

CONTACT: Secrétariat exécutif de la Cryobanque nationale

Delphine DUCLOS, Institut de l'Élevage, Département Génétique 149 rue de Bercy 75595 Paris Cedex 12

Tél.: 05 61 75 44 59 – méil: delphine.duclos@idele.fr

Site Internet de la Cryobanque nationale: <http://www.cryobanque.org>

DES RESULTATS VARIABLES DANS L'UTILISATION DE SEMENCE CONGEELEE CHEZ LES RACES LOCALES PORCINES

Marie-José MERCAT¹, Herveline LENOIR¹, Stéphane FERCHAUD²

¹ IFIP, Institut du porc, Domaine de la Motte au Vicomte, BP 35104, 35651 Le Rheu, France

² INRA GenESI, Venours 86480 Rouillé, France.

L'insémination animale (IA) est très peu utilisée en races locales porcines. En dehors de la race Basque, elle se limite aux programmes de décongélation des semences de la Cryobanque Nationale (CBN) : doses en pellets ou en paillettes congelées il y a une trentaine ou une vingtaine d'années respectivement. A la décongélation, peu de spermatozoïdes sont mobiles dans les pellets. Aussi, nos prédécesseurs ont-ils été visionnaires et volontaires de mettre en place ces stocks qui ont tout de même déjà donné naissance à quelques porcelets de races locales. La congélation en paillettes a constitué une amélioration technique significative. Bien que peu pratiquée, y compris en sélection, l'IA avec des paillettes donne désormais des performances de reproduction satisfaisantes.

Afin de gérer la variabilité génétique des races locales porcines, un programme de décongélation de semences de la CBN a été mis en place dans le cadre du projet CRB-Anim (ANR-11-INBS -0003 du 'Programme d'Investissements d'Avenir). Il était prévu d'inséminer 6 truies pour chacune des 5 races locales en CBN : décongélation de semences de 3 verrats, en priorité les plus anciens, moins apparentés aux populations sur pied (principalement des doses en pellets sauf en Basque). L'objectif était ensuite de congeler la semence d'un mâle issu de décongélation par verrot pour reconstituer et augmenter les stocks de la CBN.

Le programme a démarré avec la race Cul Noir Limousin. Les résultats de reproduction ont été satisfaisants. Pour les IA faites à l'INRA : 3 mise-bas (50%), 18 porcelets nés vivants et 14 sevrés issus de 2 des 3 verrats utilisés, 9 descendants mis à la reproduction en élevages, congélation de semence de 2 verrats nés du programme. Deux truies ont ensuite été inséminées avec succès en élevage. Les porcelets n'ont cependant pas été gardés car non conformes au standard Cul Noir Limousin.



Photo 1 : Verrat Cul Noir Limousin issu du programme (Crédit-photo : INRA)



Le programme s'est poursuivi en race Gascon avec des résultats très mitigés. Une première série d'inséminations pratiquées à l'INRA Genesi a donné naissance à 3 portées (50% de mise-bas), 15 porcelets nés vivants dont 8 sevrés, 6 reproducteurs placés en élevages, un verrat entré en centre d'insémination en vue de congélation de semence. Les truies vides ont été ré-inséminées sans succès. Les inséminations se sont poursuivies en élevage sur 5 nouvelles femelles. Bien qu'effectuées par du personnel qualifié de l'INRA, les IA n'ont pas donné de gestation.

Des inséminations ont ensuite été pratiquées en élevage sur 8 cochettes Basque synchronisées au Régumate ® et après injection de Porceptal ® pour induire l'ovulation. Aucune gestation n'a été constatée. Il est possible que l'induction de l'ovulation n'ait pas été efficace car le Porceptal n'a peut-être pas atteint le muscle en raison de la forte adiposité des animaux au regard de la taille des aiguilles. Quatre cochettes du même lot ont ensuite été ré-inséminées sans succès selon un protocole d'IA classique.

Les résultats des inséminations sont synthétisés dans le tableau 1 ci-dessous. Ils montrent clairement que l'utilisation de semences congelées en races locales ne garantit pas l'obtention de portées. Un des enseignements de ces travaux est de proscrire l'utilisation de semence congelée sur des femelles ayant fait précédemment un retour en chaleur après une IA (aucune mise-bas observée). Cela ne met pas nécessairement en cause l'aptitude à la reproduction des femelles utilisées. En effet, les cochettes basques de l'essai ont ensuite mené une gestation à terme après IA en semence fraîche. Plusieurs explications aux échecs d'insémination peuvent être évoquées. La qualité de semence insuffisante à la décongélation (quelques spermatozoïdes mobiles en pellets et environ 50% de spermatozoïdes en paillettes) explique certainement majoritairement ces échecs. Néanmoins les contrôles microscopiques post décongélation étaient conformes pour des semences congelées il y a plus de 20 ans avec une technique basique.

