

LE MAINTIEN DE LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE DE L'ABEILLE DOMESTIQUE DES MÉTHODES DE CONSERVATION DU SPERME

Marilène Paillard, Andrée Rousseau, Pierre Giovenazzo et Janice Bailey

Projet : IA215459

Durée : 05/2015 – 05/2017

FAITS SAILLANTS

La cryoconservation est un outil important pour sauvegarder la diversité génétique des abeilles domestiques qui subissent des taux de mortalité élevés ainsi qu'une forte pression de la sélection des centres d'élevage.

Nous avons comparé deux températures de conservation : $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ (congélation) et $16\text{ }^{\circ}\text{C}$. Après 1 an de conservation, la semence cryoconservée avait une meilleure viabilité comparée à $16\text{ }^{\circ}\text{C}$. Nous avons également vérifié si la centrifugation de la semence éliminerait le cryoconservant (diméthyl sulfate) sans avoir d'impact sur la viabilité du sperme. Nos résultats démontrent que la centrifugation n'affecte pas la viabilité des spermatozoïdes.

Les tests d'insémination de reines avec la semence cryoconservée ont provoqué la mort des reines après (48 h). Nous n'avons pas été en mesure d'identifier les causes de cette mortalité. D'autres essais doivent être réalisés.

OBJECTIF ET MÉTHODOLOGIE

- Optimiser la méthode de cryoconservation en éliminant le cryoprotectant diméthyl sulfoxyde (DMSO) par centrifugation après le temps de conservation.
- Évaluer l'efficacité de deux températures de conservation ($16\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) durant 10 mois de conservation (septembre à juin).

Près de 5 000 faux-bourçons (mâles) ont été capturés en août dans les colonies du Centre de recherche en sciences animales de Deschambault. Au laboratoire, les mâles ont été placés dans une cage éclairée, pour qu'ils puissent voler librement et éliminer leurs fèces. La collecte du sperme se fait avec une seringue d'insémination Harbo attachée à un capillaire en verre de $50\text{ }\mu\text{l}$. La seringue est remplie de solution saline stérile (10 g de NaCl dans 1 000 ml d'eau distillée avec 0,25 % de dihydrostreptomycine) pour lubrifier les parois et ainsi faciliter le prélèvement du sperme. La figure ci-dessous décrit le capillaire de conservation du sperme.



La composition d'un capillaire pour la conservation du sperme de faux-bourçon. 1 : le sperme dilué; 2 : bulle d'air; 3 : solution aux extrémités (saline); 4 : Critoseal®.

Les traitements à l'étude sont schématisés dans le tableau suivant :

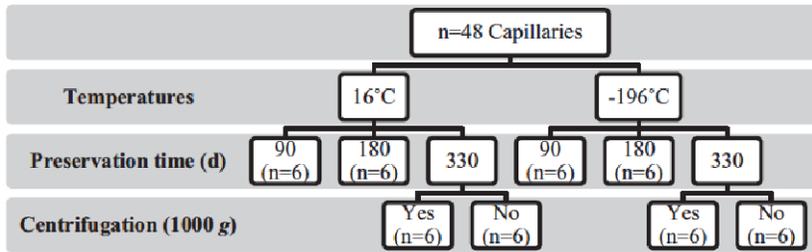


Fig. 1. Diagrammatic representation of semen distribution between treatments. Six semen pools ($n=6$) were separated into eight different treatments (48 capillaries) stored at 16°C and -196°C . Two capillaries of $100\ \mu\text{l}$ of diluted semen (reserved for I.I. after 330 d) and two capillaries of $20\text{-}\mu\text{l}$ diluted semen (reserved for sperm viability at 90 and 180 d) were produced with each temperature group.

La coloration des spermatozoïdes vivants et morts se fait respectivement avec le SYBR-14 et l'iode de propidium. Le compte des spermatozoïdes se fait au microscope à fluorescence.

