

Les biotechnologies de l'embryon bovin : application à la sélection, réalités et enjeux économiques

Jean-Jacques Colleau

L'évolution des connaissances et des techniques en biologie de la reproduction des mammifères se poursuit à un rythme soutenu. Les généticiens et les sélectionneurs sont donc amenés à s'interroger sur l'opportunité et les modalités de leur utilisation dans les programmes de sélection.

Pour être complète et réaliste à la fois dans ce domaine, la prospective doit être raisonnée en tenant compte de multiples aspects :

— les techniques elles-mêmes ne sont jamais immédiatement disponibles et nécessitent une période plus ou moins longue de test. On ne sait pas encore si certaines d'entre elles pourront être appliquées un jour à grande échelle ;
— la génétique des populations représente une certaine force de freinage quand on veut progresser dans une direction génétique donnée. Les techniques de connaissance fine et de modification directe du génome des animaux domestiques n'en sont, en effet, qu'à leurs débuts. Il faut également veiller à ne pas compromettre l'avenir, en diminuant trop la variabilité génétique ;

— la rentabilité économique à long terme des opérations envisagées, tant au niveau de l'éleveur que du groupe d'éleveurs, doit être impérativement recherchée si l'on souhaite que les biotechnologies s'implantent solidement dans le monde de l'élevage ;

— le contexte international de concurrence accrue où un excès de prudence dans les évolutions peut conduire à ce que l'on voulait précisément éviter : un préjudice économique.

L'élaboration de réponses adéquates exige de quantifier tous ces aspects, ce qui conduit à utiliser les raisonnements de la génétique quantitative qui n'est pas familière à nombre de lecteurs. Après avoir effectué quelques rappels de base sur cette discipline, on s'efforcera de faire accéder à la compréhension des raisonnements en se plaçant dans un cas bien typé : la sélection de la production laitière chez les bovins. Cet exemple n'est pas du tout pris au hasard, puisque les biotechnologies de la reproduction sont actuellement en plein développement chez les bovins et que la production laitière est un critère essentiel de rentabilité économique et donc sujette à sélection intensive chez toutes les races bovines laitières. On consacrera l'essentiel de l'exposé à trois techniques (transfert, sexage et clonage de l'embryon) dont l'intérêt a été relativement bien analysé, au niveau mondial, sur le plan de la génétique quantitative. Pour terminer, on ajoutera que les raisonnements et conclusions s'appuient essentiellement sur les simulations, les effets réels de ces techniques devant être mesurés par la suite si elles sont appliquées.

Où en sont les techniques ?

Les trois techniques précédemment mentionnées sont bien décrites ailleurs [1-7]. La synthèse qui est faite ici n'a

pour but que de préciser comment elles peuvent être perçues par un généticien, qui doit toujours apprécier leurs possibilités d'utilisation à grande échelle.

Le transfert d'embryon est une technique dont les débuts remontent à une quinzaine d'années et dont les résultats techniques, en termes de nombre d'embryons par collecte (4-5) et de taux de réussite du transfert de ces embryons (50 à 60 %), ont progressé au fil du temps pour parvenir à une situation relativement stable. En conséquence, le nombre total des transferts a beaucoup progressé, en France notamment. On peut noter qu'en termes de nombre de descendants, une seule collecte équivaut au résultat de 3 ans de reproduction naturelle, ce qui est *a priori* intéressant. Cependant, les inconvénients de la méthode sont bien connus : variabilité importante de la réponse à la superovulation (en particulier, 20 % des donneuses ne fournissent aucun embryon utilisable) et frais importants de main d'œuvre pour la collecte, le tri et le transfert des embryons : le surcoût technique d'un veau issu d'une transplantation embryonnaire est de l'ordre de 2 000 F, soit 10 fois plus que l'insémination artificielle classique [8].

En ce qui concerne le sexage, l'évolution est beaucoup plus récente. En France par exemple, depuis la fin 1990, un service nouveau de sexage est proposé aux éleveurs par un nombre croissant d'équipes de transfert. On peut considérer qu'actuellement la fiabilité de la détermination du sexe d'un embryon après prélèvement de quelques cellules (biopsie) est excellente [3-5]. Le principe de la méthode

J.-J. Colleau : Centre de recherches INRA-Jouy, Station de génétique quantitative et appliquée, 78352 Jouy-en-Josas Cedex, France.

repose sur l'amplification par PCR d'une séquence d'ADN spécifique du chromosome Y bovin. Cependant, il existe encore des inconnues, sur la proportion maximale d'embryons sur lesquels on peut pratiquer une biopsie sans compromettre gravement leur survie (d'après les spécialistes, elle est estimée à environ 60 %, ce qui est assez peu), et sur le taux de développement d'embryons biopsiés et congelés, qui semble faible, alors que la congélation facilite considérablement toutes les opérations de sélection à grande échelle. Par ailleurs, les coûts techniques sont augmentés de l'ordre de 50 %.

Techniquement, le clonage des embryons bovins est nettement moins avancé, mais la recherche est extrêmement active dans de nombreux pays, dont la France, et a permis d'obtenir quelques succès (jusqu'à 11 veaux nés issus d'un même embryon). Le principe consiste à transférer des noyaux cellulaires provenant d'une morula d'une trentaine de cellules dans des ovocytes préalablement maturés *in vitro* puis énucléés. La probabilité d'obtention d'une naissance à partir de tels embryons reconstitués est encore extrêmement basse (3 à 5 %). Il faut encore approfondir les connaissances en biologie fondamentale pour améliorer la technique [6, 7].

Déterminisme génétique des caractères

Les stratégies de sélection sont actuellement basées sur l'hypothèse d'un déterminisme polygénique additif. Une multitude de gènes, ayant chacun un effet limité (polygénisme) et agissant indépendamment les uns des autres (additivité), est supposée expliquer les variations héréditaires observées [9, 10]. Cette hypothèse n'est pas catégoriquement infirmée par les résultats obtenus lors de sélections effectives mais il ne faut absolument pas exclure l'existence de quelques gènes ayant un effet dit majeur, qu'il convient de rechercher par les techniques de la génétique moléculaire et de la statistique (c'est un front de recherches très actuel [11, 12]).

