



HAL
open science

Caractérisation de la collection caprine de la Cryobanque nationale pour une meilleure gestion des races menacées

Coralie Danchin

► To cite this version:

Coralie Danchin. Caractérisation de la collection caprine de la Cryobanque nationale pour une meilleure gestion des races menacées. NOV'AE, 2022, Numéro Spécial 02, RARE, pp.144-151. 10.17180/novae-2022-NS02-art18 . hal-04624487

HAL Id: hal-04624487

<https://hal.inrae.fr/hal-04624487v1>

Submitted on 25 Jun 2024

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - ShareAlike 4.0 International License

Caractérisation de la collection caprine de la Cryobanque nationale pour une meilleure gestion des races menacées

Coralie DANCHIN¹

CORRESPONDANCE

coralie.danchin@idele.fr

RÉSUMÉ

En France, la conservation des races de ferme combine gestion de terrain (ou *in situ*) et préservation à long terme de matériel reproductif dans l'azote liquide (ou conservation *ex situ*), en lien avec la Cryobanque nationale, un des CRB du pilier animal de RARe. Pour les races caprines locales, les boucs inclus en Cryobanque ont été échantillonnés à partir d'informations généalogiques, dont la connaissance était parfois très partielle. L'utilisation de ces mâles par Insémination Animale (ou IA) est donc parfois limitée faute d'informations fiables. Différents projets de recherche français ou européens ont permis le financement d'échantillonnage et de génotypage (puce caprine 50 K) d'animaux de 5 races locales de chèvres à petits effectifs (Fossés, Lorraine, Poitevine, Provençale, Pyrénées) provenant de la population active et de la collection *ex situ*. À partir de ces informations de génotypages, l'objectif de notre étude, financée par le projet H2020 IMAGE (<https://www.imageh2020.eu>), a été de mieux caractériser les collections caprines présentes en Cryobanque, en les comparant avec la population *in situ*. Le degré d'introgression génétique a également été évalué pour ces mâles afin de s'assurer qu'ils pouvaient bien être définis comme de «pure race». Différents indicateurs ont été calculés, qui ont permis de déterminer les liens de parenté réels entre les animaux, d'identifier les animaux croisés et de cibler les souches présentes dans les populations vivantes, mais absentes de la Cryobanque. Ces résultats ont permis une meilleure caractérisation de la collection caprine de la Cryobanque, facilitant ainsi des utilisations futures ; de même que la gestion de ces races à court et moyen terme a pu être affinée en lien avec les associations d'éleveurs.

MOTS-CLÉS

Cryobanque, génotypage, races menacées, caprin.

¹ Institut de l'Élevage, Paris, France.

Characterisation of the caprine collection of the national cryobank for better management of threatened races

Coralie DANCHIN¹

CORRESPONDENCE

coralie.danchin@idele.fr

ABSTRACT

In France, the conservation of farm races combines field (or *in situ*) management and the long-term preservation of reproductive material in liquid nitrogen (or conservation *ex situ*), in relation with the national cryobank, one of the BRCs of the animal division of the AgroBRC/RARe. Regarding local goat races, the bucks included in the Cryobank were sampled from genealogical data, knowledge of which was sometimes very partial. The use of these males for Animal Insemination (or AI) is therefore sometimes limited for want of reliable information. Different French and European research projects have permitted financing the sampling and genotyping (50 K caprine chip) of animals from 5 local races of goats, with small numbers (Fossés, Lorraine, Poitevine, Provençale, Pyrénées) from the active population and from the collection *ex situ*. On the basis of this genotyping data, the objective of our study funded by the H2020 IMAGE project (<https://www.imageh2020.eu>) was to better characterise the caprine collections present in the Cryobank, by comparing them with the population *in situ*. The degree of genetic introgression has also been assessed for these males to ensure they can be defined as «pure race». Different indicators were calculated, which have permitted determining the real family relations between the animals, identifying the crossed animals, and targeting the strains present in living populations but absent from the Cryobank. These results permitted better characterisation of the caprine collection of the Cryobanque, thereby facilitating future uses. Likewise, the management of these races in the short and medium terms was refined in relation with breeding associations.

KEYWORDS

Cryobank, genotyping, rare breeds, goat.

