

Contrat de projets Etat-Région Poitou-Charentes 2007 – 2013

Convention n° 08/RPC-A-29 du 19 mai 2008

Laboratoire Environnement-Ressources des Pertuis Charentais

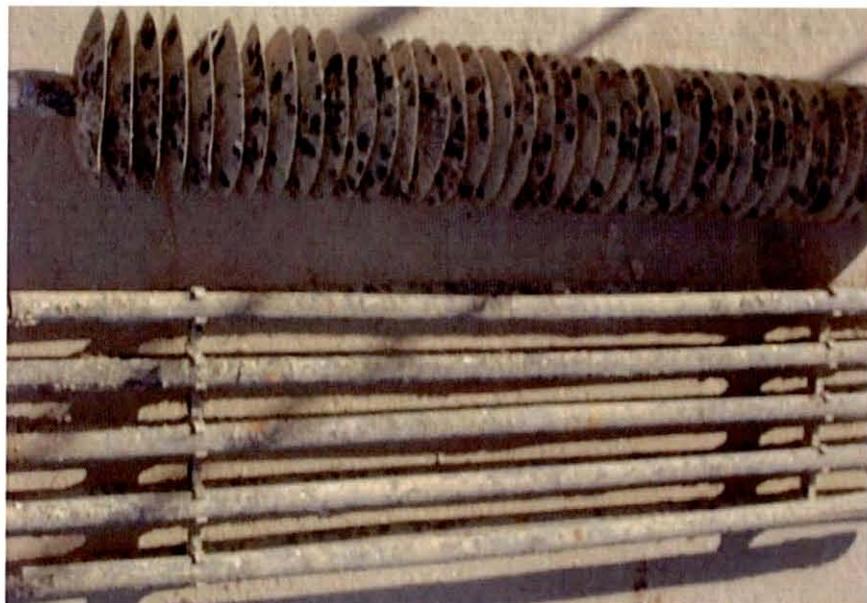
Projet

« Développement durable des Pertuis charentais »

Rapport d'avancement des travaux 2009-2010

**CAPRETAR : Etude comparative
des caractéristiques cytogénétiques
et des performances de survie de
naissains sauvages issus du
CAPtage PREcoce ou TARdif**

Auteur(s) **Abdellah BENABDELMOUNA, Issam
HEMISSI, Stéphane BODIN, Stéphane ROBERT,
Christophe LEDU, Philippe LAPORTE**



Février 2011

Remerciements :

Les travaux scientifiques présentés dans ce rapport ont été réalisés avec le soutien financier de la Région Poitou-Charentes et du Feder.

Ce travail n'a pu se faire sans la collaboration active et la disponibilité de :

- M. Gerald VIAUD, ostréiculteur, pour son aide précieuse concernant la réalisation des captages différentiels au niveau de ses concessions sur le secteur de la Seudre (Chaillevette).
- M. Philippe GABORIAU, ostréiculteur, pour son aide précieuse concernant la réalisation des captages différentiels au niveau de ses concessions sur le secteur centre du bassin de Marennes Oléron (site de la Mouclière).

Merci à Jean Luc Seugnet pour sa disponibilité pour les sorties en mer et aux membres de l'écloserie LGP de la Tremblade et de la nourricerie LGP de Bouin pour le soin accordé au maintien des différents cheptels.

Introduction

L'huître creuse du Pacifique *Crassostrea gigas*, mollusque bivalve marin, possède une large répartition géographique et montre un intérêt commercial très important. L'huître creuse *Crassostrea gigas* a été introduite en France à partir de 1966 et a finalement remplacé l'huître portugaise *Crassostrea angulata* à partir des années 1970 suite à deux maladies d'origine virale pour soutenir les exploitations ostréicoles. *C. gigas* est très importante d'un point de vue économique. Cette espèce constitue 95% de la production d'huître française, le reste correspondant à la production de l'huître plate *Ostrea edulis*, seule espèce endémique des côtes françaises. En 2003, la région Poitou-Charentes a produit 38000 tonnes d'huîtres creuses (CNC, 2004). Cette région fournissant aujourd'hui la plus grande part de l'approvisionnement français en naissain issu de captage naturel. Les zones de Moulière et Seudre sont traditionnellement réputées comme étant les meilleures des pertuis charentais pour la réalisation de la phase de captage naturel du naissain de l'huître creuse.

