

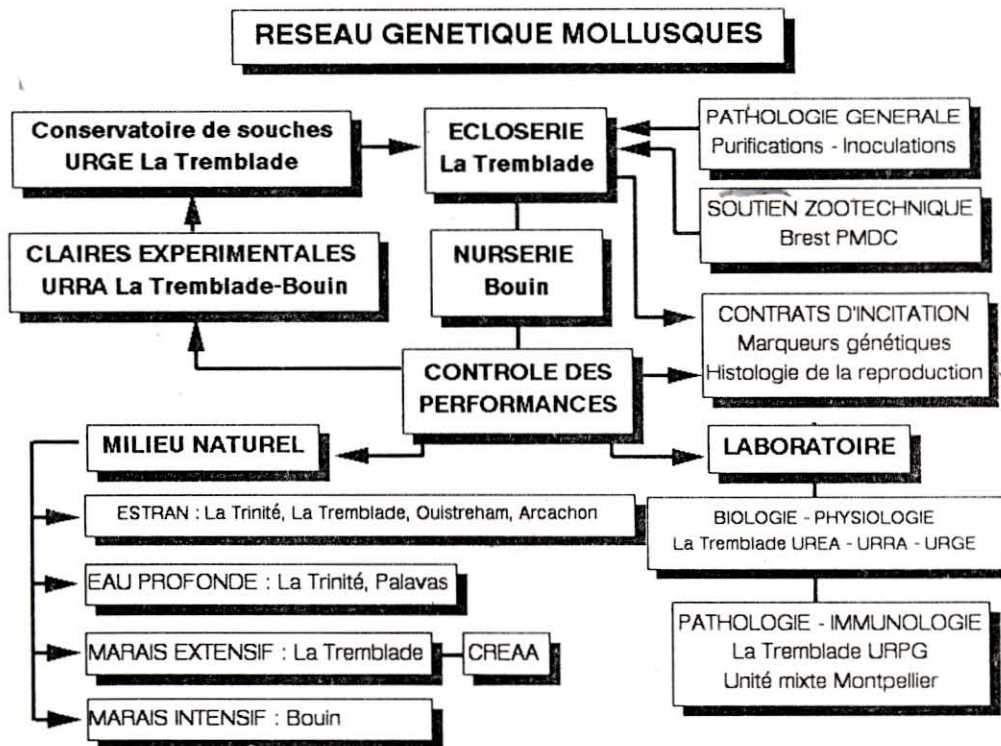
# RESEAU GENETIQUE MOLLUSQUES (REGEMO).

ok 8/9

Compte rendu de la réunion des 14 et 15 Avril 1993.  
La Tremblade

4-7889

H500  
R20  
REG.  
R.



IFREMER Bibliothèque de la Tremblade



OLR 03248

La discussion générale organisée à la fin de la deuxième journée a fait ressortir les points suivants :

1-Les participants se sont déclarés satisfaits de la tenue de la réunion, tant dans son déroulement, que dans les échanges d'informations auxquels elle a donné lieu. La quantité et la qualité des résultats présentés a permis de mettre en évidence la puissance d'analyse que représente le travail en réseau.

2-L'importance de la valorisation des résultats a été soulignée à plusieurs reprises. La diffusion de l'information devrait se faire dans un premier temps par la voie de rapport internes à la DRV, puis par la voie d'articles publiés dans des revues scientifiques. Sur le programme "*C. gigas* triploïdes", une première diffusion des résultats obtenus en Normandie est d'ores et déjà envisagée (communication au congrès CIEM de Dublin, Octobre 1993).

3-La question de la formalisation du Réseau a été posée. Les participants ont convenu d'un commun accord de conserver la structure informelle actuelle qui permet une plus grande souplesse d'organisation.

4-André GERARD et Jean-Pierre BAUD ont déclaré vouloir poursuivre la politique actuelle qui consiste à organiser des réunions à thèmes : présentation de résultats, discussion des protocoles à mettre en oeuvre, etc. Deux réunions devront ainsi être prévues avant la fin de l'année 1993 : l'une préparant la rédaction du rapport final de plan Etat-Région sur la cytogénétique et l'autre pour homogénéiser le traitement des résultats (critères scientifiques et statistiques utilisés...). Une réflexion sera également nécessaire dans le cadre des futurs programmes de sélection afin de choisir les caractères sur lesquels devra en priorité porter cette sélection, cela en fonction de critères scientifiques et des vœux des professionnels et des régions concernées. L'idée de faire une analyse de marché au niveau des professionnels et des consommateurs sous la forme de questionnaires a également été lancée.

5-Alain BODOY a souligné la nécessité de renforcer les liens avec les secteurs "Crevettes" et "Poissons". Plusieurs contacts ont déjà été pris, que ce soit dans le cadre du Groupe de Réflexion en Génétique coordonné par Edouard BEDIER, ou de programmes communs en cours d'élaboration (collaboration CNRS-IFREMER La Tremblade et Tahiti).

6-Alain BODOY a également rappelé que les résultats présentés mettaient en évidence l'importance du programme "Maîtrise des écloséries" et que les collaborations entre J.-F. SAMAIN, responsable de ce programme et le Réseau devaient s'accroître.

7-Jean-Pierre BAUD a proposé de mettre en place des expériences permettant dans le cadre du Réseau de connaître les capacités trophiques des différents lieux d'expérimentation. Un tel indicateur permettrait de finaliser les publications, d'argumenter les analyses, et pourrait être relié aux résultats obtenus dans le cadre du réseau REMORA.

8-En conclusion, Alain BODOY a relevé la satisfaction et la motivation des participants ainsi que la bonne marche du Réseau qui, pour sa deuxième année d'existence, a fourni des résultats de qualité.

En souhaitant que les prochaines réunions soient aussi productives, nous vous souhaitons bonne réception du présent compte-rendu et des résumés d'interventions qui l'accompagnent.

André GERARD et Yamama NACIRI

**Mercredi 14 Avril :      Contrôles de performances.**

- 14.00 à 14.30 :** Contrôle de performances sur les diploïdes et les triploïdes d'huîtres plates à Palavas (**Denis COATANEA**).
- 14.30 à 15.00 :** Contrôle de performances sur les diploïdes et les triploïdes d'huîtres plates à La Trinité (**Anne-Geneviève MARTIN**).
- 15.00 à 15.30 :** Contrôle de performances sur les diploïdes et les triploïdes de palourdes à La Trinité (**Jean BARRET**).
- 15.30 à 16.00 :** Contrôle de performances sur les diploïdes et les triploïdes de palourdes à La Tremblade (**Serge HEURTEBISE**).

**Pause café.**

- 16.30 à 17.00 :** Suivi de la gamétogenèse sur diploïdes et triploïdes de palourdes (**Nicole DEVAUCHELLE** ou **Jean BARRET**).
- 17.00 à 17.30 :** Contrôle de performances sur les diploïdes et triploïdes d'huîtres creuses à Port-en-Bessin (**Jean-Pierre JOLY**).
- 17.30 à 18.00 :** Prégrossissement comparé des diploïdes et triploïdes d'huître creuse *Crassostrea gigas* en nurserie intensive. (**Jean-Pierre BAUD** et **Max NOURRY**).

**Jeudi 15 Avril :      Cytogénétique.**

- 09.00 à 09.30 :** Les avancées technologiques dans la fiabilité de l'induction de la triploïdie. Induction de la triploïdie par traitement au 6-DMAP : comparaison la cytochalasine B (**André GERARD**).
- 09.30 à 10.00 :** Présentation du programme AIR : Etude des performances de croissance de triploïdes induits par rétention du premier ou du second globule polaire (**Yamama NACIRI**).
- 10.00 à 10.30 :** Les bilans énergétiques : aspects théoriques et application à l'étude de diploïdes et de triploïdes de *Crassostrea gigas* (**Serge BOUGRIER**).

**Pause café.**

**Autres programmes.**

- 11.00 à 11.30 :** Présentation des résultats du programme d'acclimatation de l'huître creuse américaine *Crassostrea virginica* (**Jean-Pierre BAUD**).
- 11.30 à 12.00 :** Présentation des résultats de l'étude du polymorphisme de la coloration chez la palourde japonaise (**Jean-Marie PEIGNON**).

**Déjeuner.**

**Programme de sélection de l'huître plate à la bonamiose.**

- 14.00 à 14.30 :** Premiers résultats obtenus dans le cadre du programme de sélection de l'huître plate à la bonamiose : problèmes et perspectives (**Yamama NACIRI**).

**14.30 à 15.00 :** Techniques de purification et d'infestation par *Bonamia ostreae* (Tristan RENAULT).

**15.00 à 15.30 :** Résultats des inoculations effectuées en 1992 sur la lignée 1985 (Anne-Geneviève MARTIN et Yamama NACIRI).

**15.30 à 16.00 :** Mise au point sur les problèmes rencontrés lors du prégrossissement des huîtres plates en 1992 (Jean-Pierre BAUD).

**Pause café.**

**16.30 à 17.30** Discussion générale.

## **ANNEXE 1 : CONTRÔLES DE PERFORMANCES**

**Contrôle de performances sur les diploïdes et les triploïdes  
d'huîtres plates *Ostrea edulis* à Palavas.**

**Denis COATANEA**

**IFREMER, Chemin de Maguelone, 34 250 PALAVAS-LES-  
FLOTS**

# Contrôle de performances sur les diploïdes et les triploïdes d'huîtres plates à Palavas : premiers résultats

La Station IFREMER de Palavas est impliquée dans le Réseau Génétique Mollusque en tant que station de contrôle de performances en site profond méditerranéen.

## MATERIEL ET METHODES

Un lot de 2 000 huîtres plates *Ostrea edulis*, en population mélangée 2n/3n a été répartie en 4 poches ostréicoles de maille 9mm.

### *Structure d'élevage.*

La mise en élevage s'est effectuée sur la concession conchylicole des Aresquiers, à 3 miles au large de Palavas, sur un fond de 22 mètres. La structure utilisée est un container du type IFREMER/Michel Frères modifié, dont la capacité a été ramenée à 40 poches réparties en 4 cadres de 10 poches chacun. Cette organisation permet une bonne circulation de l'eau et rend possible les interventions en plongée.

### *Chronologie des interventions.*

- 20/05/92 : Réception des animaux. Stockage en bassin. Longueur moyenne : 33mm, poids moyen : 2,8g
- 25/05/92 : Immersion sur la concession des Aresquiers. Température au fond : 14°C.
- 14/08/92 : Changement de poches et dédoublement.
- 27/10/92 : Echantillon B de Novembre 1992.
- 11/02/93 : Echantillon C de Février 1993.
- 30/03/93 : Echantillon D d'Avril 1993.

## RESULTATS AU 15/04/1993.

*Température.* Le profil détaillé des températures sera fourni ultérieurement après le relevage des enregistreurs immergés.

*Survie.* La survie a été estimée globalement sans distinction entre 2n et 3n. Après une période de mortalité importante survenue pendant la première phase de l'élevage, entre Mai et Novembre 1992, la survie s'est stabilisée à 41% par la suite.

*Ploïdie.* Elle n'est connue que pour les échantillons B et C de Novembre 1992 et Février 1993, et s'établit respectivement à 35/65% et 42/58% pour le ratio 2n/3n.

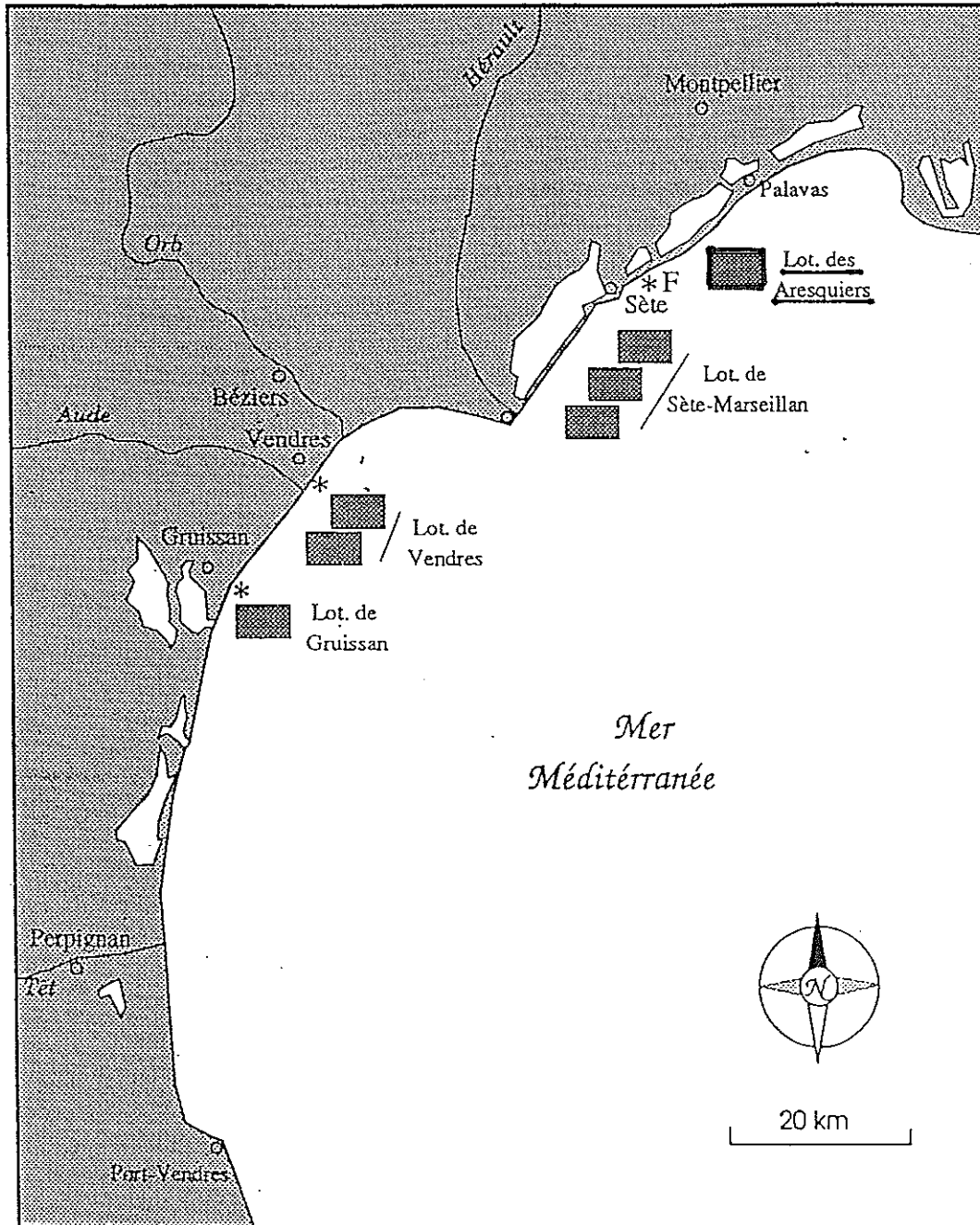
*Croissance.* Le poids moyen individuel a évolué de 2,8g à 24,3g en 10 mois d'élevage. On n'observe pas de différence entre les 2n et les 3n.



*Indice de condition.* L'indice Lawrence-Scott, assez bas sur le premier prélèvement de Novembre, augmente régulièrement pour atteindre 59 en Avril 1993. Sur les échantillons de Novembre 1992 et Février 1993, l'indice des populations 2n est plus élevé que celui des 3n.



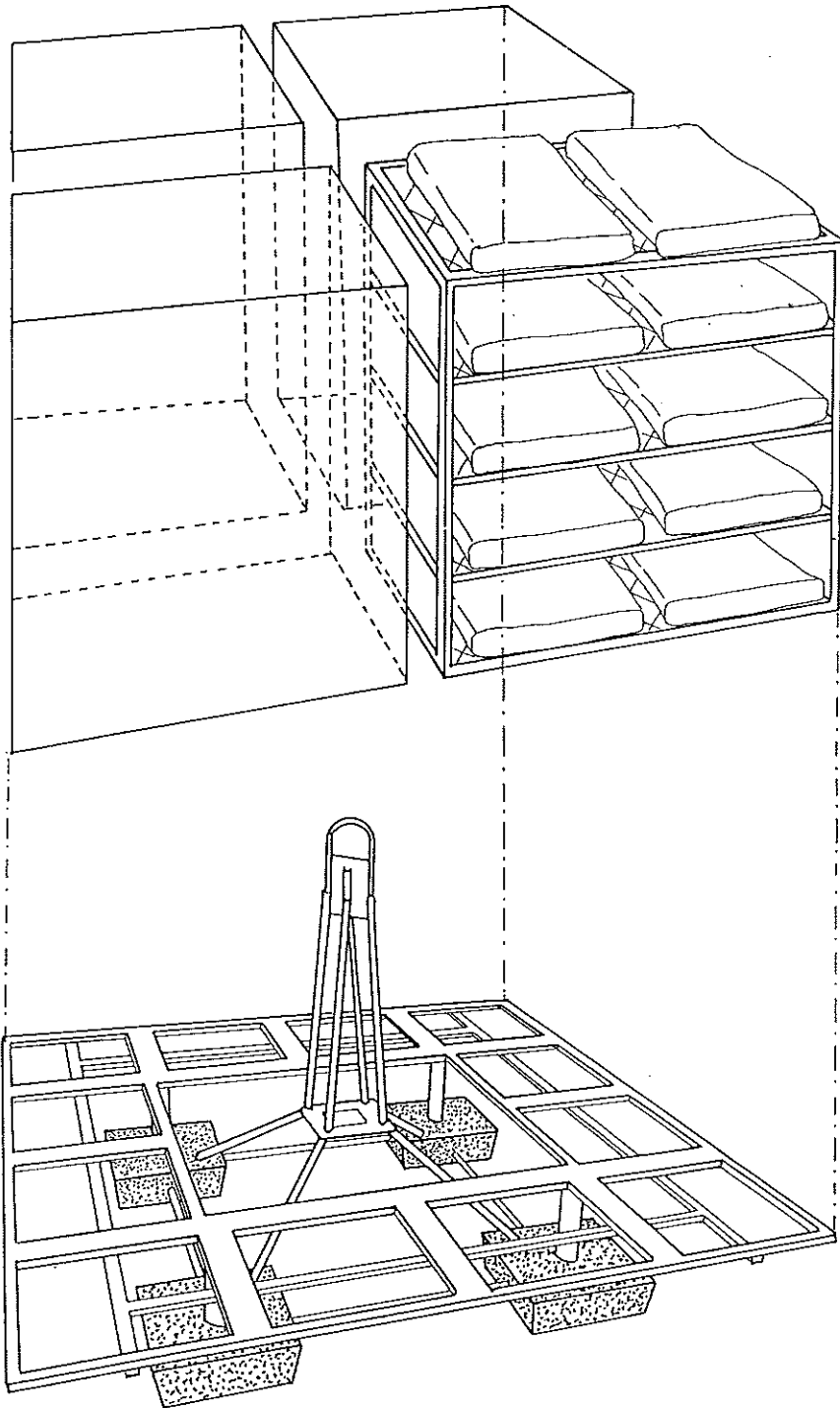
# LA CONCHYLICULTURE DE PLEINE MER EN LANGUEDOC-ROUSSILLON

Lotissements attribués au 15.01.92



	Lagunes		Lotissement conchylicole de ...	Indications des surfaces: Aresquiers= 700 ha Sète-Marseillan= 2754 ha Vendres= 648 ha Gruissan= 288 ha
		*	= Port conchylicole	
		*F	= Port conch. de Frontignan (en construction)	

IFREMER / Palavas  
Structure Experimentale



## SUIVI CROISSANCE ET MORTALITE PALAVAS

### RECAPITULATIF DES RESULTATS

#### FICHER B - NOVEMBRE 1992

Survie : 46,2 %

Cumul survie : 46,2 %

	% PLOIDIE	POIDS TOTAL (g)	INT. CONF.	IND. COND.	INT. CONF.	<u>POIDS SEC</u> <u>POIDS FRAIS</u> (%)
<b>Global</b>		19,6	+/-2,1	42,8	+/-3,1	16,7
<b>2N</b>	35	19,4	+/-3,6	49,1	+/-6,7	15,8
<b>3N</b>	65	19,5	+/-2	39,3	+/-2,7	17,6

## SUIVI CROISSANCE ET MORTALITE PALAVAS

### RECAPITULATIF DES RESULTATS

#### FICHER C - FEVRIER 1993

Survie : 89,2 %  
Cumul survie : 41,2 %

	% PLOIDIE	POIDS TOTAL (g)	INT. CONF.	IND. COND.	INT. CONF.	<u>POIDS SEC</u> <u>POIDS FRAIS</u> (%)
<b>Global</b>		20,8	+/-2	55,4	+/-3,8	18,7
<b>2N</b>	42	20,2	+/-3,1	63,2	+/-5,6	19,5
<b>3N</b>	58	21,4	+/-2,9	53,1	+/-5,1	18,3

## SUIVI CROISSANCE ET MORTALITE PALAVAS

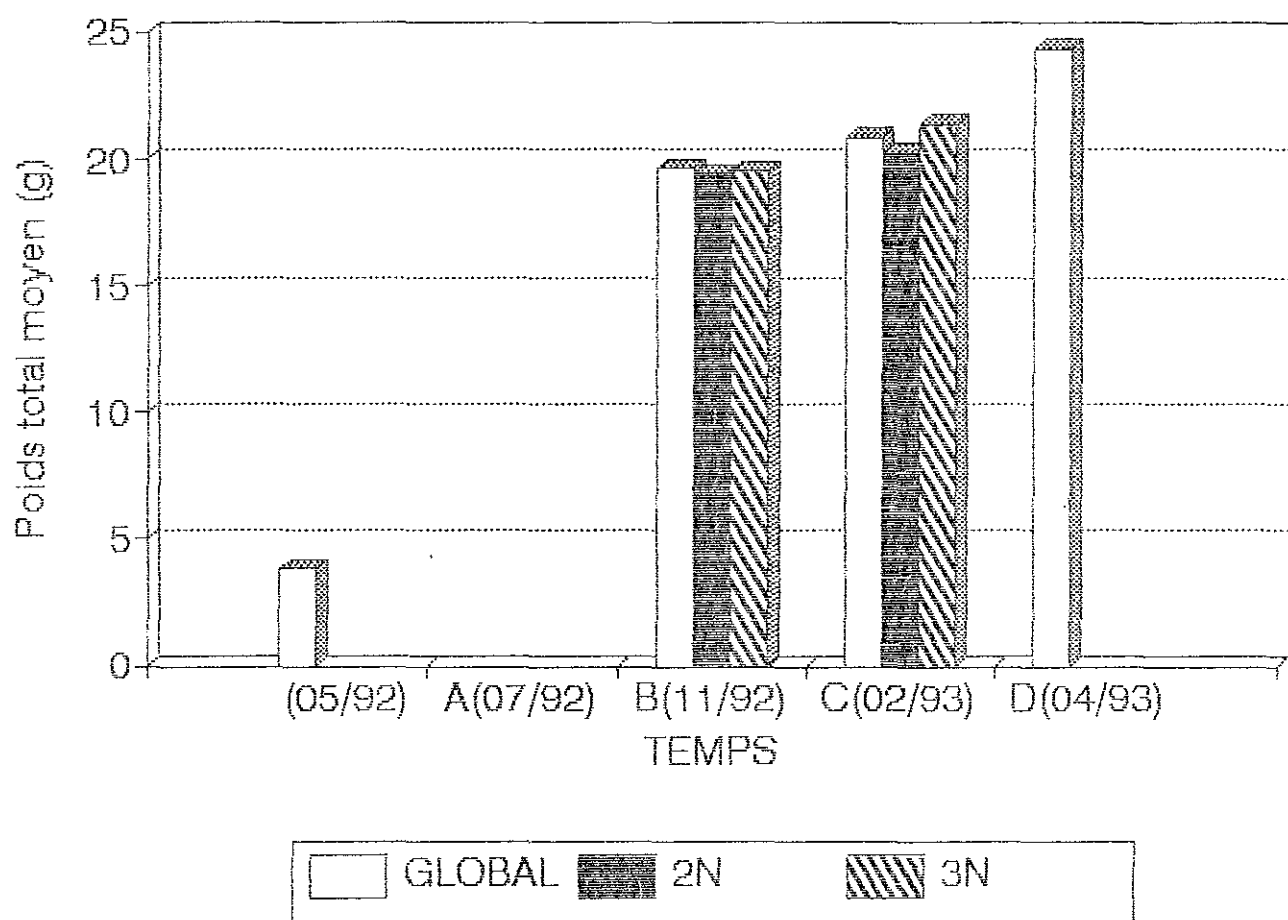
### RECAPITULATIF DES RESULTATS

#### FICHER D - AVRIL 1993

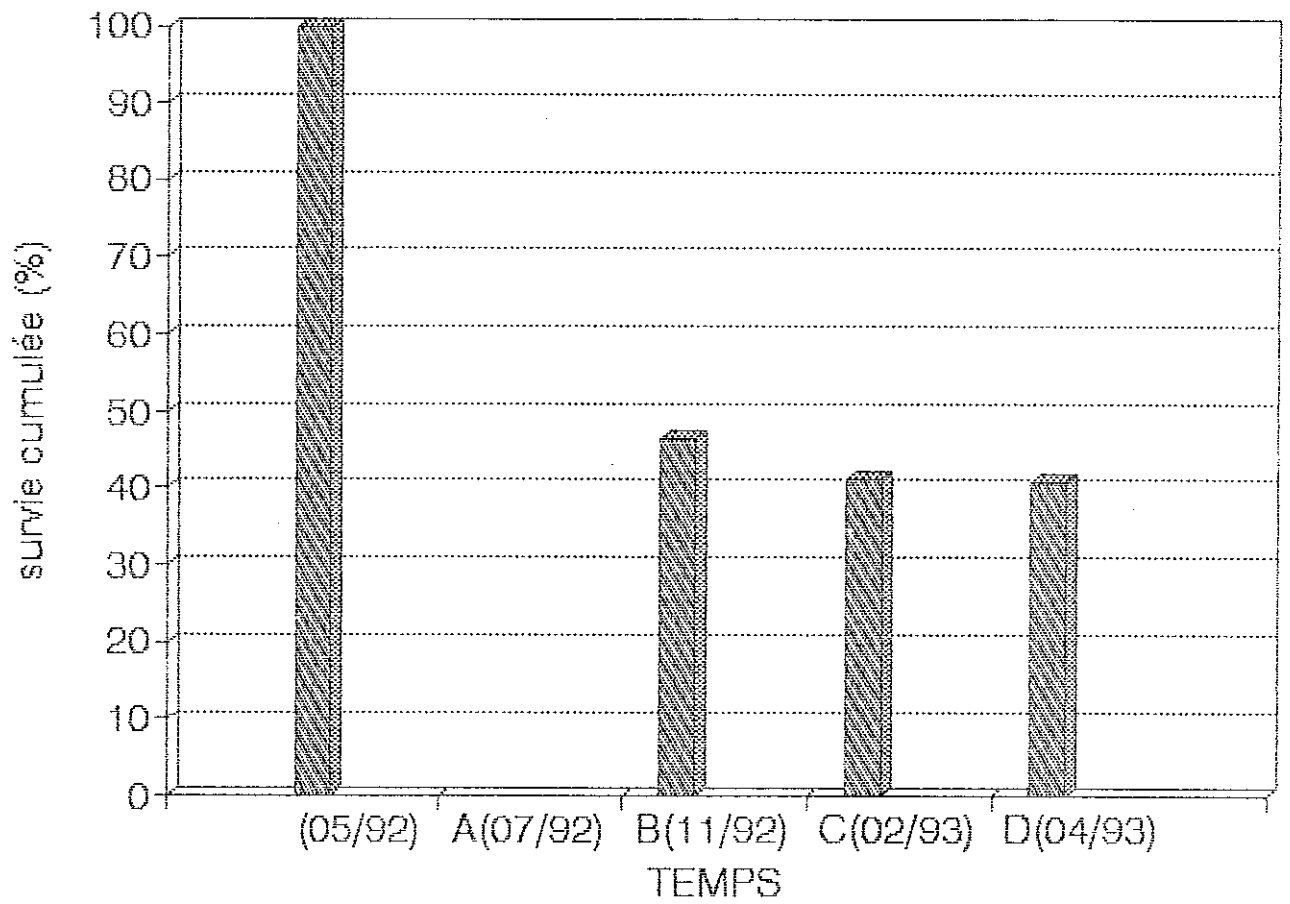
Survie : 99 %  
Cumul survie : 40,8 %

	% PLOIDIE	POIDS TOTAL (g)	INT. CONF.	IND. COND.	INT. CONF.	<u>POIDS SEC</u> <u>POIDS FRAIS</u> (%)
Global		24,3	+/-2,8	58,8	+/-4,1	18,6
2N						
3N						

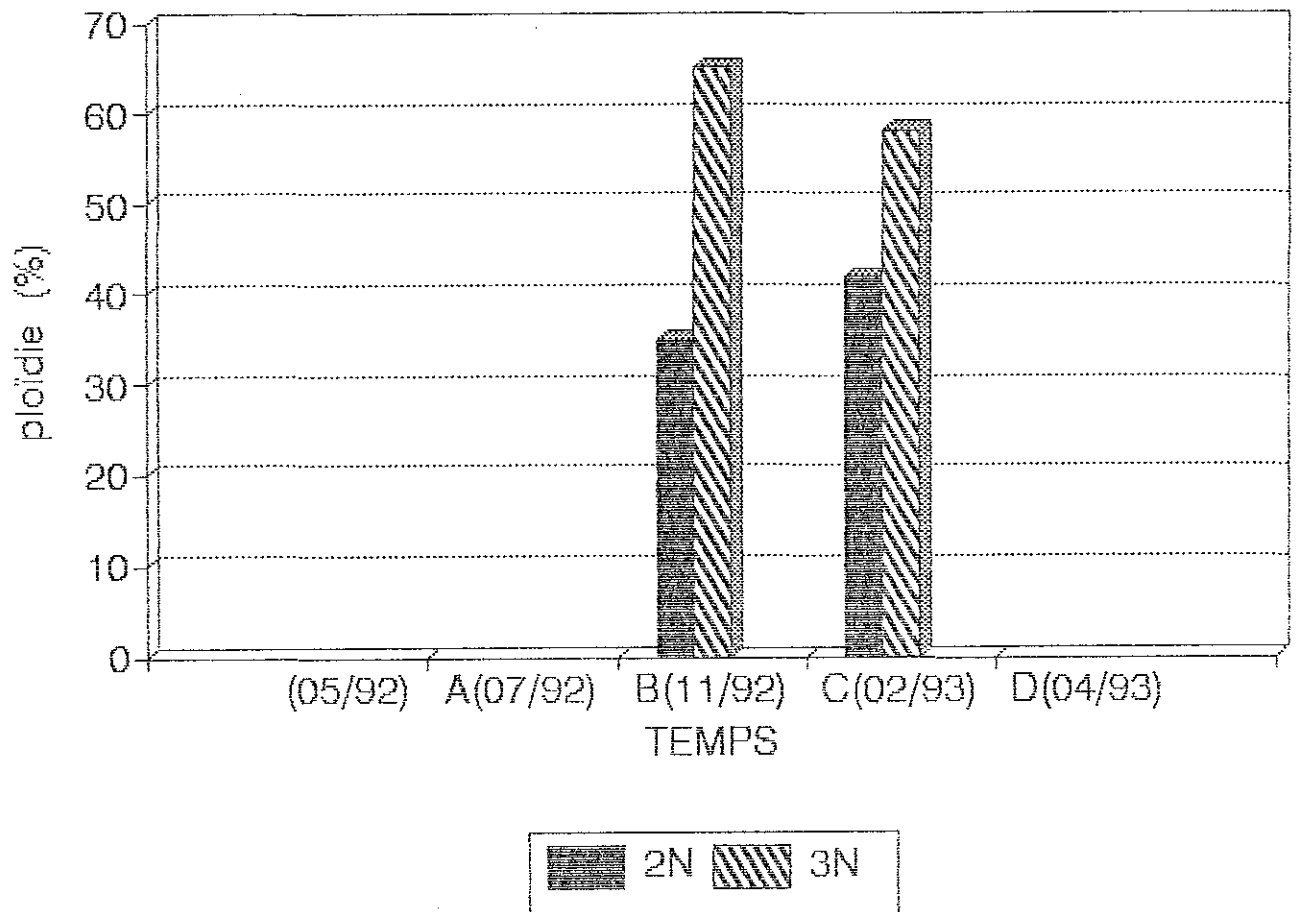
# POIDS TOTAL MOYEN



# survie cumulée



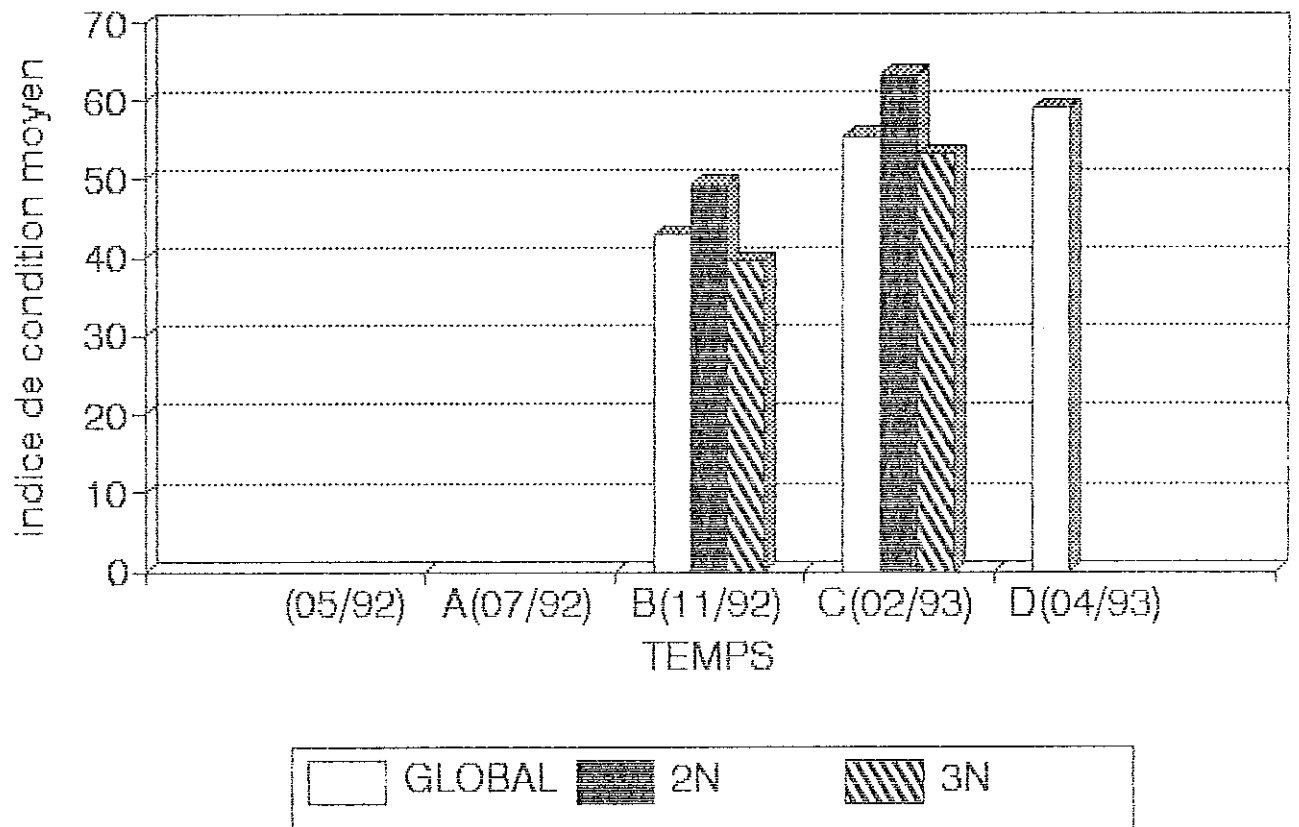
# Ploidie



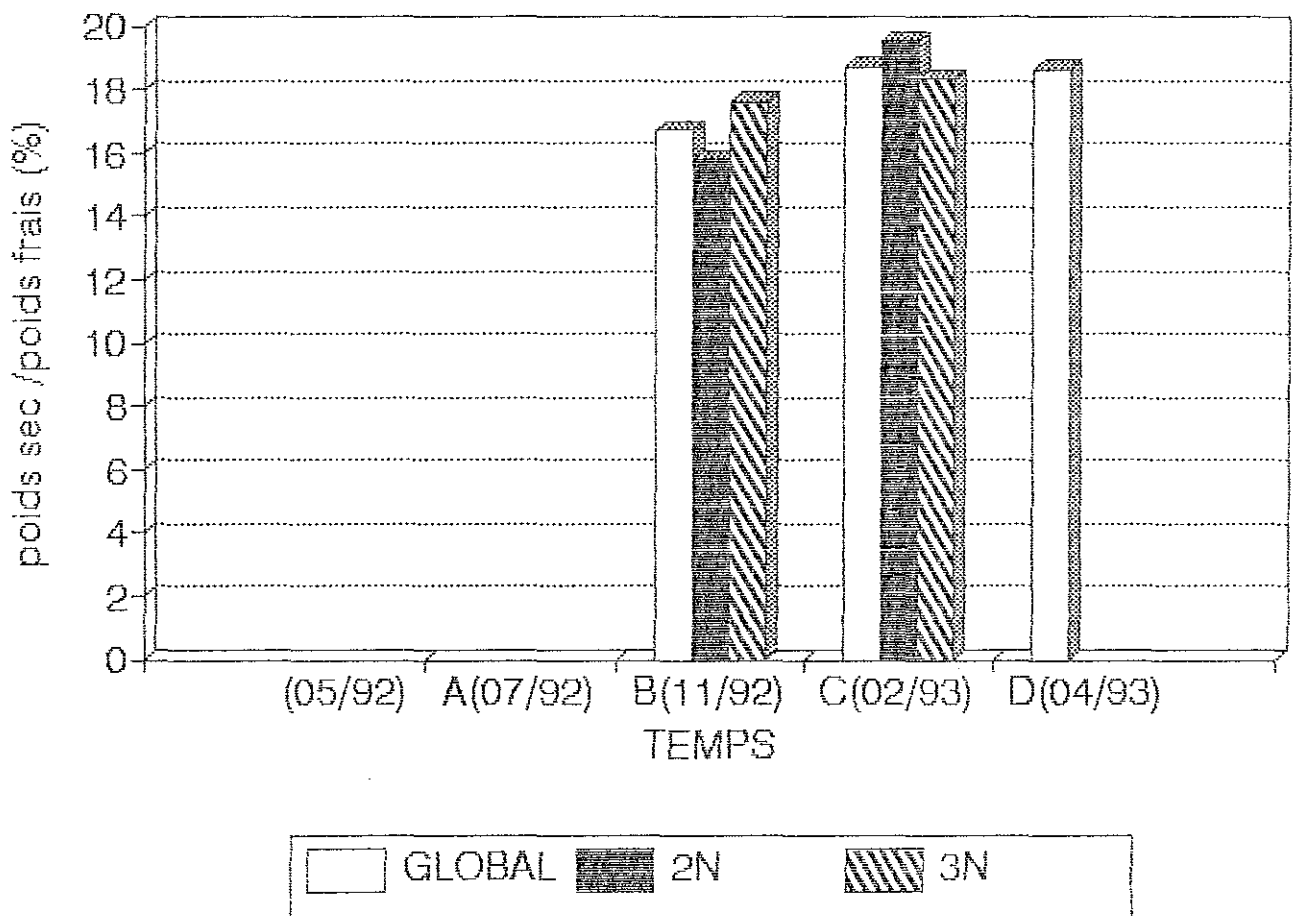


# indice de condition moyen

(lawrence\_scott)



# Poids sec/poids frais



**Contrôle de performances sur les diploïdes et les triploïdes  
d'huîtres plates *Ostrea edulis* à La Trinité.**

**Anne-Geneviève MARTIN**

**IFREMER, 12 rue des Résistants, 56 470 LA TRINITE-SUR-MER**

# Suivi de terrain sur les diploïdes et les triploïdes d'huîtres plates *Ostrea edulis* à La Trinité.

## 1. Calendrier des opérations.

<b>Parents</b>	230 huîtres de banc naturel Quiberon
<b>Naissain</b>	Production 1991 : Induction de la triploïdie à la cytochalasine B
<b>Mise en élevage</b>	En Baie de Quiberon par 5 m de profondeur le 19 Mai 1992. Structure en poches-casiers surélevées de 12 cm par rapport au sol
<b>Interventions</b>	<u>06 Août 1992</u> : Comptage de mortalité (faible : 6.6%). <u>16 Novembre 1992</u> : Dédoublément et prélèvements. <u>11 Février 1993</u> : Prélèvements. <u>Mai 1993</u> <u>Juin 1993</u> <u>Juillet 1993</u> <u>Août 1993</u> <u>Novembre 1993</u>

## **Bilan**

## 2. Premiers résultats obtenus.

### *Mortalité*

La mortalité consécutive à la mise en élevage est faible (6.6%) et essentiellement due à l'action des bigorneaux perceurs. A partir d'Août, la mortalité augmente tout en restant compatible avec les taux observés habituellement (taux global en Novembre de 26.5%). La prédation par perceurs n'est alors plus la cause principale de mortalité, ceux-ci ayant une efficacité qui diminue au fur et à mesure de la croissance des huîtres.

### *Evolution du taux de triploïdie et du taux de Bonamia.*

Des variations importantes ont été observées pour le taux de triploïdes et qui sont sans doute dus à des problèmes d'échantillonnage.

Ni *Bonamia*, ni *Marteilia* n'ont été observés jusqu'en Novembre. *Bonamia* a été décelé à faible taux en Février. La présence de *Polydora* est par contre non négligeable puisque décelée dès Novembre sur 97% des huîtres et confirmée en Février. Peu d'huîtres sont cependant sérieusement atteintes (2 à 3%).

*Maturation sexuelle.*

Le taux de maturation sexuelle n'est qu'indicatif puisqu'il a été obtenu par simple observation de produits sexuels sur les frottis destinés à l'examen pathologique. On constate cependant la présence de produits sexuels sur certains des individus triploïdes en Novembre (3/31).

*Croissance.*

Les tests statistiques restent à faire pour voir si la différence observée entre triploïdes (19g en Février) et diploïdes (23g en Février) est significative.

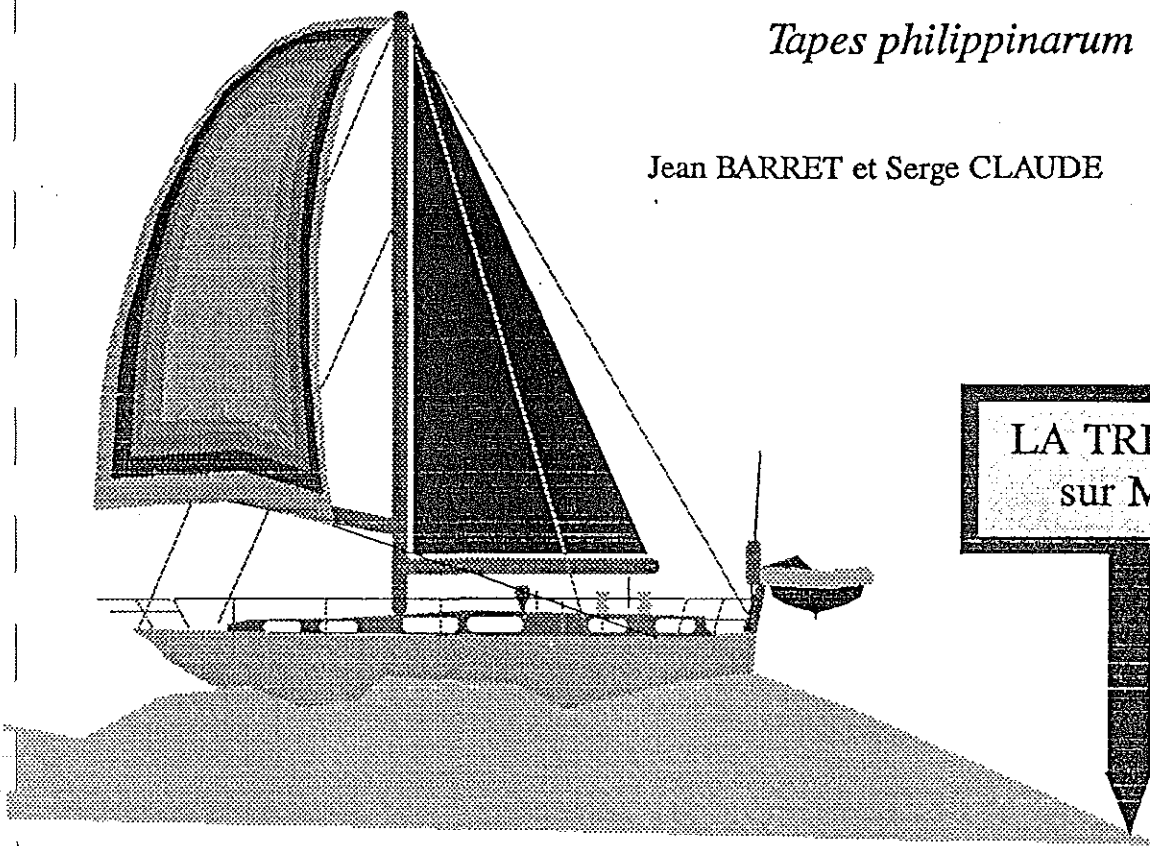
**Contrôle de performances sur les diploïdes et les triploïdes de  
palourdes *Ruditapes philippinarum* à La Trinité.**

**Jean BARRET et Serge CLAUDE**

**IFREMER, Centre de Brest, BP 70, 29 280 PLOUZANE**

SUIVI DES PERFORMANCES DE CROISSANCE  
de deux populations (2N & 3N) de  
*Tapes philippinarum*

Jean BARRET et Serge CLAUDE



SUIVI DES PERFORMANCES DE CROISSANCE  
de deux populations (2N & 3N) de

*Tapes philippinarum*

J. BARRET et S. CLAUDE

Deux lots de palourdes (1 témoin, et 1 triploïde) ont été mis en élevage à La Trinité sur Mer en Avril 1991, sur le site des Presses, chaque lot étant réparti dans trois parcelles de 6.7 m<sup>2</sup>, et trois poches pour suivre plus précisément la survie.

Les prélèvements (biométrie, biochimie et gamétogénèse) ont montré, après un tri entre les triploïdes vrais et les réfractaires, une différence de croissance entre le lot témoin et les triploïdes. Cette différence a été dans un premier temps en faveur du lot témoin, et en final en faveur du lot triploïde.

L'évolution des indices de condition montre une avance du lot témoin jusqu'à l'époque de la ponte (juin - juillet 92). Le lot triploïde présente une légère régression de ces indices à cette époque, mais ces indices restent très supérieurs.

La survie globale au niveau des parcelles ne montre pas de différence significative entre les lots. Mais le suivi plus fin par poche, révèle une mortalité beaucoup plus importante pour les poches "triploïdes".

L'apparition de l'anneau brun est simultanée pour les deux lots, cependant le lot triploïde est rapidement plus atteint. En final, le lot témoin présente 12.5% d'anneaux bruns, alors que le lot triploïde est atteint à 25%.

