

Un peu d'histoire, beaucoup d'espoirs

Charles Thibault

Professeur émérite
de l'Université Pierre
et Marie Curie
INRA, Département
de Physiologie animale

Les quatre synthèses qui constituent le thème de ce numéro et celles qui paraîtront dans un prochain numéro apportent des données et des espoirs sur l'usage de techniques et de concepts nouveaux pour l'amélioration de la production animale. L'efficacité de près d'un demi-siècle de recherches explique le fondement des espoirs actuels : elle nous montre aussi les conditions à mettre en œuvre pour réussir.

Au sortir de la Deuxième Guerre mondiale, une des préoccupations majeures de l'agriculture dans le monde était l'amélioration des niveaux de production de la viande et du lait. Apporter une réponse à ces préoccupations nécessitait plusieurs approches : physiologique, nutritionnelle, génétique et pathologique. C'est directement auprès des éleveurs, dans la réalité économique des exploitations, que pouvaient être identifiés les problèmes qui limitaient l'amélioration des productions et la rentabilisation de l'élevage, conditions déterminantes pour que les éleveurs ne fuient pas leur campagne. L'efficacité de la reproduction ressortait comme le problème clé puis venaient la production du lait (sécrétion et traite) et la croissance.

Puisque des problèmes sérieux se posaient en dépit de l'acquis culturel et technique des éleveurs, le niveau de nos connaissances était en cause. Développer des recherches fondamentales en prenant comme animaux d'études non les animaux de laboratoire, mais directement le bovin, l'ovin, le porc, le caprin ou même le lapin fut notre objectif.

L'efficacité de la reproduction est limitée par l'âge à la puberté, le taux d'ovulation, la mortalité embryonnaire et l'espacement des naissances dû à la saisonnalité. Comme la reproduction nécessite la rencontre d'un spermato-

zoïde et d'un ovule de bonne qualité, les fonctions du testicule, de l'ovaire et des voies génitales devaient être étudiées, le moment de l'ovulation maîtrisé pour faciliter l'insémination artificielle et, en conséquence, le moment de la mise bas, permettant ainsi une meilleure surveillance des nouveau-nés et une réduction de la mortalité périnatale. Cet ensemble de recherches a été développé et quelques-uns des résultats obtenus seront discutés ultérieurement.

L'efficacité de la lactation dépend de la multiplication et de la différenciation des cellules sécrétrices de la glande mammaire pendant la gestation et du soutien hormonal naturel après la mise bas. Elle dépend également de l'exploitation judicieuse du réflexe naturel d'éjection du lait, induit par la tétée ou la traite. Quels étaient les facteurs endocriniens commandant ces mécanismes, telle était la question posée et non résolue. Si la production laitière n'est plus d'actualité, ces études ont permis de les identifier ; l'utilisation *in vivo* des séquences hormonales susceptibles de faire sécréter la cellule mammaire *in vitro* permet d'induire une lactation chez des vaches ou des brebis sèches et non fécondes. Ces études sur la glande mammaire, réalisées principalement *in vitro*, ont aussi servi de modèle pour le développement rationnel de systèmes de culture dans d'autres recherches : à la base de la plupart des travaux exposés dans les synthèses qui suivent, il sera continuellement question de culture et d'expériences *in vitro*.

La demande convergente de l'éleveur quant au rendement des carcasses et du consommateur quant à la qualité gustative de la viande a conduit à des recherches sur la formation du muscle pendant la vie embryonnaire et la période postnatale et sur l'importance