Les mortalités estivales de l'huître creuse, *C. gigas*, sont décrites depuis une vingtaine d'années en France mais également au Japon, en Corée, aux USA et en Australie. Ces phénomènes ont fait l'objet d'une étude pluridisciplinaire en France entre 2001 et 2006 (Défi MOREST). Toutefois, en 2008 et 2009, l'ostréiculture française a du faire face à deux épisodes de surmortalités particulièrement importantes (de 60 à 100%) des juvéniles d'huîtres creuses, *C. gigas*. différents facteurs pouvant être à l'origine du phénomène (facteurs environnementaux (température, nourriture), physiologiques (maturation), génétiques, présence d'agents infectieux. Des travaux antérieurs non publiés réalisés au sein d'Ifremer ont suggéré la présence d'un différentiel de survie chez les naissains issus d'un captage précoce comparativement à ceux issus d'un captage tardif. Une expérience réalisée en 2004-2005 (J. Mazurié, communication personnelle) a montré un avantage de survie des naissains précoces comparativement à ceux issus d'un captage tardif. Toutefois, aucune donnée objective ne permettait de déterminer l'origine de cette différence. Par ailleurs, le programme de surveillance nommée «biovigilance», mené par le Laboratoire de Génétique et de Pathologie (LGP Ifremer), basé sur la mesure régulière du niveau de ploïdie d'huîtres *C. gigas* dans les bassins conchylicoles, a permis d'établir une corrélation très significative entre le taux des anomalies génomiques, notamment la baisse de la taille du génome ou aneuploïdie ADN, et la mortalité : plus le taux d'aneuploïdie ADN d'un lot de naissains est élevé et plus ce lot présente une mortalité élevée. Ainsi, Benabdelmouna *et al* (2009), ont développé un modèle prédictif simple susceptible de montrer que le naissain dépassant une valeur seuil du taux d'anomalie génomique subit de la mortalité (100 % de létalité au-delà du seuil). L'ensemble de ces éléments nous a donc poussés à voir s'il existe une relation entre le moment de captage, le taux des anomalies génomiques (baisse de la taille du génome) et le potentiel de survie des naissains.

L'action de recherche CAPRETAR (**CA**ptage **PRE**coce ou **TAR**dif : 2009-2010) a donc été réalisée dans le cadre du Contrat de Plan Etat Région - Poitou Charentes (**CPER-PC** 2007-2013) développement durable des Pertuis Charentais. Cette action, s'inscrit dans le cadre d'un lien direct qui existerait entre la nature précoce/tardive d'un captage naturel et la qualité des naissains de l'huître creuse *C. gigas* qui en sont issus (qualité génétique : « R » résistante ou « S » sensible et qualité génomique : taux des aneuploïdies et des dommages à l'ADN). L'objectif de cette action vise à estimer durant l'année (2010) les performances relatives de survie de naissains issus d'un captage précoce ou tardif réalisé l'année précédente (2009). Les

résultats escomptés visent à répondre à diverses questions notamment celles concernant les différences, entre captage précoce et captage tardif,

- En terme de critères cytogénétiques (anomalies génomiques : variation de la taille du génome et cassures d'ADN)
- En termes de performances de survie.

Enfin, ces résultats escomptés permettront de fournir à la profession des informations exploitables afin de trouver des perspectives pour sortir des crises de surmortalité qui touchent les naissains de l'huître creuse *C. gigas*.

II. MATERIEL ET METHODES :

1. Echantillonnage du naissain :

L'approvisionnement en naissain d'huîtres creuses *C. gigas* s'est fait par le biais de captage naturel sur les collecteurs utilisés en Charente maritime (coupelles ou tubes) placés auparavant sur des tables surélevées en métal. Le captage naturel a été réalisé dans deux des principales zones de captage du pertuis charentais (Seudre et Moulière).

Afin de réaliser les deux types de captage dirigé (Précoce / Tardif), les mises sur sites (Seudre et Moulière) des capteurs ont été réalisées en deux temps :

- En juillet - août 2009 afin d'effectuer le captage dirigé des naissains précoces (**captage précoce**),
- En septembre 2009 afin d'effectuer le captage dirigé des naissains tardifs (**captage tardif**).

Juste après leur captage différentiel, les capteurs sont ramenés à la station Ifremer la Tremblade pour y être stockés dans des bassins dégorgeoirs alimentés en eau de mer non traitée et gardés jusqu'à leur analyse cryométrique et ensuite mise sur sites de testage.

2. Analyse de ploïdie en cytométrie en flux :

Site et type de captage	Nombre d'individus analysés
Moulière précoce	322
Seudre précoce	316
Moulière tardif	160
Seudre tardif	161

Tableau 1. Effectifs des individus analysés pour chaque lot

L'analyse du niveau de ploïdie et des anomalies génomiques est réalisée individuellement par cytométrie en flux sur un minimum de 160 naissains par lot (tableau 1). Afin d'estimer la qualité cytogénétique initiale des différents lots, cette analyse est réalisée avant le testage sur sites et cela en dehors de toute mortalité. Des fragments de tissus somatiques prélevés par biopsie branchiale (1mm² de tissu branchial) sont repris dans 1ml de tampon d'extraction d'ADN (cf. ci-dessous). L'extraction des noyaux peut être accélérée en effectuant des aspirations successives à l'aide d'une micropipette. La suspension obtenue est ensuite filtrée sur une maille de 30 µm et la solution de noyaux est récoltée dans un tube à analyse, puis 1 ml de tampon d'extraction d'ADN contenant le fluorochrome DAPI (10 µl/ml) et le témoin interne (2 µl/ml de TRBC, DNA reference calibrator, Coulter) est additionné à la suspension, pour obtenir au final, pour chaque échantillon, un tube contenant 2ml de tampon contenant le mélange des noyaux, colorés au DAPI, de l'échantillon à analyser et du témoin interne TRBC. Après une incubation de 15 min à 4°C à l'obscurité, permettant la coloration des noyaux par la DAPI, les niveaux de ploïdie des échantillons sont analysés par le cytomètre en flux Partec PAII.