Tableau 1 : Synthèse des résultats d'inséminations avec des semences congelées

Race	Limousin		Gascon		Basque
	A l'INRA	En élevage	A l'INRA	En élevage	En élevage
Inséminations					
Nombre de femelles inséminées	6	2	6	5	8 (Porceptal)
Nombre de Mise-Bas	3 (50%) 18 nés vivants 14 sevrés	2 (100%) Non conformes au standard	3 (50%) 15 nés vivants 8 sevrés	0 (0%)	0 (0%) Problème de taille d'aiguille
Nombre de femelles ré inséminées	4		3		
Nombre de Mise-Bas	0 (0%)		0 (0%) 1 échographiée pleine		

Ainsi, dans une espèce pourtant reconnue pour sa facilité de reproduction, des travaux de recherche restent nécessaires pour mieux maîtriser le protocole de décongélation de ces semences anciennes: meilleure caractérisation du pouvoir fécondant des semences congelées, optimisation des protocoles d'IA par une meilleure connaissance des éventuelles spécificités physiologiques des truies de races locales ou recours à des protocoles innovants. A ce titre, un essai d'insémination très profonde va être réalisé, dans un premier temps en race conventionnelle. L'objectif est de rapprocher les spermatozoïdes du site de fécondation, au plus haut dans les cornes utérines, pour compenser le manque de vigueur des spermatozoïdes à la décongélation. Si les résultats sont concluants, l'essai sera poursuivi en race locale (Porc Blanc de l'Ouest et Bayeux) dans le cadre du projet CRB-Anim.

BREVE

Succès pour les CRB agronomiques regroupés dans l'infrastructure nationale RARe (<https://www.agrobrc-rare.org>), dont fait partie la Cryobanque nationale : RARe est inscrite sur la feuille de route nationale des infrastructures de recherche (<http://www.enseignementsup-recherche.gouv.fr/cid70554/la-feuille-de-route-nationale-des-infrastructures-de-recherche.html>).

RESTAURATION DE DIVERSITE GENETIQUE GRÂCE A LA CRYOBANQUE : UNE PREMIERE CHEZ LE COQ!

Aurore THELIE¹⁻², Elisabeth BLESBOIS¹, Michèle TIXIER-BOICHARD³

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

² SYSAAF, 37380, Nouzilly, France

³ UMR GABI, INRA, 78352 Jouy en Josas, France

Un des objectifs de la Cryobanque Nationale est de pouvoir reconstituer des familles disparues, et ceci même dans des cas difficiles comme quand il s'agit de lignées subfertiles. Chez ces lignées, les semences sont de mauvaise qualité au départ et supportent mal la cryopréservation. Souvent, les femelles ont aussi un problème de reproduction. Il est alors difficile d'obtenir des petits issus de la semence cryopréservée.

La lignée expérimentale R+ est une lignée INRA sélectionnée pour sa faible consommation alimentaire résiduelle (Bordas et al., 1992 ; Morisson et al., 1997). Cette lignée présente des problèmes au niveau du métabolisme mitochondrial qui s'accompagne d'une faible fertilité.

Nous avons été sollicitées par Tatiana Zerjal (UMR GABI, INRA, AgroParisTech Jouy en Josas) pour pallier à un problème sur cette lignée suite au décès de certains coqs issus de 3 familles différentes. La diversité génétique de la lignée en élevage était fortement menacée.

Heureusement, de la semence de coqs de cette lignée avait été cryopréservée en 2003 au sein de la Cryobanque Nationale dans le cadre du projet BRG pour la création de la cryobanque avicole. La semence cryopréservée avait été testée en 2007 avec un taux de fertilité de 14%.

Des paillettes de semence issues de coqs ayant la même origine paternelle que 2 des 3 familles manquantes ont donc été sorties de la Cryobanque afin d'inséminer des femelles de ces familles R+, en escomptant l'obtention de nouveaux animaux. La semence de 6 coqs a été décongelée pour inséminer 5 à 6 poules/coq avec une quantité fixe de spermatozoïdes (300 millions de spermatozoïdes).



Photo 1 : Des spermatozoïdes de coq cryopréservés, colorés à l'éosine-nigrosine.

