

DEVELOPPEMENT D'UNE PROCEDURE DE PRODUCTION DE POPULATIONS MONOSEXES FEMELLES CHEZ LES SALMONIDES SANS UTILISATION D'HORMONE EXOGENE

(projet BioGerm, FEAMP 2017)

Sarah TREMPONT⁽¹⁾, Tina TERRENNE⁽²⁾, Anne-Sophie GOUPIL⁽¹⁾, Francine KRIEG⁽³⁾, Marjorie BIDEAU⁽²⁾, Nicolas DECHAMP⁽³⁾, Laurent LABBE⁽²⁾, Jean-Pierre BROCHIER⁽⁴⁾, Philippe HOCDE⁽⁴⁾, Lionel GOARDON⁽²⁾, et Jean-Jacques LAREYRE⁽¹⁾

Objectifs

Le projet BioGerm (2018-2020) vise à produire des populations monosexue femelles sans utilisation d'hormone exogène chez deux espèces de salmonidés, la truite arc-en-ciel et l'omble chevalier. Cet objectif est rendu possible grâce à une nouvelle biotechnologie qui consiste à greffer des cellules souches germinales prélevées chez des femelles immatures ou ovulées dans la cavité abdominale d'embryons receveurs juste éclos et rendus préalablement stériles par triploïdisation. Les receveurs greffés avec succès de sexe mâle produiront exclusivement de la laitance contenant des spermatozoïdes fonctionnels de génotype X.

Truite arc-en-ciel

Greffes intraspécifiques de cellules souches germinales



Pisciculture Expérimentale INRA des Monts d'Arrée : PEIMA

Femelle donneuse:
Truite arc en ciel

Femelle immature ou post-ovulée

Préparation des ovogonies

Transplantation des ovogonies

Triploïdisation

Embryons triploïdes au stade éclosion (330 °J)