C. Thibault : Station de recherches de physiologie animale, INRA, 78350 Jouy-en-Josas, France.

relative du tissu conjonctif et du tissu adipeux. L'étude fut laborieuse car tous les paramètres morphologiques et dynamiques de ces trois tissus étaient à découvrir. Cette base solide a été acquise ; elle sert maintenant à explorer l'action des facteurs de croissance et des hormones thyroïdiennes sur la différenciation des cellules concernées, myoblastes et adipocytes avec comme objectif final d'améliorer la vitesse de croissance tout en laissant intactes les qualités gustatives et nutritionnelles. Le catalogue de tous ces problèmes physiologiques est aussi le catalogue des équipes, qui, à l'INRA et ailleurs depuis plus de 40 ans, ont permis, dans la pratique, l'amélioration spectaculaire de certaines productions comme celle des ovins ($\times 2,5$), l'accroissement du degré de liberté des éleveurs (synchronisation des chaleurs, parturition provoquée), la diffusion du progrès génétique par l'extension de l'insémination artificielle à tous les mammifères domestiques et, plus récemment, par la production et le transfert d'embryons.

Ces résultats concrets ne représentent que des aspects ponctuels des retombées de l'ensemble des recherches fondamentales poursuivies. Ce sont quarante ans de recherches continues sur la folliculogénèse, sur la maturation de l'ovocyte et la superovulation, sur la maturation du spermatozoïde et sur les besoins de l'œuf fécondé pour assurer son développement qui ont permis d'obtenir puis de maîtriser la fécondation *in vitro*, la culture, la congélation et le transfert d'embryons et ont donné accès aux études sur la transgénèse et le clonage qui font l'objet de synthèses dans ce numéro.

Il ne vient à l'idée de personne de prétendre que nous avons été en France à la base de tous les progrès : la contribution mondiale est plus importante que la nôtre et nous nous sommes largement servis des travaux des autres, mais nous avons été soit les premiers, soit dans les premiers à développer les recherches sur les thèmes mentionnés. Qu'en est-il maintenant, quels objectifs fondamentaux faut-il poursuivre et pour quelles applications quand la production agricole paraît suffisante, voire excédentaire ? La contestation actuelle sur l'excès de production de viande et surtout de lait, tient moins au fait lui-même qu'aux subventions qu'il

entraîne. Plus que jamais la recherche doit donc fournir les connaissances qui permettront de diminuer les coûts de production tout en assurant l'abondance et la stabilité de la qualité des produits animaux. Ceci implique que la recherche agronomique et vétérinaire fondamentale pénètre toujours plus en profondeur et, tout en participant aux courants du moment, cultive l'originalité plus que le court terme. Elle se doit d'avoir un projet plus ambitieux que celui de panser les plaies actuelles des agriculteurs. Les synthèses offertes dans le cadre de la revue montrent au lecteur quelques images typiques des recherches en cours et d'applications débutantes ou prochaines tout en attirant très sagement l'attention sur l'état actuel de l'efficacité des techniques développées, ce qui permet au lecteur d'avoir une juste idée de ce qui reste à faire avant une application généralisée. Elles montrent également à quel niveau d'analyse il est nécessaire d'opérer pour progresser.

Le « *tout in vitro* » qu'expose Nicole Crozet permet de disposer d'une manière presque illimitée d'ovocytes, d'œufs fécondés et d'embryons ce qui change radicalement les possibilités d'études du début du développement (rôle des gènes de différenciation au cours de la vie embryonnaire appelés gènes homéotiques, rôle des facteurs de croissance et des proto-oncogènes). C'est le « *tout in vitro* » qui a ouvert la voie à l'expérimentation sur la transgénèse, le clonage et le choix du sexe. L'ensemble des niveaux d'intervention pour obtenir des animaux transgéniques est schématisé sur la figure 2 de la synthèse de Louis-Marie Houdebine. Leur usage est multiple : création de modèles pour l'étude de maladies humaines, création de fondateurs de lignées offrant une résistance à des maladies, performances zootechniques améliorées ou productrices de protéines indispensables pour des thérapies humaines. C'est seulement ce dernier aspect qui se révèle actuellement utilisable chez les mammifères domestiques car le rendement de la transgénèse est faible (tableau 1).

