

# LA LETTRE DE LA CRYOBANQUE NATIONALE

NUMERO 14

**CONTACT: Secrétariat exécutif de la Cryobanque nationale**

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

Tél.: 05 61 75 44 59 – méil: [delphine.duclos@idele.fr](mailto:delphine.duclos@idele.fr)

Site Internet: <http://www.cryobanque.org>

## LA CRYOBANQUE NATIONALE



### FETE SES 20 ANS !



Edito de Michèle Tixier Boichard (INRA), présidente de la Cryobanque

J'ai d'abord fait connaissance de la Cryobanque nationale en étant membre de sa commission scientifique, où j'ai pu apprécier la pluralité et la richesse des débats. A la Cryobanque, on ne parle pas la langue de bois. Toutes les filières d'élevage y sont représentées, elle se trouve au cœur de nombreux enjeux : génétique, reproduction, santé, pour les grandes comme les petites populations. Les questions sont claires, les positions s'expriment et même si les solutions sont parfois difficiles à trouver, tout le monde y met du sien. C'est pourquoi je n'ai pas longtemps hésité à accepter la proposition de Bernard Coudurier de présenter ma candidature à sa succession à la présidence du GIS. Lorsque j'ai réalisé en 2010 que la Cryobanque avait été labellisée Centre de Ressources Biologiques (CRB) par le GIS IBISA, j'ai compris que nous devions saisir l'opportunité du programme Investissements d'Avenir dont la ligne 'infrastructures nationales en biologie-santé' était ouverte aux CRB. Cela couronnait notamment les efforts du Bureau des Ressources Génétiques qui ont conduit à faire reconnaître le concept de CRB pour la recherche agronomique. La préparation du projet d'infrastructure [CRB-Anim](#) a mobilisé tous les membres du GIS, nous y avons mis ce que nous rêvions de faire depuis des années en termes d'enrichissement des collections et cet objectif a été en grande partie atteint avec une augmentation des collections de plus de 50% en 6 ans qui a concerné toutes les espèces, mammifères, oiseaux, poissons, mollusques. De nouvelles méthodes ont été développées afin de collecter de nouvelles espèces aquacoles. La cryobanque n'est pas seulement un lieu de conservation mais elle est aussi un lieu d'innovation pour les équipes de recherche et pour les éleveurs qui accompagnent son développement. Bien sûr, cela suppose de trouver les moyens de mettre nos idées en pratique et c'est ce que CRB-Anim a permis. L'enjeu devant nous est maintenant de faire vivre les collections de la cryobanque car elle est trop souvent considérée comme un simple entrepôt. La cryobanque peut aider les races locales à élargir leur base génétique mais peut aussi conduire à réaliser de nouveaux croisements et à dynamiser la diversité génétique d'une espèce d'élevage. Nous ne sommes pas les seuls en Europe et dans le monde à avoir cette ambition : le projet européen [IMAGE](#) qui se termine en février 2020 a permis de partager des connaissances et de développer de nouvelles méthodes pour moderniser le fonctionnement des cryobanques, mais aussi des banques d'ADN et de tissus. Ses acquis seront transférés au point focal européen pour les ressources génétiques animales, dont le secrétariat est porté par IDELE et l'INRA. Des enjeux similaires sont discutés avec nos collègues des ressources génétiques végétales et forestières dans un autre projet européen, [GenResBridge](#), qui a pour objectif de proposer une stratégie intégrée pour que la diversité génétique soit un pilier de la durabilité en agriculture, en foresterie et en élevage. Nous comptons sur tous les déposants et utilisateurs de la cryobanque nationale pour nous aider à réussir cet objectif pour l'élevage en France.

Les organismes participant au Groupement d'Intérêt Scientifique "Cryobanque nationale"



MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE DE L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORÊT



## Coralie Danchin-Burge, première secrétaire exécutive et Bernard Bibé, premier Président nous racontent...

La Cryobanque est née de la volonté de quelques hommes attachés à ce que la France respecte ses engagements liés à la ratification de la Convention sur la Diversité Biologique. Il est clair que sans leur volonté, forte, la Cryobanque ne serait pas née. C'est donc (feu) la CNAG\* Scientifique qui a décidé la création de cette organisation fin 1999. Elle a pris la forme d'un Groupement d'Intérêt Scientifique (GIS) avec le soutien financier du Ministère chargé de l'Agriculture. Le premier conseil de groupement de la Cryobanque nationale s'est tenu le 27 janvier 2000, nous avons été élus : Bernard Bibé (INRA) Président et Coralie Danchin-Burge, secrétaire exécutif de la structure.

