

Département National Environnement Littoral et Ressources Aquacole
Laboratoire Environnement Ressources Aquacole d'Arcachon

Gouilleux Benoît
Plus Martin
Auby Isabelle

Département « Amélioration Génétique, Santé Animale et Environnement »
Laboratoire de Génétique et Pathologie

Tchaleu Gwenaëlle
Lapègue Sylvie

Janvier 2011 - R.INT.DOP/LER/AR/11.001

Compte rendu des travaux d'accompagnement de l'opération Resur 2 menée par le Comité Régional Conchylicole d'Arcachon



**Compte rendu des travaux d'accompagnement de l'opération
Resur 2 menée par le Comité Régional Conchylicole d'Arcachon**

sommaire

1. CONTEXTE DE L'OPERATION « RESUR 2 »	7
2. IDENTIFICATION ET DESCRIPTION DES HUITRES TRANSPLANTEES	9
3. SUIVI DES LOTS TRANSPLANTES : MORTALITE ET BIOMETRIE	12
3.1. Mortalité	13
3.2. Indices de condition et période de ponte	13
3.3. Fécondité	16
3.4. Indice <i>Polydora</i>	17
3.5. Conclusion	19
4. OU SE DISTRIBUENT LES LARVES ISSUES DES DIFFERENTS SITES DE REENSEMENCEMENT ?	20
4.1. Les conditions de simulations	20
4.2. Résultats	23
4.3. Conclusion	26
5. CARACTERISATION GENETIQUE	28
5.1. Matériel biologique	28
5.2. Extraction de l'ADN	29
5.3. Amplification par PCR	29
5.4. Génotypage	29
5.5. Analyse de la variabilité génétique	29
5.6. Analyse de la différence entre populations prises 2 à 2	32
5.7. Conclusion	33
6. CONCLUSION GENERALE	34
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	36
ANNEXES	38
ANNEXE 1 : SITES DE PECHEES DE LARVES POUR LE PROGRAMME VELYGER	39
ANNEXE 2 : CLASSIFICATION DE L'INFESTATION DES HUITRES PAR LE VER <i>POLYDORA</i>	40
ANNEXE 3 : STADES MACROSCOPIQUES DE MATURITE DE L'HUITRE CREUSE <i>CRASSOSTREA GIGAS</i> (D'APRES LE DANTEC, 1968)	41
ANNEXE 4 : DIFFERENCES ENTRE HUITRE TRIPLOÏDE ET HUITRE DIPLOÏDE	42
ANNEXE 5 : EXEMPLE DE DONNEES (CHROMATOGRAMMES) OBTENUES AVEC LE LOGICIEL GENEMAPPER ET INTERPRETATION GENETIQUE	43
ANNEXE 6 : GENOTYPES OBTENUS POUR LES CINQ MARQUEURS MICROSATELLITES	44
ANNEXE 7 : EXEMPLE DE CHROMATOGRAMMES METTANT EN EVIDENCE UN INDIVIDU TRIPLOÏDE	48
ANNEXE 8 : LISTE DES INDIVIDUS TRIPLOÏDES DE LA POPULATION COM AVEC LEURS ALLELES POUR TROIS MARQUEURS	49

1. Contexte de l'opération « RESUR 2 »

Depuis quelques années, on observe une faible intensité des pontes d'huîtres creuses (*Crassostrea gigas*) dans le Bassin d'Arcachon, notamment dans le secteur sud-est. Ce phénomène est illustré par les résultats des dénombrements larvaires réalisés pendant l'été depuis de nombreuses années (Figure 1).

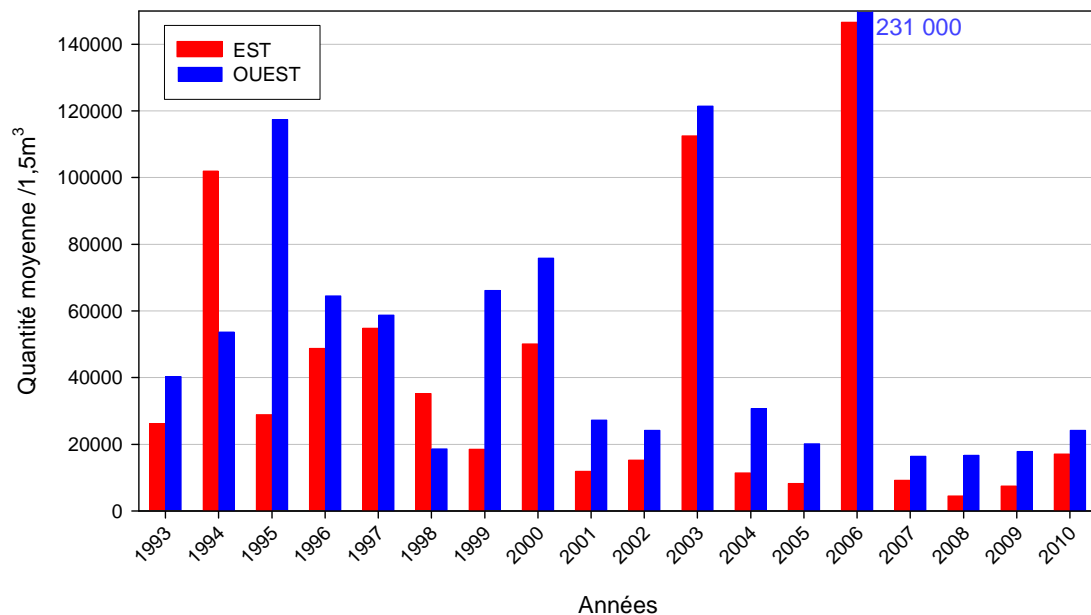


Figure 1 : Quantité moyenne (nombre/1,5m³) de larves « petites » d'huîtres *Crassostrea gigas* dans les secteurs Est et Ouest du Bassin d'Arcachon (Annexe 1) durant les étés 1993 à 2010.

La principale hypothèse avancée par la profession ostréicole pour expliquer ce déficit touche à un éventuel « dépérissement génétique » des huîtres autochtones.

Dans un contexte très différent, une opération de réensemencement avait déjà été menée par le passé, dans le Bassin d'Arcachon comme sur les autres côtes françaises. En effet, durant la fin des années 1960 et le début des années 1970, l'huître portugaise *Crassostrea angulata* a connu des épisodes de mortalité massive liées à des infections virales. Afin de pallier le déclin de la production, l'huître creuse *Crassostrea gigas* a été introduite dans les différents bassins ostréicoles de France (Opération RESUR).

En mai 1971, le Bassin d'Arcachon a bénéficié d'un premier apport de 52,5 tonnes de géniteurs provenant de la Colombie Britannique (huîtres très grosses âgées d'une dizaine d'années), renforcé de 60 tonnes en 1972 et de 25 tonnes en 1973, soit au total 137,5 tonnes d'huîtres mères qui ont été placées sur plusieurs réserves réparties sur l'ensemble du Bassin. Parallèlement, de grandes quantités de naissains ont été introduites (Tableau 1) (Grizel et Héral, 1991). Ces naissains ont rapidement grandi et ont vite représenté des tonnages importants (Tableau 1). Ainsi, dès 1973, ils ont pu participer de façon très significative à la reproduction. **On peut penser que le repeuplement en huîtres du Bassin à cette époque s'est surtout réalisé à partir du naissain introduit de 1971 à 1973.**

Tableau 1 : Tonnage de collecteurs de naissains d'huîtres *Crassostrea gigas* importés dans le Bassin d'Arcachon. Estimations de la quantité de naissains correspondant (en millions d'individus) et du tonnage d'huîtres adultes correspondant

Années	(1)	(2)	(3)
1971/1972	475 t	237,5	(en 1973/1974) 13 300 t
1972/1973	598 t	299	(en 1974/1975) 16 750 t
1973/1974	30 t	15	(en 1975/1976) 840 t
1974/1975	73 t	36,5	(en 1976/1977) 2 050 t
Total	1 176 t	588	33 000 t

- (1) Tonnage de collecteurs introduits (Grizel et Héral, 1991).
 (2) Estimation du nombre de naissains correspondant (millions) (Grizel et Héral, 1991).
 (3) Estimation du tonnage d'huîtres adultes (pertes 20 %, poids individuel 70 g) obtenu 2 ans après l'introduction des naissains japonais (cette étude).

C'est sur ces bases que les ostréiculteurs arcachonnais ont décidé en 2010 de mener une opération de réensemencement en géniteurs dans les hauts du Bassin appelée Opération RESUR 2. Il s'agissait d'introduire des huîtres creuses de grande taille (poids minimum 150g) provenant *a priori* d'autres bassins ostréicoles. Les objectifs visés étaient :

- d'accroître la diversité génétique par l'apport de géniteurs extérieurs au Bassin,
- de renforcer le potentiel de reproduction dans les hauts du Bassin.

Dans le cadre de l'opération RESUR 2, l'Ifremer a été sollicité pour effectuer un suivi des huîtres creuses introduites et s'est engagé à réaliser les différentes actions suivantes :

1. L'identification et la description des lots transplantés, notamment à partir des informations fournies par le CRCAA (Comité Régionale de la Conchyliculture Arcachon Aquitaine).
2. Le suivi d'un des lots transplantés : évolution de la mortalité, de différents indices de condition, de la fécondité en vue de caractériser l'effort de reproduction de ces huîtres (nombre d'ovocytes comptés après dilacération des gonades), et comparaison de ces résultats avec ceux obtenus sur les huîtres du point de l'Observatoire conchylicole (« Tès ») et avec les abondances de larves d'huîtres évaluées dans le cadre du programme Velyger.
3. La caractérisation génétique de certains lots transplantés et d'huîtres sauvages du Bassin d'Arcachon, à partir de marqueurs microsatellites ou SNPs afin de tenter de différencier les différentes populations.
4. La caractérisation génétique, l'année suivante, de naissain issu du recrutement, **si et seulement si** les populations adultes introduites et locales se sont avérées différentes, afin d'en déterminer l'origine.
5. La modélisation des « particules » (larves d'huîtres) (i.e. dissémination des larves en provenance des lots de géniteurs transplantés) à partir de la première ponte principale, en fonction des conditions de marée et de vent à cette date, afin d'avoir des informations sur la dispersion et le transport des cohortes larvaires.

Le plan de ce rapport est organisé sur la base de ces actions.

2. Identification et description des huîtres transplantées

Au total, 143 tonnes d'huîtres ont été implantées par le CRCAA durant le printemps 2010, entre le 16 mars et le 22 avril, ces huîtres étant réparties sur 5 sites (Figure 2). Les huîtres ont été déposées à même le sol, dans le domaine intertidal (Figure 3).

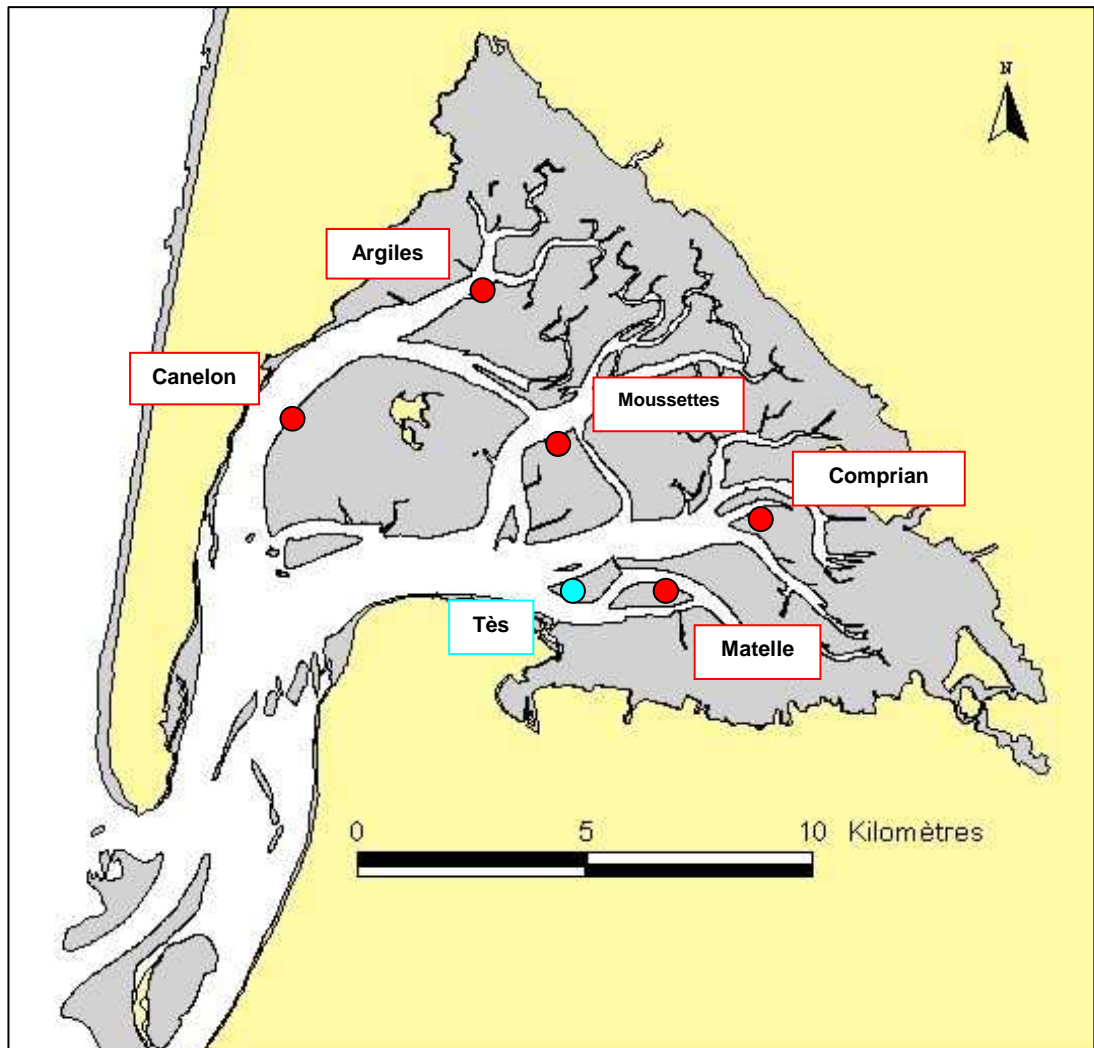


Figure 2 : Sites de dépôt des huîtres transplantées dans le Bassin d'Arcachon (Argiles, Canelon, Moussettes, Comprian et Matelle en rouge) et site de suivi Observatoire (Tès en bleu).