Sélection des mâles transplantés triploïdes

Mâle transplanté

Receveurs

Femelles et mâles Golden

Animaux greffés

Spermatozoïdes de génotype X

Spermiation

Ovocytes X

Obtention d'une population monosexuée femelle

Rendement cellulaire

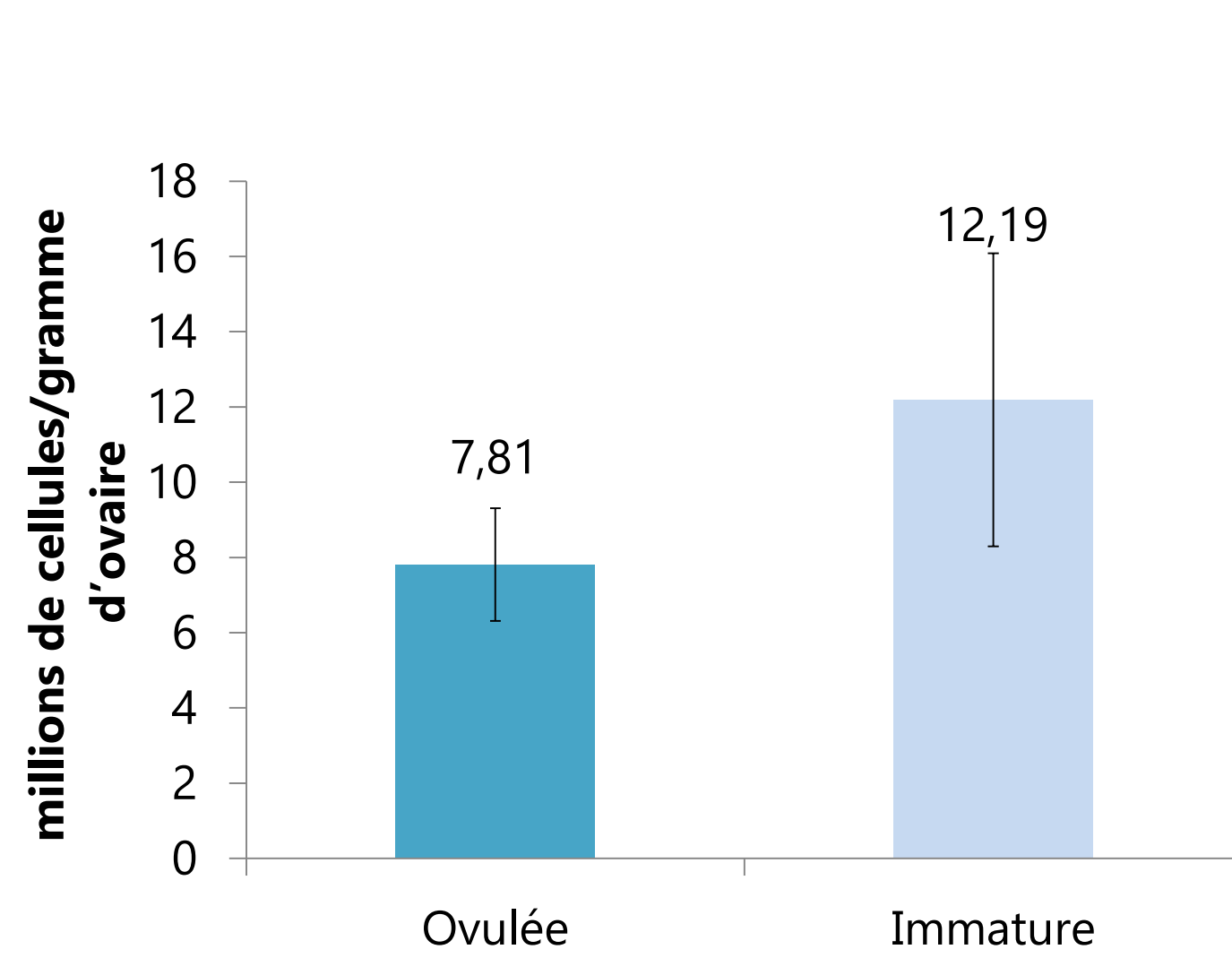


Figure 1 : Rendement cellulaire moyen obtenu selon le stade de maturation des ovaires de truite arc-en-ciel.

