

5^{es} Journées de la Recherche Filière Piscicole

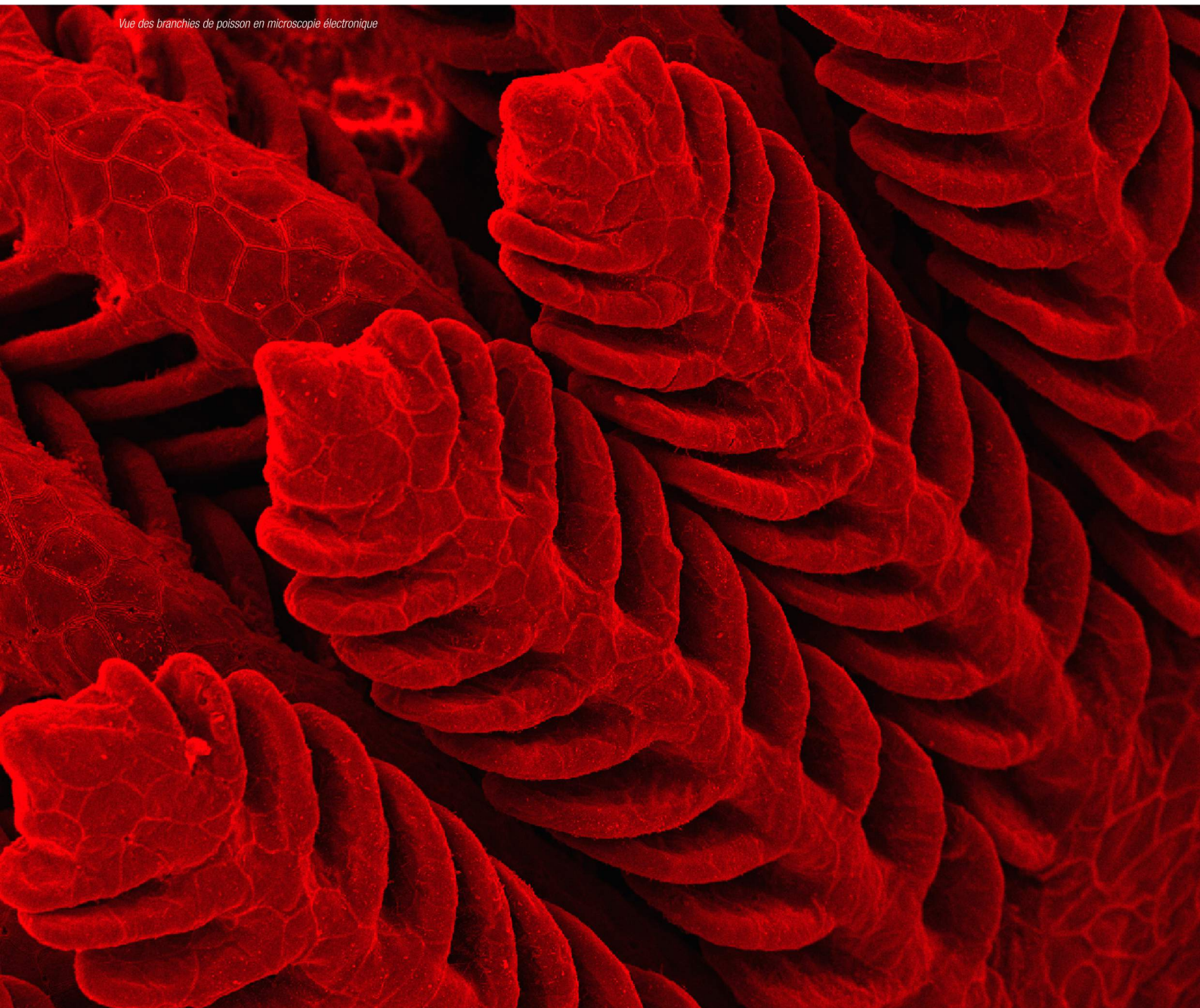


Paris

5 et 6 juillet 2016

FIAP Jean Monnet 30 rue Cabanis - 75014 PARIS
Métro : Glacière / Denfert-Rochereau

Vue des branchies de poisson en microscopie électronique



L'art délicat de la protection

Protec est l'aliment de Skretting développé pour renforcer la santé des poissons d'élevage.

