



Biological Resource Centers
for Domestic Animals

4th International Seminar of CRB-Anim Infrastructure

CRB-Anim : past, present and futur

May 30-31, 2022

Cryopréservation des cellules souches germinales de poisson: application en aquaculture pour restaurer à la fois des spermatozoïdes et des ovocytes de génotypes intéressants.

Catherine Labbé¹, Anne-Sophie Goupil¹, Stéphanie Kica¹, Tina Terrenne², Lionel Goardon², Alexandra Depincé¹, Charlène Labesse¹, Jean-Jacques Lareyre¹,

INRAE, Laboratoire de Physiologie et Génomique des Poissons LPGP, UR1037, 35 000 Rennes

catherine.labbe@inrae.fr

INRAE, UE PEIMA, 29450 Sizun

La conservation in vitro à long terme des ressources génétiques de poissons repose uniquement sur la cryoconservation des spermatozoïdes, car la cryoconservation des ovocytes et des embryons n'est pas possible chez ces espèces aux œufs télolécithes. Cela signifie que lorsqu'il s'agira de restaurer le génotype préservé, grâce à la fécondation d'œufs ordinaires avec les précieux spermatozoïdes cryoconservés, la progéniture ne portera que 50 % du génotype d'intérêt.

Un nouveau type cellulaire est capable de lever cette limitation : les cellules souches germinales (CSG), présentes en quantité adéquate dans les gonades immatures des poissons. Il a été démontré précédemment que les CSG de poisson injectées dans des alevins récepteurs atteignent les gonades et sont capables de subir la gamétogenèse pour produire des gamètes fonctionnels. De plus, ces cellules sont bipotentes, ce qui signifie que quel que soit le sexe du donneur, les cellules souches germinales greffées se développeront en ovules si le receveur est une femelle, et en spermatozoïdes si le receveur est un mâle. La cryoconservation de ces cellules souches germinales permettra que les CSG greffées et décongelées produisent finalement un ovule, permettant la fécondation avec des spermatozoïdes cryoconservés de même génotype.

Dans le cadre de l'infrastructure CRB Anim et d'un financement ultérieur (FEAMP BIOGERM), une méthode de cryoconservation des cellules souches germinales a été mise en place chez la truite arc-en-ciel. Nous présentons et commentons ici la procédure finale qui a été adoptée : les dileurs sont dépourvus de produits animaux, la qualité des cellules décongelées a été validée, et leur capacité à coloniser les gonades réceptrices a été démontrée. L'ensemble de la procédure a été testé dans la ferme expérimentale INRAE PEIMA, afin d'évaluer la faisabilité de cette stratégie en conditions réelles. Ceci nous a permis de déterminer les contraintes et les avantages de la cryoconservation des CSG pour la restauration d'un génotype entier chez des espèces de poissons.





Biological Resource Centers
for Domestic Animals

4th International Seminar of CRB-Anim Infrastructure

CRB-Anim : past, present and futur

May 30-31, 2022

Cryopreservation of fish germinal stem cells: application in aquaculture to restore both spermatozoa and oocytes from valuable genotypes.

Catherine Labbé¹, Anne-Sophie Goupil¹, Stéphanie Kica¹, Tina Terrenne², Lionel Goardon², Alexandra Depincé¹, Charlène Labesse¹, Jean-Jacques Lareyre¹,

INRAE, Laboratoire de Physiologie et Génomique des Poissons LPGP, UR1037, 35 000 Rennes

catherine.labbe@inrae.fr

INRAE, UE PEIMA, 29450 Sizun

Cryobanking of fish genetic resources relies on sperm cryopreservation only, as cryopreservation of oocyte and embryos is not possible in these species with telolecithal eggs. This means that when the preserved genotype is to be restored, thanks to fertilization of plain eggs with the valuable cryopreserved spermatozoa, the offspring will bear only 50 % of the genotype of interest.

A new cellular type is able to meet this limitation: the germinal stem cells (GSCs), present in suitable quantities in immature fish gonads. It was shown previously that fish GSCs injected into recipient fries reach the gonads and are able to undergo gametogenesis to produce functional gametes. Additionally, these cells are bipotent, meaning that whatever the sex of the donor, the grafted germinal stem cells will develop in eggs if the recipient is a female, and in spermatozoa if the recipient is a male. Cryopreservation of these germinal stem cells will allow that grafted thawed GSCs ultimately produced egg, enabling fertilization with cryopreserved sperm of the same genotype.

In the course of the CRB Anim infrastructure and of subsequent funding (FEAMP BIOGERM), a method for germinal stem cells cryopreservation was set up in rainbow trout. We present and comment here the final procedure that was adopted: the extenders are devoid of animal products, thawed cell quality was validated, and their ability to colonize recipient gonads was demonstrated. The whole procedure was tested into the INRAE PEIMA experimental farm, in order to evaluate the feasibility of this strategy in field conditions. This allowed us to determine the constraints and advantages of GSCs cryopreservation for the restoration of an entire genotype in fish species.