Les spermatozoïdes vivants présentent une tête longiligne d'environ 10 microns de long et 0,5 de large, bien blanche. Le flagelle est très long (environ 90 microns) et encore plus étroit. Le spermatozoïde en haut est partiellement rose et considéré comme mort. Le spermatozoïde en bas à gauche présente une forme anormale (pliure entre la tête et la pièce intermédiaire) et est considéré comme non fécondant. Les 2 spermatozoïdes du milieu sont considérés comme normaux.

Photo : I. Grasseau, INRA.

Au total, 4 inséminations artificielles successives ont été réalisées, chacune à 3 jours d'intervalle. Les résultats sont rapportés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Données de fertilité et naissance des six mâles utilisés pour la restauration de la diversité génétique chez les animaux de la lignée R+.

	male 1	male 2	male 3	male 4	male 5	male 6	Moyenne
fertilité (%)	2.2%	16.4%	28.3%	0.0%	1.9%	3.4%	8.7%
No. fertiles/œufs incubés	1/46	9/55	15/53	0/59	1/52	2/58	28/323
Eclosion (%)	0%	67%	100%	/	100%	50%	92%
No. éclos/œufs fertiles	0/1	6/9	15/15	/	1/1	1/2	23/25
No. de mâle/femelle	/	1/5	7/8	/	1/0	1/0	10/13

Nous avons obtenu 23 poussins (10 mâles et 13 femelles) sur les 323 œufs mis en incubation soit un taux de succès moyen de 8.7% (16.2% pour une famille et 1.8% pour la seconde). Quatre des six mâles utilisés pour les inséminations ont ainsi pu avoir des descendants dont trois avec une descendance mâle. Seule la famille la mieux représentée (mâle 3) a eu une descendance fertile et utilisée en reproduction pour la génération suivante.



Photo 2 : Poussin R+ né à partir de la semence cryopréservée.
(Crédit-photo : A. Thélie, INRA)

Cette expérience prouve, pour la première fois chez le coq, qu'il est possible de restaurer une origine familiale au sein d'une lignée à faible fertilité grâce à la semence cryopréservée et conservée dans la Cryobanque Nationale. Toutefois, l'extrême variabilité du succès à la décongélation montre l'intérêt de poursuivre les recherches pour améliorer la fertilité post-décongélation.

Remerciements : SYSAAF (D. Guémené) et l'unité expérimentale PEAT, Nouzilly (D. Gourichon, Y. Baumard et J. Delaveau) pour leur appui technique.

Publication acceptée dans Poultry Science : "Chicken semen cryopreservation and use for the restoration of rare genetic resources"

VISITE DU "CENTRE FOR GENETIC RESOURCES" (CGN) AUX PAYS-BAS

La cryobanque hollandaise fait partie des premières du genre à avoir été constituée : les plus anciennes figurent dans les pays de l'Est, mais la particularité de la Cryobanque hollandaise est d'avoir été la pionnière en impliquant les centres d'insémination privé dans les collections. Le site primaire se situe dans l'Université de Wageningen et contient également des collections végétales – dans des pièces séparées physiquement. Le volume des deux collections (végétales : par exemple plus de 23 000 accessions pour les céréales ; et animales : plus de 130 races ou populations et 490 000 doses) atteint des niveaux respectables : les vendeurs de matériel spécialisé dans la cryoconservation ne s'y trompent pas et sponsorisent largement le lieu en envoyant régulièrement des « goodies » comme des gants de manipulation, des tabliers, ou autres casques de protection. Le seul souci : le responsable de la cryobanque est très grand, origine néerlandaise oblige, et rien ne lui va ! En dehors de cette petite anecdote, un point important à noter dans le modèle économique du projet est la coopération avec les centres privés qui permet des conditions optimales de stockage : revêtement au sol en aluminium, système d'évacuation de l'air, dispositif de sécurité pour l'ensemble des cuves (voir photo 3)... En particulier une des entreprises de sélection néerlandaise délègue entièrement la congélation de la semence au CGN, ce qui permet d'amortir une partie des coûts de collecte et congélation des races à petits effectifs.

Pour finir, rappelons que le directeur actuel du CGN, S. Hiemstra, est également le président du point focal européen pour les ressources génétiques (ERFP : <https://www.rfp-europe.org/>).



Photo 3 : Intérieur du CGN
(Crédit-photo : Danchin C – idele)

Pour en savoir plus : <https://www.wur.nl/en/Research-Results/Statutory-research-tasks/Centre-for-Genetic-Resources-the-Netherlands-1.htm>

Consultation des animaux conservés : http://www.genebankdata.cgn.wur.nl/uk/genebankdata_uk.html