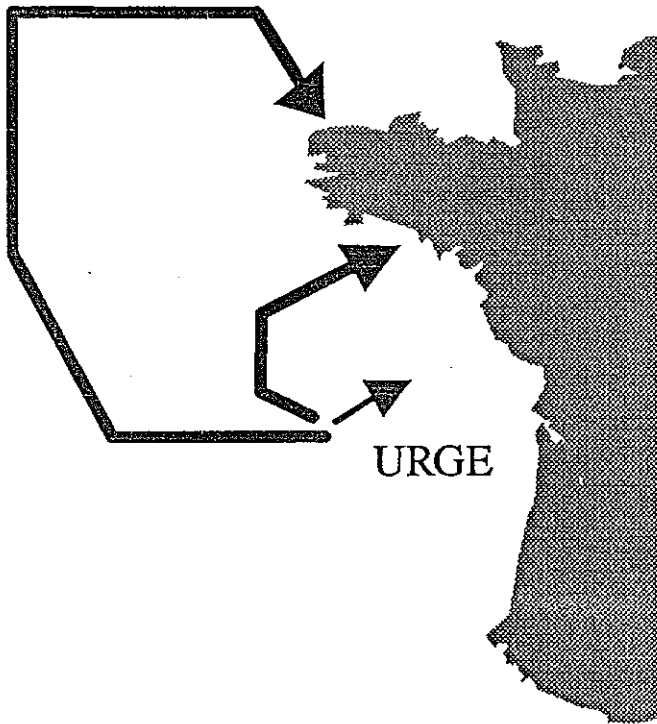
Le taux de triploïdes (déterminé par analyse d'image à l'URGE) varie peu au cours de l'élevage. Ce qui est en contradiction avec les survies observées : il serait normal de croire que dans le lot triploïde qui a une survie nettement inférieure à celle du lot témoin, la mortalité ait affecté en premier les vrais triploïdes. Cependant, une hypothèse peut expliquer cette observation : les triploïdes et les réfractaires ont subi le même traitement, et sont en conséquence sensibles de la même façon à des attaques d'origine diverse (A.B, mortalité hivernale...).

Une étude de la distribution des poids, montre une distribution unimodale pour le lot témoin, alors que le lot triploïde (après élimination des réfractaires par la méthode des maximums successifs) présente deux modes, l'un faible pour une population assez réduite, l'autre supérieur à celui des diploïdes pour une population plus nombreuse. [ ces deux modes seraient liés à l'expulsion du GP 1 ou du GP 2 ].

Un suivi modeste de la production dans la concession de C. AVELINE, montre une croissance équivalente pour les deux lots, mais une survie estimée de 56 % pour le lot témoin, et de 27 % pour les triploïdes, au 18/09/92. Les mortalités hivernales ont depuis frappé. C. AVELINE espère repêché 20 % chez les diploïdes, et 10 % pour les triploïdes.

En première conclusion, nous avons un léger gain de croissance qui ne compense pas une mortalité plus élevée pour le lot triploïde.





URGE

BROENNOU

2 x 80 000

Production

LA TRINITE / MER

2 x 5 000

Expérimentation

OLERON

2 x 5 000

Expérimentation

# Calendrier des prélèvements

Semis

filet

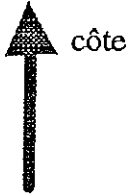
Pêche



Avril 91    Juin    Aout    Oct    Dec    Fev    Avril    Juin    Aout    Oct 92  
 91    Mai    Juilt    Sept    Nov    Janv    Mars    Mai    Juilt    Sept    Nov.

■ Biométrie                      ■ Biochimie                      ■ Gamétogénèse

# LE SITE DES PRESSES



Dip. 1

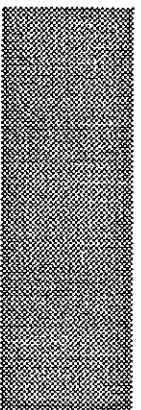
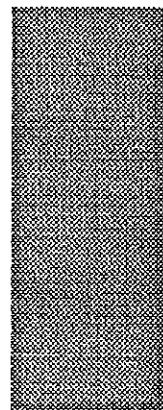
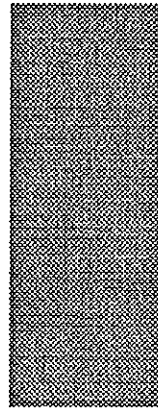
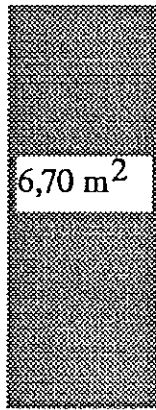
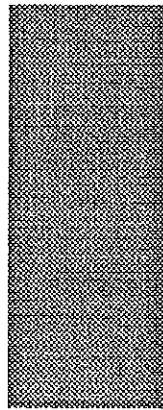
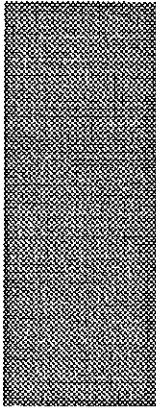
Trip. 1

Dip. 2

Trip. 2

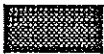
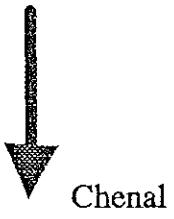
Dip. 3

Trip. 3



Coeff : 70

6,70 m<sup>2</sup>

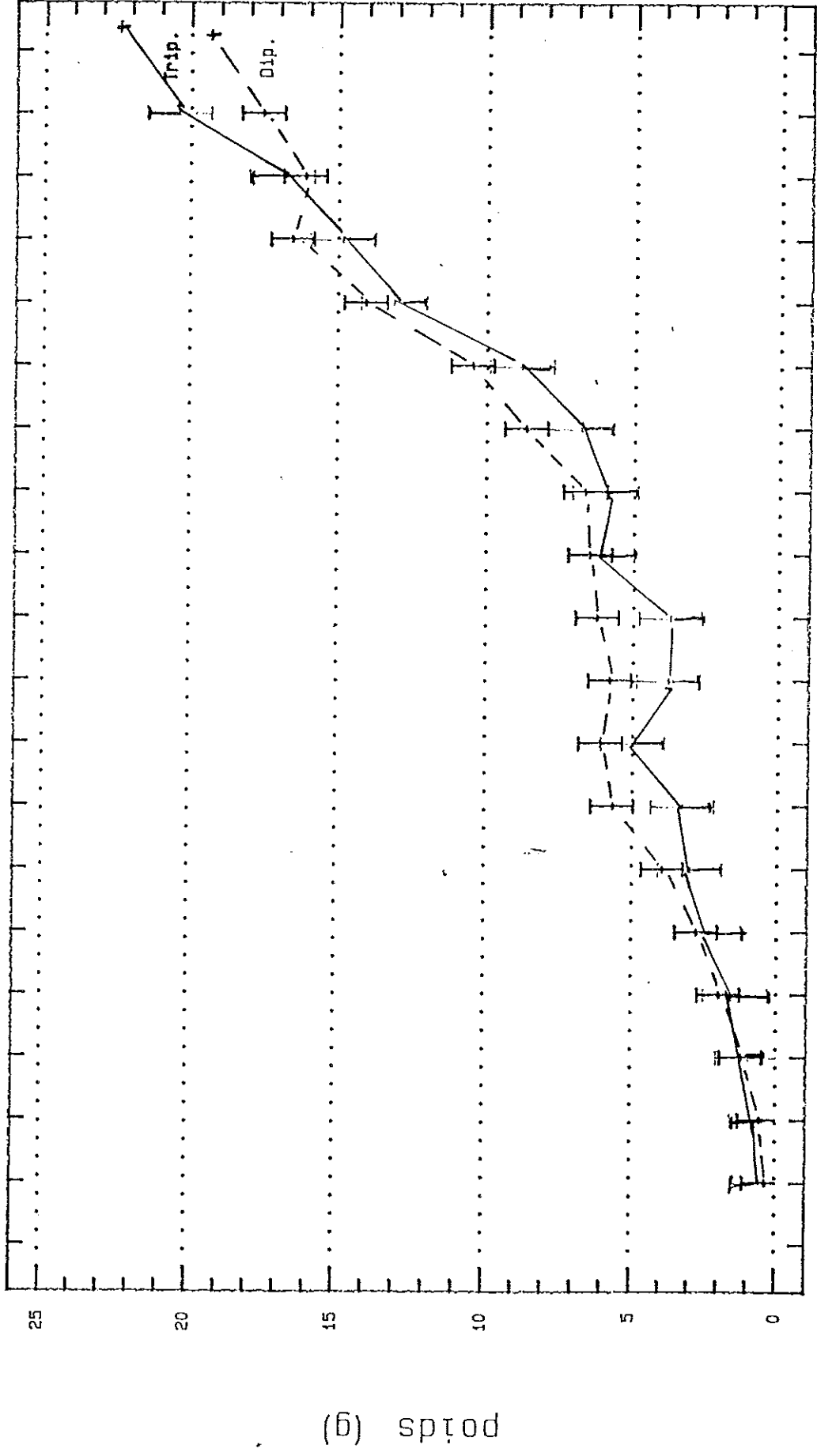


## Récapitulatif Palourdes La Trinité

	Nbre	W ind	dens.	Nbre	W tot.	W ind	dens.	SURVIE
Dip 1	1290	0.40	192	386+22	8069	20.9	61	52.7
Dip 2	1290	0.40	192	493+28	9505	19.3	78	61.5
Dip 3	1290	0.40	192	392+8	7294	18.6	60	52.1
Trip 1	1340	0.42	200	370+18	8523	23.0	58	52.5
Trip 2	1340	0.42	200	387+23	9082	23.5	61	50.7
Trip 3	1340	0.42	200	59+3	1204	20.4	9	24.7

# TRIPLOIDES versus DIPLOIDES

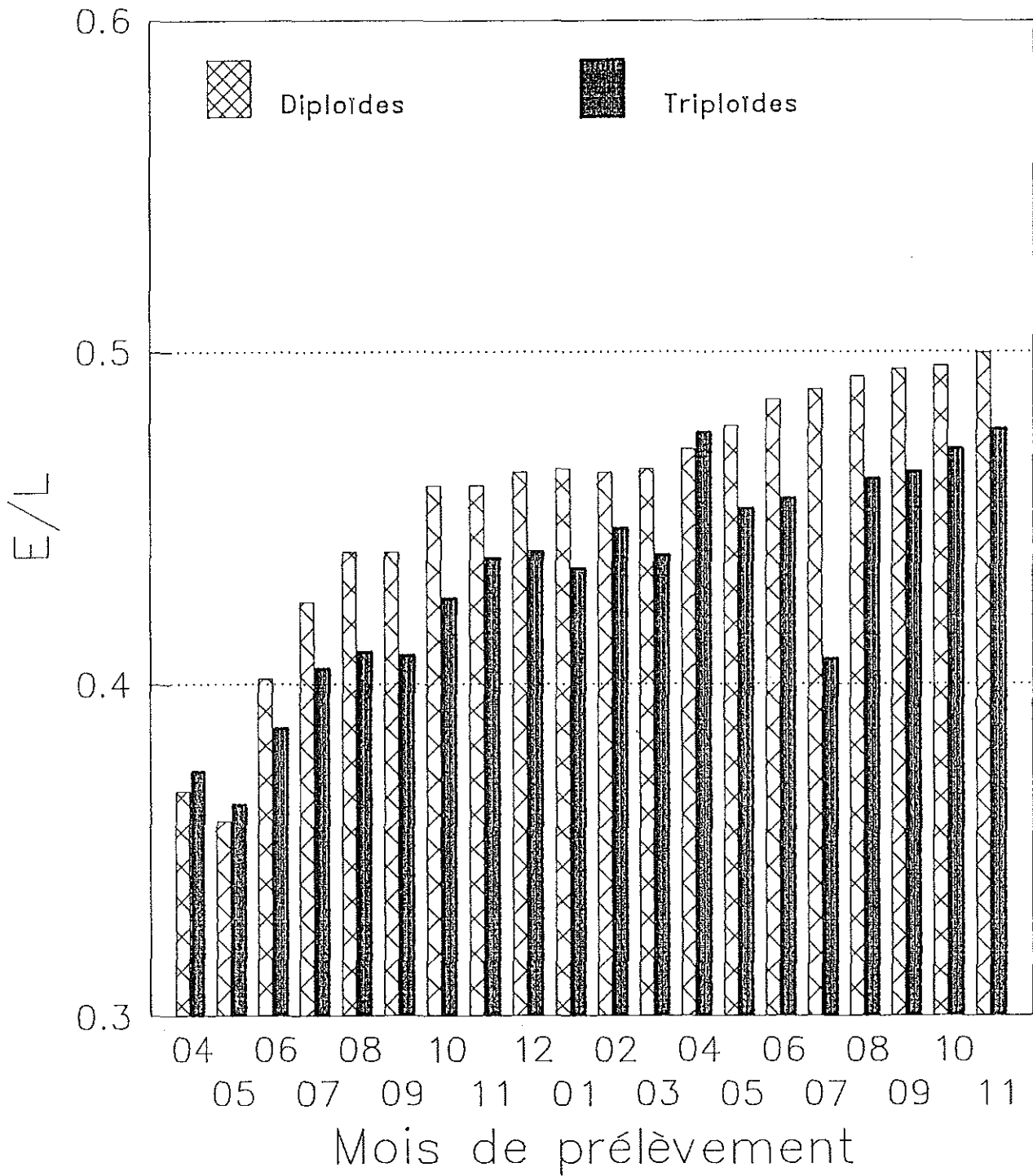
Poids moyen (I.C. 95%)



# PALOURDES LA TRINITE / MER

INDICE MORPHOLOGIQUE

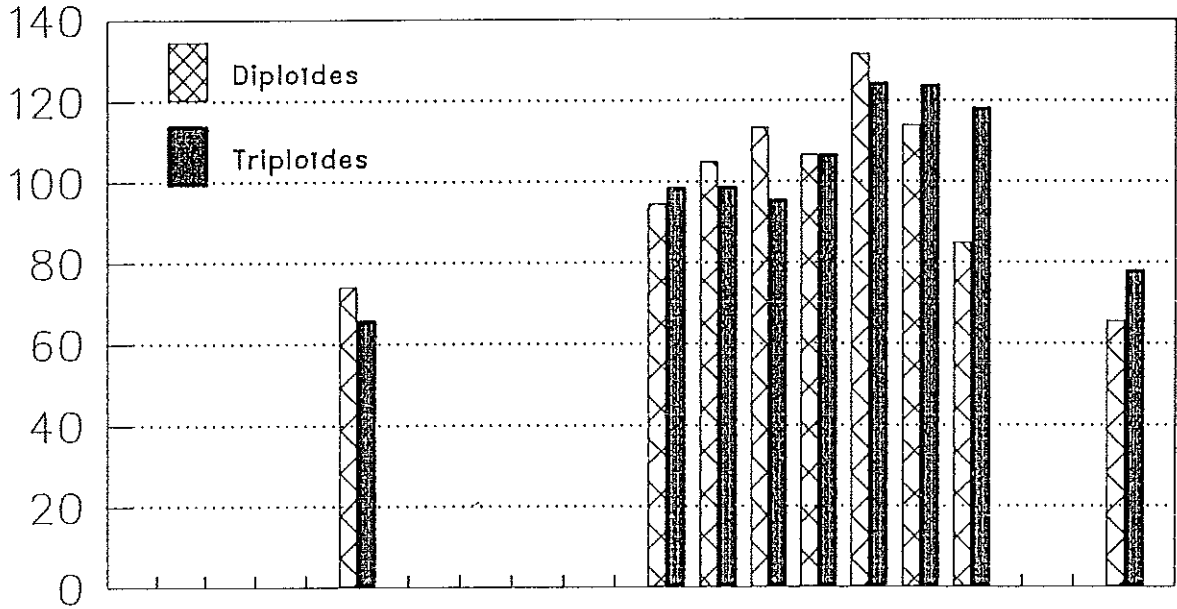
Epaisseur / Longueur



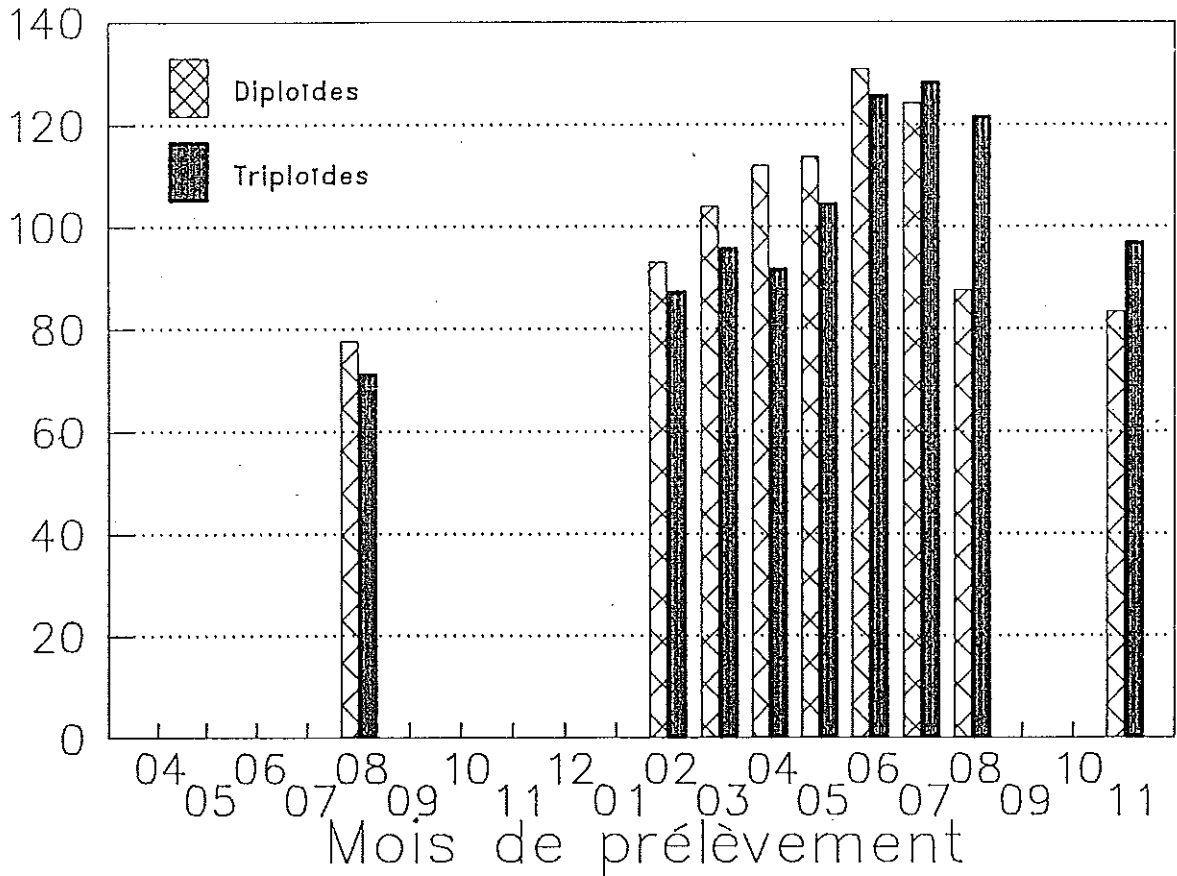
# PALOURDES LA TRINITE / MER

## INDICES DE CONDITION

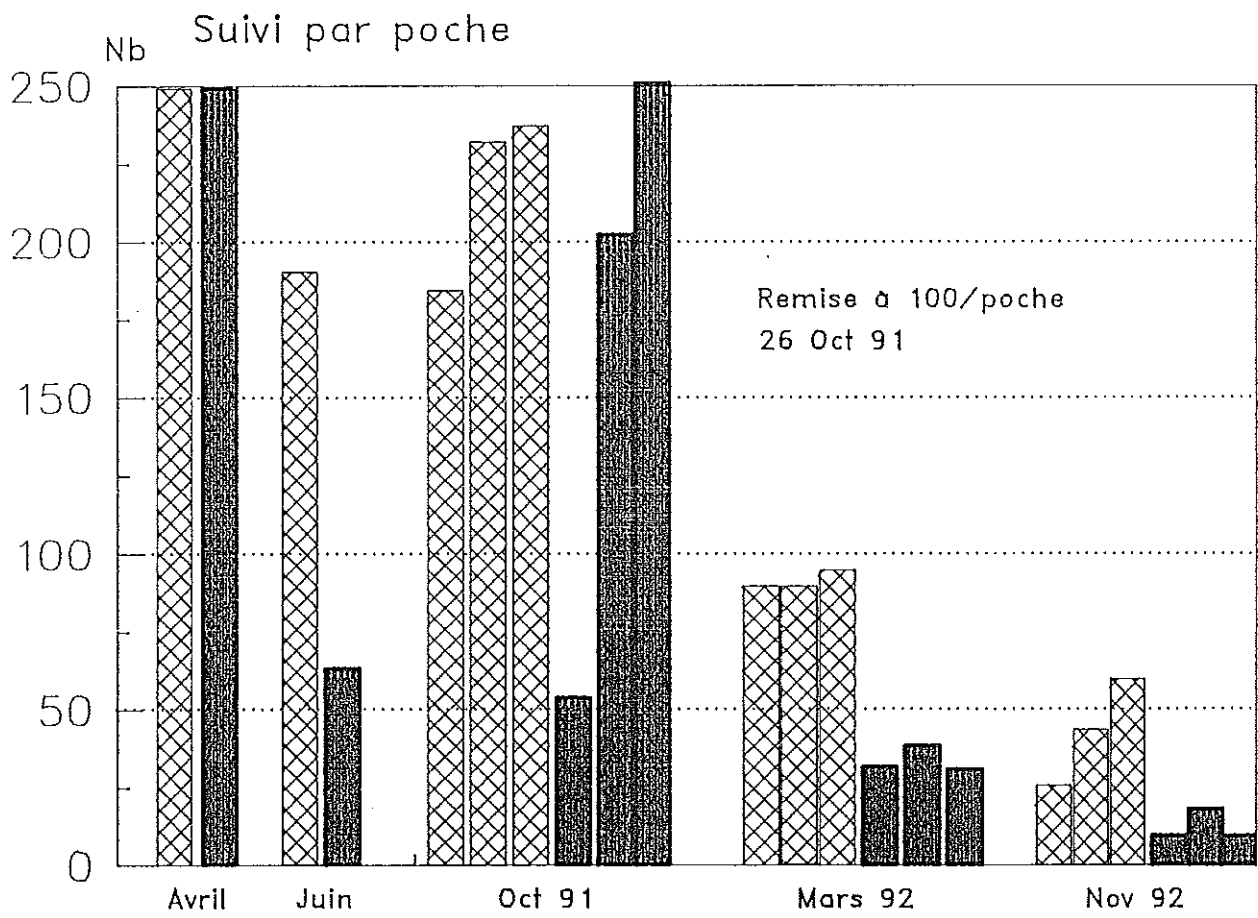
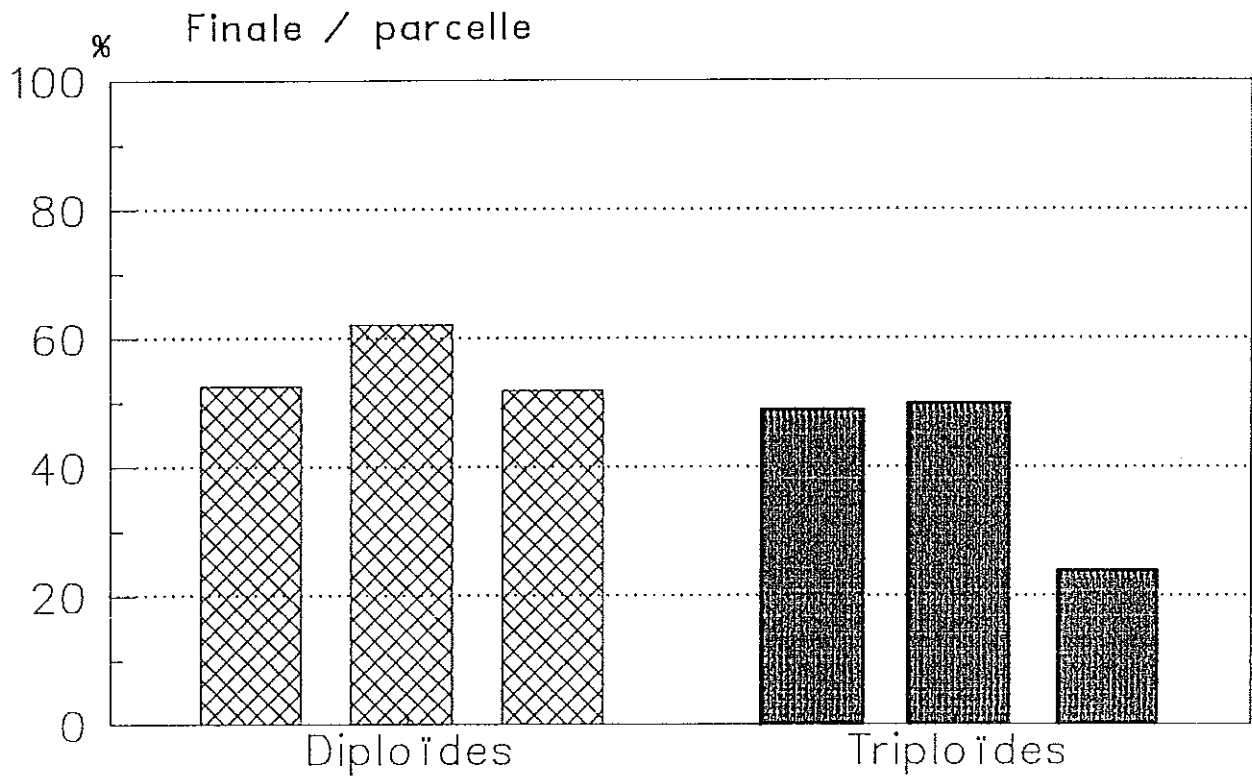
$$\frac{\text{Poids Chair lyophilisée}}{\text{Poids coquille}} \times 1000$$