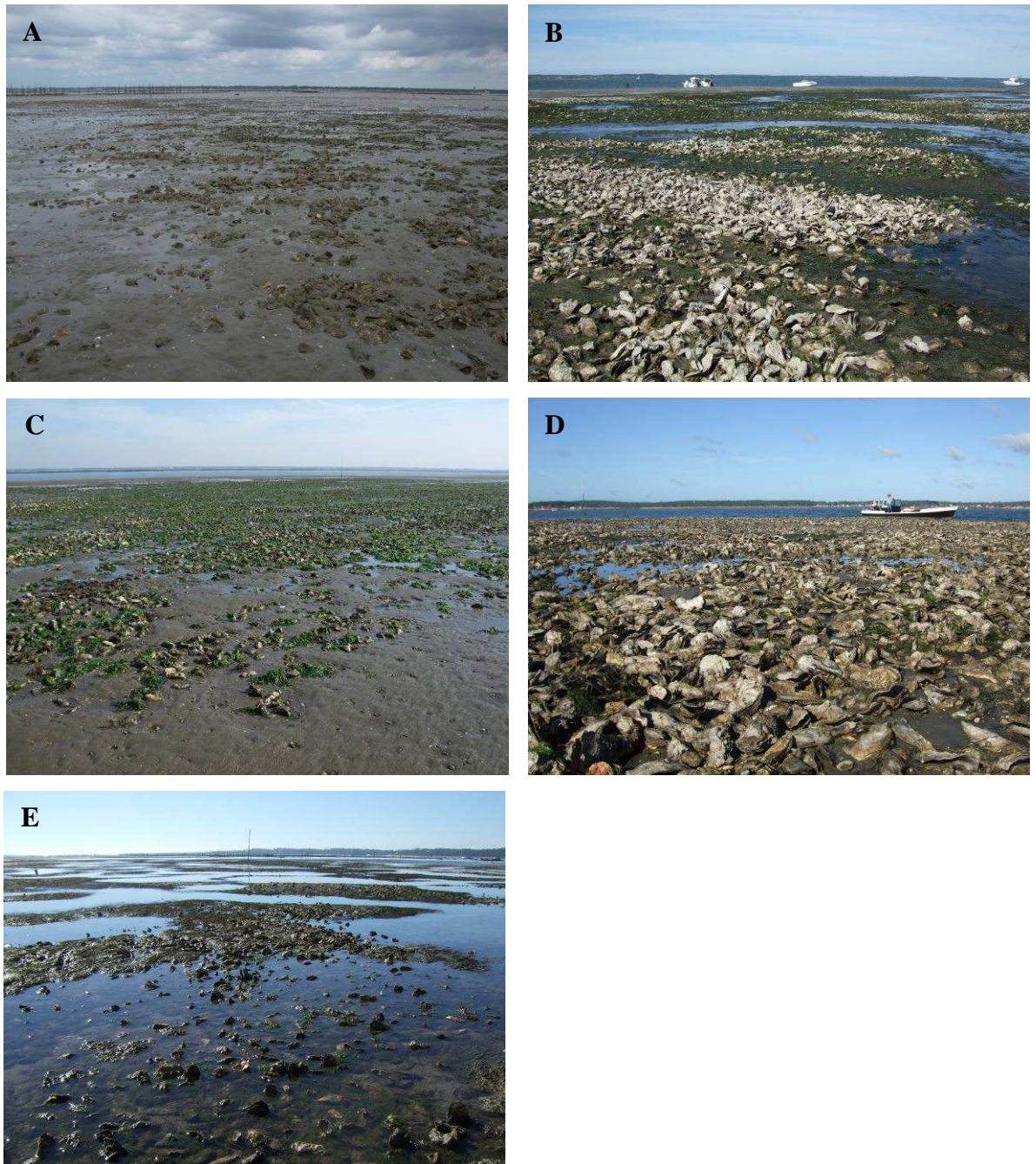


Figure 3 : Huîtres déposées sur les sites de Comprian (A), des Moussettes (B), de la Matelle (C), des Argiles (D) et de Canelon (E).

Le CRCAA nous a fourni les informations sur les tonnages implantés sur chaque site, et l'identification des fournisseurs des différents lots. Ces fournisseurs ont été contactés afin d'obtenir les renseignements concernant l'origine (lieu de naissance) et la provenance (lieu d'élevage) des huîtres.

L'ensemble des données ainsi récoltées est présenté dans le tableau 2.

Tableau 2 : Superficie de dépôt (m²), origine, provenance et quantités d'huîtres (Kg) par site.

Lot	MATELLE 4 540 m ²	COMPRIAN 3 712 m ²	CANELON 3 588 m ²	ARGILES 2 512 m ²	MOUSSETTES 3 760 m ²	TOTAL (Kg)	ORIGINE	PROVENANCE
1			18542			18542	Charente	Normandie
2		5000				5000	Arcachon	Arcachon (80%) Bretagne (20%)
3	800					800	Arcachon	Bretagne
4	2360					2360	Inconnu	Bretagne nord
5	2010		2400			4410	Arcachon	Arcachon
6	1600					1600	Charente	Baie de Quiberon
7					2000	2000	Arcachon	Arcachon
8	2440					2440	Arcachon	Baie de Quiberon
9	10800			15210	13670	39680	Arcachon	Bretagne
10				7000		7000	Arcachon	Baie de Quiberon
11					700	700	Arcachon	Arcachon
12	3000					3000	Arcachon	Quiberon
13				4625		4625	Bretagne	Bretagne
14	4000					4000	Charente	Bretagne
15					10400	10400	Ecloserie	Angleterre
16	2040					2040	Arcachon	Baie de Quiberon
17	1600					1600	Arcachon	Bretagne
18	1580					1580	Bretagne	Bretagne
19			915			915	Arcachon	Arcachon
20	2000	21800			5100	28900	Arcachon (60%) Ecloserie (40%)	Irlande
21	800					800	Inconnu	Bretagne
22			300			300	Arcachon	Arcachon
TOTAL (Kg)	35030	26800	22157	26835	31870	142692		

L'examen des données présentées dans ce tableau permet de dégager les observations suivantes :

- Les populations introduites sur chaque site sont très disparates : de 3 à 13 lots différents par site.
- **La majorité des huîtres introduites sont nées dans le Bassin d'Arcachon (62 %)**, 17 % sont originaires de Charente et 15 % proviennent d'écloserie.

Le CRCAA a également effectué avant la mise en eau des analyses de ploïdie des huîtres. **Ces analyses ont révélé la présence d'huîtres triploïdes dans plusieurs lots, celles-ci représentant 22% des huîtres transplantées.**

3. Suivi des lots transplantés : mortalité et biométrie

Les huîtres de chacun des 5 sites ont été échantillonnées au moins à une occasion entre les mois de juillet et octobre 2010. Un échantillon de 30 huîtres était prélevé au hasard. Sur ces individus, les paramètres suivants étaient mesurés : la longueur, le poids total, le poids de coquille, le poids frais de chair, l'indice *Polydora*, l'état de maturité de la gonade, le sexe de l'huître et la ploïdie par examens macroscopique et microscopique (Annexes 2, 3 et 4).

Le site de **Comprian** a été proposé par le CRCAA pour y réaliser le suivi temporel des huîtres en raison de la faible diversité des lots transplantés sur cette station et parce qu'il se situe à proximité des stations de suivi des réseaux Observatoire Conchylicole (station « Tès ») et VELYGER (« Comprian »). Le suivi des huîtres implantées sur ce site a été effectué de début juillet à fin septembre à raison d'un prélèvement tous les 15 jours. C'est également sur ce site que des échantillons ont été prélevés pour l'analyse génétique.

- *L'Observatoire Conchylicole est un réseau assurant le suivi de la croissance, de la survie et de la reproduction de lots sentinelles d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* caractéristiques de la production française sur des sites ateliers répartis sur l'ensemble du littoral français.*

- *VELYGER est un projet créé à la demande du Comité National de la Conchyliculture, Ve-Ly-Ger pour obserVer, anaLyser et Gérer la variabilité de la reproduction et du recrutement de l'huître creuse, *Crassostrea gigas*, sur les côtes françaises. Le dénombrement des larves d'huître dans la colonne d'eau pendant les périodes de reproduction et l'estimation du captage sur les collecteurs de différents bassins ostréicoles sont réalisés dans le cadre de ce programme.*

3.1. Mortalité

Trois à quatre quadrats ont été réalisés sur chaque site au moins à une occasion entre les mois de juillet et d'octobre 2010 afin d'estimer le taux de mortalité des huîtres implantées.

Tableau 3 : Nombre d'huîtres vivantes (V), mortes (M) par quadrat et taux de mortalité moyen (%) par site d'implantation d'huîtres.

Site Quadrat	Comprian 13/07/2010		Comprian 07/09/2010		Matelle 21/09/2010		Mousettes 13/09/2010		Canelon 27/10/2010		Argiles 25/10/2010	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
1	16	14	32	25	35	9	20	18	56	7	57	40
2	57	19	31	27	46	52	28	40	56	17	46	38
3	23	23	35	26	44	34	18	22	22	2	33	46
4	26	23	-	-	-	-	15	24	36	12	-	-
% mortalité (écart-type)	42 (12)		44(2)		39(17)		56(6)		17(8)		48 (9)	

On peut remarquer que la mortalité des huîtres transplantées est relativement élevée, sauf dans le cas du site de Canelon où elle est significativement plus faible au seuil de 5%. A Comprian, où les estimations ont été réalisées à deux reprises (juillet et septembre), le taux de mortalité a peu varié entre les deux dates. On peut donc penser que la mortalité des huîtres implantées est intervenue assez précocement (lors du transport et/ou peu après leur mise à l'eau dans le Bassin d'Arcachon).

Au sein d'un même site, on observe parfois une forte variabilité des estimations de la mortalité. Cette variabilité peut avoir plusieurs causes. Il est possible que les différents lots aient résisté différemment au transport et aux nouvelles conditions imposées. Ces différences peuvent également s'expliquer par la disposition des huîtres: les huîtres ont été semées sur le sol en formant parfois des zones plus denses que d'autres (Figure 3). Les huîtres entassées sont plus enclines à l'envasement et sont gênées pour la filtration.

Le taux moyen de mortalité sur l'ensemble de la population introduite s'élève à 42 %. Sur les 143 t de départ, seules 83 t ont survécu et pu participer à la reproduction au cours de l'été 2010.

3.2. Indices de condition et période de ponte

Deux indices ont été utilisés afin d'apprécier l'état physiologique des individus : l'indice de Lawrence et Scott (L&S) et l'indice de chair. Ces indices permettent d'apprécier l'état de réplétion des huîtres et de déceler les périodes de ponte qui sont matérialisées par une chute brutale des valeurs de ces indices. Le dénombrement des

larves d'huîtres présentes dans la colonne d'eau (programme VELYGER) complète l'information apportée par ces indices pour définir les périodes de ponte.

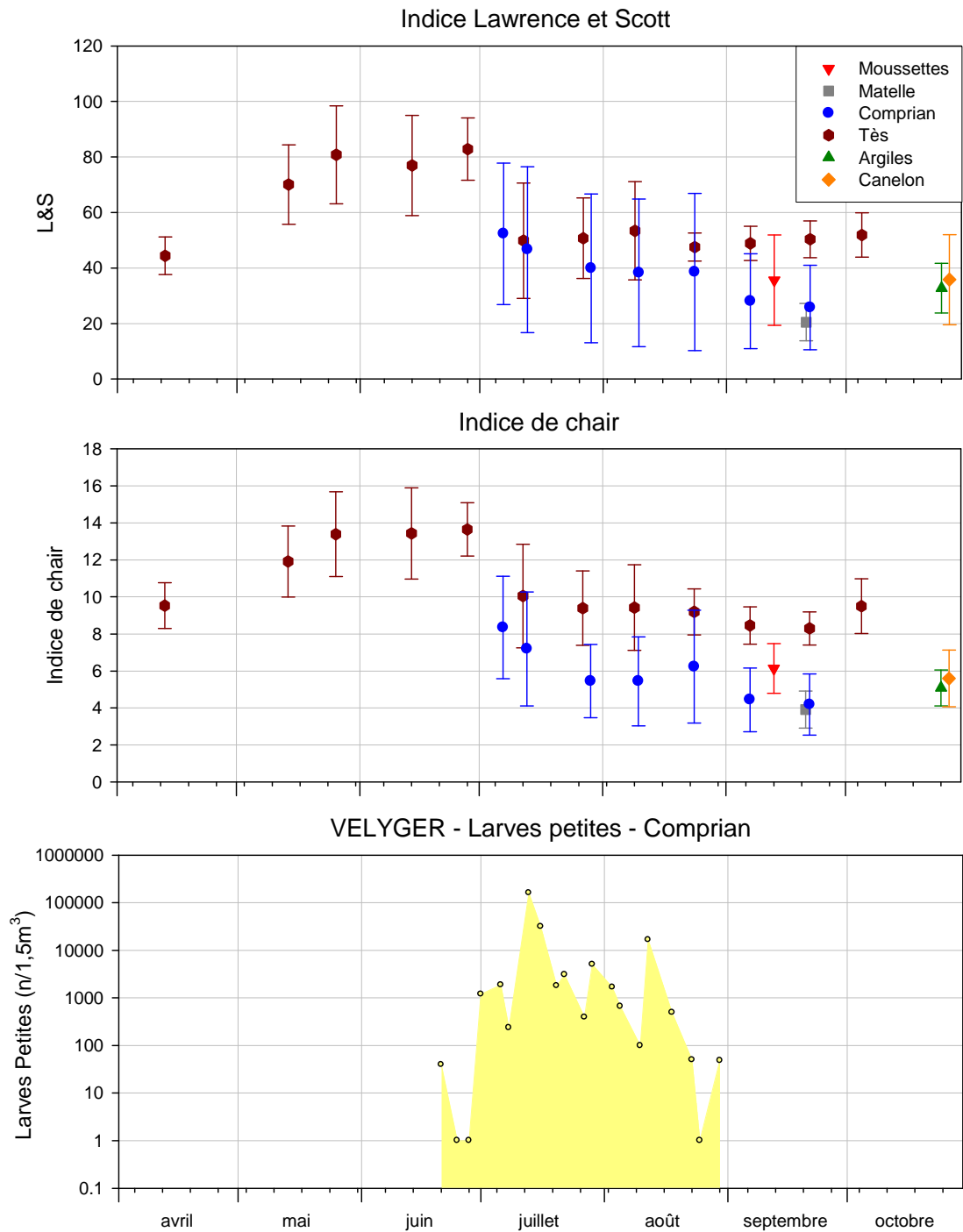


Figure 4 : Variations de l'indice de Lawrence et Scott (L&S) et de l'indice de chair pour les huîtres transplantées sur les secteurs de Comprian (bleu), Moussettes (rouge), Matelle (gris), Argiles (vert) et Canelon (orange) et pour les huîtres du suivi de l'Observatoire sur le site du Tès (marron), et nombre de larves petites d'huîtres/1,5m³ d'eau dans le chenal de Comprian durant l'année 2010.

$$L \& S = \frac{\text{poids sec chair}}{\text{poids frais total} - \text{poids coquille}} \times 1000$$

$$\text{Indice de chair} = \frac{\text{poids frais de chair}}{\text{poids total}} \times 100$$

L'indice de chair permet de classer les huîtres en 3 catégories telles que définies par la norme Afnor 1985, modifiée en 2002 :

- les « spéciales » indice supérieur à 10,5
- les « fines » indice compris entre 6,5 et 10,5
- les « non classées » indice inférieur à 6,5

L'évolution de ces différents indices sur les sites de Comprian et du Tès (Observatoire conchylicole) est présentée figure 4. Précisons qu'il est délicat de comparer les résultats des deux lots du fait des grandes différences entre leurs âges (2 ans au Tès et 4-5 ans à Comprian) et de leurs conditions d'élevage (poches et au sol). Par ailleurs, le mélange d'huîtres diploïdes et triploïdes à Comprian complique l'interprétation des variations des indices. En effet, les huîtres triploïdes, qui peuvent être confondues avec des huîtres diploïdes prêtes à pondre (du fait de leurs gonades et manteau remplis de glycogène – Annexe 4), sont prises en compte dans le calcul des indices, tendant à les augmenter.

Les huîtres du point de l'Observatoire (Tès) montrent une augmentation des indices de condition entre avril et fin juin 2010, correspondant au développement de la gonade. La ponte principale, matérialisée par la baisse brutale des indices de condition, a eu lieu entre le 28 juin et le 12 juillet¹. Entre début juillet et mi-août, les indices de conditions augmentent de nouveau (rematuration des individus) avec une nouvelle chute entre le 9 et le 24 août (petite ponte). L'examen macroscopique des individus sur cette période révèle des gonades en phase de rematuration ou ayant réalisé une ponte partielle.

