

CRYOCONSERVATION DU SPERME DE SALMONIDES : EVOLUTION DES PRATIQUES ET AMELIORATION DES FECONDANCES.

Labbé Catherine¹, Delhomme Guy², Depincé Alexandra¹, Gavin-Plagne Lucie², Goardon Lionel³, Kica Stéphanie¹, Leboucher Richard², Morvezen Romain⁴, Na Li².

¹INRA, UR Physiologie et Génomique des Poissons, Campus de Beaulieu, 35000 Rennes

²IMV Technologies, Zone Industrielle Numéro 1 EST, 61300 Saint-Ouen sur Iton

³INRA, UE PEIMA, Barrage du Drennec, 29450 Sizun

⁴SYSAAF, LPGP INRA - Campus de Beaulieu, 35000 Rennes

La cryoconservation du sperme de poisson permet de conserver les ressources génétiques aquacoles, dans un objectif de sécurisation des schémas de sélection et de rationalisation des stocks de géniteurs. En France, les premières cryoconservation de sperme ont été mises en œuvre sur les sites piscicoles, grâce à un matériel de congélation transportable, robuste d'utilisation et ayant un coût d'achat et de fonctionnement limité. Les méthodes mises au point privilégiaient alors l'utilisation du dispositif de congélation en radeau, dans lequel les paillettes étaient déposées en cuve d'azote sur un cadre en polystyrène. Ces dernières années, la cryoconservation du sperme des ressources aquacoles françaises (production et recherche) a été centralisée dans la cryobanque CryoAqua (Saint Aubin du Cormier, 35) où un personnel dédié assure la cryoconservation des ressources et leur stockage en azote liquide. Ce changement de pratique qui a amélioré la sécurisation des collections permet désormais d'envisager des changements de méthodes dans un objectif d'amélioration de la performance des spermés décongelés, même au prix d'une technicité plus élevée et d'une mise en œuvre plus complexe.

L'objectif du présent travail était de contrôler et standardiser les courbes de congélation par l'utilisation d'un congélateur programmable, ce qui devait aussi permettre d'augmenter le débit de traitement des paillettes. Une modification de la composition des dilueurs et de la concentration en sperme dans les paillettes a également été testée dans le but d'améliorer la fécondance et de réduire l'espace de stockage. Du sperme testiculaire de néomâles de truites arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* a été congelé dans le dilueur commercial Freezefish® (IMV Technologies) dans lequel le cryoprotecteur perméant était soit le diméthylsulfoxyde (DMSO) soit le méthanol (MeOH). La congélation en radeau ou en congélateur programmable a été testée en parallèle sur les mêmes échantillons. Une dernière condition a consisté à doubler la quantité de sperme dans les paillettes en modifiant le ratio sperme/Freezefish®. Le sperme décongelé a été testé sur sa fécondance par mesure des développements embryonnaires et sur sa motilité.

Dans nos conditions expérimentales, les résultats de motilité et de fécondance ont donné des hiérarchies identiques entre les conditions : les meilleures performances du sperme décongelé ont été obtenues avec le congélateur programmable. En outre, la variabilité des performances du sperme a été considérablement réduite en congélateur programmable par rapport au dispositif en radeau. Le DMSO s'est avéré toujours supérieur au MeOH, l'intérêt du MeOH demeurant cependant dans une meilleure conservation du sperme au cours du temps post décongélation. Par contre, l'augmentation de la concentration en sperme dans les paillettes a été délétère, bien que les concentrations en cryoprotecteur aient été adaptées.

Ce travail a répondu à un premier objectif de standardisation de la cryoconservation grâce au succès du programme de congélation contrôlée. L'augmentation de la concentration en sperme des paillettes doit être retravaillée pour comprendre et dépasser les échecs observés.

Remerciements

Ce travail a été financé par le projet FEAMP BIOGERM (2017, mesure 49) et partiellement financé par le PIA CRB Anim (ANR-11-INBS-0003). Les auteurs remercient Pablo Pélissier (INRA PEIMA) pour la préparation et l'envoi du sperme testiculaire, Cécile Duret (INRA LPGP) pour la gestion des incubations des embryons et Jean Ruche et la pisciculture de Milin Nevez pour la fourniture du sperme et des œufs pour les tests de fécondance.