Protec permet de renforcer la protection de la peau, du tube digestif et des branchies, de soutenir le système immunitaire, d'apporter les éléments constitutifs nécessaires au renouvellement des cellules et enfin, d'assurer l'équilibre entre les poissons, les microbes et l'environnement.

PARTENAIRES

DES 5^{es} JOURNEES DE LA RECHERCHE

PISCICOLE

Avec le partenariat

- Du Ministère de l'Ecologie du Développement durable et de l'Energie / Direction des Pêches Maritimes et de l'Aquaculture
- Du Compte d'Affectation Spécial pour le Développement Agricole et Rural (CASDAR)
- De l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA)
- De l'Institut Technique de l'Aviculture (ITAVI)
- Du Comité Interprofessionnel des Produits de l'Aquaculture (CIPA)
- Du Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD)
- De l'Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la MER (IFREMER)
- Du Syndicat des Sélectionneurs Avicoles Aquacoles Français (SYSAAF)
- De l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD)
- De la Fédération Française d'Aquaculture (FFA)
- Du Réseau des Enseignants Aquacoles
- De la Direction Générale de l'Enseignement et de la Recherche (DGER)
- Du GIS Piscicultures Demain (PsD)

Et des structures suivantes



**5^{es} Journées de la Recherche
Filière Piscicole**

**REPRODUCTION ET
DOMESTICATION**

Paris

5 et 6 juillet 2016

INEFFICACITE DES ANTAGONISTES DES RECEPTEURS DE LA DOPAMINE, SCH23390 ET METOCLOPRAMIDE POUR INDUIRE L'OVULATION DU SANDRE « *Sander lucioperca* ».

Roche Jennifer¹, Khendek Amine¹, Policar Tomas², Ledoré Yannick¹, Milla Sylvain¹ et Fontaine Pascal¹

¹Université de Lorraine INRA, Laboratoire UR AFPA — Faculté des Sciences et Technologies – 54506 - Vandoeuvre-lès-Nancy, France

²Faculty of Fisheries and Protection of Waters, Institute of Fish Culture and Hydrobiology, South Bohemian Research Center of Aquaculture and Biodiversity of Hydrocenoses, University of South Bohemia in České Budějovice, Czech Republic

Résumé

Depuis plusieurs années, le sandre *Sander lucioperca* est devenu une espèce d'intérêt pour la diversification de l'aquaculture européenne en raison de sa valeur économique potentielle (valeur récréative, qualité de sa chair et sa valeur commerciale). Jusqu'à aujourd'hui, la demande croissante en sandre était presque exclusivement fournie par les populations sauvages déclinantes (lacs, rivières...) et très peu par les populations issues d'élevages. Afin de développer l'aquaculture du sandre, il est nécessaire d'optimiser le contrôle de l'ensemble du cycle de reproduction afin d'obtenir des œufs et des larves de qualité. A cette fin, les traitements hormonaux et notamment ceux constitués d'un antagoniste des récepteurs D2 de la dopamine (métoclopramide, pimozide, dompéridone) associés ou non à un analogue de la GnRH sont de plus en plus étudiés et efficaces pour déclencher et synchroniser les phases finales (maturation méiotique ovocytaire et ovulation). Toutefois, la dopamine exerce ses fonctions par l'intermédiaire d'un deuxième type de récepteur, le récepteur D1 dont l'effet, seul ou en interaction avec la GnRH, n'est absolument pas connu dans l'induction de la reproduction des poissons. Dans ce contexte de développement de l'aquaculture du sandre, la présente étude a pour objectif de déterminer les effets des antagonistes des récepteurs de la dopamine (D1 et D2) seuls sur sa reproduction.

40 femelles de sandre matures ont été injectées avec un antagoniste spécifique des récepteurs D1 ou D2 de la dopamine, la métoclopramide (4 ou 20 mg/kg) ou la SCH23390 (0.8 ou 4 mg/kg) respectivement. Plusieurs prélèvements d'ovocytes, de sang, de cerveau et d'hypophyse ont été réalisés : le jour de l'injection, 24h après et à l'ovulation afin d'évaluer l'effet de l'hormone sur l'avancée des phases finales de la reproduction et l'activation de l'axe gonadotrope qui les régule.

Sept jours après l'injection des traitements, l'ovulation n'a pas été induite. En outre, les concentrations plasmatiques de stéroïdes (testostérone, 11 kétotestostérone, oestradiol et di-hydroxyprogestérone) et les niveaux d'expression du gène de la GnRHIII et de la LH dans le cerveau et l'hypophyse n'ont pas été régulés significativement suite à ces traitements par comparaison au témoin injecté avec la solution physiologique.