L'existence d'un déterminisme polygénique a plusieurs conséquences fondamentales. La première, favorable, réside dans le fait que les limites de la sélection sont très éloignées (peu de risque de « plateau » de sélection). Les autres conséquences sont globalement défavorables : progrès génétiques initiaux moins importants qu'en situation oligogénique, impossibilité de connaître le génotype exact d'un animal (remplacé par sa valeur génétique additive, qui résume l'effet moyen de ses gènes, elle-même estimable indirectement au travers des performances de cet animal et de ses apparentés sujettes aux effets de milieu) et très forte dispersion, due aux hasards de la méiose, des valeurs génétiques additives des animaux résultant d'un même accouplement (la théorie permet de prédire que la variabilité génétique entre pleins frères ou sœurs est encore la moitié de la variabilité totale de la population). Ces deux derniers points sont fondamentaux pour bien comprendre l'optimisation de l'insertion des nouvelles techniques de reproduction en sélection. Dans ce domaine, on raisonne non sur des individus mais sur des groupes, car c'est à ce niveau que les prévisions sont valables.

Les facteurs du progrès génétique

Le succès d'une sélection se mesure globalement par la vitesse d'évolution des valeurs génétiques additives dans la population (progrès génétique annuel).

Cette mesure globale résulte de la synthèse de nombreuses composantes. Ainsi, quatre facteurs fondamentaux influent sur le progrès génétique : l'intervalle de génération, la pression de sélection, la précision de la sélection et la variabilité génétique disponible [9-13]. A cela il faut ajouter les modalités de transmission des gènes d'une génération à l'autre, qui ont des paramètres statistiques propres et dont il faut évaluer l'impact simultané. On distingue les « voies » père-fils (choix des pères des nouveaux taureaux), père-fille (choix des taureaux d'insémination), mère-fils (choix des mères des nouveaux taureaux), mère-fille (choix des mères des génisses de remplacement).

La théorie permet d'établir que, dans des conditions simplifiées, le progrès génétique annuel s'exprime tout simplement par le rapport D/L où D est la différentielle de sélection moyenne sur les quatre voies précédemment mentionnées et où L est l'intervalle de génération moyen sur ces quatre voies. Rappelons que la différentielle de sélection correspond à l'écart de valeur génétique entre les reproducteurs retenus et la série dont ils sont issus, et que l'intervalle de génération est l'âge du reproducteur à la naissance de ses descendants.

Pour être complet, il faut tenir compte de l'écart entre populations d'élite (les noyaux de sélection) et populations commerciales : il n'est pas obligatoirement lié au progrès génétique annuel (création du progrès génétique) et il conviendrait de le réduire grâce aux biotechnologies (diffusion du progrès génétique).

Possibilités nouvelles pour la sélection

Transfert embryonnaire

Il permet d'améliorer (suivant le schéma de sélection envisagé) 1 ou 2 des 3 paramètres fondamentaux que sont l'intervalle de génération, la pression de sélection et la précision de la sélection.

Le transfert embryonnaire permet une accélération notable des opérations de choix des mères des taureaux d'insémination, car leur âge peut passer de 6 ans (situation classique sans transfert) à 2 ans. Dans ce cas, les collectes sont effectuées avant le premier vêlage et les descendants sont triés d'après les performances ultérieures des donneuses (figure 1).

La pression de sélection peut se renforcer car, la prolificité des mères augmentant, l'effectif nécessaire au renouvellement de la population peut diminuer. La précision des index de sélection, notamment ceux des vaches, peut être améliorée grâce à un nombre de descendants nettement accru (il est très réduit en reproduction naturelle).

Sexage

Le grand intérêt du sexage d'embryons est essentiellement d'économiser les

receveuses d'embryons, en effectif pas toujours très abondant car elles doivent répondre à un certain nombre de conditions (âge, état physiologique et sanitaire). *A contrario*, à nombre de receveuses constant, l'utilisation du sexage peut permettre d'augmenter les progrès génétiques. Le sexage permet de mieux planifier les transferts en fonction du renouvellement si les donneuses sont déjà connues pour leurs performances : on transfère alors le nombre exact d'embryons mâles et femelles nécessaires au remplacement. L'intérêt du sexage pour la diffusion du progrès génétique est également évident dans le cas de la production laitière (ce sont les embryons femelles qui sont alors intéressants).

Clonage

Dans le cas des bovins laitiers, on peut considérer que le clonage des embryons mâles est non seulement d'un intérêt mineur mais présente aussi beaucoup de risques de perte de variabilité génétique, les mâles d'insémination artificielle étant déjà très apparentés et en effectif faible.

Le clonage des embryons femelles permettrait :

- d'une part d'augmenter la prolificité des génotypes femelles correspondants, chaque clone correspond à plusieurs femelles en reproduction. Cette prolificité est encore augmentée si les embryons de la génération suivante sont eux-mêmes clonés ;

- d'autre part d'augmenter la précision de l'évaluation de ces génotypes femelles, en leur faisant exprimer simultanément plusieurs performances (tableau 1).

De ce fait, le statut des femelles se rapprocherait de celui des mâles d'insémination artificielle à potentiel reproductif élevé et à valeur génétique bien connue grâce à leur index sur descendance (testage). On conçoit que cette tendance puisse être bénéfique au progrès génétique car, bien évidemment, les femelles contribuent autant que les mâles à la constitution du *pool* génétique d'une population.

Reclonage

Cette variante de clonage consiste à cloner de nouveau des embryons (stockés

congelés par exemple) dont des copies ont déjà été transférées sur des receveuses. De cette manière, on peut envisager de disséminer chez les éleveurs laitiers les meilleurs clones femelles évalués sur index (testés sur performances et non plus simplement sur ascendance comme un embryon actuel).

Insertion concrète des biotechnologies dans les programmes de sélection

Il s'agit ici de programmes collectifs, ce qui signifie que les biotechnologies sont utilisées essentiellement pour améliorer le niveau génétique des taureaux d'insémination, lesquels continuent toujours à diffuser leurs gènes par des méthodes relativement bon marché (insémination artificielle). On se place en outre dans les conditions des pays tempérés (Europe, Amérique du Nord) où le contrôle des performances est développé.

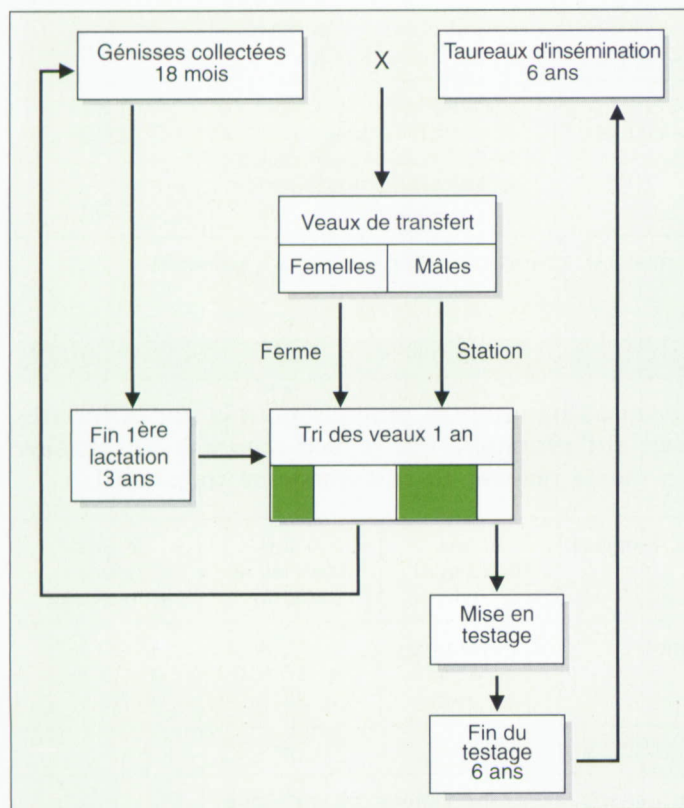


Figure 1. Programme de sélection utilisant la transplantation embryonnaire précoce chez les bovins laitiers.