Les indices de conditions des huîtres transplantées sur le site de Comprian ont toujours présenté des valeurs relativement faibles, montrant que ces huîtres avaient déjà frayé avant le début du suivi (7 juillet). Cette ponte « précoce » n'est pas surprenante. En effet, les séries historiques de pêches de larves montrent que les populations des « hauts » du Bassin fraient souvent les premières. Les examens macroscopiques montrent par ailleurs que, contrairement aux huîtres du Tès, la majorité des huîtres diploïdes transplantées a réalisé une ponte totale et n'a pas présenté de rematuration par la suite.

¹ Ce qui correspond aux observations en valvométrie menées sur des huîtres placées en subtidal au pied de la jetée d'Eyrac (située à 6km du site de Comprian et à 2km du site du Tès) indiquant une ponte les 10 et 11 juillet autour de la pleine mer du matin (comm. pers. J.C. Massabuau station marine d'Arcachon - Université Bordeaux 1).

Le nombre des larves petites (VELYGER), âgées entre 1 et 6 jours, constitue un bon indicateur des périodes de pontes, complétant l'information apportée par les indices de condition. D'après les résultats obtenus dans le chenal de Comprian (Figures 4 et 5), la ponte principale s'est produite dans ce secteur entre le 8 et le 13 juillet. Une autre ponte a eu lieu entre le 10 et le 12 août 2010. Ces périodes de pontes correspondent aux chutes des indices de condition des huîtres du Tès. Début juillet, les quelques larves petites observées correspondent aux premières pontes des huîtres de la zone de Comprian, auxquelles les huîtres transplantées pourraient avoir participé.

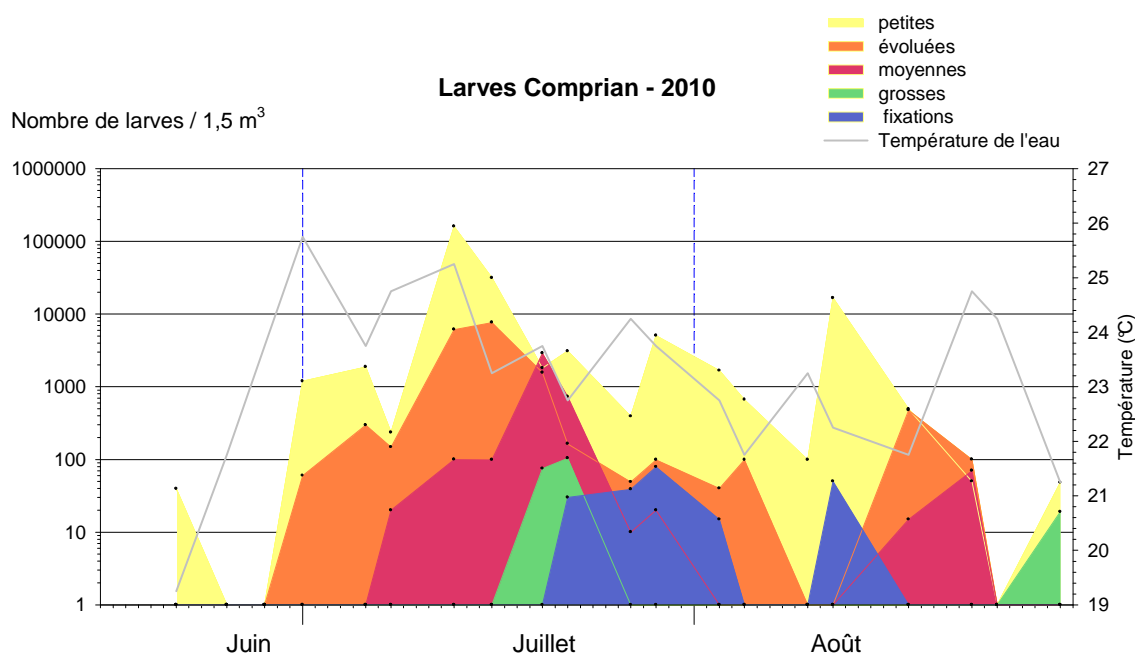


Figure 5 : Résultat des comptages larvaires en 2010 dans le chenal de Comprian.

En septembre, la proportion d'huîtres « triploïdes » (estimée macroscopiquement) (Annexe 4), diminue à 15 % alors qu'elle était restée stable en juillet et août (30 %). Parallèlement, les indices de condition diminuent au cours de la même période sur le site de Comprian (Figure 4), indiquant l'amaigrissement des huîtres. Ces observations pourraient indiquer que certaines huîtres triploïdes ont utilisé leurs réserves énergétiques durant la fin de l'été, ce qui les rend semblables macroscopiquement à des huîtres diploïdes.

3.3. Fécondité

Le suivi RESUR2 a débuté le 07 juillet 2010 après que les huîtres aient frayé. L'évaluation de la fécondité par comptage des ovocytes selon la méthode décrite par Chavez-Villalba et *al.* (2001) n'a donc pas pu être réalisée.

Plus de 90 % des huîtres observées au cours de ce suivi étaient des femelles, comme on pouvait s'y attendre au regard de leur âge.

Royer *et al.* (2008) ont estimé que pour des huîtres dont le poids de chair frais était de 21,95 g, les ovocytes produits étaient en moyenne de 146 millions (de 111 à 234 millions d'ovocytes). Les huîtres transplantées avaient des poids de chair frais de l'ordre de 12 à 21 g. En se référant à ces travaux, on peut donc émettre l'hypothèse que les huîtres transplantées ont produit de l'ordre de 100 millions d'ovocytes par individu.

Sur le site de Comprian, 26,8 tonnes d'huîtres ont été déposées dont 32 % de triploïdes. Ces huîtres ont subi une mortalité de 42 %. Le tonnage d'huîtres transplantées dans ce secteur et participant à la reproduction (diploïdes) peut ainsi être estimé théoriquement à 9,6 tonnes. Il faudrait pouvoir comparer cette biomasse à celle des huîtres sauvages du secteur pour essayer d'évaluer la participation respective des unes et des autres à la reproduction. Nous ne disposons malheureusement pas de données suffisantes pour le faire. On peut cependant supposer que les huîtres transplantées n'ont participé que de façon limitée à la reproduction dans cette zone, compte tenu de la présence de gisements importants d'huîtres sauvages, même si ces dernières présentent sans doute une moindre fécondité (taille moyenne plus faible que celle des huîtres introduites).

A l'échelle du Bassin d'Arcachon, les stocks d'huîtres cultivées représentent environ 10 000 tonnes selon une enquête menée fin 2009 (com. pers. J.C. Mauviot, CRCAA). Au début des années 2000, Blanchet (2004) estimait que les stocks d'huîtres sauvages étaient de l'ordre de 40 000 tonnes. Nous ne disposons pas de données permettant de connaître l'état actuel de ce stock sauvage. Si les bancs d'huîtres sauvages semblent toujours assez abondants dans les hauts du Bassin, on ignore la part de biomasse vivante de ces récifs. Ces données seraient nécessaires pour essayer d'estimer la part de la reproduction imputable aux huîtres cultivées, aux huîtres sauvages et aux éventuelles huîtres transplantées dans le Bassin d'Arcachon. Le projet portant sur l'estimation des huîtres sauvages dans le Bassin d'Arcachon, qui va être mené dans le cadre du futur parc marin, pourra apporter des éléments de réponses à ces questions.

3.4. Indice *Polydora*

Le ver polychète *Polydora sp.* crée un chambrage noirâtre dans la coquille des huîtres, préjudiciable à la qualité marchande de l'huître, et qui peut finir par provoquer un affaiblissement de l'animal. L'infestation par ce ver est évaluée qualitativement par l'examen macroscopique de la valve la plus affectée, avec répartition en 5 classes d'infestation croissante (Annexe 2) :

- Classe 0 (pas de ver actif) : pas de galerie ou de chambre (ou bien recalciifiée).
- Classe 1 (présence de ver mais sans impact commercial) : petites galeries seulement, pas de chambre.
- Classe 2 : pas plus de 2 chambres et surface infestée < 10% de la coquille.

- Classe 3 (commerciallement inacceptable) : plus de 2 chambres ou surface infestée comprise entre 10 et 25%.
- Classe 4 (totalement infestée) : surface infestée > 25%.

L'indice *Polydora* est calculé selon la formule suivante

$$IP = (0 \times p_0) + (0,25 \times p_1) + (0,5 \times p_2) + (0,75 \times p_3) + (1 \times p_4)$$

p_0 à p_4 étant les pourcentages d'huîtres dans chaque classe d'infestation

Il varie de 0 à 1 :

0 = absence de parasite sur toutes les huîtres

1 = infestation complète, à un degré ultime, de tous les animaux observés.

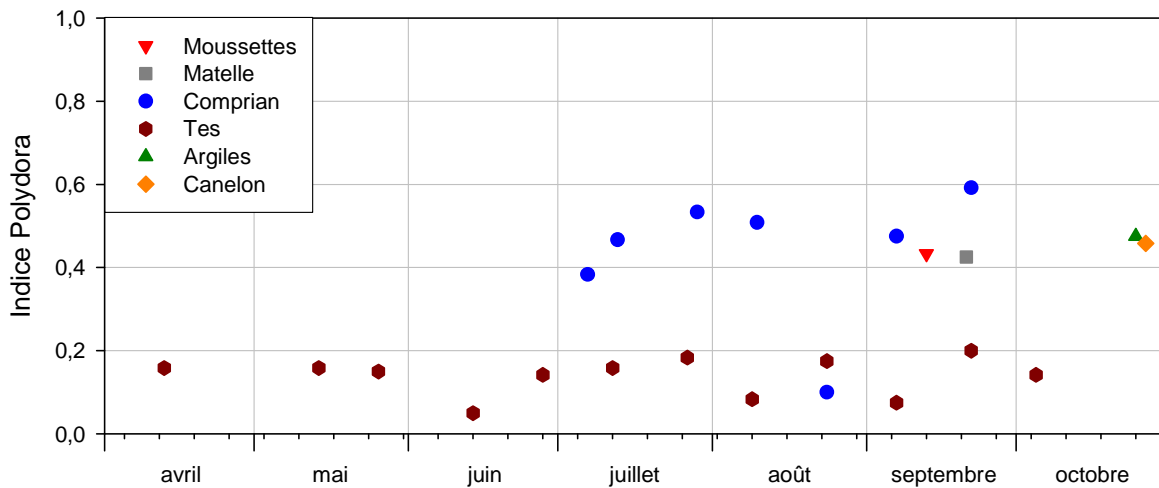


Figure 6 : Évolution de l'indice *Polydora* durant l'année 2010 pour les huîtres transplantées sur les secteurs de Comprian (bleu), Moussettes (rouge), Matelle (gris), Argiles (vert) et Canelon (orange) et pour les huîtres du suivi de l'Observatoire sur le site du Tès (marron).

L'indice *Polydora* sur le site de Comprian montre une certaine stabilité au cours du suivi, avec une petite augmentation durant le mois de juillet. Cette augmentation peut refléter le recrutement des larves de *Polydora* qui a habituellement lieu durant la fin de la période printanière (Cazaux, 1973). Seule une date se détache nettement de la tendance générale, le 24/08/2010 avec un indice de 0,1.

Les indices mesurés sur les autres sites indiquent un niveau d'infestation similaire à celui du site de Comprian.

Les huîtres transplantées montrent des indices *Polydora* bien plus élevés que ceux des huîtres du site de l'observatoire conchylicole. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer cette différence :

- L'infestation par le ver *Polydora* sp. est fonction de la bathymétrie. Plus un parc est profond et plus il a la possibilité d'être infesté (Ruellet, 2004). Les huîtres transplantées ont été déposées à même le sol, alors que les huîtres servant au suivi sont disposées dans des poches ostréicoles sur des tables.

- Le degré d'infestation augmente avec l'âge de l'huître car plus l'huître est âgée, plus la coquille est épaisse et possède des microcavités favorables à l'implantation des *Polydora* (Ruellet, 2004).
- Les dépôts de vase précèdent l'arrivée des larves de *Polydora*, la vase paraît même favoriser le recrutement (Lagadeuc, 1991). Les huîtres transplantées étant à même le sol, elles sont plus enclines à l'envasement et donc à l'infestation.
- Les lots d'huîtres transplantées n'ont pas fait l'objet d'un état sanitaire initial. On ne sait donc pas quel était leur degré d'infestation par les vers avant leur transplantation dans le Bassin d'Arcachon.

Rappelons que les huîtres infestées par les vers sont obligées d'allouer une partie de leur énergie à la reconstitution de leur coquille plutôt qu'à leur croissance et à leur reproduction (Kent, 1979 ; Almeida et al., 1996) et sont également plus sensibles aux prédateurs (Leloup, 1937).

3.5. Conclusion

Les 143 tonnes huîtres de l'opération RESUR 2 ont été déposées au le sol sans possibilité de différencier les lots des diverses origines. La majorité de ces huîtres (62 %) sont nées dans le Bassin d'Arcachon. Par ailleurs, une proportion non négligeable (22 %) de ces huîtres introduites est triploïde.

Ces huîtres ont subi une forte mortalité au moment de leur mise en place, ou peu après, sur les cinq sites (en moyenne 42 %). Sur les 83 tonnes de mollusques vivants au moment du frai, la part d'huîtres diploïdes a été estimée à 65 tonnes. Ce tonnage représente une fraction minime (estimée à 0,2 %) du stock d'huîtres présent dans le Bassin d'Arcachon, constitué d'environ 10 000 tonnes d'huîtres cultivées et d'importants gisements d'huîtres sauvages (environ 30 000 tonnes).

Les huîtres transplantées sur le site de Comprian ont frayé début juillet, quelques jours avant la date du premier frai important des populations arcachonnaises (entre le 8 et le 13 juillet), comme c'est souvent le cas pour les populations de ce secteur des hauts du Bassin. Pour cette raison, la fécondité de ces huîtres transplantées n'a donc pas pu être estimée.

Signalons enfin que les huîtres transplantées présentaient une infestation importante par *Polydora*, pouvant être préjudiciable à leur survie et à leur fécondité.

4. Où se distribuent les larves issues des différents sites de réensemencement ?

Les larves (ou véligères) formées à la suite du frai, mènent une vie pélagique, durant une quinzaine à une vingtaine de jours dans le Bassin d'Arcachon (Auby et Maurer, 2004). Pendant cette période, elles se disséminent, transportées par les courants générés principalement par la pénétration de la marée à l'intérieur de la Baie, et son reflux, courants dont l'intensité maximale augmente avec les coefficients de marée.

Afin de suivre le devenir des larves provenant des huîtres transplantées, des simulations de la dispersion de larves à partir des 5 sites de réensemencement ont été réalisées.

4.1. Les conditions de simulations

Le modèle courantologique MARS 3D de l'Ifremer a été mis en œuvre. Il s'agit d'un modèle tridimensionnel, constitué d'un réseau de mailles carrées de 235 m de côté, intégrant le Bassin d'Arcachon ainsi qu'une large partie océanique. Les larves d'huîtres sont considérées comme des éléments dissous dans la colonne d'eau, soumises aux conditions hydrodynamiques. Il est ainsi possible de suivre l'évolution de leur concentration au cours du temps.

Des simulations de la dispersion de larves d'huîtres dans des conditions théoriques de marée et de vent ayant été réalisées auparavant (Auby et Maurer, 2004), les conditions retenues dans le cadre de cette étude correspondent à la situation réelle de marée et de vent du premier frai important de l'été 2010.

- La date de ponte retenue a été celle du 10 juillet (cf. 3.2).
- La ponte a été traitée comme synchrone sur les 5 sites, pendant 1 h autour de la pleine mer (de PM -0,5 h à PM +0,5 h).
- Une émission de $1,8 \cdot 10^{13}$ ovocytes par site a été appliquée, correspondant à 30 tonnes d'huîtres de 250 g de poids moyen, émettant chacune 150 millions d'ovocytes (cf. 3.3).
- La durée de la vie pélagique de la cohorte a été estimée à 17 jours (cf. 3.2).

