

Mise au point d'outils de gestion des gamètes mâles d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* diploïdes et tétraploïdes à des fins de conservation et de diffusion.

Ifremer

Brizard R.¹, Boudry P.¹, Haffray P.³, Labbé C.⁴, Suquet M.², Robert R.², Maise G.⁴, Pépin J.F.¹, Saulnier D.¹

¹ Ifremer : Laboratoire de Génétique et de Pathologie des mollusques, 17390 La Tremblade. Contact : raphael.brizard@ifremer.fr

² Ifremer : Laboratoire Adaptation, Reproduction et Nutrition et Laboratoire de physiologie des invertébrés, BP 70 29280 Plouzané.

³ SYSAAF (Syndicat des sélectionneurs avicoles et aquacoles français). Station SCRIBE, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes Cedex.

⁴ INRA : Equipe INRA Ichthyodiversité et Cryoconservation, Station SCRIBE, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes Cedex.

Introduction

En soutien à la filière ostréicole, les programmes de recherche proposent des méthodes d'amélioration génétique des rendements en élevage et de la qualité des produits (sélection, polyploïdisation). A l'instar des filières agricoles et piscicoles, l'ostréiculture pourrait voir la diffusion des progrès génétique grandement facilités par l'utilisation de techniques de conservation fiables comme la cryopréservation. Cette technique qui permettrait de conserver les gamètes des individus sélectionnés n'est toujours pas disponible sous forme de protocole fiable et répétable bien que la possibilité de congeler la laitance d'huître soit décrite par divers travaux scientifiques. L'Ifremer, l'INRA et le SYSAAF se sont associés au sein du projet CRYOYSTER soutenu financièrement par l'OFIMER pour valider un protocole standard de conservation à court terme à 4°C et de cryopréservation du sperme d'huître creuse.

Matériels et méthodes

Les premiers travaux ont été consacrés à l'optimisation des différents stades de préparation des extraits de spermes d'huîtres creuses de la collecte du sperme à sa congélation. Trois milieux standards ont été élaborés :

- Le MOTI-GIGAS : milieu d'activation des spermatozoïdes (spz) pour la lecture de motilité

- Le STOR-GIGAS : milieu de conservation limitant l'activation des spermatozoïdes à 4°C

- Le CRYO-GIGAS : dilueur de cryoprotection

L'ensemble des étapes validées et nécessaires à la mise en œuvre de la cryopréservation a été consigné sous forme de procédures.

Les méthodes de congélation-décongélation ont été testées en éclosion expérimentale. Des fécondations de 3 millions d'ovocytes ont été effectuées avec des ratios de 10 à 5000 spermatozoïdes/ovocytes.



Conditionnement contrôlé des géniteurs



Collecte du sperme testiculaire



Extraits de sperme de *C. gigas*



Congélation en paillettes à -196°C

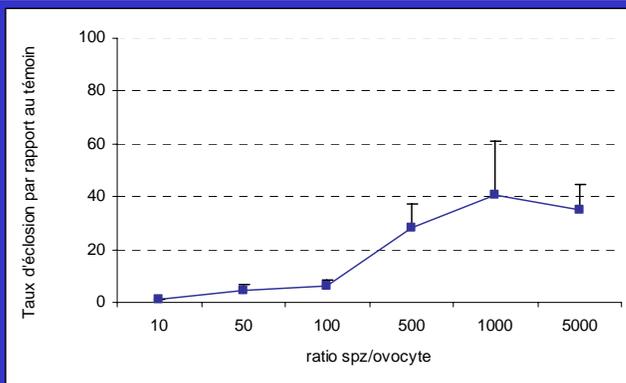


Bac d'éclosion de 30L

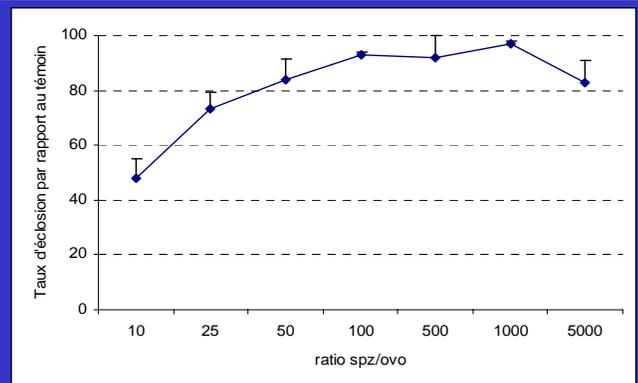


Larves D obtenues à partir de sperme décongelé

Résultats et discussions



Courbe de fécondance moyenne obtenue à partir de sperme décongelé



Courbe de fécondance moyenne obtenue à partir de sperme conservé 12 jours à 4°C

LA CONGELATION :

- permet d'obtenir des taux d'éclosion de 30 à 40% par rapport à des gamètes frais pour des ratios de 500 à 1000 spz/ovo
- est transférable aux gamètes d'individus 4n
- présente des résultats variables liés aux individus ou populations cryopréservés
- est plus performante à partir de géniteurs en période naturelle de ponte
- est utilisable en sélection pour la conservation des étapes d'amélioration génétique ou pour faire de la multiplication structurée
- n'est pas assez performante pour être utilisée à l'échelle commerciale

LA CONSERVATION A 4°C SUR 10-12 JOURS :

- permet d'obtenir des taux d'éclosion de 80% par rapport à des gamètes frais à ratio spz/ovo équivalent
- est transférable aux gamètes d'individus 4n
- présente des résultats variables fonction des individus ou populations cryopréservés
- peut être utilisée pour produire plusieurs millions de larves
- offre un délai avant fécondation pour réaliser des analyses de qualité de gamètes ainsi que des contrôles zoo-sanitaires
- fait l'objet d'une nouvelle étude (TRIPLOFIMER) pour adapter une procédure à l'échelle commerciale