Les antagonistes des récepteurs de la dopamine appliqués seuls ne sont donc pas efficaces pour induire les phases finales de la reproduction du sandre. Cependant, leur association avec un analogue de la GnRH serait une piste envisageable pour optimiser le contrôle hormonal de l'ovulation et contribuer au développement aquacole de cette espèce.

LES CELLULES SOMATIQUES : UN INTERET POUR LA CONSERVATION DES RESSOURCES GENETIQUES CHEZ LES POISSONS

CHENAIS Nathalie*, DEPINCE Alexandra, Le BAIL Pierre-Yves, et LABBE Catherine
INRA, UR1037 LPGP, Rennes, France

Le maintien de la biodiversité des ressources génétiques aquacoles représente une nécessité notamment pour l'aquaculture (espèces domestiquées à forte valeur ajoutée), la sauvegarde d'espèces fragiles voire sauvages dont la survie est potentiellement menacée à court ou moyen terme...

En dehors de la conservation *in situ*, une alternative réside dans la maîtrise des biotechnologies de cryoconservation et de régénération à partir desquelles les cellules cryoconservées porteuses de l'information génétique pourront être utilisées à des fins de reconstruction d'individus. Si le sperme est abondamment présent dans les cryoconservatoires, il ne conserve que 50% du génome parental, les œufs et embryons ne sont, quant à eux pas congelables chez les poissons contrairement à leurs équivalents mammaliens. Les cellules somatiques diploïdes représentent une alternative majeure indispensable au maintien de la diversité génétique chez les poissons.

La nageoire constitue un réservoir cellulaire de choix, de part son prélèvement non invasif et sa capacité de régénération *in vivo*. L'obtention de cellules somatiques issues de cultures primaires d'explants de nageoire est globalement acquise chez plusieurs espèces de poissons et les techniques de cryoconservation cellulaire s'avèrent peu problématiques. Le recours aux cellules cryoconservées suppose en revanche la maîtrise du transfert nucléaire permettant la régénération des individus initiaux. Brièvement, la technique consiste à injecter le noyau d'une cellule de nageoire cryoconservée dans un ovocyte receveur d'une espèce proche pour générer un embryon reconstitué appelé hybride nucléocytoplasmique ou clone.

Aujourd'hui, la régénération de poissons par transfert nucléaire somatique à partir de cellules cryoconservées se révèle complexe. En effet, des mortalités massives sont observées chez des embryons reconstitués au-delà du stade 1000 cellules, et les pourcentages d'alevins viables obtenus sont très faibles (<10%). L'hypothèse d'une mauvaise et/ou imparfaite reprogrammation du génome du noyau somatique donneur, conduisant à des défauts d'expression des gènes au cours du développement précoce, pourrait en partie expliquer les faibles taux de succès rencontrés. Dans ce cadre là, nous nous sommes intéressés à reprogrammer le génome de la cellule de nageoire, avant son injection dans un ovocyte receveur, vers un état moins différencié proche de celui des cellules embryonnaires, les plus aptes à redonner un individu. Les expérimentations de reprogrammation *in vitro* ont été envisagées par des traitements chimiques et extraits ovocytaires ciblant les marques épigénétiques de l'ADN et principalement la méthylation connue pour verrouiller l'expression de certains gènes du développement embryonnaire précoce. L'attendu de ces recherches est une amélioration de l'aptitude de ces cellules modifiées à régénérer des individus après transfert nucléaire somatique.

Pour conclure, la cryoconservation de cellules somatiques permettant la préservation des ressources génétiques est possible aujourd'hui. En revanche, la régénération d'individus par transfert nucléaire, technologie prometteuse, reste encore à un stade de recherche scientifique.

Mots clés: culture primaire, cellules nageoire, cryoconservation, transfert nucléaire, biotechnologie de la reproduction

CRYOCONSERVATION DE LA SEMENCE DE POISSON : IMPORTANCE DU MAINTIEN DE L'INTEGRITE EPIGENETIQUE

Alexandra Depincé, Catherine Labbé

INRA, UR 1037 LPGP – Campus de Beaulieu, 35042 Rennes Cedex, France

Contexte.