Cette approche « top-bottom », pour utiliser un vocabulaire à la mode, a été peut-être à l'origine de certains quiproquos qui ont eu lieu assez rapidement. Les acteurs de terrain qui avaient déjà mis en place des collections ont pu se sentir dépossédés de leur projet et n'ont parfois jamais voulu rejoindre les collections nationales (cas de certaines races bovines à petits effectifs) mais pour beaucoup, après avoir réfléchi vraiment ensemble aux tenants et aboutissants, les inquiétudes ont été dissipées. C'est ainsi que la fédération des livres généalogiques pour les races locales porcines ont accepté le transfert de leurs collections et sont même devenus des acteurs majeurs de notre organisation, en alimentant régulièrement les collections, et en utilisant également les stocks.

L'adhésion au projet de la Cryobanque a été progressive et a souvent été permis en accompagnant des projets de collecte, soit en finançant des collectes, principalement pour des races à petits effectifs, soit en aidant des projets de recherche pour lever des verrous dans la cryoconservation de matériel biologique de nature différente (congélation d'embryons, chez les équins par exemple) ou de nouvelles espèces (en particulier pour les espèces avicoles puis aquacoles). La création du concept de Centre de Ressources Biologiques, puis sa montée en puissance, avec des financements associés (en particulier le projet en cours, CRB Anim), a été un moteur évident pour booster les collections et implanter la Cryobanque dans le paysage.

Notre action au cours de ces premières années de fonctionnement a donc été d'ouvrir et d'enrichir les collections. Cette priorité, poursuivie depuis, a fait que 20 ans plus tard, la France est dotée d'une des plus belles collections d'espèces élevages au monde. Ce que l'on peut regretter est que son aura reste très limitée et son utilisation restreinte. Finalement c'est au niveau international que sa reconnaissance est la plus évidente, son leadership étant reconnu et représenté par le projet européen H2020 IMAGE, sous la coordination de la présidente actuelle de la Cryobanque, Michèle Tixier-Boichard (INRA). Ce projet, justement, nous apporte une vision européenne et met en exergue la difficulté des cryobanques de passer d'une vision de musée à une vision plus proactive, celle du musée du Louvre aujourd'hui pour poursuivre la comparaison ! Cela ne peut se faire qu'en associant en permanence les déposants (potentiels) des collections, qui peuvent être également les futurs utilisateurs mais aussi les chercheurs. En ces temps de changements rapides, où les nouveaux paradigmes fleurissent, les collections détenues par la Cryobanque sont une formidable réponse pour cet avenir incertain. Sans doute qu'il ne faut plus parler d'assurance mais d'un investissement, sûr, pour le futur ?

### Les « pères » de la Cryobanque

- UNCEIA (ALLICE aujourd'hui) : *Alain Malafosse*, aidé par *Bernard Guérin* (UNCEIA-ACSEDIATE)
- INRA : *Louis Ollivier*, *François Menissier*, *Bernard Bibé*
- SYSAAF : *Michel Reffay*
- BRG – Bureau des Ressources Génétiques : *Dominique Planchenault*, aidé par *Andrée Sontot* pour la partie juridique
- IDELE : *Jean-Claude Mocquot* et *Pierre-Louis Gastinel*
- Ministère chargé de l'Agriculture : *René Valognes*
- Races de France : *Jacques Bougler*

### Ceux qui l'ont accompagnée très rapidement

- Experts en cryoconservation : *Michèle Magistrini* (INRA, équidés), *Elisabeth Blesbois* (INRA, espèces avicoles), *Pierre Boudry* et *Marc Suquet* (IFREMER, espèces aquacoles), *Catherine Labbé* (espèces aquacoles), *Thierry Joly* (ISARA, lapins).
- Suivi des programmes de sélection/conservation : *Sophie Danvy* (IFCE, équidés), *Marie-José Mercat* (IFIP, porcins), *Bernard Coudurier* (SYSAAF / INRA)
- Gestionnaire de sites de stockage : *David Briganti* (ACSEDIATE), *Stéphane Ferchaud* (INRA) et *Gisèle Valladeau* (CAPGENES)

Et beaucoup d'autres...