Tampon d'extraction : contient pour 1 litre :

5g de chlorure de sodium (NaCl).

1 ml de Triton X-100 (C₃₄H₆₂O₁₁).

12.11g de Trizbase (C₄H₁₁NO₃ Tris[hydroxyméthyl]aminométhane).

1.07g de chlorure de magnésium hexahydraté (MgCl₂, 6H₂O).

Le pH est ajusté à 7 avec de l'acide chlorhydrique (HCl).

Pour compléter, de l'eau H₂O bi-distillée est rajoutée au contenu.

Solution DAPI :

La solution de DAPI est préparée à partir de 2 mg de DAPI dans 10 ml d'eau distillée stérilisée par filtration (0.22 µm). La solution obtenue est à conserver à -20 °C et à l'obscurité.

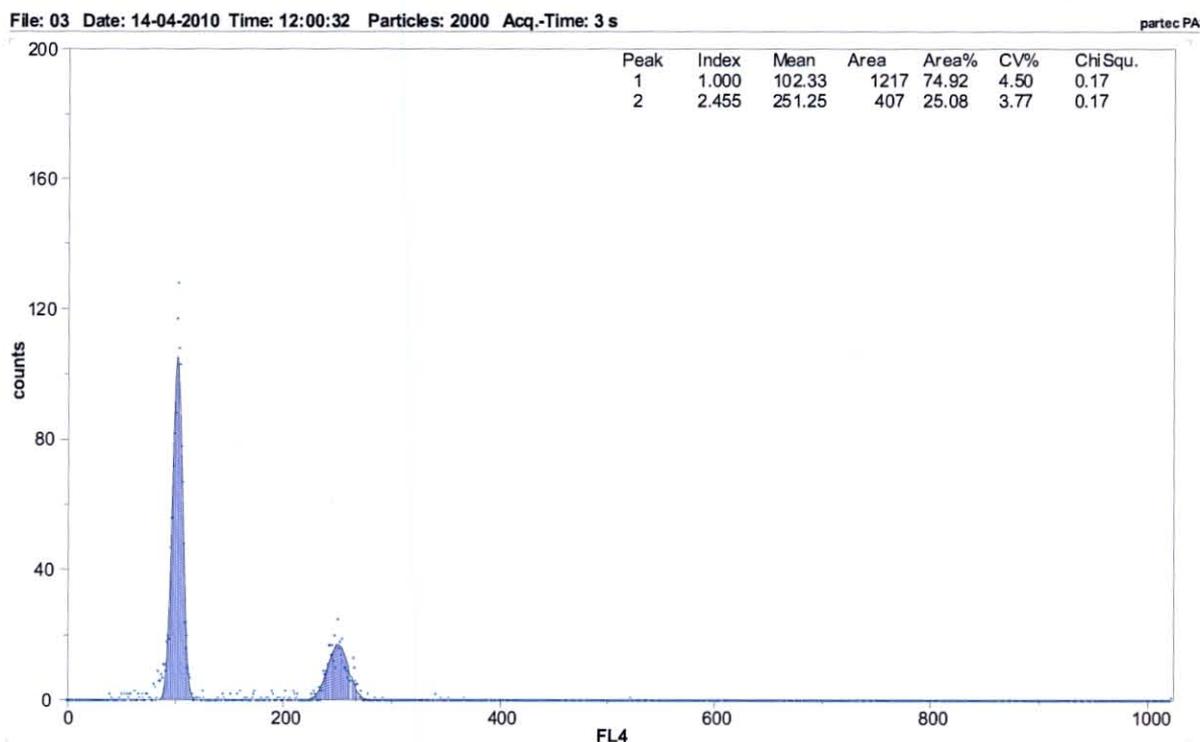
Le témoin interne :

Pour chaque tube, ajouter 2 µl/ml de TRBC (Trout Red Blood Cells, DNA reference calibrator, Coulter)

Avant chaque analyse des échantillons, l'étalonnage du cytomètre est réalisé en passant un tube contenant 2ml d'eau bi-distillée et 4µl de témoin interne constitué par des érythrocytes de truite TRBC (Trout Red Blood Cells, DNA reference calibrator, Coulter). Pour garantir la fiabilité des analyses, un réglage de la valeur du CV (Coefficient de Variation) inférieure à 3% ainsi que le réglage du pic de fluorescence émise par le TRBC sur 250nm ont été effectués en vérifiant régulièrement l'alignement de la lampe. Pour chaque échantillon, au minimum 2000 noyaux sont analysés. L'analyse des échantillons et la représentation graphique des résultats sous forme de cytogrammes sont réalisées par le logiciel FloMax®.