Les résultats obtenus permettent de visualiser la répartition des larves pour les conditions du premier frai de juillet 2010. Malgré l'application de conditions réelles de vent et de marée, les valeurs de concentration restent théoriques car aucune mortalité n'a été appliquée lors de la simulation. Ces valeurs résultent uniquement de la dispersion hydrodynamique des larves et de leur exportation éventuelle hors du Bassin.

Afin d'identifier les zones potentielles de recrutement selon le site de ponte, le cumul des larves passant sur chaque maille pendant les 24 dernières heures de la simulation a été calculé. Ce résultat permet d'intégrer les temps d'émersion de chaque maille, en

particulier celles de la zone intertidale, bien que cette méthode comporte le biais de comptabiliser plusieurs fois une même larve sur une ou plusieurs mailles.

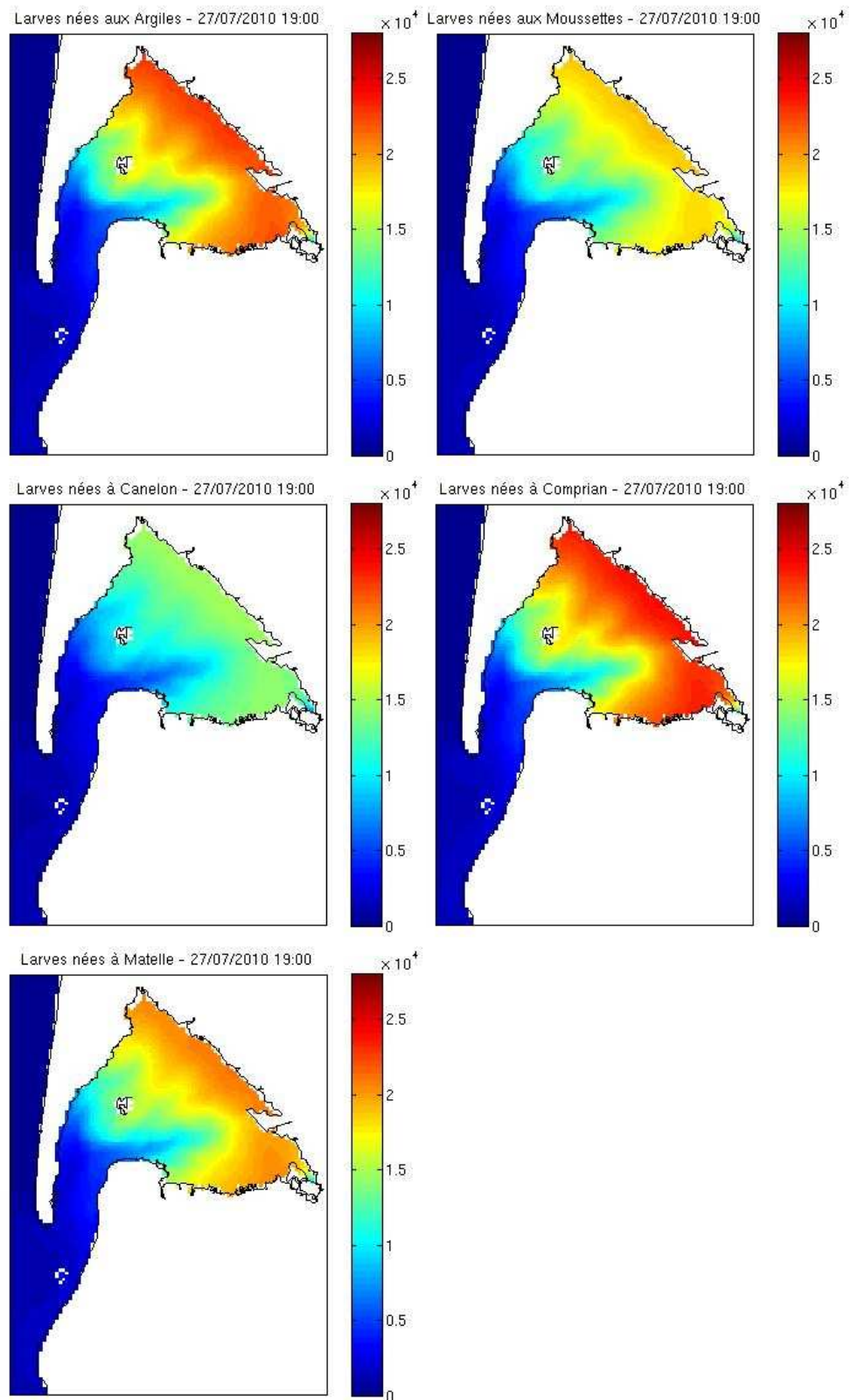


Figure 7 : Concentration des larves issues des différents sites de ponte, à pleine mer, après 17 jours de vie pélagique.

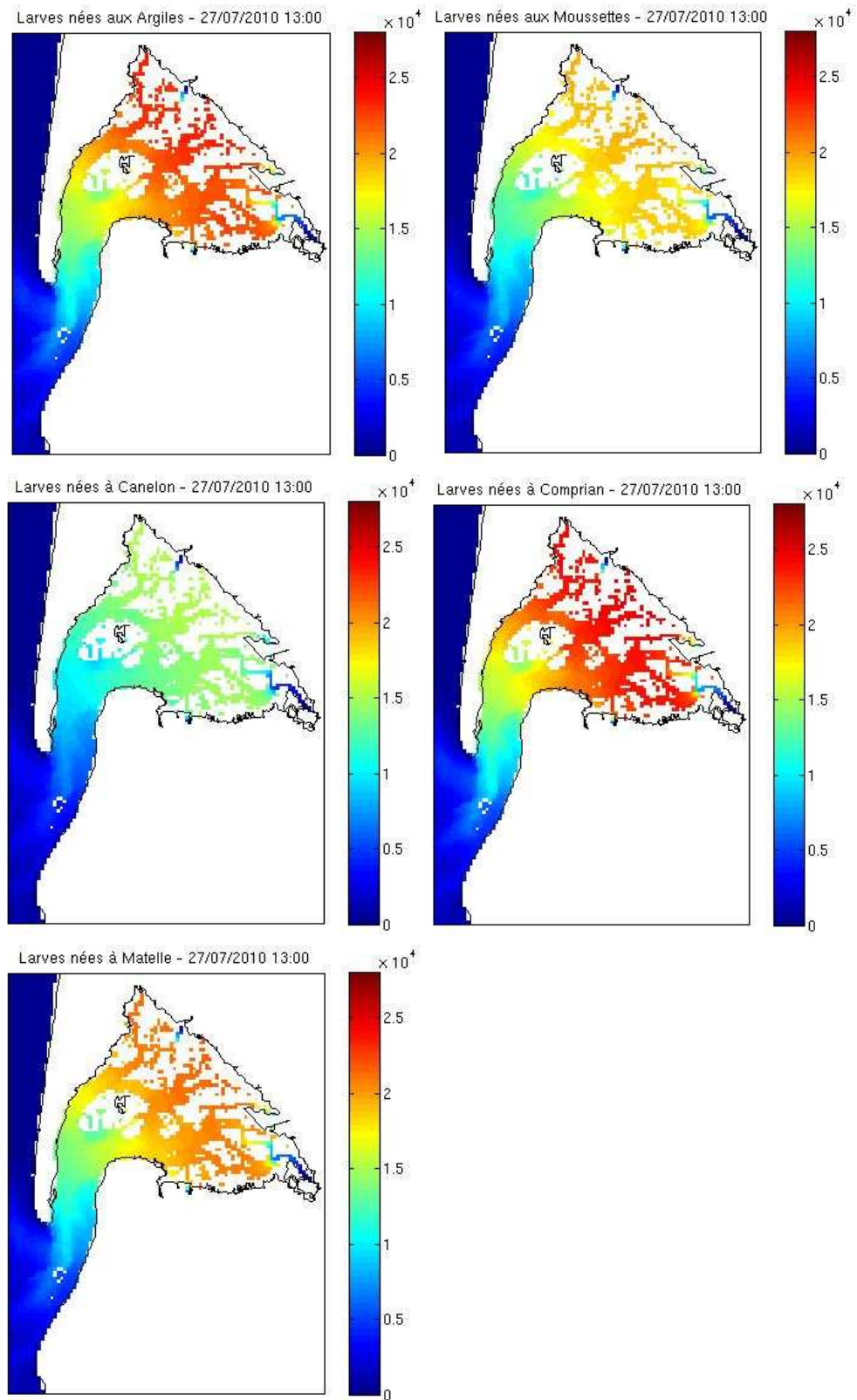


Figure 8 : Concentration des larves issues des différents sites de ponte, à basse mer, après 17 jours de vie pélagique.

4.2. Résultats

Les cartes de concentrations de larves à basse mer et à pleine mer (Figures 7 et 8) permettent de visualiser le déplacement des véligères en fonction de la marée. Les concentrations les plus élevées s'observent dans les hauts du Bassin à pleine mer (Figure 7) et dans toute la zone intermédiaire à basse mer du fait du reflux de l'eau vers l'océan (Figure 8). Après 17 jours de vie pélagique, les larves sont dispersées dans l'ensemble des zones internes de la Baie quel que soit le site de départ considéré. Les sites les plus proches de la sortie du Bassin (Canelon) ou des grands chenaux de circulation des eaux (Moussettes et dans une moindre mesure Matelle), présentent une proportion de larves exportées hors du Bassin supérieure à celle des sites plus internes (Argiles et Comprian) (Figure 8). Plus les pontes se produisent à l'intérieur de la Baie, plus leur probabilité d'y rester est grande (Auby et Maurer, 2004).

La figure 9 présente l'évolution des abondances de larves issues des différents sites de ponte, aux deux stations les plus éloignées l'une de l'autre : Argiles et Comprian. Ces courbes montrent que les concentrations de larves en chacun de ces points selon les diverses origines, convergent en 4 à 5 jours vers des valeurs du même ordre de grandeur (différences inférieures à un log). Ce qui montre que toutes les larves, quel que soit le site de ponte dont elles proviennent, se trouvent après quelques jours en quantité équivalente en tout point du Bassin. Un léger effet de la distance entre les sites peut cependant s'observer, la station Argiles semblant dans un premier temps un peu plus isolée des autres par exemple.

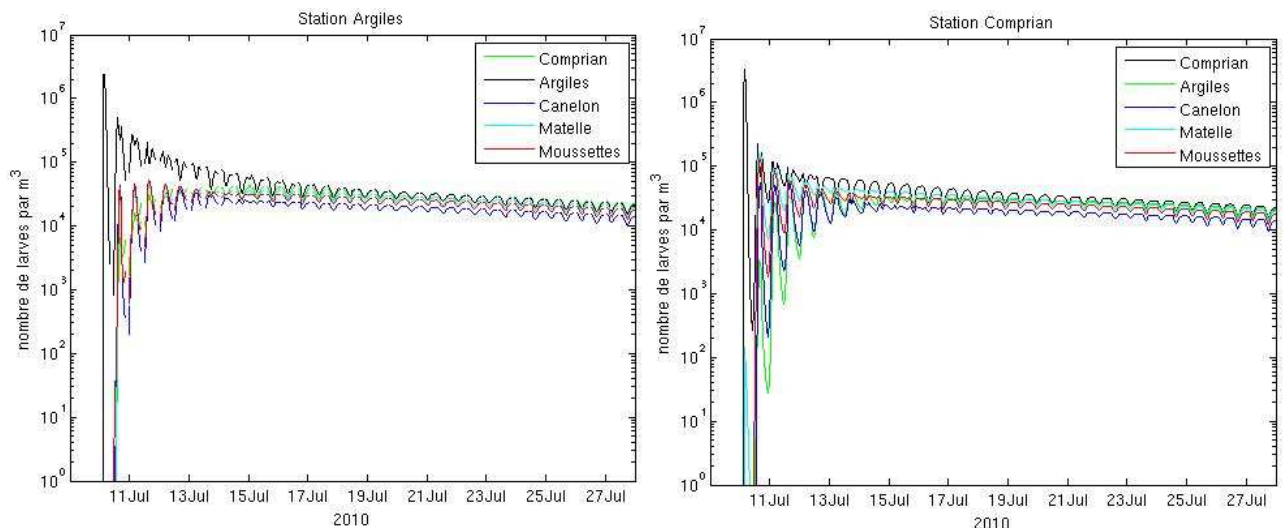


Figure 9 : Evolution au cours du temps des abondances de larves d'huîtres issues des 5 sites de ponte, aux Argiles et à Comprian.

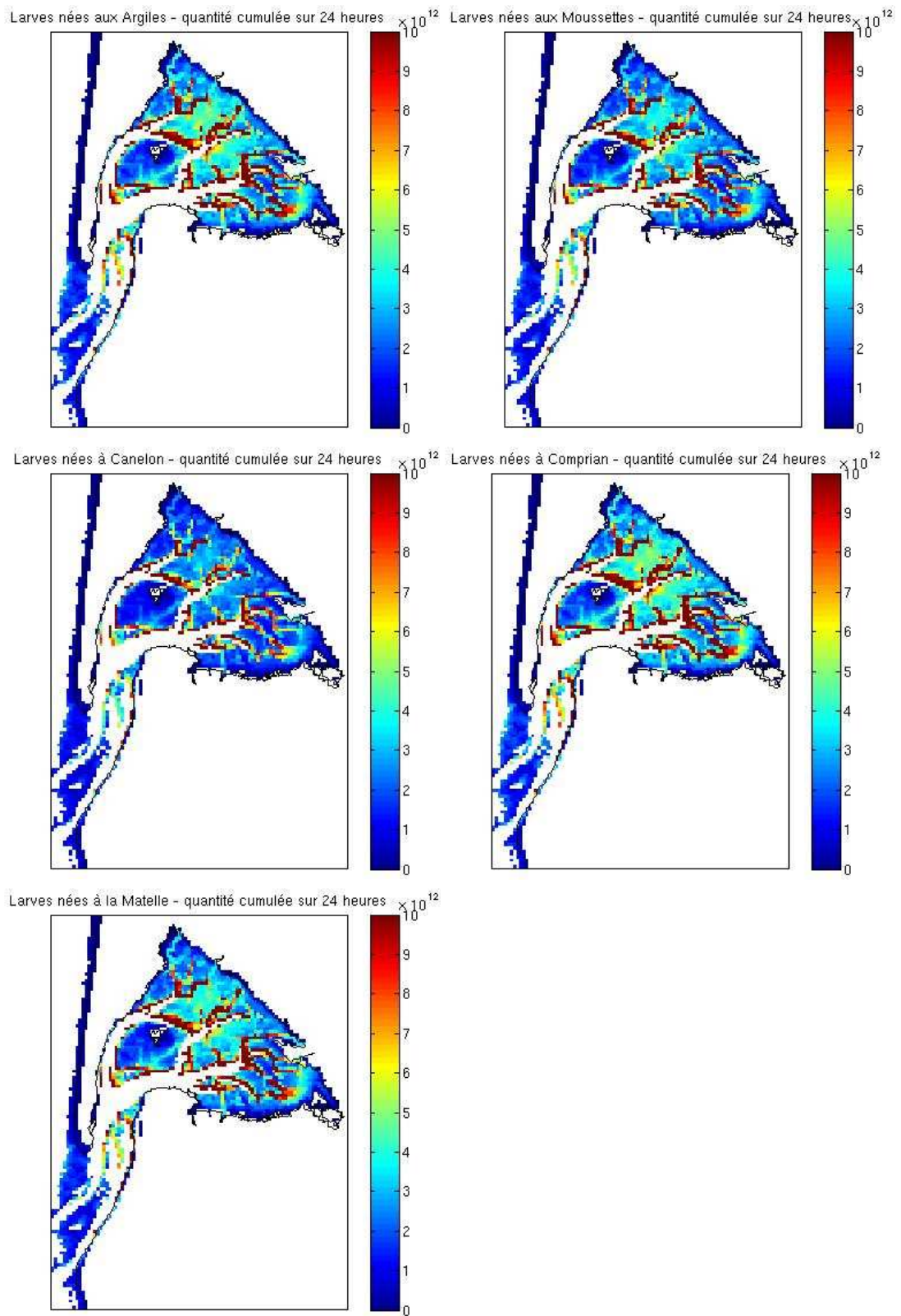


Figure 10 : Quantité cumulée, selon le site de ponte, de larves d'huîtres pendant les 24 dernières heures de la simulation effectuée sur 17 jours, dans la zone intertidale.