\* Commission Nationale d'Amélioration Génétique

## L'OCCASION DE RETRACER LE CHEMIN PARCOURU

Le GIS (Groupement d'Intérêt Scientifique) Cryobanque Nationale a été créé officiellement en novembre 1999. La France était alors parmi les précurseurs dans la mise en place de ce type de structure qui découlait de la signature de la Convention sur la Diversité Biologique (CDB) à Rio en 1992.

Son objectif affiché était alors de pouvoir adapter nos populations animales à nos besoins futurs. En plus des méthodes de gestion des populations animales utilisées par les exploitations agricoles, il paraissait judicieux de se servir des techniques de conservation par le froid pour préserver à long terme du matériel génétique, comme de la semence et des embryons.

### Principales dates clés pour la Cryobanque Nationale

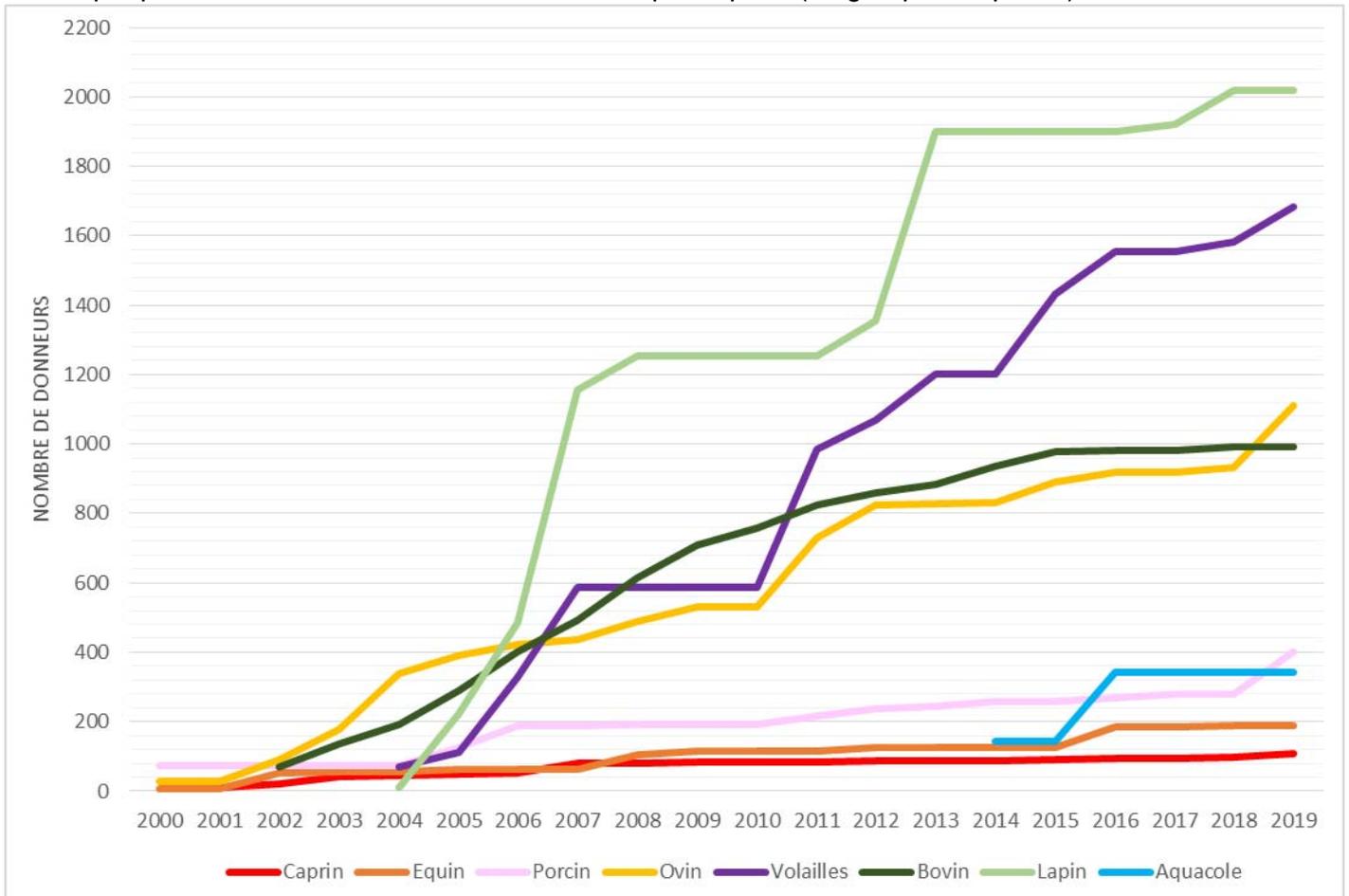


### Des collections de plus en plus variées

La Cryobanque Nationale a depuis toujours vocation à accueillir du matériel reproductif d'un maximum d'espèces et de races présentes dans les élevages français.