¹ Institut de l'Élevage, Paris, France.

Introduction

La conservation des races à petits effectifs s'appuie en France sur les recommandations du plan d'action de la FAO (2007), à savoir le suivi et la gestion des races en ferme (ou conservation *in situ*) et la conservation, puis l'utilisation de matériel reproductif conservé dans l'azote liquide (cryoconservation ou conservation *ex situ*). Pour cette partie, en 1999, un Groupement d'Intérêt Scientifique appelé Cryobanque nationale a été constitué par conventionnement entre douze acteurs de la sélection animale, dont le Ministère chargé de l'Agriculture, l'INRA, l'Institut de l'Élevage, Races de France et ALLICE, afin de fédérer, rationaliser et sécuriser des collections de matériel biologique conservées dans l'azote liquide. En 2009, la Cryobanque a reçu le label Centre de Ressources Biologiques (CRB) du GIS IBISA. Plus de 20 ans après sa création, la collection nationale avoisine les 435 000 doses provenant de 21 espèces différentes (www.cryobanque.org). L'enrichissement des collections a notamment bénéficié de l'appui financier apporté par le Projet d'infrastructure « CRB-Anim », financé par le Programme Investissements d'Avenir, alors que la gestion et la conservation des collections bénéficient d'une dotation annuelle du ministère chargé de l'agriculture.

De façon plus spécifique pour l'espèce caprine, de la semence de boucs de races locales françaises a été collectée, depuis plus de 20 ans, afin de préserver la variabilité génétique de ces races, et une partie des stocks a été mise en Cryobanque. L'échantillonnage a été réalisé afin de maximiser la variabilité génétique, sur la base des pedigrees. Cependant, dans la plupart des cas, la fiabilité et/ou la profondeur des pedigrees dans ces races sont limitées, et plusieurs mâles ont été collectés sans information sur les généalogies, à partir de dire d'éleveurs. L'utilisation de ces mâles par Insémination Animale (ou IA) est donc parfois limitée faute d'informations fiables.

Depuis une petite dizaine d'années, en caprins, une nouvelle technique dite « puce de génotypage » permet de lire les informations provenant de l'analyse de la molécule support de l'hérédité, l'ADN pour un nombre important de positions sur cette molécule (plus de 54 000 positions de Single Nucleotide Polymorphism ou SNP). L'analyse de ces données permet la création d'indicateurs qui aident à mieux estimer à la fois la variabilité génétique (analyse de la diversité à l'intérieur d'une race) et, en les comparant, l'analyse de la diversité entre les races. Il est également possible d'estimer le degré de croisement d'un animal à partir de ces données. Grâce à une série de projets, des prélèvements sanguins et des génotypages ont été réalisés

pour les races à petits effectifs suivantes : Fossés, Lorraine, Poitevine, Provençale, Pyrénées, pour des animaux actifs et des boucs conservés en Cryobanque.

À partir de ces informations de génotypages, l'objectif de notre étude, financée par le projet H2020 IMAGE (www.imageh2020.eu), a été de mieux caractériser les collections caprines présentes en Cryobanque, en les comparant avec la population *in situ*. Le degré d'introgression génétique a également été évalué pour ces mâles afin de s'assurer qu'ils pouvaient bien être définis comme de « pure race ».

Matériels et méthodes

Races étudiées et échantillonnage des boucs en cryoconservation

Le choix des races étudiées dans cet article a été restreint aux races locales caprines dont de la semence d'au moins 10 boucs a été collectée pour la cryoconservation. Le tableau 1 reprend le nombre de boucs cryoconservés en Cryobanque, ceux dont de la semence a été génotypée, les effectifs totaux estimés de la race en 2020 et le nombre totaux d'animaux génotypés. Une brève description de ces races et de leurs programmes de conservation a été réalisée par Danchin-Burge et Duclos (2008).