Les résultats obtenus sont représentés sous forme d'histogrammes mono paramétriques. Il s'agit d'histogrammes de fréquence où l'axe des abscisses correspond aux valeurs du paramètre analysé (quantité de fluorescence émise par événement et distribuée le long des 1024 canaux de sortie) et l'axe des ordonnées correspond au nombre d'événements comptés. Le logiciel permet d'obtenir une distribution gaussienne de chaque pic.

Chaque échantillon est analysé individuellement et comparé au témoin interne TRBC. Un ratio est par la suite déterminé à partir de la position moyenne du ou des pic(s) de fluorescence émis par les cellules somatiques des échantillons divisé(s) par la position moyenne du pic de fluorescence du témoin interne TRBC. L'équipe de l'Ifremer La Tremblade a mis en évidence que les ratios moyens de fluorescence standardisés étaient de 0,4 chez les huîtres diploïdes, de 0,6 pour les huîtres triploïdes et de 0,8 pour les huîtres tétraploïdes.



Histogramme caractéristique d'un animal diploïde (ratio = 0.4)

3 Analyse des données :

Les données ont été analysées en utilisant le logiciel XLSTAT pour les traitements statistiques et box plots. Les représentations graphiques des données après traitement statistique sous forme de « Box plot » donnent des indications sur la tendance centrale des valeurs, leur variabilité, la symétrie de la distribution et la présence de valeurs atypiques. Il existe plusieurs possibilités de représentation du « box plot ». Le logiciel XLSTAT utilise la forme suivante :

- Le premier quartile Q1 correspond au bord inférieur de la boîte,
- La médiane Q2 correspond à un trait noir,
- La moyenne correspond à un trait rouge,
- Le troisième quartile Q3 correspond au bord supérieur de la boîte.

· Deux intervalles sont définis de part et d'autre des premier et troisième quartiles :

$$\cdot IQ1 = [Q1 - 1,5 \times (Q3 - Q1) , Q1]$$

$$\cdot IQ3 = [Q3, Q3 + 1,5 \times (Q3 - Q1)]$$

La moustache inférieure du box plot s'étend de Q1 jusqu'à la valeur la plus proche de la borne inférieure de IQ1, en restant à l'intérieur de IQ1,

La moustache supérieure du box plot s'étend de Q3 jusqu'à la valeur la plus proche de la borne supérieure de IQ3, en restant à l'intérieur de IQ3,

Les valeurs en deçà de la moustache inférieure et au delà de la moustache supérieure sont représentées individuellement par des cercles. Ces cercles sont pleins lorsque les valeurs sont au delà de 3 fois l'écart interquartile ($Q3 - Q1$), et vides s'ils sont situés à l'intérieur de cet intervalle.

4 Calcul du taux d'aneuploïdie :

Le taux d'aneuploïdie est calculé à partir des ratios de fluorescence de tous les échantillons analysés, en le définissant comme le pourcentage d'individus aneuploïdes ayant un ratio inférieur à 0.38 (0.38 étant considéré comme étant la valeur limite inférieure des individus diploïdes). Les différences des taux d'aneuploïdes ADN ont enfin été analysées en utilisant le test non paramétrique de comparaison de k échantillons indépendants de Kruskal-Wallis.

5 Suivi des performances de survie sur les différents sites de testages : estran et écloserie

Les différents lots de captage ont été testés sur le site d'Agnas. Chaque lot est représenté par deux poches ostréicoles contenant chacune 200 naissains. Quatre lots ont donc été mis sur estran au début du mois d'avril 2010. Les comptages des mortalités ont été faits de façon régulière depuis la mise sur site jusqu'à la fin des mortalités.

6 Analyse cytométrique des naissains survivants

Les naissains survivants de chaque lot ont finalement été rapatriés au laboratoire courant du mois d'octobre 2010 afin de subir des analyses cytométriques destinés à établir leur statut cytogénétique final post mortalité.

III. RESULTATS :

1. Analyse cytométrique des naissains de captage naturel : qualité cytogénétique initiale des naissains

Zone de captage Moulière :

Captage	Individus analysés	Ratio Max	Ratio Min	Ratio Moyen	Ecart type	Taux d'aneuploïdie
Moulière précoce	322	0,429	0,370	0,408	0,008	0.9 %
Moulière tardif	160	0,423	0,296	0,395	0,019	15 %

Tableau 3. Données obtenues au sein de la zone de captage Moulière.