La production d'embryons surnuméraires par des femelles aux performances intéressantes et leur développement dans des femelles porteuses de faible valeur zootechnique permettent une légère accélération du progrès généti-

que en augmentant de 2 à 10 fois le nombre de descendants. Mais une accélération plus puissante peut être espérée en obtenant d'un même œuf fécondé des jumeaux, des triplets et même beaucoup plus ; c'est la technique du clonage exposée par Jean-Paul Renard et Yvan Heyman. Les résultats jusqu'ici publiés, montrent qu'il est effectivement possible d'obtenir des animaux génétiquement identiques en transplantant chacun des 4, 8, 16, 32... premiers noyaux d'un embryon, dans autant d'ovocytes énucléés, sortes de nourrices nucléaires dans lesquelles vont s'exprimer le seul potentiel génétique du noyau transplanté au cours du développement embryonnaire. Mais le rendement global n'est pas celui que l'on peut espérer. Des difficultés sont apparues. L'une d'elles est la possibilité de rendre au noyau transplanté, qui est déjà engagé dans une différenciation après plusieurs divisions, la capacité (totipotente) des noyaux mâle et femelle de l'œuf nouvellement fécondé à assurer la formation de tous les tissus et de toutes les annexes embryonnaires. On peut imaginer de recourir à des cellules théoriquement totipotentes que sont les cellules germinales primordiales d'où normalement sont issus spermatozoïdes et ovocytes. Leur multiplication *in vitro* tout en conservant leur totipotente est sur le point d'être résolue : c'est peut-être la voie royale pour la création de grands nombres d'animaux identiques. Le choix du sexe est un désir toujours exprimé mais resté jusque récemment du domaine de la magie ou de l'affabulation. Actuellement trois voies sont offertes avec des pourcentages plus ou moins grands d'efficacité (Corinne Cotinot) :

— le sexage par diagnostic moléculaire sur quelques cellules prélevées sur un embryon en voie de développement avec conservation des seuls embryons du sexe souhaité ;

— la fécondation par des spermatozoïdes triés pour séparer ceux porteurs du message mâle (chromosome Y) et ceux porteurs du message femelle (chromosome X) ;

— enfin par transgénèse en incorporant, soit le gène de masculinité, *Sry*, pour faire de tous les produits des mâles, soit un gène antisens ou biologiquement inactif pour ne produire que des femelles.

Seule la première méthode est en cours d'utilisation dans la pratique dans quelques pays, dont la France, avec 95 % de succès. Elle a donné lieu à des essais avec l'embryon humain mais il faudra encore attendre pour que ce diagnostic préimplantatoire (DPI) puisse remplacer le diagnostic à 10 semaines de grossesse. Les erreurs tolérables chez les animaux de ferme ne le sont pas chez l'homme quand il s'agit de savoir si l'enfant à venir est inexorablement conduit à une mort plus ou moins rapide ou s'il sera sain. Appréhender comment ces techniques peuvent permettre une accélération et une plus grande sécurité des schémas de sélection sera discuté par Jean-Jacques Colleau dans une synthèse à paraître qui montre le surcoût des techniques face au gain génétique escompté et permet de déduire les lieux et les objectifs pour lesquels ces techniques peuvent constituer une nouvelle étape dans la domestication. Certaines espèces domestiques ont un cycle de générations très lent dû à la longueur de la gestation (vache 280 jours ; jument 330 jours : il n'y a donc qu'une naissance par an chez les bovins ou les équins). D'autres n'ont également qu'un seul cycle annuel de reproduction par suite d'une période annuelle de silence sexuel : c'est le cas des ovins et des caprins, alors que leur durée de gestation de 5 mois ne s'oppose pas à deux gestations par an. D'autres enfin, comme les porcins ou les lapins, sans avoir un arrêt complet de la reproduction pendant plusieurs mois, présentent une chute de fertilité qu'il convient de corriger.

