

**CRECHE – CRyoprEservation des embryons de Culture d'Huître creuses,
Crassostrea gigas : Faisabilité technique, qualité du produit
et perspectives d'application en sélection et production**

Haffray Pierrick (1), Suquet Marc (2), Quittet Benjamin (1), Mingant Christian (2), Donval Anne (3),
Lemerrier Alain (3), Diss Blandine (4), Labbé Catherine (5)

(1) SYSAAF, Station SCRIBE, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes ; (2) IFREMER, Station expérimentale d'Argenton, 29840 Argenton/Landunvez ; (3) IUEM/LEIMAR, Place Nicolas Copernic, 29280 Plouzané ; (4) SATMAR, Gatteville Phare, 50760 Barfleur ; (5) INRA, UR 1037 SCRIBE, 35000 Rennes

CONTEXTE ET OBJECTIFS

L'objectif de ce projet était de développer une technique de cryoconservation des larves d'huître creuse, applicable en conditions d'écloserie commerciale. L'enjeu est de pouvoir conserver de grandes quantités de larves qui pourront être directement utilisées à la décongélation pour la production de naissains. Ainsi, le projet a pour vocation de répondre aux besoins des cryoconservatoires, par la cryoconservation de larves gardant un potentiel de régénération de souches dans un cadre de gestion des ressources génétiques, et à ceux des éclosiers, par la mise à disposition d'un outil d'étalement de la production de naissains et de gestion optimisée des géniteurs en sélection.

STRATEGIE

Le projet est découpé selon les 4 axes stratégiques suivants :

- Sélection, par expérimentation, des protocoles de cryoconservation des larves d'huîtres creuses les plus performants en termes de répétabilité et de robustesse
- Adaptation de ces protocoles aux besoins de la filière de production (nombre de larves par unité de congélation, méthodes de manipulation et de congélation)
- Description de l'effet de la cryoconservation sur les performances d'élevage jusqu'au stade adulte,
- Mise à l'épreuve du protocole en condition de production.

Le stade d'étude qui a été choisi sur la base de la littérature a été initialement le stade trochophore. Les critères de qualité retenus dans un premier temps ont été la motilité des larves et leur capacité de développement en larves D (apparition des deux valves). Ces stades et critères ont ensuite été étendus.

CONCLUSIONS

Les principales conclusions sont que :

- contrairement aux résultats rapportés dans la littérature scientifique, le stade plus tardif de larve D (ou véligère) donne de meilleurs résultats que le stade trochophore,
- les larves D doivent être congelées selon un protocole de descente en température contrôlée lent (1 h 30)
- de très bons taux de motilité des larves après la décongélation (> 90 %) sont observés quel que soient les stades et les protocoles,
- de très fortes mortalités sont observées dans les jours suivant la décongélation quel que soient les stades et les protocoles,
- la métamorphose et la fixation semble se dérouler de la même façon chez les larves décongelées

- la survie et la croissance des larves décongelées sont similaires à celles de larves non congelées sur au moins 385 jours d'élevage.



Congélation des larves à la SATMAR en congélateur programmable Digitcool

Des animaux ont été conservés pour étudier ultérieurement leur capacité de reproduction.

D'une façon générale, la survie entre la fécondation et après la fixation est comprise entre 0,5 et 2 % en fonction des expériences. Cette survie est faible mais variable montrant un champ potentiel d'amélioration. De plus, et à titre d'indication, la décongélation d'une paillette de 0,5 ml permettrait de générer de l'ordre de 300 à 600 pré-géniteurs d'un an.

Ce premier travail confirme que la congélation de larves d'huître creuse est une technologie applicable en écloserie à des fins de recherche ou de sélection commerciale. Cependant, la lourdeur du protocole implique l'utilisation d'équipements spécifiques ainsi qu'un étalement de la production des familles. Plusieurs voies d'améliorations potentielles à investiguer ont été identifiées parmi lesquelles :

- l'augmentation de la concentration larvaire dans les paillettes,
- la pré-incubation dans le cryoprotecteur avant congélation,
- l'essai d'autres cryoprotecteurs perméants, bien que l'éthylène glycol présente des résultats très positifs,
- le remplacement et la réduction du coût du tréhalose par du sucrose par exemple
- la congélation à des stades plus tardifs, plus favorables au transport des larves, comme le stade umboné,
- la réduction de la durée de la descente en température.

L'intérêt de la congélation de larves a été comparé avec la congélation de spermatozoïdes ou d'ovocyte. Les modalités d'application de cette technologie à d'autres génotypes (4n par exemple) ou à d'autres espèces de mollusques marins sont aussi discutées.