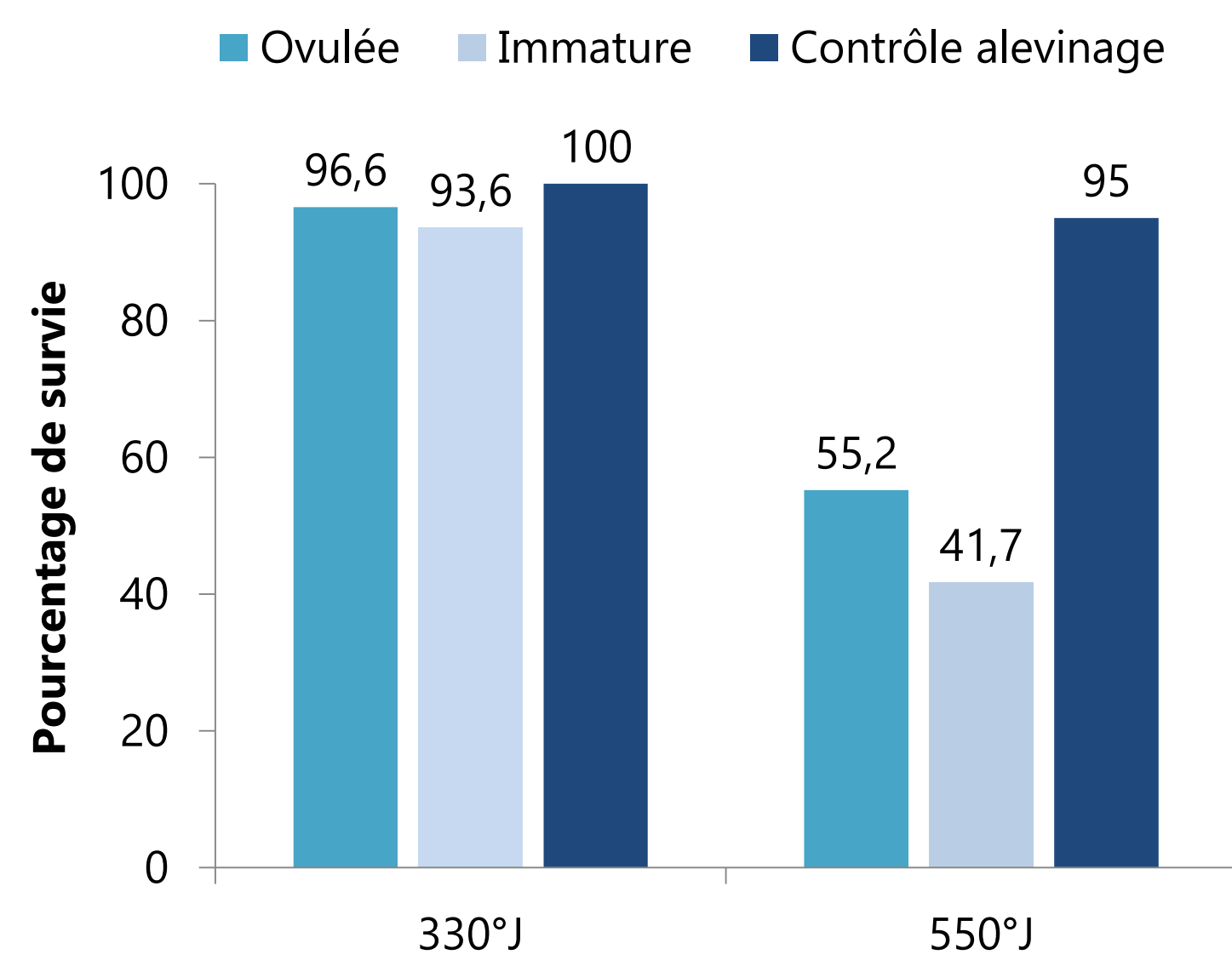


Figure 2 : Survie des embryons déterminée 24h après la greffe (330 °J) et au moment de la première prise alimentaire (550 °J) en fonction de l'origine des ovogonies greffées (femelles immatures ou post-ovulées). °J: degrés jours