Tableau 1 : Effectifs totaux des races, nombre total d'animaux génotypés, nombre de boucs cryoconservés et génotypés

RACE	EFFECTIF TOTAL (FEMELLES /2020)	NBRE TOTAL DE GÉNOTYPAGES	BOUCS CRYOCONSERVÉS	BOUCS D'IA GÉNOTYPÉS	TAUX MOYEN DE RÉGÉNÉRATION
Fossés	1 600	43	19	12	97
Lorraine	1 000	3	10	8	
Poitevine	4 400	57	32	10	81
Provençale	1 800	86	10	10	91
Pyrénées	4 000	66	13	7	

Pour ces cinq races, la majorité des effectifs des élevages professionnels sont traits, mais on note également une proportion importante d'élevages allaitants en race des Pyrénées. L'éco-pâturage est une activité en croissance, particulièrement en Fossés et Lorraine. Enfin, les éleveurs amateurs représentant une part active de la conservation de ces races, en particulier en Fossés, Poitevine et Lorraine, ce sont en Provençale et en Pyrénées que la part des éleveurs professionnels est la plus importante. Le berceau des races est reflété dans leur nom, en dehors de la Fossés qui est élevée sur un territoire large de l'Ouest de la France (Bretagne, Normandie, Pays de la Loire).

À l'aube des années 1990, la menace de disparition quasi totale des ressources génétiques caprines françaises est une particularité dans le paysage de la conservation des espèces d'élevage en France. Les facteurs qui ont mené à cette situation ont été décrits par Danchin-Burge et Duclos (2008). Retenons particulièrement l'absence de la standardisation de ces races – en dehors de la Poitevine – qui a mené à les écarter des systèmes de production, cette variabilité étant suspectée comme une preuve qu'il s'agissait de populations composites, indésirables à l'époque. Les travaux menés à partir des premières campagnes d'échantillonnage et de génotypages (voir Échantillonnage et données de génotypages) ont pu montrer précisément que toutes ces races, bien que variables d'un point de vue du standard, constituaient des groupes distincts les uns des autres (Oget et al., 2019). Les programmes de conservation de ces races s'appuient sur des actions de terrain, dont l'élément fondamental est le recueil des généalogies par les associations de races (Lorraine, Poitevine, Pyrénées), accompagnées par l'Institut de l'Élevage (Fossés, Provençale). Ce recueil d'informations permet d'établir des bilans démographiques, de variabilité génétique (bilans « VARUME » de l'Institut de l'Élevage¹), et de procéder au repérage de boucs d'IA.

La cryoconservation de semence en races locales caprines a pour but la conservation à très long terme de leur patrimoine génétique. Suivant les conseils de la FAO (2012), l'objectif est de conserver 25 mâles non apparentés par race, avec 200 doses par bouc, répartis sur deux sites pour des raisons de sécurité. Dans un premier temps, les boucs sont repérés en fonction de leur originalité génétique calculée à partir de leurs généalogies (degré d'apparentement avec la population, parenté entre boucs d'IA). Ce travail est réalisé par les associations de races, parfois avec l'appui de l'Institut de l'Élevage. Dans un second temps, les associations vérifient que les candidats sont représentatifs de la race au niveau de la morphologie.

Logistique de la collecte

La collecte de semence de boucs est une opération lourde, que ce soit par son coût, qui nécessite des recherches de financement spécifiques (la collecte de deux cents doses par bouc se chiffre à environ 1 500 € HT), ou par la logistique à mettre en place. Quand les premières actions de collecte ont démarré, le centre de production, CAPGÈNES, a préconisé la recherche de boucs âgés pour s'assurer de leur bon comportement sexuel. Actuellement, on oriente l'échantillonnage vers des boucs jeunes, nés en début d'année, pour une collecte à l'automne qui est la période natu-

relle des saillies pour ces races cyclées. De plus, pour entrer en centre de collecte, les boucs doivent être non porteurs d'une série de maladies assez fréquentes en races locales, dont le CAEV, ce qui limite souvent le choix final, et parfois drastiquement. Or, les boucs âgés sont plus susceptibles d'être porteurs de maladies que des jeunes boucs qui n'ont jamais sailli, d'où le changement de paradigme.