Pour beaucoup d'entre elles, les techniques de cryoconservation de la semence et souvent des embryons sont maîtrisées ce qui a permis, grâce aux déposants qui ont souhaité participer, d'enrichir dès les premières années les collections présentes.

Graphique 1 : Evolution du nombre de donneurs par espèce (ou groupe d'espèces) au fil des années



L'existence de la Cryobanque et les projets associés (comme CRB-Anim) ont permis de faire avancer la recherche dans les espèces où la cryoconservation n'était pas maîtrisée. Certaines espèces ont donc fait leur apparition plus tardivement, en particulier les espèces aquacoles pour lesquelles de la semence de truite a d'abord été incluse en Cryobanque et plus récemment celle d'huître creuse, omble, bar, saumon ou dorade.

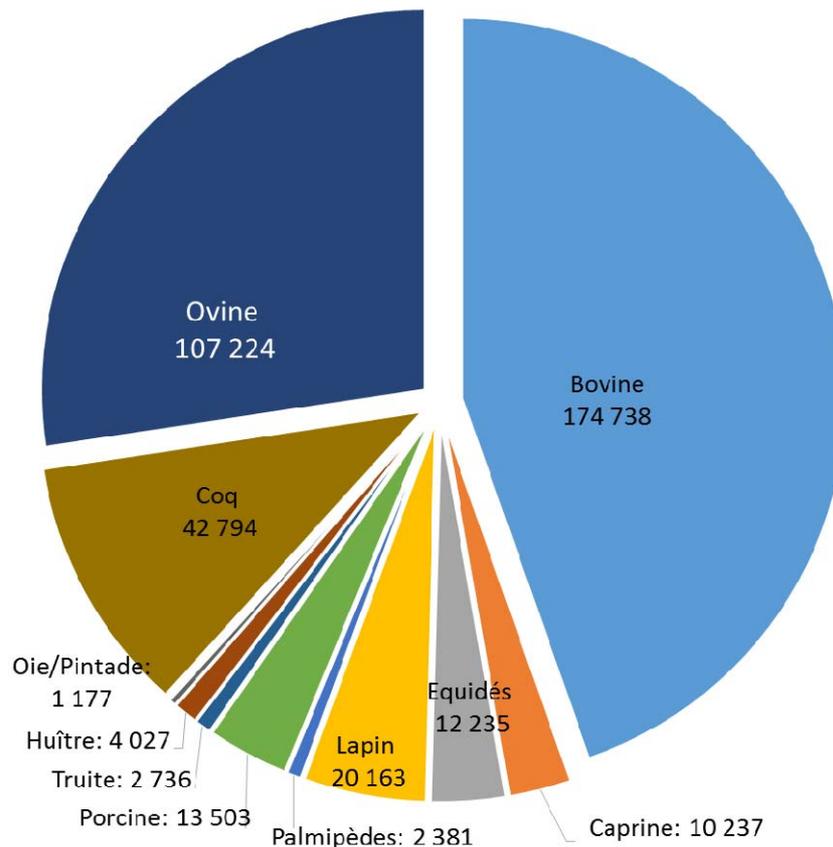
Certaines collections progressent régulièrement, d'autres par palier : cela dépend des dépôts qui peuvent être fréquents (espèces où l'insémination est courante) ou plus occasionnels mais avec parfois une grande quantité de matériel apporté en une seule fois (projet ponctuel, déstockage de collections anciennes dans des centres d'insémination).