Sur le site de captage de la Moulière, les ratios de fluorescence observés sont compris entre 0,296 et 0,429 (tableau 3). Les taux d'aneuploïdie observés sur les naissains issus de captage naturel sur ce site varient entre 0.9 % (captage précoce) et 15 % (captage tardif). Il apparaît donc que les lots de captage précoce présentent des taux d'aneuploïdie ADN significativement faibles contrairement au taux d'aneuploïdie ADN plus important observé dans les lots de captage tardif (p value < 0.0001, $\alpha = 0.05$).

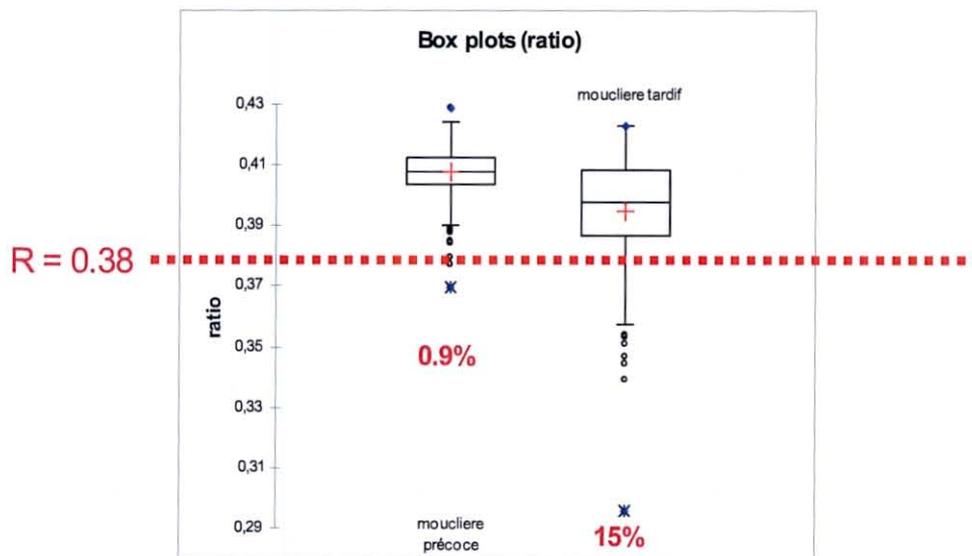


Figure 1. Distribution des ratios de fluorescence au sein du captage dirigé réalisé dans la zone de la Moulière.

Zone de captage Seudre :

Captage	individus analysés	Ratio max	Ratio min	Ratio moyen	écart type	Taux d'aneuploïdie
Seudre précoce	316	0,430	0,382	0,409	0,007	0 %
Seudre tardif	161	0,424	0,330	0,399	0,016	12 %

Tableau 4. Données obtenues au sein de la zone de captage Seudre.

Pour le site de captage de la Seudre, les ratios de fluorescence observés sont compris entre 0,330 et 0,438 (**tableau 4**). Les taux d'aneuploïdie ADN observés sur les naissains issus de captage naturel sur ce site varient entre 0 % pour le captage précoce à 12 % pour le captage tardif.

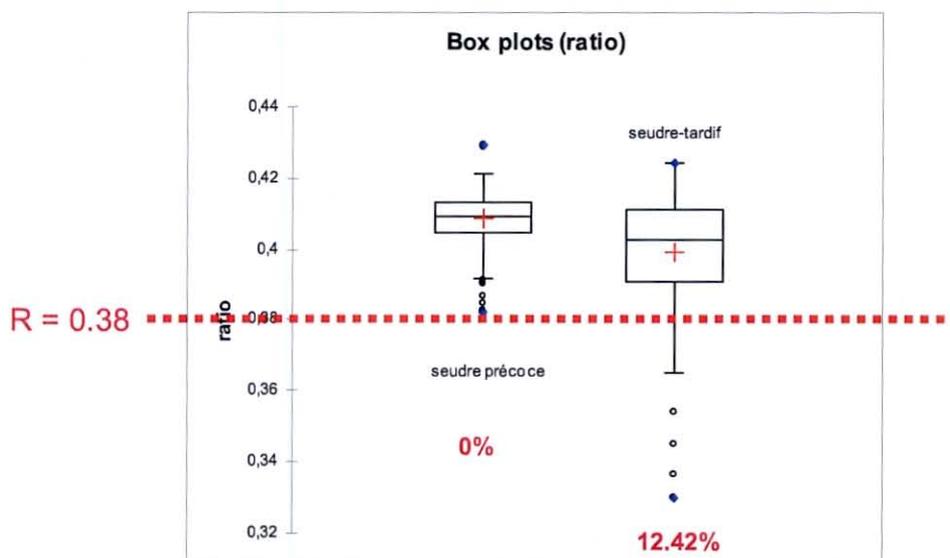


Figure 2. Distribution des ratios de fluorescence au sein du captage dirigé réalisé dans la zone de la Seudre.