Figure 1. Breeding scheme using early embryo transfer in dairy cattle.

Tableau 1

Précision (R^2) de l'indexation des clones femelles pour la production laitière (coefficient d'héritabilité = 0,25)

Taille du clone femelle	Précision (R^2)	Nombre de filles d'un taureau pour la même précision*
2	0,40	10
5	0,63	25
10	0,77	50

* Mode de lecture : un clone de 5 vaches est connu avec la même précision qu'un taureau avec 25 filles non clonées (on n'a aucun intérêt à cloner la descendance pour évaluer le père).

Accuracy of estimated breeding values for female clones

Insertion de la transplantation embryonnaire

Il existe un très grand nombre de formules déjà envisagées ou envisageables pour mettre en œuvre concrètement la transplantation dans la sélection des bovins laitiers. Elles sont souvent désignées par le sigle de MOET (*Multiple*

Ovulation and Embryo Transfer), comme l'ont proposé Nicholas et Smith [14].

Pour schématiser, on peut dire que ces types de programmes de sélection peuvent être rangés en 6 catégories d'après l'âge des donneuses (2 ans, 4 ans) et l'âge des taureaux utilisés (2 ans, 4 ans, 6 ans). A ces âges extrêmement différents, les informations disponibles pour la sélection varient considérablement, ce qui a un effet sur la précision des index de sélection utilisés (tableau 2). Il y a également d'autres critères de variation entre ces schémas de sélection, notamment le degré d'ouverture génétique de la population des reproducteurs appelée noyau de sélection (fermé si une donneuse est toujours fille d'une donneuse précédente, ouvert dans le cas contraire), ou

la localisation des opérations de sélection (troupeaux spécialisés, troupeaux ordinaires où sont dispersés les reproducteurs).

L'application à ces types de schémas des procédures générales d'estimation des progrès génétiques correspondants (voir plus haut) permet de constater que les paramètres élémentaires de ce progrès sont tantôt améliorés, tantôt détériorés mais que le progrès génétique annuel, résultant de l'intégration de tous les paramètres élémentaires, est nettement augmenté. Il est de 20 % environ [14-18] (5 % et 30 % pour les schémas extrêmes). Ceci est très appréciable et doit être pris en considération dans un contexte de concurrence internationale sur le matériel génétique bovin (tableau 3).

Le tableau 4 donne le détail de la

Summary

Cattle embryo technology and selection : facts and economics

J.-J. Colleau

Focusing on three embryo techniques (conventional embryo transfer, embryo sexing and embryo cloning), a survey of their respective potential in terms of a single-trait selection strategy (milk yield) is carried out. The rates of improvement of annual genetic gains could lie within the range of 20-30 %. The reasons for this success are given in detail from a population geneticist's viewpoint. The discussion is extended to less simplified situations (e.g. selection of more than one - and possibly weakly heritable-trait, maintaining genetic variability, implementations for beef cattle) and to other techniques, such as in vitro fertilization and detection of individual genes. It is concluded that although prospects are very attractive for animal breeding, attention should nevertheless be paid to offsetting costs by creating profitable breeding schemes according to very basic farm principles level. From this viewpoint, earlier technology should be primarily directed towards improving the genetic value of bulls used for artificial insemination. If cheap performance-tested clones become available in the future, farmers could use this technology and improve their income.

Cahiers Agricultures 1993 ; 2 : 93-102.

Tableau 2

Age des reproducteurs et informations utilisées dans différents schémas de sélection avec transfert embryonnaire

Sexe	Age	Informations	Précision de la sélection (R ²)
Femelle	6 ans (classique)	Ascendance + 3 lactations	0,60
	4 ans	1 lactation + pleines sœurs + 1/2 sœurs paternelles + 1/2 sœurs maternelles	0,40
	2 ans	Ascendance	0,20
Mâle	6 ans (classique)	Descendance (80 filles)	0,80
	4 ans	Pleines sœurs + 1/2 sœurs paternelles + 1/2 sœurs maternelles	0,30
	2 ans	Ascendance	0,20

Age at breeding and relevant informations for various ET schemes

Tableau 3

Comparaison des progrès génétiques annuels permis par différents schémas de transfert embryonnaire (par rapport à un très bon schéma classique et pour un même nombre total d'embryons transférés)

Age des femelles	6 ans (classique)	4 ans (donneuse adulte)	2 ans (jeune donneuse)
Age des mâles			
6 ans (classique)	0 (référence)	+ 5 %	+ 20 % *
4 ans	pas étudié	+ 10 % *	+ 20 %
2 ans	pas étudié	+ 20 %	+ 30 %

* Versions actuellement expérimentées dans le monde

Comparison of annual genetic gains for various ET schemes

comparaison entre un excellent schéma classique sans transplantation embryonnaire (100 taureaux testés par an, 13 utilisés en service courant et 3 en pères à taureaux ; 113 kg de lait de progrès génétique annuel) et un schéma pratiquant la même politique de testage, mais où les mères à taureaux sont des génisses de 18 mois (200 génisses donneuses, récoltées deux fois, avec cinq embryons par récolte et un taux de réussite des embryons de 60 %). On voit que le dernier schéma permet une augmentation de 22 % des progrès génétiques annuels, essentiellement en raison de la réduction de l'intervalle de génération (- 29 %).