Lawrence et Scott



PALOURDES LA TRINITE  
SURVIE

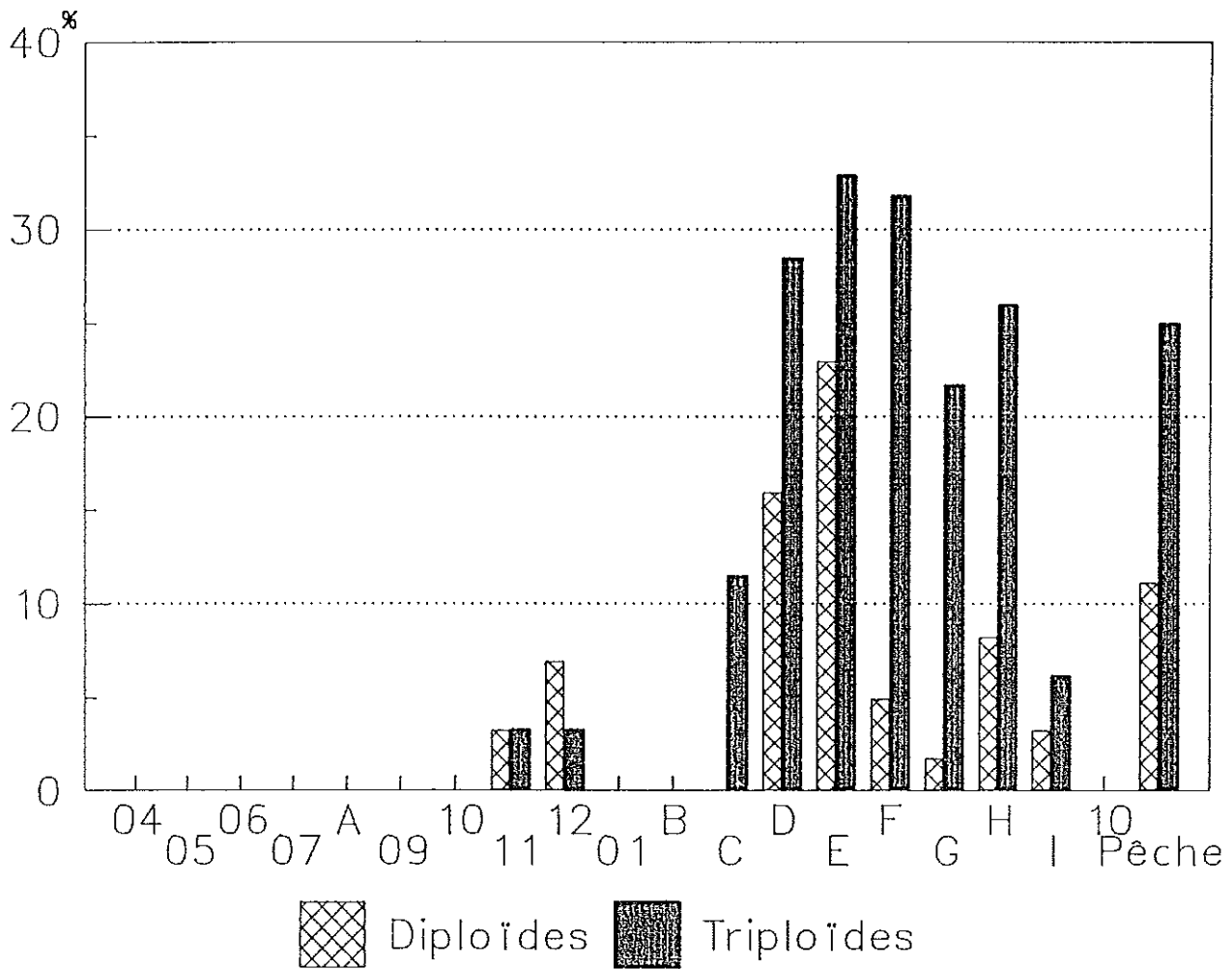




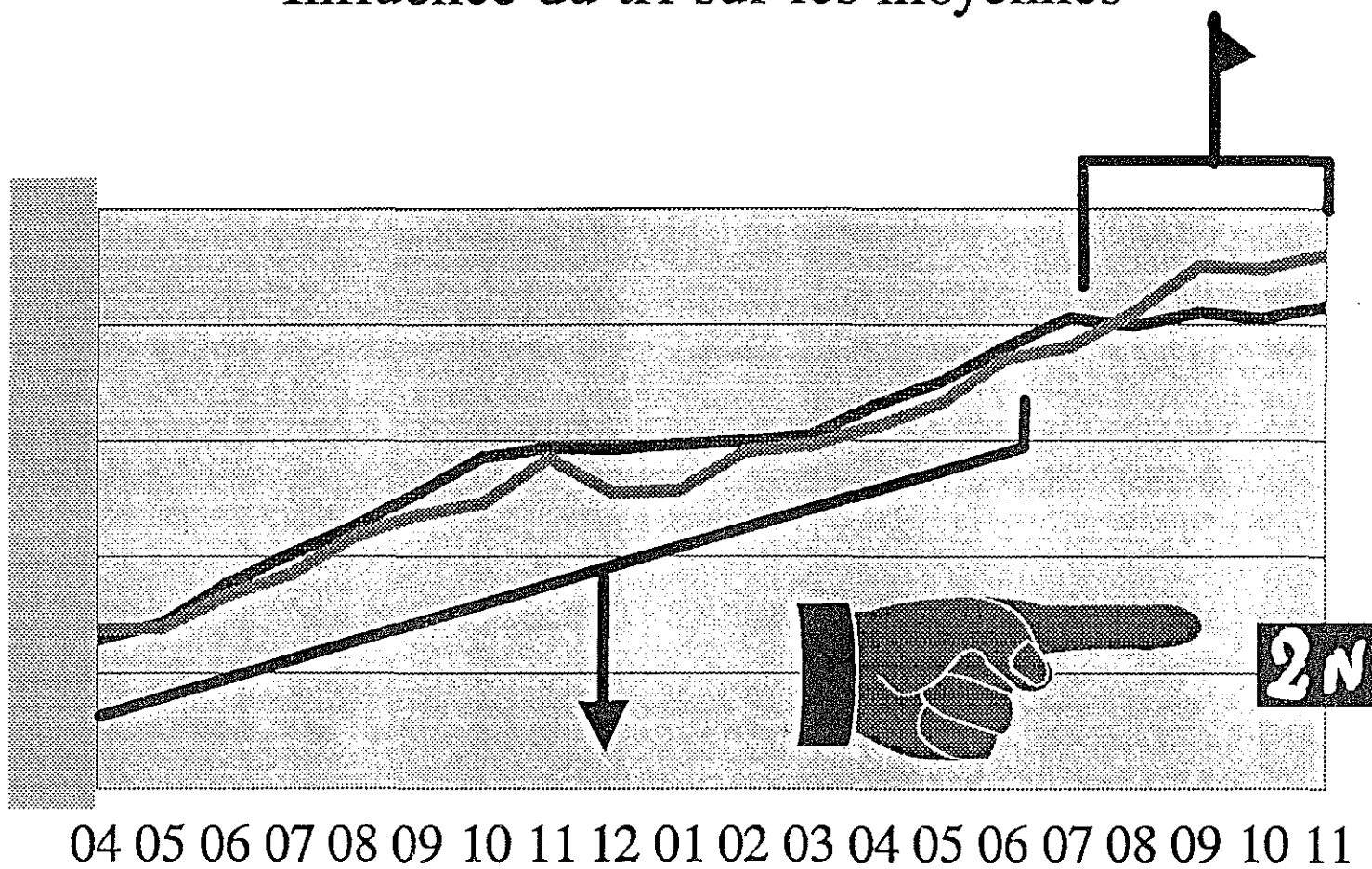
# PALOURDES LA TRINITE / MER

## EVOLUTION DE L'ANNEAU BRUN

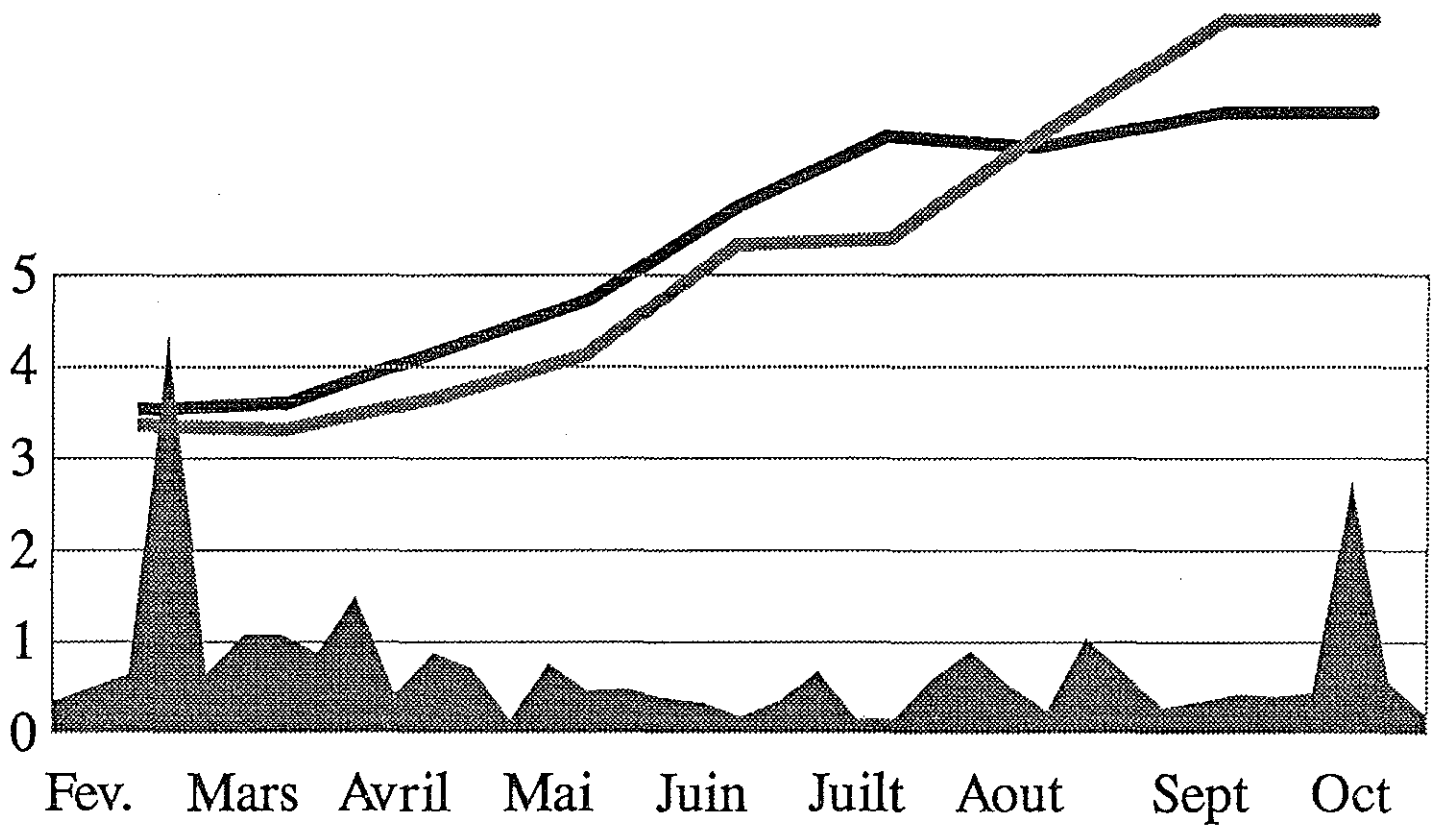
### % sur les prélèvements



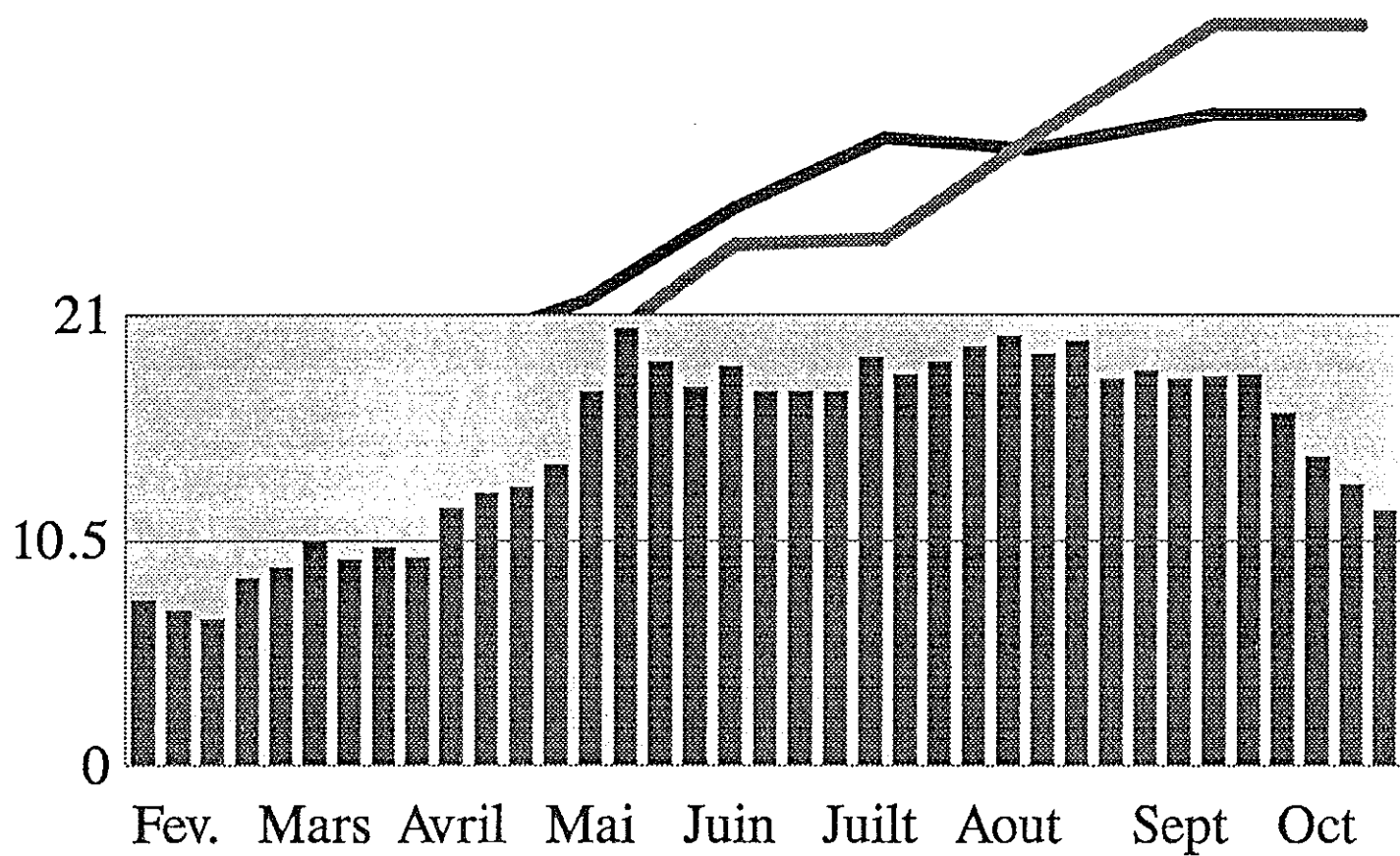
# Influence du tri sur les moyennes



# Croissance / chlorophylle

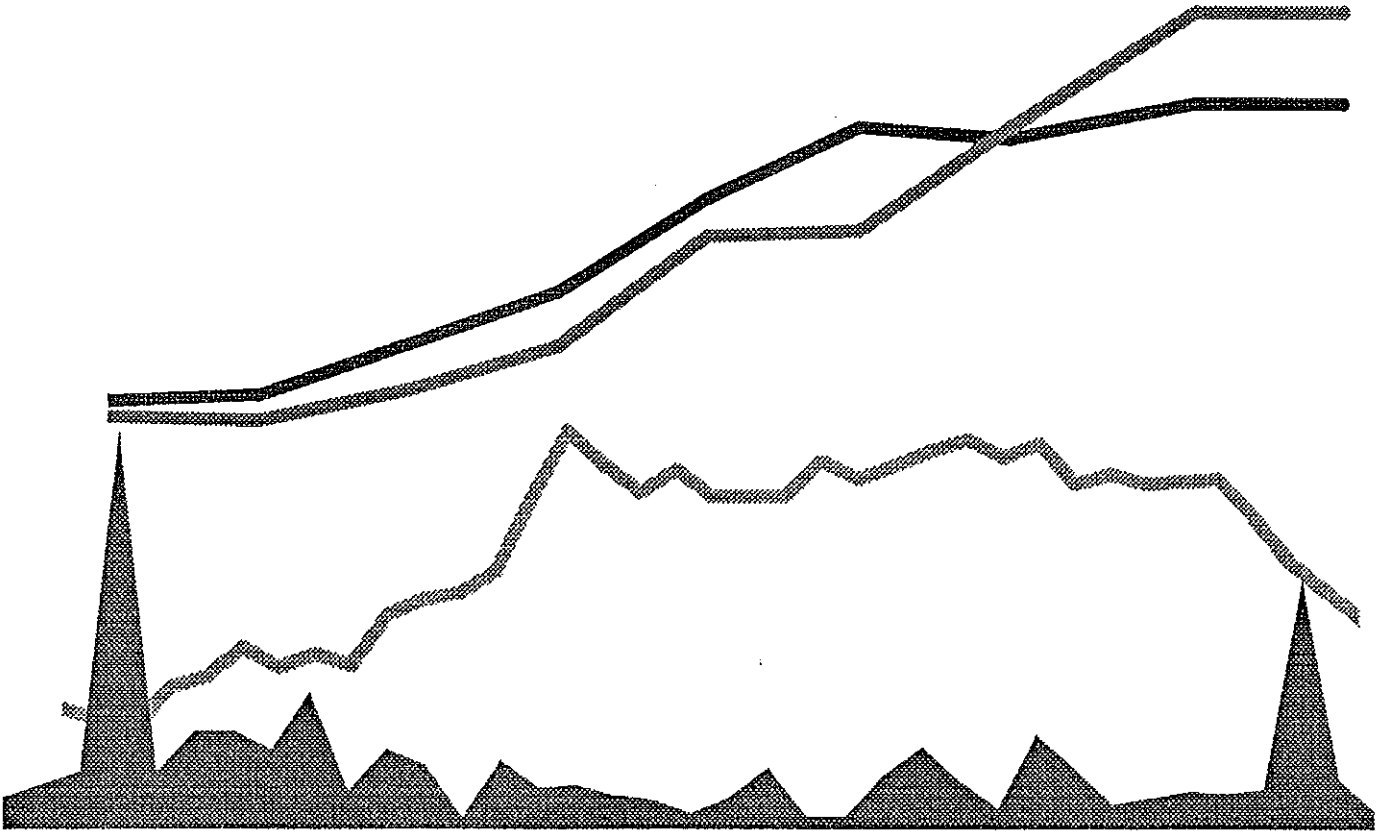


# Croissance / température



Relation Croissance-Température-Chlorophylle

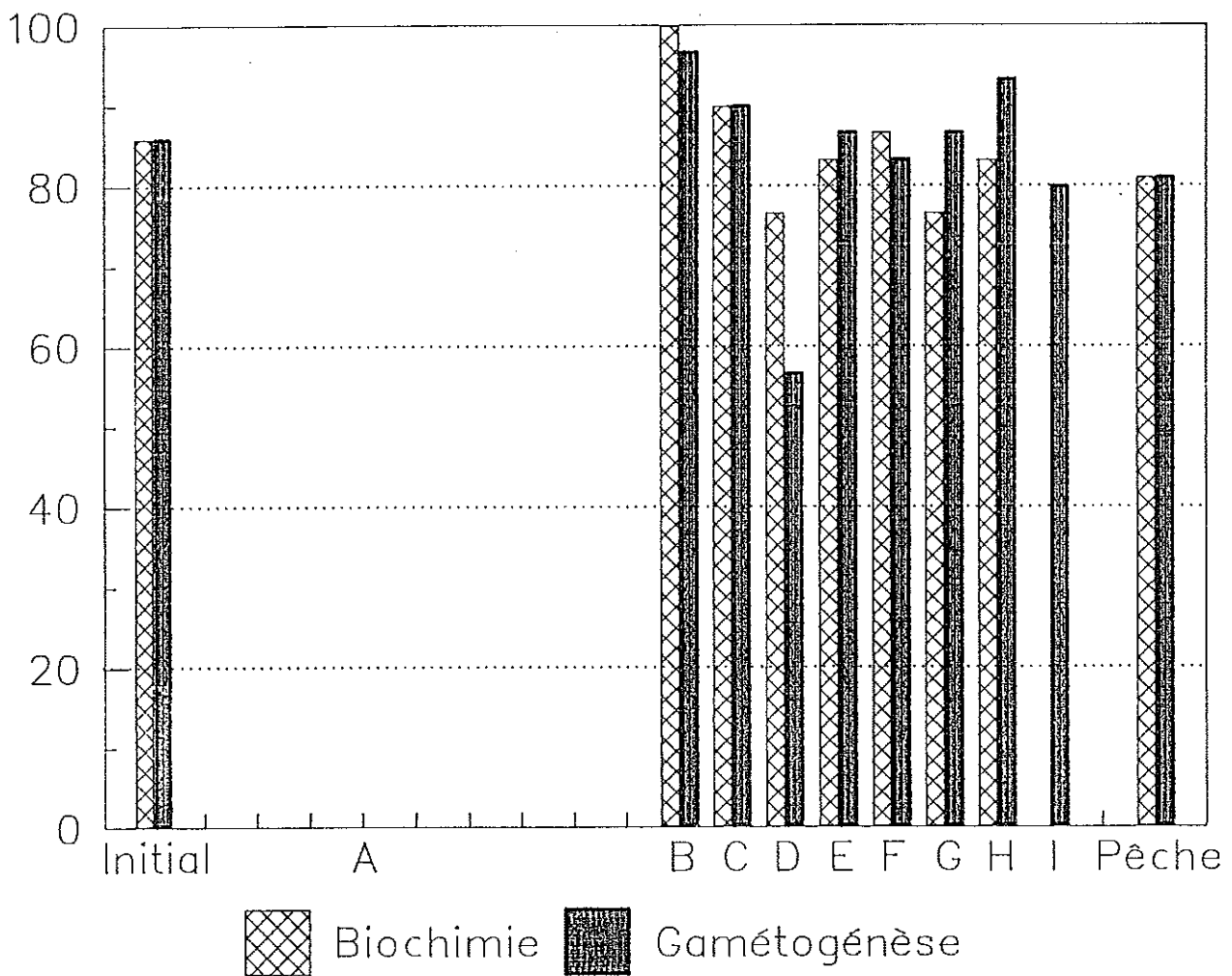
1992



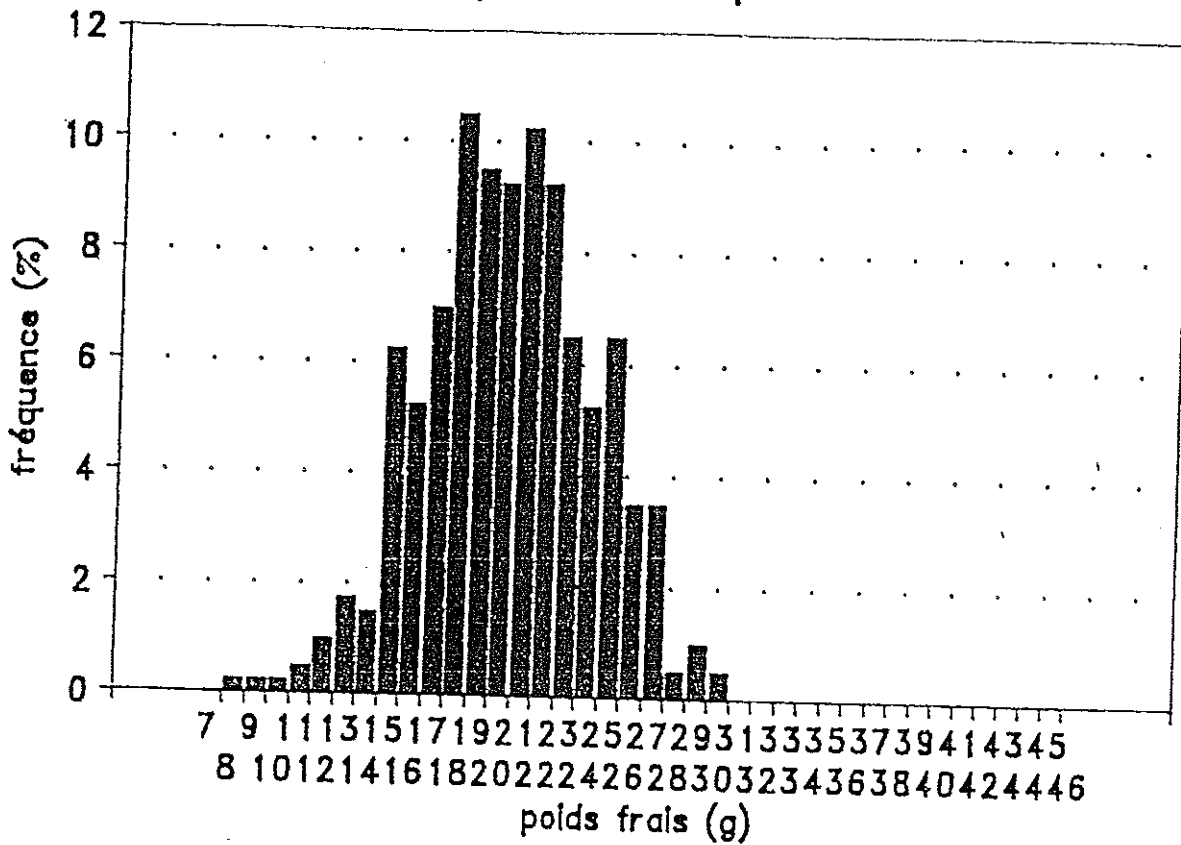
# PALOURDES LA TRINITE / MER

## EVOLUTION DU TAUX DE POLYPLOIDIE

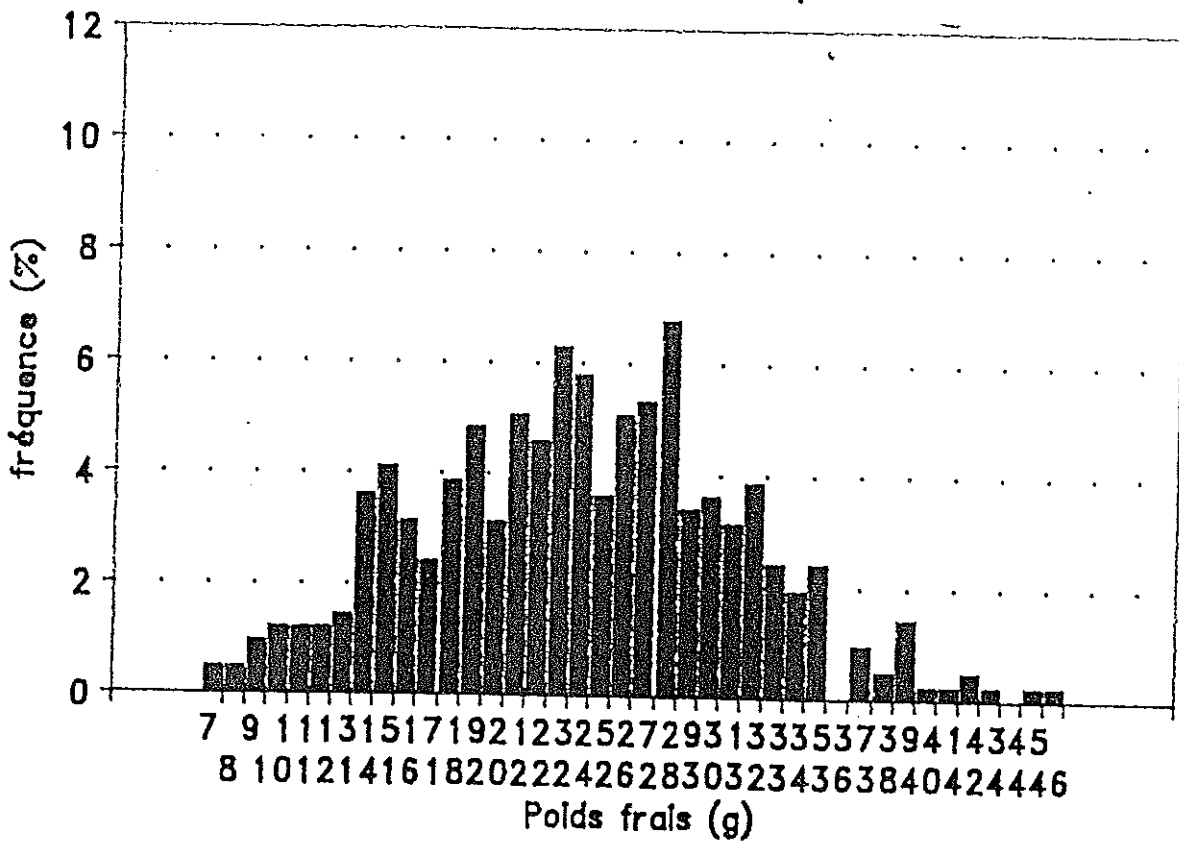
### 3N / parcelles triploïdes



## DISTRIBUTION DES POIDS des palourdes diploïdes

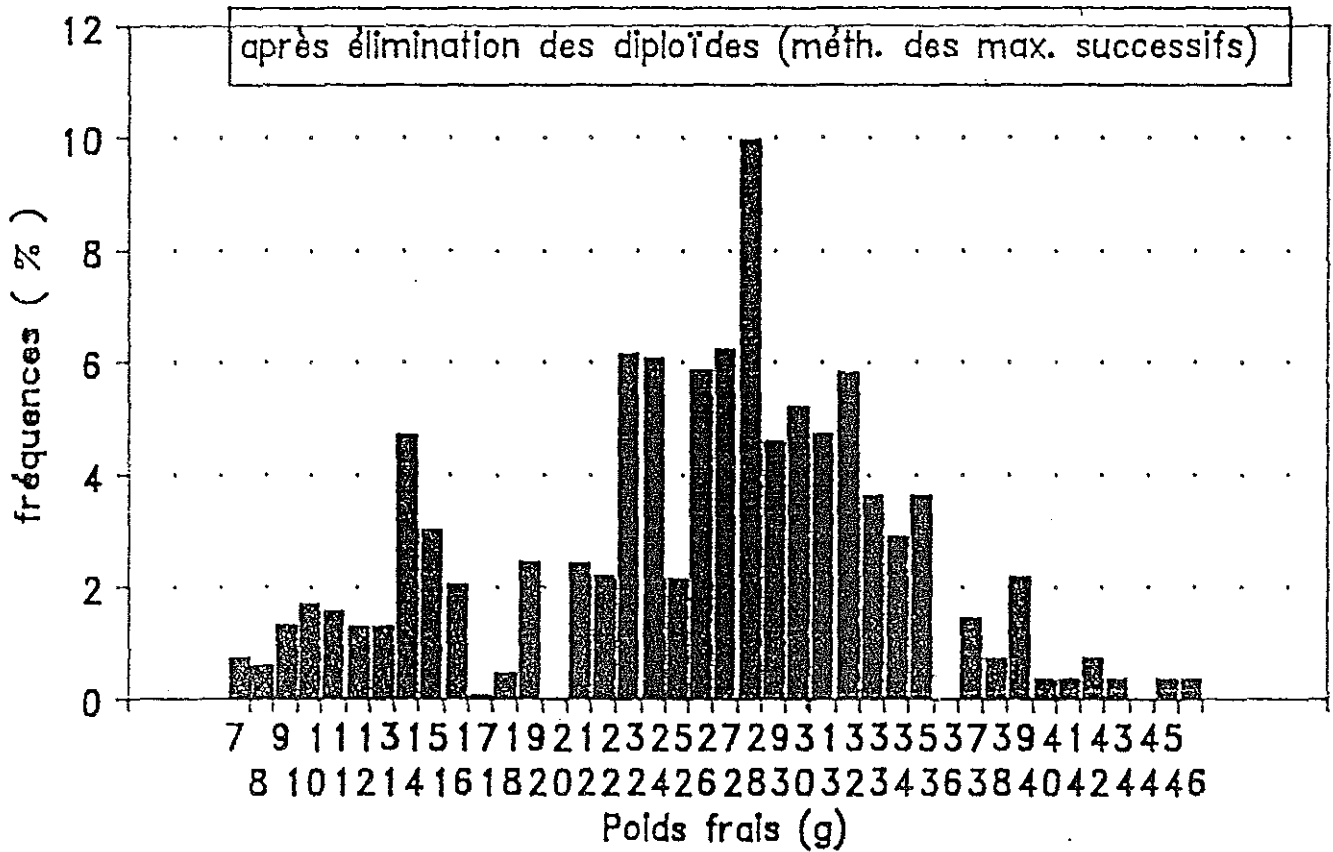


## DISTRIBUTION DES POIDS des palourdes dites triploïdes



# DISTRIBUTION DES POIDS

## des palourdes " TRIPLOIDES "





**Contrôle de performances sur les diploïdes et les triploïdes de  
palourdes *Ruditapes philippinarum* à La Tremblade.**

**Serge HEURTEBISE**

**IFREMER-URRA, BP 133 Ronce les Bains, 17 390 LA  
TREMBLADE**

**CONTROLE DES PERFORMANCES SUR LES DIPLOIDES ET LES TRIPLOIDES  
DE *Ruditapes philippinarum* EN CLAIRES DANS LE BASSIN  
DE MARENNES-OLERON.**

**URRA LA TREMBLADE**

**1) Conditions et résultats généraux sur l'ensemble de l'élevage : (voir tableaux en annexe)**

Les claires qui ont servi à la réalisation du contrôle de performances sont situées dans l'île d'Oléron (ORS), au CREEA (Centre Régional d'expérimentation et d'application aquacole) qui a assuré la réalisation de l'élevage, le suivi hydrologique, ainsi que l'estimation de la croissance (poids total moyen) et du taux de survie.

L'élevage a été réalisé sous filet à raison de 120 individus au m<sup>2</sup> pour la période de prégrossissement du 17/05/91 au 15/04/92 :

Bilan au 15/04/92

	Poids Total moyen	Taux de survie %
2 N	10,82	87,5
3 N	9,91	81

et à raison de 78 individus au m<sup>2</sup> sous filet pour la période de grossissement du 15/04/92 au 01/12/92

Bilan au 01/12//92 (Fin d'expérimentation)

	Poids Total moyen	Taux de survie %	Taux de survie pour l'ensemble du suivi %
2 N	17,18	92,6	81
3 N	15,47	92,7	75,1

Le taux de survie s'avère inférieur pour les animaux triploïdes et peut être imputé, en partie, au développement de la maladie des "anneaux bruns".

Les différents échantillonnages ont permis de mettre en évidence une plus forte sensibilité des triploïdes au développement de la maladie (présence d'anneaux, recalcification totale ou partielle).

- Evolution des paramètres hydrologiques.

Les résultats des mesures effectuées dans les bassins d'élevage montrent une relative constance des salinités et pas de variation sensible des températures pendant la période de gamétogenèse.

## 2) Résultats du contrôle de performance réalisé par échantillonnage : (voir graphes en annexe)

### • Croissance.

Les principaux résultats biométriques (réalisés par échantillonnage de 30 individus pour chaque niveau de ploïdie) font apparaître une croissance légèrement supérieure des animaux diploïdes, enregistrée dès la sortie de l'hiver 91/92, notamment pour le poids total et les mesures d'épaisseur de coquille, et de longueur en période de reproduction.

La prise de poids sec par le lot témoin diploïde est plus importante dès septembre 91 et s'est confirmée en mars 92. De même, la croissance printanière et estivale est plus marquée pour les individus diploïdes et se retrouve dans les différentes mesures pondérales et les indices de condition.

L'effort de ponte des témoins se traduit par des baisses de poids significatives en début juillet 92 et surtout fin août 92. Parallèlement, le poids de coquille sèche présente des variations aux mêmes périodes.

Globalement, le même phénomène est observé, de façon nettement moins sensible chez les triploïdes.

### • INDICES DE CONDITION ET BIOCHIMIE

$I_1$  : Poids sec de chair/Poids de coquille sèche.

$I_2$  : Poids sec de chair/(Poids total - Poids de coquille sèche).

En période printanière, parallèlement à la croissance, les indices  $I_1$  et  $I_2$  augmentent pour l'ensemble des animaux, mais plus nettement pour les diploïdes qui accumulent des réserves glucidiques et lipidiques afin d'assurer la gamétogenèse. Une chute régulière des 2 indices suit la période de ponte.

Les teneurs relatives en lipides et glucides totaux chutent aux périodes vraisemblables d'émission des gamètes pour les individus diploïdes. La composition biochimique des triploïdes montre aussi une accumulation plus tardive de sucres et lipides et une diminution régulière dans le temps (juin 92 à septembre 92) de la teneur en lipides. La baisse de la teneur en glucides est aussi brutale que pour les témoins à la fin août 92.

Pour les deux niveaux de ploïdie, les réserves en glycogène sont faibles tout au long de l'année (<0,5%) sauf pour la période estivale qui précède la ponte principale de fin août (3%). Les teneurs relatives en protéines présentent peu de fluctuations pendant la période d'échantillonnage.

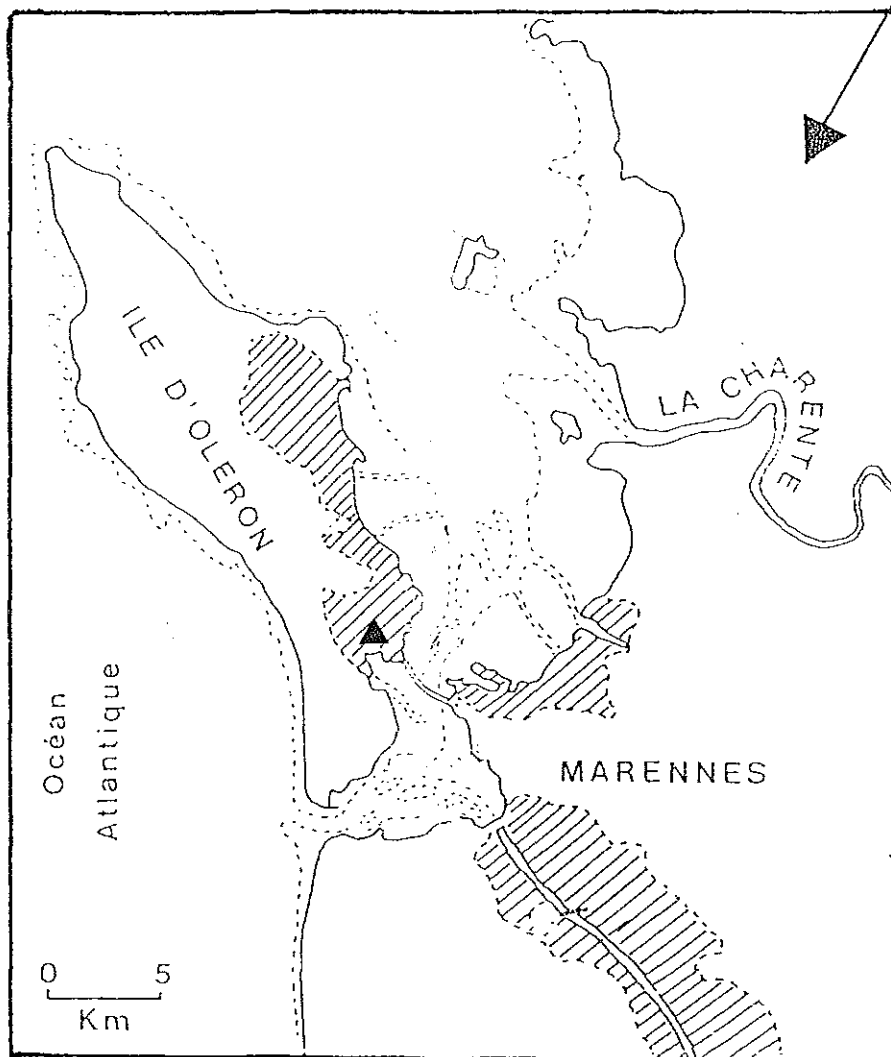
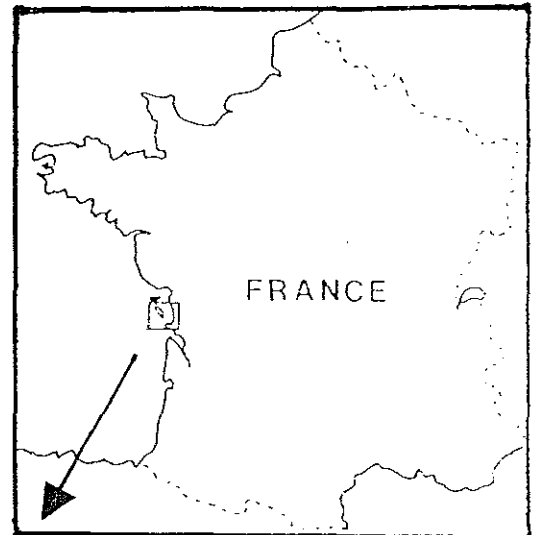
On note encore une reprise automnale après la reproduction concernant les principales substances de réserves pour l'ensemble des animaux.

## Conclusion

L'obtention de produits conchylicoles par polyploïdisation permettait d'espérer l'amélioration des performances de croissance et de la qualité des mollusques d'élevages.

L'élevage comparé d'animaux témoins diploïdes et triploïdes de *Ruditapes philippinarum* en claire dans le bassin de Marennes-Oléron n'a pas permis de mettre en évidence l'intérêt local de la polyploïdisation pour cette espèce d'intérêt commercial.

BASSIN DE  
MARENNES - OLERON



▲ CREEA

**RESULTATS DES PERFORMANCES DE CROISSANCE DE RUDITAPES PHILIPPINARUM  
ENTRE INDIVIDUS DIPLOIDES ET TRIPLOIDES**

*BILAN A LA PECHE DU 15.04.1992*

*BASSIN A 17*

Filet N°	1	Pds Moyen	9.23
Type	3NS	Survie	93.4%

Filet N°	4	Pds Moyen	10.25
Type	3N	Survie	81.5%
Moy.Long	35.25	Moy.Epais	16.53

Filet N°	6	Pds Moyen	10.92
Type	2N	Survie	86.0%
Moy.Long	35.37	Moy.Epais	17.36

Filet N°	8	Pds Moyen	9.67
Type	3N	Survie	81.2%
Moy.Long	34.35	Moy.Epais	16.39

Filet N°	10	Pds Moyen	11.25
Type	3NS	Survie	97.9%

Filet N°	2	Pds Moyen	8.98
Type	3NS	Survie	98.4%

Filet N°	5	Pds Moyen	10.58
Type	2N	Survie	88.7%
Moy.Long	34.08	Moy.Epais	17.03

Filet N°	7	Pds Moyen	9.8
Type	3N	Survie	80.5%
Moy.Long	34.76	Moy.Epais	16.42

Filet N°	9	Pds Moyen	10.97
Type	2N	Survie	87.7%
Moy.Long	35.35	Moy.Epais	17.37

Filet N°	11	Pds Moyen	11.26
Type	3NS	Survie	94.5%

Filet N°	3	Pds Moyen	9.32
Type	3NS	Survie	103.2%

Filet N°	12	Pds Moyen	10.66
Type	3NS	Survie	92.6%

*BILAN A LA PECHE DU 01.12.1992*

*BASSIN A 18*

Filet N°	1	Pds Moyen	14.89
Type	3NS	Survie	90.6%

Filet N°	4	Pds Moyen	15.14
Type	3N	Survie	95.4%
Moy.Long	39.12	Moy.Epais	19.41

Filet N°	6	Pds Moyen	17
Type	2N	Survie	93.4%
Moy.Long	40.3	Moy.Epais	20.63

Filet N°	8	Pds Moyen	15.45
Type	3N	Survie	93.8%
Moy.Long	39.64	Moy.Epais	19.61

Filet N°	10	Pds Moyen	16.6
Type	3NS	Survie	86.1%

Filet N°	2	Pds Moyen	16.29
Type	3NS	Survie	92.6%

Filet N°	5	Pds Moyen	17.1
Type	2N	Survie	92.3%
Moy.Long	39.96	Moy.Epais	20.58

Filet N°	7	Pds Moyen	15.82
Type	3N	Survie	89.1%
Moy.Long	39.64	Moy.Epais	19.69

Filet N°	9	Pds Moyen	17.44
Type	2N	Survie	92.2%
Moy.Long	40.52	Moy.Epais	20.57

Filet N°	11	Pds Moyen	17.8
Type	3NS	Survie	90.4%

Filet N°	3	Pds Moyen	18.35
Type	3NS	Survie	93.3%

Filet N°	12	Pds Moyen	18.2
Type	3NS	Survie	89.7%

**RESULTATS DES PERFORMANCES DE CROISSANCE DE RUDITAPES PHILIPPINARUM  
ENTRE INDIVIDUS DIPLOIDES ET TRIPLOIDES.**

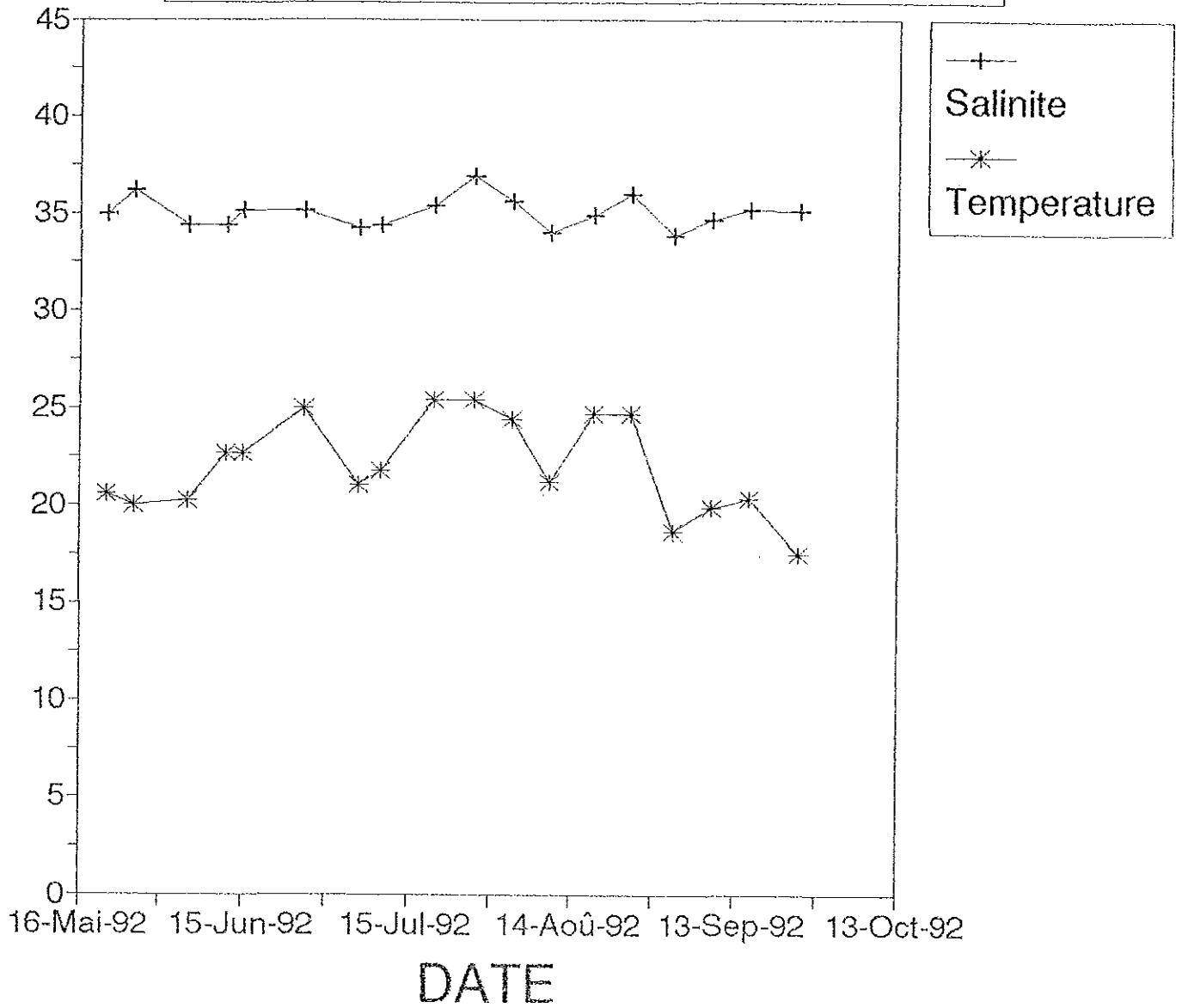
**BASSIN A 17**

SEMIS APRES RECEPTION LE 17.05.1991 DENSITE 24.7 Unité/m2				RESULTATS A LA PECHE DU 15.04.92 DENSITE 21.6 Unité/m2								
FILET	Poids Total en Kg	Pds Moyen en gr	Nombres	Type	Poids Total en Kg	Pds Moyen en gr	Nombres	Survie en %	Dens/Filet /m2	Long.Moy en mm	Epais.Moy en mm	Rapport Allométriqu
1	0.56	0.4313	1298	3NS	11.26	9.23	1212	93.4	101			
2	0.56	0.4313	1298	3NS	10.84	8.98	1278	98.4	107			
3	0.56	0.4313	1298	3NS	12.22	9.32	1339	103.2	112			
4	0.827	0.4423	1870	3N	14.46	10.25	1468	81.5	122	35.25	16.53	0.47
5	0.806	0.4713	1709	2N	15.08	10.58	1454	88.7	121	34.08	17.03	0.50
6	0.806	0.4713	1709	2N	15.36	10.92	1409	86	117	35.37	17.36	0.49
7	0.827	0.4423	1870	3N	13.76	9.8	1450	80.5	121	34.76	16.42	0.47
8	0.827	0.4423	1870	3N	15.34	9.67	1462	81.2	122	34.35	16.39	0.48
9	0.806	0.4713	1709	2N	16	10.97	1438	87.7	120	35.35	17.37	0.49
10	0.56	0.4313	1298	3NS	14.36	11.25	1271	97.9	106			
11	0.56	0.4313	1298	3NS	14.3	11.26	1227	94.5	102			
12	0.56	0.4313	1298	3NS	14.18	10.66	1202	92.6	100			
<b>Total</b>	<b>8.259</b>		<b>18525</b>		<b>167.16</b>		<b>16210</b>	<b>87.5%</b>				

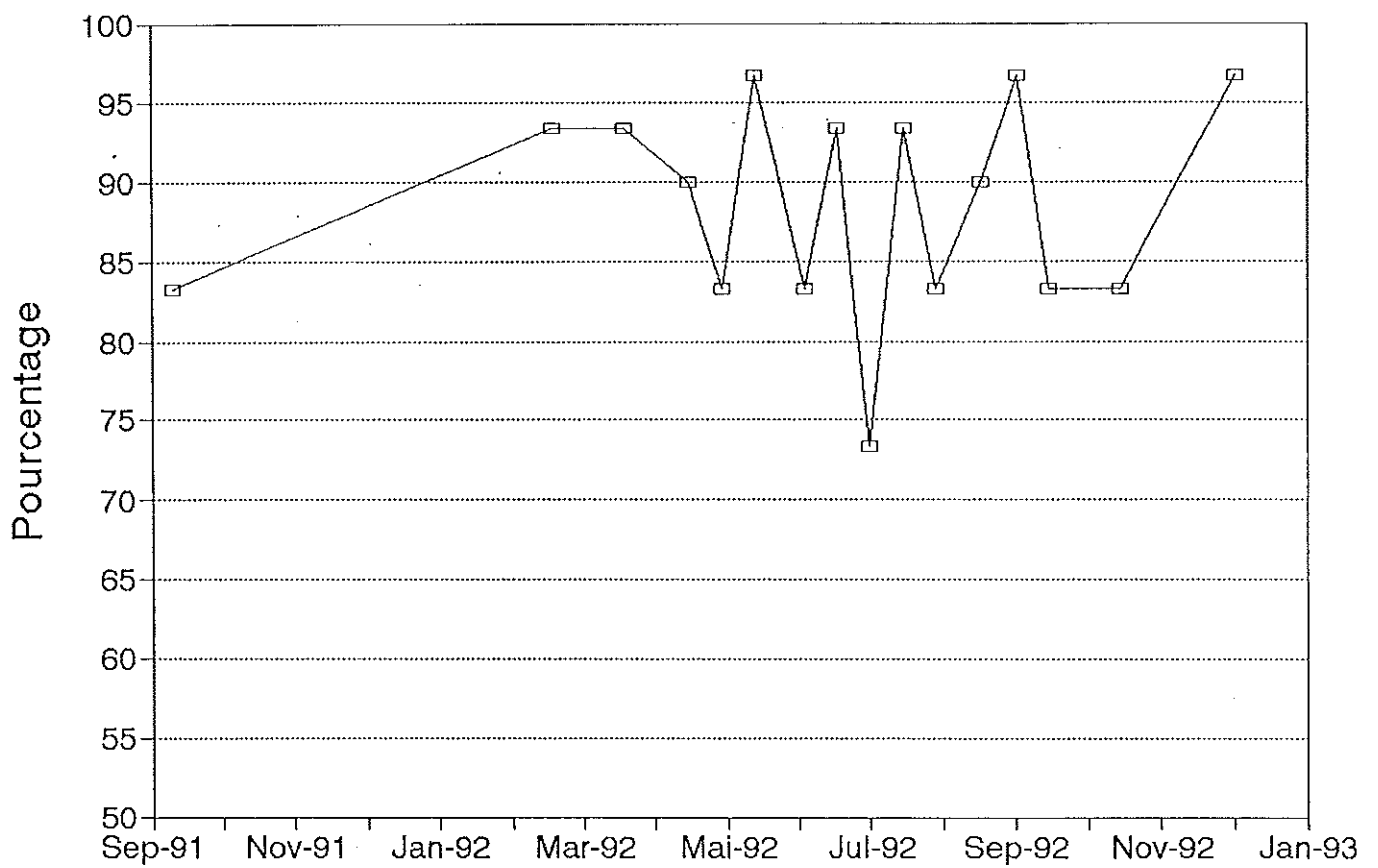
**BASSIN A 18**

SEMIS APRES LA PECHE DU 15.04.1992 DENSITE 19.3 Unité/m2				RESULTATS A LA PECHE DU 01.12.92 DENSITE 16.5 Unité/m2								
FILET	Poids Total en Kg	Pds Moyen en gr	Nombres	Type	Poids Total en Kg	Pds Moyen en gr	Nombres	Survie en %	Dens/Filet /m2	Long.Moy en mm	Epais.Moy en mm	Rapport Allométriqu
1	12.86	10.25	1254	3NS	17.66	14.89	1137	90.6	76			
2	12.86	10.25	1254	3NS	19.32	16.29	1161	92.6	77			
3	12.86	10.25	1254	3NS	21.2	18.35	1170	93.3	78			
4	14.52	9.4	1460	3N	18.1	15.14	1235	95.4	82	39.12	19.41	0.50
5	15.48	10.8	1433	2N	20.24	17.1	1170	92.3	78	39.96	20.58	0.52
6	15.48	10.8	1433	2N	19.92	17	1184	93.4	79	40.3	20.63	0.51
7	14.52	9.4	1460	3N	18.52	15.82	1155	89.1	77	39.64	19.69	0.50
8	14.52	9.4	1460	3N	18.42	15.45	1172	93.8	78	39.64	19.61	0.49
9	15.48	10.8	1433	2N	20.16	17.44	1169	92.2	78	40.52	20.57	0.51
10	12.86	10.25	1254	3NS	18.06	16.6	1080	86.1	72			
11	12.86	10.25	1254	3NS	19.74	17.8	1134	90.4	76			
12	12.86	10.25	1254	3NS	20.38	18.2	1125	89.7	75			
<b>Total</b>	<b>167.16</b>		<b>16203</b>		<b>231.72</b>		<b>13892</b>	<b>85.7%</b>				