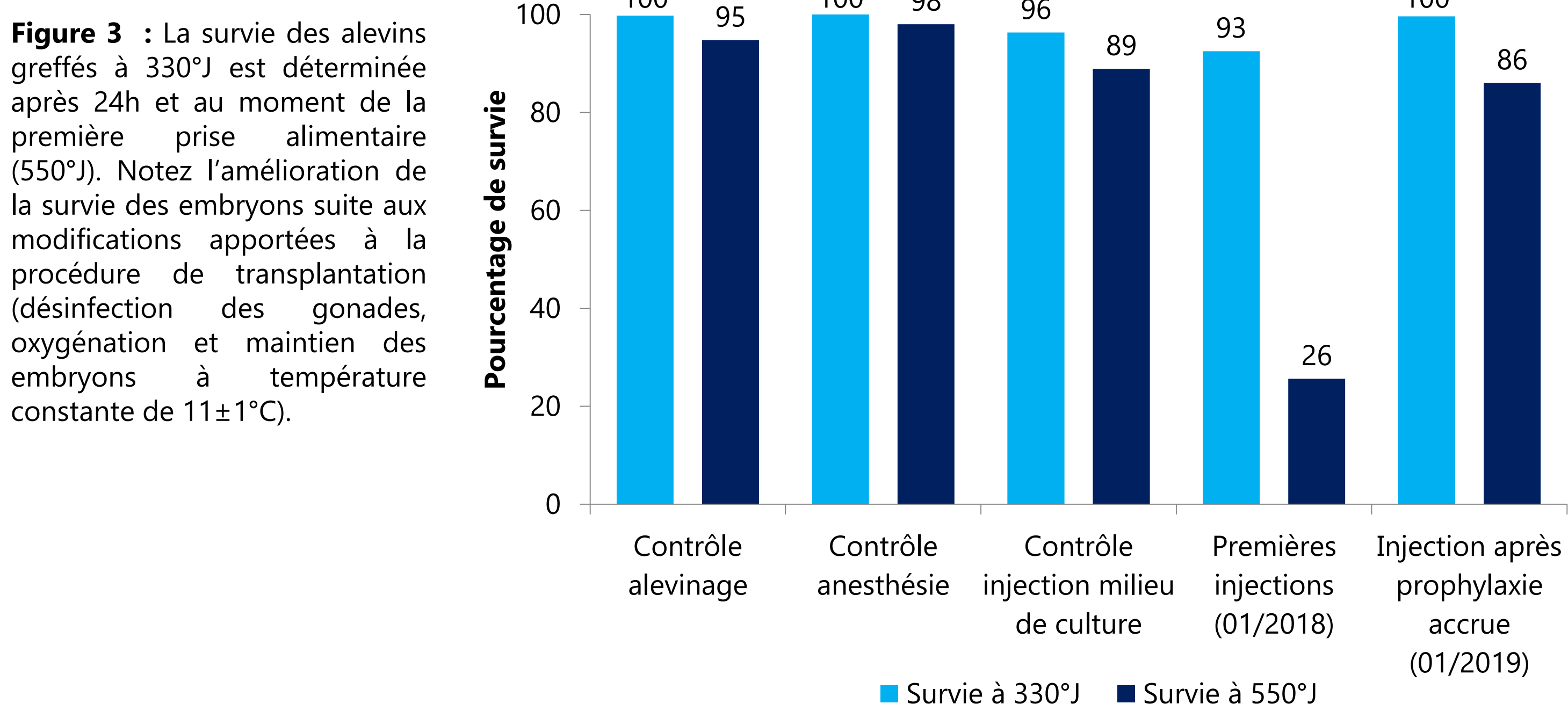


Figure 3 : La survie des alevins greffés à 330 °J est déterminée après 24h et au moment de la première prise alimentaire (550 °J). Notez l'amélioration de la survie des embryons suite aux modifications apportées à la procédure de transplantation (désinfection des gonades, oxygénation et maintien des embryons à température constante de 11±1 °C).

- Le nombre de cellules récupérées par gramme de gonades n'est pas significativement différent selon le stade de maturation sexuelle des femelles (immatures ou post-ovulées).
- La survie des embryons greffés ne dépend pas de la source d'ovogonies utilisée (femelles immatures ou ovulées).
- La survie des embryons greffés a été améliorée grâce aux mesures de prophylaxie prises (désinfection des gonades, oxygénation constante, maintien de la température à 11±1 °C).

Omble chevalier

Greffes interspécifiques de cellules souches germinales



Exploitation piscicole pilote : Charles Murgat

Femelle donneuse :
Omble chevalier

Femelle immature ou post-ovulée

Préparation des ovogonies

Transplantation des ovogonies

Triploïdisation

Embryons triploïdes au stade éclosion (Truite fario : 330 °J ; Omble de fontaine : 450 °J)