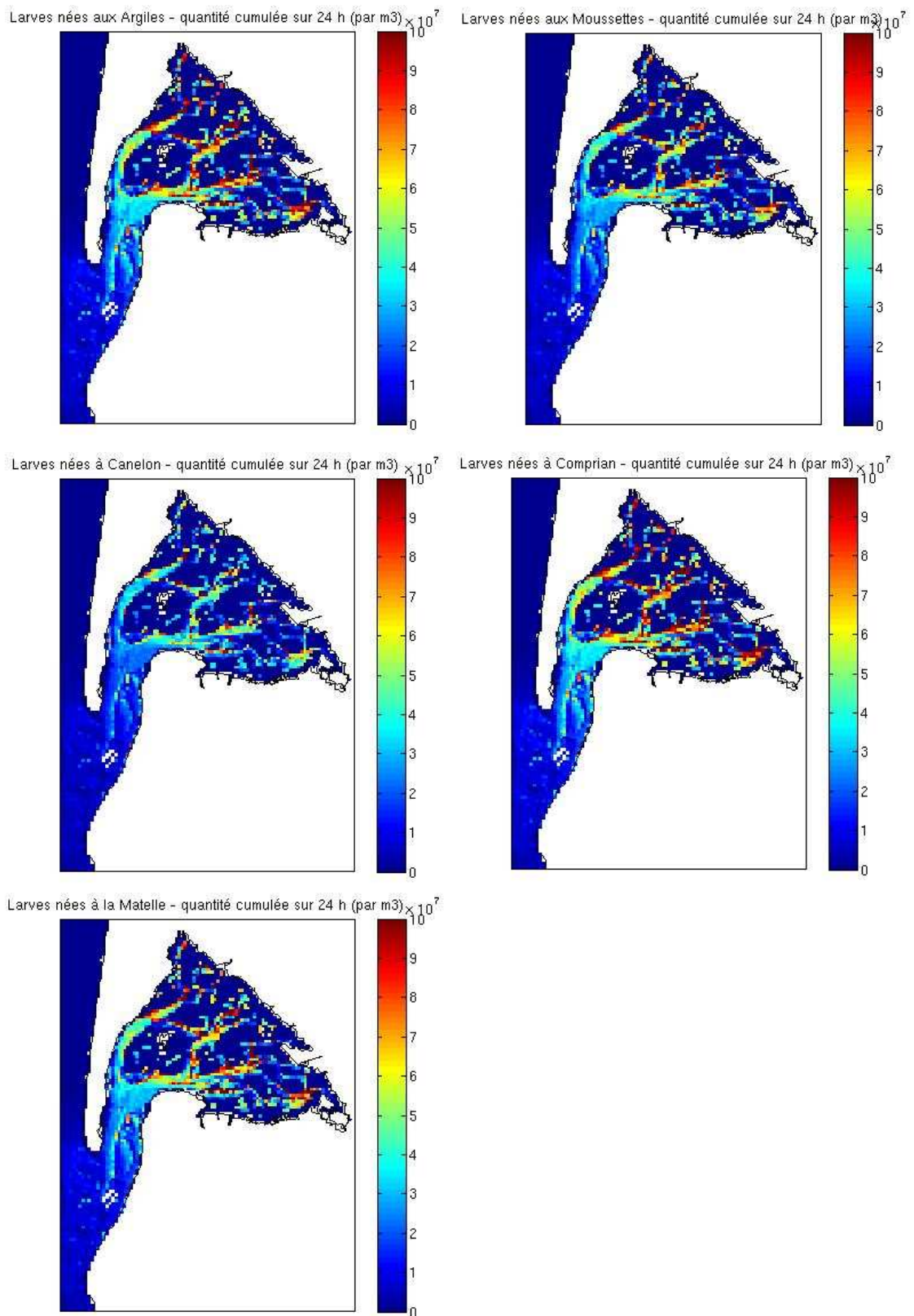


Figure 11 : Quantité cumulée rapportée au volume d'eau (nombre/ m^3), selon le site de pont, en larves d'huîtres pendant les 24 dernières heures de la simulation effectuée sur 17 jours.

Le cumul des larves sur la colonne d'eau pendant les dernières 24h de la simulation² permet d'apprécier les sites potentiellement les plus propices au recrutement (Figure 10). Ces zones se situent sur le bas de l'estran, le long des chenaux principaux et des chenaux secondaires internes. Elles correspondent aux espaces intertidaux les plus bas, présentant les périodes d'immersion les plus longues. Elles coïncident avec l'emplacement traditionnel des parcs de captage.

Il n'existe pas de différence marquée de répartition de ces zones selon les différents sites de ponte, ce qui rend de nouveau compte de la dispersion rapide et importante des larves. Les différences de quantité entre les sites de ponte sont, quant à elles, à mettre en rapport avec l'exportation des larves plus ou moins élevée selon la localisation des sites.

Le cumul des larves sur 24h rapporté au volume d'eau correspondant (nombre/m³) permet de s'affranchir de l'effet colonne d'eau et d'intégrer les zones subtidales (chenaux). Ce paramètre rend compte des secteurs où les larves sont en moyenne les plus concentrées au cours de la journée précédant leur fixation (Figure 11). Les cartes montrent que les concentrations les plus élevées peuvent être observées sur l'ensemble du Bassin, principalement dans et sur les bordures des chenaux internes. Ces résultats sont très proches de ceux présentés figure 10. De même, il n'existe pas de différence marquée de répartition de ces zones selon les différents sites de ponte.

4.3. Conclusion

Les résultats présentés, même s'ils cherchent à refléter une situation réelle, restent en partie théoriques pour plusieurs raisons :

- ils concernent le devenir d'une seule ponte, à une date et une heure précises (d'autres conditions pourraient conduire à des résultats ponctuellement différents) ;
- la comparaison des 5 sites de ponte est faite sur la base d'une contribution équivalente de chacun des sites à la reproduction ;
- aucune mortalité larvaire n'est appliquée lors de la simulation de la dispersion de la cohorte.

Pour ces raisons, les simulations doivent être plutôt utilisées comme un outil théorique permettant de dégager certains points forts :

- les sites de réensemencement doivent être localisés dans les parties internes de la Baie de façon à limiter la proportion de larves expulsées hors du Bassin ;
- le captage en un lieu est susceptible d'être alimenté aussi bien par les larves provenant des gamètes émis dans ce lieu que par celles provenant des gamètes émis ailleurs dans le Bassin ; la contribution réelle respective de chaque zone du Bassin au captage sera donc surtout fonction de l'effort de reproduction des huîtres présentes dans la zone (tonnage et fécondité).

² Il s'agit en fait d'un nombre de larves par unité de surface (ici la maille de 235 m de côté).

Signalons pour finir que la durée de vie pélagique de la cohorte de larves, 17 jours, est inférieure au temps de renouvellement des eaux internes du Bassin en période estivale, 20 à 23 jours (Plus *et al.*, 2006). Ceci signifie que, globalement, une forte proportion des larves a le temps de se maintenir dans la Baie pour y grandir et s'y fixer. Ceci n'exclut pas que, lors de conditions particulières de fortes marées et/ou de vents de nord et/ou ouest, une part plus importante de la cohorte puisse être exportée hors du Bassin. Cependant, il ne faut pas oublier que la survie des larves, liée principalement à une température élevée de l'eau lors de leur développement, et l'effort de reproduction restent les facteurs principaux expliquant la variabilité du recrutement d'une année à l'autre (Auby et Maurer, 2004).

5. Caractérisation génétique

Cette partie présente les résultats des analyses génétiques réalisées. L'objectif était de déterminer si des différences génétiques pouvaient être observées entre les animaux transplantés et les huîtres autochtones.

5.1. Matériel biologique

Trois échantillons d'huîtres creuses ont été prélevés sur le Bassin d'Arcachon sur différents points (Figure 12) :

- deux échantillons d'huîtres sauvages reçues le 7 juillet 2010 : « ARE » en provenance de Arès (50 individus) et « GAH » en provenance de Gahignon (50 individus),
- un échantillon reçu le 9 septembre 2010 : « COM » correspondant à des huîtres transplantées sur le site de Comprian (Lot n°2 et/ou n°20) (Tableau 2 : Origine et provenance des géniteurs introduits dans le Bassin d'Arcachon) (106 individus).

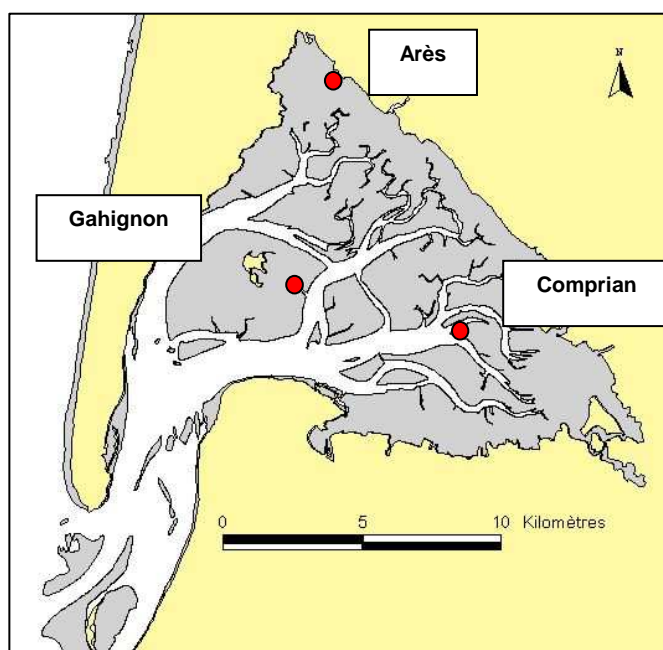


Figure 12 : Sites échantillonnés pour la caractérisation génétique des huîtres dans le Bassin d'Arcachon.

Ces trois échantillons seront respectivement appelés ARE, GAH, COM tout au long de cette partie.

5.2. Extraction de l'ADN

Des échantillons ont été prélevés à partir de tissus de branchies frais pour chaque individu. L'ADN génomique total a été extrait selon le protocole d'extraction au chloroforme suivi d'une purification par le kit « Wizard DNA Clean-Up System » (Promega) utilisé en routine au laboratoire. Une collection a également été réalisée à partir de tissus de branchies placées dans de l'éthanol à 70%.

5.3. Amplification par PCR

Cinq marqueurs génétiques de type microsatellite (répétition de motifs simples) : L10 (Huvet et *al.*, 2000), CG49 et CG108 (Magoulas et *al.*, 1998), AMY (Sellos et *al.*, 2003), CgSili44 (Sauvage et *al.*, 2007), ont été sélectionnés pour la caractérisation génétique (génotypage) des individus.

5.4. Génotypage

Avant l'analyse, un marqueur de taille fluorescent (ROX) a été ajouté. Après dénaturation (5 minutes à 96°C), les produits de PCR finaux ont été séparés et détectés par électrophorèse capillaire sur ABI PRISM 3130XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

La visualisation du profil de chaque individu sur chacun des locus a été réalisée grâce au logiciel GeneMapper® Software Version 4.0 d'Applied Biosystems. Les fragments de différentes longueurs sont visualisés pour chaque locus et chaque individu, le génotype est noté par la taille de l'allèle A et la taille de l'allèle B. Un exemple imagé de résultats est donné en Annexe 5. Les données brutes sont présentées en Annexe 6. Les « 00 » indiquent des données manquantes.

Pour l'échantillon COM, cinquante et un individus (48%) ont dû être écartés du jeu de données car il a été mis en évidence la présence de trois pics sur plusieurs marqueurs (Annexe 7) montrant leur triploïdie. Les résultats bruts sont donnés en Annexe 8. Il est à noter qu'aucun animal des populations d'Arcachon (ARE et GAH) n'est triploïde.

5.5. Analyse de la variabilité génétique

Les paramètres de diversité et de différenciation génétique ont été analysés grâce au logiciel GENETIX (Belkhir et *al.* GENETIX, logiciel sous Windows™ pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France)). De plus, la richesse allélique a été analysée grâce au logiciel FSTAT (Goudet, 2001, FSTAT a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3)).

Le nombre d'allèles (fragments de taille différente) par marqueur (appelé aussi locus) est important, entre 32 pour L10 et AMY et 36 pour CG108 (Figure 13), et comparable avec les études déjà réalisées chez *C. gigas*. Pour le marqueur Sili44, celui-ci est

réduit. Il s'agit d'un marqueur issu d'une zone codante du génome ce qui peut expliquer cette différence.

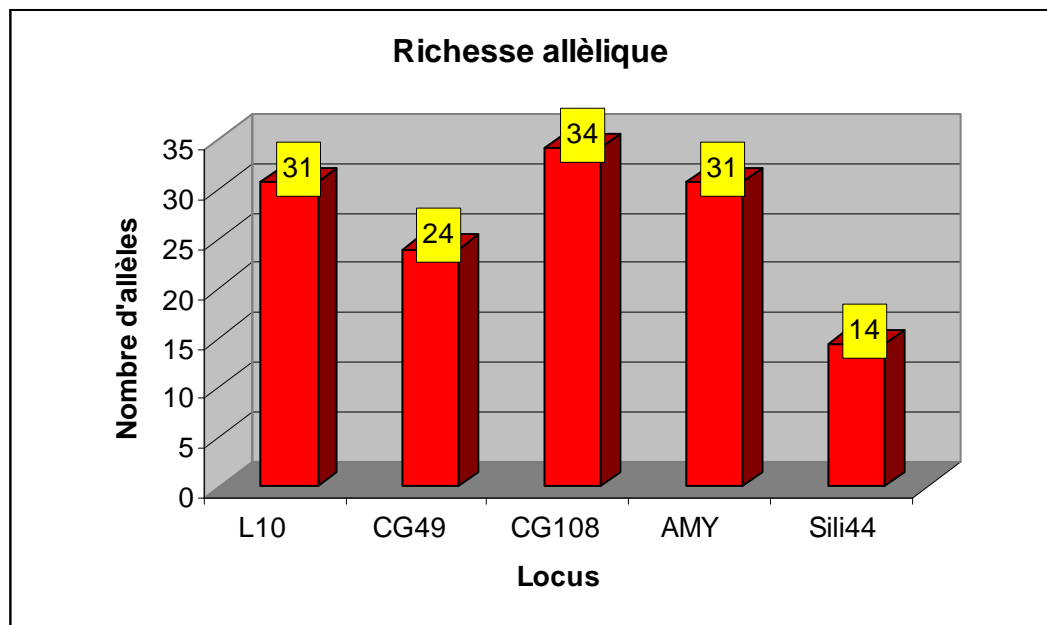


Figure 13 : Nombre d'allèles par marqueur (locus).

Ce nombre important d'allèles est une caractéristique classiquement rencontrée chez cette espèce très polymorphe (Sauvage et *al.*, 2007).

De plus, le nombre d'allèle par locus varie selon les échantillons étudiés (Figure 14). Ainsi, l'échantillon COM montre un nombre d'allèles inférieur à celui des populations ARE et GAH pour tous les locus à l'exception de Sili44.