# Evolution des salinités et températures

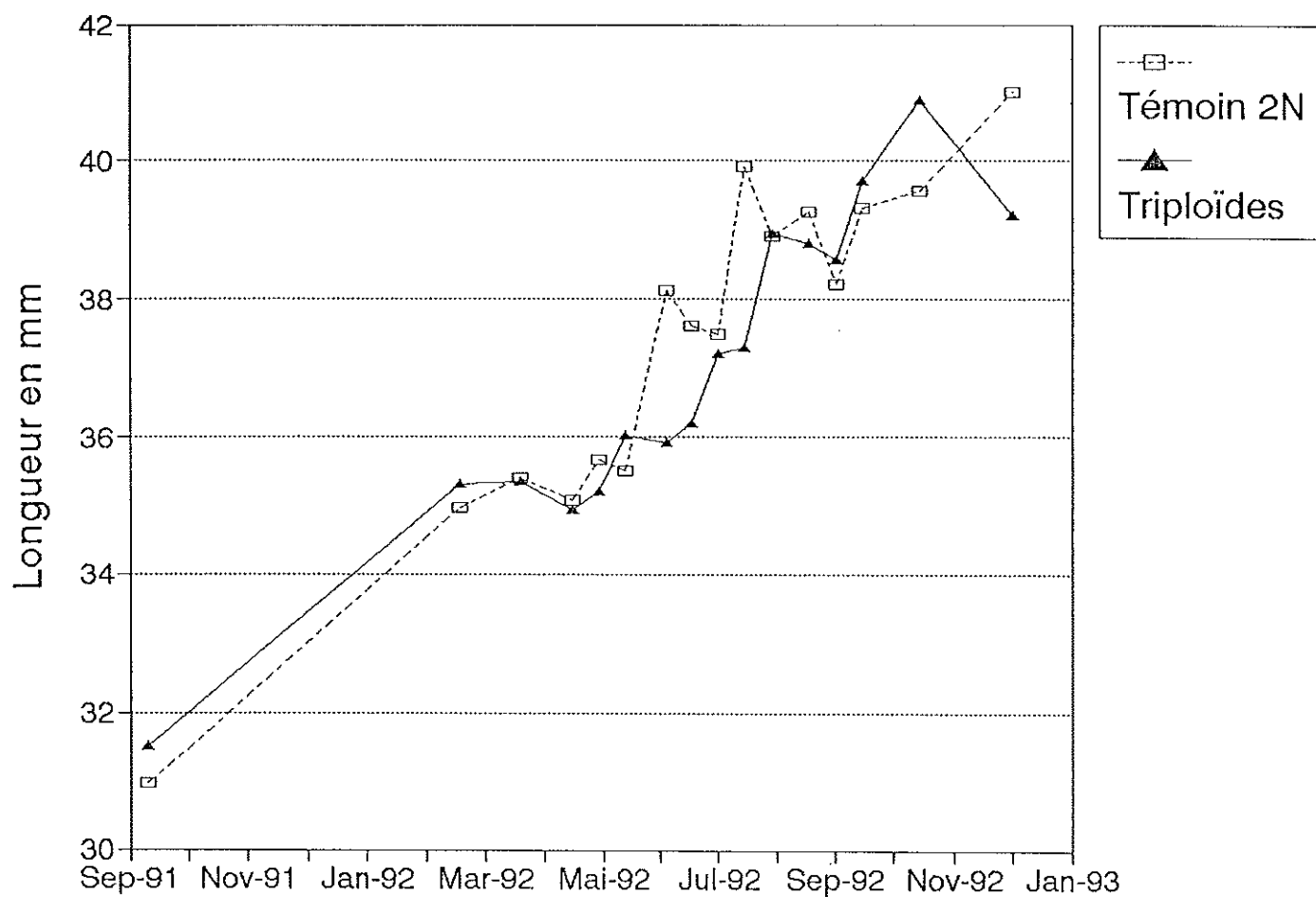


## Evolution du taux de triploïdes dans les échantillons

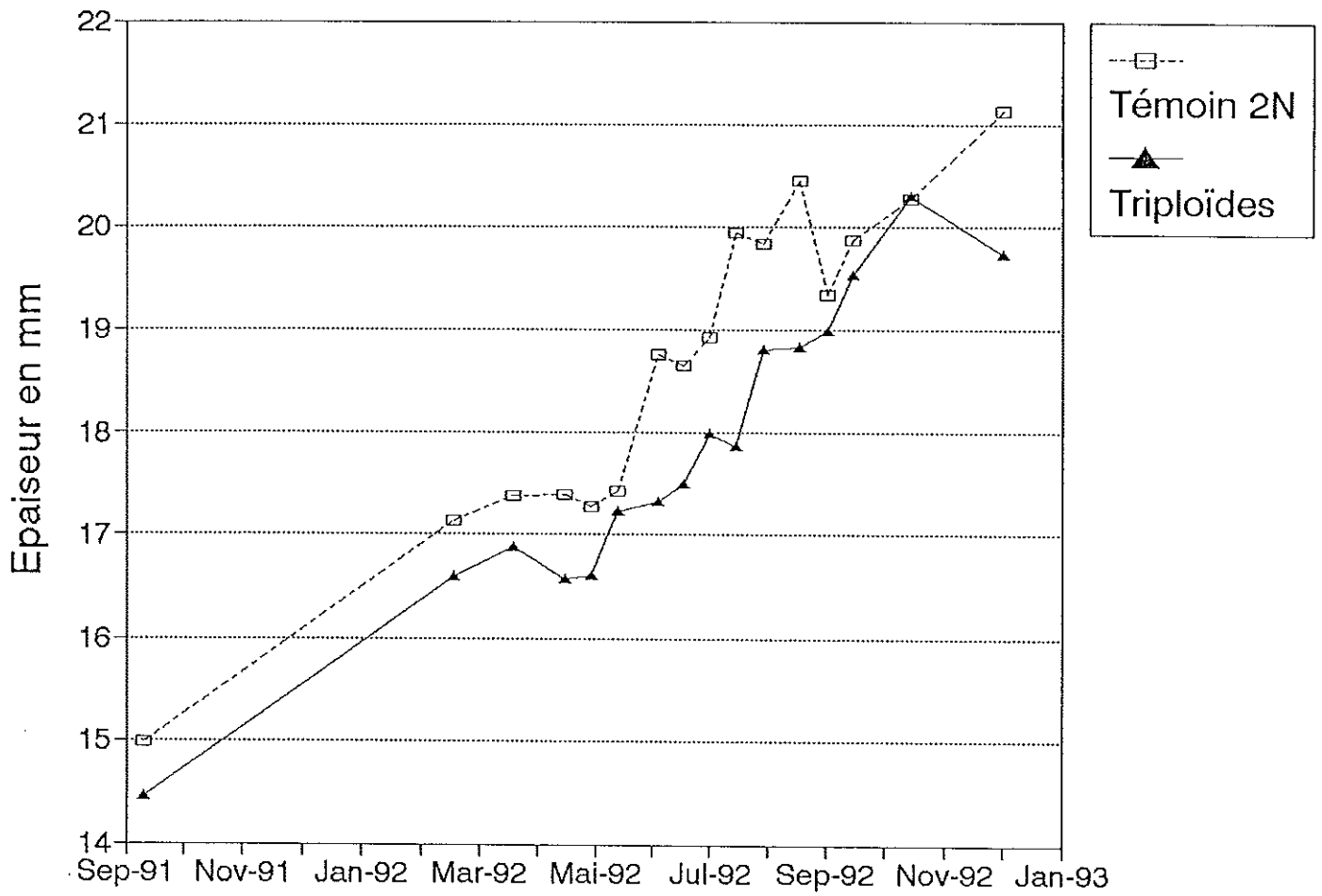




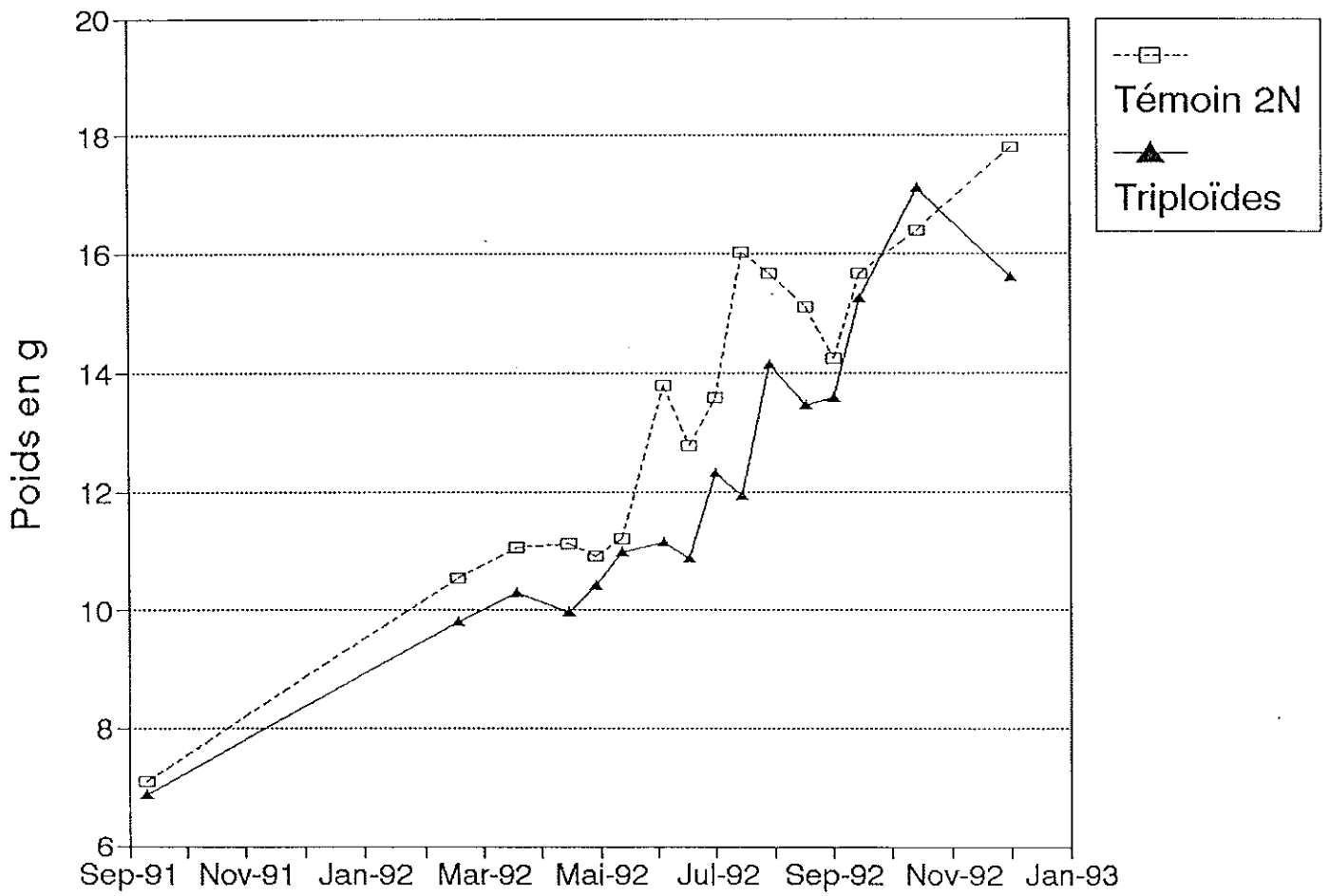
# LONGUEUR



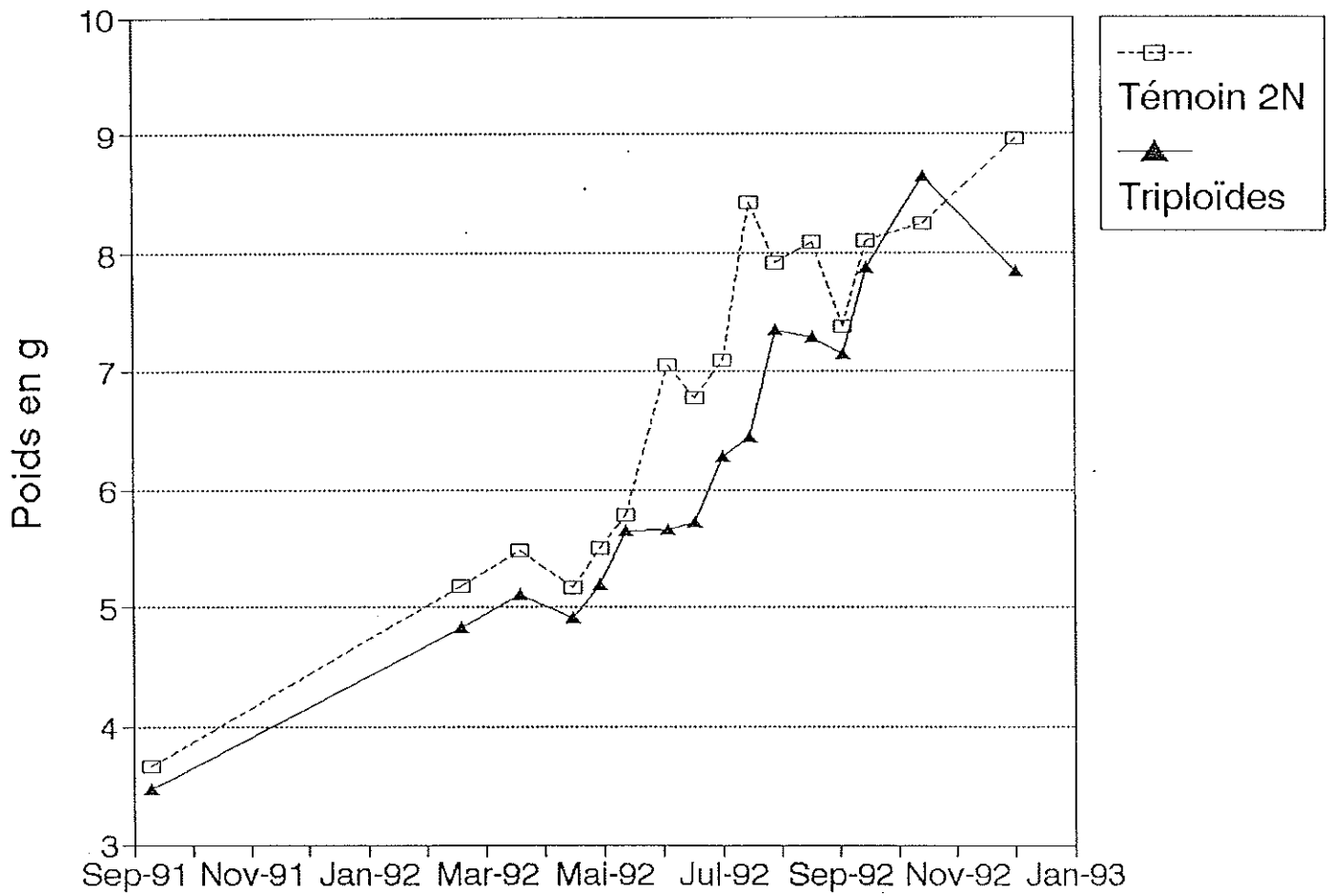
# EPAISSEUR



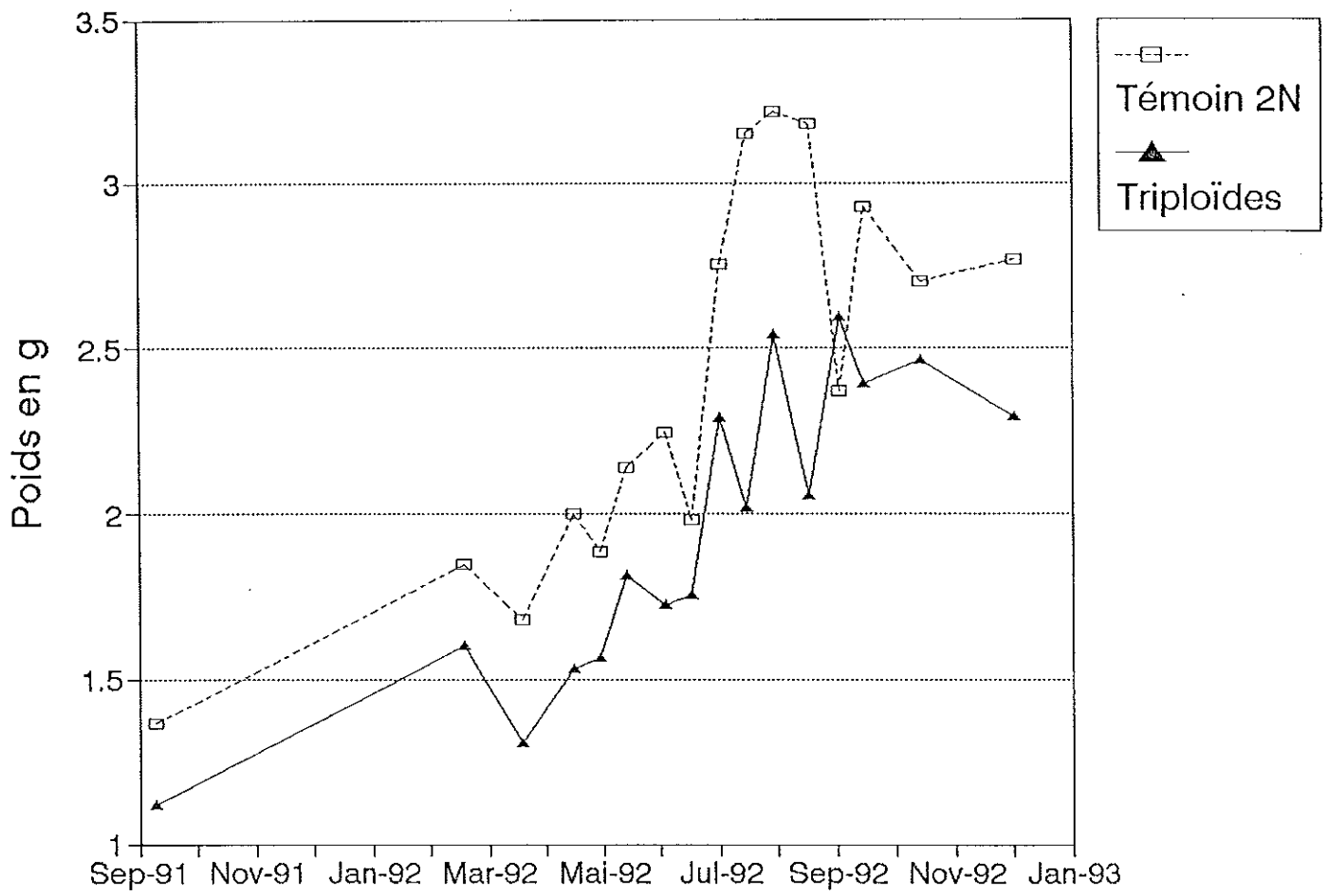
# POIDS TOTAL



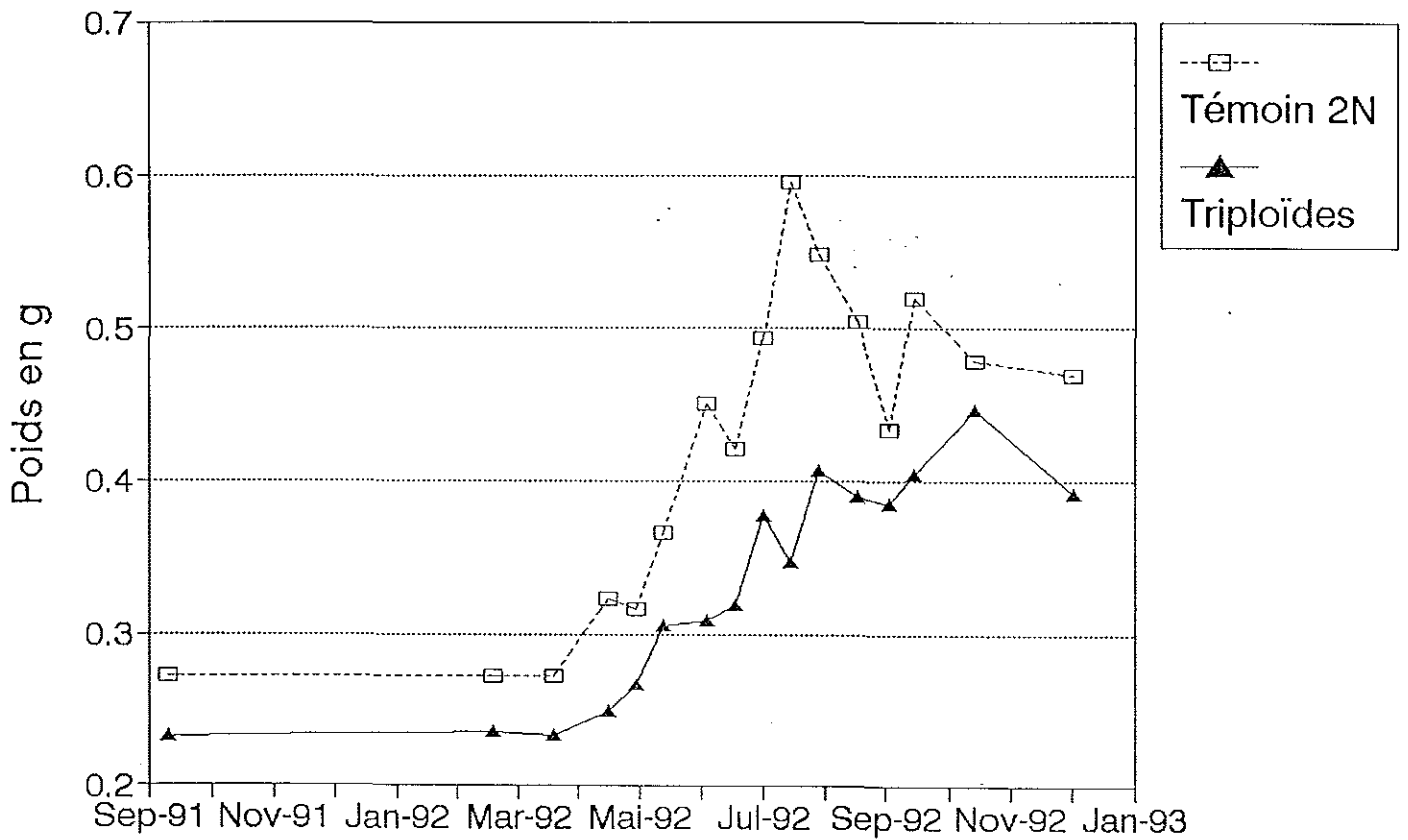
# POIDS DE COQUILLE SECHE



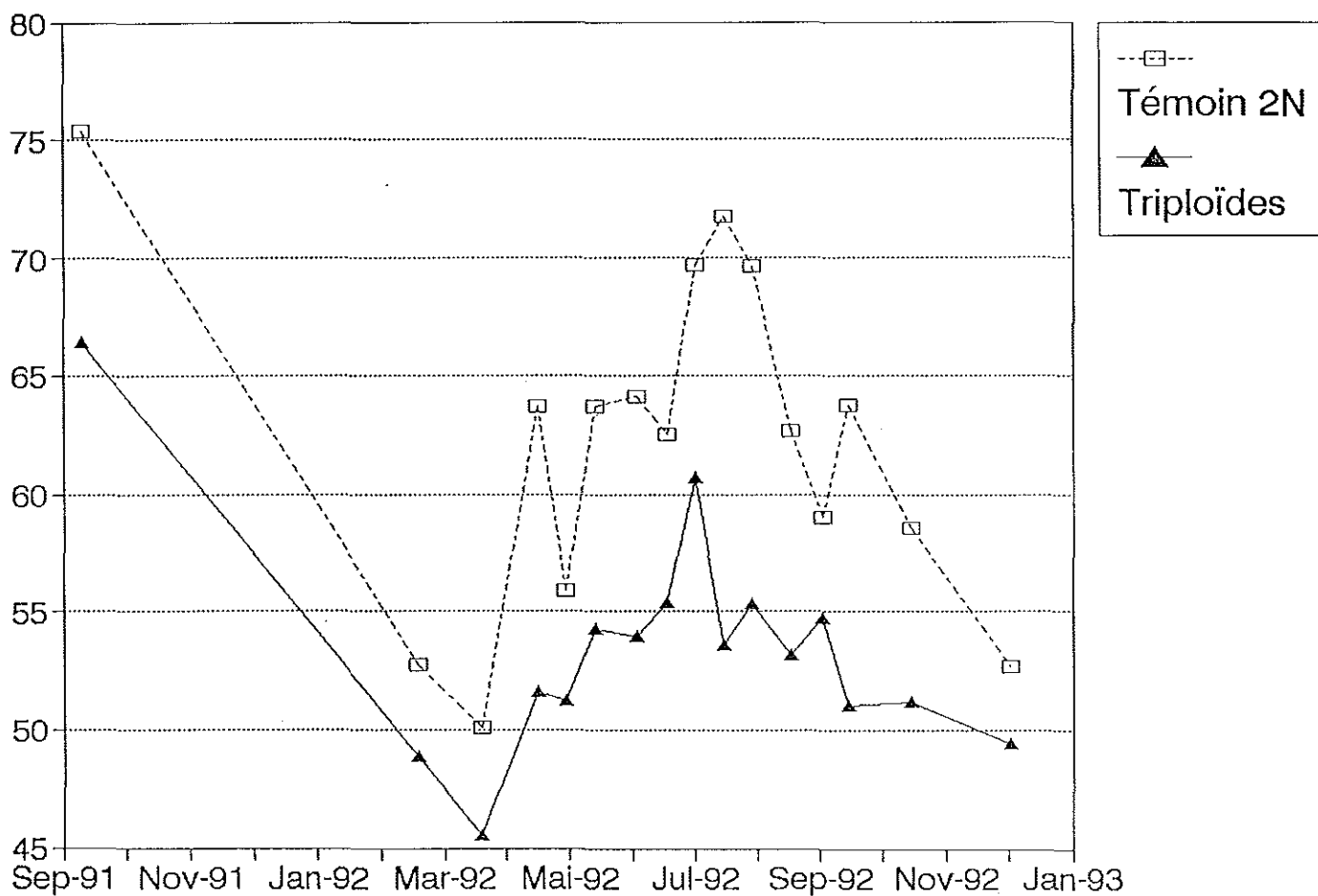
# POIDS FRAIS DE CHAIR



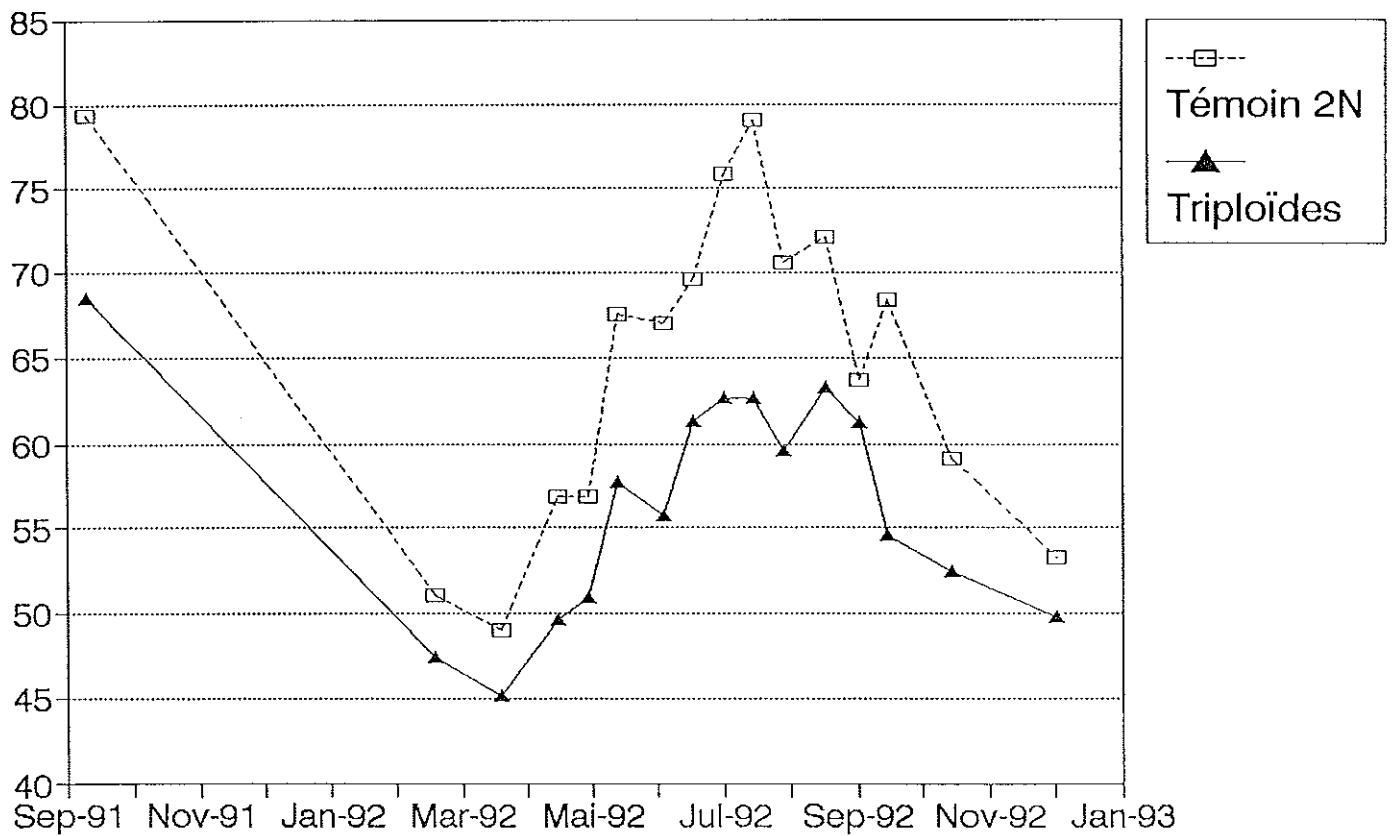
# POIDS SEC DE CHAIR



# INDICE POIDS SEC / COQUILLE SECHE

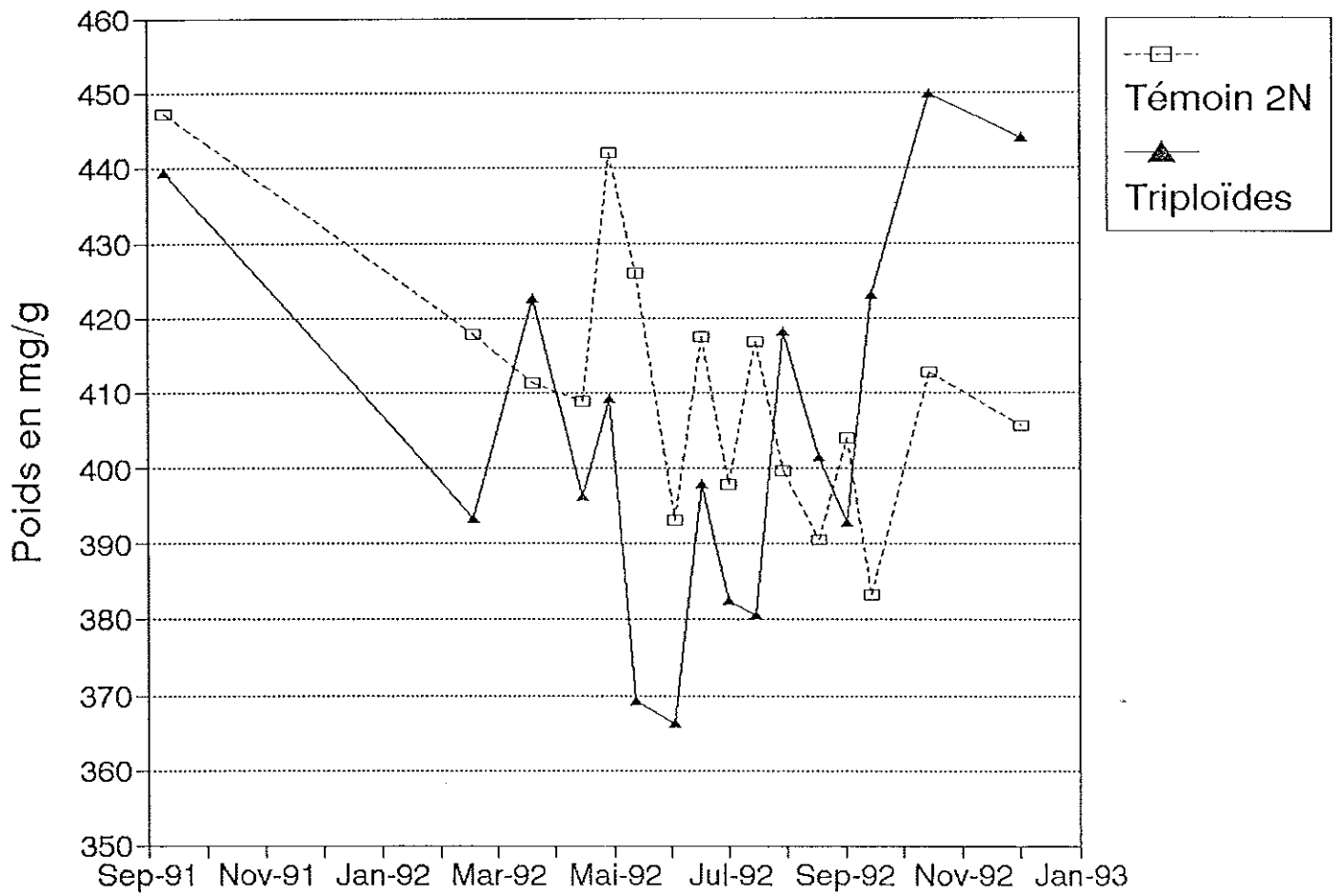


# INDICE DE CONDITION Ps/(Pt-Pc)

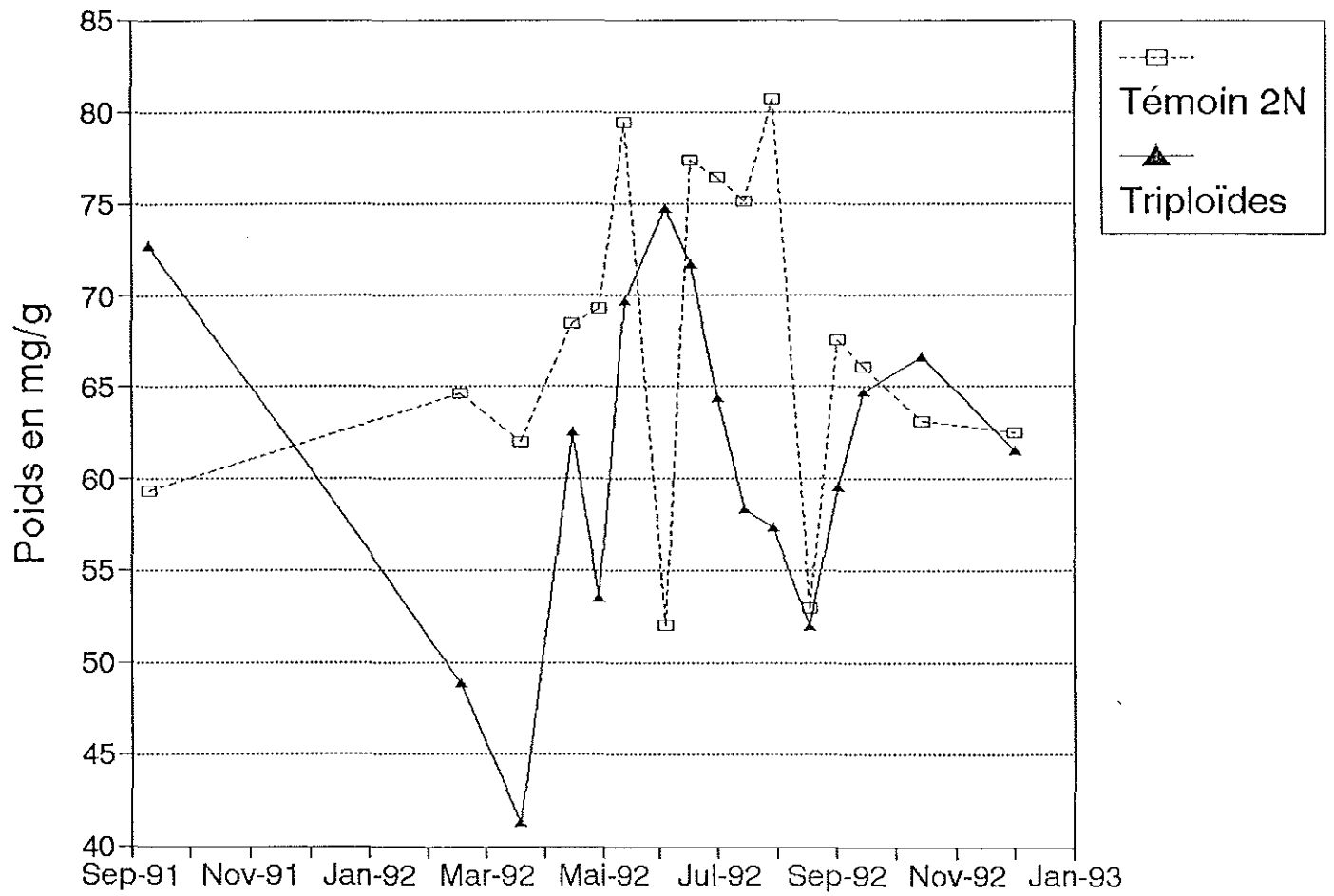




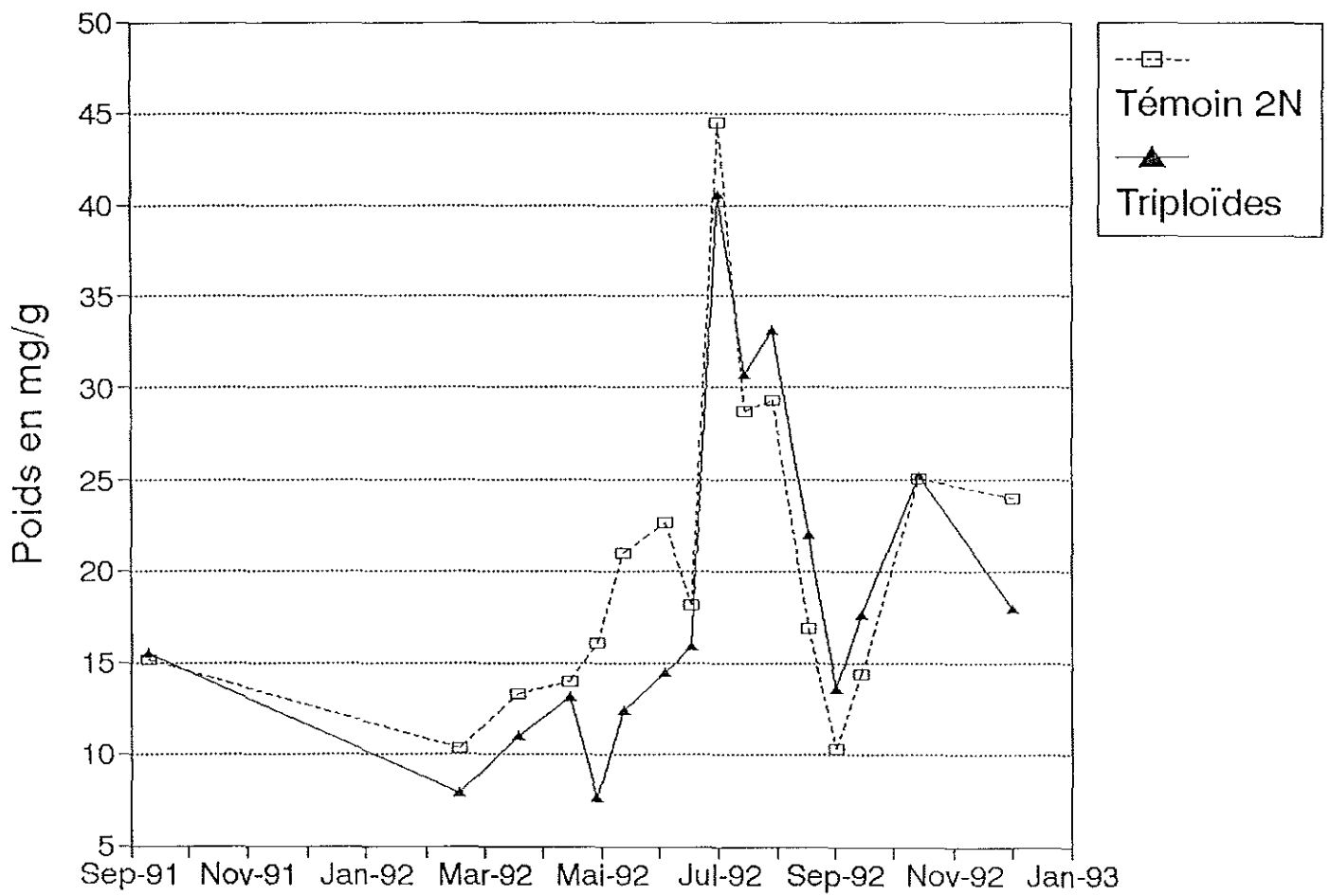
# TENEUR EN PROTEINES



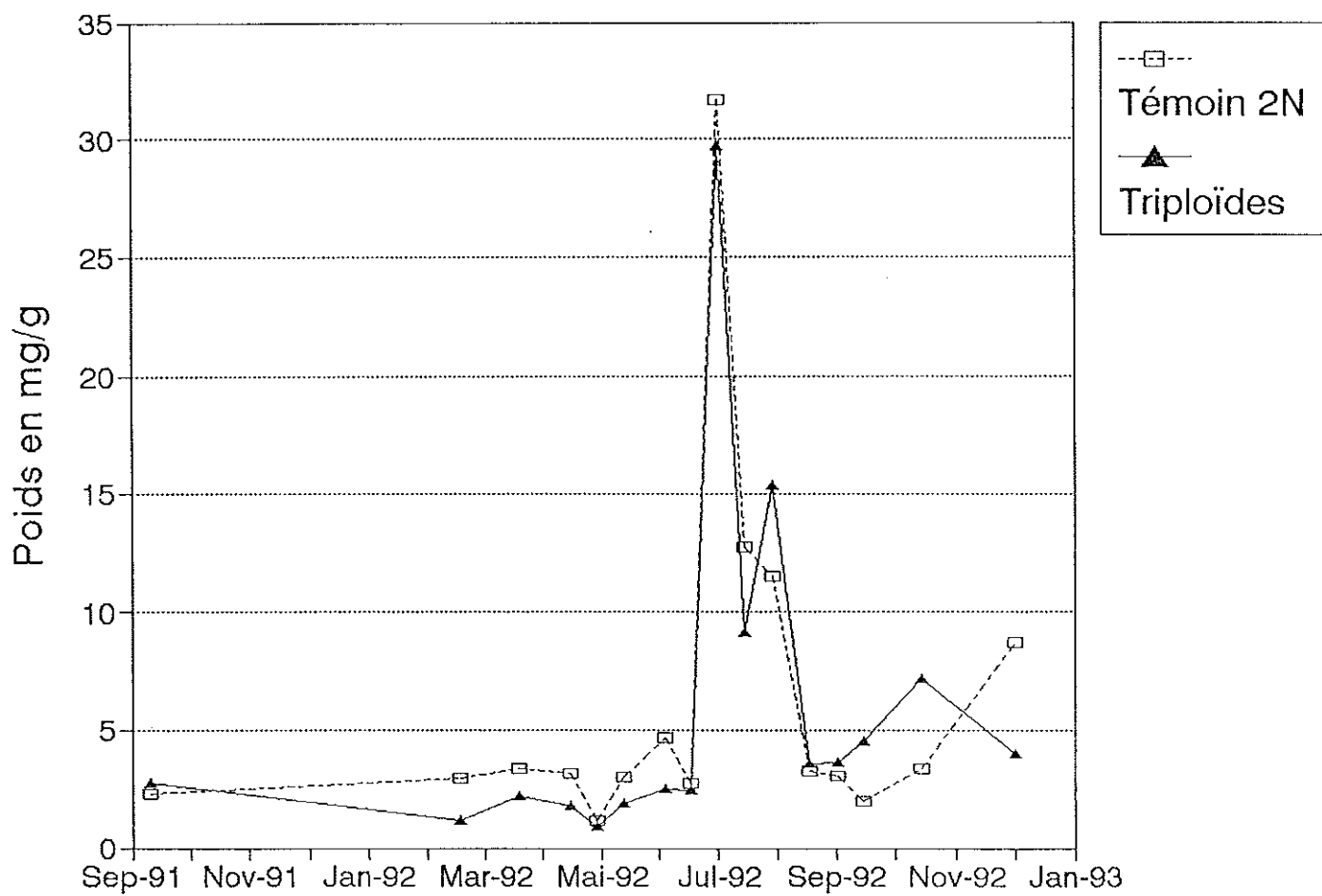
# TENEUR EN LIPIDES



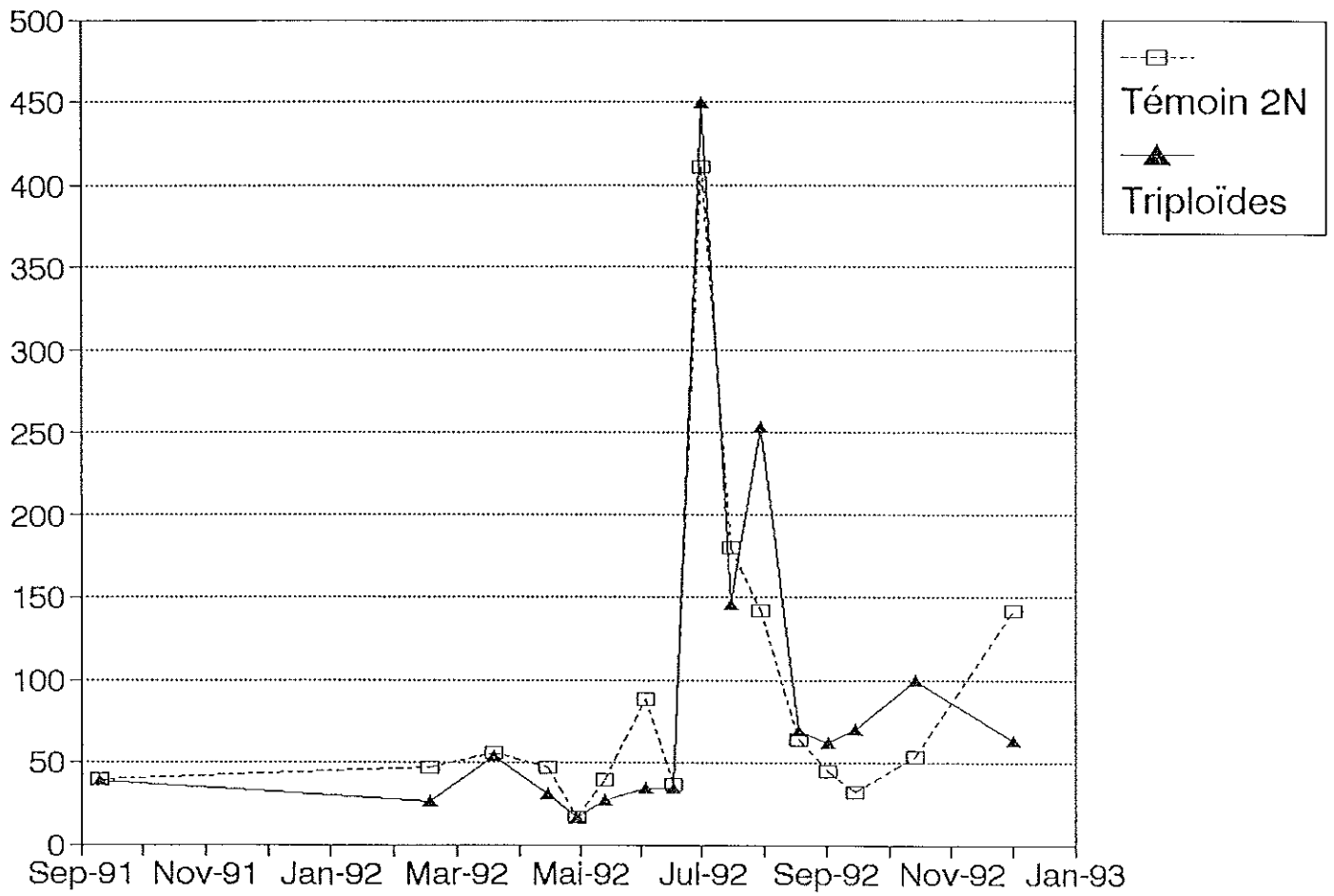
# TENEUR EN GLUCIDES



## TENEUR EN GLYCOGENE



# INDICE GLYCOGENE / LIPIDES



**Suivi de la gamétogenèse sur diploïdes et triploïdes de  
palourdes (*Ruditapes philippinarum*).**

**Nicole DEVAUCHELLE**

**IFREMER, Centre de Brest, BP 70, 29 280 PLOUZANE**

# **Comparaison de la gamétogenèse femelle chez les palourdes diploïdes et triploïdes cultivées à La Trinité et à La Tremblade.**

## **1.Objectif.**

Le but de ce travail a été de réaliser, à partir de deux populations de palourdes *Ruditapes philippinarum* d'origines géographiques différentes, un suivi histologique comparatif de la gamétogenèse femelle au cours de l'année 1992, chez des animaux diploïdes et triploïdes, en quantifiant par analyse d'image, sur coupes en paraffine, le taux d'occupation des acini par les ovocytes.

## **2.Résultats.**

### ***Palourdes diploïdes.***

La comparaison du cycle de maturation des palourdes diploïdes femelles provenant de La Trinité et de La Tremblade permet de tirer un certain nombre de conclusions quant à la dynamique de la gamétogenèse chez ces deux populations.

Le cycle de maturation des palourdes diploïdes femelles provenant de La Trinité diffère de celui des palourdes de La Tremblade :

- les palourdes originaires de La Trinité commencent à maturer plus tôt qu'à La Tremblade,
- la maturation est par contre beaucoup moins rapide à La Trinité qu'à La Tremblade,
- à La Tremblade, les acini restent pleins près de deux mois et demi. Ce n'est pas le cas à La Trinité,
- les valeurs maximales du taux d'occupation moyen des acini par des ovocytes sont moins élevés à La Trinité qu'à La Tremblade,
- en période de maturation maximale, les acini des palourdes prélevées à La Trinité sont jointifs. L'espace intercellulaire reste toujours plus important à La Tremblade,
- des anneaux bruns ont été observés à La Trinité mais pas à La Tremblade. Ils sont plus fréquents chez les triploïdes que chez les diploïdes (Com. J. Barret).

Les remarques concernant la dynamique de la gamétogenèse doivent être corrélées avec des données antérieures, si elles existent, et tenir compte des facteurs de l'environnement, de l'état de santé des animaux (anneaux bruns) et des indices de croissance (taille, poids). En outre, le fait que les palourdes prélevées à La Trinité se soient en partie vidées de leurs produits sexuels (com. J. Barret) lors de l'ouverture des coquilles avant fixation doit aussi être pris en compte.

### ***Palourdes triploïdes et comparaison avec les palourdes diploïdes.***

L'analyse de la gamétogenèse sur coupes en paraffine montre que la triploïdisation des palourdes femelles exerce un effet inhibiteur sur la maturation sexuelle : les ovocytes d'aspect mature sont

rare chez les triploïdes prélevées à La Trinité comme à La Tremblade. En outre, ils apparaissent plus tardivement que chez les diploïdes.

L'inhibition de la maturation ovocytaire n'est cependant pas de 100% :

-chez certains individus, quelques ovocytes parviennent apparemment à maturité. Il serait intéressant, pour pouvoir préciser s'il sont réellement matures ou seulement d'apparence mature, de les étudier plus finement au point de vue taille et aux plans structural et biochimique ainsi qu'au plan de la maturité caryologique (de telles femelles peuvent-elles être fécondées, peut-on ensuite obtenir des embryons ?).

-quelques individus triploïdes montrent, quelque soit leur origine géographique, une gamétogenèse similaire à celle des diploïdes (fiabilité de la technique d'analyse du caryotype ?).

On remarque régulièrement chez les triploïdes que les cellules qui tapissent la paroi interne des acini sont nombreuses. Une étude cytologique plus fine (microscopie électronique) permettrait donc peut-être de préciser à quel stade se produit le blocage de la gamétogenèse chez les triploïdes.



Date	Palourdes diploïdes		Palourdes triploïdes révélées diploïdes après A. I.- La Trinité		Palourdes triploïdes	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
5/03/92	6.37	1.14				
2/04/92	13.33	5.33	11.24	1.32		
4/05/92	33.05	9.52			2.52	1.54
1/06/92	35.94	8.46	35.24		7.94	6.05
1/07/92	57.58	5.22	56.93	8.31	24.66	18.26
29/07/92	49.55	9.15	49.53		10.11	7.11
27/08/92	43.74	6.07	50.39		10.42	9
28/09/92	9.43	15.32	12.20	9.42	9.88	11.06

Légende: A.I. = Analyse d'images

Tableau 1: Taux d'occupation moyen des acini par des ovocytes (en%) pour les divers lots de palourdes de la Trinité, au cours de l'année - écarts types.

Date	Palourdes diploïdes		Palourdes triploïdes révélées diploïdes après A. I - La Tremblade		Palourdes triploïdes	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
18/06/92	44.96	9.17				
2/07/92	57.20	6.09	66.34	1.61		
16/07/92	57.25	6.43	57.59	0.1		
30/07/92	57.19	11.88	68.01		4.54	
18/08/92	69.96	15.53	78.31		28.82	16.35
6/09/92	70.80	6.36			40.8	19.59
15/09/92	62.20	9.68			19.24	
15/10/92	0					

Tableau 2: Taux d'occupation moyen des acini par des ovocytes pour les divers lots de palourdes de la Tremblade, au cours de l'année - écarts types.

**Contrôle de performances sur les diploïdes et les triploïdes  
d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* à Ouistreham.**

**Jean-Pierre JOLY et Philippe GOULLETQUER**

**IFREMER, Avenue du Général de Gaulle, BP 32, 14 520 PORT-  
EN-BESSIN**

## Suivi de production d'huîtres japonaises triploïdes *C. gigas* en Normandie 1991-1992

Les populations d'huîtres triploïdes et diploïdes témoins ont été mises en élevage le 29.03.91 sur les sites de la Baie des Veys et Ste Marie du Mont (côte est Cotentin) à raison de quatre poches contenant chacune 700 animaux (fig.1).

En août 91, une mortalité de l'ordre de 30% a été observée sur l'élevage de la côte est Cotentin (i.e., 34% 3n, 30% 2n). Cette mortalité a par ailleurs été observée par les professionnels sur l'ensemble du site. Les mortalités en Baie des Veys ont atteint 10% des triploïdes et 3% de diploïdes. Les faibles densités en poche sur le premier site nous ont amenés à regrouper les poches de triploïdes en novembre 91.

En avril 92, les performances de croissance (i. e., poids moyen total) de chaque lot étaient les suivantes:

3n (CE)	37g (mélange 3n et 2n réfractaires)
2n (CE)	36g
3n (BdV)	26g (mélange 3n et 2n réfractaires)
2n (BdV)	29g

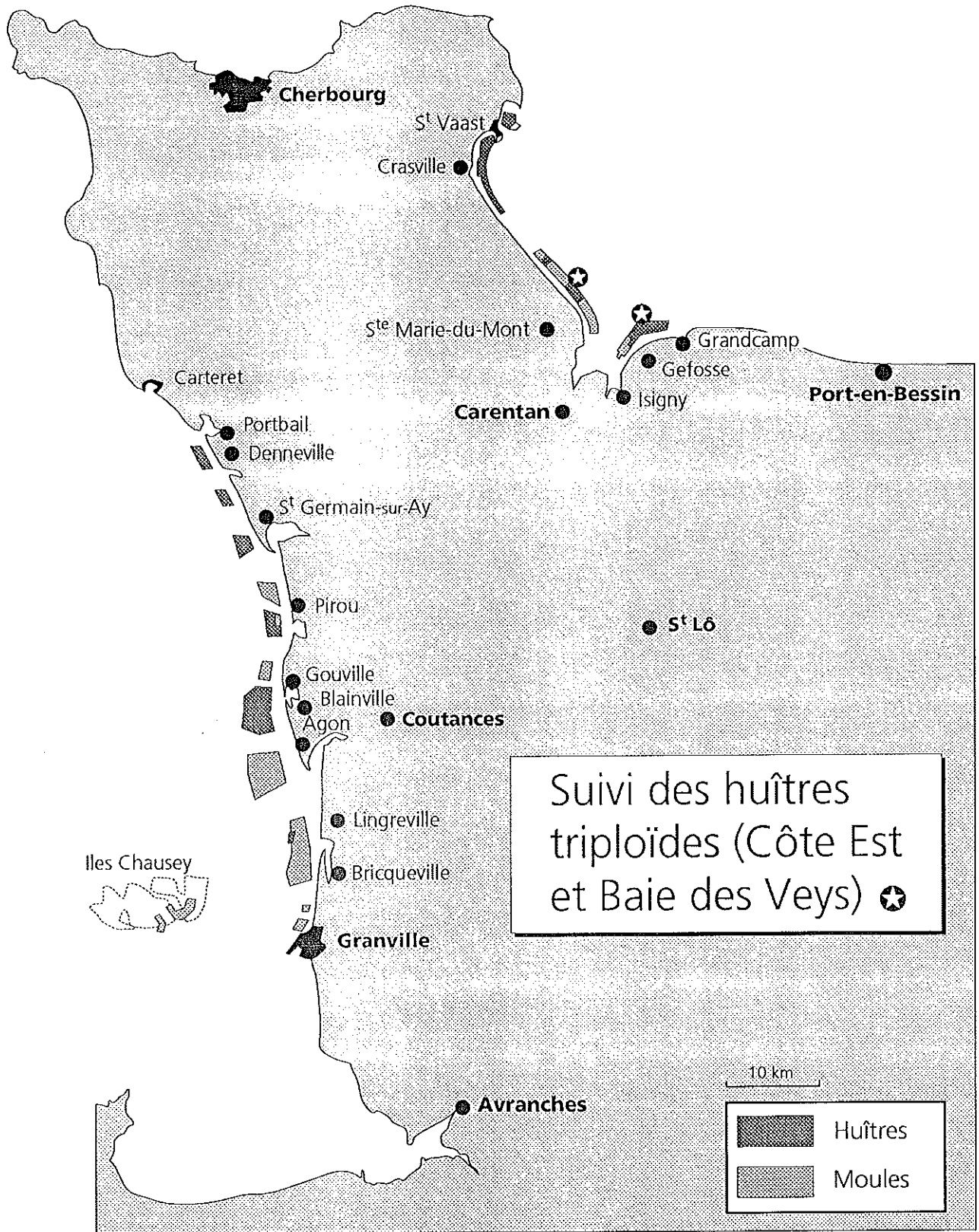
Hormis un effet site, les différences entre 2n et 3n ne sont pas significatives, probablement en raison du faible effort de reproduction au cours de la première année d'élevage.

En fin d'expérimentation (septembre 92), les taux de survie annuel étaient de 36.7% (3n), 46.3% (2n) à Ste Marie du Mont, et de 33.9% (3n) et 49.7% (2n) en Baie des Veys. Les croissances comparées en longueur et poids total sont présentées en figure 2 & 3 pour les animaux triploïdes et diploïdes réfractaires. Les huîtres 3n montrent des caractéristiques biométriques significativement supérieures aux diploïdes (70.9g / 56.6; 68.9 / 45.7).

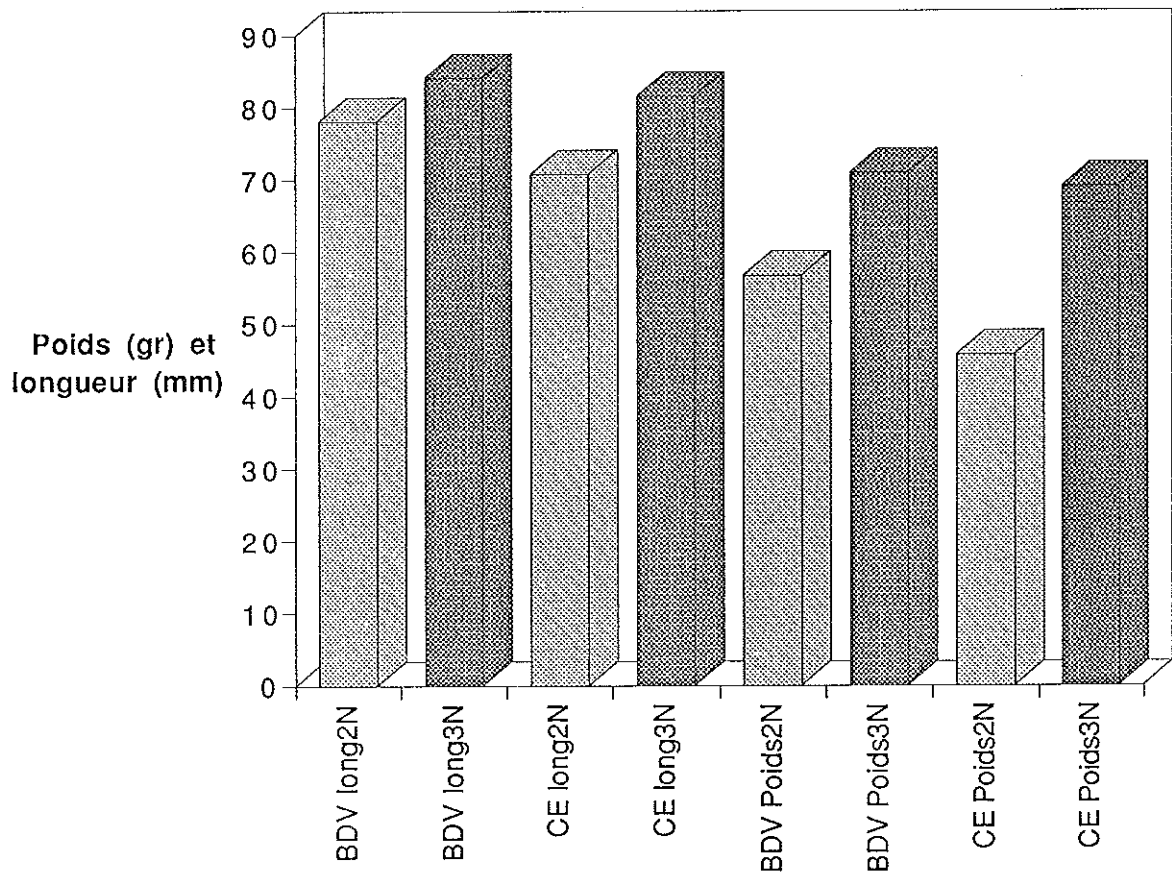
L'évolution mensuelle des poids secs moyens (côte est Cotentin) montre également une prise de poids supérieure chez les animaux triploïdes parallèlement au processus de gamétogenèse chez les diploïdes (fig.4). La perte de poids occasionnée par la ponte entre les mois d'août et septembre représente 29.8% et 11.39% du poids sec de chair des diploïdes et triploïdes respectivement.

