



Biological Resource Centers  
for Domestic Animals

### 4th International Seminar of CRB-Anim Infrastructure

CRB-Anim : past, present and futur

May 30-31, 2022

## PERSPECTIVES POUR LA CRYOCONSERVATION CHEZ LES INSECTES

Florence Guignot <sup>1</sup>, Pierrick Aupinel <sup>2</sup> and Elisabeth Blesbois <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Inrae, UMR85-PRC, F-37380 Nouzilly, France; <sup>2</sup>Inrae, UE1255-APIS, F-17700 Surgères, France

La cryoconservation chez les Insectes est un objectif très important à atteindre. Au début de CRB-Anim, nous avons pensé nécessaire d'aborder ce sujet, car presque rien n'existait. Notre stratégie pour préserver la diversité génétique des Insectes est aussi de compléter le maintien des populations existantes par la conservation *ex situ*.

Nous avons proposé d'étudier d'abord l'abeille domestique pour deux raisons. Premièrement, les abeilles domestiques ont une grande importance économique et écologique, tant pour leur rôle dans la pollinisation que pour leur utilisation dans la production de miel et de produits dérivés (propolis, pollen). Elles sont en effet des pollinisateurs majeurs des plantes sauvages et cultivées. Ils sont donc reconnus par la FAO comme une espèce d'intérêt agricole. Deuxièmement, elles sont exposées aux effets néfastes des produits déversés sur les cultures (pesticides), aux changements climatiques, au contrôle insuffisant de certaines maladies (loque américaine, varroase,...) et prédateurs (frelon asiatique,...), et enfin, aux activités anthropiques intensives, liées à l'agriculture (extension des monocultures, qui entraîne une diminution des ressources nutritionnelles pour les abeilles). Par conséquent, le nombre de ruchers diminue dans le monde entier : les abeilles domestiques sont en danger.

Des verrous technologiques inhérents à la structure de l'embryon d'abeille ont été identifiés pour sa cryoconservation. Le chorion et la membrane vitelline bloquent l'entrée des cryoprotecteurs perméables dans l'embryon. Ils sont nécessaires à la cryoconservation car ils remplacent l'eau intracellulaire et empêchent la formation de glace. Le deuxième verrou est constitué par les importantes réserves de vitellus à l'intérieur des embryons. Elles sont leurs seules réserves nutritives jusqu'à leur éclosion en larve. Nous avons proposé et testé dans CRB-Anim des solutions pour éliminer ces difficultés techniques, et nous avons d'autres idées pour le futur.

Nos progrès peuvent maintenant bénéficier à d'autres insectes, par exemple d'autres Hyménoptères, comme les Trichogrammes (parasitoïdes d'œufs). Ils sont largement utilisés dans la lutte biologique. Les femelles pondent leurs œufs dans ceux du ravageur et s'en nourrissent. La biobanque est importante pour cette espèce, elle pourrait préserver les souches/lignes/génotypes pertinents, limiter les changements génétiques ou épigénétiques survenant au cours des générations successives dans des conditions d'élevage artificielles et économiser l'argent et le temps associés au fonctionnement quotidien. Certaines similitudes entre les deux modèles (proximité phylogénétique relative, développements embryonnaires et larvaires précoces, haplo-diploïdie) pourraient aider à passer rapidement à la cryoconservation, mais aussi des différences (vie parasitoïde) et des avantages (pas d'organisation sociale). La même perspective peut concerner d'autres Insectes, non Hyménoptères, utilisés pour la lutte biologique (Coccinellidae, Odonate ....), ou pour l'alimentation, comme *Tenebrio molitor* ou *Hermetia illucens*, car les mêmes questions se posent.

En conclusion, se limiter à la préservation *in vivo* des populations d'insectes conduit à une possible dérive génétique dans le temps. Il est nécessaire de combiner cela avec la conservation *in vitro*, qui assure une sécurité incontournable contre toute évolution/dérive. Deux types de perspectives pour les Biobanques sont envisagées pour l'avenir, la recherche de connaissances et les applications. Les Biobanques sont en demande de méthodologies, mais elles peuvent également apporter un soutien aux structures professionnelles pour la préservation des ressources de ces nouvelles espèces en production.





Biological Resource Centers  
for Domestic Animals

### 4th International Seminar of CRB-Anim Infrastructure

CRB-Anim : past, present and futur

May 30-31, 2022

## PROSPECTS OF BIOBANKING FOR INSECTS

Florence Guignot <sup>1</sup>, Pierrick Aupinel <sup>2</sup> and Elisabeth Blesbois <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Inrae, UMR85-PRC, F-37380 Nouzilly, France; <sup>2</sup>Inrae, UE1255-APIS, F-17700 Surgères, France

Biobanking in Insects is a very important goal to achieve. At the beginning of CRB-Anim, we thought necessary to work on this issue, because almost nothing existed. Our strategy to preserve the genetic diversity of Insects is also to complement the maintenance of existing populations by *ex situ* conservation in gene banks.

We have proposed to study first the honey bee. Two reasons have guided our decision. First: honey bees are of great economic significance and ecological importance, both for their role in pollination and for their use in the production of honey and derived products (propolis, pollen). They are indeed major pollinators of wild and cultivated plants. Therefore, they are recognized by the FAO as a species of agricultural interest. Second: they are exposed to the adverse effects of products spilled on crops (pesticides), climate changes, the insufficient control of some diseases (the American foulbrood, varroasis,...) and predators (Asian hornet,...), and finally, the intensive anthropic activities, linked to agriculture (extension of monocultures, which leads to a decrease of nutritional resources for honey bees). Therefore, the number of apiaries decreases all over the world: honey bees *are endangered*.

Technological locks inherent to the structure of the embryo have been identified in Honey bee embryo cryopreservation. It is the chorion and the vitelline membrane, which block the entry of permeant cryoprotectants into the embryo. They are necessary in cryopreservation: they take the place of the intracellular water and prevent ice formation. The second lock is the important reserves of vitellus inside the embryos. They are their only nutritive reserves until their hatching in larva. We have proposed and tested in CRB-Anim project some solutions to remove these technical difficulties, and we have other ideas for future.

Our progress can now benefit to other Insects, for example, other Hymenoptera, as the Trichogramma (egg parasitoids). They are widely used in Biological control. The females lay their eggs in those of the pest and feed on them. Biobanking is important for this species, it could preserve relevant strains/lines/genotypes, limite genetic or epigenetic changes occurring during successive generations in artificial rearing conditions and save money and time associated to the daily functioning. Some similarities between both models (relative phylogenetic proximity, embryonic and early larval developments, haplo-diploidy) could help to quickly go one in cryopreservation, but also differences (parasitoid life) and advantages (no social organisation).

The same prospect could apply to other Insects, not Hymenoptera, used for biological control (Coccinellidae, Odonate ....), or for feeding, such *Tenebrion molitor* or *Hermetia illucens*, because same questions arise for them.

To conclude, limiting oneself to *in vivo* preservation of Insect populations leads to possible genetic drift over time. It is necessary to combine this with *in vitro* preservation, which ensures an unavoidable security against any evolution / drift. Two types of perspectives for Biobanks are envisaged for the future, knowledge research and applications. The Biobanks are in demand for methodologies, but they can also provide support to professional structures for the preservation of the resources of these new species in production.

