

# 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 ( $\text{CH}_3$ ) 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