

Nominé pour le prix CUNINOV 2007

Cryoconservation des ressources génétiques chez le lapin : un projet clé pour la filière cunicole de demain,

proposé conjointement par l'Université de Lyon, l'Isara (Lyon) et l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.

Dossier présenté par Pascal Savette et Thierry Joly

Cryoconservation des Ressources Génétiques chez le lapin : un projet clé pour la filière cunicole de demain

Pascal Salvetti, Thierry Joly

Université de Lyon, ENVL/ISARA-Lyon, Unité Cryobio, 23 rue Jean Baldassini, 69364 LYON Cedex 07

I. Présentation de l'unité CRYOBIO

L'unité Cryobio est une équipe de recherche labellisée « Unité Propre de Soutien de Programme » par le Ministère de l'Agriculture en 2006 et pour une durée de 4 ans. Cette unité résulte du partenariat étroit entre l'ISARA-Lyon et l'École Nationale Vétérinaire de Lyon et contribue à la conception et au développement d'outils de sauvegarde *ex situ* de la diversité génétique animale par la voie femelle avec le lapin comme espèce modèle.

L'objectif de nos recherches consiste donc à proposer de nouvelles méthodes de cryoconservation des embryons et des gamètes femelles isolés ou regroupés au sein de tissus. Cette thématique est développée en lien avec les différents acteurs de la filière cunicole qu'ils soient des structures publiques (INRA) ou privées (Grimaud Frères Sélection, Hycole, Bioprotein...).

II. Résumé du projet et valorisation au sein de la filière

L'érosion de la biodiversité animale a abouti à une prise de conscience internationale de la nécessité de préserver les ressources génétiques illustrée notamment par la ratification de la convention sur la diversité biologique (Rio, 1992). Ce traité prévoit la mise en place par les pays signataires de programmes d'action visant à préserver la diversité biologique et a abouti, en France, à la création de la Cryobanque Nationale (BRG, 1999). Notre équipe est pleinement impliquée dans la mise en place et le développement des actions de la Cryobanque Nationale pour l'espèce lapin.

Depuis 2003 et la création de la Cryobanque Nationale cunicole, notre équipe s'efforce d'améliorer les stratégies de conservation pour arriver à une gestion dynamique de la diversité génétique lapin. Chez cette espèce, la congélation lente des embryons au stade morula est la voie principale pour la conservation des ressources génétiques, espèce d'intérêt agronomique et modèle pour la recherche biomédicale (Joly *et al.*, 1998). Actuellement, la Cryobanque Nationale renferme plus de 17 000 embryons congelés issus de près de 50 populations différentes de lapins. Les populations cryoconservées sont principalement de type III (souches sélectionnées et largement diffusées) au détriment des autres populations plus « précieuses » que sont celles de type I (races à petits effectifs et menacées d'extinction) ou de type II (populations présentant un génotype particulier). Cette disparité illustre parfaitement l'implication grandissante des sélectionneurs lapin de la filière dans les actions de cryoconservation des ressources génétiques cunicoles.

La conservation des différentes souches ou lignées sous forme d'embryons congelés assure une sauvegarde efficace et fiable de leur travail de sélection notamment face aux risques d'ordre sanitaire. Depuis les épisodes d'Encéphalopathie Spongiforme Bovine (filiale bovine) ou de fièvre aphteuse (filiale ovine), notre société connaît un contexte de menaces sanitaires quasi-permanentes qui peuvent avoir de graves conséquences pour les filières comme nous avons encore pu le voir récemment pour la filière avicole touchée par la grippe aviaire. Même si la filière lapin n'a pas encore été touchée par des épizooties de grande envergure, elle n'en reste néanmoins pas à l'abri. Dès lors, chaque sélectionneur peut avoir du jour au lendemain à

euthanasier une partie ou la totalité de leur cheptel et perdre ainsi le travail de sélection effectué depuis de nombreuses années. La cryoconservation assure donc aux acteurs de la filière la garantie de conserver les populations sélectionnées.

De plus, la cryoconservation des embryons permet de garder indéfiniment une population à un instant donné, permettant de faire marche arrière si les critères de sélection qui ont été choisis ne sont pas satisfaisants. Face à une évolution du marché, la population cryoconservée peut être à tout moment récréée en tant que noyau de sélection et assurer une grande réactivité des sélectionneurs.

Enfin, la conservation de populations entières sous forme d'embryons congelés représente un outil de gestion sûr et surtout peu coûteux par rapport à l'élevage classique.