Les variations mensuelles des lipides, sucres totaux et glycogène sont présentées sur les figures 5 & 6. On notera la chute des pourcentages en glycogène et sucres totaux des animaux diploïdes correspondant à la fin de maturation des produits génitaux.

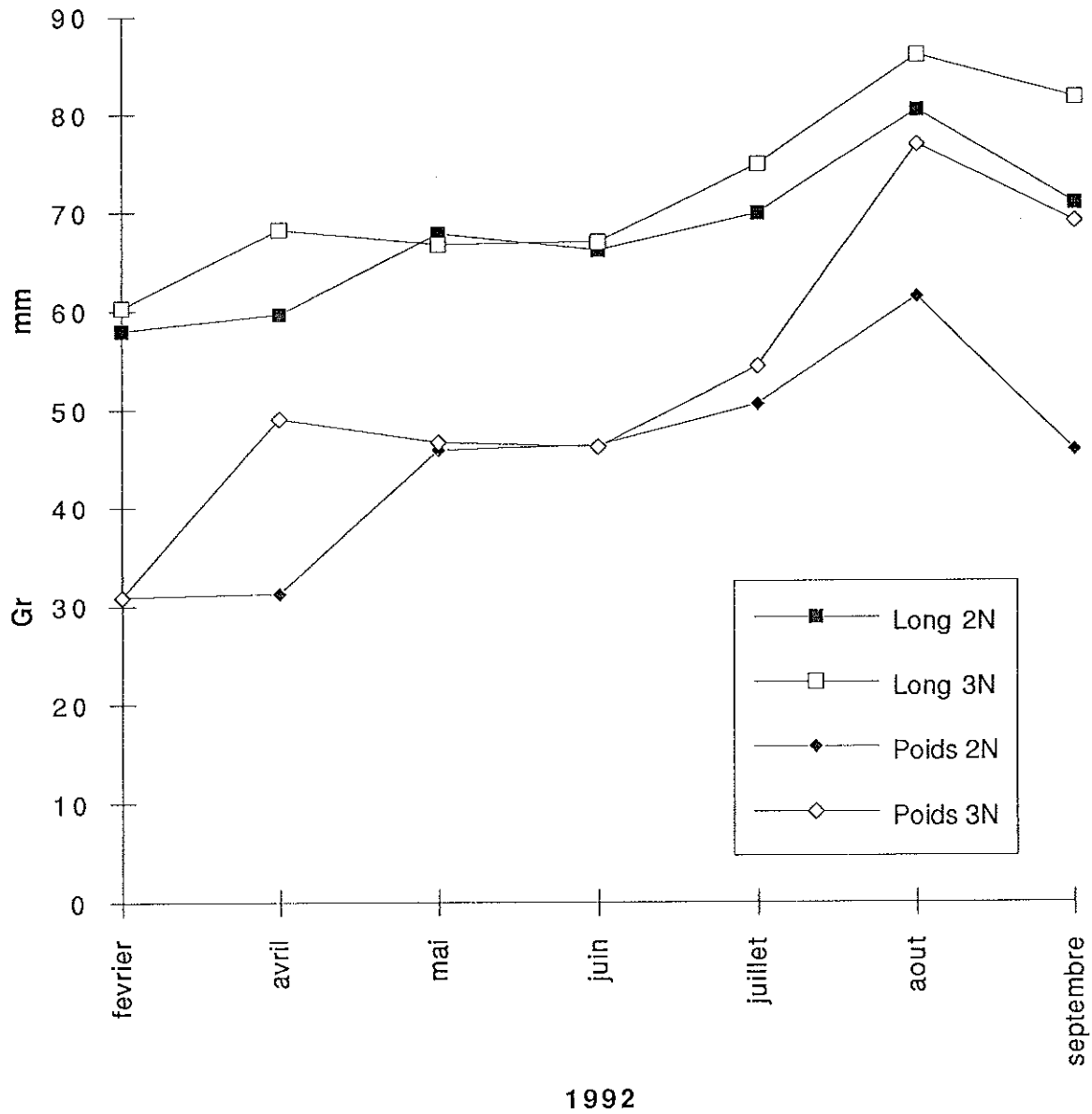
Ces résultats préliminaires sont comparables avec les travaux de Allen et Downing (1986) en ce qui concerne les performances de croissance des triploïdes de cette espèce. Toutefois, les taux de survie des individus 2n réfractaires et 3n semblent comparables comme l'indique le pourcentage de triploïdes en début et fin d'expérimentation. Le traitement complet des données permettra de vérifier les performances comparées des 2n réfractaires et "vrais" témoins 2n.



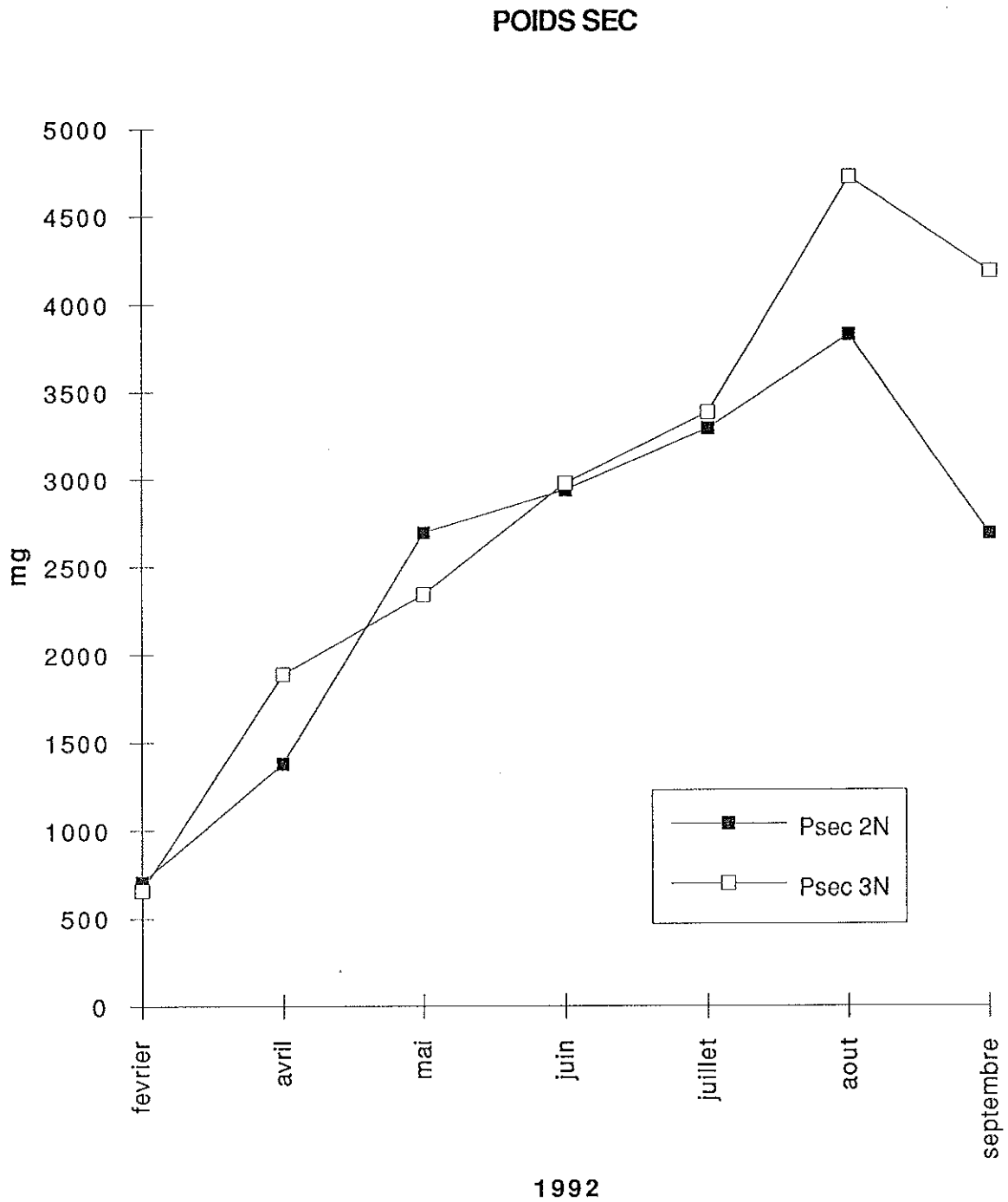
**Comparaison finale des moyennes des longueurs et poids des huîtres triploïdes et diploïdes**



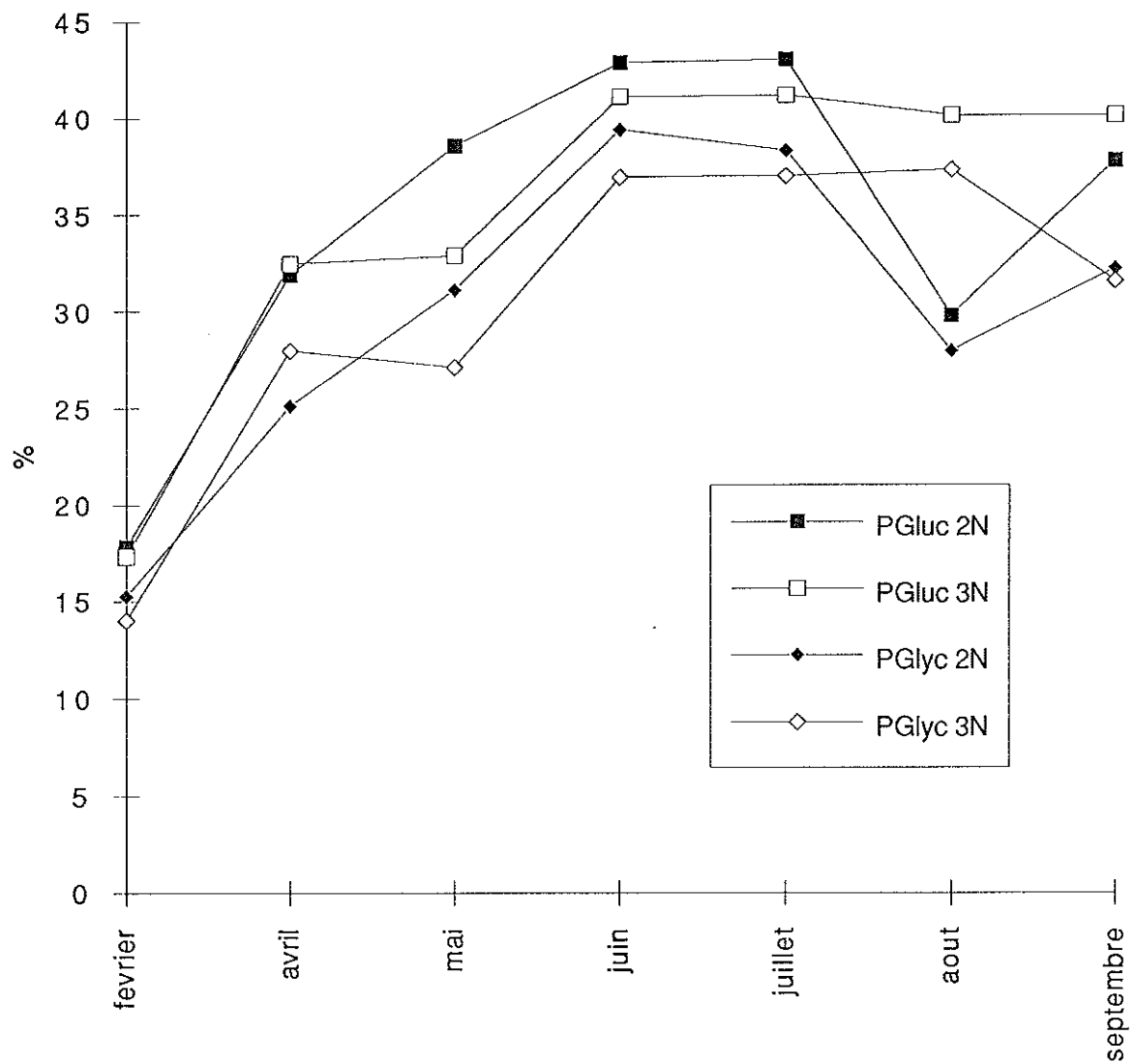
### LONGUEUR ET POIDS TOTAL



Comparaison des poids secs des huîtres triploïdes et diploïdes

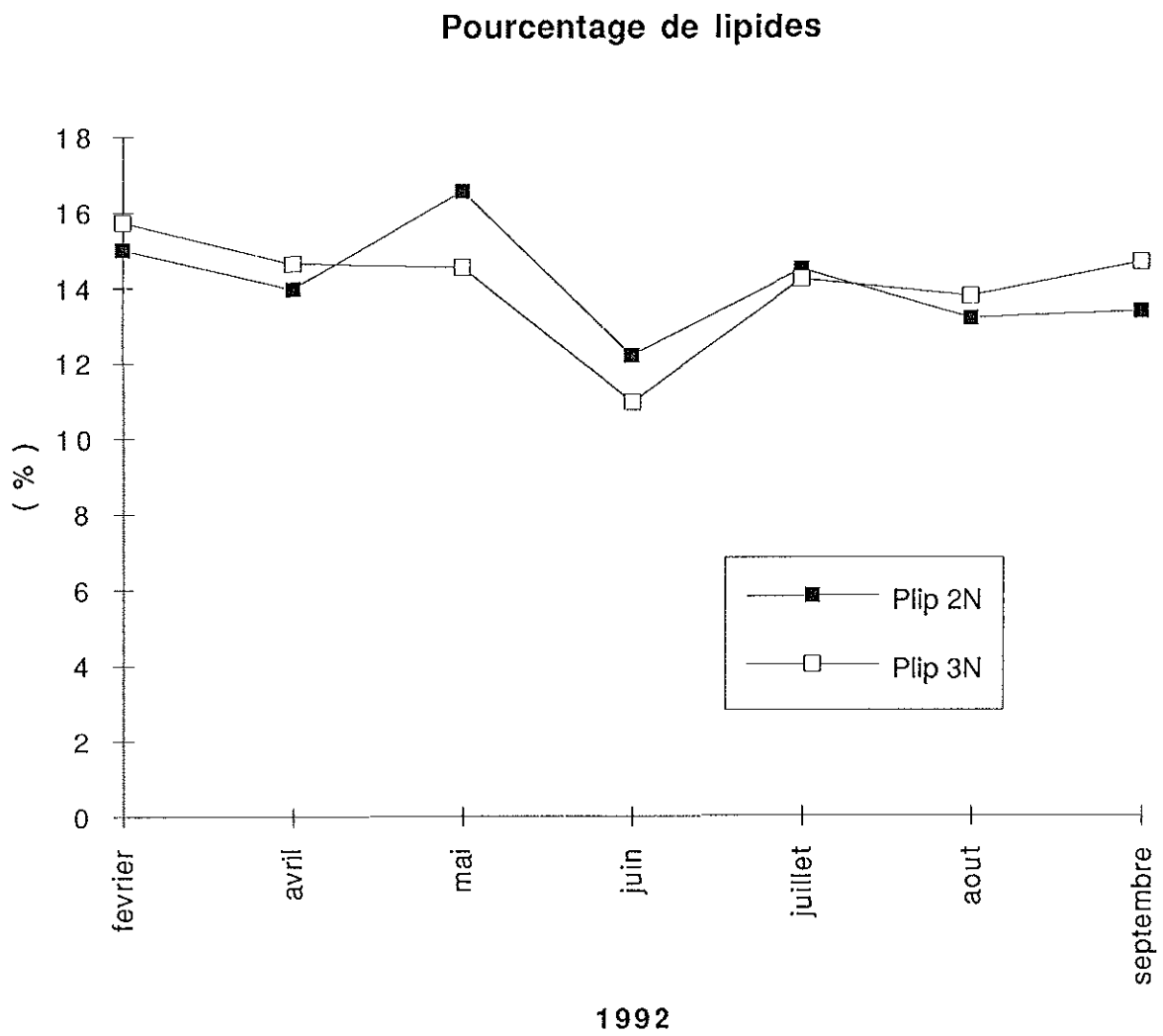


### SUCRES TOTAUX ET GLYCOGENE





Comparaison des pourcentages de lipides entre huîtres triploïdes et diploïdes



**Prégrossissement comparé des diploïdes et triploïdes d'huître creuse *Crassostrea gigas* en nurserie intensive.**

**Jean-Pierre BAUD et Max NOURRY**

**IFREMER, Station de Bouin, Polder des champs, 85 230  
BEAUVOIR-SUR-MER**

## Prégrossissement comparé de diploïdes et triploïdes d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* en nurserie intensive.

Les deux lots d'huître creuse, issus d'une ponte en date du 28 Avril 1992 à l'écloserie de La Tremblade, ont été prégrossis à la Station de Bouin à partir 26 Juin, pendant une durée totale de 114 jours. Les conditions d'élevage étaient rigoureusement identiques entre lots diploïde et triploïde quant à la densité par tube tamis et à la ration alimentaire d'eau de mer enrichie en diatomée *Skeletonema costatum*. Le suivi biométrique a été réalisé à partir du 7 Août sur une durée de 73 jours.

La répartition des classes de taille, comprise entre T6 et T18 au début du suivi pour les deux lots (Fig.1), s'est déplacée en classes homogènes de T14 à T25 pour les diploïdes et triploïdes, avec un très fort pourcentage pour la plus forte classe de taille (95,5%). Il faut noter cependant que le poids moyen de classe T25 pour les triploïdes était largement supérieur à celui des diploïdes.

Ainsi, malgré une apparente similarité de distribution des classes pour les deux populations, les courbes d'évolution du poids (Fig.2) et de la taille (Fig.3) mettent clairement en évidence, et de façon significative, la plus forte croissance moyenne des triploïdes dont le poids final atteint 17, 59g contre un poids final pour les diploïdes de 12,98g. Cette tendance est respectée pour le poids de chair et le pourcentage de matières organiques (Tableau 1), mais demeure beaucoup plus faible et non-significative. Ceci tendrait à montrer que la différence de poids se ferait surtout au profit du poids de coquille pour les triploïdes par rapport aux diploïdes, et à ce stade de croissance.

Enfin, les taux cumulés de mortalité (20,68% et 14,38% pour les triploïdes et les diploïdes respectivement) se situent à un niveau habituel pour cette phase d'élevage et ne permettent pas de tirer de conclusions même si les triploïdes semblent subir une mortalité légèrement plus forte au cours de cette phase de prégrossissement.

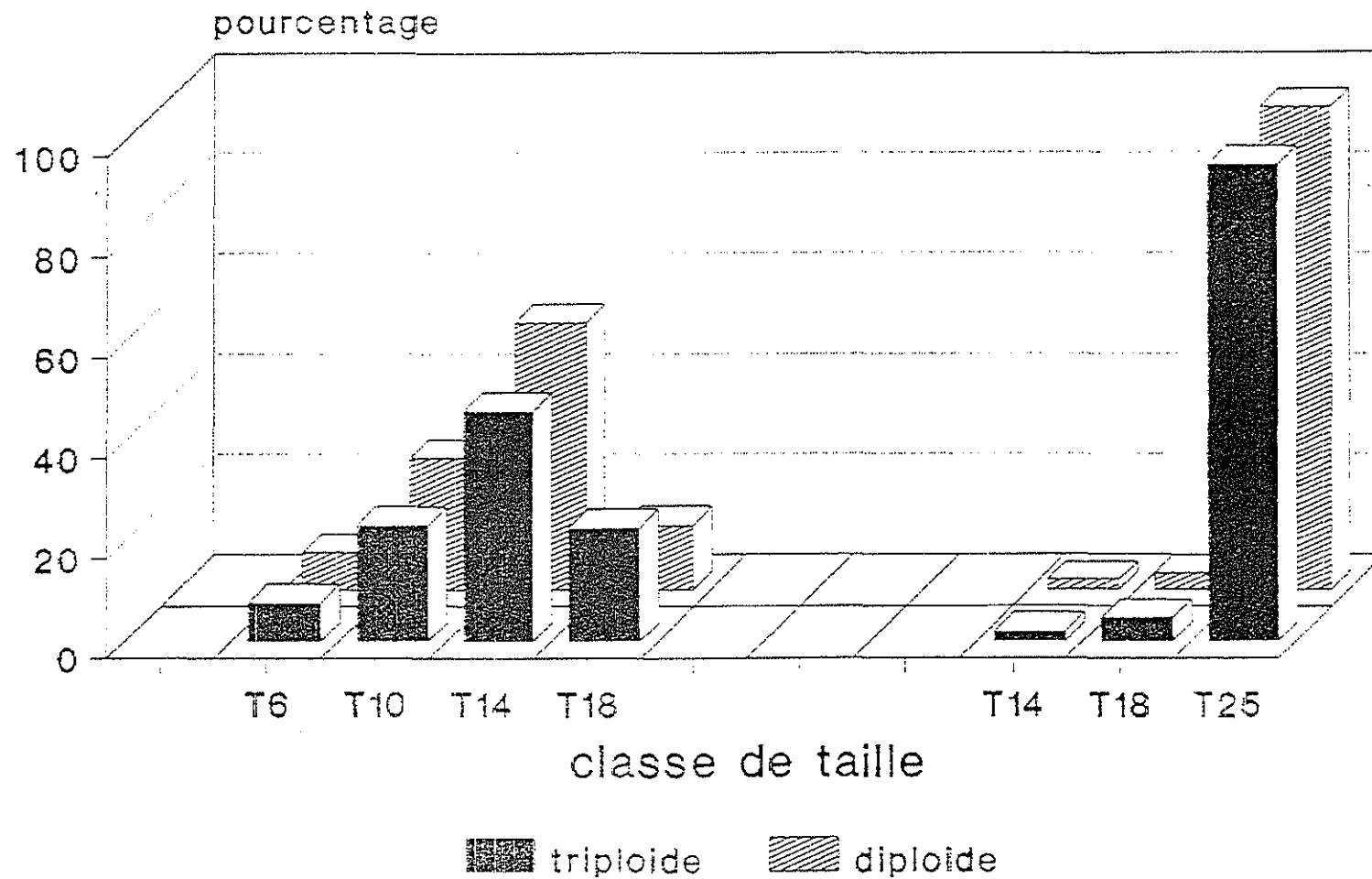


Figure 1 : Répartition des classes de tailles exprimées en tamis lors de la phase de prégrossissement entre le 7 Août et le 19 Octobre 1992 pour les lots triploïdes et diploïdes d'huîtres creuses *Crassostrea gigas*.

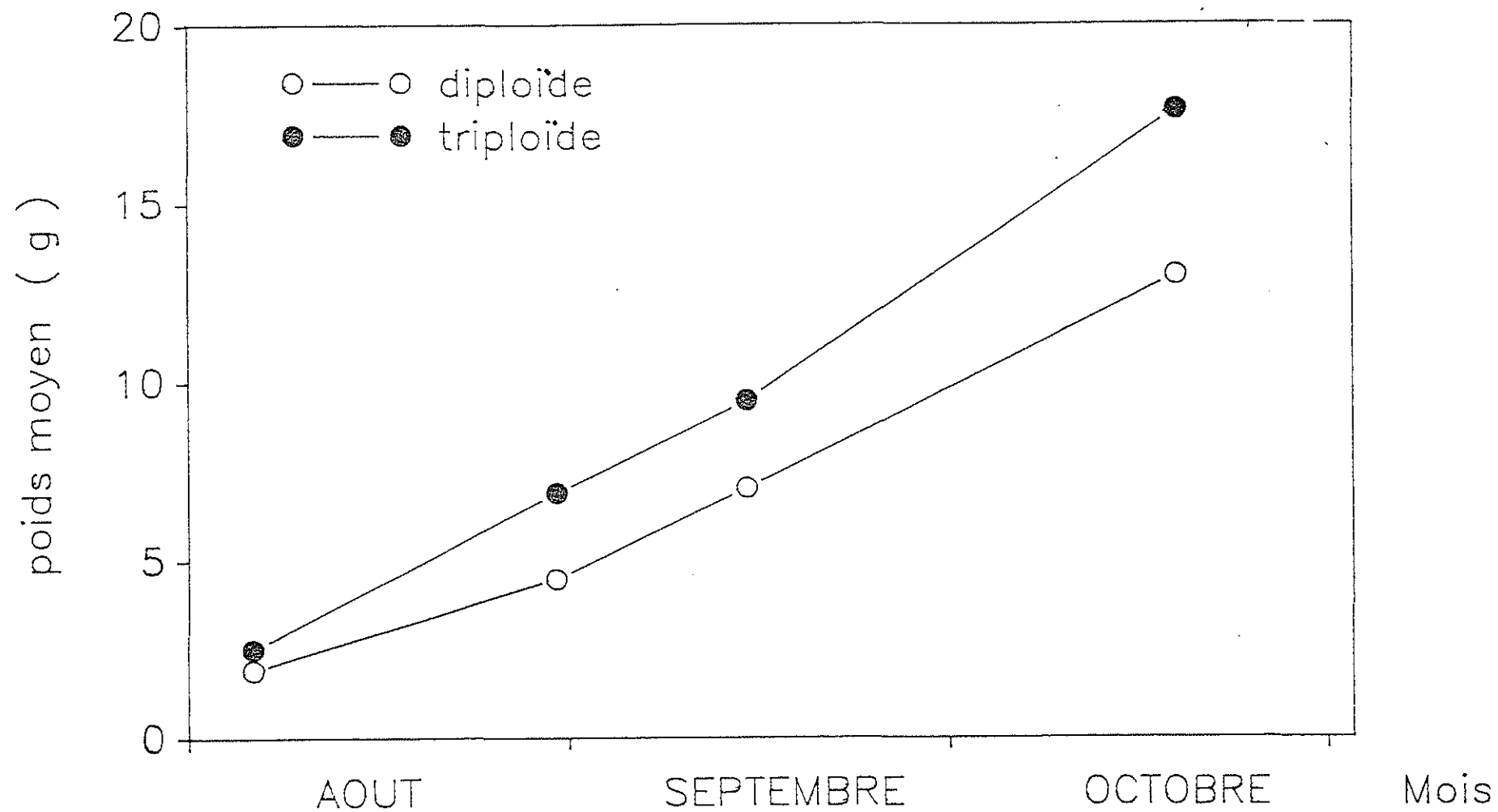


Figure 2 : Evolution comparée du poids moyen des lots triploïdes et diploïdes au cours de la phase de prégrossissement.

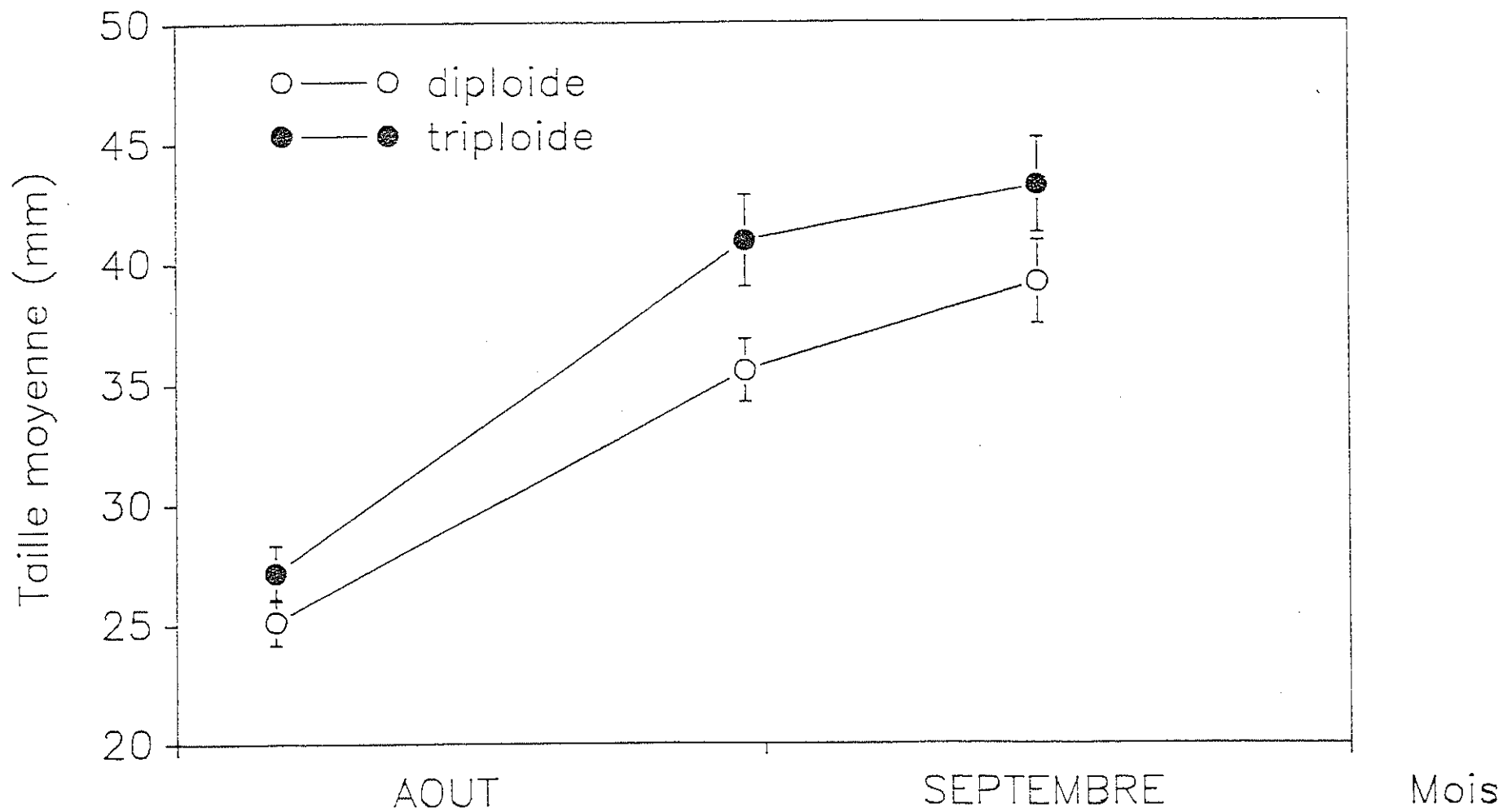


Figure 3 : Evolution comparée de la taille moyenne des lots triploïdes et diploïdes au cours de la phase de prégrossissement.

DIPLOIDES		TRIPLOIDES	
Poids de chair sèche (mg)	% Organique	Poids de chair sèche (mg)	% Organique
<b>116.55</b> (7.59)	<b>87.34</b> (1.34)	<b>122.00</b> (9.21)	<b>88.99</b> (0.39)

**Table 1 :** Pourcentage organique de la matière sèche des huîtres creuses *Crassostrea gigas* diploïdes de poids moyen égal à 16,7 g et triploïdes de poids moyen égal à 21,8 g au 06/11/92.

**Bilans énergétiques : Application à l'étude de diploïdes et de triploïdes de *Crassostrea gigas*.**

**Serge BOUGRIER**

**IFREMER-UREA, BP 133, Ms du Loup, 17 390 LA TREMBLADE**



## **Bilans énergétiques : Application à l'étude de diploïdes et de triploïdes de *Crassostrea gigas*.**

Après avoir rappelé les aspects théoriques et pratiques des études du bilan énergétique chez l'huître, les premiers résultats des expériences de 1992, portant sur un élevage de 1990 (CG3N9021), ont été présentés.

Une étude comparative des différentes fonctions physiologiques de la nutrition a été effectuée sur trois lots établis après vérification du niveau de ploïdie par analyse d'image :

\* *Triploïdes vrais*.

\* *Diploïdes*: animaux reconnus comme tels dans le lot triploïde. Ce sont en fait des diploïdes réfractaires au traitement de triploïdisation.

\* *Diploïdes naturelles*. Le lot témoin ayant totalement disparu en cours d'élevage, des huîtres de captage naturel ayant subi, à 1 mois près, le même historique ont été utilisées comme "témoin".

Des premiers résultats, il ressort deux éléments principaux :

\* Il semblerait que le seuil de production de pseudofèces soit supérieur chez les diploïdes et les triploïdes (charge sestonique d'environ 12mg/l) que chez les naturelles (7mg/l).

\* Pour les fonctions étudiées, à l'exception de la respiration, (consommation, ingestion, absorption), les performances des naturelles sont très nettement supérieures à celles des di- et triploïdes. Ainsi, en Avril, l'espérance de croissance (scope for growth) est trois fois supérieure pour les naturelles. En Juin, on note un facteur 3 entre les naturelles et les diploïdes et un facteur 6 entre les naturelles et les triploïdes.

Le stress subi par les lots di- et triploïdes peut expliquer que les résultats soient aussi nettement en défaveur de ces deux lots.

$$I = (E - S) / S * D$$

$$R = (I - S) / S * 100$$

$$S = I * (R / 100 + N / 100)$$

$$C = (E - S) * D$$

$$= F * \text{Charge}$$

**C**

$$I = C - PF$$

**PF**

**F**

$$Ab = I - F$$

**F**

$$As = Ab - U$$

**NH4**

**U**

$$\text{Productions}$$

**O2**

**R**

**P**

$$C = R + F + U + P$$

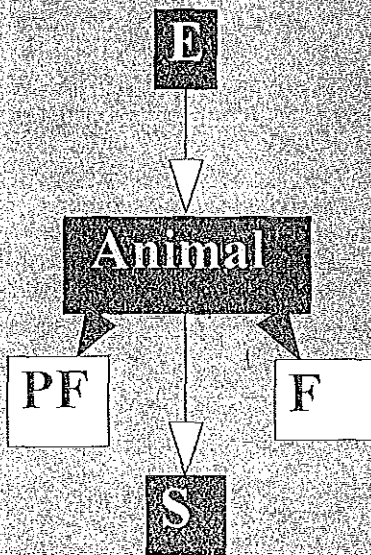
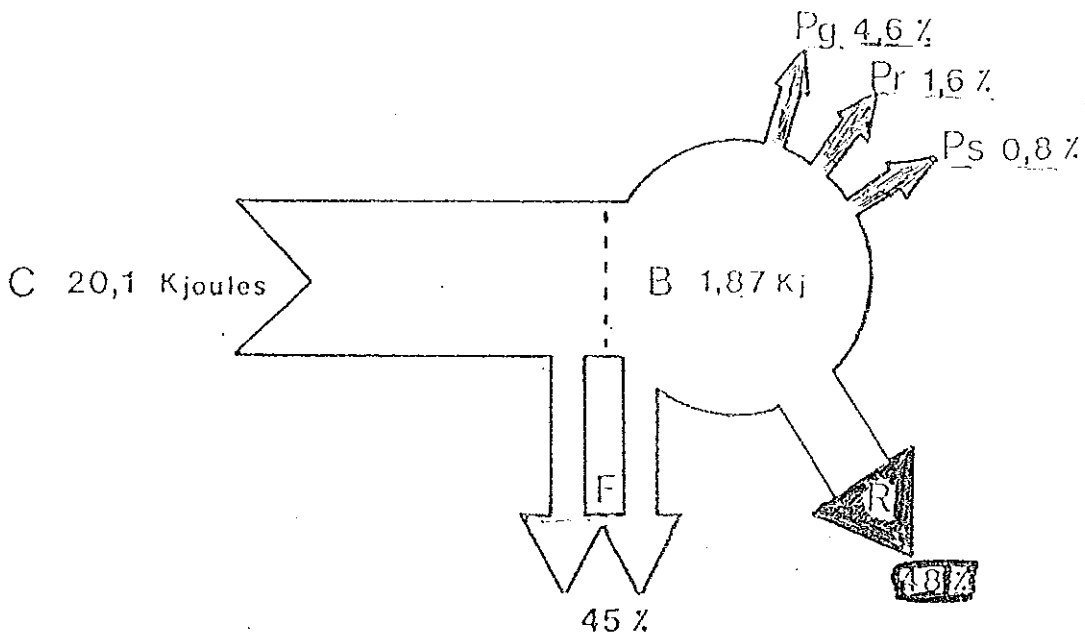
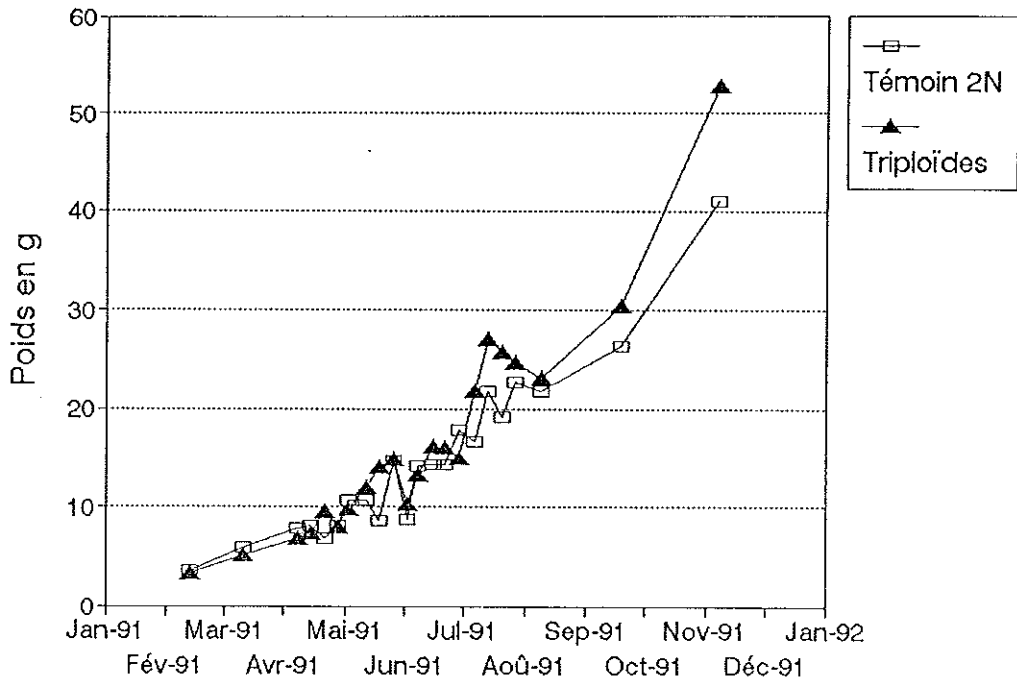


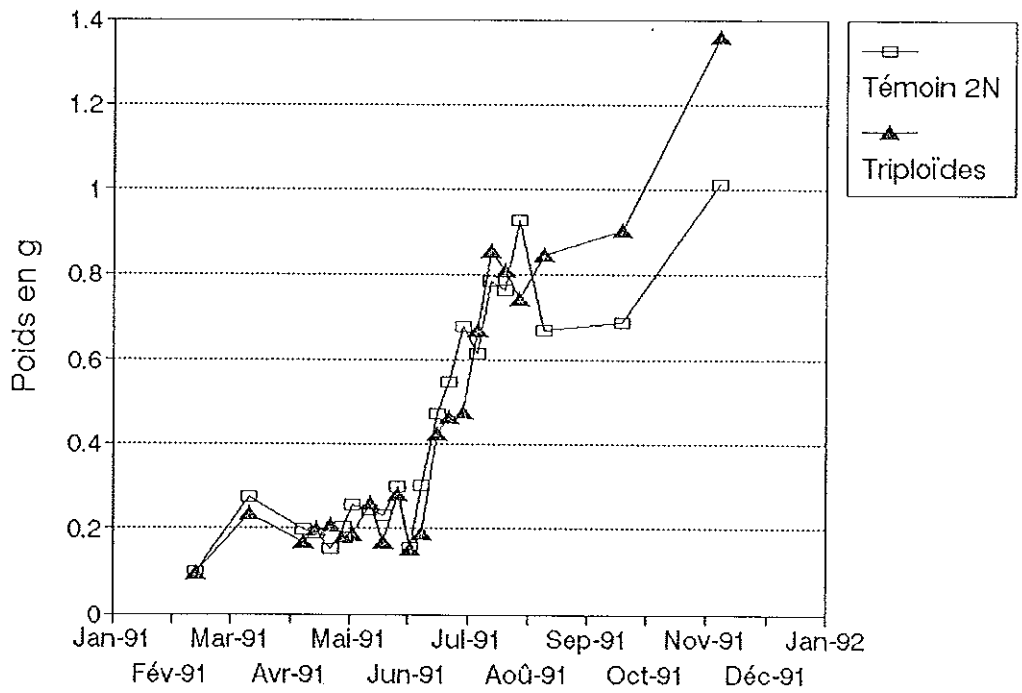
Figure 5 : Bilan énergétique annuel pour un individu moyen de bioénergie 1,87 K, représentatif de la population de crépidules du bassin de Barennes-Oléron. B : biomasse ; C : énergie consommée ; F : énergie excrétée sous forme de fèces et pseudofèces ; R : énergie dépensée pour le métabolisme ; P : énergie fixée pour les productions de chair (g) de gamètes (r) et de coquille (s).