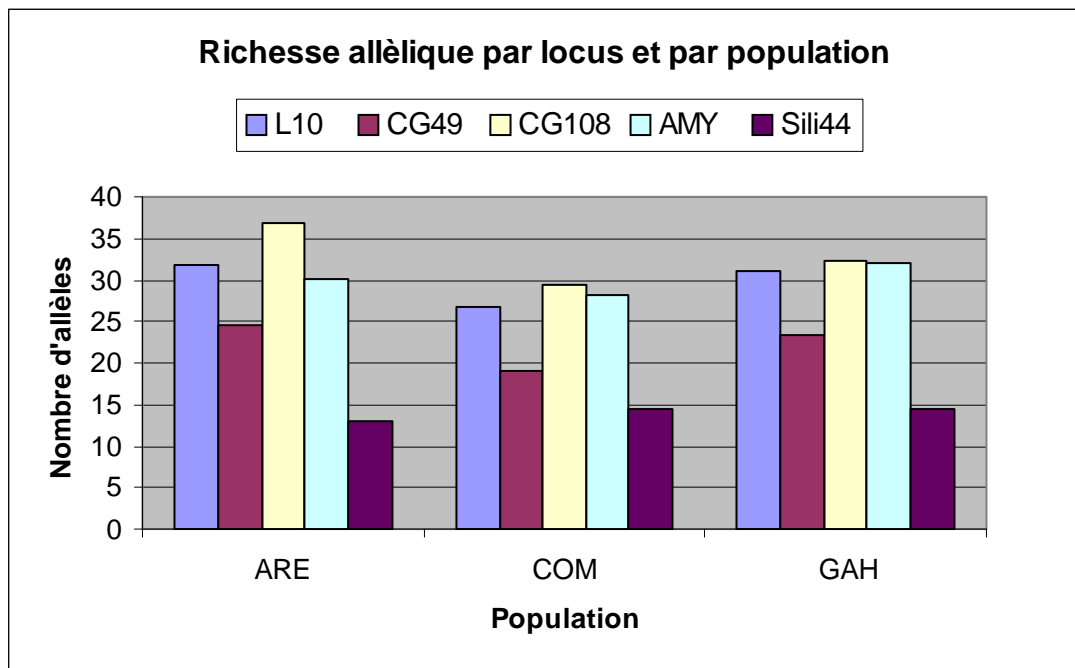


Figure 14 : Nombre d'allèles par locus et par population en tenant compte des différences de taille d'échantillonnage.

La richesse allélique prend en compte la variabilité de l'échantillonnage et estime un nombre théorique d'allèles contenu dans chaque population à échantillonnage identique. Ceci permet de comparer la variabilité génétique entre les populations. Ainsi, il apparaît que l'échantillon COM montre une variabilité génétique légèrement plus faible que les échantillons ARE et GAH.

Nous avons ensuite estimé le paramètre F_{is} qui permet d'estimer l'écart à un équilibre génétique théorique pour chaque population et à chaque marqueur. Le F_{is} moyen par marqueur est représenté sur la figure 15 et met en évidence que, pour les marqueurs CG49 et CG108, le déséquilibre est très important, ce qui est certainement dû à la présence d'allèles nuls (non visualisables lors du génotypage). Comme ceci risque d'entraîner un biais dans l'interprétation des données, ces deux marqueurs ont été éliminés de l'analyse de différenciation qui a été réalisée par la suite entre les populations.

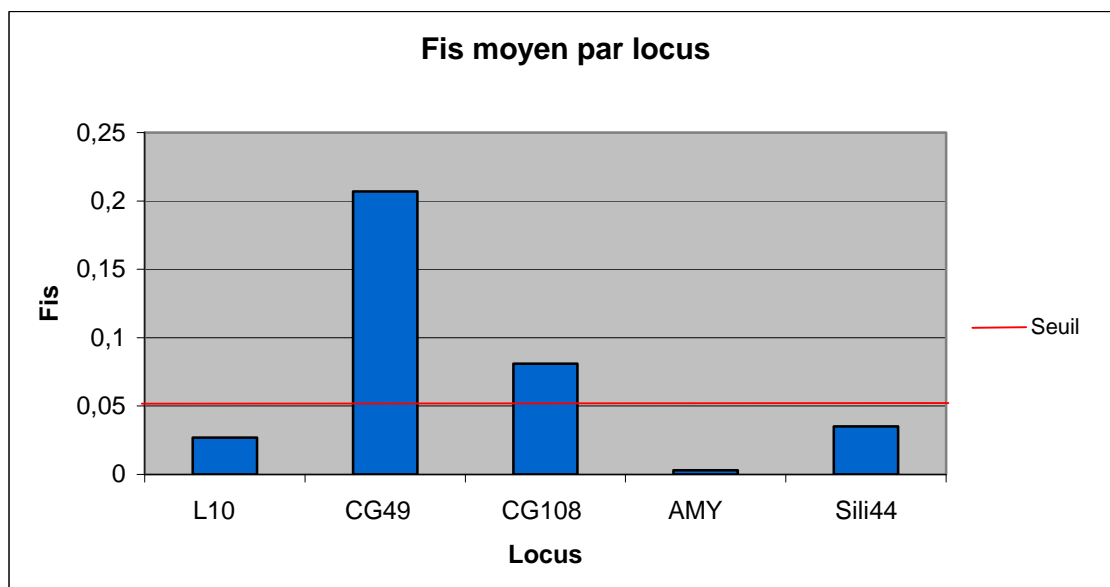


Figure 15 : Fis moyen par locus pour les trois populations étudiées.

5.6. Analyse de la différence entre populations prises 2 à 2

Le paramètre F_{st} permet de déterminer la part de la variabilité existant entre les deux populations prises deux à deux et donc de déterminer si ces populations peuvent être considérées comme génétiquement différenciées ou non (Tableau 4 au dessus de la diagonale). Ces valeurs sont accompagnées d'un test permettant de savoir si la valeur obtenue est significativement différente de 0 ou non au seuil 5% (en dessous de la diagonale).

Tableau 4 : Résultat des F_{st} entre paires de populations. Les seuils de significativité à 5 % sont indiqués en vert (NS : non significatif).

	ARE	COM	GAH
ARE		0,0030	0,0008
COM	NS		0,0027
GAH	NS	NS	

Les F_{st} par paires de populations varient de 0,08 à 0,3% et ne sont pas significativement différentes de zéro, **ce qui indique que les populations ne sont pas génétiquement différenciées.**

5.7. Conclusion

L'étude génétique permet de conclure que :

1) Des animaux triploïdes (estimation de 48% dans notre échantillonnage) ont été transplantés en même temps que des animaux diploïdes. Ceci confirme les informations données dans le Tableau 2 (voir chiffres en gras), puisque les huîtres qui ont été transplantées à Comprian proviennent de deux lots (n°2 et n°20) en mélange, le lot n°20 étant composé d'animaux d'écloserie (de s triploïdes) à 40%. La proportion théorique des triploïdes à Comprian est de 32 % (cf. 3.3). Notre estimation, supérieure à ce chiffre théorique, peut résulter d'un taux de mortalité différent sur les huîtres triploïdes et diploïdes lors du transport et du dépôt.

2) Les animaux transplantés (une fois les triploïdes enlevés de l'analyse) ne sont pas différenciés génétiquement des huîtres des deux populations arcachonnaises. Ceci est aussi cohérent avec le fait que les huîtres transplantées sont des animaux originaires d'Arcachon (cf. Tableau 2). Il n'apparaît donc pas possible de différencier les diploïdes transplantés à Comprian des diploïdes d'Arcachon. Ceci rejoint les premiers résultats déjà obtenus à l'échelle européenne (projet européen HiFlo, résultats non encore publiés) qui mettent en évidence une homogénéité importante des populations sauvages de *C. gigas* des côtes atlantiques de la France aux Pays-Bas, certainement due aux transferts d'huîtres importants réalisés sur nos côtes françaises en particulier.

3) Cette homogénéité s'accompagne d'une grande variabilité génétique comparable à celle observée dans un échantillon de référence japonais (données HiFlo). Ainsi, au niveau français, les trois groupes échantillonnés dans le cadre de cette étude (un d'élevage et deux sauvages), présentent cette même importante variabilité génétique que l'on retrouve également sur des populations sauvages de l'Adour, de Marennes-Oléron, de Bretagne ou de Méditerranée. Les seules valeurs de variabilité génétique plus faibles sont rencontrées dans le nord de l'Europe, où les populations semblent représenter un sous-échantillonnage de la variabilité trouvée en France.

4) L'absence de différence significative entre les populations naturelles du Bassin d'Arcachon et les animaux transplantés sur le site de Comprian, et l'homogénéité importante des populations d'huîtres *Crassostrea gigas* au niveau national, ne permettent pas d'envisager l'identification des juvéniles issus des huîtres transplantées dans le Bassin d'Arcachon durant le printemps dans le naissain collecté en 2010.

6. Conclusion générale

En réponse à la faible intensité des pontes observées depuis quelques années dans le Bassin d'Arcachon, notamment dans le secteur sud-est, la profession ostréicole arcachonnaise a décidé de mener une opération de réensemencement d'huîtres dans les hauts du Bassin (opération RESUR 2) avec comme objectifs :

- d'accroître la diversité génétique de la population locale par l'apport de géniteurs extérieurs au Bassin,
- de renforcer le potentiel de reproduction dans les hauts du Bassin.

L'Ifremer a été sollicité pour effectuer un suivi des lots d'huîtres introduites.

Les 143 tonnes huîtres de l'opération RESUR 2 ont été déposées au sol, sans possibilité de différencier les lots des diverses origines. Il s'est par la suite avéré que la majorité de ces huîtres (62 %) étaient nées dans le Bassin d'Arcachon et que 22 % était des huîtres triploïdes provenant donc d'écloserie. La population non indigène susceptible de contribuer à la reproduction était donc de 23 tonnes.

Ces huîtres ont subi de fortes mortalités avant et au moment de leur mise en place sur les 5 sites (en moyenne 42 %). Sur les 83 tonnes de mollusques vivants au moment du frai, la part d'huîtres diploïdes a été estimée à 65 tonnes dont 9 tonnes non indigènes. Ce tonnage représente une fraction minime (estimée à moins de 1 millième) du stock d'huîtres présent dans le Bassin d'Arcachon, constitué d'environ 10 000 tonnes d'huîtres cultivées et d'importants gisements d'huîtres sauvages (dont le tonnage est inconnu mais supposé avoisiner au moins 30 000 tonnes).

Les huîtres transplantées sur le site de Comprian ont frayé début juillet, quelques jours avant la date du premier frai principal (que l'on peut situer entre le 8 et le 13 juillet), comme c'est souvent le cas pour les populations de ce secteur des hauts du Bassin. La fécondité de ces huîtres n'a donc pas pu être estimée, le suivi ayant débuté le 7 juillet, après qu'elles aient frayé.

Cependant, compte tenu du faible tonnage de diploïdes survivantes sur ce site (9,6 tonnes), on peut supposer qu'elles n'ont pu participer que de façon limitée à la reproduction dans un secteur où se trouvent d'importants gisements d'huîtres sauvages, même si ces dernières présentent une moindre fécondité.

Signalons enfin que les huîtres transplantées présentaient une infestation importante par *Polydora*, pouvant être préjudiciable à leur survie et à leur fécondité.

La simulation de la dispersion de cohortes larvaires issues des 5 sites de réensemencement a permis de dégager les éléments suivants :

- les larves se dispersent rapidement dans l'ensemble des zones internes du Bassin, en 4 à 5 jours, quelque soit le site dont elles sont issues ; elles sont plus abondantes dans les hauts du Bassin ;
- les sites potentiellement les plus propices au recrutement se situent sur le bas de l'estran, le long des chenaux principaux et des chenaux secondaires internes ; ils coïncident avec l'emplacement traditionnel des parcs de captage ;

- plus les sites de réensemencement sont situés dans les parties internes de la Baie, moins les larves qui en sont issues risquent d'être exportées hors du Bassin au cours de leur développement ;
- le captage en un secteur est susceptible d'être alimenté aussi bien par les larves formées dans ce secteur que par celles formées dans le reste du Bassin ; la contribution réelle respective au captage de chaque zone de la Baie sera donc surtout fonction de l'effort de reproduction (tonnage et fécondité) des huîtres présentes dans cette zone.

L'étude génétique a confirmé la présence d'une proportion importante d'huîtres triploïdes sur le site de Comprian. Elle a également montré que les huîtres diploïdes transplantées (d'origine arcachonnaise) n'étaient pas différenciées génétiquement des deux populations naturelles arcachonnaises analysées. Les premiers résultats du projet européen HiFlo montrent de plus une homogénéité importante des populations sauvages de *C. gigas* des côtes atlantiques de la France aux Pays-Bas, ne permettant pas de les différencier génétiquement.

Enfin l'étude souligne que cette homogénéité s'accompagne d'une grande variabilité génétique, comparable à celle observée dans un échantillon de référence japonais (données HiFlo), variabilité retrouvée également sur des populations sauvages de l'Adour, de Marennes-Oléron, de Bretagne et de Méditerranée.

En conclusion, la richesse allélique (variabilité génétique) de la population sauvage d'Arcachon comparable à celle des différentes populations observées en France et à celle d'un échantillon référence japonais réfute l'hypothèse d'un dépérissement génétique de la souche locale. L'homogénéité des populations d'huîtres en France ne permet pas d'envisager l'identification des juvéniles issus des populations transplantées.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Almeida, M. J., J. Machado & J. Coimbra (1996). The effect of *Polydora* sp. infestation on the shell calcification of the oyster *Crassostrea gigas*. *Bulletin de l'Institut océanographique*, Monaco n°spécial 14 : 195-202.
- Auby I., Maurer D (2004). Etude de la reproduction de l'huître creuse dans le Bassin d'Arcachon- Rapport final. *Rapport Ifremer R.INT.DEL/AR/04.05*, 203 p.+ Annexes.
- Blanchet H. (2004). Structure et fonctionnement des communautés benthiques du Bassin d'Arcachon. *Thèse de Doctorat*, Université de Bordeaux I.
- Cazaux, C. (1973). Cycle et distribution des larves de polychètes ; caractères du méroplancton des différents types de masses d'eaux du Bassin d'Arcachon. *Bull. Ecol.* 4 : 257-275
- Chavez-Vllalba, J., Mingant, C., Cochard, J.C., Le Pennec, M. (2001). Gamétogenèse chez l'huître *Crassostrea gigas* de l'Aber Benoît (Bretagne, France), à la limite nord de son aire de reproduction. *Haliotis* 30 : 1-12.
- Huvet A, Boudry P, Ohresser M, Delsert C, Bonhomme F (2000) Variable microsatellites in the Pacific cupped oyster *Crassostrea gigas* and other cupped oyster species. *Anim Gen* 37:71–72
- Huvet A, Fabioux C, McCombie H, Lapègue S, Boudry P (2004) Natural Hybridization between genetically differentiated populations of *Crassostrea gigas* and *C. angulata* highlighted by sequence variation in flanking regions of a microsatellite locus. *Mar Ecol Prog Series* 272: 141-152.
- Kent, R. M. L. (1979). The influence of heavy infestations of *Polydora ciliata* on the flesh content of *Mytilus edulis*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 59 : 289-297.
- Lagadeuc, Y. (1991). La vase à *Polydora ciliata* (Johnston, 1828), annélide polychète : Origine et influence sur la fixation des larves. *CAH. BIOL. MAR.* ; vol32 ; n°4 ; pp. 439-450
- Le Dantec, J. (1968). Ecologie et reproduction de l'huître portugaise, *Crassostrea angulata* Lmk dans le bassin d'Arcachon et sur la rive gauche de la Gironde. *Rev. Trav. Inst. Pêches Marit.* , 32 (3) : 327-362.
- Leloup, E. (1937). Contribution à l'étude de la faune belge. VIII. Les dégâts causés par le ver *Polydora ciliata* (Johnston) dans les coquilles des bigorneaux et des huîtres. *Bulletin du Musée royal d'histoire naturelle de Belgique* 13 : 1-4.
- Magoulas A, Gjetvaj B, Terzoglou V, Zouros E (1998) Three polymorphic microsatellites in the Japanese oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Anim Gen* 29:63–72.
- Plus M., Maurer D., Stanisière J.Y., Dumas F. (2006). Caractérisation des composantes hydrodynamiques d'une lagune mésotidale, le Bassin d'Arcachon.