La cryoconservation de la semence permet chez les poissons une gestion des ressources génétiques aquacoles dans le cadre de cryobanques, au service de la gestion des lignées dans les schémas de sélection, ou au service de la gestion de la diversité domestique et sauvage. L'évaluation après congélation/décongélation de la motilité et du pouvoir fécondant des spermatozoïdes est le plus souvent considérée comme suffisante pour garantir la sécurité et l'efficacité de la transmission du génome aux descendants. Il est admis que les éventuelles altérations de l'ADN du spermatozoïde sont réparées par la machinerie de l'ovocyte après la fécondation.

Pourtant, au cours de ces dernières années, plusieurs études ont souligné l'importance de l'état épigénétique de l'ADN du spermatozoïde dans le développement précoce de l'embryon. Un des acteurs de cet état épigénétique, qui permet de transmettre des informations non génétiques à la descendance, est la méthylation de l'ADN où des groupements méthyles (CH_3) en se fixant sur la zone promotrice de certains gènes, empêchent leur expression. Or la cryoconservation du sperme de poisson repose sur l'utilisation de cryoprotecteurs méthylés comme le diméthylsulfoxyde (DMSO), le méthanol ou encore le diméthylacétamide (DMA), et il a été montré que certains de ces cryoprotecteurs ont un fort pouvoir méthylant de l'ADN. L'hypothèse que les cryoprotecteurs agissent sur les spermatozoïdes lors de la cryoconservation, en modifiant leur profil de méthylation de l'ADN est testée dans le présent projet.

Protocole.

Nous avons mesuré le niveau de méthylation globale de la semence cryoconservée de deux cyprinidés (le poisson rouge et le poisson zèbre), avec différents cryoprotecteurs libérant ou non des groupements méthyles (méthanol, DMSO et propanediol). Par condition, le sperme de 6 à 18 individus a été cryoconservé selon le protocole le mieux adapté à chaque espèce avec 8% de cryoprotecteur. Les niveaux de méthylation globale obtenus ont été comparés à ceux du sperme frais.

Résultats.

Le sperme frais est globalement hyperméthylé avec des niveaux moyens similaires chez les deux espèces étudiées (poisson rouge 84.4% et poisson zèbre 82.3%).

Après cryoconservation du sperme de poisson rouge avec 8% de méthanol, aucune différence de méthylation n'a été observée avec le sperme frais. Par contre, l'utilisation de DMSO ou de propanediol comme cryoprotecteur a induit une hypométhylation significative du sperme (64.5% et 67.3% respectivement).

Chez le poisson zèbre, la congélation dans du méthanol a provoqué une hyperméthylation significative de l'ADN du sperme.

Conclusion-Perspectives.

Cette étude souligne l'importance du choix du cryoprotecteur en fonction de l'espèce. Il faut cependant noter que malgré les effets observés sur le niveau de méthylation globale des spermatozoïdes, aucun lien fonctionnel sur l'embryon n'a encore été établi chez les poissons.

Références.

Cryopreservation Causes Genetic and Epigenetic Changes in Zebrafish Genital Ridges (Riesco and Robles, 2013).
Genes for embryo development are packaged in blocks of multivalent chromatin in zebrafish sperm (Wu et al, 2011).
Differential Gene Susceptibility to Sperm DNA Damage: Analysis of Developmental Key Genes in Trout (Silvia González-Rojo et al, 2014).

**Investissements d'Avenir ANR-11-INBS-0003 5 CRB-Anim 2013-2019
COST AQUAGAMETE FA 1205**

LA REDECOUVERTE DE L'ICHTYOFAUNE DE FRANCE : L'EXEMPLE DES BROCHETS

Gaël Denys, Agnès Dettai, Henri Persat, & Philippe Keith

Après presque 2 siècles de recherches, nous pensions tout connaître de la diversité biologique des poissons d'eau douce de France. Avant les années 2000, les différents ouvrages listant les espèces présentes dans les bassins français référençaient 80 espèces. Avec l'arrivée de la génétique et la prise en considération de l'histoire hydrographique française, une vingtaine d'espèces supplémentaires ont intégré le référentiel taxonomique, souvent des espèces qui n'avaient pas été identifiées dans des genres de poissons que l'on croyait monospécifiques.