L'analyse statistique des ratios correspondants aux fractions précoce/tardive du captage réalisé dans le site de la Seudre montre une différence très significative entre ces deux types de captages : test non paramétrique de comparaison de k échantillons indépendants de Kruskal-Wallis (p-value < 0,0001 donc < à alpha = 0,05)

2 Suivi du taux de mortalité au niveau de l'estran :

Un premier bilan de mortalité est effectué jusqu'au début juin, le point T0 est fixé à la date du premier comptage le 27 avril. Jusqu'à la date du 03 juin, des mortalités ont été observées sur tous les lots quelque soit le captage, mais à des taux faibles correspondant au début des mortalités. Cependant, il faut noter que la tendance croissante des mortalités enregistrée au milieu du mois de mai sur la majorité des lots, coïncide avec une augmentation de la température de l'eau dépassant les 17°C. Par la suite, les mortalités ont été intenses et rapides pour atteindre un plateau constant jusqu'à la fin de la période de test.

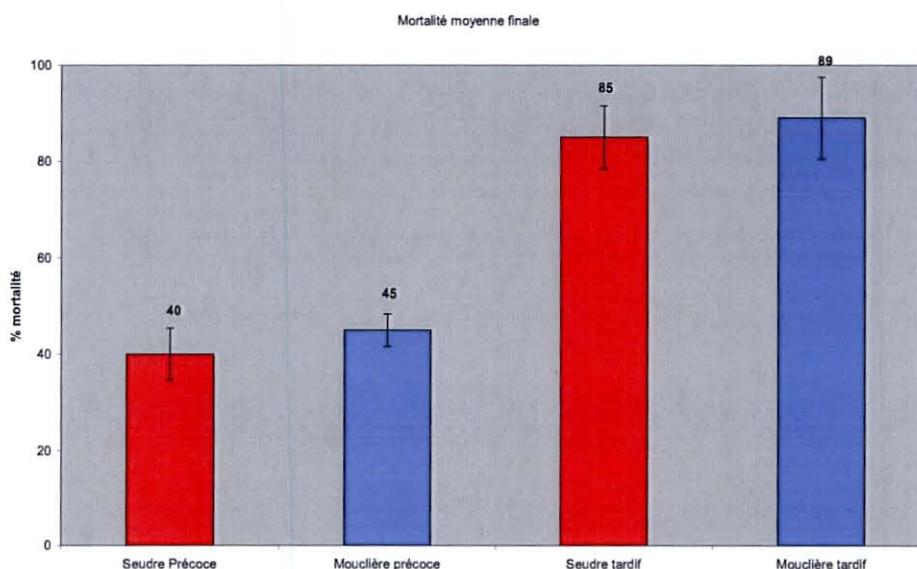


Figure 3. Mortalité cumulée moyenne observée pour les différents lots à la fin de la période de test.

Quelque soit la zone de captage (Moulière versus Seudre), les lots issus d'un captage précoce montrent un avantage net en ce qui concerne leur performance de survie comparés aux lots issus du captage tardif. Ainsi, les taux de mortalité cumulés sont seulement de 41 et 45 % pour les lots précoces de Seudre et de Moulière, respectivement, contre 84 et 89 % pour les lots tardifs de Seudre et Moulière, respectivement. L'analyse statistique montre que la différence de mortalité constatée est très significative.

3 Relation entre taux de mortalité et qualité cytogénétique initiale des lots

Cette relation a été déterminée en analysant les données cytométriques initiales ainsi que les données de mortalité moyenne finale des lots décrits ci-dessus en plus de deux lots témoins suivis dans les mêmes conditions de testage : les lots correspondants respectivement aux lots Arcachon et Fouras de l'observatoire conchylicole 2010.

Les données sont résumées dans le tableau suivant :

Lot	%ratio inf 0,38	% morta
Seudre précoce	0	40
Seudre tardif	12,42	85
Moulière précoce	0,9	45
Moulière tardif	15	89
Arcachon observatoire	6,3	72
Fouras (observatoire)	1,9	61,5

Tableau 5. Taux d'aneuploïdie ADN (ratio < 0.38) et mortalité finale moyenne des différents lots de naissains testés

