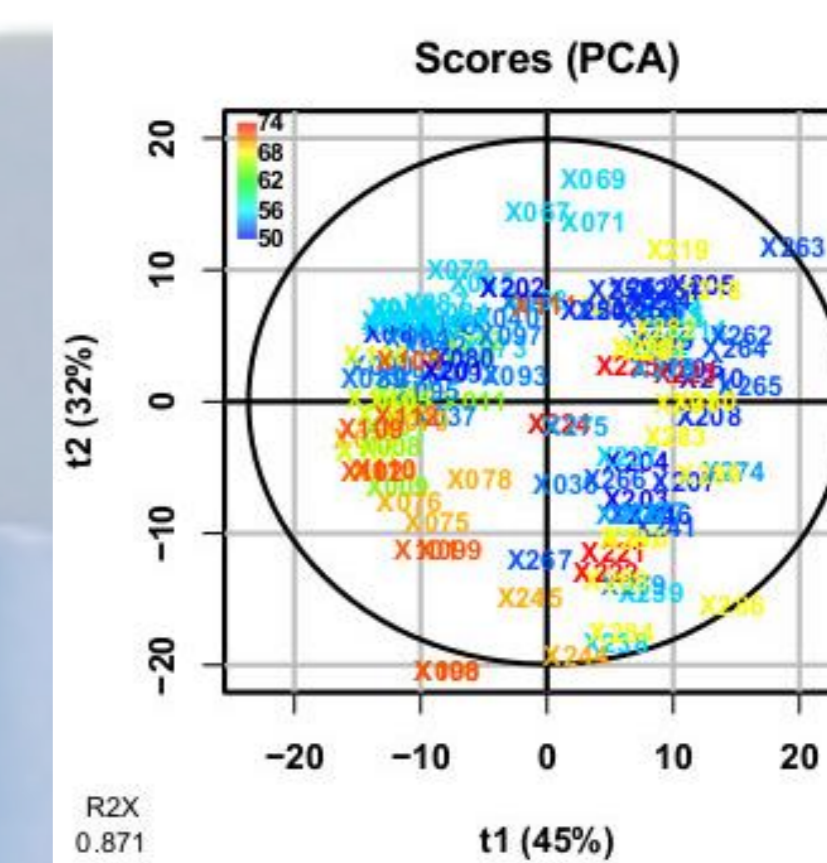
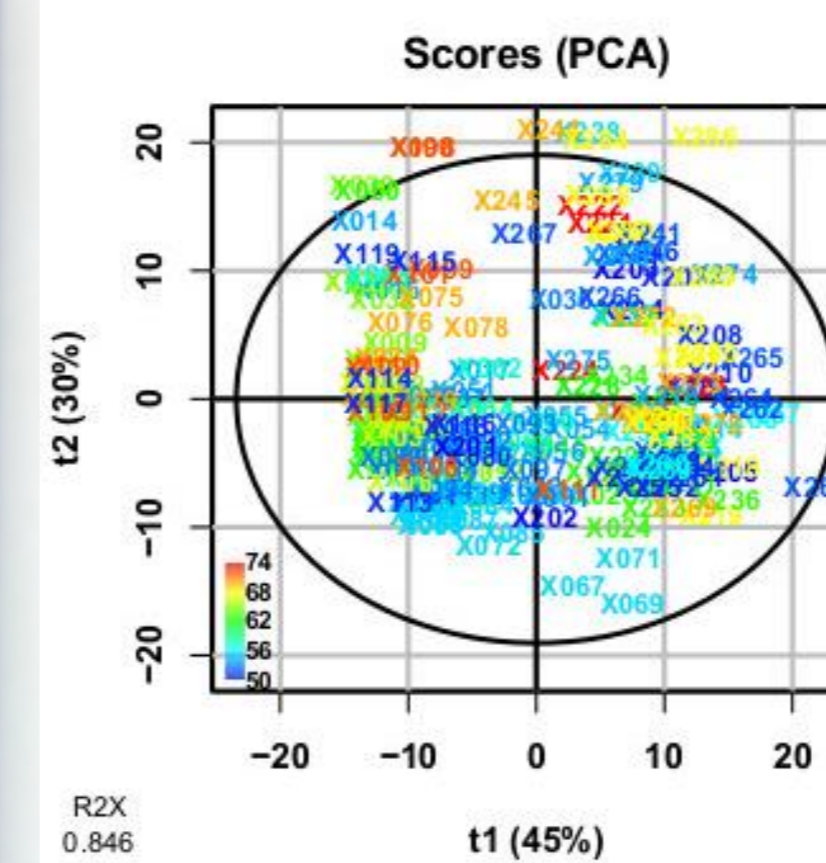
Ces analyses statistiques ont été effectuées :

- sur l'ensemble des 204 échantillons de plasmas de boucs (et sur 201).
- sur les 104 échantillons de boucs de race Alpine.
- sur les 100 échantillons de boucs de race Saanen.
- sur les 124 échantillons de plus basse et de plus haute fertilité.