Il faut ensuite assurer le transport des animaux (y compris son financement) jusqu'au seul centre d'IA agréé en France, CAPGÈNES, situé à Mignaloux-Beauvoir (86), sachant que, en dehors de la race Poitevine, le berceau des races locales est situé à plusieurs centaines de kilomètres (Provence et Pyrénées, en particulier). Enfin, une fois en centre, les boucs sont mis en quarantaine, et il arrive que leur sérologie change en raison du stress provoqué par le transport et le changement du lieu d'élevage, en particulier pour les maladies de type CAEV, ce qui aboutit à leur disqualification. Les boucs sont ensuite entraînés sur un mannequin de monte. Certains boucs s'avèrent inaptes à cette éducation, en particulier s'ils ont été peu familiarisés à une manipulation par l'Homme. Ensuite, même s'ils acceptent d'être prélevés, leur semence peut être insuffisamment fertile pour être congelée (33 % des boucs collectés sur 72 boucs de races locales ; chiffres CAPGÈNES/IDELE) et, enfin, que la semence ne soit pas congelable (42 % des 55 boucs de races locales ayant pu être collectés avec de la semence fertile ; chiffres CAPGÈNES/IDELE).

Le détail de la logistique de collecte permet d'expliquer l'écart entre les échantillonnages souhaités et les collections réalisées ; cela explique que des solutions pragmatiques soient parfois appliquées. Par exemple, quand un élevage est connu pour avoir un état sanitaire compatible avec la réglementation de l'IA, des demi-frères sont parfois entrés en centre, puisque en moyenne les collectes sont fructueuses pour 50 % des animaux échantillonnés.

Finalement, la variabilité du nombre de boucs cryoconservés par race provient à la fois des financements trouvés par les différentes associations d'éleveurs ces 20 dernières années, de l'ancienneté des programmes de conservation, des effectifs des races et de l'accompagnement que l'association des éleveurs a pu mettre en place pour assurer la logistique des opérations. À noter que le programme CRB-Anim a permis d'augmenter significativement les collections caprines, puisque l'intégralité des boucs de la race Lorraine ont été prélevés grâce à ces financements : 5 des boucs Fossés, 2 des Poitevins, 7 des Provençaux et 2 des Pyrénéens.

1 <https://idele.fr/detail-dossier/bilan-de-variabilite-genetique-pour-les-filieres-caprines-ovines-et-bovines>

Échantillonnage et données de génotypages

Les premiers génotypages réalisés pour les races locales caprines ont été faits à partir de prélèvements réalisés pour différents projets de recherche, dans les années 2000, où les associations de races et l'Institut de l'Élevage n'avaient pas été mandatés pour procéder à l'échantillonnage. Les premières analyses réalisées (Oget et al., 2018) ont montré qu'il était probable que certaines origines génétiques importantes manquaient dans la représentation des races, en particulier pour celles avec un large berceau (Fossés, Pyrénées). Pour cette raison, le groupe pilote « ruminants » de CRB-Anim a validé le financement, par ce projet, d'une campagne spécifique de prélèvement et de génotypages des races locales s'appuyant sur l'expertise des associations d'éleveurs et de l'Institut de l'Élevage. Par ailleurs, depuis 2019, les boucs d'IA de races locales sont systématiquement génotypés par le centre de collecte CAPGÈNES. Pour les boucs d'IA plus anciens, le génotypage nécessite une logistique différente, puisque les analyses doivent être réalisées à partir des doses congelées au lieu de sang. Cette opération étant plus compliquée à réaliser, un choix a dû être réalisé parmi les animaux existants. Ont été privilégiés les boucs pour lesquels on disposait le moins d'information généalogique, ceux prélevés en début de programme de conservation et/ou dont on soupçonnait le croisement éventuel avec une autre race. Enfin, afin de repérer d'éventuelles traces de croisements, les génotypages de races disponibles librement par le consortium ADAPTMAP (<https://datadryad.org/stash/dataset/doi:10.5061/dryad.v8g21pt>), ainsi que des génotypages en race Rove réalisés grâce au projet CRB-Anim ont été inclus dans les analyses.

L'ensemble des animaux ont été génotypés à l'aide de la puce GoatSNP50 BeadChip (Illumina, Inc.) développée par l'International Goat Consortium (Tosser-Klopp et al., 2014). Un contrôle qualité du jeu de données a été effectué à l'aide de PLINK v1.90 (Chang et al., 2015) en conservant les SNP dont le taux de réussite était supérieur à 0,95 et en éliminant les variants dont la fréquence était inférieure à 5 % (Minor Allele Frequency ou MAF), et ceux pour lesquels il manquait au moins 5 % de données génotypées.