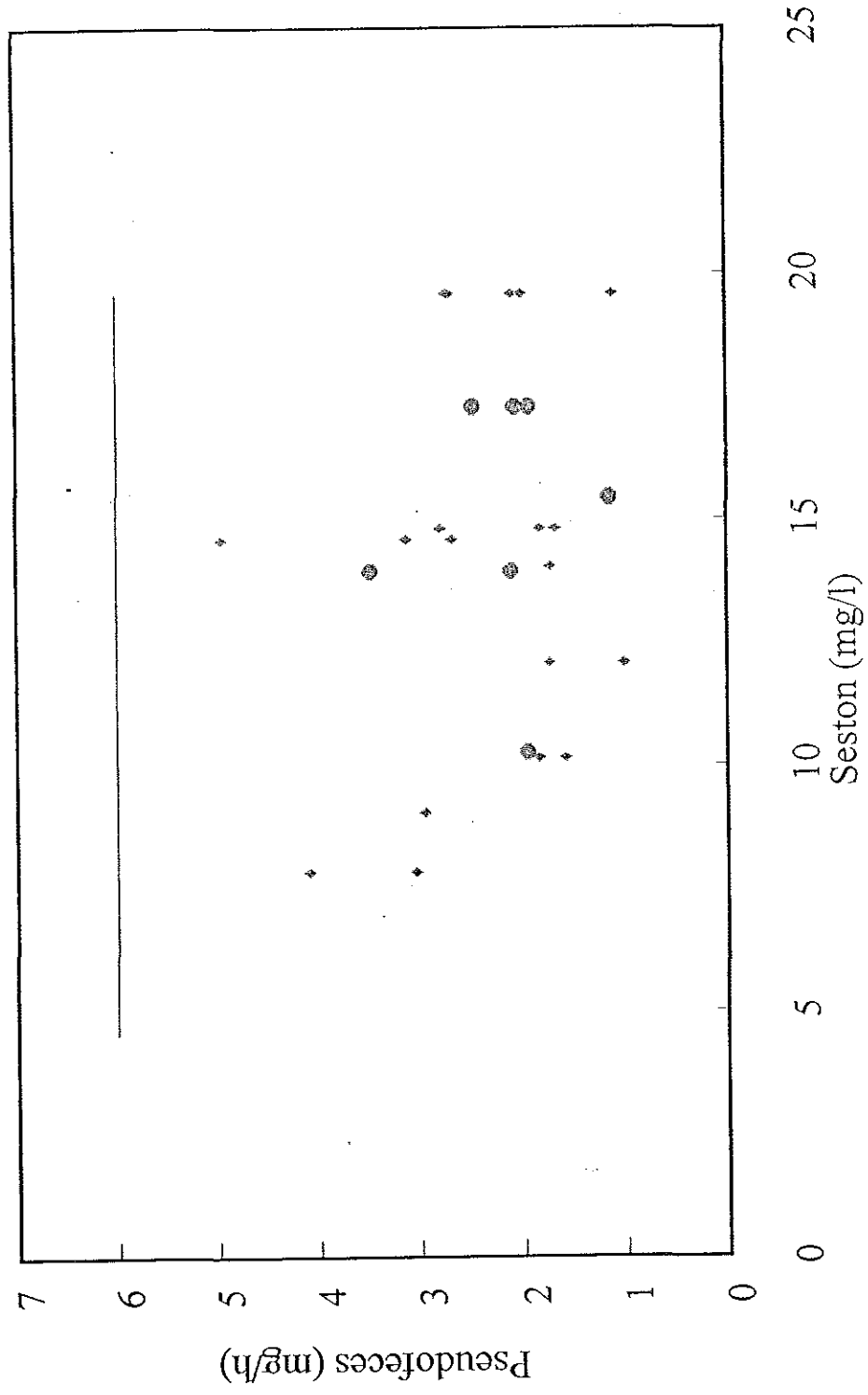


### POIDS TOTAL



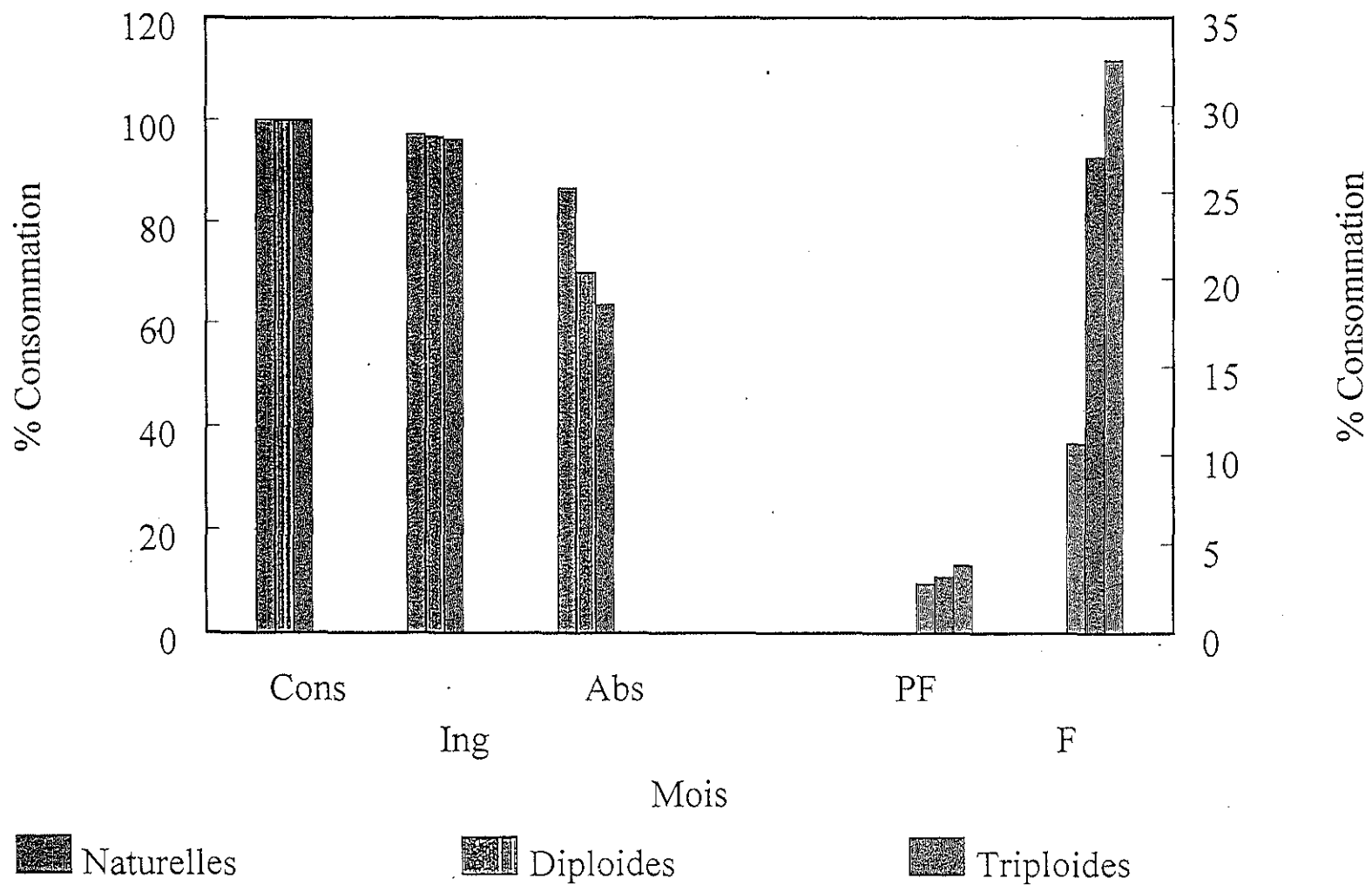
### POIDS SEC DE CHAIR

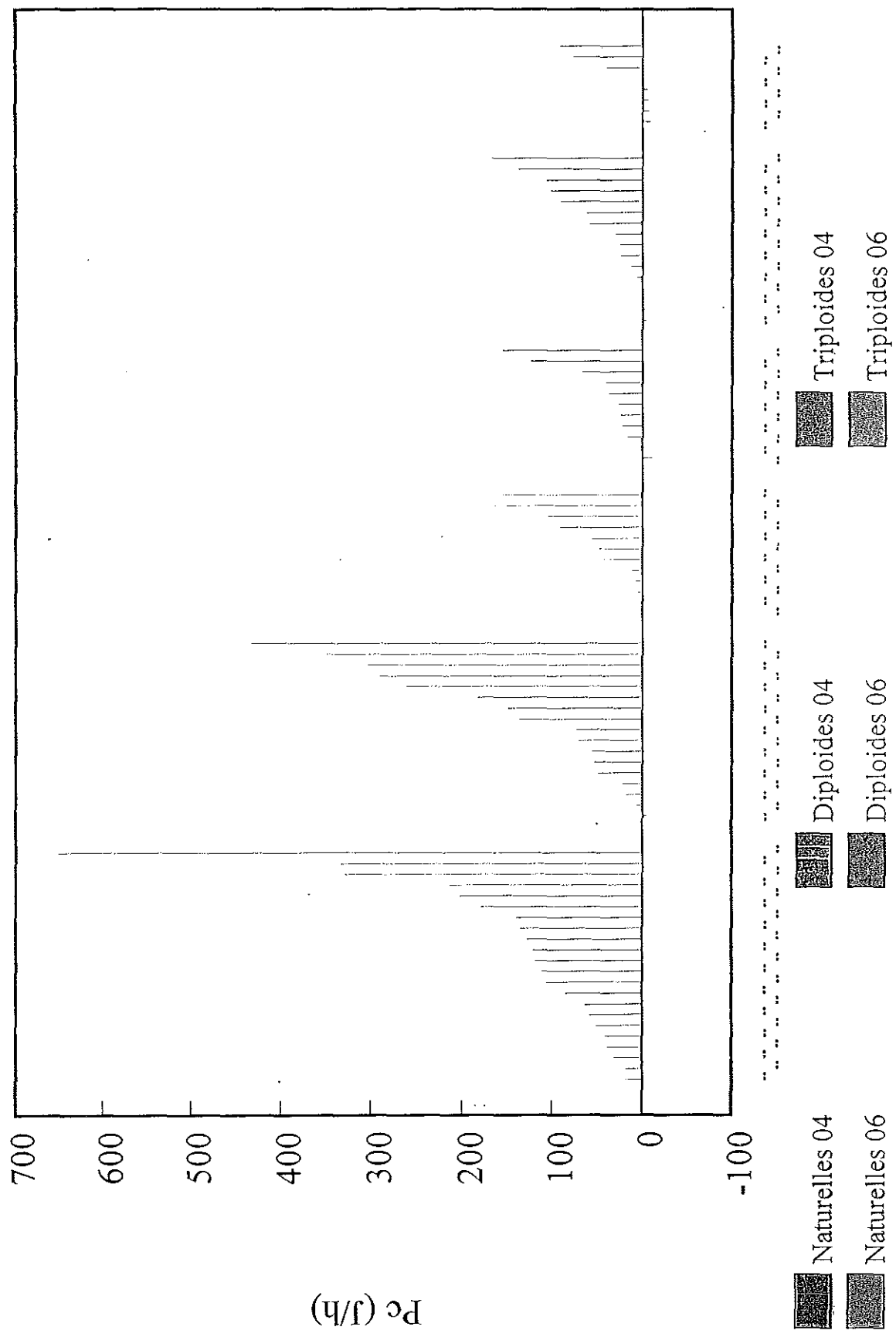


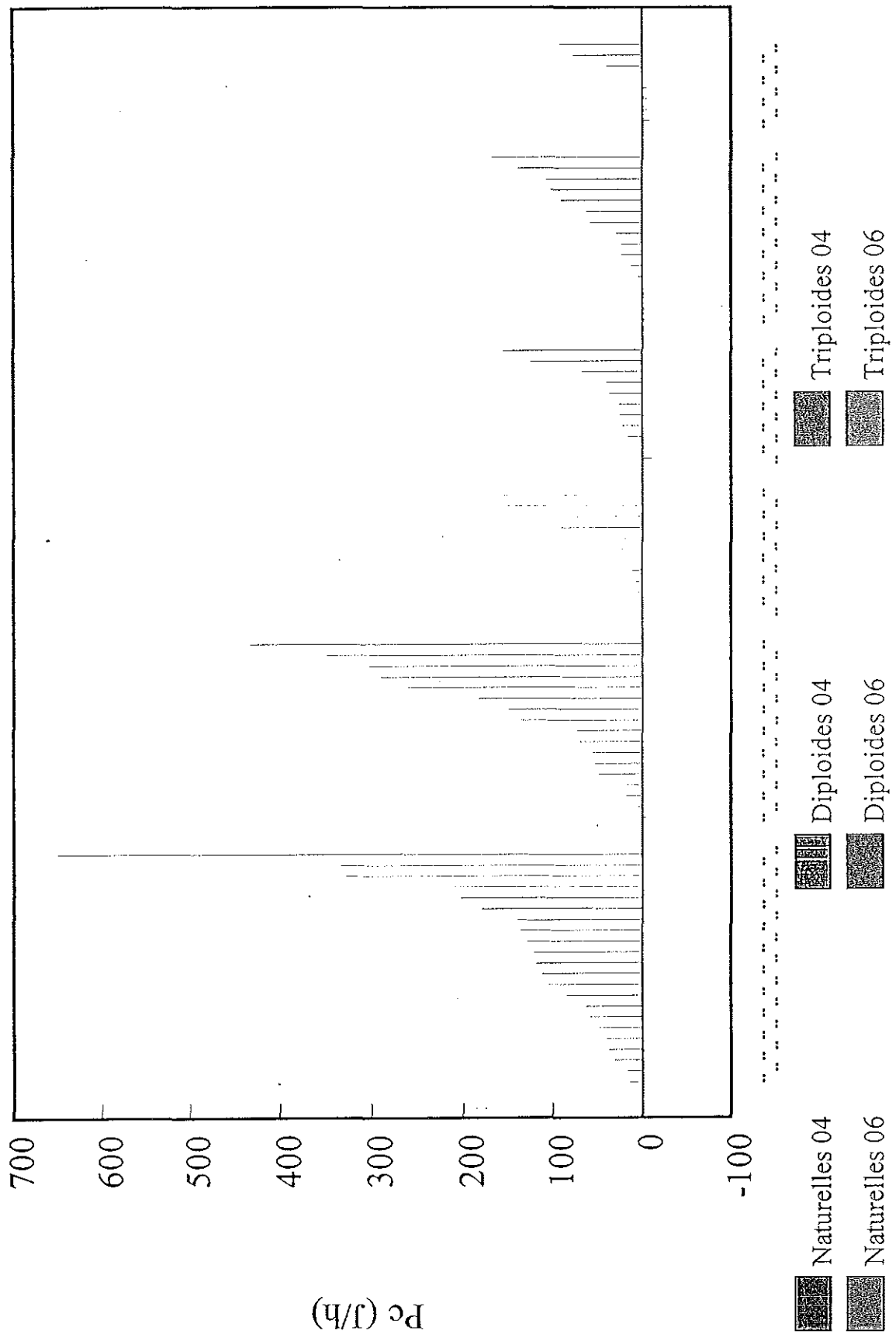


◆ Naturelles (19/39)  
 ● Diploides (7/23)  
 × Triploides (6/24)

### Rendements

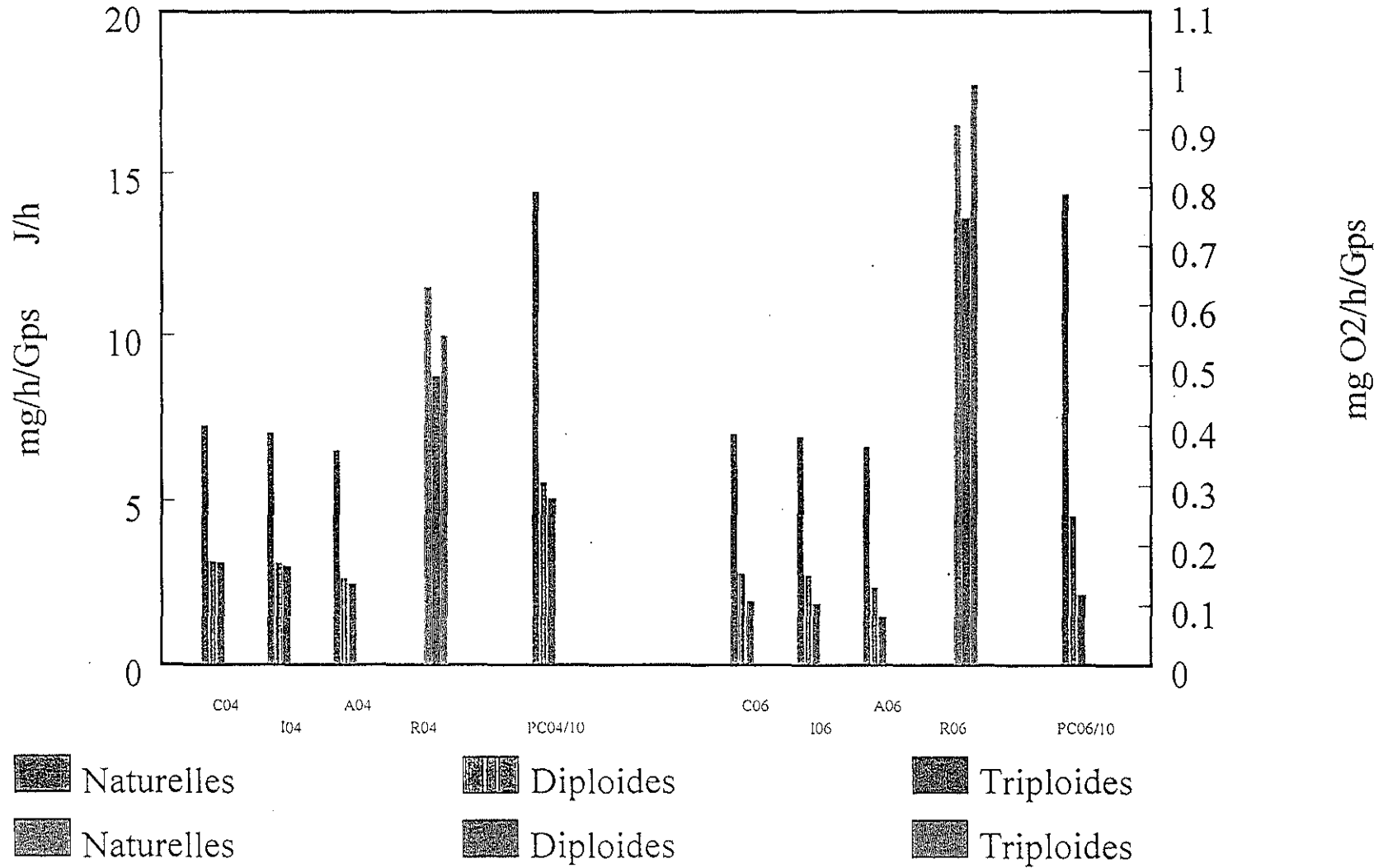








### Manip 92 (CG9021)



**ANNEXE 2 : CYTOGENETIQUE**

**Présentation du Programme AIR1 :  
Etude des performances de triploïdes induits par rétention  
du premier ou du second globule polaire.**

**Yamama NACIRI**

**IFREMER-URGE, BP 133, Ronce les Bains, 17 390 LA  
TREMBLADE.**

# **Présentation du Programme AIR1 :**

## **Etude des performances de triploïdes induits par rétention du premier ou du second globule polaire.**

### **1. Présentation du projet.**

#### ***1.1. Rappel de l'objectif général.***

Le programme AIR1 "Assessment of aquacultural advantages following the cytogenetic induction of polyploidy in commercially important marine shellfish" a débuté en Janvier 1993 et se déroulera sur une durée de 3 ans. Le projet consiste à évaluer les conséquences génétiques et physiologiques de l'induction de la triploïdie par traitement chimique au 6-DMAP selon deux modalités différentes :

- rétention du premier globule polaire,
- rétention du second globule polaire.

Ces deux modalités ne sont pas équivalentes comme l'illustre la Figure 1. En effet un degré d'hétérozygotie plus important est attendu par rétention du premier globule polaire. L'étude simultanée des deux types de triploïdes, ainsi que leur comparaison à un témoin diploïde permettra d'enrichir le débat dans le cadre des interrogations actuelles sur l'influence de l'hétérozygotie sur la croissance. Les expérimentations prévues sont :

- ① La production de deux lots de triploïdes 3N-méiose I et 3N-méiose II ainsi que celle d'un lot témoin diploïde issu du même pool de gamètes, et le criblage par analyse d'image des triploïdes dans les lots traités (les traitements ne sont en général pas efficaces à 100%).
- ② L'étude de la physiologie comparée des deux lots de triploïdes et du témoin diploïde, ainsi que celle des diploïdes réfractaires au traitement et l'étude de l'influence du niveau de nourriture sur ces différentes catégories.
- ③ L'analyse du polymorphisme par électrophorèse enzymatique et par RFLP des différents lots.

#### ***1.2. Résumé des résultats obtenus.***

Des expériences sont en cours à l'URGE pour déterminer les conditions de traitement devant permettre d'obtenir de façon sûre des triploïdes issus de méiose I et des triploïdes issus de méiose II. L'influence de la température sur la cinétique du développement embryonnaire a été étudiée (Cf Figure 2). Des premiers essais ont été effectués qui ont permis d'obtenir un lot à 100% de triploïdes-méiose II. L'induction de triploïdes-méiose I est par contre plus difficile à obtenir.

#### ***1.3. Objectifs pour 1994.***

Le rôle de l'URGE consistera en 1994 à élever les différents lots produits en condition trophiques contrôlées, et à poursuivre le criblage des triploïdes.

## **2. Collaboration et incitations nationales.**

IFREMER-UREA de La Tremblade pour le volet physiologique du programme.

## **3. Collaborations internationales.**

Plymouth Marine Laboratory (Grande Bretagne) pour le volet physiologique du programme et en collaboration avec l'UREA.

Marine Laboratory of Crete (Grèce) pour l'étude du polymorphisme enzymatique et du polymorphisme par RFLP.

INDUCTION DE LA TRIPLOIDIE

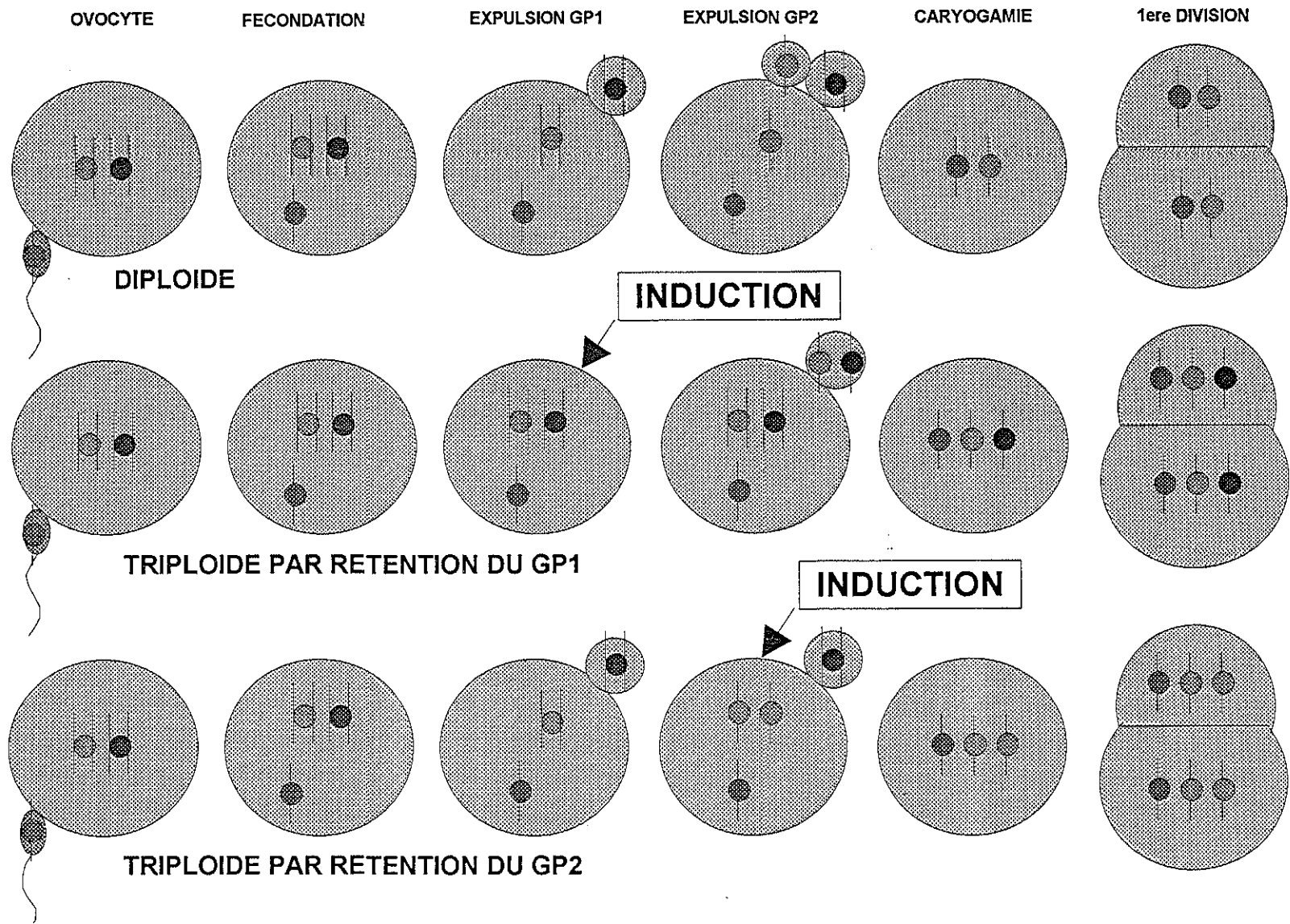
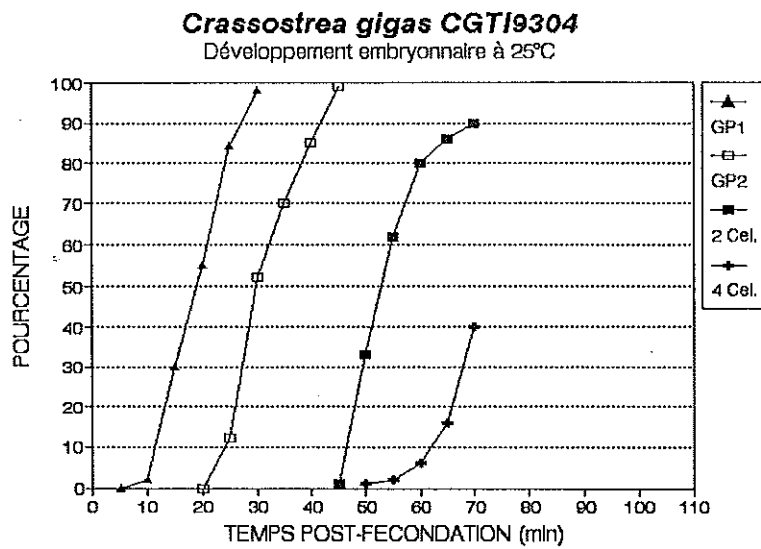
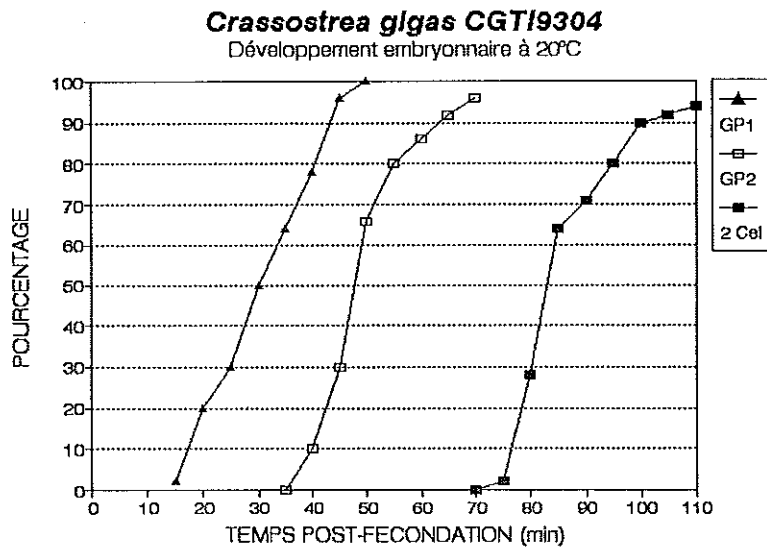
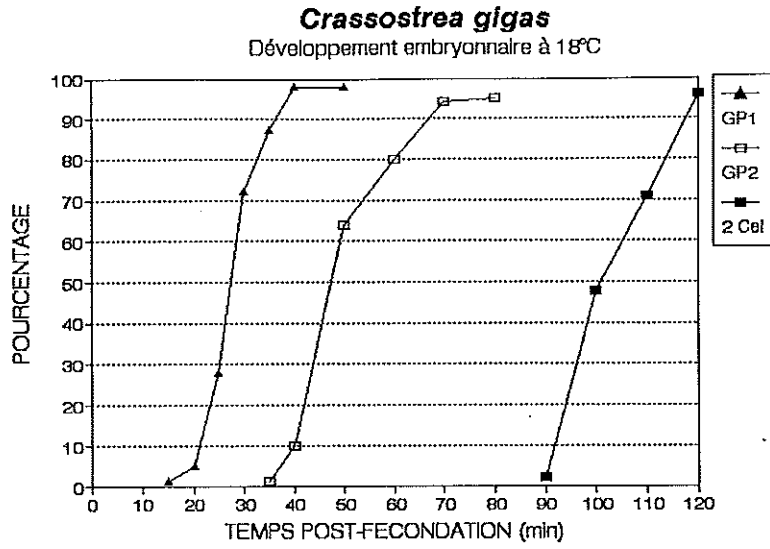


figure 1

**figure 2**



**Les avancées technologiques dans la fiabilité de l'induction de  
la triploïdie.**

**Induction de la triploïdie par traitement au 6-DMAP :  
Comparaison avec la cytochalasine B.**

**André GERARD**

**IFREMER-URGE, BP 133, Ronce les Bains, 17 390 LA  
TREMBLADE**



## **Les avancées technologiques dans la fiabilité de l'induction de la triploïdie.**

### **Induction de la triploïdie par traitement au 6-DMAP : comparaison avec la Cytochalasine B**

Les progrès réalisés en 1993 à l'URGE dans l'optimisation et la fiabilité des traitements d'induction de la triploïdie repose autant sur la mise au point d'une nouvelle technique d'induction utilisant le 6-DMAP (6-diéthylaminopurine) (deux publications en cours), que sur l'acquisition ou l'amélioration de techniques permettant de mieux cerner les étapes du développement embryonnaire précoce (Annexe 1).

#### **Amélioration de la fiabilité des techniques d'induction**

Deux techniques, l'épifluorescence et l'analyse d'images, ont permis d'avoir une meilleure connaissance du développement embryonnaire précoce, élément à notre avis incontournable si la fiabilité de l'induction est recherchée.

Grâce à la coloration de l'ADN par un fluorochrome, l'Hoechst 33258, et l'observation du développement des embryons au microscope à épifluorescence (Figure 1), des courbes de timing embryonnaire très précises ont pu être réalisées. Elles ont révélé un manque de synchronisme dans l'expulsion des globules polaires quand on utilise les techniques classiques de fécondation (Figure 2). Un programme de comptage d'ovules et de spermatozoïdes a été mis au point à l'analyseur d'images afin de pouvoir tester ce synchronisme en fonction de doses croissantes de sperme (Figure 3). Les résultats de cette étude ont permis de constater qu'avec une densité de 100 sperm./ovule (soit 10 fois la densité habituellement utilisée), le taux de polyspermie est limité à 10% et le synchronisme embryonnaire est nettement amélioré (Figure 4).

Enfin il faut rappeler que l'une des principales techniques développées par le laboratoire est le contrôle de la ploïdie par imagerie numérique (publication sous presse) qui permet de déterminer le taux de triploïdie sur des populations cellulaires issues d'embryons, de larves et de post-larves, et la ploïdie par analyse individuelle sur du naissain et sur les adultes, avec possibilité de tri par biopsie sur ces derniers.

#### **Induction de la triploïdie par traitement au 6-DMAP**

Le 6-DMAP (6-diéthylaminopurine) est une molécule qui présente de nombreux avantages par rapport à la Cytochalasine B, substance classiquement utilisée dans l'induction de la triploïdie chez les mollusques bivalves. Elle n'agit pas au niveau de la synthèse protéique mais uniquement au niveau des phosphorylations. Elle se dissout directement dans l'eau de mer, son effet est parfaitement réversible et ne nécessite pas l'emploi d'un solvant comme le DMSO, elle ne fait pas partie des produits hautement toxiques, et elle est également plus économique.

Après quelques expériences préliminaires qui avaient pour but de vérifier l'efficacité de la molécule dans l'induction de la triploïdie, une première optimisation du traitement a été recherchée. L'efficacité du 6-DMAP dépend de sa concentration, de la température d'incubation, de la durée et du moment d'application.

*Dose d'application (Figure 5).*

La Figure 5 montre que le taux de triploïdes augmente avec la dose de 6-DMAP, alors que le taux de larves D normales baisse pour des concentrations croissantes. Les doses moyennes de 300 et 450 $\mu$ M/l ont été retenues pour les expériences ultérieures, dans la mesure où pour ces doses le taux de larves normales reste acceptable.

*Moment d'application (Figure 6).*

Bien que dans cette expérience, les taux de triploïdes maximum ne soient pas très élevés, deux optimum sont nettement mis en évidence (15 et 30 minutes) qui correspondent respectivement à l'expulsion des premiers et seconds globules polaires.

*Durée du traitement (Figures 7 et 8).*

Aux deux concentrations testées (300 et 450 $\mu$ M/l), les traitements longs induisent à la fois des taux de triploïdie et des taux de larves D normales faibles. La durée optimale de traitement est de 15 minutes pour une concentration de 300 $\mu$ M/l et de 10 minutes pour une concentration de 450 $\mu$ M/l.

*Comparaison 6-DMAP/CB (Figures 9, 10 et 11).*

La Figure 9 souligne l'intérêt du 6-DMAP par rapport à la CB : la différence de taux de triploïdes entre les deux types de traitement n'est pas significative (84 et 90 % respectivement). Par contre, il y a environ 2 fois plus de larves D normales dans le lot traité au 6-DMAP par rapport aux lots traités à la CB. Ce résultat, additionné des avantages liés à l'utilisation facile et au coût du 6-DMAP font de cette molécule un produit très intéressant pour l'induction de la triploïdie chez les mollusques bivalves.

# annexe 1

## OPTIMISATION DU TRAITEMENT D'INDUCTION DE LA TRIPLOIDIE

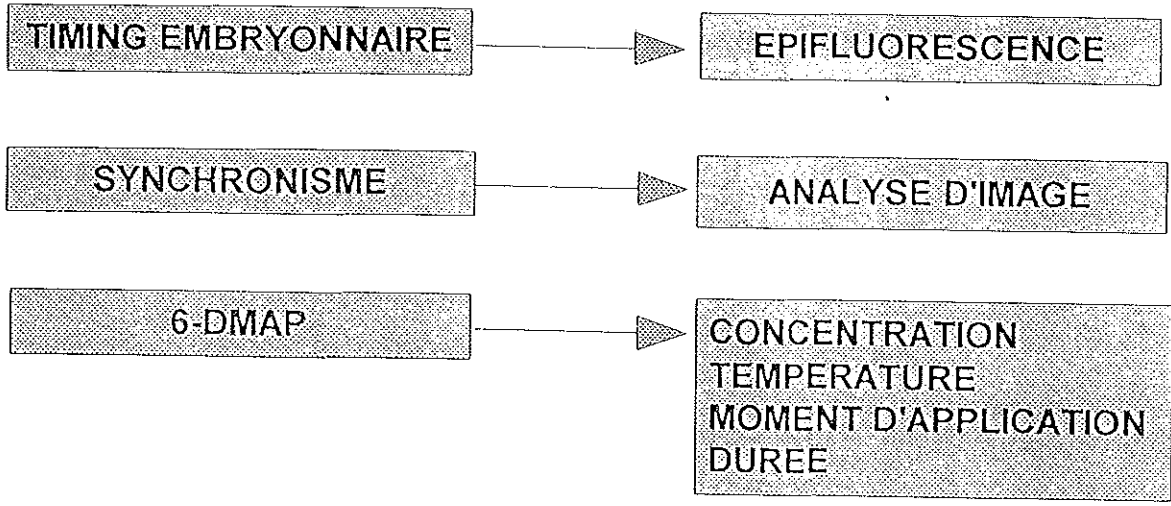
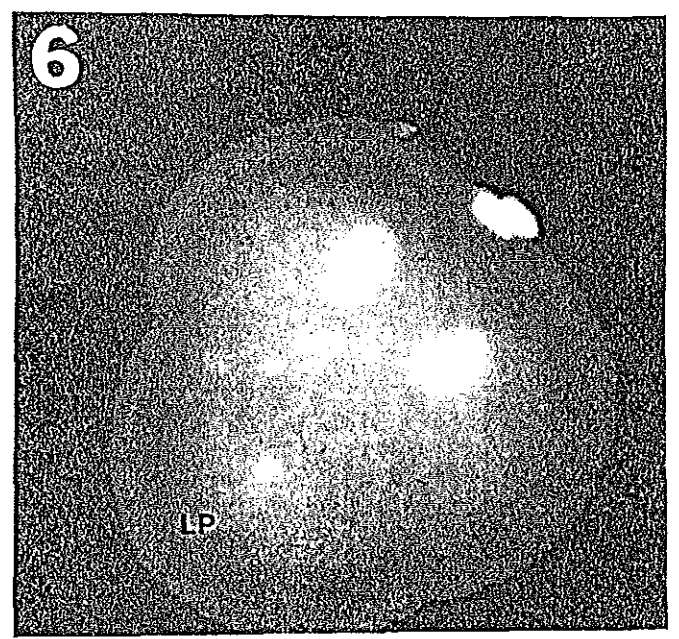
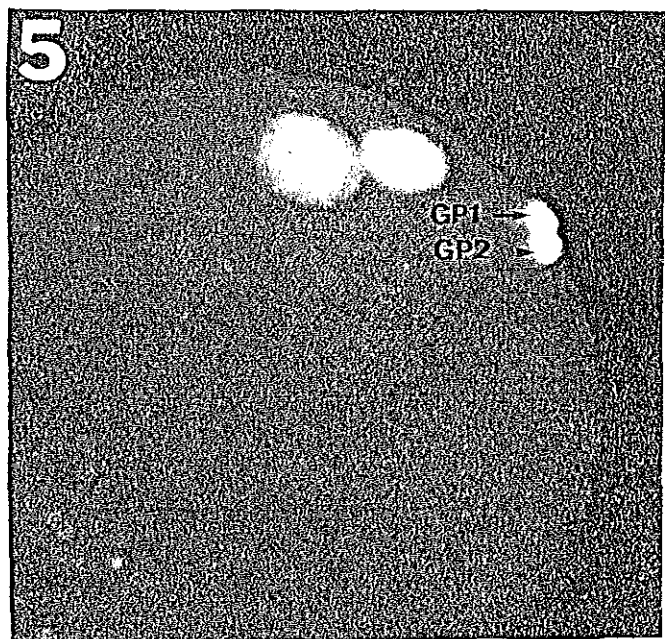
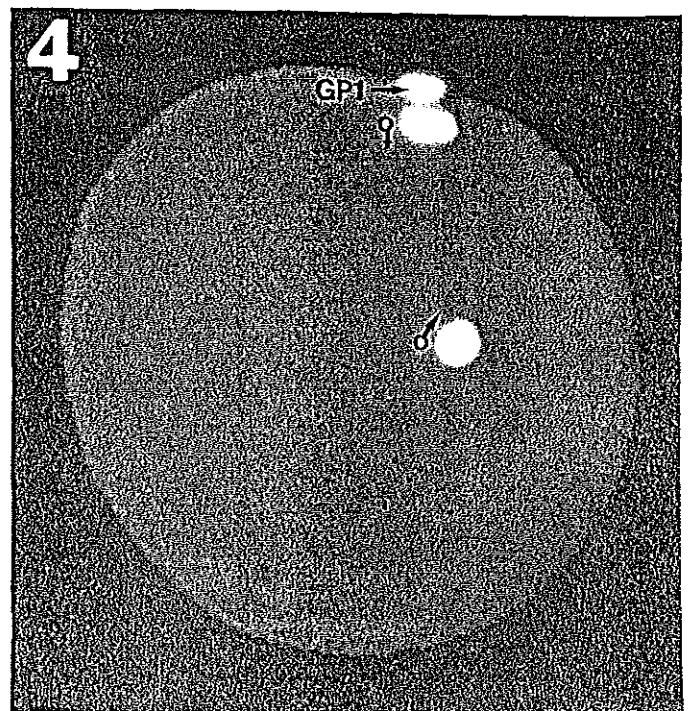
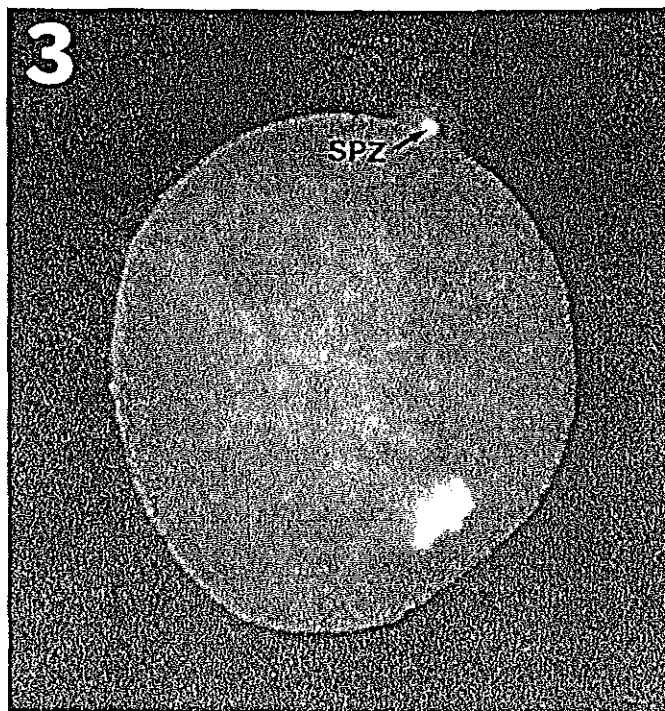
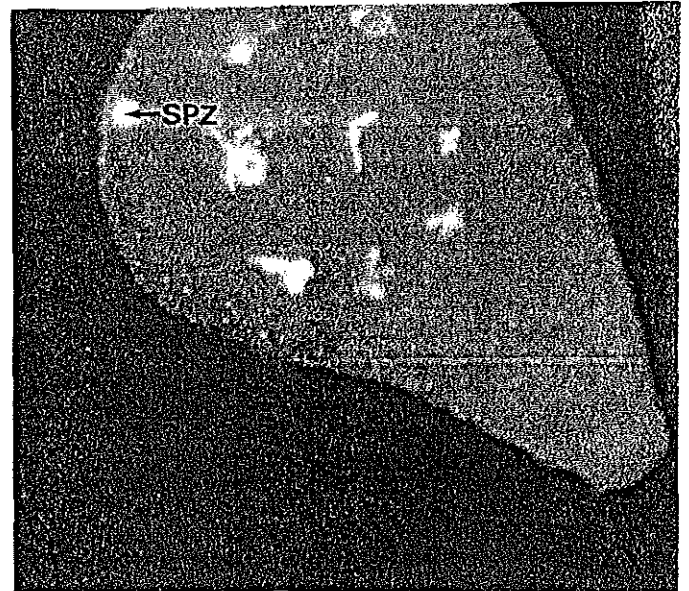
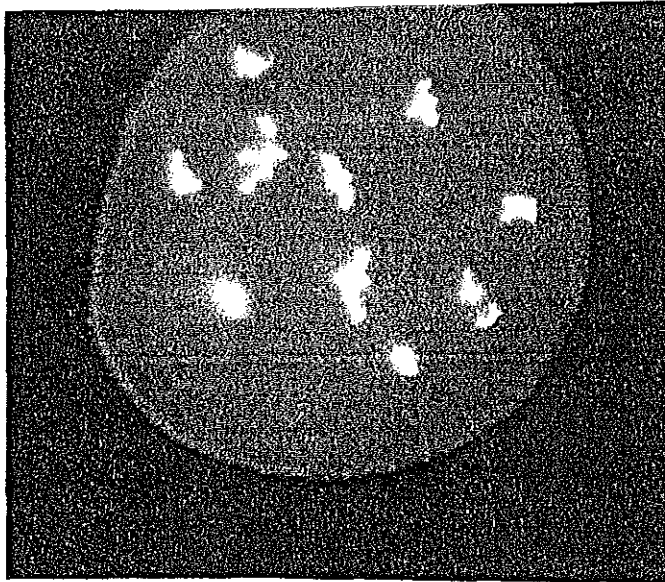