Dans la pratique, il y a actuellement deux grandes familles d'application en cours d'expérimentation dans le monde. La première, qui correspond à l'idée originale de Smith [14], est appliquée au Canada [18] et en

Grande-Bretagne [19] : les reproducteurs mâles sont sélectionnés sur collatérales dans des troupeaux spécialisés et commercialisés à 4 ans. Dans la seconde (France, Allemagne, Hollande, Danemark) [20-23], les reproducteurs mâles sont toujours sélectionnés sur les résultats de leur descendance à la ferme, comme dans les programmes anciens, mais on utilise de très jeunes donneuses également situées dans une ferme (*figure 1*). La raison qui a été mise en avant en France pour justifier cette approche a été que la précision élevée du testage sur descendance est jugée nécessaire :

- pour garder la confiance des éleveurs dans les produits de la sélection ;
- pour ne pas s'interdire la possibilité de sélectionner sur des caractères très peu héréditaires (reproduction, résistance aux maladies) ;
- pour permettre la recherche en con-

tinu de gènes à effet majeur par analyse des ségrégations dans une descendance nombreuse.

Signalons que le schéma théoriquement le plus intéressant du *tableau 3* n'est pas actuellement en cours de test parce qu'il implique une augmentation jugée trop élevée des coefficients de consanguinité.

A cause du laps de temps nécessaire, on manque encore de recul pour évaluer si les progrès génétiques réalisés sont conformes aux progrès espérés et pour comparer finement les deux types d'approche d'après leurs résultats.

En France, les premiers résultats obtenus, concernant les index laitiers sur descendance de plusieurs dizaines de taureaux Holstein, fils de jeunes donneuses situées en France, paraissent être favorables dans le sens où ces taureaux ont un niveau génétique au moins équivalent à celui des taureaux directement importés des USA, pays leader pour cette race bovine.

Tableau 4

Comparaison détaillée des paramètres entre un schéma de sélection laitière classique (référence) et un schéma avec jeunes donneuses (*figure 1*)

Paramètres	Voies	Référence	TE jeunes donneuses
Pression de sélection (% de candidats sélectionnés)	père-fils	3	3
	père-filles	13	3
	mère-fils	1	20
	mère-filles	70	33
Coefficient de détermination des index (R^2)	père-fils	0,90	0,90
	père-filles	0,90	0,90
	mère-fils	0,50	0,25
	mère-filles	0,40	0,25
Intervalle de génération (années)	père-fils	6,75	6,75
	père-filles	6,30	6,75
	mère-fils	6,60	2,21
	mère-filles	5,60	2,21
	moyenne = L	6,31 (100)	4,48 (71)
Différentielle de sélection (kg de lait)	père-fils	950	950
	père-fille	715	950
	mère-fils	940	315
	mère-fille	215	245
	moyenne = D	705 (100)	615 (87)
Progrès génétique annuel = D/L (kg de lait)		112 (100)	137 (122)

Comparison of parameters between a conventional and a heifer donor breeding scheme

Insertion possible du sexage

La fiabilité de la détermination du sexe constitue une condition nécessaire préalable à une éventuelle utilisation du sexage en sélection, mais elle n'est pas une condition suffisante. Le taux d'embryons sexables doit être important et la congélation, indispensable pour une bonne coordination des actions de sélection, doit pouvoir s'appliquer aux embryons ayant subi une biopsie sans compromettre trop gravement leur survie. Des essais sont en cours actuellement pour préciser ces points, notamment par l'UNCEIA en France. Dans les simulations qui vont suivre, on suppose que les conditions supplémentaires demandées sont finalement satisfaites.

Le grand intérêt du sexage est de bien valoriser chaque embryon transféré, sachant que les receveuses constituent une ressource limitée. Il peut ainsi renforcer l'efficacité des programmes de sélection présentant des déficiences sur certains points (par exemple, un intervalle de génération qui n'est pas raccourci au maximum). Il apparaît ainsi qu'un programme où les donneuses sont collectées en deuxième lactation, avec tri sur les performances de la première lactation, est aussi efficace qu'un schéma où les donneuses sont des

génisses et où le sexage des embryons n'est pas effectué, en raisonnant pour un même nombre total d'embryons transférés (tableau 5).

Précisons que, dans ce dernier cas, le sexage serait de toute façon inutile, les décisions de sélection intervenant après le transfert et non avant. Un schéma avec donneuses adultes et sexage des embryons pourrait intéresser davantage les sélectionneurs parce que les valeurs génétiques de ces donneuses sont mieux connues et qu'ainsi la variabilité de la réponse à la sélection (han-tise des sélectionneurs) y est *a priori* plus faible.

Insertion possible du clonage

La figure 2 montre comment on pourrait utiliser le clonage d'embryons femelles en sélection des bovins laitiers. On clonerait les embryons femelles issus de donneuses d'élite : ces clones donneraient des embryons qu'on clonerait à leur tour et ainsi de suite. Un clonage très modéré dans l'absolu (3

à 5 animaux vivants par clone), mais encore très au delà des possibilités actuelles de la technique (il faut ici raisonner au niveau des moyennes et non des records), permettrait de stimuler encore les progrès génétiques [25-27], même en raisonnant à nombre total constant d'embryons transférés au sein du programme (tableau 4).

La simulation a permis de montrer que, contrairement à ce qu'on pouvait craindre, ce type de clonage, très bien ciblé, n'accroît que très peu le coefficient de consanguinité (c'est le nombre de mâles qui est le principal facteur à cet égard, parce que très réduit).

Les biotechnologies vues du côté de l'éleveur

Jusqu'à présent, l'éleveur a été considéré comme affecté indirectement par les biotechnologies (via l'insémination

artificielle), cette procédure dite collective visant à diluer l'ensemble des coûts de la transplantation embryonnaire sur l'ensemble des utilisateurs de l'insémination et à en étendre les bénéfices.

Cette solution n'est-elle pas timorée et l'éleveur n'a-t-il pas réellement un intérêt économique à décider d'utiliser la transplantation embryonnaire en dehors de tout programme collectif ? Il semble bien que la réponse soit franchement négative. La simulation génético-économique montre que si les recettes attendues du transfert sont dues uniquement aux performances liées à un mérite génétique amélioré (et non à une vente plus ou moins spéculative de reproductrices ou même d'embryons de seconde génération), l'éleveur met en moyenne 6 à 8 ans à simplement rembourser le surcoût technique lié à ce mode de reproduction, même si les donneuses sont très fortement sélectionnées (les 1 % à 5 % les meilleures de la population). La simulation montre que la variabilité des résultats est en outre très

Tableau 5

Comparaison des progrès génétiques annuels permis par le sexage et le clonage (par rapport à un très bon schéma classique et pour un même nombre total d'embryons transférés)

Age des mâles / Age des femelles	6 ans classique	Sexage + clonage*	
4 ans / 4 ans	Sexage + 20 %	3 animaux clone + 25 %	5 animaux clone + 30 %
2 ans**	+ 20 %		

* Techniques non encore réellement disponibles.