Sélection des mâles transplantés triploïdes

Mâle transplanté

Receveurs

Femelles et mâles Truite Fario

Femelles et mâles Omble de Fontaine

Animaux greffés

Spermatozoïdes de génotype X

Spermiation

Ovocytes X

Obtention d'une population monosexuée femelle

Rendement cellulaire

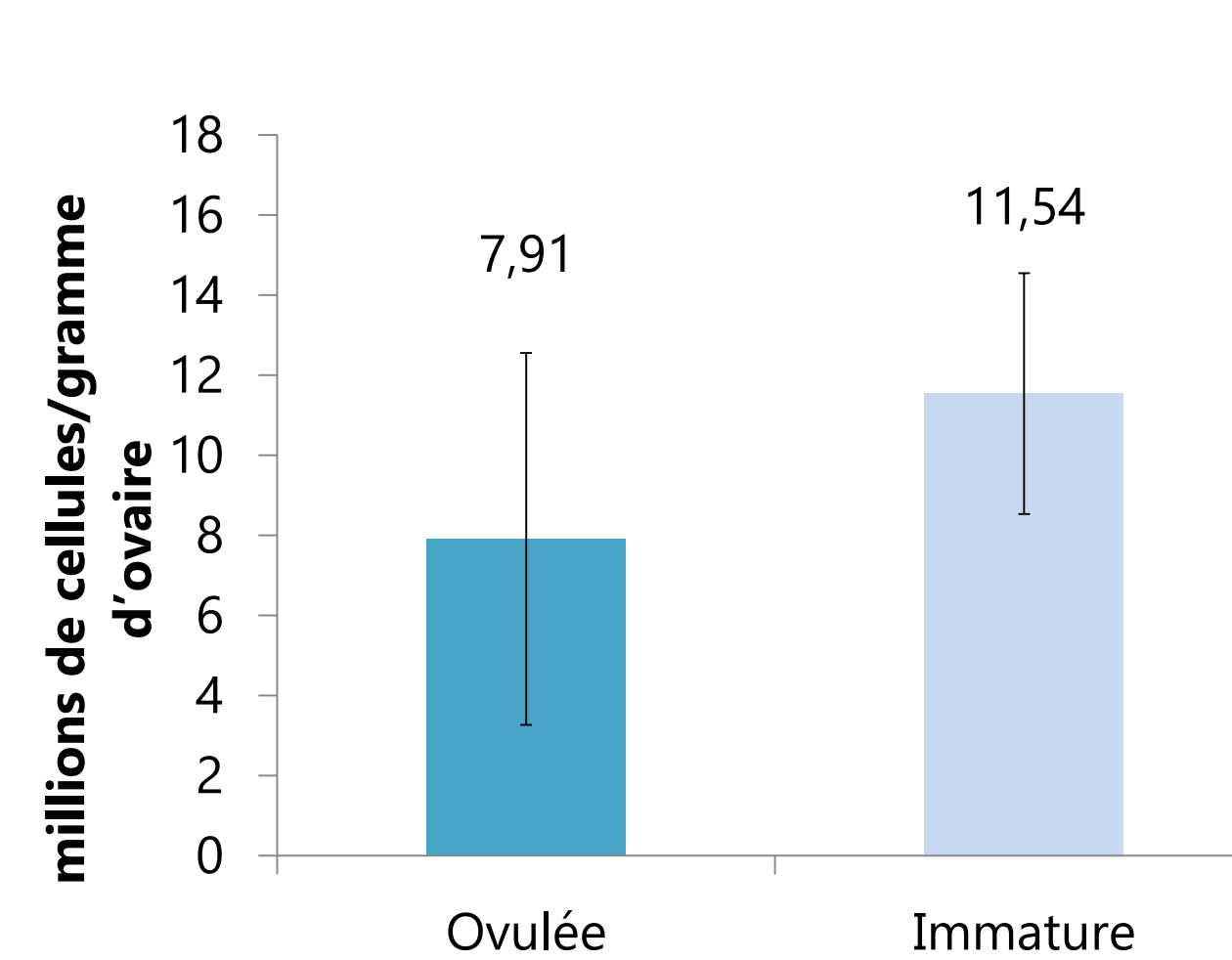


Figure 4 : Rendement cellulaire moyen obtenu selon le stade de maturation des ovaires d'omble chevalier.