Cette saisonnalité est sous la dépendance de la durée du jour. Le mode d'action au niveau du système nerveux central de cette perception sensorielle de la variation annuelle de la photopériode, a fait l'objet depuis 50 ans de nombreux travaux dans beaucoup de groupes zoologiques. Comment les résultats des recherches nous permettent de casser ce repos saisonnier et d'obtenir deux gestations par an sera exposé par Philippe Chemineau et ses collègues dans un prochain numéro. Il est utile de rappeler au lecteur que les techniques de procréation médicalement assistée pour traiter des stérilités humaines utilisent autant les résultats des recherches effectuées sur des mammifères domestiques que celles

réalisées sur des animaux de laboratoire (insémination artificielle, fécondation *in vitro*, culture d'embryons, congélation des cellules sexuelles et des embryons). Il faut également savoir qu'il y a souvent convergence entre les problématiques de recherches sur des pathologies humaines (maladies liées au sexe par exemple) et sur des objectifs strictement économiques (choix du sexe chez les bovins) et entre des problèmes de pathologie humaine et animale telle par exemple la déficience d'activation des lymphocytes, conduisant à une déficience immunitaire chez l'homme et chez le bovin de race Holstein car cette pathologie relève de la même mutation.

Ce rapprochement entre des pathologies humaines et animales montre que l'étude des mammifères domestiques n'intéresse pas seulement l'élevage mais permet de disposer de modèles animaux pour lesquels la généalogie est souvent bien connue grâce à l'insémination artificielle, ce qui permet de retrouver le point de départ de la mutation puis son évolution.

La mortalité embryonnaire précoce, qui se situe au moment de l'implantation ou peu après, représente une perte sérieuse pour l'éleveur. Elle est la principale cause de la faible fertilité naturelle au cours des cycles volontairement féconds chez la femme. Le conceptus de l'homme ou des rongeurs pénètre profondément dans la muqueuse utérine pour se développer, ce qui rend difficile l'étude des signaux échangés entre le conceptus et l'utérus. Au contraire, celui des ruminants reste en surface au contact de la muqueuse : il est donc plus aisé d'identifier, en s'appuyant sur des cultures, les messages chimiques localisés émanant soit de l'embryon et qui engagent le changement de la physiologie de la femelle gestante, soit de l'utérus et qui contribuent à la croissance du conceptus. C'est la recherche de ces messages qui a conduit à la découverte d'un facteur produit par l'enveloppe (trophoblaste) du conceptus de mouton, l'oTP (o pour *ovine* et TP pour *trophoblastic protein* = trophoblastine) qui s'est révélée être de la famille de molécules jouant dans les défenses naturelles contre les virus, à savoir les interférons. Jacques Martal exposera dans un prochain numéro l'importance de cette découverte et la complexité des mes-

sages entre conceptus et utérus, ainsi que les boucles de régulation qui permettent le développement régulier du fœtus et de la fonction utérine.

Nos recherches ont pu être poursuivies pendant des décennies, sans contrainte, ni contrats. Maintenant que les dispensateurs de fonds orientent la recherche par l'argent et selon les modes, puissent les chercheurs avoir la sagesse de refuser des contraintes de temps et de thèmes qui conduisent à privilégier l'argent et l'appareillage plutôt que l'imagination et la réflexion longuement mûrie. Puissent-ils aussi accepter les contraintes qu'impose le va et vient entre les études cellulaires et moléculaires *in vitro* et la réalité encombrante et coûteuse qu'est un mammifère de ferme comparé à une souris ! Ceux qui acceptent de travailler dans le cadre de la Recherche Agronomique et Vétérinaire doivent être conscients que la situation climatique et pédologique de la France la destine à être pour longtemps un grenier pour les nations moins favorisées mais aussi un lieu où se mûrissent les applications technologiques, avec les plus values qui en découlent. C'est de leurs travaux que dépend cette double perspective ■