PNEC – Chantier Littoral Atlantique : Mode de fonctionnement des systèmes semi-fermés du littoral atlantique. Thème 1 : Caractérisation des forçages hydrodynamiques. Rapport Ifremer RST/LER/AR/06.007 : 54 p + erratum.

Roughley, T.C. (1925). The perils of an oyster. *The Australian Museum Magazine* 2 (8) : 1-32.

Ruellet, T. (2004). Infestation des coquilles d'huîtres *Crassostrea gigas* par les polydores en Basse-Normandie : recommandation et mise au point d'un traitement pour réduire cette nuisance. *Thèse de Doctorat*. Université de Caen / Basse-Normandie. 270p

Sauvage C, Boudry P, Lapègue S, Bierne N (2007) Single Nucleotide polymorphisms and their relationship to codon usage bias in the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*. *Gene* 406: 13-22.

Sauvage C, Boudry P, Lapègue S (2009) Identification and characterization of 18 novel polymorphic microsatellite markers derived from expressed sequence tags in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Molecular Ecology Resources* 9(3): 853-855.

Sellos D, Moal J, Degremont L, Huvet A and 5 others (2003) Structure of amylase genes in populations of Pacific cupped oyster (*Crassostrea gigas*): tissue expression and allelic polymorphism. *Mar Biotechnol* 5:360–372.

ANNEXES

Annexe 1 : Sites de pêches de larves pour le programme VELYGER

Annexe 2 : Classification de l'infestation des huîtres par le ver *Polydora*

Annexe 3 : Stades de maturité de l'huître creuse *Crassostrea gigas*

Annexe 4 : Différences entre huître triploïde et huître diploïde

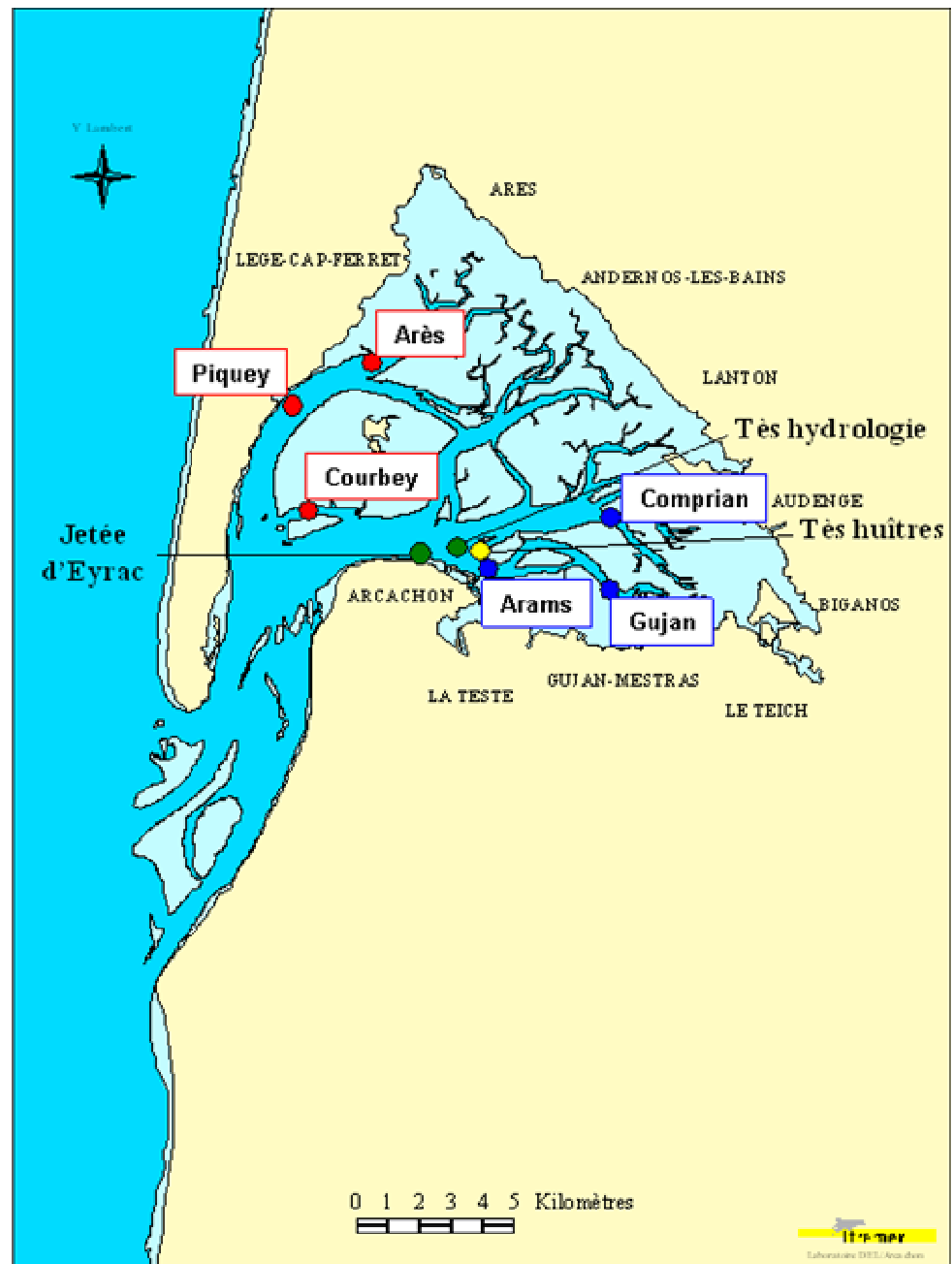
Annexe 5 : Exemple de données (chromatogrammes) obtenues avec le logiciel GeneMapper et interprétation génétique

Annexe 6 : Génotypes obtenus pour les cinq marqueurs microsatellites

Annexe 7 : Exemple de chromatogrammes mettant en évidence un individu triploïde

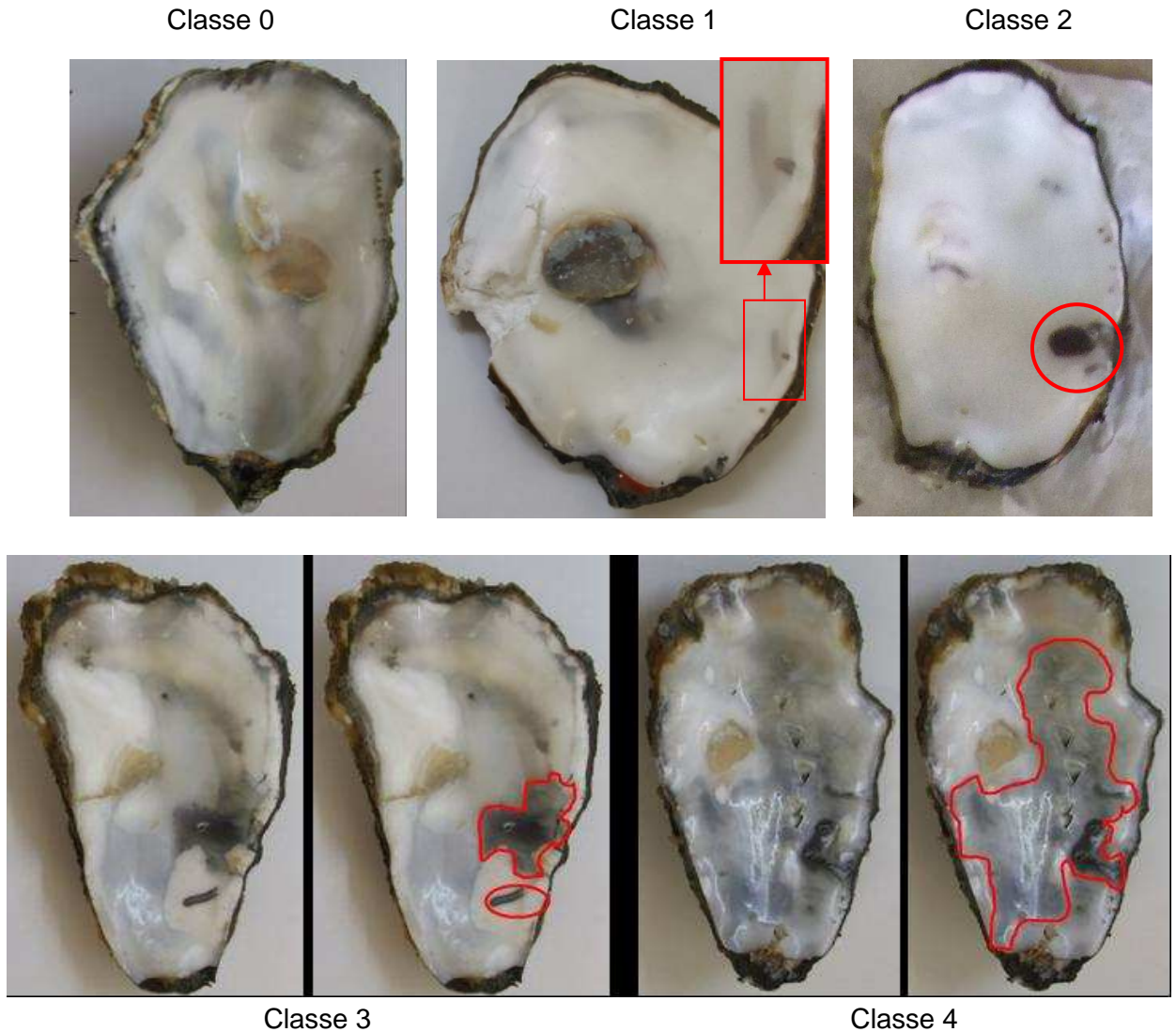
Annexe 8 : Liste des individus triploïdes de la population COM avec leurs allèles pour trois marqueurs

Annexe 1 : Sites de pêches de larves pour le programme VELYGER



Sites de pêches des larves : secteur Ouest en rouge (Piquey, Arès et Courbey) et secteur Est en bleu (Arams, Gujan et Comprian)

Annexe 2 : Classification de l'infestation des huîtres par le ver *Polydora*



- Classe 0 (pas de ver actif) : pas de galerie ou de chambre (ou bien recalciée).
- Classe 1 (présence de ver mais sans impact commercial) : petites galeries seulement, pas de chambre.
- Classe 2 : pas plus de 2 chambres et surface infestée < 10% de la coquille.
- Classe 3 (commerciallement inacceptable) : plus de 2 chambres ou surface infestée comprise entre 10 et 25%.
- Classe 4 (totalement infestée) : surface infestée > 25%.

Annexe 3 : Stades macroscopiques de maturité de l'huître creuse *Crassostrea gigas* (d'après Le Dantec, 1968)

L'état de maturité de la gonade a été évalué par examen macroscopique et par des observations au microscope de frottis de la gonade, selon les 6 stades suivants :

- Stade 0 – 5 : gonade vide ; correspond au repos sexuel ou à la fin de l'expulsion des gamètes. Début de la gamétogenèse ; multiplication des gonies.
- Stade 2 : gonade bien développée mais la dissociation des gamètes reste difficile.
- Stade 3 : ce stade se divise en 2 :
 - Stade 3P : état moyen de réplétion de la gonade ; gamètes abondants et facilement dissociables.
 - Stade 3H : état maximum de réplétion ; gonade hypertrophiée ; couche blanc-crème épaisse entourant la masse viscérale ; gamètes très abondants et obtenus par très légère pression.
- Stade 4 : stade d'émission des gamètes ; il y a régression du volume de la gonade dont la coloration devient jaunâtre, la partie antérieure de la glande digestive est visible ; les gamètes sont moins abondants.
- Stade 5 : déplétion presque complète ; animal maigre ; stade se confondant avec le stade 0.

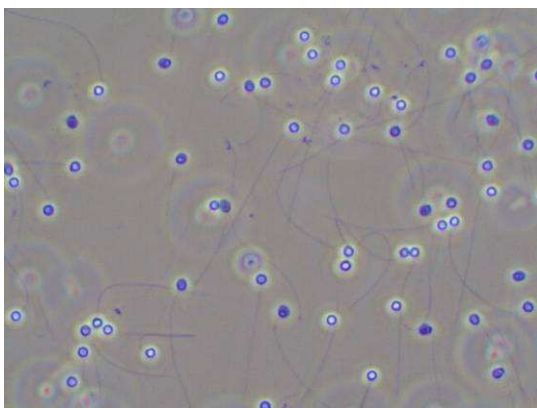
Annexe 4 : Différences entre huître triploïde et huître diploïde

huître triploïde

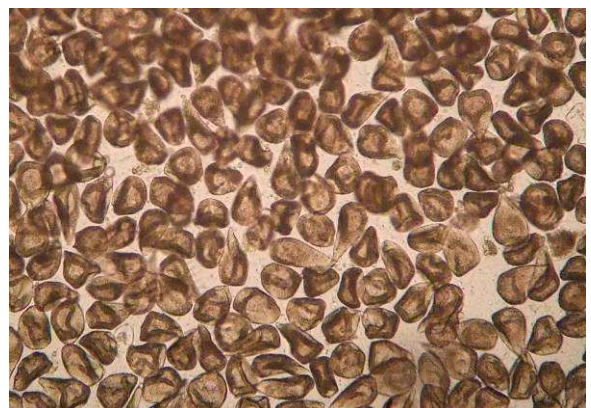


huître diploïde

La diploïdie et la triploïdie sont appréciées par un examen macroscopique des huîtres basé sur l'aspect du manteau (réserves) et sur un examen microscopique des gamètes (présence ou non, abondance).

Gamètes d'huîtres diploïdes

gamètes mâles (au grt 1 000)



gamètes femelles (au grt 40)

Annexe 5 : Exemple de données (chromatogrammes) obtenues avec le logiciel GeneMapper et interprétation génétique



Chacune des trois couleurs représente les résultats obtenus pour un marqueur microsatellite différent, CG108 en bleu, L10 en vert, et CG49 en noir, pour l'individu GAH03. Le ou les deux plus grands pics correspondent aux allèles rencontrés (129 et 133 pour CG108, 133 et 148 pour L10, et 130 pour CG49). Ceci se traduit par les génotypes suivants pour l'individu GAH03 (notés 129133 pour CG108, 133148 pour L10 et 130130 pour CG49), que l'on retrouve dans l'annexe 6 en gras.