Receveur : truite fario

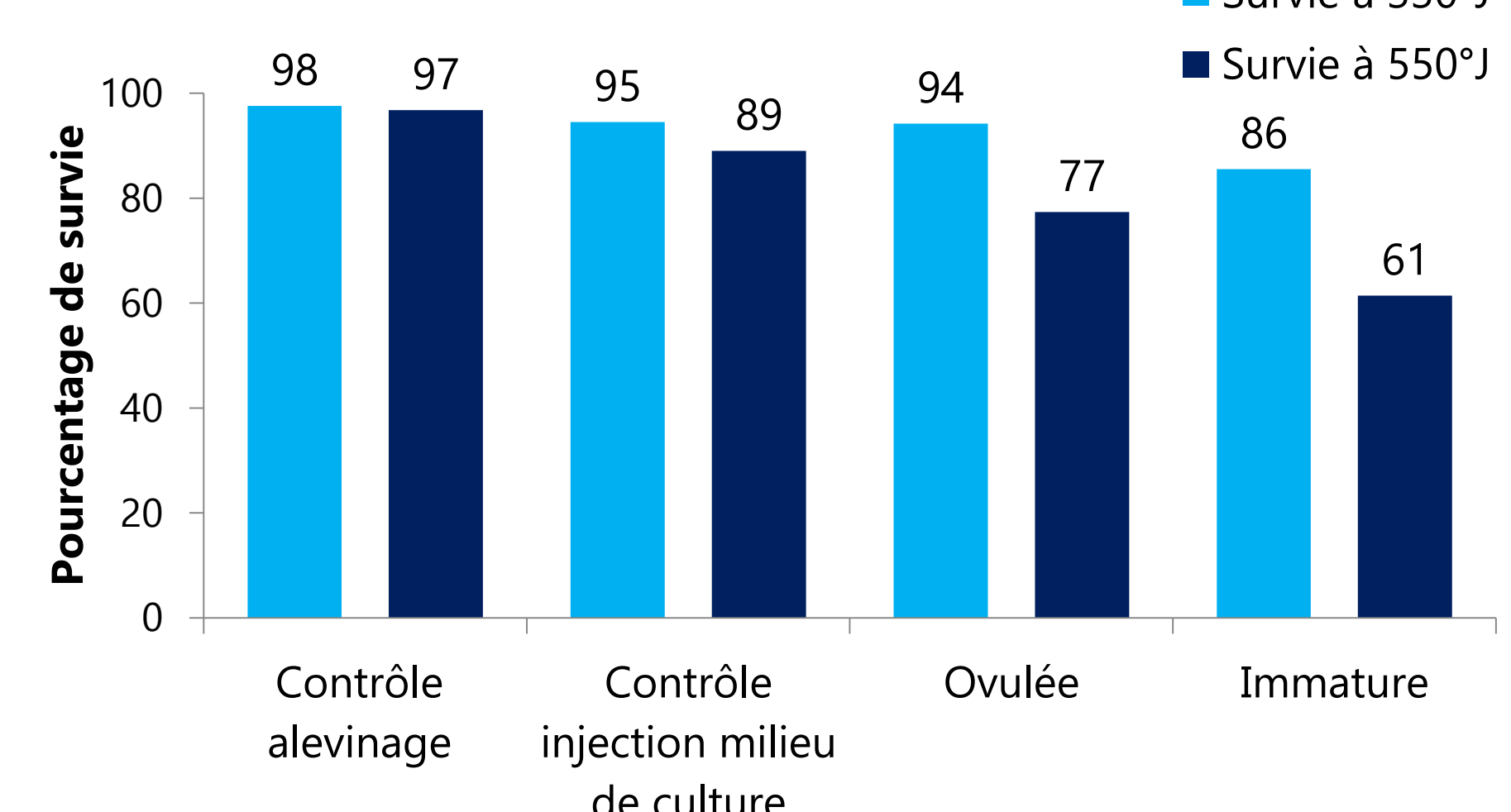


Figure 5 : Les ovogonies extraites des femelles omble chevalier immatures ou post-ovulées ont été greffées dans des embryons triploïdes de truite fario. La survie des embryons de truite fario est déterminée 24h après la greffe (330 °J) et au moment de la première prise alimentaire (550 °J).