RETOMBÉES SIGNIFICATIVES POUR L'INDUSTRIE

L'hypothèse n° 1 était que la cryoconservation de la semence d'abeille est plus efficace à long terme que la conservation à des températures au-dessus de 0°C . Nous avons évalué l'efficacité, basée sur la viabilité des spermatozoïdes, de deux températures de conservation : -196°C et 16°C . Après un an de conservation, la semence cryocongelée avait une meilleure viabilité comparée à 16°C ($76\% \pm 5\%$ vs 0% ; $p < 0,05$).

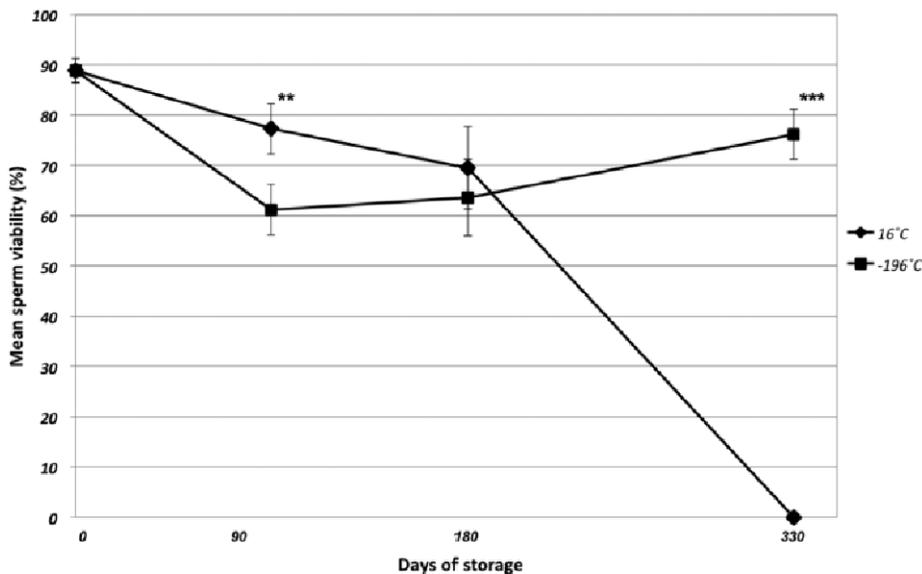


Fig. 2. Progression of mean sperm viability (\pm SEM) during 11 mo, for two temperatures (16°C vs. -196°C) at different evaluation days ($F_{(8,28)} = 484.27$; $P < 0.0001$). There was a significant difference between the two temperatures at 90 d (** $P < 0.001$) and 330 d (***) $P < 0.0001$) but not at 180 d ($P > 0.05$).

L'hypothèse n° 2 était que la centrifugation de la semence post-cryoconservation élimine le DMSO et, ainsi, augmente la fertilité de la reine après l'insémination. Nos résultats démontrent que la centrifugation n'affecte pas la viabilité des spermatozoïdes ($78\% \pm 3\%$ vs $75\% \pm 4\%$; $p > 0,05$). Par la suite, la spermathèque des reines inséminées avec la semence cryoconservée a été évaluée par la migration des spermatozoïdes ainsi que la viabilité des spermatozoïdes. Il y avait beaucoup de variabilités dans nos résultats. Nous n'avons pas été en mesure de vérifier si l'ajout de la centrifugation après la conservation améliore la fertilité des reines après insémination.