Le brochet *Esox lucius* est un exemple frappant, parmi d'autres (goujons, vairons...). En 2011, une étude approfondie des critères morphologiques et génétiques a permis de décrire une nouvelle espèce (*Esox cisalpinus*) en Italie. Une réévaluation des brochets français a donc été réalisée à partir de données morphologiques et génétiques sur des spécimens récents et anciens issus des collections du Muséum national d'Histoire naturelle. Morphologie et génétique s'accordent sur la présence de l'espèce italienne *Esox cisalpinus* dans le Lac Léman au XIX^{ème} siècle en cohabitation avec le brochet commun, ainsi que dans le Lac Saint-André dans les années 1920. Cependant aucun spécimen récent n'a pu être trouvé encore, cette espèce pourrait ne plus être présente dans les lacs périalpins. Mais cette étude a surtout mis en évidence une lignée distincte depuis 5 millions d'années qui est maintenant une espèce, nouvelle pour la science, le brochet aquitain *Esox aquitanicus*. Son aire de répartition est limitée au Sud-Ouest de la France (bassins de la Charente à l'Adour). Elle se distingue du brochet commun par une robe marbrée, un museau plus court, mais également par un nombre de vertèbres et d'écailles sur la ligne latérale moins important.

Compte tenu de l'importance socio-économique du brochet en France et du souci de préservation d'un poisson classé sur la Liste Rouge des Espèces Menacées, d'importantes opérations de repoissonnement ont eu lieu depuis la seconde moitié du XX^{ème} siècle sur tout le territoire français. Parce que le brochet aquitain n'avait pas été identifié comme une entité distincte et endémique, une espèce non native (le brochet commun) a été introduite dans son aire de répartition très réduite.

La gestion adaptée des bassins au niveau national nécessite donc une connaissance précise de notre ichtyofaune qui n'est malheureusement pas encore disponible pour tous les groupes.

DEVELOPPEMENT DE LA PISCICULTURE DU PAICHE, *ARAPAIMA GIGAS*, ET DE LA DONCELLA, *PSEUDOPLATYSTOMA PUNCTIFER*, EN AMAZONIE PERUVIENNE

Darias Maria J.¹, Castro-Ruiz Diana², Núñez Jesús¹, Fernández-Méndez Christian²

¹ IRD, UMR BOREA, 911 Avenue Agropolis, BP 64501, 34394, Montpellier, France

² IIAP, AQUAREC, Av. Abelardo Quiñones km 2.5, Iquitos, Pérou

Résumé

Le poisson représente la principale source de protéines pour les habitants de l'Amazonie péruvienne et, en raison de la forte croissance démographique de la région, les populations naturelles des principales espèces d'intérêt commercial subissent une forte pression de pêche. La pisciculture, encore peu développée dans la région, est donc considérée actuellement comme une priorité pour les autorités gouvernementales du pays, tant du point de vue de la sécurité alimentaire que de la création d'emploi. L'Amazonie réunit de nombreuses conditions pour la réussite de l'aquaculture, telles qu'une grande disponibilité de terrains, une relative facilité d'accès à l'eau, une température ambiante stable et une grande variété de poissons candidats. Parmi les différentes espèces cultivées, le paiche, *Arapaima gigas*, un poisson qui peut atteindre 3 mètres de longueur et qui présente le plus fort taux de croissance des espèces amazoniennes cultivées (plus de 10 kg/an), et la doncella, *Pseudoplatystoma punctifer*, poisson chat très apprécié par la qualité de sa chair et par l'absence d'arrêtes intramusculaires, font l'objet d'efforts de recherche afin de maîtriser leur élevage. Le paiche, inscrit dans l'annexe II de la liste CITES d'espèces menacées, est la troisième espèce la plus cultivée au Pérou, notamment pour le marché de poissons d'ornement. Cependant sa production est très variable d'une année à l'autre, principalement en raison d'une reproduction naturelle en étangs peu prévisible et d'un faible taux de survie des juvéniles, ce qui rend difficile une production à grande échelle. Dans le cas de la doncella, la reproduction (induite) ne présente plus aucune difficulté, mais sa production à grande échelle est freinée par le manque de maîtrise de son élevage larvaire, étape dans laquelle les alevins montrent un comportement cannibale.

Dans cette présentation, l'état actuel de la pisciculture de ces deux espèces en Amazonie péruvienne sera abordé, ainsi que les actions de recherche qui sont menées par une équipe franco-péruvienne, dans le cadre du Laboratoire Mixte International « Evolution et Domestication de l'Ichtyofaune Amazonienne », pour le développement de protocoles d'élevage de leurs stades précoces de vie.