Receveur : omble de fontaine

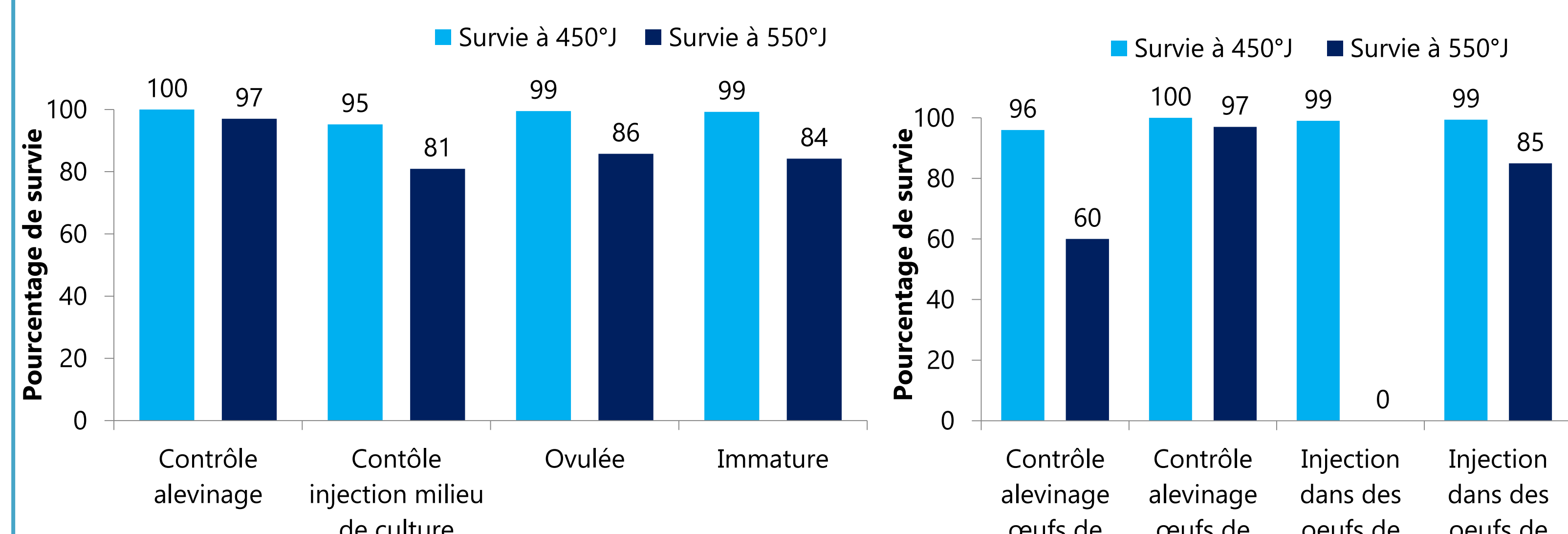


Figure 6 : Les ovogonies extraites des femelles omble chevalier immatures ou post-ovulées ont été greffées dans des embryons triploïdes d'omble de fontaine. La survie des embryons est déterminée 24h après la greffe (450 °J) et au moment de la première prise alimentaire (550 °J).

Figure 7 : Les ovogonies extraites des femelles omble chevalier ont été greffées dans des embryons triploïdes issus d'omble de fontaine âgés de 2 ans ou de 3 ans. La survie des embryons omble de fontaine est déterminée 24h après la greffe (450 °J) et au moment de la première prise alimentaire (550 °J).

- La greffe d'ovogonies d'omble chevalier dans des receveurs truite fario ou omble de fontaine peut être réalisée sans engendrer de fortes mortalités des embryons.
- La source d'ovogonies issues de femelles omble chevalier immatures ou ovulées n'affecte pas la survie des embryons greffés.
- La greffe dans des embryons issus de femelles de 2 ans affecte considérablement la survie des embryons greffés.

Conclusions et perspectives

En conclusion :

- La procédure de greffe des cellules souches germinales peut être réalisée sur des sites de production de la filière.
- il est possible de réaliser des greffes intra et inter-spécifiques sans affecter significativement la survie des embryons greffés.
- la greffe devrait permettre de produire de la laitance de génotype X (impossible à obtenir actuellement pour l'omble chevalier malgré l'utilisation d'hormone).

En perspective:

- La maturation des animaux greffés pour l'étude présentée est attendue fin 2019 et fin 2020. Le nombre de mâles à greffer ultérieurement restera à être déterminé en fonction des besoins pour la multiplication des populations monosexes femelles et des performances individuelles de production de laitance.