Il peut sembler surprenant que le nombre de donneurs soient le plus important en lapin. C'est à la fois l'espèce qui compte le plus grand nombre de races ou lignées présentes (56) et seuls des embryons sont aujourd'hui déposés (la cryoconservation de semence étant plus compliquée) ce qui signifie que l'on compte deux donneurs pour chaque embryon.

Les volailles sont, elles aussi, bien représentées avec 46 races ou lignées de coq, 14 de canard, une d'oie et une de pintade. Pour les coqs, le projet CRB-Anim a permis de collecter de nombreuses races à faibles effectifs et plusieurs lignées expérimentales d'intérêt.

Si l'on s'intéresse maintenant au nombre de doses présentes actuellement pour chacune des espèces, les répartitions sont un peu différentes (graphique 2).

Graphique 2 : Nombre de doses stockées par espèces



Ce sont les bovins les plus représentés avec plus de 170 000 doses sur près de 400 000 doses que comptent les collections. Les entreprises de sélection pour les races bovines laitières ont, pour plusieurs d'entre elles, été de fidèles déposants de matériel pour la Cryobanque. Cela a permis un apport régulier de semence et un enrichissement progressif des stocks. Pour les races allaitantes, des dépôts ponctuels ont permis leur présence dans les collections.

Les ovins sont aussi très présents dans les collections avec 43 races ou lignées et plus de 100 000 doses au total. Là encore le projet CRB-Anim a financé la diversification des collections avec, par exemple, la collecte de semences de béliers des 3 races ovines laitières des Pyrénées.

Les collections comportent du matériel reproductif de 15 espèces. Ce sont souvent celles pour lesquelles le matériel génétique cryoconservé n'est pas utilisé en routine ou dont la technique n'est pas encore bien maîtrisée ou coûteuse par rapport au donneur qui sont les plus compliquées à obtenir.

### Les 3 types de matériel bien représentés

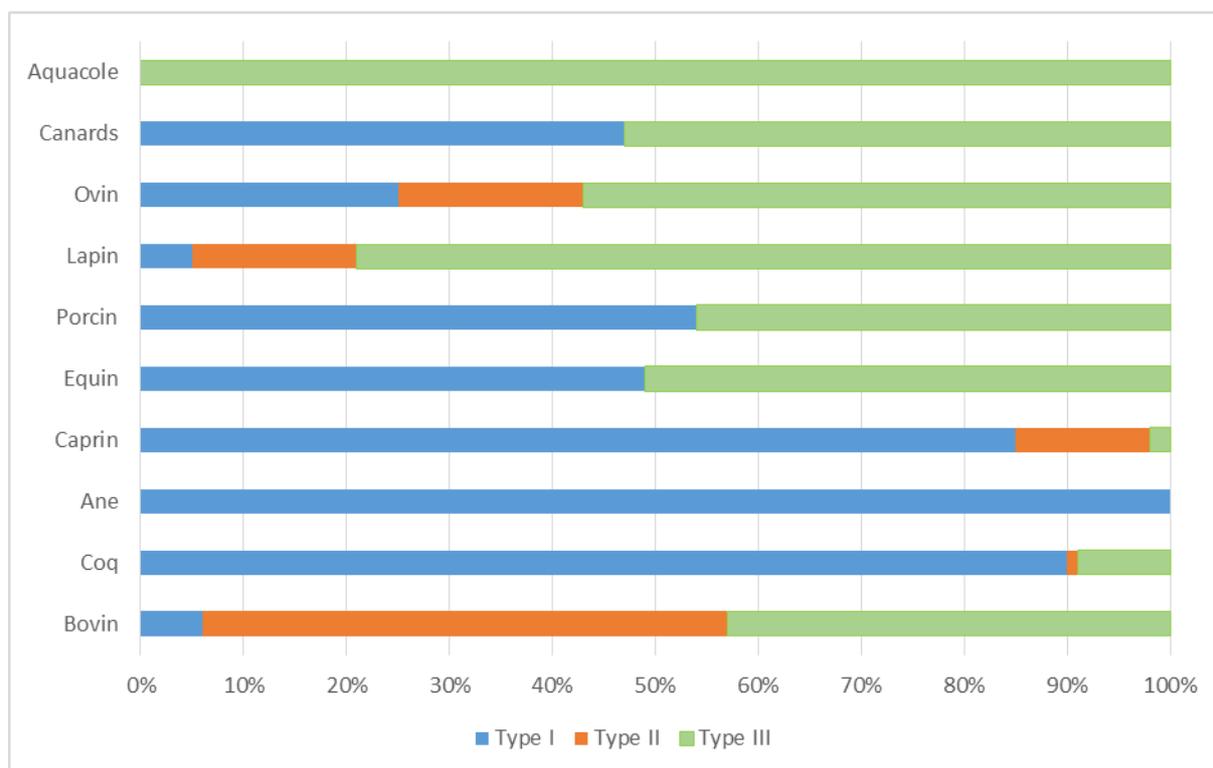
Pour rappel, depuis sa création, le matériel génétique présent en Cryobanque est réparti sous 3 types :