Indicateurs calculés

Les parentés génomiques ont été calculées pour tous les animaux deux à deux, c'est-à-dire en calculant la parenté de chaque animal avec successivement tous les autres animaux de la population. La matrice de parenté génomique est transformée en coordonnées d'Analyse en Composante Principale (ACP) grâce à la fonction ad hoc de PLINK ; pour

les figures, nous avons utilisé des fonctions de représentation graphique du logiciel R.

Pour l'évaluation du degré de croisement, l'approche a été réalisée en deux temps à partir de l'utilisation du logiciel ADMIXTURE (Alexander et al., 2009). Dans un premier temps, l'ensemble des animaux ont été intégrés dans l'analyse, afin de repérer les animaux avec des traces évidentes de croisement. Dans un second temps, un sous échantillon a été réalisé en conservant uniquement, par race, les animaux ayant une parenté génomique inférieure à 0,125 (fonction -rel-cutoff du logiciel PLINK) et les animaux avec une consanguinité inférieure à 12,5. La consanguinité des animaux a été estimée à partir de régions montrant très peu de variabilité du génome, appelées Run of Homozygosity (ROH), calculées en utilisant les scripts développés par Gorssen et al. (2021). Cette précaution a été prise afin d'obtenir une valeur la plus juste possible des croisements détectés, ces deux facteurs, parenté des animaux et consanguinité élevée, influençant défavorablement les estimations réalisées par le logiciel ADMIXTURE. Dans la mesure du possible, les boucs d'IA ont été choisis comme « tête de lignée » des animaux non apparentés. Le nombre optimal de clusters k a été estimé en ajoutant un indicateur de qualité (Alexander et al., 2009). Le nombre de cluster k a été varié de 8 à 12 et la valeur de $k=10$, soit le k avec l'indicateur de qualité avec la plus faible erreur, a été utilisée afin de choisir le nombre optimal de clusters pour l'ensemble des génotypes étudiés.

Résultats et discussion

Au démarrage des programmes de conservation, les boucs disponibles pour être collectés étaient en général peu nombreux et les informations généalogiques limitées. Suite à l'utilisation des prélèvements par insémination, certaines associations d'éleveurs ont pu avoir des doutes sur la pureté de ces boucs ou sur les relations généalogiques affichées. L'intérêt majeur des données génomiques est qu'elles constituent une nouvelle source d'information pour estimer la parenté et les croisements. Le calcul des parentés génomiques nous a permis de positionner les boucs d'IA par rapport à des animaux actifs ; un exemple est donné dans la figure 1 pour la race Fossés. Le résultat le plus frappant est le positionnement distant des boucs Napoléon (IANAPO) et Nucléo (IANUCL), qui étaient considérés comme pleins-frères puisque nés dans la même portée. La conclusion est, qu'en caprin, une gestation peut comporter des chevreaux avec des pères différents. Cela veut aussi dire que la variabilité génétique de la collection est plus large que prévue, puisque ces deux boucs étaient considérés comme

Néanmoins, il est difficile d'être plus affirmatif dans les conclusions, les pourcentages de marqueurs étrangers attribués à ces boucs par ADMIXTURE variant assez fortement en fonction des races intégrées dans l'échantillonnage. Deux hypothèses restent possibles : soit ces boucs sont porteurs de gènes d'une race étrangère non encore testée dans nos comparaisons, par exemple des races espagnoles en raison de la proximité géographique ; soit ces boucs représentent justement une souche qui n'existe plus dans la population active, et dont les allèles des gènes ont pu être sauvés grâce aux collections de la Cryobanque.

Conclusion

L'analyse de données de génotypages de races caprines menacées provenant d'animaux actifs et de collections de la Cryobanque a permis de déterminer les liens de parenté réels entre les animaux, en particulier pour ceux dont les généalogies étaient peu connues voire inexistantes, d'identifier des animaux croisés et de cibler les origines génétiques présentes dans les populations vivantes mais non représentées en Cryobanque.