** Dans ce cas, le sexage des embryons est inutile puisque les mères ne sont pas encore connues sur performances.

Comparison of annual genetic gains using embryo sexing and cloning

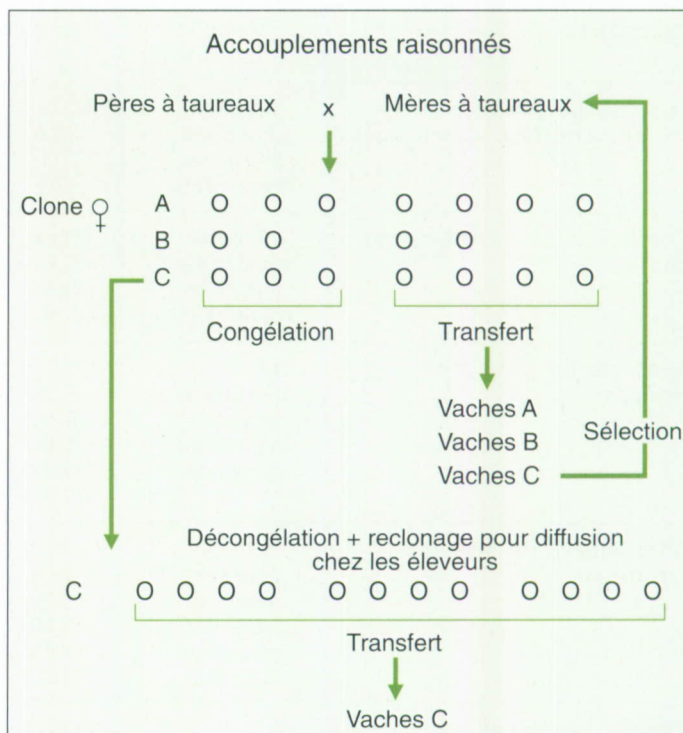


Figure 2. Utilisation collective des clones femelles en bovins laitiers.

Figure 2. Breeding scheme using female embryo cloning in dairy cattle.

élevée (tableau 6) pour toute une série de raisons : sexe du veau issu de transfert, erreurs d'appréciation sur la valeur génétique de la vache, aléas de méiose, effets de milieu. Tenter de diminuer ces aléas en utilisant la transplantation sur davantage d'animaux ne ferait qu'alourdir le bilan financier.

On voit mal comment, dans les conditions techniques et financières du moment, le sexage pourrait améliorer cette situation. Il semblerait même qu'il l'aggrave.

En revanche, on peut dire qu'il y a des perspectives positives à long terme pour l'association « sexage + clonage », ou, plus exactement, reclone, si les frais de fabrication des embryons peuvent être abaissés grâce au clonage en laboratoire et si, en outre, les clones transplantés sont bien connus (testés sur performances) et de haute valeur génétique (très forte pression de sélection).

Le tableau 6 présente le résultat de simulations concernant le transfert à la ferme de tels embryons. La simulation génétique montre que le remplacement d'embryons ordinaires (issus du 1 % le meilleur des vaches simples) par des embryons recloneés (correspondant aux 10 % les meilleurs des clones testés sur 5 vaches, issus d'accouplements entre animaux d'élite comme dans la figure

2) entraîne une augmentation très sensible (64 %) des recettes liées à la transplantation embryonnaire, à cause du meilleur niveau génétique des génisses nées de transfert. Dans l'hypothèse où le prix de revient de l'embryon cloné serait le même que dans la situation actuelle, le bilan financier au bout de 10 ans d'une activité continue de transfert à la ferme (1 génisse née de transfert chaque année) serait modérément négatif (- 14 %), bien moins négatif que celui de la transplantation classique (- 50 %). Une réduction des prix de revient grâce au clonage s'avère donc absolument nécessaire : une baisse de 50 % de ces coûts permettrait d'obtenir un bilan financier positif (+ 73 %).

Perspectives et problèmes divers

Les situations précédemment décrites sont trop simples à maints égards : l'objectif premier de leur analyse était de faire percevoir les raisonnements utilisés et l'ordre de grandeur des résultats obtenus. Dans les paragraphes qui viennent, la perspective est élargie.

Prise en considération de caractères difficiles à sélectionner et/ou peu rentables

L'exemple type se présente pour les caractères de reproduction femelle, par exemple l'influence de la vache sur le taux de réussite à l'insémination. La variation génétique pour ce caractère s'exprime en effet 10 fois moins que celle pour la production laitière, les coefficients d'hérédité respectifs étant de 2 % et de 25 %. Par ailleurs, même en raisonnant dans la situation des quotas laitiers pour chaque exploitation agricole, la variation génétique du critère de reproduction a moins d'impact sur la rentabilité de cette exploitation que la variation génétique pour la production laitière (rapports de 1 à 5, en raisonnant en unité standard : l'écart-type génétique [28]).

L'utilisation du programme de sélection avec transfert du tableau 5 entraîne une détérioration des performances de reproduction puisqu'il existe une opposition entre celles-ci et la production laitière (coefficient de corrélation génétique = - 0,3). Mais on pourrait très bien, dans ce type de schéma, prendre en considération, avec la pondération économique *ad hoc*, les

Tableau 6

Bilan financier au bout de 5 ans de l'utilisation d'une génisse (et de sa descendance) née de transplantation embryonnaire

Bilan	Répartition*
- 8 000 à - 6 000 F	6
- 6 000 à - 4 000 F	11
- 4 000 à - 2 000 F	38
- 2 000 à 0	565
0 à 2 000 F	122
2 000 à 4 000 F	116
4 000 à 6 000 F	79
6 000 à 8 000 F	42
8 000 à 10 000 F	16
10 000 F et plus	5
Moyenne - 218 F	1 000

* 1 000 troupeaux simulés, supposés investir la même somme initiale (4 000 F) qui correspond au supplément de prix de revient d'une femelle (= 2 x 2 000) puisqu'aucune plus-value particulière n'est supposée pour les mâles.

Financial results from using an ET-born heifer for 5 years

Tableau 7

Évolution des recettes* et coûts cumulés (en KF) pour un troupeau faisant naître chaque année pendant 10 ans une génisse issue de transfert embryonnaire

Année	Recettes cumulées (KF)		Coûts cumulés (KF)	
	Embryons classiques	Clones testés	Coûts classiques	50 % coûts classiques
0	0	0	4	2
2	0	0	12	6
4	1,7	2,9	20	10
6	6,0	10,5	28	14
8	12,9	22,2	36	18
10	22,1	38,2	44	22

* Évaluées sur les femelles correspondant aux embryons et sur leurs descendantes supposées obtenues en reproduction naturelle.

Cumulated income and costs for a herd calving one ET heifer per year over 10 years

données de reproduction provenant d'animaux situés hors noyau de sélection (les très nombreuses demi-sœurs paternelles des taureaux et des donneuses), et qui apportent une information indirecte non négligeable. Dans ce cas, la détérioration serait freinée d'environ 50 %.