Annexe 6 : Génotypes obtenus pour les cinq marqueurs microsatellites

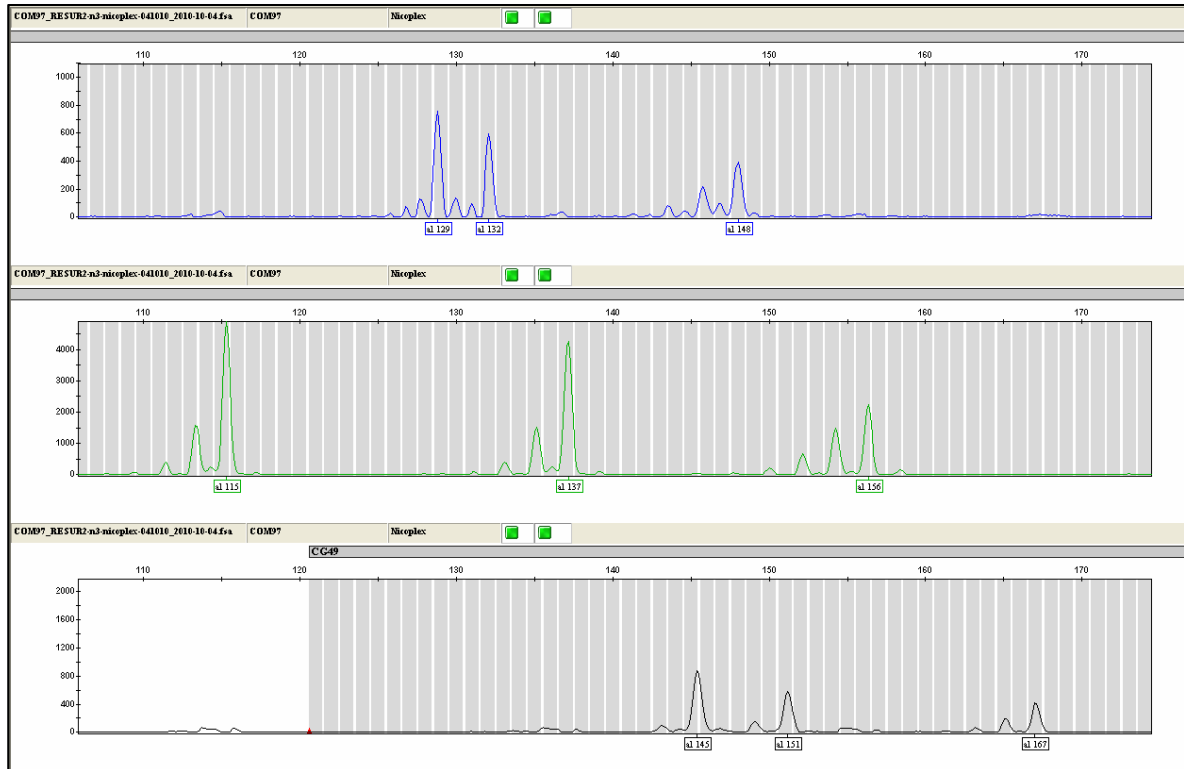
	L10 AlleleAAlleleB	CG49 AlleleAAlleleB	CG108 AlleleAAlleleB	AMY AlleleAAlleleB	Sili44 AlleleAAlleleB
ARE1	166166	130151	132134	225251	350353
ARE2	139170	151151	132144	226244	00
ARE3	129131	138138	136141	210274	350351
ARE4	139155	157159	137150	221246	344353
ARE5	135168	00	131131	223266	350352
ARE6	119150	138149	125154	234236	349354
ARE7	127133	149159	129156	203227	346353
ARE8	113190	136148	99184	218236	349351
ARE9	123168	149149	141147	212231	349352
ARE10	168181	00	120138	207231	00
ARE11	135141	145165	113129	225246	00
ARE12	135137	143147	00	218234	351352
ARE13	127135	171171	120131	203236	345352
ARE14	139152	145145	131161	214238	349350
ARE15	148178	136145	147150	223231	349355
ARE16	115147	136165	119158	225295	353355
ARE17	137152	149175	139157	00	00
ARE18	129133	147163	125130	234255	00
ARE19	159163	134134	121137	238251	345349
ARE20	133135	128171	122166	218227	349353
ARE21	141152	153175	142148	00	00
ARE22	152168	132132	131134	203307	00
ARE23	133133	167186	151151	242246	00
ARE24	125146	159167	117131	223236	350352
ARE25	131157	136159	115147	218231	00
ARE26	129139	130177	131134	216258	349351
ARE27	115163	147151	123123	229268	00
ARE28	131144	171182	105105	231233	351353
ARE29	144155	132136	127127	203214	343352
ARE30	146161	138147	129146	199246	00
ARE31	111137	147171	123138	227231	00
ARE32	168172	145177	131143	206227	348355
ARE33	131146	149149	131141	223270	00
ARE34	127159	140145	131134	244246	00
ARE35	144144	157157	129151	214270	352353
ARE36	139144	147178	111145	229233	350356
ARE37	125180	147177	132135	218249	00
ARE38	144176	130167	134154	223236	352356
ARE39	144157	138149	134178	214251	352356
ARE40	107119	159161	142144	203229	354356
ARE41	129178	147147	122146	216247	00
ARE42	102172	127145	119121	240246	00

	L10 AlleleAAlleleB	CG49 AlleleAAlleleB	CG108 AlleleAAlleleB	AMY AlleleAAlleleB	Sili44 AlleleAAlleleB
ARE43	137165	148171	133186	221238	353355
ARE44	146224	132148	123126	240242	351354
ARE45	135146	00	132141	218253	349351
ARE46	135137	148148	145145	214233	00
ARE47	165165	153167	152158	233238	350353
ARE48	139157	130188	120162	218251	353356
ARE49	146178	136163	113150	203234	350353
ARE50	133206	132145	138141	246253	349352
COM1	121144	132145	119141	236236	352354
COM2	137159	134157	147147	234236	348357
COM6	115137	143178	141154	00	353357
COM7	137165	00	156164	225300	348348
COM8	113168	132132	119136	225244	352355
COM10	137144	145145	134139	225235	352352
COM103	133139	143153	118118	233268	00
COM104	150165	136145	134143	242244	00
COM105	121159	145149	123145	211229	352356
COM13	125131	145161	139139	216240	349356
COM16	123137	138157	130150	220244	352354
COM17	137144	178178	134139	229244	326352
COM18	144144	132145	123157	238264	352355
COM21	163172	145165	117135	210240	351351
COM23	113127	134163	134141	240246	345357
COM24	172172	130145	118125	220244	347350
COM25	111133	157157	147147	229251	349355
COM26	148150	145145	117139	227231	350352
COM29	115150	136145	133135	212229	346349
COM30	123137	00	141150	236236	345350
COM37	115144	145145	139154	00	352352
COM50	131148	00	00	216231	346352
COM40	115144	132136	147147	236247	348354
COM42	119125	143177	109125	218221	00
COM44	109150	145178	121149	229236	347350
COM49	119133	159173	124141	223227	350353
COM52	135174	132132	151159	212251	350352
COM53	152166	136169	154156	240242	352356
COM57	123144	157178	141171	249268	351353
COM59	113174	145145	119150	229236	351353
COM60	133178	130143	117147	00	353357
COM62	150150	153153	121125	231238	351353
COM64	148157	147147	117139	210231	349356
COM65	141141	132169	139164	212233	350352
COM66	115141	136145	119161	234236	353357
COM68	94163	129157	135162	231247	346348
COM70	139196	132165	139154	00	00
COM72	139196	143165	123154	00	346348
COM73	144161	132145	129164	225236	349349

	L10 AlleleAAlleleB	CG49 AlleleAAlleleB	CG108 AlleleAAlleleB	AMY AlleleAAlleleB	Sili44 AlleleAAlleleB
COM74	115161	130134	122156	227233	350354
COM75	133137	145178	129164	229235	352357
COM77	123131	143143	130135	225229	00
COM78	127150	138138	103147	203242	00
COM80	133161	143175	127133	234240	349355
COM82	111150	132157	119147	251300	354354
COM86	121159	157157	154164	203229	00
COM87	141148	163163	132134	233238	00
COM88	111163	145175	131136	238248	349351
COM89	125148	132165	123138	214244	349354
COM90	115144	178178	134141	201202	353353
COM91	131161	157157	119156	229235	00
COM95	119133	00	147166	203244	00
COM99	144178	175186	131141	251253	350362
GAH1	144152	130136	125131	00	350357
GAH2	119150	145167	123150	212240	351352
GAH3	133148	130130	129133	201244	345352
GAH4	121165	134153	123124	205234	00
GAH5	127190	134147	123131	212238	355357
GAH6	135159	136157	136171	218224	353353
GAH7	127131	134143	00	242251	350354
GAH8	131141	128128	123138	00	00
GAH9	139170	153167	141159	234253	00
GAH10	119146	145167	00	223231	353353
GAH11	135163	132138	145160	234236	346354
GAH12	152174	00	123131	260262	349357
GAH13	127139	140149	137137	214222	350352
GAH14	117131	159167	120158	220240	00
GAH15	131150	145153	00	214233	354354
GAH16	131146	147147	131141	238243	352356
GAH17	166170	177182	130163	253262	349357
GAH18	123202	149163	125131	227227	344354
GAH19	135141	145167	123149	216235	351354
GAH20	135152	128169	123151	223238	351353
GAH21	129148	136138	143143	242253	348353
GAH22	144148	00	138148	225249	348350
GAH23	129129	136178	128135	210240	349351
GAH24	147158	130130	00	216225	349351
GAH25	113135	138140	121130	223231	350352
GAH26	148190	183183	131151	221232	336352
GAH27	109131	161161	118137	225253	350354
GAH28	139168	145145	127127	00	349353
GAH29	131139	140167	134161	238272	350353
GAH30	125200	145149	130141	224224	351357
GAH31	115133	134134	166166	214223	354354
GAH32	119139	136145	133146	238242	353355
GAH33	137150	136148	121153	218253	350354

	L10 AlleleAAlleleB	CG49 AlleleAAlleleB	CG108 AlleleAAlleleB	AMY AlleleAAlleleB	Sili44 AlleleAAlleleB
GAH34	125185	138145	120130	227227	352356
GAH35	137139	132148	138149	231240	344349
GAH36	131148	130175	143147	220235	348353
GAH37	161170	130143	123144	227251	353355
GAH38	119146	00	119135	205229	352352
GAH39	119146	00	119135	00	352352
GAH40	141163	136143	133145	00	353353
GAH41	121166	136138	120141	207235	350353
GAH42	121165	141145	120153	205247	351355
GAH43	137170	145175	141146	203229	00
GAH44	135141	130143	121132	214233	348371
GAH45	123190	157161	123147	227249	350352
GAH46	137165	159169	123146	230283	354358
GAH47	123125	138159	137141	231238	354354
GAH48	115161	163178	129129	233242	344349
GAH49	139172	130130	103128	242244	348353
GAH50	129155	159177	129133	225251	356357

Annexe 7 : Exemple de chromatogrammes mettant en évidence un individu triploïde



Pour les trois marqueurs (CG108, L10, CG49), on observe trois pics principaux, ce qui indique la présence de trois allèles, et donc qu'il s'agit d'un individu triploïde (COM97) que l'on retrouve dans la liste de l'annexe 8 en gras.

Annexe 8 : Liste des individus triploïdes de la population COM avec leurs allèles pour trois marqueurs

Individu	Locus	Allèle A	Allèle B	Allèle C
COM03	CG108	129	142	148
COM03	L10	115	123	178
COM03	CG49	148		
COM05	CG108	142	146	
COM05	L10	111	115	137
COM05	CG49	143	151	196
COM09	CG108	133	148	156
COM09	L10	133	156	
COM09	CG49	130	145	
COM11	CG108	117	148	156
COM11	L10	115	125	
COM11	CG49	138	147	151
COM12	CG108	117	132	148
COM12	L10	125	150	156
COM12	CG49	136	143	147
COM14	CG108	142	148	
COM14	L10	123	156	178
COM14	CG49	136	147	
COM15	CG108	133	142	148
COM15	L10	115	156	
COM15	CG49	145	151	
COM19	L10	125	137	155
COM19	CG108	142	148	156
COM19	CG49	132	147	173
COM20	CG108	132	150	165
COM20	L10	115	155	172
COM20	CG49	130	147	151
COM22	CG108	129	132	142
COM22	L10	111	115	156
COM22	CG49	143	147	
COM27	CG108	119	148	156
COM27	L10	115	154	
COM27	CG49	132	148	
COM28	CG108	109	133	135
COM28	L10	129	144	159
COM28	CG49	132	147	151
COM31	CG108	148	150	156
COM31	L10	125	155	182
COM31	CG49	132	147	
COM32	CG108	129	142	148
COM32	L10	137	144	156
COM32	CG49	132	147	
COM33	CG108	129	148	165
COM33	L10	125	156	
COM33	CG49	143	147	
COM34	CG108	148	150	156
COM34	L10	115	137	156
COM34	CG49	147	163	

Individu	Locus	Allèle A	Allèle B	Allèle C
COM35	CG108	141	143	148
COM35	L10	115	123	129
COM35	CG49	145	147	151
COM36	CG108	120	140	142
COM36	L10	125	139	156
COM36	CG49	136	147	
COM38	CG108	133	145	
COM38	L10	115	125	144
COM38	CG49	134	147	149
COM39	CG108	133	146	165
COM39	L10	129	154	156
COM39	CG49	145	147	
COM41	CG108	141	148	156
COM41	L10	137	155	
COM41	CG49	132		
COM43	CG108	129	148	156
COM43	L10	115	131	137
COM43	CG49	132	147	
COM45	CG108	134	156	165
COM45	L10	115	156	178
COM45	CG49	145	147	151
COM46	CG108	117	120	148
COM46	L10	115	133	137
COM46	CG49	136	147	
COM47	CG108	120	145	148
COM47	L10	137	156	178
COM47	CG49	132	145	
COM48	CG108	105	122	130
COM48	L10	115	121	158
COM48	CG49	132	136	157
COM51	CG108	127	148	165
COM51	L10	111	115	154
COM51	CG49	145	147	151
COM54	CG108	120	132	136
COM54	L10	154	156	
COM54	CG49	155		
COM55	CG108	143	145	160
COM55	L10	119	127	129
COM55	CG49	132	145	159
COM56	CG108	142	0	
COM56	L10	129	156	
COM56	CG49	133	148	
COM56	Sili44	349	350	357
COM58	CG108	139	156	
COM58	L10	111	121	123
COM58	CG49	136	151	159
COM61	CG108	132	148	156
COM61	L10	137	154	156
COM61	CG49	132	147	165
COM63	CG108	120	139	156
COM63	L10	137	154	
COM63	CG49	143	147	

Individu	Locus	Allèle A	Allèle B	Allèle C
COM67	CG108	142	150	156
COM67	L10	115	155	172
COM67	CG49	132	145	
COM69	CG108	120	133	150
COM69	L10	156	159	172
COM69	CG49	132	151	
COM71	CG108	120	142	156
COM71	L10	115	137	
COM71	CG49	143	147	
COM76	CG108	131	142	165
COM76	L10	123	156	
COM76	CG49	130	145	151
COM79	CG108	120	148	156
COM79	L10	143	154	156
COM79	CG49	132	143	147
COM81	CG108	132	148	
COM81	L10	154	182	184
COM81	CG49	148	151	
COM83	CG108	132	136	165
COM83	L10	154	156	162
COM83	CG49	147		
COM84	CG108	132	148	
COM84	L10	115	156	178
COM84	CG49	136	151	
COM85	CG108	139	141	
COM85	L10	137	139	
COM85	CG49	138	145	147
COM92	CG108	133	143	148
COM92	L10	137	156	182
COM92	CG49	147		
COM93	CG108	135	146	165
COM93	L10	125	129	155
COM93	CG49	147		
COM94	CG108	136	145	150
COM94	L10	115	119	127
COM94	CG49	145	161	
COM96	CG108	132	153	
COM96	L10	115	141	159
COM96	CG49	150	151	196
COM97	CG108	129	132	148
COM97	L10	115	137	156
COM97	CG49	145	151	167
COM98	CG108	120	132	147
COM98	L10	115	141	156
COM98	CG49	148	151	
COM100	CG108	105	140	165
COM100	L10	156	159	162
COM100	CG49	147	151	163
COM101	CG108	120	142	156
COM101	L10	125	137	155
COM101	CG49	143	147	
COM102	CG108	132	150	

Individu	Locus	Allèle A	Allèle B	Allèle C
COM102	L10	115	123	172
COM102	CG49	145	147	151