- Type I : populations menacées
- Type II : reproducteurs exceptionnels mais peu diffusés
- Type III : populations non menacées, reproducteurs très diffusés

Après 20 ans de fonctionnement, ces 3 types sont bien présents dans les stocks : un peu plus de 100 000 doses pour le type I, un peu plus de 110 000 pour le II et près de 180 000 pour le III.

Néanmoins, la répartition est très variable d'une espèce à l'autre (graphique 3).

Graphique 3 : Pourcentage de doses en stock selon le type et l'espèce



Pour le matériel aquacole, ce sont des lignées de recherche qui ont été intégrées pour le moment dans les collections. Elles sont toutes considérées en type III.

Pour les ânes, toutes les races étant à très faibles effectifs, le matériel est en type I.

Pour les canards, porcin et équin, le matériel se répartit de façon presque équilibré entre des populations menacées à préserver et des individus de populations en sélection.

Pour les coqs et les caprins, la priorité a été mise pour avoir en collection les races menacées, car ces populations n'ayant pas les moyens de faire collecter des mâles pour un usage ordinaire, des campagnes de collecte sur financement particulier doivent être organisées et il est alors opportun de stocker ce matériel qui ne servira que ponctuellement en Cryobanque.

Pour les bovins, peu de doses de races à petits effectifs sont présentes en Cryobanque, car la majorité des stocks pour ces races ont été constitués avant la création de la Cryobanque au début des programmes de conservation et sont utilisés quotidiennement par les éleveurs. Au contraire, le type II est très représenté car il concerne surtout les taureaux de races laitières avec un index extrême sur un caractère mais qui n'ont pas été conservés en sélection à cause d'autres critères défavorables.

C'est en ovin que la répartition des stocks est la plus équilibrée même s'il manque encore une partie des races à petits effectifs ou certaines races régionales pour lesquelles il n'a pas encore été possible de cryoconserver de la semence de bélier.

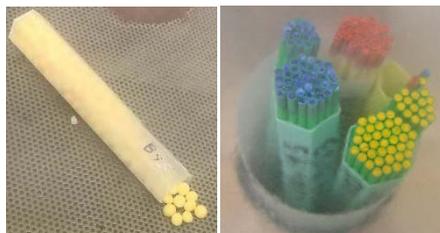
Pour conclure, depuis 20 ans la Cryobanque Nationale remplit tout à fait son rôle de préservation de la diversité des espèces d'élevage avec une représentativité qui s'améliore d'année en année. Ce sont aujourd'hui l'utilisation de ce matériel génétique, parfois méconnu ou sous-estimé, qu'il est souhaitable de promouvoir, même si plusieurs utilisations de doses ont déjà été réalisées avec une réussite plus ou moins grande. Les projets CRB-Anim et IMAGE permettent une remarquable mise en lumière de l'utilité des CRB, et plus particulièrement des banques de gènes telle que la Cryobanque Nationale.

# CARACTERISATION GENOMIQUE DES COLLECTIONS DE RACES LOCALES PORCINES

Marie-José Mercat (IFIP) – Article complet à paraître au JRP 2020

Basque, Gascon, Cul Noir Limousin, Porc de Bayeux, Porc Blanc de l'Ouest (PBO) et Nustrale, les six races locales porcines françaises se différencient nettement les unes des autres au niveau de leurs génomes. C'est l'une des conclusions du projet Caraloporc financé par CRB-Anim et réalisé en collaboration par l'IFIP, l'INRA GenPhySE et GenESI et le LIGERAL.