Un arrêt total de cette détérioration serait possible mais entraînerait une chute trop importante du progrès génétique sur la production laitière. Le progrès génétique sur le bénéfice financier global par animal serait alors ralenti d'environ 10 %.

Cet exemple illustre les possibilités assez larges des schémas avec transplantation embryonnaire. Cependant, il serait discutable de leur assigner des objectifs qui ne soient pas adaptés aux conditions technico-économiques de l'élevage laitier.

Synergies entre biotechnologies de la reproduction et biotechnologies de la connaissance du génome

La constitution de familles de pleins frères (sœurs) de taille importante, grâce à la transplantation embryonnaire, constitue un apport significatif à la recherche de marqueurs moléculaires liés à des gènes à effet majeur, d'une part pour établir la carte génique des marqueurs, d'autre part pour détecter des marqueurs intéressants, en étudiant les variations de performances selon les ségrégations intra-famille [11, 12]. A l'heure actuelle, la détection des marqueurs intéressants est envisagée essentiellement sur des familles de taureaux d'insémination artificielle ayant le même père et indexés sur la production laitière de leurs filles [9, 11, 12, 29], le principe étant que l'on compare les index moyens de sélection des 2 groupes de taureaux ayant hérité de l'un ou l'autre des gènes paternels (le marqueur est supposé constitué de séquences d'ADN microsatellites et donc très polymorphes). Le développement du clonage des femelles permettrait de commencer cette recherche de marqueurs plus tôt qu'avec ce procédé, les femelles concernées ayant 4 ans et non 6 ans comme dans le cas des taureaux. On a en effet vu que le clonage des femelles permettrait de leur faire jouer un

rôle analogue à celui des taureaux d'insémination.

L'autre volet de la synergie est que la transplantation embryonnaire permet d'utiliser précocement, et de diffuser, tout génotype dont le typage pour les marqueurs est connu et est considéré comme favorable, après la première phase de détection des marqueurs et d'étude de l'association quantitative entre marqueurs et performances. L'utilisation conjointe au sein d'un programme de sélection, de la transplantation accélérée et des marqueurs, pourrait conduire à des rythmes de progrès génétiques augmentés de 40 % (20 % dus à la transplantation comme indiqué plus haut et 20 % dus à l'utilisation des marqueurs [30]).

Préservation de la variabilité génétique

Les conditions économiques sont toujours changeantes, aussi est-il souhaitable, quand on sélectionne, de ne pas trop compromettre l'avenir en réduisant excessivement la variabilité génétique existante. C'est la grande interrogation posée aux schémas de sélection qui utilisent les méthodes nouvelles de reproduction. Il a déjà été signalé que les expérimentations en cours dans le monde tiennent compte de cet aspect. Par ailleurs, de nombreux chercheurs en génétique quantitative s'efforcent d'établir des règles décisionnelles claires permettant d'optimiser les programmes de sélection sur le long terme [31-34].

Une inquiétude régulièrement exprimée concerne le clonage. Comme il a été mentionné précédemment, son utilisation raisonnée dans le cadre de la création du progrès génétique à l'intérieur des noyaux de sélection limite les risques à un niveau notamment plus faible que l'utilisation massive d'un petit nombre de taureaux d'insémination, ce qui est la situation actuelle [27]. Les règles d'utilisation à large échelle d'embryons testés et reclés ont à être précisées, n'ayant pour le moment donné lieu à aucun travail d'ordre théorique. Le bilan technico-économique précédemment mentionné tient un peu compte de cet aspect puisqu'il suppose que les clones diffusés appartiennent aux 10 % les meilleurs de la population des clones et non au tout meilleur clone, ce qui

implique une certaine diversité des clones diffusés.

Intérêt possible de la fécondation *in vitro* (FIV)

Cette technique présente visiblement un intérêt potentiel pour la sélection, à condition qu'elle soit couplée à un dispositif efficace de recueil des ovocytes [35, 36]. La mise au point relativement récente de techniques de collecte d'ovocytes immatures *in vivo* sous échographie permet d'escompter, après maturation et fécondation *in vitro*, pratiquement autant d'embryons transférables que lors d'une collecte classique d'embryons. La différence très importante entre les deux procédés est que la fréquence de collecte possible est nettement à l'avantage de la nouvelle technique (toutes les semaines au lieu de tous les 2 mois). Les taux de développement des embryons sont actuellement de l'ordre de 30 % jusqu'à la période de transfert *in vivo* et de l'ordre de 40 % après [37].

L'obtention, dans ces conditions, de plusieurs dizaines d'embryons transférables par vache, associée à un taux de gestation après transfert de l'ordre de 50 % comme dans la méthode actuelle aurait, si elle était réalisée, des conséquences sur les programmes de sélection. Les premières évaluations [38] indiquent des taux d'accroissement de progrès génétique de l'ordre de 50 à 100 %, elles supposent cependant une utilisation massive (1 000 descendants par donneuse) et une récolte très précoce.

Vu la forte multiplication des génotypes femelles, il apparaît essentiel que les donneuses soient choisies non d'après leurs parents mais d'après leurs performances, pour limiter les risques d'accroissement de la consanguinité et d'induction de réponses très variables à la sélection.

Une solution de sagesse pour la sélection serait sans doute d'utiliser la FIV comme un outil d'extension de la transplantation, permettant d'obtenir à partir des donneuses, non une dizaine d'embryons transférables comme maintenant mais environ le triple, avec une variabilité si possible moins importante. Les procédures de sélection seraient par ailleurs les mêmes que celles mentionnées dans les paragraphes précédents. Les rythmes des progrès

génétiques seraient alors augmentés de 40 à 50 % au lieu de 20 % avec la transplantation classique.

Biotechnologie de la reproduction et transgénèse

Il est manifeste que l'embryon est destiné à jouer un rôle de plus en plus important dans les programmes de sélection. Sachant que l'introduction de nouveaux gènes s'effectue actuellement sur des embryons, on conçoit que la diffusion d'une transgénèse réussie sur quelques embryons puisse être rapide dans les populations animales. Les grandes difficultés à long terme concernent l'appréciation correcte de la globalité des conséquences (pleïotropie des effets) de l'insertion de nouveaux gènes [39].