figure 1



SPZ : Spermatozoïde

GP : Globule Polaire

LP: Lobe Polaire

figure 2

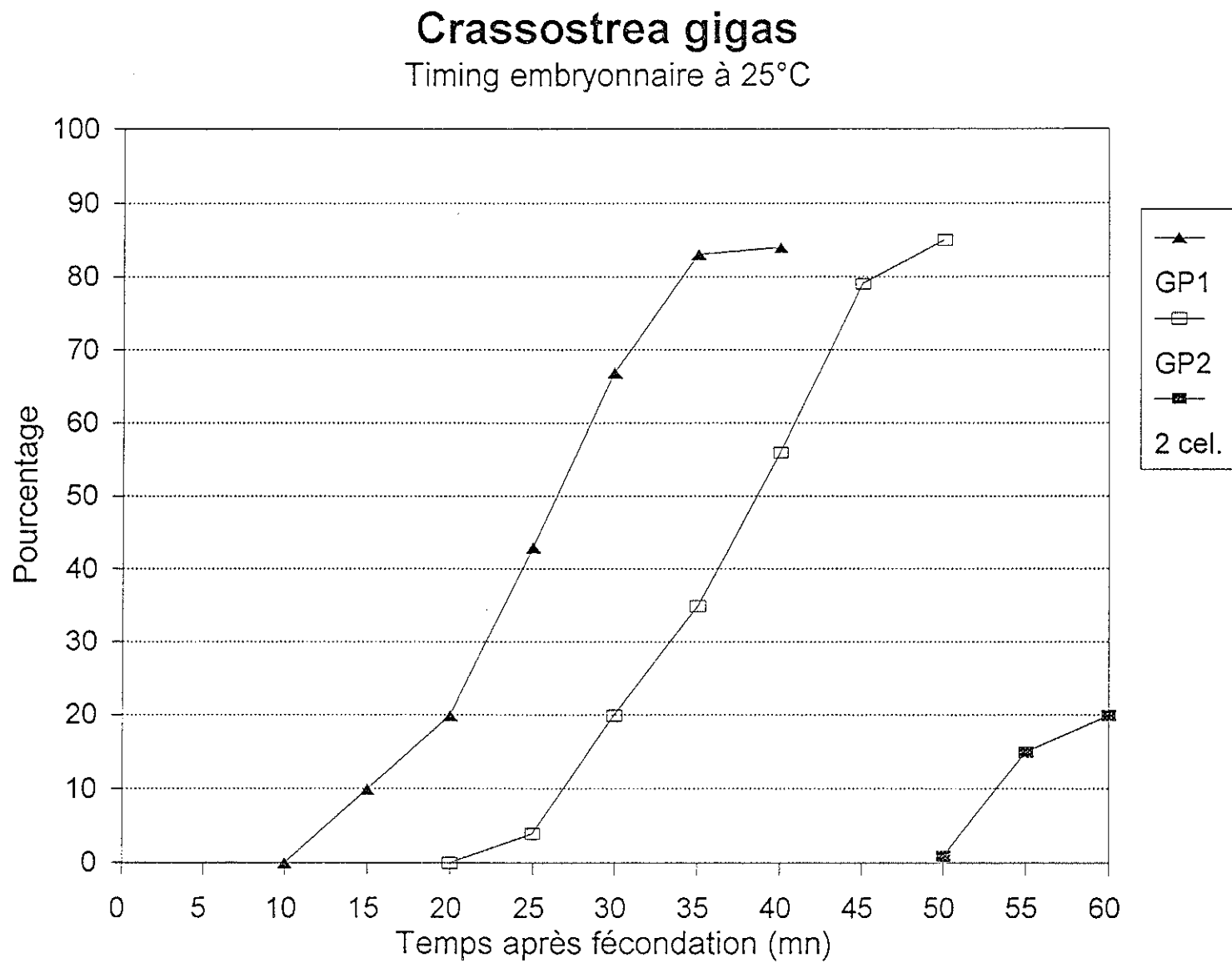


figure 3

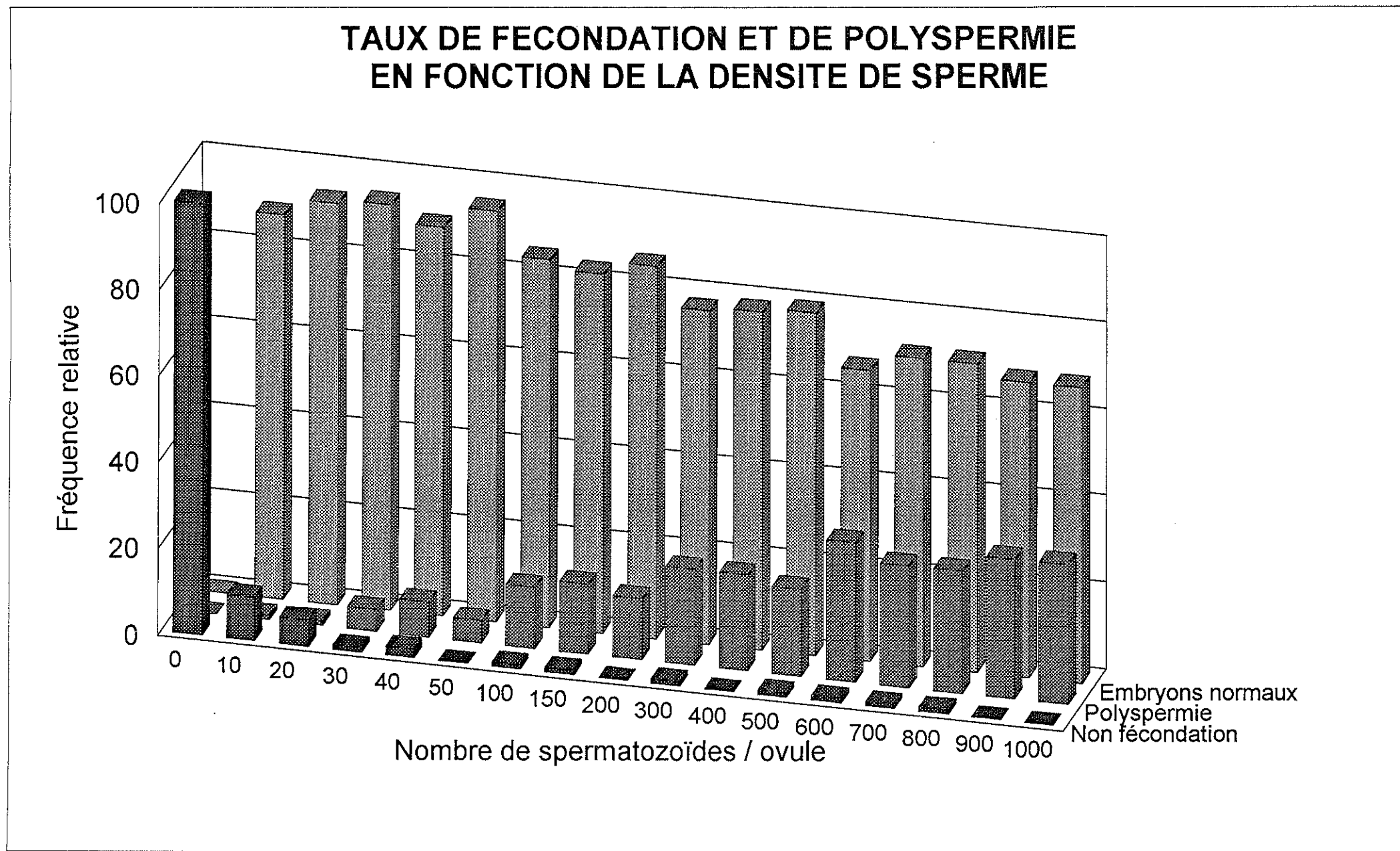


figure 4

**ELEVAGE LARVAIRE Réf:CG3N9218**  
TIMING EMBRYONNAIRE

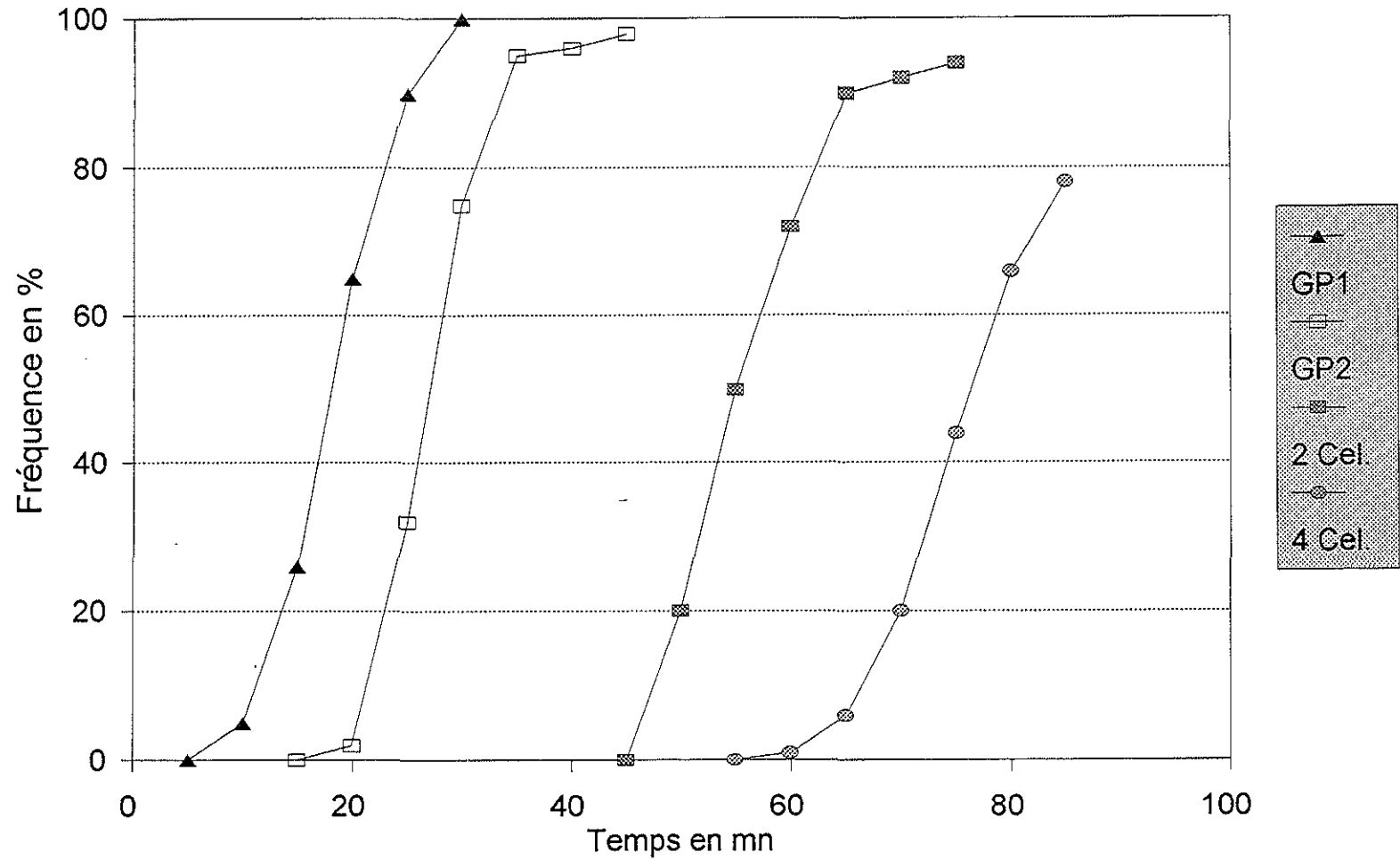




figure 5

*Crassostrea gigas*  
Taux d'éclosion / dose de 6DMAP

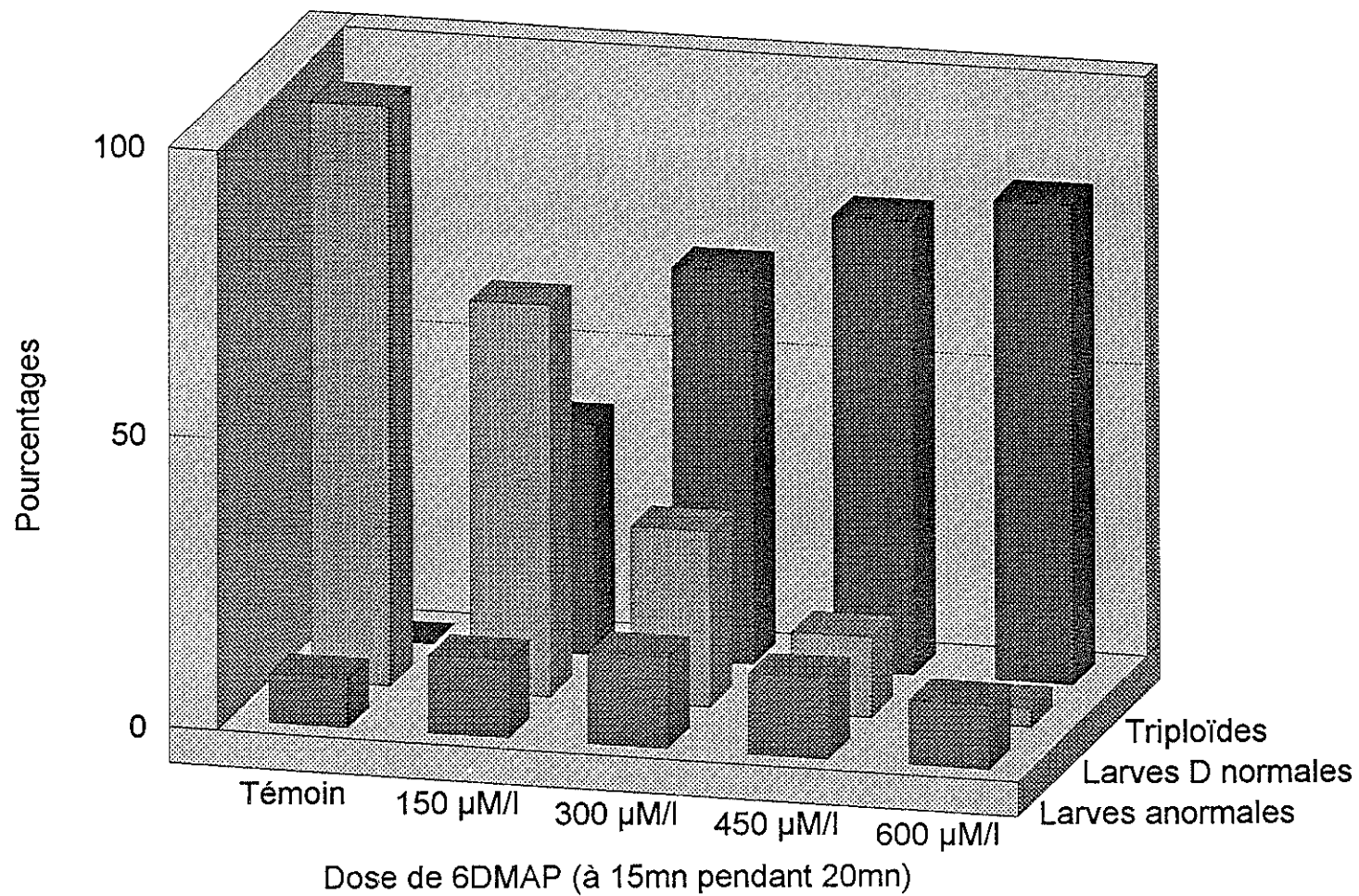
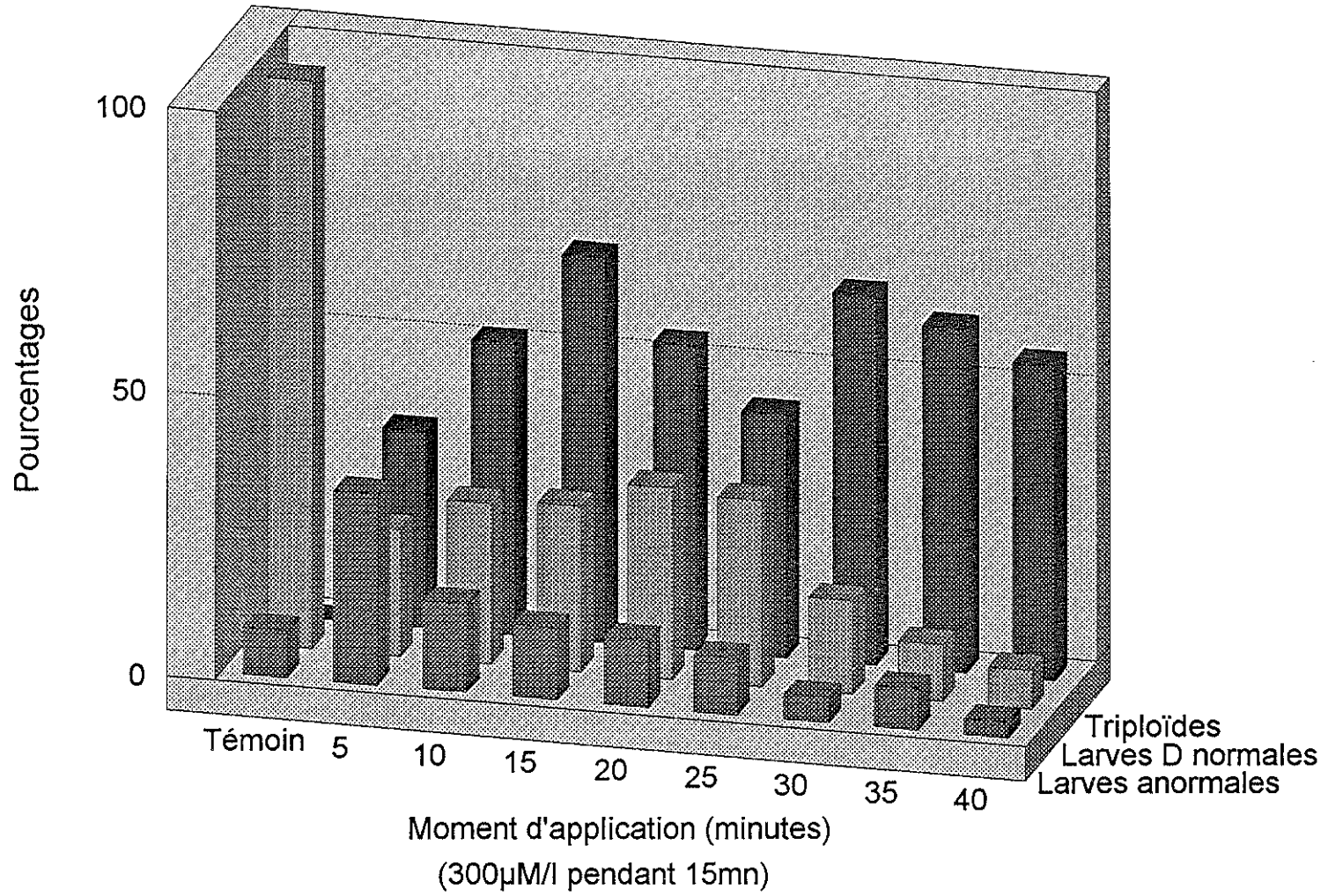




figure 6

*Crassostrea gigas*  
Impact du traitement / moment



***Crassostrea gigas***  
Impact de la durée du traitement

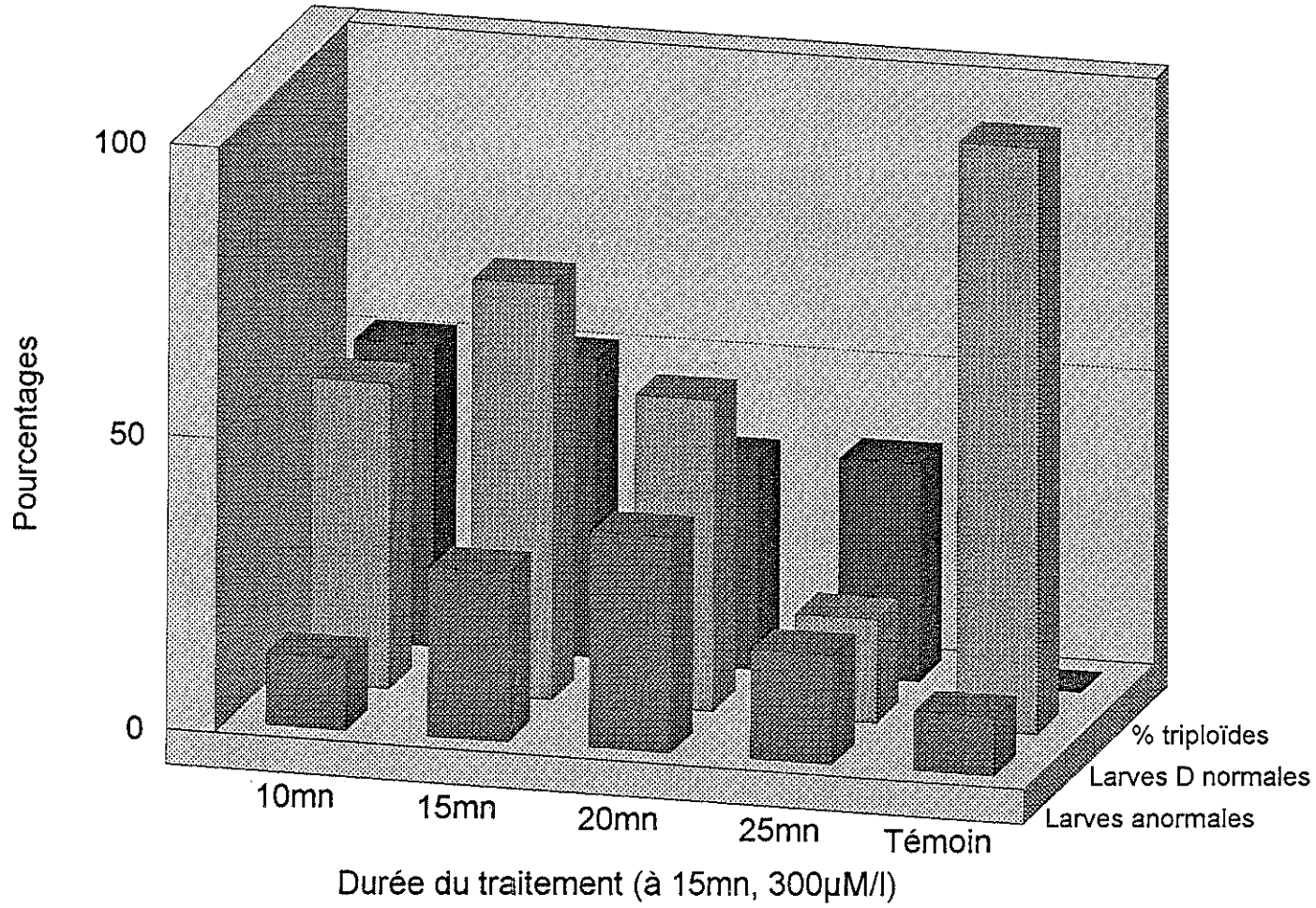


figure 8

*Crassostrea gigas*  
Impact de la durée du traitement

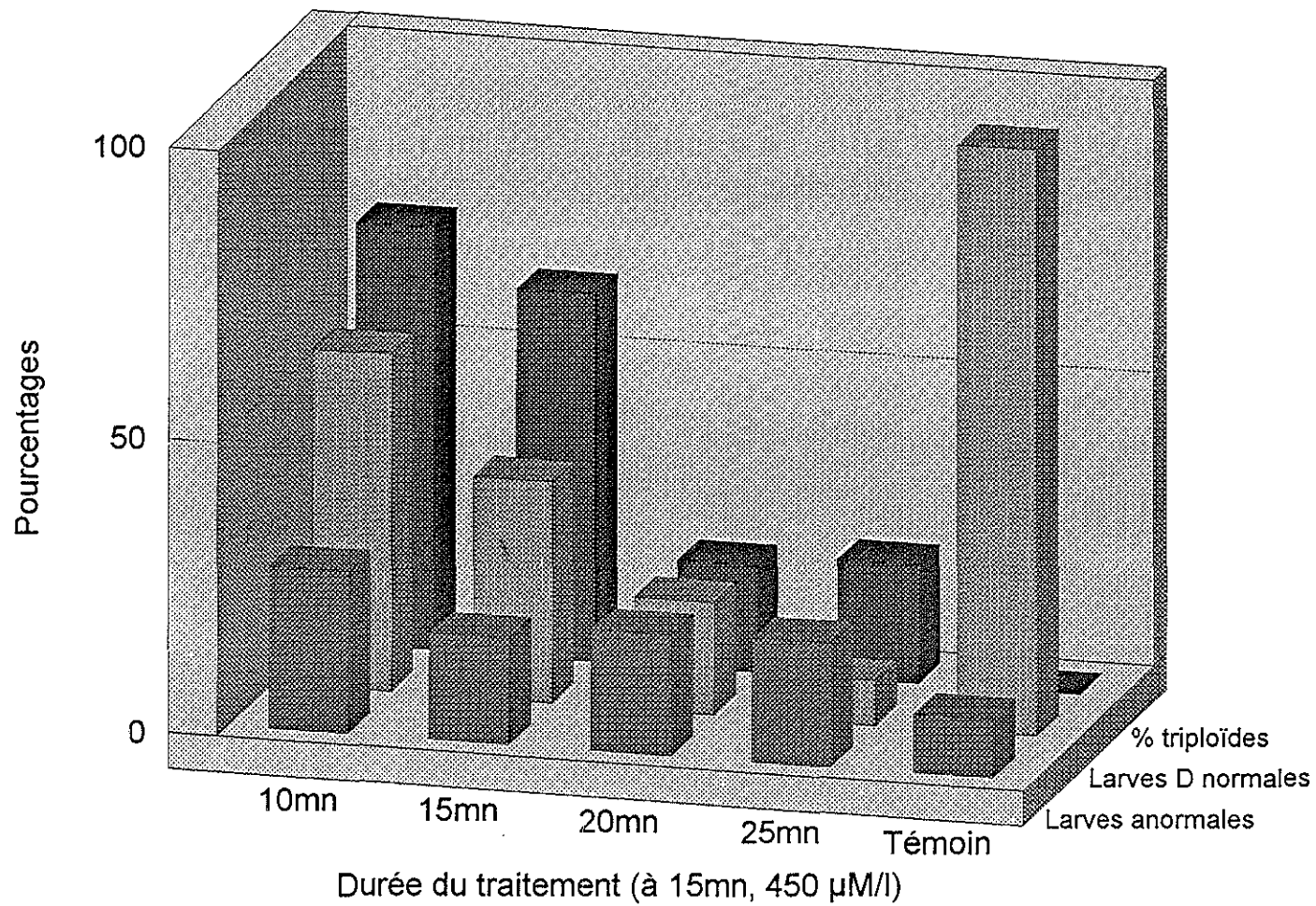


figure 9

### *Crassostrea gigas* CG3N9218 Induction de la triploïdie

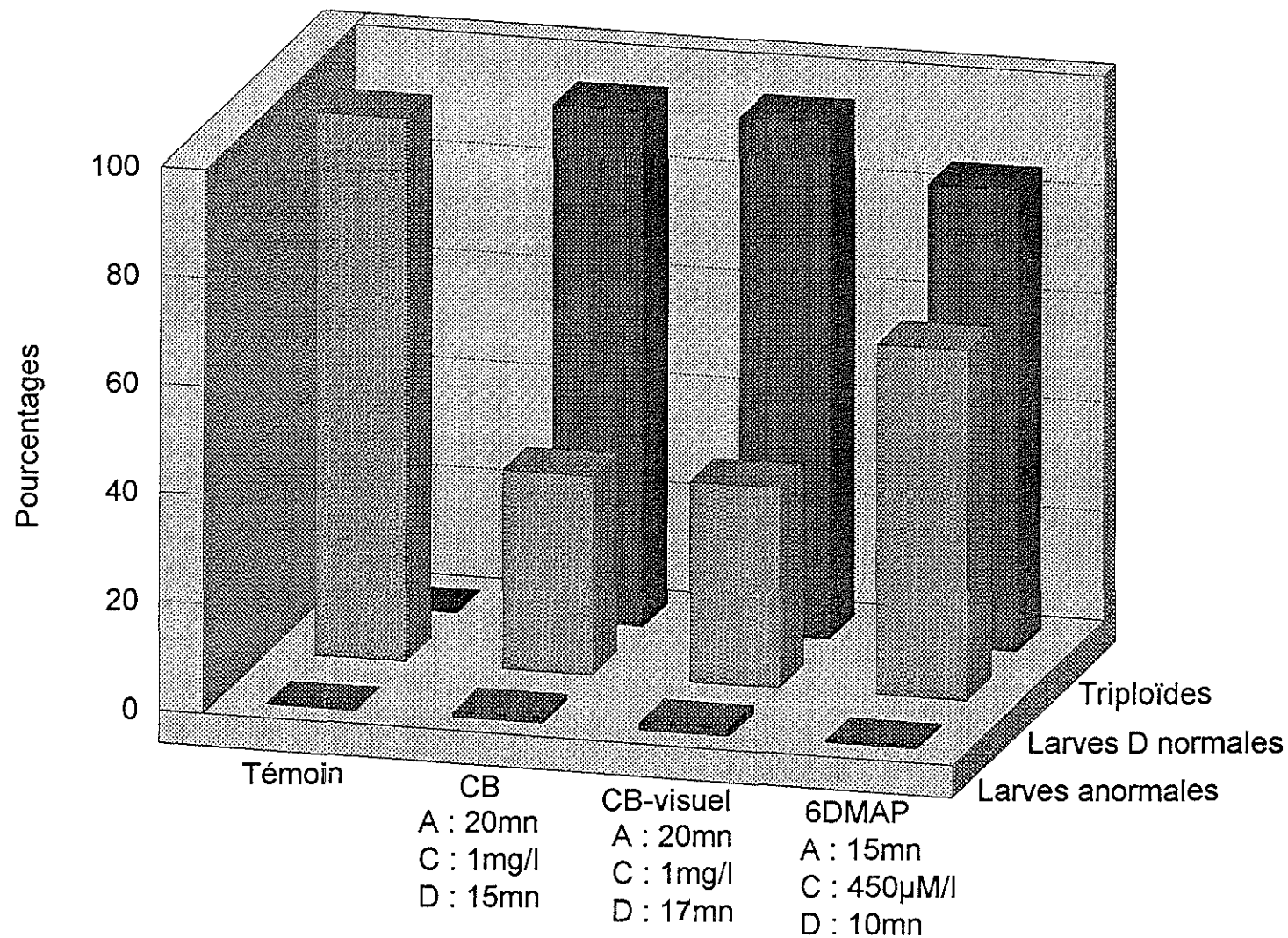


figure 10

### ELEVAGE LARVAIRE Réf:CG3N9218 CROISSANCE COMPAREE

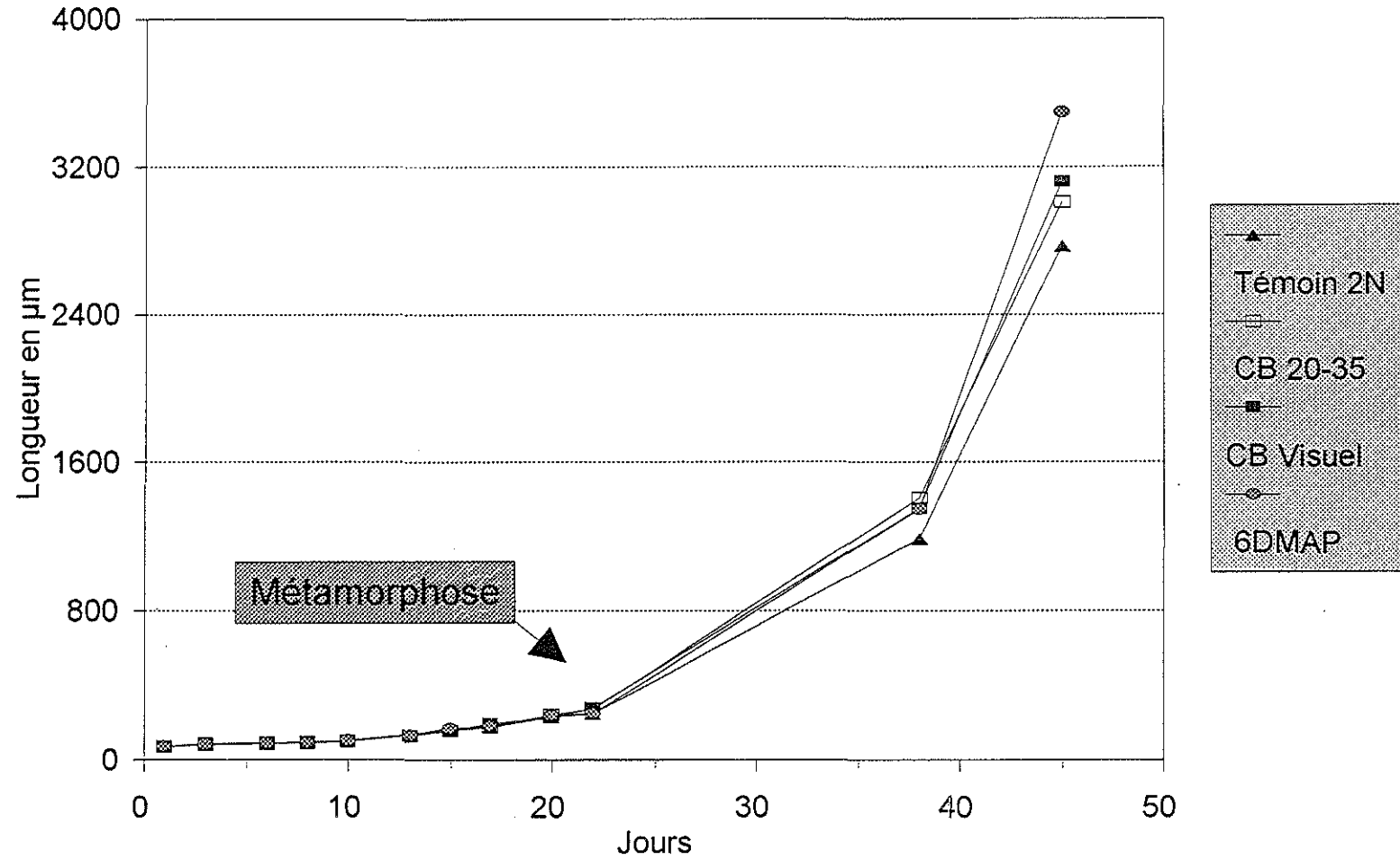
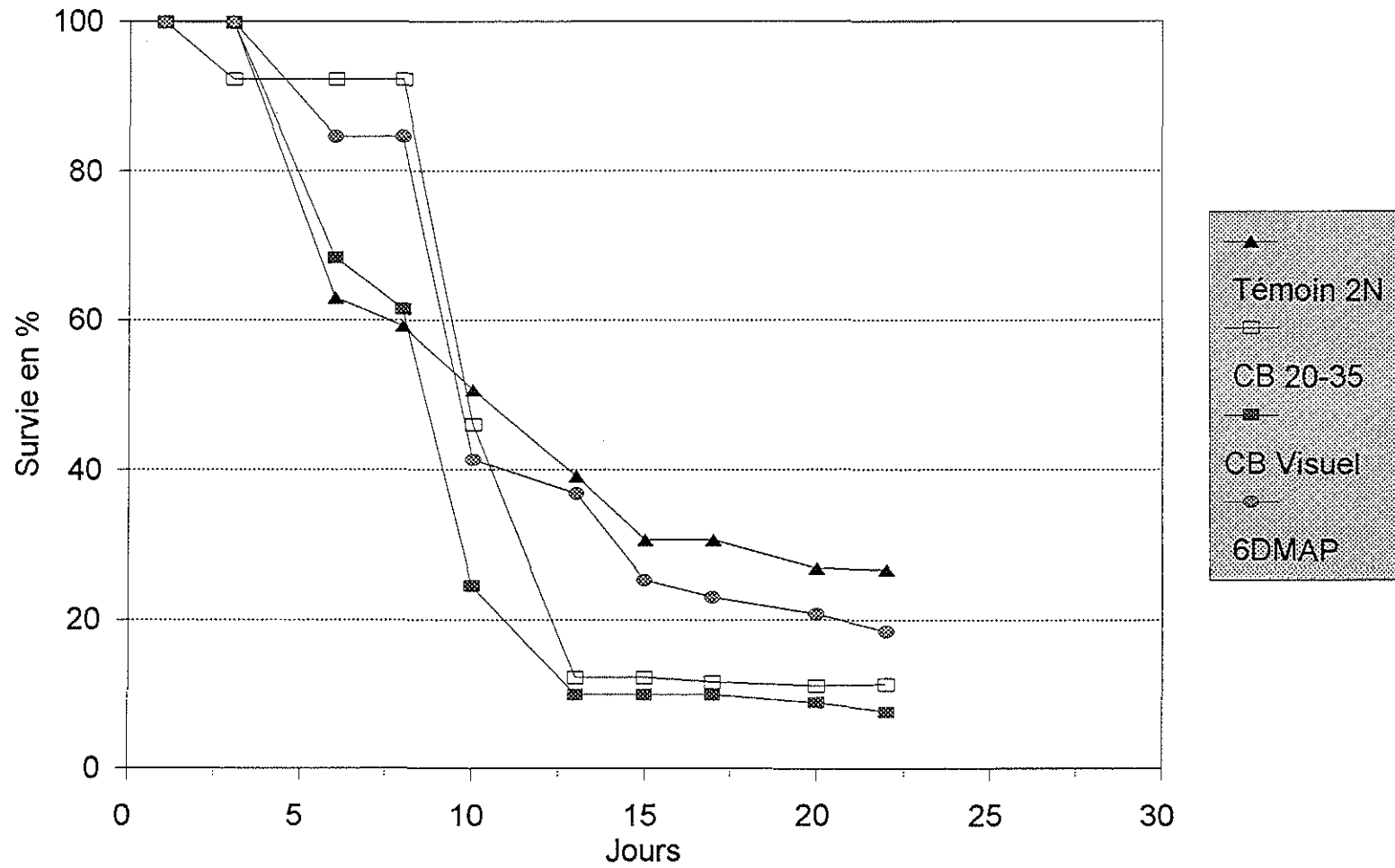


figure 11

### ELEVAGE LARVAIRE Réf:CG3N9218

MORTALITE COMPAREE



**ANNEXE 3 : PROGRAMME DE SELECTION DE L'HUÎTRE  
PLATE**

**Premiers résultats obtenus dans le cadre du programme de  
sélection de l'huître plate résistante à la bonamiose :  
problèmes et perspectives.**

**Yamama NACIRI**

**IFREMER-URGE, BP 133 Ronce les Bains, 17 390 LA  
TREMBLADE**



# **Programme de sélection de l'huître plate *Ostrea edulis* pour une résistance à la bonamiose.**

## **Problèmes et perspectives.**

Les premiers résultats obtenus dans le cadre du programme de sélection de l'huître plate pour une résistance à la bonamiose concernent les deux expérimentations prévues pour l'année 1993 : expérience "mixage" et expérience "rétrocroisement".

### **1. Mixage des lignées 1985 (Génération F2), 1989 (Génération F1) et 1993 (Génération F0).**

L'historique des différentes lignées intervenant dans le mixage est donné Figure 1, et le programme de sélection, tel qu'il a été restructuré, est rappelé Figure 2. Le bilan de l'opération mixage est résumé Annexe 1. Plusieurs problèmes ont été rencontrés en cours d'expérimentation :

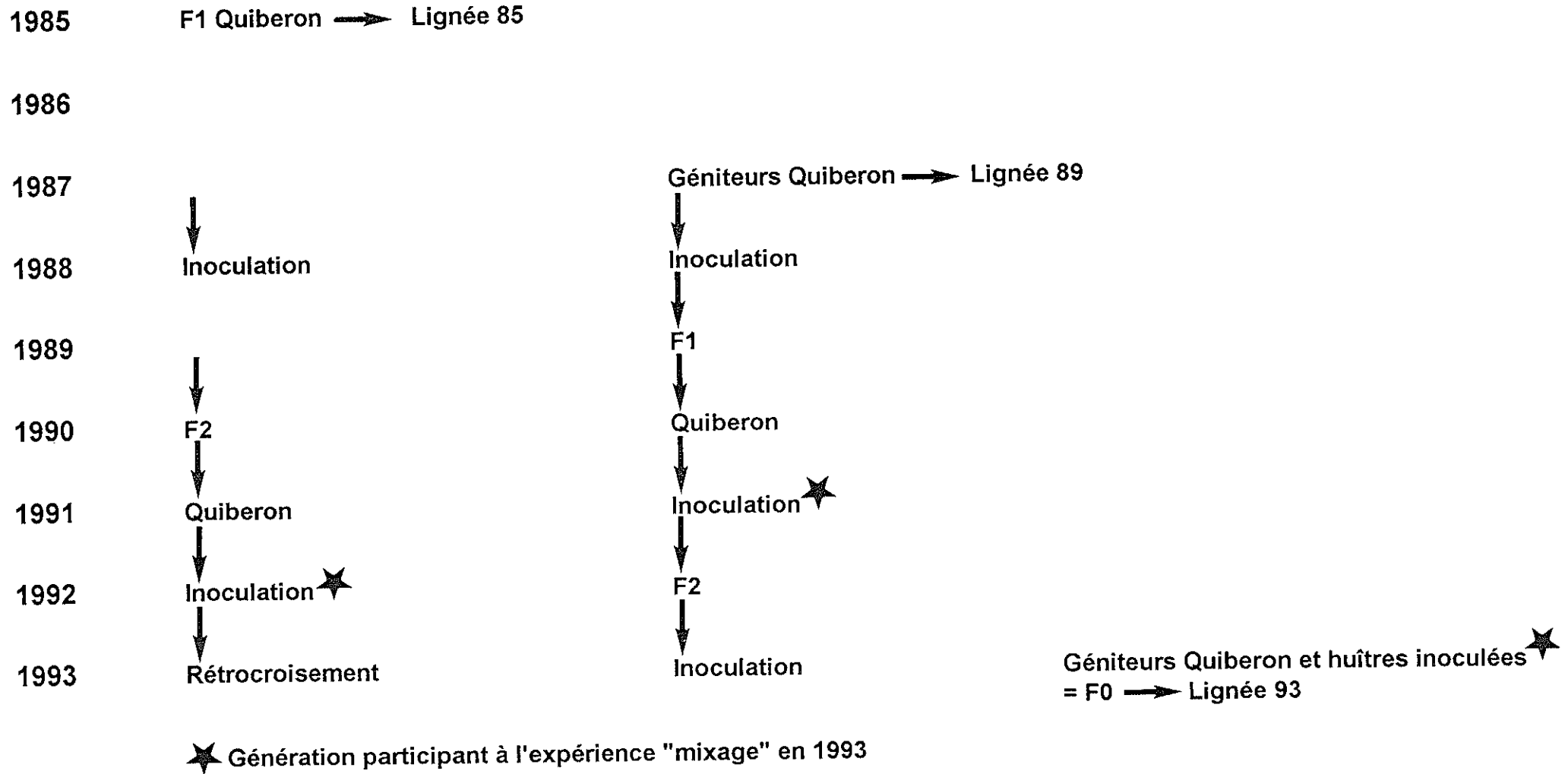
1. L'induction des pontes dans la structure en HLM s'est avérée difficile. Plusieurs inductions n'ont produit que des pontes d'individus mâles.
2. Contrairement aux présomptions, les pontes de femelles ne donnent pas toujours lieu à une émission d'ovules hors de la coquille, même faible. Cela rend bien entendu plus difficile le repérage des femelles pouvant être fécondées.
3. Les historiques différents des 3 lignées expliquent dans une certaine mesure qu'elles n'aient pas répondu aux inductions dans les mêmes proportions. Il faudra dorénavant s'assurer que les lots de maturation subissent les mêmes conditions pendant au moins 4 mois avant l'entrée en éclosion.
4. Cette expérience a mis en évidence le peu de connaissance acquis jusqu'à ce jour sur la maturation des huîtres plates. L'échelonnement des pontes entre les lots mis à maturer en masse et les lots mis en HLM suggère qu'il puisse y avoir échange de signaux chimiques entre individus dans le cas de la ponte en masse, ce qui expliquerait que les pontes soient obtenues plus rapidement dans ce cas là. Cette hypothèse a donné lieu à une modification du dispositif de maturation, les huîtres étant mises en aquarium 2 à 2, un système de récupération des larves étant couplé à chacun des aquariums.
5. Les problèmes d'induction ont occasionné un échelonnement assez important pour la production des différents lots. Cela posera en particulier un problème en nurserie pour faire en sorte d'obtenir, malgré tout, des têtes de lots de tailles à peu près homogènes, susceptibles d'être mélangées entre elles pour former autant de lots que de sous-populations qui seront ensuite transférés à La Trinité-sur-Mer.
6. Sur les 5 populations prévues, seules 4 ont pu être produites : les deux témoins Quiberon et Palavas, ainsi que les sous-populations F1 x F2 et F1 x F0, à raison de 13 et 12 croisements respectivement.

## **2.Rétrocroisement de la lignée 1989 (Génération F2).**

Le bilan de l'opération rétrocroisement est donné Annexe 2. Cette opération a été lancée après l'opération mixage, et a donc profité des réaménagements progressifs apportés dans les protocoles d'induction. Bien qu'ayant rencontré les mêmes difficultés, l'expérience rétrocroisement a donné de meilleurs résultats que l'expérience mixage, cela également parce que les exigences sur le nombre de croisements à produire étaient moins fortes, et qu'il a été décidé en cours de route de ne pas faire de distinction pour le sens du croisement pour la sous-population F2 x Témoin.

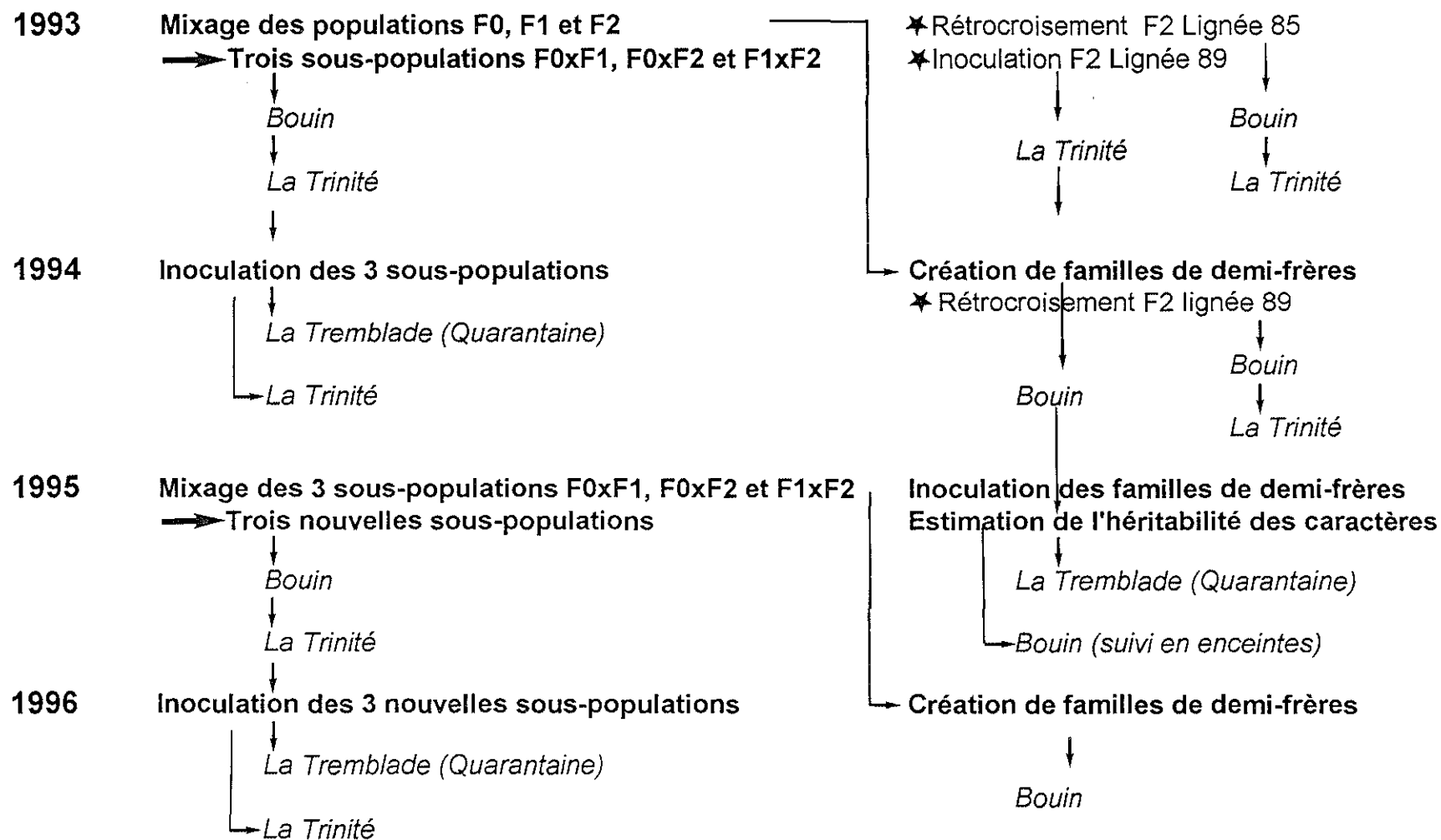
figure 1

## HISTORIQUE DES LIGNEES PARTICIPANT AU MIXAGE



**figure 2**

**PROGRAMME DE SELECTION APRES REFONTE**



# annexe 1

## RESISTANCE A LA BONAMIOSE

**MIXAGE DES LIGNEES 1985 (GENERATION F2),  
1989 (GENERATION F1) ET 1993 (GENERATION F0).**

### Protocole :

❶ Maturation en masse pendant 15 jours (en bac) puis individuellement en HLM (en bécher) des 3 populations F2 (61 huîtres), F1 (66 huîtres) et F0 (54 huîtres).

❷ Maturation en masse uniquement des témoins Palavas et Quiberon (50 huîtres pour chaque).

• Induction de 4 pontes par chocs thermiques (14°C-25°C) entre le 03/03 et le 23/03.

• Résultats : Pontes naturelles pour les deux témoins

Ponte du 03/03 : 2 Mâles et 0 Femelles.

Ponte du 10/03 : 3 Fem F1 x 2 Mâles F0.

[ 1 Fem F1 x 1 Mâle F2.

] 1 Fem F2 x 1 Mâle F1.

Ponte du 16/03 : 1 croisement avorté.

Ponte du 23/03 : [ 4 Fem F1 x 2 Mâles F2.

] 3 Fem F2 x 3 Mâles F1.

1 Fem F2 x 1 Mâles F0.

## annexe 1 (suite)

### RESISTANCE A LA BONAMIOSE

**MIXAGE DES LIGNEES 1985 (GENERATION F2),  
1989 (GENERATION F1) ET 1993 (GENERATION F0).**

#### Résultats :

- ① Echelonnement des pontes entre le 22/02 et le 11/04.
- ② Pas de larves pour la population F0 x F2 pour l'instant.
- ③ Bilan pour les quatre autres populations :
  - Témoin Palavas : 2 millions le 22/02 (lot 1)  
6.6 millions le 11/03 (lot 2)
  - Tém. Quiberon : 1 million le 5/03 (lot1)  
3.8 millions le 20/03 (lot 2)
  - Population F1 x F0 : 1.4 million le 18/03 (3 femelles)  
0.3 million le 01/04 ]  
6 millions le 02/04 | (9 femelles)  
7 millions le 03/04 ]
  - Population F1 x F2 : 0.3 million le 20/03 (2 femelles)  
0.4 million le 30/03 ]  
1.4 million le 31/03 ] (7 femelles)  
1.8 million le 08/04 (2 femelles)  
1.2 million le 11/04 (2 femelles)

Perspectives : pontes en attente, par couples en aquarium  
(HLM)

### RESISTANCE A LA BONAMIOSE

#### RETROCROISEMENT DE LA GENERATION F2 DE LA LIGNEE 1985.

##### Protocole :

Maturation en masse pendant 15 jours (en bac) puis individuellement en HLM (en bécher) des deux populations : F2 et Témoin Quiberon.

- Induction de 2 pontes par chocs thermiques (14°C-25°C)
- Résultats :
  - ① 1 Fem F2 x 1 Mâle Témoin pour la ponte du 11/03 : 0 larves, avortement probable.
  - ② 4 Fem Témoin x 3 Mâles Témoins pour la ponte du 31/03 : 2 millions de larves récupérées les 08/04 et 09/04.
  - ③ 1 Fem F2 x 1 Mâle Témoin pour la ponte du 31/03 : 0.9 millions de larves récupérées le 09/04.

Modification du système de maturation individuelle en béchers (HLM) le 2 Avril 93, pour une maturation en couples en aquarium, avec récupération des larves par couple d'huîtres. Ponte en masse pour la population F2 x F2.

- Résultats :
  - ① 3 croisements F2 x Témoin : 1.8 millions de larves récupérées le 11/04.
  - ② 3.2 millions de larves récupérées pour la population F2 x F2 les 12/04 et 13/04.

## annexe 2 (suite)

### RESISTANCE A LA BONAMIOSE

#### RETROCROISEMENT DE LA GENERATION F2 DE LA LIGNEE 1985.

##### Conclusions :

① Pontes échelonnées entre les 08 et 13 Avril 1993.

② Résultat des pontes par population :

Population F2 x F2 : • Croisements non contrôlés,

• 3.2 millions de larves.

Population F2 x Tem : • 4 croisements contrôlés,

• 2.7 millions de larves.

Population Tem x Tem : • 4 croisements contrôlés,

• 2 millions de larves.

③ Mise en élevage :

Deux bacs de 300 000 larves pour chaque population.



**Techniques de purification et d'infestation par *Bonamia  
ostreae***

**Tristan RENAULT et Nathalie COCHENNEC**

**IFREMER-URPIG, BP 133 Ronce les Bains, 17 390 LA  
TREMBLADE.**

## RESUME

La purification du parasite de l'huître plate, *Bonamia ostreae* peut être effectuée à partir d'animaux provenant d'exploitations ostréicoles ou à partir d'animaux infestés expérimentalement et maintenus en salle de quarantaine. Dans ce dernier cas, les manipulations préliminaires sont réduites et les rendements de purification élevés.

Le principe de la purification repose sur la séparation du parasite des autres constituants cellulaires, en fonction des différences de densité, par des centrifugations successives.

Ce protocole de purification permet d'obtenir des quantités importantes de parasites viables ayant conservé leur pouvoir pathogène. De ce fait, il est possible de reproduire au laboratoire la bonamiose par inoculation dans la cavité péricardique de parasites purifiés chez des huîtres préalablement anesthésiées par balnéation en eau de mer additionnée de 5 à 6% de Chlorure de magnésium.

# PROTOCOLE DE REPRODUCTION EXPERIMENTALE DE LA BONAMIOSE, PARASITOSE DE L'HUITRE PLATE, *Ostrea edulis*

URPIG - Avril 1993.

T. RENAULT, N. COCHENNEC, B. CHOÏLET et R.M. LE DEUFF

## I - PURIFICATION DU PARASITE *Bonamia ostreae*

### I 1 - ANIMAUX

#### *I 1 1 - Sélection des animaux servant à la purification*

- Technique de sélection : apposition cardiaque (ventricule). Coloration au kit HEMACOLOR MERCK. Lecture en microscopie photonique à l'objectif 100 (immersion).

- Choix des animaux très parasités, classés "+++" : animaux présentant plus de 100 parasites par champ observé.

#### *I 1 2 - Origine des animaux*

- Huîtres provenant d'exploitations ostréicoles.

→ Sélection de lots bien parasités (20 à 30%) sur données épidémiologiques.

→ Ouverture et contrôle de l'état d'infestation parasitaire sur apposition cardiaque d'un grand nombre d'animaux (100 ou plus) pour obtenir suffisamment d'huîtres très parasitées (+++).

- Huîtres inoculées expérimentalement et maintenues en stabulation en salle de quarantaine (écloserie de Ronce les Bains).

→ Inoculation du parasite *B. ostreae* : de 300 000 à 400 000 parasites par huître.

→ Apparition d'une maladie expérimentale avec mortalité un à deux mois post-inoculation.

→ Récupération des animaux morts, moribonds et cloquants. Contrôle de l'état d'infestation de ces huîtres sur apposition cardiaque. Sélection des huîtres à niveau d'infestation élevée (+++). Elimination des animaux bien infestés, mais présentant des bactéries en trop grand nombre (putréfaction) pour éviter tout problème de contamination des parasites purifiés par des bactéries. Il peut en effet dans ce cas y avoir des problèmes de septicémie suite à l'inoculation de parasites contaminés.

#### *N.B. : AVANTAGES DE L'UTILISATION D'ANIMAUX INOCULES*

- Disponibilité d'animaux parasités toute l'année (si maintien des stocks par inoculations décalées) par rapport à la maladie naturelle que l'on observe surtout de décembre à février et en fin d'été.

- Allègement de l'étape de sélection des animaux servant à la purification : il suffit de récupérer les animaux morts ou moribonds.

Pour les animaux provenant d'exploitations ostréicoles, il faut trier les huîtres un jour (100 à 200 animaux : ouverture, appositions et lecture des frottis) et effectuer la purification le lendemain.

Pour les huîtres inoculées expérimentalement, il est juste nécessaire de récupérer les animaux morts et moribonds le matin pour contrôler leur état d'infestation (généralement jamais plus de 10 à 15 animaux), puis faire la purification immédiatement le même jour.

- Taux d'infestation généralement élevés ( nombreux animaux +++).

#### *1 1 3 - Nombre d'animaux utilisés par purification*

De trois à six animaux en général.

Il vaut mieux éviter d'utiliser un trop grand nombre d'animaux, car il est alors nécessaire de multiplier les volumes pour obtenir des rendements convenables.

## I 2 - PROTOCOLE DE PURIFICATION

Cf transparent intitulé PROTOCOLE DE PURIFICATION pour le protocole détaillé.

### *I 2 1 - Broyats des animaux parasités*

Animaux rincés en eau de mer filtrée/tween pour éliminer les débris de coquilles - Prélèvement de l'ensemble des animaux excepté le muscle - broyage à l'Ultra-turrax en eau de mer filtrée.