Dans ce projet, la quasi-totalité des semences porcines de type I (races à petits effectifs) a été caractérisée grâce à un génotypage sur une puce de près de 70 000 marqueurs moléculaires. Les collections porcines de type I sont composées de semences très anciennes conservées sous forme de pellets et plus récentes stockées en paillettes. L'année de naissance moyenne des verrats est 1986 pour les pellets et 1998 pour les paillettes. Des animaux récents, nés en 2014, ont également été inclus dans l'analyse. Une représentation graphique des données de génotypage (figure un regroupement clair des animaux par race. Les animaux les anciens (semences en pellets) se situent parfois en périphérie



pellets et moyenne

1) montre plus des

nuages de points, ce qui traduit une certaine évolution dans le temps des populations. C'est le cas notamment pour les verrats gascons, surtout PBO et Bayeux. L'étude souligne ainsi l'originalité de toutes les races locales qui se distinguent entre elles même lorsque des données de génotypage de races en sélection sont incluses dans l'analyse. Sans surprise, les races les plus proches sont d'une part les races de type ibérique Basque et Gascon et d'autre part les races Bayeux et PBO. A l'inverse, les races Limousin et Bayeux sont les plus distantes.

Photo 1 : Pellet et paillettes de semences porcines

temps des

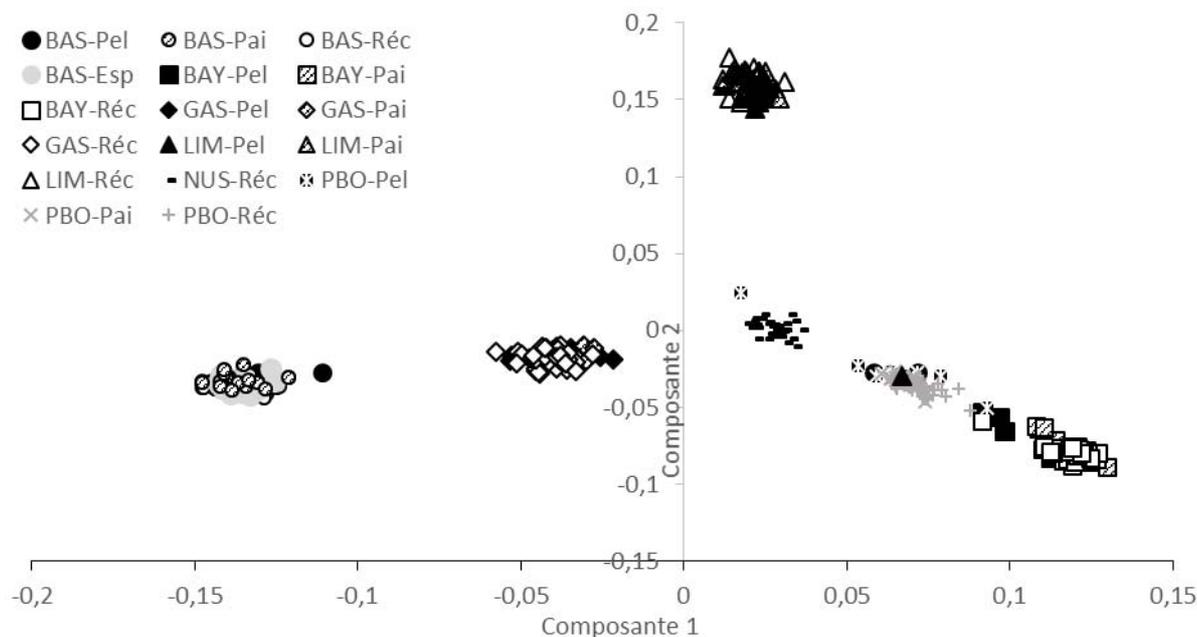


Figure 1 – Regroupement des données de génotypage par race et type de matériel

Caraloporc a permis d'évaluer la consanguinité génomique ( $F_{ROH}$ ) des donneurs de semence qui a été définie comme la proportion de génome dans des segments chromosomiques homozygotes. La consanguinité génomique est plus fiable que les méthodes basées sur les généalogies car elle n'est pas impactée par une connaissance imparfaite des pedigrees. La race Bayeux, considérée comme la plus consanguine sur la base des pedigrees, se positionne dans une situation plus favorable que les races Basque et Cul Noir Limousin au niveau génomique. Pour une même race et un même type de matériel (pellets, paillettes, animaux récents), les  $F_{ROH}$  sont cependant variables. Les semences produites par les animaux les moins consanguins ( $F_{ROH}$  les plus faibles) présentent le plus d'intérêt pour les programmes de conservation des races locales dans l'objectif d'apporter une plus grande diversité allélique. Toutefois, des verrats de la Cryobanque avec des  $F_{ROH}$  élevés peuvent être porteurs d'allèles originaux qu'il serait intéressant de retrouver dans les populations sur pied. L'étude a en effet montré que les animaux récents présentent une perte de polymorphisme de 2,7% (en Gascon) à 8,7% (PBO) des marqueurs moléculaires analysés.

En outre, les  $F_{ROH}$  ont été mis en relation avec les résultats des inséminations pratiquées jusqu'ici avec des semences de la Cryobanque : des valeurs de  $F_{ROH}$  supérieures à 0,22 semblent associées à des échecs de reproduction plus fréquents.