Applications en dehors du cas des bovins laitiers

Le cas des bovins à viande est *a priori* plus délicat étant donné que l'importance économique relative des différents caractères à sélectionner est beaucoup plus équilibrée et que le mode de diffusion dominant des génotypes mâles est la simple monte naturelle. Des travaux théoriques ont toutefois montré qu'il serait possible d'augmenter dans de fortes proportions (doubler ou davantage) les rythmes de progrès génétique si la technique des noyaux de sélection avec transfert embryonnaire était utilisée [40-42]. Des études de rentabilité économique des schémas de sélection globaux ont toutefois à être développées. Par ailleurs, le bilan économique de la transplantation embryonnaire décidée en dehors de tout schéma devrait être précisé, de la même manière qu'il l'a été chez les bovins laitiers. Il n'est pas impossible que la situation soit en fait meilleure chez les bovins à viande, si l'on considère la transplantation comme un outil visant à améliorer la qualité génétique des mâles de monte naturelle qui engendrent de nombreux descendants dans la ferme d'utilisation, au contraire d'une vache laitière issue de transplantation embryonnaire.

Les applications aux ovins et caprins, et encore plus aux porcins, ne sont guère envisagées de façon intensive [40] en raison :

- d'un rapport notablement plus faible dans ces espèces entre prolificité induite et prolificité naturelle ;
- d'un coût relatif plus élevé des opérations de transplantation si on le compare aux recettes supplémentaires provenant de la sélection.

Conclusion

Les généticiens et les sélectionneurs doivent d'abord apprécier les potentialités des diverses biotechnologies de la reproduction au travers du supplément de progrès génétique qu'elles engendrent par rapport à un excellent programme de sélection classique. A cet égard, les ordres de grandeur à garder en mémoire sont relativement simples. Les suppléments attendus sont de l'ordre de :

- 20 % pour la transplantation embryonnaire simple ou avec sexage des embryons ;
- 30 % pour la transplantation associée au sexage et au clonage des embryons ;
- 40 % pour la transplantation associée à l'utilisation des marqueurs moléculaires ou pour la transplantation associée à la FIV ;
- 50 % et plus, pour la transplantation associée au triptyque : FIV, clonage, marqueurs moléculaires.

Les résultats effectivement obtenus devront être comparés à ces prédictions. Cela commence à être possible pour le cas de la transplantation simple. Cela pourra sans doute être effectué relativement rapidement en ce qui concerne l'utilisation des marqueurs moléculaires. Dans les autres cas (clonage, FIV associée à des récoltes *in vivo*), les inconnues techniques sont encore lourdes et on ne peut fixer les échéances.

Cependant, les critères de rentabilité économique sont cruciaux pour une implantation définitive de ces biotechnologies en élevage. L'accumulation prévue des techniques renforce évidemment les défis financiers. Les analyses génético-économiques détaillées [43, 44] montrent que l'utilisation intensive de la transplantation simple, dans un cadre collectif, est une opération rentable, sous la réserve que le coût des embryons varie en fonction de leur juste valeur (surcoûts techniques) et non d'une compétition économique

plus ou moins spéculative. Pour que l'éleveur puisse profiter directement, et donc rapidement, de la transplantation, il est nécessaire qu'apparaisse sur le marché un produit nouveau : l'embryon cloné, sexé, connu et sélectionné sur performances (éventuellement connu pour quelques marqueurs), à un prix de revient raisonnable.

Les dangers d'exploitation trop intensive, ou trop unilatérale, de la variabilité génétique sont manifestes. Les chercheurs en génétique quantitative s'efforcent de trouver des méthodes simples visant à optimiser les programmes pour le long terme. La moindre des choses à faire est de juger et d'utiliser les reproducteurs et reproductrices non d'après une liste étroite de caractères (quantité et richesse du lait) mais sur la globalité des caractères intéressants (reproduction, résistance aux maladies et longévité), en donnant à chaque caractère la pondération économique qui convient et dont l'ordre de grandeur est facilement calculable. Il faut en effet réaliser que toutes les techniques précédemment mentionnées ne permettront pas d'obtenir avec une très grande fréquence des génotypes parfaits pour chacun des caractères importants et qu'il faudra toujours recourir à un jugement synthétique, pondérant les différents index élémentaires caractérisant les reproducteurs ■