Les résultats ont été présentés aux représentants des éleveurs des races de chèvres locales françaises. Cette caractérisation des collections est à considérer comme une réussite. Les indicateurs ont été utilisés pour orienter les choix futurs des mâles à cryoconserver, mieux ajuster le choix des éleveurs pour leurs accouplements raisonnés avec les mâles d'IA, et, dans un cas, écarter de la collection un mâle de la race Fossés qui s'est avéré croisé. Enfin, ces présentations ont permis de convaincre une association d'éleveurs, dont la race manquait à l'appel, de participer aux études suivantes sur la diversité des races et de faire collecter des mâles pour l'IA. ■

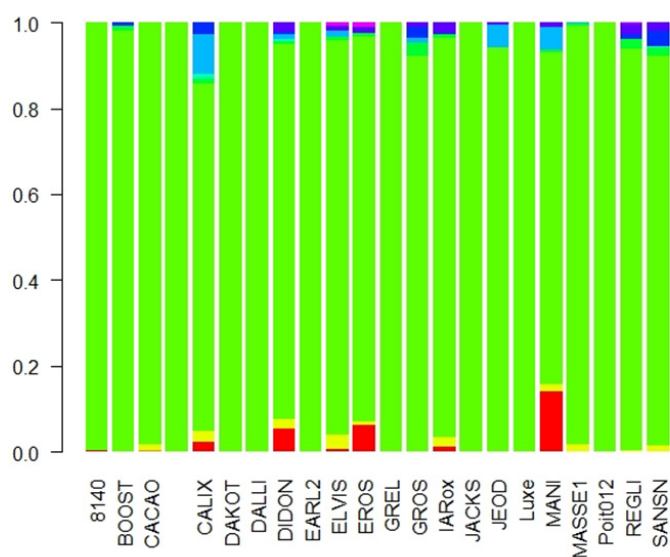


Figure 3. Détail en race Poitevine du résultat d'Admixture pour k=10.
Légende des flux de gènes les plus importants : en vert= Poitevine ; rouge= Alpine ; jaune= Pyrénées ; Bleu cyan=Saanen.

Remerciements

Nous remercions ici les associations d'éleveurs, CAPGÈNES et IDELE pour la logistique associée et la consolidation des données.

Financement

Les génotypages ont été financés par :

- les projets OPA, ADAPTMAP et VARGOATS dont le coordonnateur français est l'unité INRAE GENPHYSE (Alpine, Saanen, Fossés, Lorraine, Poitevine, Provençale, Rove) ;
- un projet de recherche mené par A. CAPITAN (ALLICE) pour des échantillons Provençale ;
- CRB ANIM, un projet du programme Investissements d'Avenir de l'ANR (Fossés, Lorraine, Poitevine, Provençale, Rove).

Pour les races locales, une partie des prélèvements qui ont permis la réalisation des génotypages ont également été financés par le projet CRB ANIM.

Les recherches qui ont conduit à ces résultats ont été menées dans le cadre du projet IMAGE qui a reçu un financement du programme de recherche et d'innovation Horizon 2020 de l'Union européenne, dans le cadre de la convention n° 677353.

Références

- Alexander D.H., Novembre J., Lange K., 2009. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Research*, 19:1655-1664.
- Chang C.C., Chow C.C., Tellier L.C., Vattikuti S., Purcell S.M., Lee J.J., 2015. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *Gigascience*. 4:7.
- Danchin-Burge C., Duclos D., 2008. Situation et perspectives d'avenir des races caprines à petits effectifs. *Ethnozootecnie N° 85* p 17-32.
- FAO, 2007. Global plan of action for animal genetic resources. FAO, Rome, Italy.
- FAO, 2012. Cryoconservation of Animal Genetic Resources; FAO Animal Production and Health Guidelines No. 12; FAO: Rome, Italy.
- Gorssen W., Meyermans R., Janssens S. et al., 2021. A publicly available repository of ROH islands reveals signatures of selection in different livestock and pet species. *Genet Sel Evol* 53, 2.
- Oget C., Servin B., Palhière I., 2019. Genetic diversity analysis of French goat populations reveals selective sweeps involved in their differentiation. *Anim Genet*. 50(1):54-63.
- Tosser-Klopp G., Bardou P., Bouchez O. et al., 2014. Design and characterization of a 52K SNP chip for goats. *PLoS ONE* 9, e86227.



Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-SA). <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « NOV'AE », la date de sa publication et son URL.