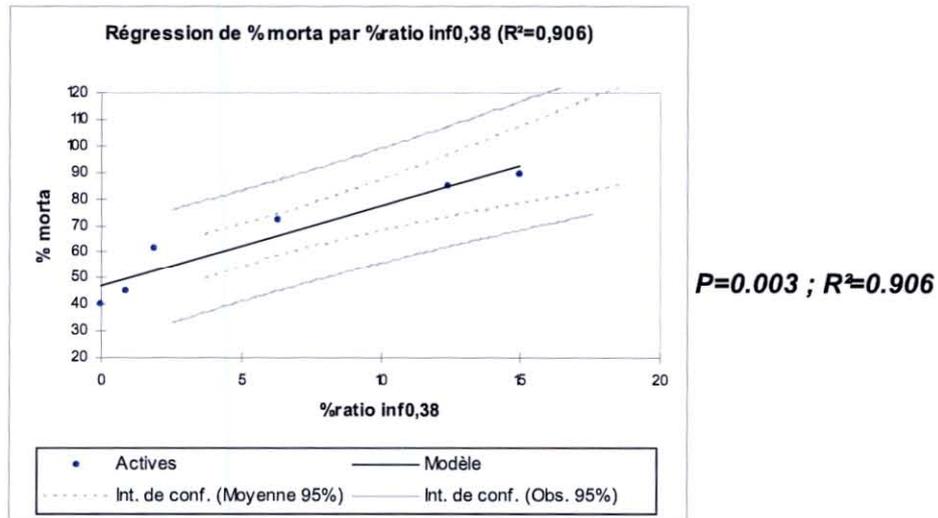


Figure 4. Evolution du taux final de mortalité en relation avec le pourcentage initial de naissains atteints d'aneuploïdie ADN.

Le taux final de mortalité présente une relation linéaire très significative avec la qualité cytogénétique initiale des naissains ($P=0.003 ; R^2=0.906$). Ainsi, la qualité cytogénétique initiale d'un lot donné, c à d le pourcentage de naissains de ce lot atteints d'aneuploïdie ADN (*i. e.* avec un ratio inférieur à 0.38) se révèle être un facteur prédictif très significatif de la mortalité finale de ce même lot.

4 Analyse cytométrique des naissains survivants à la mortalité

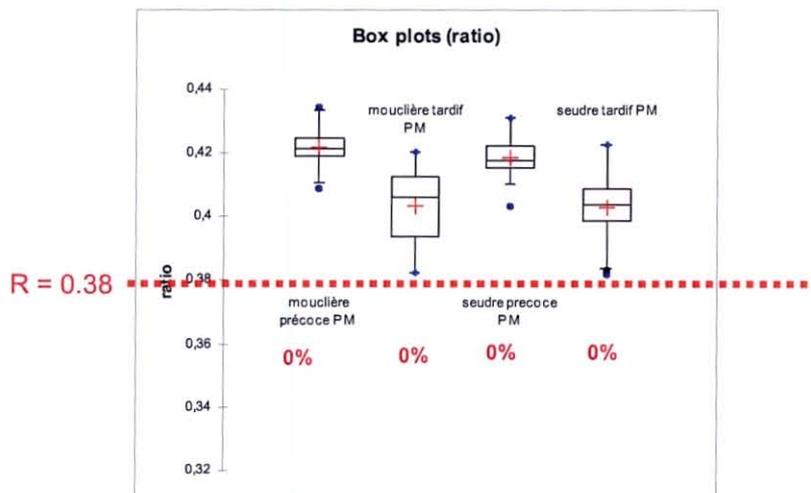


Figure 5. Distribution, **après mortalité**, des ratios de fluorescence au sein du captage dirigé réalisé dans les deux zones étudiées.

Les naissains survivants de chaque lot ont finalement été rapatriés au laboratoire à la fin des mortalités de l'année 2010 et ceci afin d'établir leur statut cytogénétique final post mortalité. A la différence des analyses pré mortalité qui ont montré des statuts cytogénétiques très contrastés entre captage précoce et captage tardif, les analyses cytométriques post-mortalité ne réalisées sur les naissains survivants ne montrent plus de différences en ce qui concerne le taux de naissains touchés par l'aneuploïdie ADN. En effet, après la mortalité, tous les lots étudiés, qu'ils soient issus d'un captage tardif ou d'un captage précoce, sont totalement dépourvus de naissains aneuploïdes.

IV Discussion et conclusion :

D'après nos résultats d'analyse cytométrique des naissains sauvages de captage naturel, les ratios de fluorescence obtenus durant cette étude sont caractéristiques de naissains soit diploïdes soit hypodiploïdes. Aucun naissain de type polyploïde, triploïde ou à *fortiori* tétraploïde, n'a été détecté. Ces résultats viennent conforter ceux des différentes campagnes Biovigilance étudiant le niveau de ploïdie des huîtres des bassins de captage de Marennes Oléron et Arcachon depuis 2005 et concluant à l'absence d'animaux polyploïdes, triploïdes ou tétraploïdes dans le captage des deux bassins. Cependant, dans les deux zones étudiées du bassin de Marennes Oléron, Moulière et Seudre, les naissains de captage sont caractérisés avant la mortalité par la présence d'individus ayant une taille du génome plus faible que la normale (dits aneuploïdes ADN avec un ratio inférieur à 0.38). Il apparaît donc que cette aneuploïdie ADN est un phénomène que l'on retrouve globalement dans les huîtres du Bassin de Marennes Oléron.