Références

1. Courot M. Techniques modernes de reproduction. In : Ortavant R, ed. *Proceedings of the 3rd world congress on sheep and beef cattle breeding*. Paris : INRA, 1988 ; 1 : 59-78.
2. Woolliams JA, Wilmot I. Embryo manipulation in cattle breeding and production. *Anim Prod* 1989 ; 48 : 3-30.
3. Thibier M, Nibart M. Bovine embryo sexing by a DNA probe on the field. *Reprod Dom Anim* 1992 ; 27 : 29-33.
4. Nibart M. Practical application of two advanced biotechnologies to bovine embryo transfer : splitting and sexing. In : Lauria A, Gandolfi F, eds. *Embryonic development and manipulation in animal production : trends in research and applications*. London : Portland Press, 1992 : 215-24.
5. Cotinot C. Choix du sexe : possibilités et limites chez les animaux domestiques. *Cahiers Agricultures* 1992 ; 1 : 325-34.
6. Renard JP, Heyman Y. Développement embryonnaire et clonage chez les mammifères. *Ann Zootech* 1992 ; 41 : 381-7.
7. Renard JP, Heyman Y. La multiplication par clonage : un nouvel outil pour la sélection animale. *Cahiers Agricultures* 1992 ; 1 : 309-16.
8. Chupin D. Applications pratiques du transfert d'embryons chez les bovins. *Elevage et Insémination* 1985 ; 206 : 3-15.
9. Minvielle F. *Principes d'amélioration génétique des animaux domestiques*. Paris : INRA ; 1990.
10. Ollivier L. Le modèle à plusieurs locus. *INRA Prod Anim* 1992 ; hors série « Éléments de génétique quantitative et application aux populations animales » : 69-74.
11. Chevalet C, Boichard D. Utilisation des marqueurs pour localiser les gènes responsables de la variabilité des caractères quantitatifs (QTL). *INRA Prod Anim* 1992 ; hors série « Éléments de génétique quantitative et application aux populations animales » : 287-290.
12. Chevalet C, Boichard D. Sélection assistée par marqueurs. *INRA Prod Anim* 1992 ; hors série « Éléments de génétique quantitative et application aux populations animales » : 291-4.
13. Elsen JM. De l'optimisation au progrès génétique réalisé dans les schémas de sélection. *INRA Prod Anim* 1992 ; hors série « Éléments de génétique quantitative et application aux populations animales » : 237-42.
14. Nicholas FW, Smith C. Increased rates of genetic change in dairy cattle by embryo transfer and splitting. *Anim Prod* 1983 ; 36 : 341-53.
15. Colleau JJ. Efficacité génétique du transfert d'embryons dans les noyaux de sélection chez les bovins laitiers. *Génét Sél Evol* 1985 ; 17 : 499-538.
16. Colleau JJ, Mocquot JC. Using embryo transfer in cattle breeding. In : Thibier M, ed. *5^e réunion annuelle de l'Association européenne de transfert embryonnaire*. Lyon : AETE, 1989 : 49-74.
17. Hanset R. Implications pour l'amélioration génétique des bovins, des nouvelles technologies en matière de reproduction. *Ann Méd Vét* 1985 ; 129 : 185-207.
18. Lohuis M. Centreing on breed improvement : understanding « TEAM ». *Holstein Journal* 1989 ; 42-6.
19. Mc Gwirk B. Operational aspects of a MOET nucleus dairy breeding scheme. In : Hill Wg, ed. *Proceedings of the 4th world congress on genetics applied to Livestock production*. Edinburgh, Scotland : Organising Committee, 1990 ; XIV : 259-62.
20. Colleau JJ, Mocquot JC. Present attempts to exploit MOET in cattle breeding schemes in France. *New selection schemes in cattle : nucleus programmes*. Wageningen : Pudoc, 1989 : 104-6.
21. Glodek P. Present attempts to exploit MOET in cattle breeding in Holland and West Germany. *New selection schemes in cattle : nucleus programmes*. Wageningen : Pudoc, 1989 : 86-92.
22. Kandzi A. Die Bedeutung der Einsatzleistung in der Laktation für die Effizienz der Bullenmütterselection im Rahmen einer Rinderzuchtprogramme. Dissertation Göttingen, 1989 : 1-166.
23. Liboriussen T, Christensen LG. Experiences from implementation of a MOET breeding scheme for dairy cattle. In : Hill Wg, ed. *Proceedings of the 4th world congress on genetics applied to Livestock production*. Edinburgh, Scotland : Organising Committee, 1990 ; XIV : 66-72.
24. Colleau JJ. Using embryo sexing within closed mixed multiple ovulation and embryo transfer schemes for selection on dairy cattle. *J Dairy Sci* 1991 ; 74 : 3973-84.
25. Woolliams JA. The value of cloning in MOET nucleus breeding schemes for dairy cattle. *Anim Prod* 1989 ; 48 : 31-5.
26. Teeper G, Smith C. Combining clonal response and genetic response in dairy cattle improvement. *Anim Prod* 1989 ; 49 : 163-9.
27. Colleau JJ. Combining use of embryo sexing and cloning within closed mixed MOETs for selection on dairy cattle. *Genet Sel Evol* 1992 ; 24 : 345-61.
28. Boichard D. Estimation of the economic value of conception rate in dairy cattle. *Livest Prod Sci* 1990 ; 24 : 187-204.
29. Weller JI, Kashi Y, Soller M. Power of daughter and grand-daughter designs for determining linkage between marker loci and quantitative trait loci in dairy cattle. *J Dairy Sci* 1990 ; 73 : 2525-37.
30. Kashi Y, Hallerman E, Soller M. Marker-assisted selection of candidate bulls for progeny testing programmes. *Anim Prod* 1990 ; 51 : 63-74.
31. Verrier E, Colleau JJ, Foulley JL. Methods for predicting response in small populations under additive genetic models : a review. *Livest Prod Sci* 1991 ; 29 : 93-114.
32. Toro MA, Perez-Enciso M. Optimizing selection under restricted inbreeding. *Genet Sel Evol* 1990 ; 22 : 93-107.
33. Quinton M, Smith C, Goddard ME. Comparison of selection methods at the same level of inbreeding. *J Anim Sci* 1992 ; 70 : 1060-7.
34. Verrier E, Colleau JJ, Foulley JL. Long term effects of selection based on the animal model BLUP and related criteria in a finite population. *Theoretical and Applied Genetics* 1993 (accepted).
35. Chupin D. Nouvelles technologies de la reproduction : implications pour l'obtention et la dissémination du progrès génétique. *FAO Animal Genetic resources information bulletin* 1993 (à paraître).
36. Wilmot I, Haley CS, Woolliams JA. Impact of biotechnology on animal breeding. *Animal Reproduction Science* 1992 ; 28 : 149-62.
37. Crozet N. La maturation des ovocytes et la fécondation *in vitro* chez les animaux de ferme. *Cahiers Agricultures* 1992 ; 1 : 301-7.
38. Kinghorn BP, Smith C, Dekkers JCM. Potential genetic gains in dairy cattle with gamete harvesting and *in vitro* fertilisation. *J Dairy Sci* 1991 ; 74 : 611-22.
39. Smith C, Meuwissen THE, Gibson GP. On the use of transgenes in livestock production. *Anim Breed Abstr* 1987 ; 55 : 1-10.
40. Colleau JJ, Elsen JM. Potentialities of embryo transfer for improvement of beef cattle and sheep productivity. In : Ortavant R, ed. *Proceedings of the 3rd world congress on sheep and beef cattle breeding*. Paris : INRA, 1988 ; 1 : 141-57.
41. Smith C. Cloning and genetic improvement of beef cattle. *Anim Prod* 1989 ; 49 : 49-62.
42. Gearheart NW, Keller DS, Smith C. The use of elite nucleus units in beef cattle breeding. *J Anim Sci* 1990 ; 68 : 1229-36.
43. Colleau JJ. Contribution du transfert d'embryons à la création du progrès génétique dans la sélection des bovins laitiers. *Bulletin des groupements techniques vétérinaires* 1987 ; 2 : 31-9.
44. Dekkers JCM, Shook GE. Genetic and economic evaluation of nucleus breeding schemes for commercial artificial insemination firms. *J Dairy Sci* 1990 ; 73 : 1920-37.

Résumé

Cet article fait le point sur les potentialités de trois biotechnologies de l'embryon bovin (transfert embryonnaire classique, sexage et clonage), dans une sélection simple monocaractéristique (production laitière par exemple). Il apparaît que les accroissements attendus des rythmes du progrès génétique sont de l'ordre de 20 à 30 %. Les raisons en sont données en détail, en adoptant le point de vue de la génétique des populations. La discussion est étendue à des situations moins simples (sélection sur plusieurs caractères, dont certains peu héréditaires, préservation de la variabilité génétique, application au cas des bovins allaitants), ou à d'autres techniques telles que la fécondation *in vitro* et la détection de gènes individuels. Les perspectives apparaissent intéressantes en sélection. Cependant, il faudra veiller à mettre en œuvre des programmes vraiment rentables au niveau de l'agriculture de base. De ce point de vue, il paraît approprié de réserver l'utilisation de toutes ces techniques à la procréation de meilleurs taureaux d'insémination. L'obtention, à bon marché, dans le futur, de clones femelles testés, pourrait justifier l'utilisation directe des biotechnologies à la ferme.