Récemment, notre équipe a éprouvé concrètement l'efficacité des actions de cryoconservation menées depuis le début des années 1990 en recréant la population de « Brun Marron de Lorraine » congelée en 1992. Cette étude a été réalisée en partenariat avec les différents acteurs de la filière (Grimaud Frères Sélection, INRA, FFC, éleveurs...) pour évaluer l'évolution de la race à travers la comparaison phénotypique, zootechnique et génotypique des populations congelée et actuelle. En novembre 2006, 134 embryons ont été décongelés après 14 années de stockage dans l'azote liquide et transférés dans 14 femelles receveuses synchronisées pour donner naissances à 69 lapereaux Brun Marron de Lorraine soit 51,5% de taux de survie (Salveti *et al.*, 2007). Cette opération innovante est la première étude concrète, toute espèce comprise, qui souligne l'efficacité de la congélation d'embryons après une durée de stockage aussi importante. Ce projet est le parfait exemple que nos travaux s'intègrent parfaitement dans la filière cunicole grâce à la volonté conjointe de l'ensemble des acteurs lapins. L'entretien de la population Brun Marron de Lorraine récréée est maintenant assuré par un groupe d'éleveurs passionnés sous la tutelle de la Fédération Française de Cuniculture qui a pu montrer une évolution notable de la population en 14 années de sélection (Boucher *et al.*, 2007). Dès lors, il est nécessaire de restaurer le stock d'embryons Brun Marron de Lorraine (génération 1992) à la Cryobanque Nationale mais aussi de définir une fréquence de congélation spécifique à chaque population.

III. Perspectives de recherche

Fort de ces bons résultats, l'unité s'attache maintenant à optimiser la cryoconservation des ressources génétiques cunicoles selon plusieurs axes de travail. La mise en place d'une gestion dynamique des ressources lapin passe par plusieurs points :

- Définition de stratégies d'actualisation du matériel biologique cryoconservé en fonction de l'évolution des différentes populations.
- Utilisation du Manuel Qualité mis en place par nos soins pour les échanges de matériels génétiques.
- Amélioration des conditions de productions des embryons et autres gamètes regroupant l'ensemble des paramètres physiologiques et techniques (préparation des femelles, technique de collecte...).
- Diversification des types de matériels biologiques cryoconservés (semence, cortex ovarien, ovocytes isolés, cellules somatiques...).

L'ensemble de ces perspectives de recherche fait l'objet de plusieurs travaux de thèse (Vanessa Neto, Pascal Salvetti) en collaboration étroite avec les acteurs publics (INRA, INSERM) ou privés de la filière lapin (Grimaud Frères Sélection, Hycole...). Des résultats prometteurs ont déjà été obtenus notamment après autogreffes de cortex ovariens congelés avec la naissance de lapereaux viables et fertiles (Neto *et al.*, 2007).

IV. Bibliographie

- Besenfelder U, Strouhal C, Brem G, 1998. A method for endoscopic embryo collection and transfer in the rabbit. *Zentralbl Veterinarmed A*, 45(9) : 577-9.
- Boucher S, Menigoz JJ, Salvetti P, Arnold J, Hurtaud J, Joly T, 2007. Comparaison phénotypique simultanée in vivo d'une souche de lapins de race Brun marron de Lorraine cryopréservés en 1992 et des descendants actuels. *12^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole*, 27-28 novembre 2007, Le Mans.
- BRG, 1999. In : *Charte Nationale pour la gestion des ressources génétiques*, 26-27.
- Joly T, de Rochambeau H, Renard JP, 1998. Etablissement d'une cryobanque d'embryons pour la conservation ex situ de la diversité génétique chez le lapin: aspects pratiques. *Genet Sel Evol*, 30 (Suppl. 1): 259-69.
- Neto V, Joly T, Salvetti P, Lefranc AC, Corrao N, Buff S, Guérin P, 2007. Ovarian tissue cryopreservation in the doe rabbit: from freezing to birth. *44th Annual Meeting of the Society for Cryobiology CRYO 2007*, Lake Louise (Canada), 28th July to 1st August.
- Salvetti P, Joly T, Boucher S, Hurtaud J, Renard J-P, 2007. Viability of rabbit embryos after 15 years storage in liquid nitrogen. *2nd international meeting on rabbit biotechnology*, Jouy en Josas (France), 14-15 June.