Nos résultats ont montré que cette aneuploïdie ADN, est présente dans tous les lots mais à des taux différents. Ils ont aussi montré que sur un site donné, des différences significatives existent entre les deux types de captage réalisés dans ce même site.

- Sur le site de la Moulière, le taux d'aneuploïdie ADN est plus faible pour le captage précoce comparativement au captage tardif.
- De même, sur le site de la Seudre, le taux d'aneuploïdie est plus élevé pour le captage tardif que pour le captage précoce.

Ainsi, d'une manière générale, sur un site donné, les analyses statistiques montrent que le taux d'aneuploïdie est toujours significativement plus élevé dans le captage tardif comparativement au captage précoce.

Le suivi de la mortalité sur le site de testage montre aussi un **net avantage en terme de survie pour le captage précoce** comparativement au captage tardif et cela quelque soit le site de captage. Ainsi, le captage précoce subit une mortalité finale moyenne de 42% alors que le captage tardif subit une mortalité finale deux fois plus intense atteignant plus de 80%.

La présente étude a permis aussi de démontrer qu'il existe une **corrélation très significative entre le taux initial d'aneuploïdie ADN d'un lot donné et son taux de mortalité finale**. Ceci confirme les résultats obtenus dans le programme biovigilance qui tendent à montrer le rôle significatif de la qualité cytogénétique initiale des naissains dans le phénomène de mortalité. Ainsi, l'aneuploïdie ADN est un facteur prédictif fort qui peut expliquer une grande partie du différentiel de mortalité des naissains. L'aneuploïdie ADN est vraisemblablement un facteur sub-létal qui traduit une fragilisation accrue des naissains qui en sont affectés et qui induit leur mort dès qu'un stress infectieux se manifeste. Ceci est renforcé par les résultats des analyses cytométriques réalisées post-mortalité sur les naissains survivants qui montrent une absence totale des naissains porteurs d'une aneuploïdie ADN. Tout se passerait donc comme si la mortalité touche d'abord et préférentiellement les naissains initialement porteurs d'aneuploïdie ADN (plus fragiles) pour n'épargner enfin que les naissains euploïdes les plus tolérants à la mortalité.

Les meilleures performances de survie observées en 2010 pour les lots issus d'un captage précoce, traduisant une plus grande tolérance à la mortalité de ces lots comparativement à des lots issus d'un captage tardif, pourraient s'expliquer par le fait que les naissains issus d'un captage précoce 2009 avaient déjà subi de plein fouet l'épisode de mortalité 2009 (les survivants s'en trouvent donc présélectionnés et débarrassés des naissains aneuploïdes) et ceci contrairement aux naissains issus du captage tardif 2009 qui sont eux restés pratiquement indemnes de ces mêmes mortalités 2009 et donc constitués d'une fraction notable de naissains aneuploïdes fragiles qui meurent en 2010.

Dans ce cas de figure, La mortalité sur capteurs durant l'année (n) toucherait préférentiellement les naissains les plus fragiles, *i.e.* les naissains aneuploïdes, ce qui aboutit à l'élimination préférentielle de ces naissains aneuploïdes des lots de captage précoce. De façon contraire, les lots de captage tardif, qui sont eux généralement indemnes ou peu touchés par la mortalité sur capteurs en année (n), se retrouvent toujours riches en naissains aneuploïdes fragiles. De façon conséquente, durant l'année suivante (n+1), les lots de naissains issus de captage précoce vont présenter de bonnes performances de survie (car ces lots sont débarrassés sur capteurs des naissains fragiles) alors que les lots de naissains issus du captage tardif vont présenter de mauvaises performances de survie (car ces lots sont toujours riches en naissains fragiles).

Ce travail montre les différences de performance de survie chez des lots de naissains en relation avec leur moment de captage (captage naturel précoce ou tardif) et leur qualité cytogénétique (taux d'aneuploïdie ADN). Ce travail montre aussi la relation qui existe entre le moment de captage et la qualité cytogénétique des naissains en ce sens que les naissains issus d'un captage précoce ont la meilleure qualité cytogénétique. De manière générale, les meilleurs lots en ce qui concerne les performances de survie au stade naissain étant ceux issus d'un captage précoce. Ce résultat plaide pour **une autre pratique du captage naturel** en France notamment **via la seule utilisation des naissains sauvages issus d'un captage précoce**. Cette démarche pourrait constituer une des voies de sortie possible afin de diminuer l'intensité de la mortalité en France. Nos résultats suggèrent aussi qu'**il ne faut pas utiliser les naissains issus d'un captage tardif car ils sont ceux qui montrent la plus mauvaise qualité cytogénétique et qui montrent aussi les performances de survie les plus basses**. Ceci pourrait expliquer totalement ou du moins en partie les crises de mortalité depuis 2009 sachant que les naissains utilisés durant ces années ont été des naissains issus de captage très tardifs.