



Appel à projets 'soutien à l'innovation' 2002
Programme terminé en juin 2004

**Optimisation, standardisation et validation de la congélation de laitance d'huître creuse
Crassostrea gigas à des fins de conservation et de diffusion génétique : CRYOYSTER**

Chef de file : IFREMER
Laboratoire de Génétique et de Pathologie des mollusques, Station de La Tremblade
Laboratoire de Physiologie des Invertébrés, Station expérimentale d'Argenton
Tél.: 05.46.76.26.34 - Fax : 05.46.76.26.11 - Courriel : raphael.brizard@ifremer.fr
Contact : Raphaël Brizard

Partenaires : INRA, Equipe Ichthyodiversité et Cryoconservation, Station SCRIBE, Rennes
Syndicat des Sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français (SYSAAF)

■ Objectifs du programme

En appui à la filière ostréicole, les programmes de recherche actuels ouvrent la voie de la sélection des huîtres pour améliorer les rendements et la qualité du produit.

La cryopréservation qui est utilisée fréquemment dans les programmes de sélection des animaux terrestres et des espèces piscicoles n'était pas encore disponible pour les mollusques bivalves. Or cette technique présente des atouts qui peuvent satisfaire les différents acteurs de la filière ostréicole car elle permet de conserver les gamètes des individus sélectionnés pour leur potentiel de croissance élevé, leur résistance aux maladies et/ou leur qualité à un coût et risque moindres que ceux du maintien des géniteurs en élevage.

Fin 2001, les divers travaux réalisés mettaient en évidence la possibilité de congeler la laitance des espèces d'huîtres. Cependant le protocole complet n'avait pas été validé pour garantir la fiabilité et la répétabilité des résultats.

L'objectif de ce projet était de définir des procédures de congélation de la laitance de l'huître creuse afin de répondre aux besoins de conservation et de sécurisation des programmes de sélection et d'expérimentation conduits par l'IFREMER, les sélectionneurs et la Cryobanque Nationale.

■ Résultats

Ce programme a conduit au développement de trois dilueurs : MOTI- GIGAS, STOR-GIGAS et CRYO-GIGAS.

Une méthode standard de cryoconservation et de conservation à moyen terme a été complètement décrite et validée. L'ensemble des étapes nécessaires à la mise en œuvre de la cryoconservation est consigné sous la forme de procédures, au sein du « guide de procédure de congélation en paillettes de la semence d'huître creuse ». Ces protocoles précis permettront aux utilisateurs d'acquiescer cette technique avec une grande fiabilité et de la rendre directement opérationnelle.

Les procédures définies au cours du programme sont les suivantes :

- Procédure n°20 : Sexage des huîtres creuses par biopsie
- Procédure n°21 : Conditionnement des géniteurs, huîtres creuses
- Procédure n°22 : Collecte du sperme testiculaire d'huître creuse
- Procédure n°23 : Conservation du sperme testiculaire d'huître creuse
- Procédure n°24 : Matériel spécifique de cryopréservation en paillettes et précautions d'emploi
- Procédure n°25 : Congélation et décongélation du sperme testiculaire d'huître creuse
- Procédure n°26 : Analyse de la motilité du sperme d'huître creuse
- Procédure n°27 : Collecte des ovocytes d'huître creuse
- Procédure n°28 : Estimation de la concentration des gamètes mâles et femelles d'huître creuse
- Procédure n°29 : Fécondation artificielle avec du sperme décongelé d'huître creuse

D'ores et déjà, on peut envisager l'utilisation de cette méthode dans le cadre de travaux de sélection pour conserver le patrimoine génétique d'animaux d'intérêt et structurer une multiplication spécialisée à partir d'animaux élités.

Les résultats encourageants des tests préliminaires sur le transfert de la technique au sperme d'individus tétraploïdes montrent aussi une utilisation potentielle de la technique pour le maintien de lignées ou la gestion actuelle des ressources génétiques de familles tétraploïdes. Dans un premier temps, le transfert de cette application à l'échelle commerciale permettrait de fiabiliser et de pérenniser la filière de production du naissain triploïde qui a connu un développement important ces dernières années en France.

L'utilisation de la cryopréservation met en évidence une insuffisance en terme de préparation des géniteurs. La méthode de conservation en frais et les résultats de fécondation après une conservation sur plus de dix jours ouvrent des perspectives complémentaires au moins aussi intéressantes que celles apportées par la cryoconservation.

■ Perspectives

Cette méthode de cryopréservation représente un enjeu très important dans le développement de la filière ostréicole française pour la gestion et la diffusion du progrès génétique (sélection et polyploïdes). Le transfert de la méthode standard de cryopréservation et de conservation doit être entrepris à l'échelle d'écloseries commerciales.

Les expérimentations réalisées ont montré les possibilités de la méthode standard de cryopréservation et ont mis en évidence ses limites liées à la variabilité entre mâles et au cours de la saison de reproduction. L'hypothèse d'un défaut de qualité qui serait lié à un conditionnement imparfait des géniteurs est soulevée. En l'état actuel du savoir-faire développé pour la cryopréservation, il apparaît difficile d'utiliser des animaux provenant de conditionnement artificiel décalé. La période de maturation naturelle doit être mise à profit pour collecter les semences de qualité optimum pour la congélation. Il est important de poursuivre les efforts sur cette phase de conditionnement qui doit permettre d'améliorer la qualité et l'aptitude à la congélation des gamètes destinés à être cryopréservés.