### *I 2 2 - Filtrations*

Sur filtres à mailles progressivement décroissantes (200 à 25µm).

### *I 2 3 - Séparation par centrifugations successives*

- Centrifugations de clarification.
- Centrifugation en sucrose 20%.
- Centrifugation en gradient de sucrose 20-40% (récupération de l'interface).
- Centrifugation en gradient de Percoll 30-40-50-60-70% (récupération des interfaces 50-60% et 60-70% où le parasite se trouve concentré)

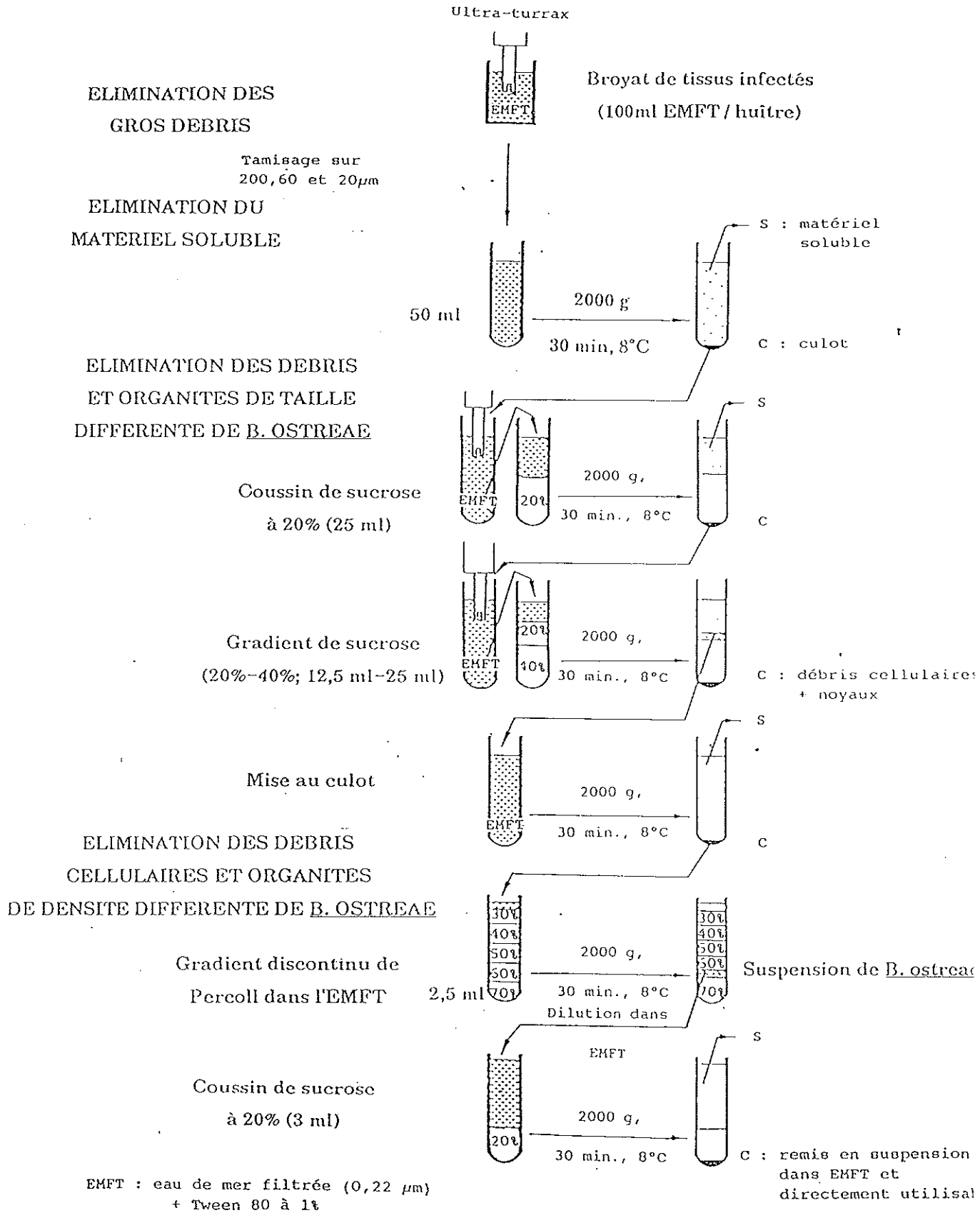
Rq : l'étape de centrifugation en gradient de sucrose 20-40% semble essentielle. En effet, il semble nécessaire de multiplier les tubes à cette étape pour obtenir des rendements de purification élevés.

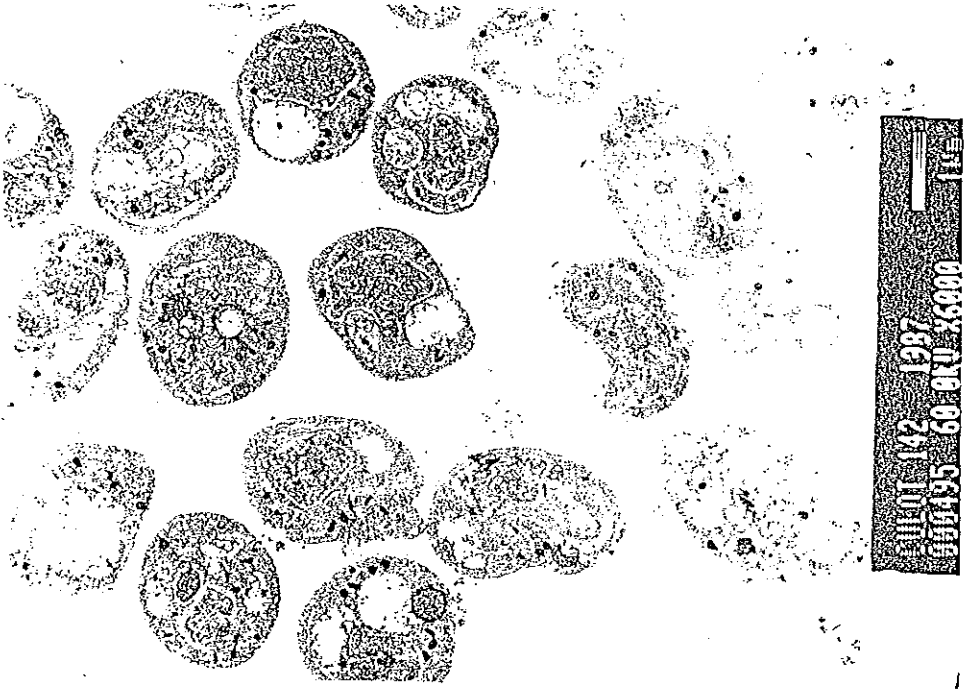
## I 3 - RENDEMENTS DE PURIFICATION

En moyenne de 300 à 500 millions de parasites par purification (4 à 6 animaux).

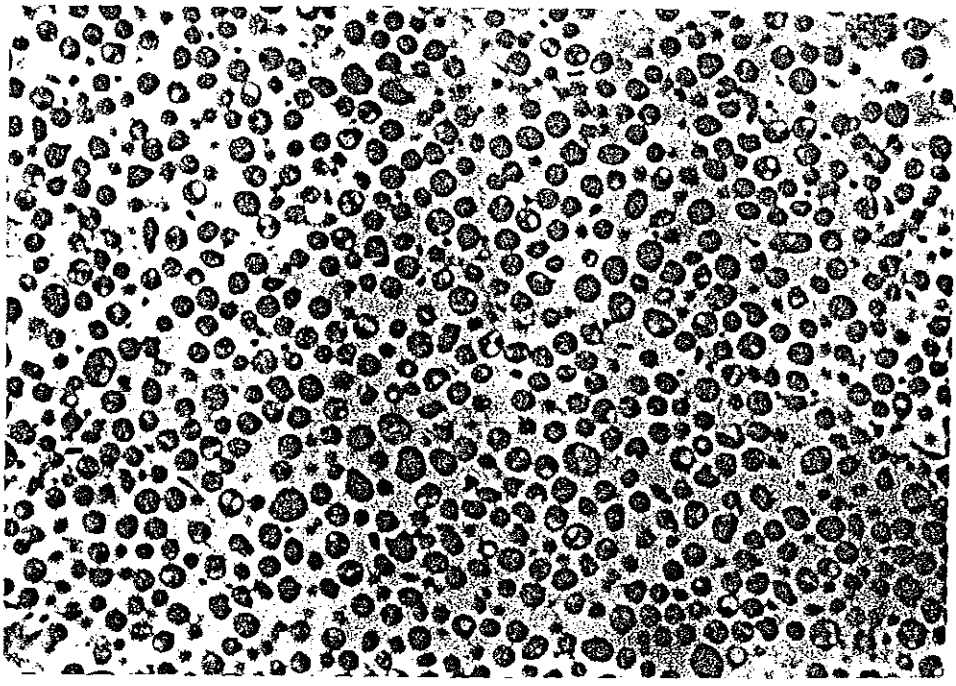
N.B. : RECORDS 1 MILLIARD 400 MILLIONS et 1 MILLIARD 200 MILLIONS.

PROTOCOLE OPTIMISE DE PURIFICATION DE B. OSTREAE DE O. EDULIS.





00037 010 09 541000  
2861 71 111111  
60-010-26000



## II - INOCULATION DU PARASITE PURIFIE POUR REPRODUCTION EXPERIMENTALE DE LA BONAMIOSE

### II 1 - ANESTHESIE DES ANIMAUX A INOCULER

Balnéation d'au moins 10 à 12 heures en eau de mer supplémentée de 6 à 7% de  $MgCl_2$ .

### II 2 - INOCULATION

#### *II 2 1 - Localisation de l'inoculum*

Inoculation dans la cavité péricardique. Cette inoculation est possible car l'huître est ouverte suite à l'anesthésie au  $MgCl_2$

#### *II 2 2 - Quantité de parasites inoculés*

200 000 à 400 000 parasites par animal en fonction de l'expérience.

- 200 000 à 250 000 parasites par animal pour pression de sélection dans le cadre du programme d'obtention d'animaux résistants au parasite.

- 300 000 à 400 000 parasites par animal pour entretenir des stocks d'animaux parasités.

#### *II 2 3 - Volume de l'inoculum*

50 $\mu$ l pour éviter de tuer l'animal en injectant de trop grands volumes dans son système circulatoire.

### II 3 - DEVELOPPEMENT D'UNE MALADIE EXPERIMENTALE POST-INOCULATION

Les animaux inoculés développent une bonamiose expérimentale entre un et trois mois suivant l'injection. Ce délai est fonction de la quantité de parasites inoculés, mais également fonction de l'individu.

Il est donc possible d'observer des lésions, des mortalités et de retrouver le parasite sur apposition de coeur suite à l'inoculation.



**Résultats des inoculations effectuées en 1992 sur la lignée  
1985 (génération F2).**

**Anne-Geneviève MARTIN et Yamama NACIRI**

**IFREMER, 12 rue des Résistants, 54 470 LA-TRINITE-SUR-MER  
IFREMER-URGE, BP 133, Ronce les Bains, 17 390 LA  
TREMBLADE**

# Résultats des inoculations effectuées en 1992 sur la lignée 1985 (génération F2).

## 1. Calendrier des opérations.

<b>Parents</b>	Génération F1 de la lignée 1985 ayant subi des pressions de sélection variables et du tout venant Quiberon servant de témoin.
<b>Naissain</b>	Production de Mars 1990.
<b>Mise en élevage</b>	En Bretagne en Juin 1990. Poches sur tables par -5m en Baie de Quiberon. Poche sur table, coeff. 90 en Rivière de Crac'h.
<b>Prégrossissement</b>	De Juin 90 à Décembre 91/Février 92. Fortes mortalités en été 1990. Survie fin 1991 : 20 à 40% selon les lots F2. 27 à 53% selon les lots témoins.
<b>Test</b>	Inoculation à La Tremblade en Janvier 1992. Suivi à La Tremblade en quarantaine (jusqu'en Novembre 92). Suivi en Baie de Quiberon (jusqu'à Septembre 1993).

## 2. Résultats du suivi à La Tremblade.

Quatre lots ont été inoculés et suivis en quarantaine pendant 41 semaines. Il s'agit :

100 individus de la génération F2 de la lignée 85.

100 individus d'un témoin Quiberon tout venant.

100 individus d'un témoin Méditerranée.

100 individus d'un témoin produit en éclosérie.

Les mortalités ont été relevées quotidiennement et les animaux morts analysés par l'URPIG quand l'état de décomposition le permettait. Une mortalité accidentelle est intervenue au cours du mois de Juin dans le bac des F2 inoculées, à la suite d'un nettoyage des canalisations à l'eau de Javel. Cette mortalité a été déduite des résultats présentés Figure 1 et Figure 2 quand les analyses sur les animaux morts l'ont permis. On ne peut cependant écarter l'hypothèse selon laquelle un certain nombre d'individus ont été affaiblis par le choc "eau de Javel" et sont morts alors qu'ils auraient résisté en temps normal.

*Mortalité cumulée.* Tous les individus morts et présentant du *Bonamia* à l'analyse pathologique ne sont pas pris en compte dans la figure 1. La seule différence significative (5%) se situe entre le témoin Quiberon d'une part et les trois autres lots. Sans stress dû à l'eau de Javel, on peut penser que la mortalité dans le lot F2 aurait été moins importante.

*Prévalence sur les survivants après 41 semaines.*

La génération F2 présente une prévalence moins importante que les autres lots. La différence la plus importante se situe entre F2 et témoin Quiberon.

Le stress "eau de Javel" rend toute analyse difficile (influence à long terme du stress, comparaison de lots d'effectifs très différents...). Cependant il semblerait que les huîtres de la génération F2 soient effectivement plus résistantes que les huîtres témoins, et que dans un certain nombre de cas elles soient capables d'éradiquer la maladie.

### **3. Résultat du suivi en Baie de Quiberon.**

#### **3.1. Pendant la période de prégrossissement.**

*En Baie de Quiberon.*

Nature du lot	Juin 90 à Novembre 90	Juin 90 à Décembre 91	Taux de Bonamia
Témoin	37%	47%	1/50
F2 Paimpol	59%	74%	0/50
F2 Quiberon	48%	61%	1/50
F2 Inoculée	58%	64%	1/50

*En Rivière de Crac'h*

Nature du lot	Juin 90 à Novembre 90	Juin 90 à Décembre 91	Taux de Bonamia
Témoin	48%	90%	20/50
F2 Morbihan	23%	83%	19/50

#### **3.2. Test terrain**

*En Baie de Quiberon*

Nature du lot	25 Février 1992	10 Août 1992	6 Avril 1992
Témoin	100	85	54
F2 Paimpol	100	95	85
F2 Quiberon	100	97	85
F2 Inoculée	100	86	62

La différence entre poche témoin d'une part et poches Paimpol et Quiberon d'autre part est significative au seuil de 1%. Elle ne l'est pas entre poche témoin et poche inoculée. Le test se poursuivra jusqu'en Septembre 1993, période à laquelle seront analysées toutes les huîtres survivantes.

Rivière de Crac'h

Nature du lot	18 Mars 1992	20 Mars 1992	4 Mai 1992	Mortalité
Témoin inoculé	66	64	38	41
Témoin non-inoculé	27	26	18	31
F2 Golfe Inoculée	89	83	57	31
F2 Golfe non-inoculé	106	102	74	27

Les huîtres survivantes ont été envoyées à La Tremblade en Mai 1992 pour être conservées comme géniteurs. Un traitement préalable contre *Polydora* leur a été donné (immersion dans de la saumure).

figure 1

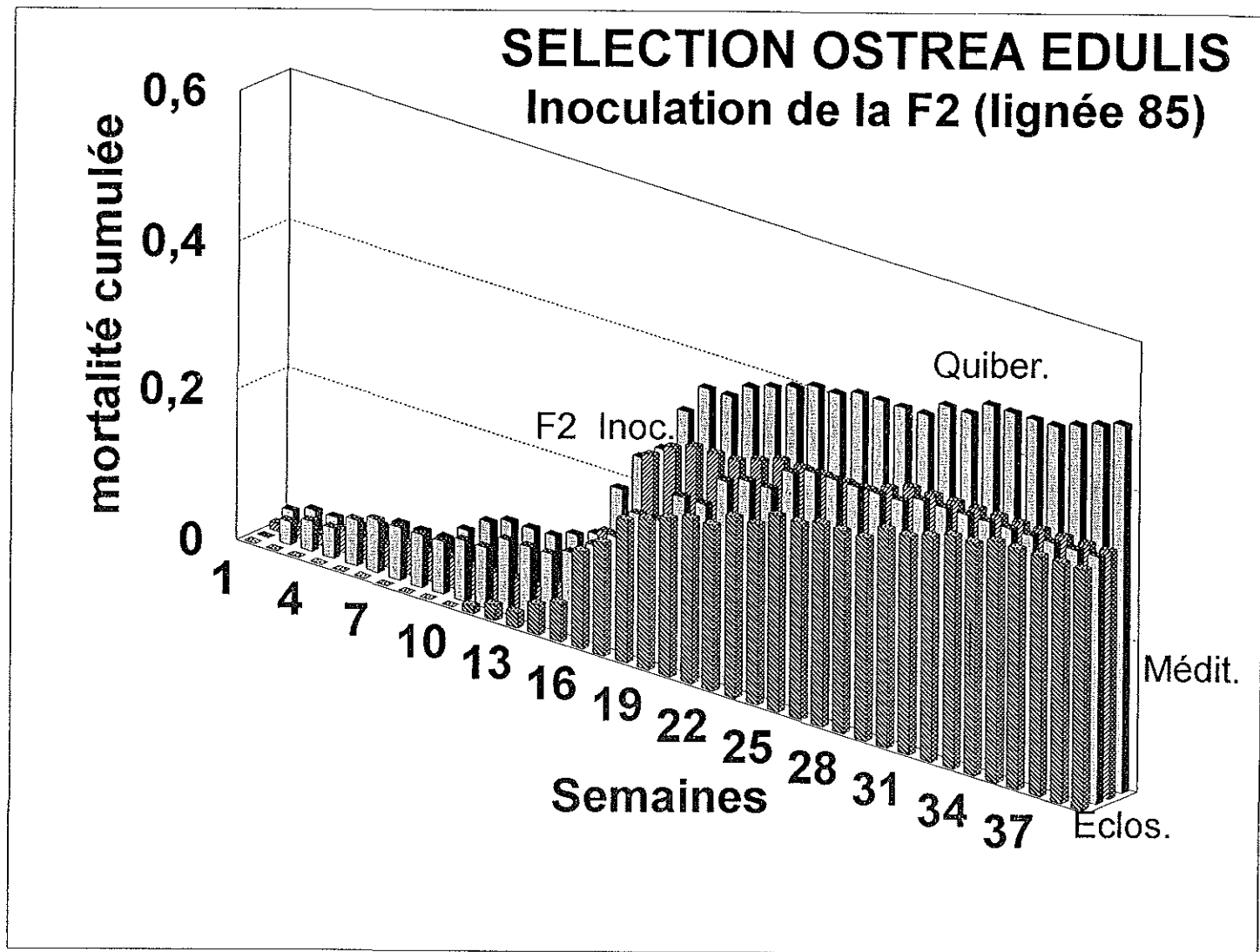
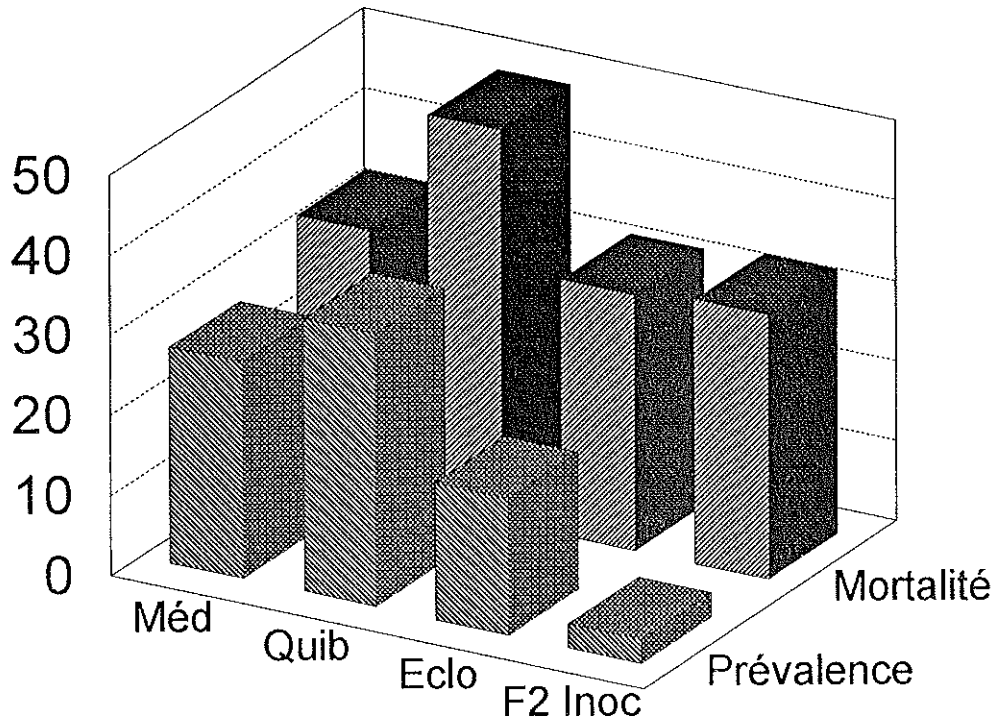


figure 2

## SELECTION OSTREA EDULIS

Inoculation de la F2 (lignée 85)



**Mise au point sur les problèmes rencontrés lors du  
prégrossissement des huîtres plates du programme résistance  
en 1992.**

**Jean-Pierre BAUD et Max NOURRY**

**IFREMER, Station de Bouin, Polder des Champs, 85 230  
BEAUVOIR-SUR-MER**

## Mise au point sur les problèmes rencontrés lors du prégrossissement des huîtres plates en 1992.

En premier lieu, il est utile de rappeler qu'il existe une plus ou moins grande sensibilité des espèces de coquillage d'intérêt commercial pour l'élevage et notamment pour le prégrossissement. Cette phase intensive est par expérience mieux supportée par les différentes espèces dans l'ordre décroissant suivant :

*Ruditapes philippinarum* > *Crassostrea gigas* > *Ostrea edulis* > *Ruditapes decussatus*

Le prégrossissement de l'huître plate demeure donc une opération délicate. Il s'est déroulé sur 50 jours entre le 12 Juin et le 1er Août 1992.

Au cours de cette période de prégrossissement estival, des mortalités sur différents lots sont apparues :

35 à 40% de mortalité sur le lot témoin PALAVAS au cours du mois de Juillet,

80 à 90% de mortalité sur le lot témoin QUIBERON du 23 Juillet au 1er Août.

Toutes les analyses effectuées par le laboratoire de pathologie de Ronces les Bains (URPIG) ont été négatives. On peut cependant émettre dès à présent quelques recommandations :

Eviter le prégrossissement de cette espèce en période estivale.

Eviter les trop fortes densités parfois utilisées pour réduire la croissance d'un lot.

Eviter les nettoyages, lavages et tamisages trop fréquents qui sont sources de stress.

Eviter de prégrossir cette espèce à des tailles trop importantes : en effet, la mortalité important pour le lot Quiberon en été 92 est intervenue sur des individus de 1.5 à 3 cm qui se sont avérés, après analyse, tous sexuellement matures.



**ANNEXE 4 : AUTRES PROGRAMMES**

**Résultats préliminaires du programme d'acclimatation de  
l'huître creuse *Crassostrea virginica*.**

**Jean-Pierre BAUD**

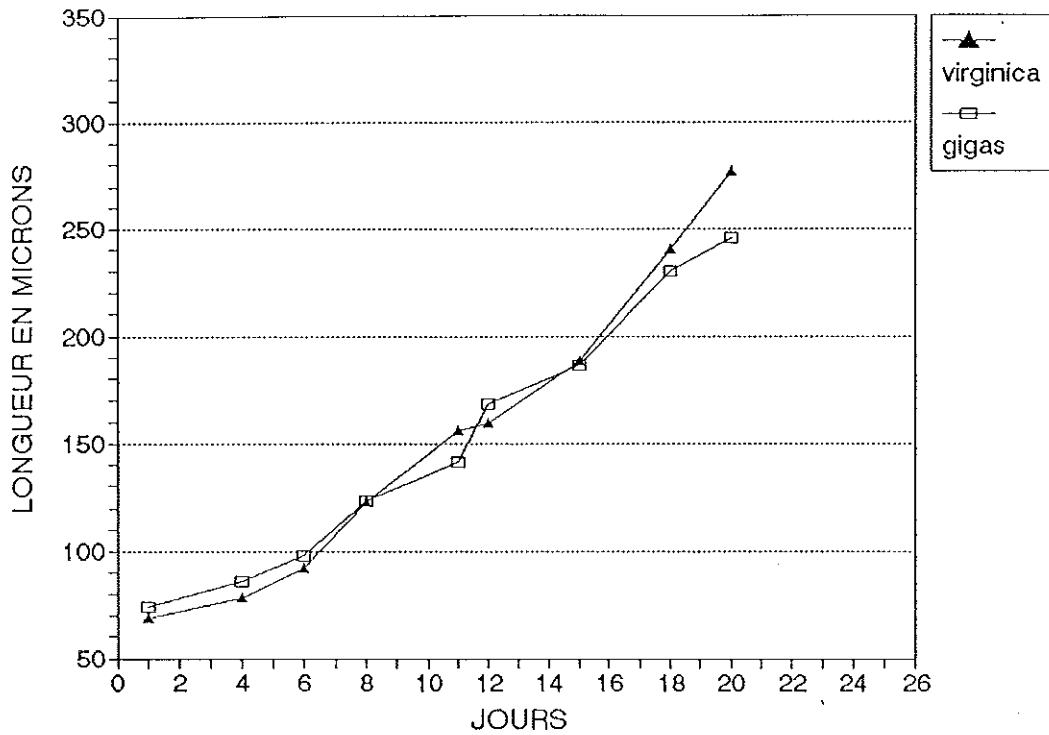
**IFREMER-Station de Bouin, Polder des Champs, 85 230  
BEAUVOIR-SUR-MER.**

## Présentation des résultats préliminaires du programme d'acclimatation de l'huître creuse *Crassostrea virginica*.

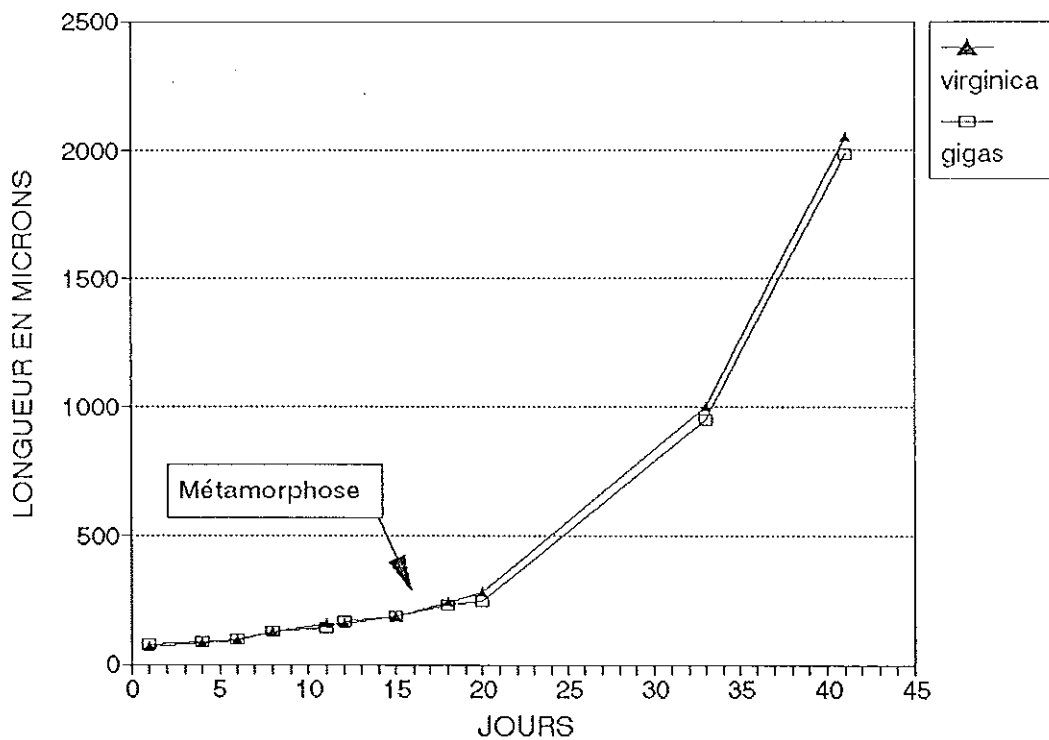
Le premier volet du programme d'acclimatation de l'huître américaine *Crassostrea virginica*, correspondant aux résultats obtenus pour l'année 1992, a été consacré à :

- l'importation selon les normes du CIEM d'un lot de 50 huîtres en provenance d'Angleterre,
- leur élevage en salle de quarantaine et leur conditionnement en vue d'une accélération de la maturation sexuelle,
- l'obtention d'une première génération, ainsi que son suivi en élevage larvaire et en micronurserie à l'URGE-La Tremblade,
- au contrôle des performances comparées des deux populations de *Crassostrea virginica* et de *C. gigas* en nurserie à l'URRA-Bouin pendant toute la période automnale et hivernale.

Au terme de cette première année d'étude, il apparaît que la croissance de *C. virginica* est similaire à celle de *C. gigas* aux stades larvaire et post-larvaire (Cf Figures 1 et 2). Par contre, la croissance de l'huître américaine cesse dès que la température de l'eau passe en dessous de 13°C, alors que l'huître japonaise continue de croître même en eau froide (Cf Figures 3 et 4, Tableaux 1 et 2). Par ailleurs, aucun problème pathologique n'a été relevé tout au long de l'étude sur *C. virginica*.



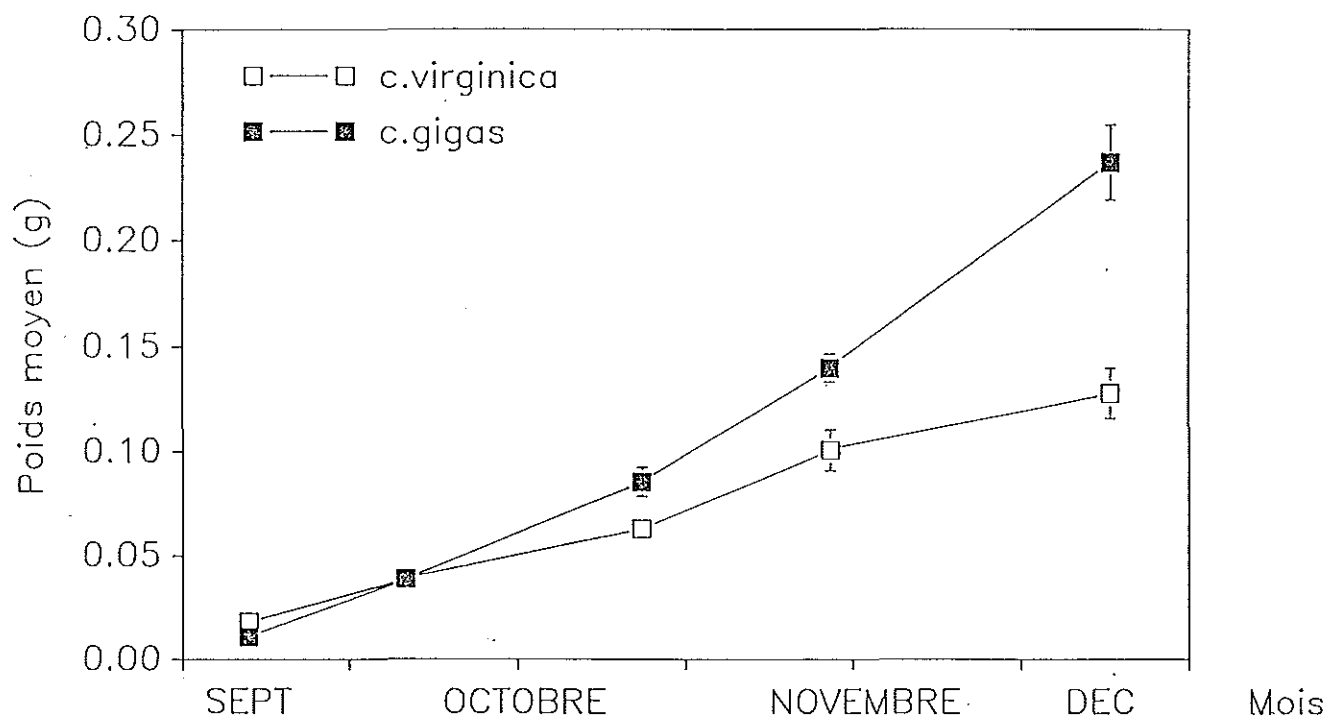
**Figure 1** : Evolution de la croissance larvaire dans les élevages de *Crassostrea gigas* et *Crassostrea virginica*



**Figure 2** : Evolution des croissances larvaire et post-larvaire dans les élevages de *Crassostrea gigas* et *Crassostrea virginica*

Classe de taille	<i>G. VIRGINICA</i>			<i>C. GIGAS</i>		
	Taille (mm)	Poids (g)	% Organique	Taille (mm)	Poids (g)	% organique
T2	5,3 (0,1)	0,035 (0,002)	5,06	4,5 (0,2)	0,024 (0,003)	-
T4	7,2 (0,2)	0,094 (0,014)	4,40	7,3 (0,2)	0,099 (0,008)	5,60
T6	10,1 (0,3)	0,220 (0,076)	4,00	9,4 (0,2)	0,183 (0,012)	5,45
T8	-	-	-	11,5 (0,3)	0,312 (0,015)	5,50
T10	-	-	-	15,1 (0,6)	0,573 (0,044)	5,84

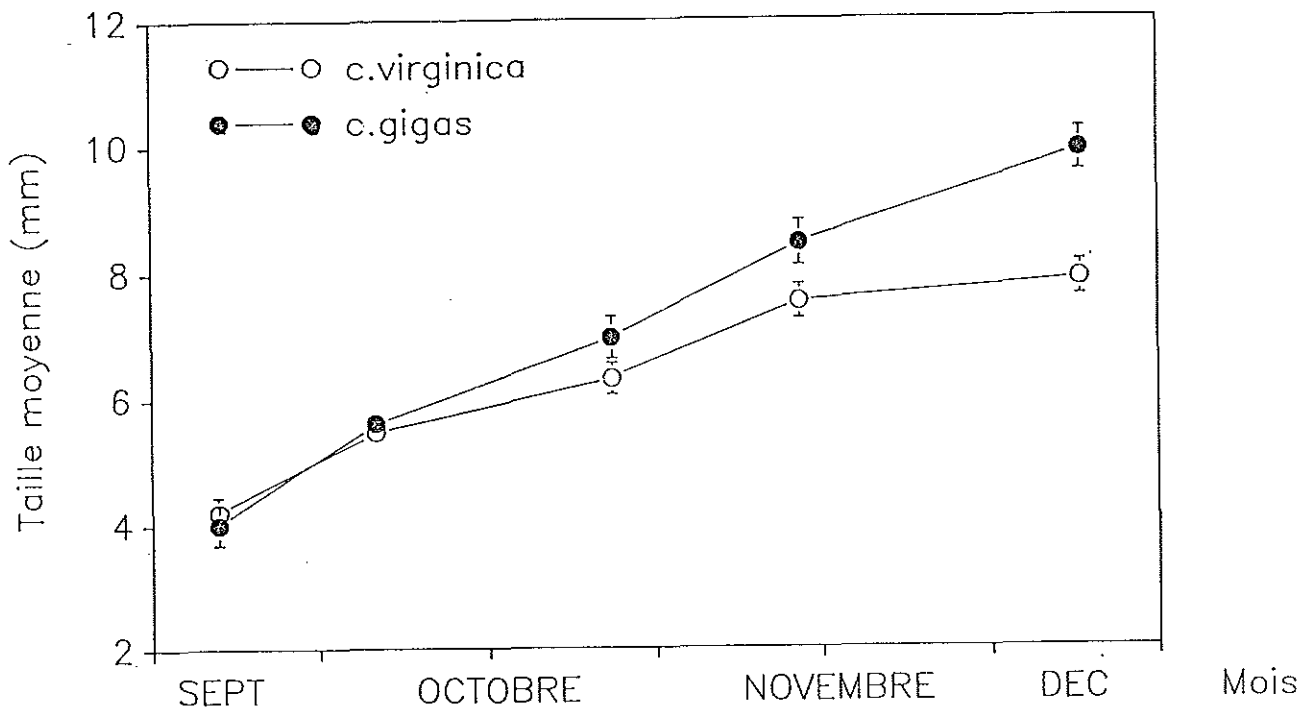
**Tableau 1** : Longueur moyenne, poids moyen et pourcentage de matière organique du naissain de *C. gigas* et *C. virginica* par classe de taille après tamisage. Entre parenthèse figure l'intervalle de confiance à 95% ( $2\sigma/\sqrt{n}$ ).



**Figure 3** : Evolution de la croissance exprimée en poids de coquille pour *C. virginica* et *C. gigas* au cours de la période de prégrossissement.

Période	Température °C	<i>C. virginica</i>	<i>C. gigas</i>
22/9 au 6/10	17,2 (0,4)	0,055	0,090
7/10 au 26/10	12,9 (0,2)	0,023	0,038
27/10 au 12/11	13,1 (0,1)	0,028	0,028
13/11 au 8/12	10,1 (0,6)	0,009	0,021

**Tableau 2** : Evolution du coefficient de croissance (G1) et de la température d'élevage pour *C. gigas* et *C. virginica* à différentes périodes du prégrossissement. Entre parenthèse figure l'écart-type de la température.



**Figure 4** : Evolution de la croissance exprimée en longueur de coquille pour *C. virginica* et *C. gigas* au cours de la période de prégrossissement.

**Analyse du déterminisme de la coloration de la coquille chez  
*Ruditapes philippinarum*.**

**Jean Marie PEIGNON**

**IFREMER-URGE, BP 133, Ronce les Bains, 17 390 LA  
TREMBLADE.**

# ANALYSE DU DETERMINISME DE LA COLORATION DE LA COQUILLE CHEZ *Ruditapes philippinarum*

## 1 - INTRODUCTION

La palourde japonaise présente un grand polymorphisme de couleur et d'ornementation de la coquille. Bien que ce polymorphisme soit connu depuis longtemps, aucune étude ayant pour objet son déterminisme n'a été effectuée.

Cette étude a pour but, hormis la connaissance fondamentale du déterminisme génétique de la coloration, de permettre de produire des lignées homozygotes pour la couleur, utiles au laboratoire.

Le choix des couleurs des palourdes, au moins pour les premières expériences, s'est fait selon deux critères, couleurs opposées ( blanc et foncé ) et identification rapide. Les palourdes blanches présentaient une bande postérieure foncée sur la valve gauche.

## 2 - PRESENTATION DES ESSAIS

Premier essai: croisement factoriel de 4 femelles et 4 mâles répartis en 2 blancs et 2 foncés pour chaque sexe, soit 16 croisements. Seuls 4 d'entre eux ont pu être menés à terme, ceux d'une femelle blanche avec chacun des 4 mâles.

Deuxième essai: deux croisements factoriels avec pour chacun 3 femelles et 3 mâles répartis en 2 blancs et 1 foncé. Sur les 18 croisements, 14 ont été viables.

Troisième essai: croisement d'une femelle et d'un mâle à coloration avec des vagues.

Quatrième essai: croisement d'une femelle à coloration avec des vagues avec un mâle blanc.

Les caractères de coloration seront notés de la manière suivante, blanc:"B", foncé:"F", vague:"V".

## 3 - RESULTATS

**1<sup>er</sup> résultat** : croisement d'une femelle blanche (B) avec 4 mâles, 2 B + 2 F.

Dans les croisements blanc x blanc, la descendance est blanche à 77,72% et 75,35%. L'analyse statistique par le test du  $\chi^2$ , comparaison du résultat obtenu à un résultat théorique de 3/4 de blanc et 1/4 de foncé valide les résultats. Les deux parents seraient hétérozygotes et le caractère blanc dominant sur le caractère foncé.

Dans les croisements blanc x foncé, la descendance est blanche à 54,46% et 53,16%. L'analyse statistique par le test du  $\chi^2$ , comparaison du résultat obtenu à un résultat théorique de 1/2 de blanc et 1/2 de foncé ne valide pas les résultats. Cependant il existe une forte présomption d'avoir une ségrégation de type 1/2 + 1/2. La femelle blanche serait hétérozygote avec B dominant, le mâle foncé homozygote avec F récessif.

**2<sup>ème</sup> résultat** : confirmation des hypothèses sur le déterminisme des caractères blanc et foncé.

Il n'est pas tenu compte de petites différences phénotypiques dans l'expression et l'analyse des résultats. De l'analyse statistique des résultats par le test de  $\chi^2$ , 10 croisements sur 14 présentent un résultat non significativement différent du résultat théorique attendu ( $\chi^2$  de 0,002 à 1,61, ddl=2). Ils vérifient donc les hypothèses selon lesquelles B est dominant et F est récessif.



Le tableau de croisement avec les résultats simplifiés permet l'analyse des génotypes parentaux.

Le croisement d'un individu blanc homozygote avec un foncé doit donner une descendance entièrement blanche, c'est le cas des mâles B4, B7 et B11. Le croisement d'un individu blanc hétérozygote avec un foncé doit donner 50% de blancs et 50% de foncés, c'est le cas des femelles B1, J2, B12 et du mâle J5. Le génotype de la femelle B9 ne peut être déterminé, le seul croisement viable avec le mâle B7 homozygote est insuffisant pour émettre une hypothèse.

L'essai précédent avait permis d'émettre l'hypothèse que le caractère foncé était récessif et les individus foncés homozygotes pour ce caractère. Cette seconde expérience valide l'hypothèse.

### **3<sup>ème</sup> résultat : Analyse du déterminisme du caractère vague.**

Le croisement Vague x Vague a donné 66,3% d'individus à coloration avec des vagues, 31,4% d'individus bigarrés et 2,3% d'individus à coquille lisse brun foncé. Ces deux derniers phénotypes sont nouveaux, rien ne laissant présager leur apparition. Ce rapport 2/3 + 1/3 obtenu ne correspond pas au schéma classique du croisement entre deux individus qui seraient hétérozygotes pour un caractère dominant et qui donnerait alors 3/4 d'un phénotype et 1/4 de l'autre.

On peut cependant émettre l'hypothèse de la dominance du caractère vague sur le bigarré qui sera noté Bi.

### **4<sup>ème</sup> résultat: croisement d'une femelle vague et d'un mâle blanc.**

En fondant l'hypothèse de l'hétérozygotie des géniteurs et en s'appuyant sur les résultats déjà obtenus, les allèles de la femelle vague sont V et Bi, les allèles du mâle Blanc sont B et F. La probabilité d'avoir chacun des allèles est de 1/2. Le croisement donne quatre doublets d'allèles possibles : VB VF BiB BiF .

La descendance (570 individus) est constituée de 4 phénotypes différents qui semblent correspondre chacun à un génotype théorique.

Vague affecté d'un albinisme partiel, et présentant une bande postérieure vague normale ( VB )

Vague comme la femelle ( VF )

Blanc à bande postérieure bigarrée ( BiB )

Bigarré avec présence d'une bande postérieure de coloration plus foncée que le fond ( BiF ).

L'analyse statistique par le test de  $\chi^2$  ne valide pas le résultat, mais la parité observée, proche de 1/4, permet d'émettre des hypothèses. V et B pourraient être codominants entre eux et dominants sur Bi et F, eux-même codominants entre eux.










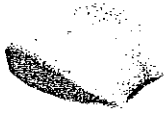








Alors que le caractère bigarré (Bi) est trouvé pur dans la descendance du croisement V x V, il reste modulé, ici, par le caractère F, apportant aux bigarrures un renforcement de la coloration en bande postérieure alors que F est le caractère récessif de B.








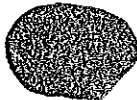




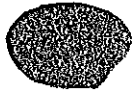

## **4 - CONCLUSION**

Ces résultats permettent d'émettre l'hypothèse que coloration et ornementation seraient contrôlées par deux gènes différents :

- . un gène d'ornementation à 2 allèles : blanc à bande postérieure pigmentée ou foncé entièrement pigmenté
- . un gène de coloration à n allèles.

Deuxième croisement : résultats et analyse des génotypes parentaux.

♀ \ ♂	B <sub>4</sub> 	J <sub>5</sub> 	F <sub>6</sub> 
B <sub>1</sub> 		75  25 	50  50 
J <sub>2</sub> 	100  *	75  25  *	50  50  *
F <sub>3</sub> 	100  *	50  50  *	

♀ \ ♂	B <sub>7</sub> 	F <sub>8</sub> 	B <sub>11</sub> 
B <sub>9</sub> 	100  *		
F <sub>10</sub> 	100 	100  *	100  *
B <sub>12</sub> 	100  *	50  50  *	100  *

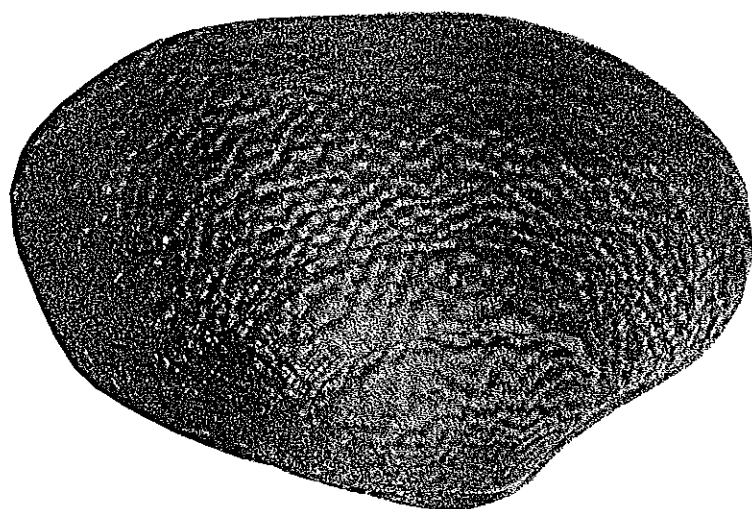
\* : résultat non significativement différent du résultat théorique calculé

Homozygotes : mâles B<sub>4</sub>, B<sub>7</sub>, B<sub>11</sub>

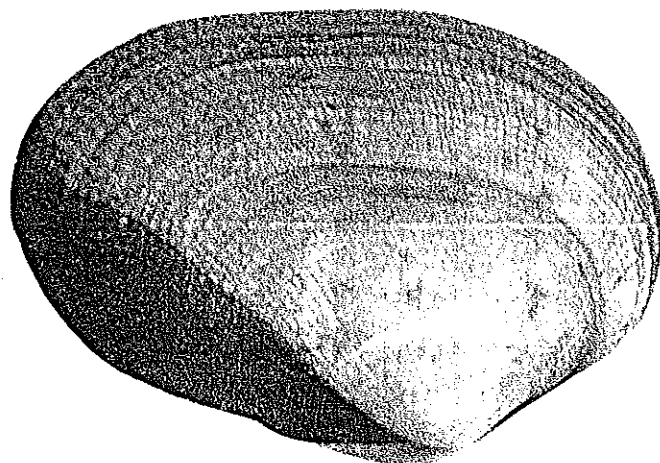
Hétérozygotes : mâles J<sub>5</sub>

femelle B<sub>1</sub>, J<sub>2</sub>, B<sub>12</sub>

Troisième croisement :  
mâle Wave X femelle Blanche



allèles : W + Bi



allèles : B + F

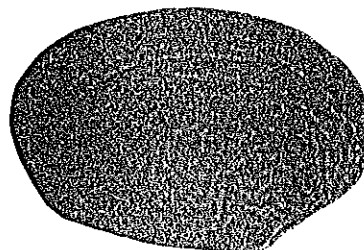
27,9 %

WB



24,2 %

WF



19,7 %

Bi B



28,2 %

Bi F