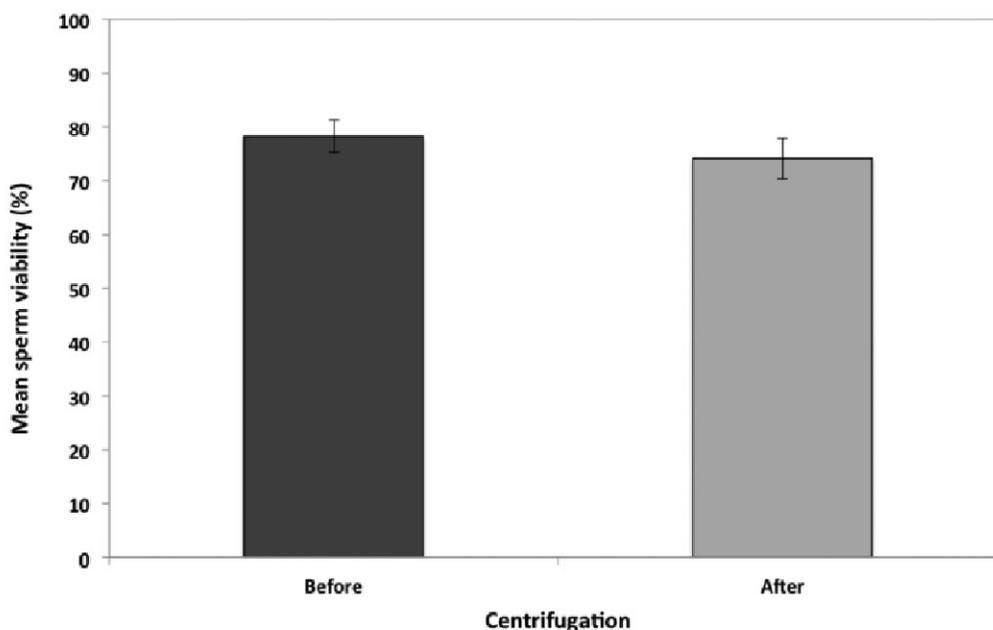


Fig. 3. Mean sperm viability (\pm SEM) before and after centrifugation of frozen-thawed semen preserved for 330 d ($F_{(1,11)} = 4.49$; $P = 0.0652$).

APPLICATIONS POSSIBLES POUR L'INDUSTRIE ET SUIVI À DONNER

À notre connaissance, il n'y a pas de banque de sperme de l'abeille mellifère consacrée à la conservation de sa diversité génétique. Notre recherche sur la cryogénie du sperme d'abeille indique que cette technique couramment utilisée chez d'autres animaux peut être utilisée dans l'industrie apicole. Les applications suivantes sont donc envisageables à court et moyen terme :

1. Création d'une banque de sperme de l'abeille domestique au Centre de recherche en sciences animales de Deschambault. L'objectif serait de conserver la biodiversité génétique des abeilles domestiques.
2. Cryconservation du sperme pendant l'hiver et insémination le printemps suivant des jeunes reines. Ceci permettrait de produire des reines fécondes plus tôt, car il ne faut pas attendre l'arrivée des jeunes faux-bourdons (début mai au lieu de début juin). De plus, cela permettrait d'assurer la conservation des gènes des lignées performantes annuellement.
3. La capacité de conserver le sperme pendant 180 jours à 16 °C est fort intéressante. Ceci permet au programme de sélection du CRSAD d'accroître son potentiel génétique en important du sperme d'autres programmes de sélection dans le monde. Le transport du sperme est simple et ne nécessite aucun appareillage complexe.

Les suites de cette recherche sont nombreuses. Voici seulement quelques propositions de recherches :

1. Tests d'insémination des reines avec du sperme cryoconservé et mesures de la viabilité du sperme dans la spermathèque à différents temps post-insémination et suivi de la dynamique du développement des colonies.
2. Tests avec diluants qui favoriseraient la conservation du sperme au-dessus de 0 °C.

POINT DE CONTACT

Nom du responsable du projet : Pierre Giovenazzo

Téléphone : 418 656-2131, poste 8081

Télécopieur : 418 656-2043

Courriel : pierre. giovenazzo@bio.ulaval.ca

REMERCIEMENTS AUX PARTENAIRES FINANCIERS

Ces travaux ont été réalisés grâce à une aide financière du Programme Innov'Action agroalimentaire, un programme issu de l'accord du cadre Cultivons l'avenir 2 conclu entre le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, et Agriculture et Agroalimentaire Canada.