



Appel à projets « soutien à l'innovation » 2005
Programme terminé en août 2007

FIABILITE ET QUALITE DE LA PRODUCTION DE NAISSAIN TRIPLOÏDE D'HUÎTRE CREUSE <i>Crassostrea gigas</i> : TRIPLOFIMER

Chef de file : SYSAAF
Station SCRIBE, campus de Beaulieu, 35042 Rennes
Tél. : +33 (0) 2.23.48.53.78 Fax : +33 (0) 2.23.48.56.60
Contact : Pierrick Haffray
Courriel : haffray@rennes.inra.fr

Partenaires : IFREMER, Stations de La Tremblade (LGP) et Argenton (LPI)
Contact : marc.suquet@ifremer.fr

INRA, Station SCRIBE, Rennes.

- Objectifs du programme

Depuis 1998, les écloséries de mollusques ont connu un essor nouveau en fournissant une part croissante des naissains mis en élevage dans les bassins ostréicoles français. Ce développement est en partie dû à la mise sur le marché de naissains triploïdes. Les résultats obtenus dans le cadre du projet Cryoyster, précédemment financé par OFIMER, ont permis de valider une méthode de conservation de spermatozoïdes d'huîtres diploïdes. Transposable aux individus tétraploïdes, cette technique doit permettre d'envisager un procédé optimisé de production de naissains triploïdes à destination des écloséries commerciales.

L'objectif du projet Triplofimer est de développer une technique de conservation du sperme d'huîtres tétraploïdes permettant sa caractérisation avant transfert et utilisation en éclosérie commerciale. Les différentes étapes sont les suivantes :

- 1) Analyse des caractéristiques des spermatozoïdes de tétraploïdes après collecte.
- 2) Mise au point des techniques de gestion du sperme d'huîtres.
- 3) Diagnostic zoo-sanitaire des produits génitaux collectés.
- 4) Transfert des techniques aux écloséries commerciales.

- Résultats

Les résultats acquis sur les différentes étapes, sont les suivants :

- 1) Des méthodes simples et objectives ont été définies, permettant la détermination de la concentration en spermatozoïdes par spectrophotométrie, la mesure des nucléotides intracellulaires et l'estimation de la qualité de certains compartiments cellulaires (membrane plasmique et mitochondries) de spermatozoïdes d'huîtres creuses tétraploïdes. Des protocoles expérimentaux de fécondation et d'incubation de gamètes et d'embryons d'huître creuse ont été établis.

La capacité de fécondation de spermatozoïdes d'huîtres tétraploïdes, définie en terme de rapport optimal spermatozoïde/œuf, est 10 fois inférieure à celle relevée chez les animaux diploïdes. Les taux de fécondation obtenus sont cependant similaires à ceux relevés chez les animaux diploïdes. La phase de nage des spermatozoïdes d'huîtres tétraploïdes a été décrite : comparée aux travaux réalisés sur les spermatozoïdes de poissons, cette phase est de longue durée : 50% des spermatozoïdes sont toujours mobiles 9 à 24h après activation, selon les individus. La concentration en ATP des spermatozoïdes d'huîtres tétraploïdes est supérieure à celle relevée chez les animaux diploïdes et reste relativement constante au cours de la phase de nage, à l'exception de la 1^{ère} heure de mouvement durant laquelle une chute est observée.

2) Une très bonne conservation à 4°C d'échantillons de sperme prélevés chez des huîtres tétraploïdes est observée : les taux de fécondation relevés après 7 jours sont équivalents ou supérieurs à ceux relevés en début d'expérimentation. Pour un volume de sperme donné, le type de contenant (bouteille de culture 50 ml, Falcon 50ml, tube à hémolyse 5ml) affecte peu la conservation, même si la bouteille doit être privilégiée pour des conservations de longue durée.

3) La flore bactérienne associée aux prélèvements de sperme est originale d'un point de vue taxonomique. Le mélange fluméquine et gentamicine, à la dose de 25ppm, inhibe totalement le développement de la flore bactérienne présente dans le sperme durant les 14 jours de conservation des prélèvements. De plus, il n'a pas été observé au cours de cette étude un éventuel effet toxique du mélange d'antibiotiques vis à vis du pouvoir fécondant des spermatozoïdes et/ou du développement larvaire. Des outils moléculaires permettant la détection des principales espèces de bactéries réputées pathogènes dans les élevages ostréicoles français d'huîtres creuses ont été développés qui devraient permettre de garantir l'absence de contamination des prélèvements de sperme.

Le diagnostic par PCR quantitative de l'herpes virus (OsHV-1) dans le sperme d'huîtres diploïdes ou tétraploïdes est réalisable et les protocoles développés dans ce projet ont été optimisés. Sur une collection de 381 échantillons de manteau, branchies, gonades, spermatozoïdes, ovocytes ou larves, la fréquence de détection d'OsHV-1 observée est très faible et la présence de virus a été confirmée dans seulement 1,3% des échantillons. Cette fréquence de détection n'est que de 0,5% pour l'ensemble des prélèvements de gonades et gamètes. Aucune corrélation significative entre un géniteur qualifié positif et la détection d'OsHV-1 dans ses gamètes ou sa descendance n'a pu être mise en évidence.

4) La méthode de conservation des échantillons de sperme d'huîtres tétraploïdes a été testée avec succès à une échelle de production et suivant les protocoles d'une écloserie privée. Les taux de développement embryonnaire obtenus avec le sperme préparé à l'avance et livré en bouteilles à une température de 4°C sont supérieurs à ceux obtenus avec le sperme des géniteurs tétraploïdes livrés le jour même dans l'écloserie.

- Perspectives

L'utilisation des techniques acquises lors du contrat Triplofimer sur la gestion des semences d'huîtres tétraploïdes doit favoriser la diffusion d'échantillons de sperme et soutenir le développement de la filière de production d'huîtres triploïdes.