Résultats des analyses statistiques

Sur 201 échantillons de boucs (-3 outliers)

Sur 124 échantillons haute et basse fertilité (élimination des échantillons avec taux de fertilité compris entre 57 et 63)

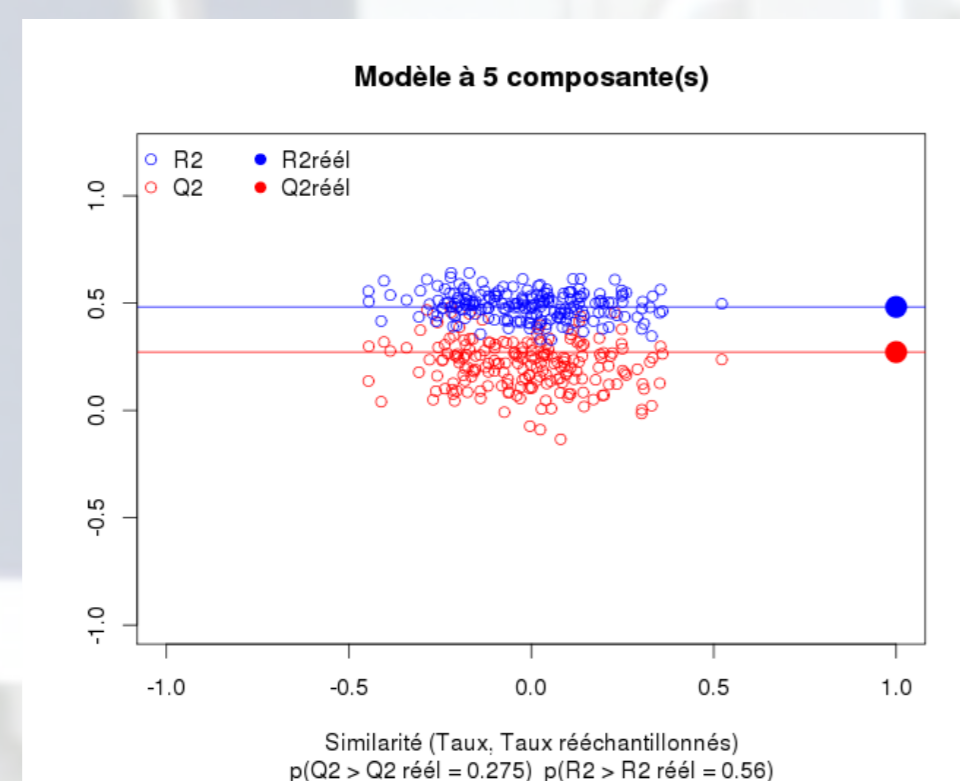


Préparation des échantillons

- Décongélation des tubes de plasmas séminaux de bouc.
- Prélèvement de 200 µL de plasma.
- Ajout de 450 µL de tampon phosphate dans D₂O avec TSP, à 0.1M pH=7.
- Centrifugation 10 minutes à 12 000 tours/min.
- Conservation des tubes dans la glace.
- Prélèvement de 600 µL du surnageant et transfert dans des tubes RMN de 5 mm.
- Acquisition en RMN-1D 700 MHz avec cryosonde. (Séquence cpmgpr, 128 scans).

Prédiction de la fertilité

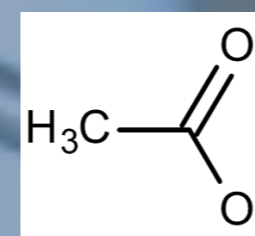
- En fixant un seuil $\alpha=5\%$, le modèle établi (de 1 à 5 composantes) pour l'ensemble des échantillons des boucs, ne permet pas d'établir de lien significatif entre le taux de fertilité réel et le taux de fertilité prédit par le modèle.



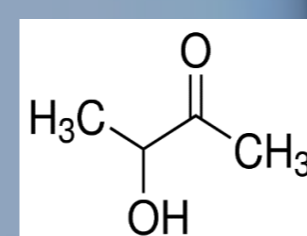
Identification des métabolites

Certains métabolites correspondant aux zones ont été identifiés :