En conclusion, grâce au projet Caraloporc, les éleveurs disposent désormais de nouveaux critères génomiques pour choisir les semences de la Cryobanque à utiliser en priorité.

## AVIS D'ÉLEVEUR SUR LA CARACTÉRISATION DES COLLECTIONS PORCINES

*Nicolas Coudert, éleveur de Cul Noir Limousin et président du LIGERAL (association des livres généalogiques des races locales porcines) nous livre son ressenti.*



Photo 2 : Verrat Limousin issu du programme de décongélation (Crédit-photo : S. Ferchaud – INRA)

Le LIGERAL collabore avec la Cryobanque Nationale depuis sa création. Lors de nos premiers échanges avec la Cryobanque, les éleveurs craignaient que la conservation de matériel congelé ne porte préjudice à la préservation des races sur pied. La complémentarité entre la Cryobanque et les élevages est rapidement apparue. En partenariat avec la Cryobanque, l'IFIP et l'INRA GenESI, plusieurs campagnes de décongélation de semence de la Cryobanque ont été menées (majoritairement financées par CRB-Anim) pour retrouver un peu de diversité génétique perdue. Le choix des semences à décongeler était basé sur les pedigrees. Lorsque cela a été possible, la semence de verrats nés des programmes de décongélation a été stockée en Cryobanque. Il ressort des génotypages pratiqués dans Caraloporc que les issus de décongélation présentent des consanguinités

génomiques moyennes plus faibles que celles observées dans chaque race : 0,10 contre 0,14. Pour les futures décongélation, grâce aux résultats de Caraloporc, les gains de diversité génétique devraient être plus grands en choisissant les verrats avec les consanguinités génomiques les plus faibles. Il faudrait cependant améliorer les taux de succès des inséminations qui ont été jusqu'ici très variables selon la race : très corrects en PBO et Limousin (autour de 50% de succès) mais nuls en Basque. Des travaux de recherche sont donc encore nécessaires pour, peut-être, développer de nouveaux modes d'utilisation des semences congelées.

Caraloporc a par ailleurs donné d'autres résultats appliqués. Le contrôle des filiations qui a été développé pour les races porcines en sélection est également très fiable en races locales. Les probabilités de détection d'incompatibilité sont excellentes y compris lorsqu'un seul parent est analysé. Le LIGERAL peut donc avoir confiance dans les contrôles de filiation réalisés. Le projet a aussi montré que certains verrats avec de la semence en Cryobanque et quelques animaux récents étaient porteurs de l'allèle de sensibilité au stress du gène halothane. Dans certaines races, les éleveurs ont pris conscience qu'ils devaient prendre en considération ce gène pour ne pas altérer la qualité reconnue des produits issus de leurs races. Caraloporc a donc été riche d'enseignements.

## PROCHAIN RENDEZ-VOUS

Le séminaire international de CRB-Anim se déroulera le 26 novembre à la FRB à Paris, pour avoir le programme et vous inscrire, cliquez [ICI](#)