

RÉGÉNÉRATION DE LIGNÉES DE TRUITE PAR TRANSPLANTATION DE CELLULES SOUCHES GERMINALES

Goupil Anne-Sophie¹, Krieg Francine², Maouche Ahmed¹, Depincé Alexandra¹, Duret Cécile¹, Dechamp Nicolas², Goardon Lionel³, Quillet Edwige², Le Gac Florence¹, Lareyre Jean-Jacques¹.

¹ INRA 1037 Laboratoire de Physiologie et Génomique des Poissons, Beaulieu, 35042 Rennes, France.

GABI, INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 78350 Jouy-en-Josas (France).

³ INRA PEIMA, Barrage du Drennec, 29450 Sizun, France.

L'étude présentée vise à faciliter le transfert d'une nouvelle biotechnologie dans les infrastructures d'élevage qui permet de régénérer de manière fidèle les ressources génétiques d'une souche, ou lignées sélectionnées de poissons. Chez les salmonidés, cette biotechnologie consiste à injecter des cellules souches germinales (CSG) d'animaux donneurs dans la cavité abdominale d'un embryon receveur au stade éclos (320 degrés-jours) et rendu préalablement stérile par triploïdisation. La transplantation des cellules souches germinales mâles purifiées par élutriation centrifuge est une procédure de greffe très efficace mais elle nécessite une grande expertise et un équipement coûteux (Bellaïche *et al.*, 2014).

Dans le but de faciliter la préparation des CSG, nous avons constitué à partir de néomales de plusieurs lignées de truite, deux types de préparations de CSG, l'une purifiée (>90% CSG), l'autre non purifiée (<20% CSG), que nous avons injectées dans des embryons receveurs triploïdes. 5 mois après la greffe, nous avons étudié le taux de colonisation des gonades sur une partie des receveurs de chaque lot. Ceci a été fait à l'aide de marqueurs génétiques discriminant l'ADN du donneur et celui du receveur. Les taux de colonisation des gonades sont similaires entre les préparations de CSG purifiées ou non purifiées. Le restant des lots a été élevé jusqu'à la maturité sexuelle (2 ans). Les dates d'entrée en spermiation et d'ovulation sont semblables avec celles attendues pour la souche receveuse. Quel que soit le degré de purification des CSG, seuls 10 à 50% des mâles produisent des volumes significatifs de laitance (1 à 8 ml) et plus ou moins riches en spermatozoïdes (de 10^7 à 10^{10} spermatozoïdes/ml) parfois dès la première année. Les résultats obtenus avec les femelles sont plus homogènes entre les lignées. 80% des femelles greffées produisent des quantités importantes d'œufs avec une valeur moyenne de 1500 œufs/kg de poids corporel que les CSG greffées soient purifiées ou non. Des tests de fécondation montrent que la qualité des gamètes mâles et femelles est variable mais cette variabilité reste similaire à celle observée avec des animaux diploïdes non greffés. Des croisements ont été réalisés avec le sperme et les ovules obtenus après la greffe. L'observation de la couleur noire de la peau de tous les descendants et l'étude de marqueurs génétiques pratiqués sur ces animaux démontrent qu'ils dérivent des CSG greffées.

En conclusion, il est possible de simplifier la procédure de greffe en transplantant des préparations non purifiées de cellules souches spermatogoniales. Cette pratique n'a pas d'impact négatif significatif sur le taux de réussite de la transplantation et sur les performances reproductives des animaux greffés. Cette simplification devrait permettre de faciliter le transfert de cette biotechnologie dans les infrastructures d'élevage de la filière et le développement de nouvelles applications pour les productions aquacoles comme la production de populations monosexes sans hormone exogène (projet FEAMP BioGerm).

Cette étude a été financée par le projet européen AquaExcel²⁰²⁰.

Références : Bellaïche J, Lareyre JJ, Cauty C, Yano A, Allemand I, Le Gac F. 2014. Biol Reprod. 17;90(4):79.