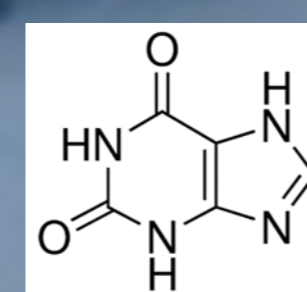
- L'acétate



- L'acétoïne



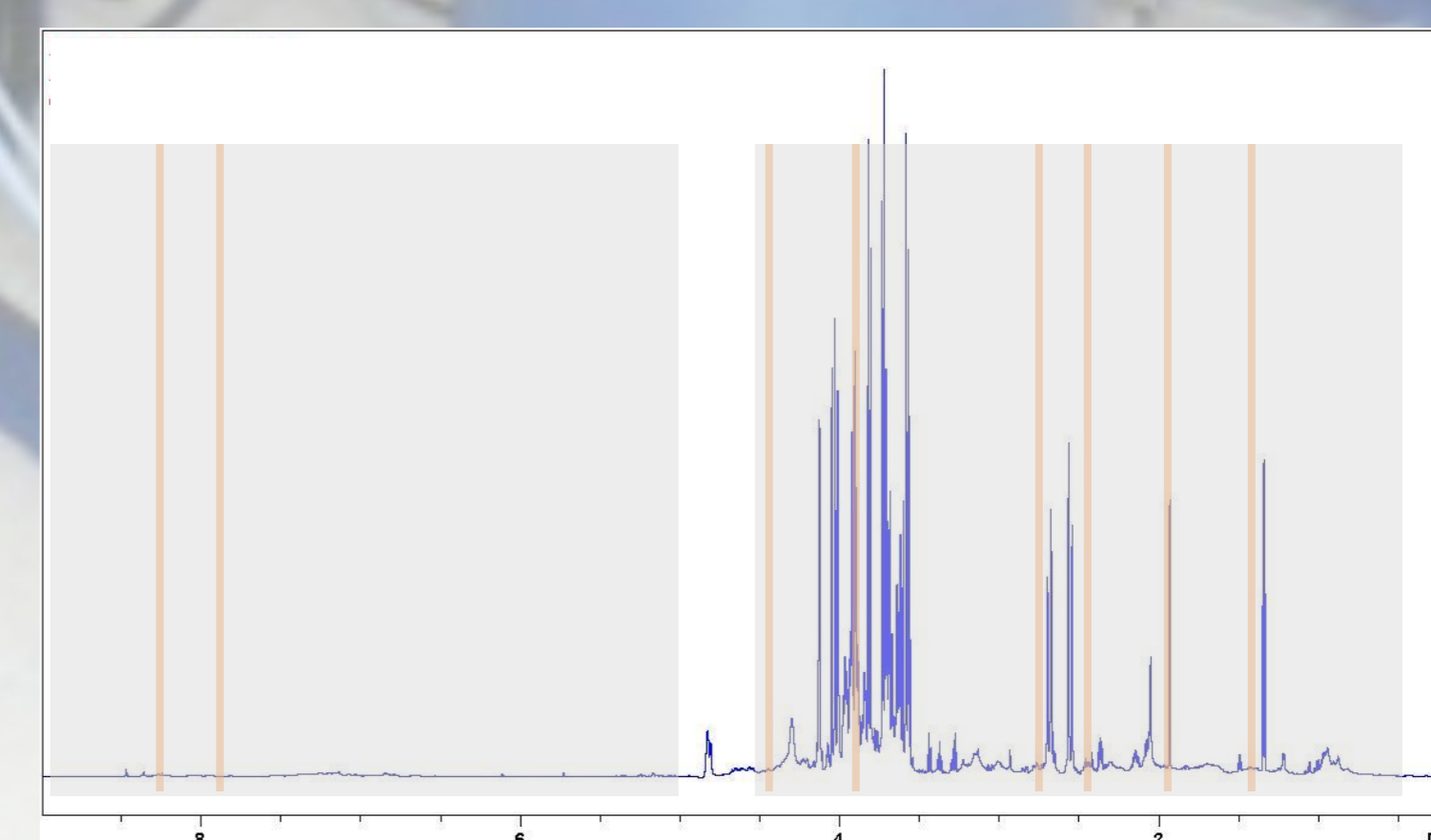
- Des purines oxydées



Des analyses RMN-2D sont en cours afin de vérifier ces hypothèses.

Les zones du spectre d'intérêt pour le taux de fertilité et significatives d'après les tests univariés sur les VIP >1,2 extraites des PLS sont les mêmes sur les 2 lots d'échantillons. Elles correspondent aux zones surlignées dans le spectre.

Identification des zones d'intérêt



Conclusion

Des analyses RMN et des analyses statistiques ont été effectuées sur la totalité des 204 échantillons de plasma séminaux de boucs, sur une sélection de 124 échantillons de haute et basse fertilité, sur les 104 échantillons de race Alpine et sur les 100 échantillons de race Saanen afin d'identifier des marqueurs de fertilité. Certains métabolites importants pour la fertilité ont été identifiés ou sont en cours d'identification grâce à des analyses RMN-2D. Les analyses statistiques démontrent que la discrimination entre les échantillons apparaît insuffisante pour pouvoir prédire la fertilité pour tous les échantillons. Par contre, des différences notables entre les deux races de boucs ont été relevées. Certains des métabolites identifiés étant très peu concentrés dans les échantillons, ils n'auraient sans doute pu être révélés sans l'utilisation d'un spectromètre de 700 MHz.

Les auteurs remercient l'équipe technique Ferticap de l'INRA FERLUS pour leur aide à la collecte des échantillons et Caggènes pour l'identification et la mise à disposition des boucs candidats, l'équipe de la plateforme W4M (www.workflow4metabolomics.org)
Cette étude a été réalisée avec le concours financier du CNRS, de la région Centre-Val de Loire et de Caggènes dans le cadre de la convention de recherche INRA-Caggènes-Géno n°44000276.