

Programme : Aquaculture Durable
Projet : Observatoires, Analyse et Prévision des performances conchylicoles
Laboratoire de Génétique et de Pathologie, IFREMER la Tremblade

**Abdellah BENABDELMOUNA,
Tanguy GUYADER,
Florence D'AMICO,
Christian CANTIN,
James GRIZON,
Jean Luc SEUGNET**

**Niveau de ploïdie des naissains d'huître creuse captés
dans les bassins de Marennes Oléron et d'Arcachon.
Réseau Biovigilance, campagne 2010**



Niveau de ploïdie des naissains d'huître creuse captés dans les bassins de Marennes Oléron et d'Arcachon. Réseau Biovigilance, campagne 2010

Résumé :

Le réseau **biovigilance** a réalisé en 2010 la caractérisation du niveau de ploïdie des naissains captés en 2009 dans les deux principaux bassins de captage que sont Marennes Oléron et Arcachon. Les échantillons des naissains sauvages issus du captage naturel ont été prélevés sur 4 sites dans chaque bassin et pour un total analysé de 1379 animaux. En tenant compte de notre échantillonnage, nos résultats de suivi de ploïdie concluent à **l'absence d'animaux polyploïdes**, triploïdes ou tétraploïdes, captés dans les deux bassins prospectés.

Cependant, les deux bassins de captage prospectés sont caractérisés par la présence de naissains affectés de diverses **anomalies génomiques** : **cassures d'ADN** et **Aneuploïdie (hypodiploïdie) ADN** c à d une diminution de la taille du génome suite à la perte de matériel génétique par rapport au niveau diploïde. Comme en 2009, ces anomalies génomiques affectant les naissains de *C. gigas* ont été montrées en 2010 comme étant négativement corrélée avec le niveau de survie des naissains face à la mortalité pendant cette même année.

Dans le contexte des mortalités qui impactent lourdement les naissains de *C. gigas*, et compte tenu du fait que les deux bassins naisseurs étudiés sont à la base de la fourniture de pratiquement les trois quarts des naissains annuellement utilisés en France, l'occurrence de ces anomalies génomiques mises en évidence dans le cadre du réseau biovigilance devrait susciter un intérêt particulier sur leur causes ainsi que les moyens concertés à mettre en œuvre pour diminuer leur prévalence et cela notamment en relation avec la qualité du milieu marin au niveau de ces deux bassins.

SOMMAIRE

I.	INTRODUCTION	5
A.	Cadre de l'étude	5
B.	La ploïdie des huîtres	6
II.	MATERIEL ET METHODES	9
A.	Echantillonnage	9
B.	Analyse de ploïdie en cytométrie en flux	9
1)	Préparation des échantillons	9
2)	Analyses cytométriques	9
3)	Analyse statistique	10
III.	RESULTATS	11
1)	Bassin d'Arcachon	11
2)	Bassin de Marennes Oléron	12
3)	Comparaison des deux bassins	13
IV.	CONCLUSION	15
IV.	BIBLIOGRAPHIE	16
	ANNEXE : RESULTATS DE L'ANALYSE DE PLOÏDIE DES NAISSAINS 2010	18
	Marennes Oléron	18
	Arcachon	24
	Localisation des sites de captage analysés	31

I. Introduction

A. Cadre de l'étude

La mise en place du réseau « biovigilance » résulte des recommandations formulées dans le cadre de l'expertise indépendante demandée par le Comité Scientifique du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche concernant « l'effet d'un flux éventuel d'huîtres tétraploïdes dans les zones conchylicoles » (Chevassus au Louis, 1998). Au terme de ce travail de modélisation qui a constitué une pondération *à priori* du risque posé par l'échappement d'huîtres tétraploïdes, il avait alors été préconisé de réaliser une vérification *à posteriori* et cela au travers d'« une **biovigilance légère**, avec mesure régulière (tous les deux ans) du taux d'huîtres tétraploïdes dans les bassins conchylicoles ».

Actuellement, le « Réseau biovigilance » s'inscrit dans le cadre de l'action « Observatoire conchylicole » du projet Ifremer « Typologie et surveillance des systèmes de productions aquacoles » du programme « Aquaculture Durable ». Ce réseau a pour objectif la surveillance de l'apparition et de l'évolution de naissains polyploïdes dans les zones de production d'huîtres creuses. En effet, dans le contexte du développement de la production de naissain d'écloserie de type triploïde à partir de géniteurs tétraploïdes, ce réseau va fournir des informations sur l'apparition anormale d'huîtres polyploïdes « triploïdes ou tétraploïdes » dans les zones où un recrutement naturel des naissains sauvages se produit. Il s'agit ainsi de rester vigilant au risque potentiel d'apparition d'huîtres tétraploïdes et de leur reproduction non contrôlée dans le milieu.

La première étape de la construction de ce réseau a été mise en place par une convention passée entre les différents acteurs concernés par ce suivi de biovigilance (l'IFREMER, le Ministère de l'Agriculture, de la Pêche et des Affaires rurales (DPMA, Direction des Pêches, sous direction de l'Aquaculture), et le Syndicat Professionnel des Ecloseries et Nurseries de Coquillages, avec le soutien financier de l'IFOP), et ceci suite à un accord tripartite (Conseil National de la Conchyliculture, Ministère de l'Agriculture, de la Pêche et des Affaires rurales, et Ifremer) visant à :

- Rendre obligatoire la déclaration de tout échappement accidentel d'huîtres tétraploïdes.
- Maintenir en circuit contrôlé le stock français d'huîtres tétraploïdes au niveau des installations sécurisées gérées par Ifremer qui est seul habilité à détenir ce genre de cheptel polyplôïde.

La convention stipulait que deux campagnes de prélèvements seront réalisées à deux années d'intervalle dans un premier temps. Ces travaux ont ainsi été réalisés sur du naissain capté respectivement en 2001 et 2003 et détroqués puis analysés respectivement en 2003 et 2004. La remise d'un rapport aux différentes parties a clôturé cette convention (Cornette *et al.* 2004).

Suite à la demande du ministère de l'agriculture et de la pêche et selon les recommandations du Comité d'éthique et de précaution pour les applications de la recherche agronomique (COMEPR, octobre 2004), l'IFREMER a mis en place une surveillance annuelle des deux principales zones naturelles de captage d'huîtres en France (Arcachon et Marennes Oléron). Ainsi, depuis 2005, le suivi de la ploïdie du naissain dans les bassins de Marennes Oléron et d'Arcachon a été poursuivi (Benabdelmouna *et al.* 2005 ; Grouhel *et al.* 2006 ; Benabdelmouna *et al.* 2007 ; Benabdelmouna *et al.* 2008 ; Benabdelmouna *et al.* 2009) donnant lieu à des rapports annuels largement diffusés (DPMA, CNC, SRCs, SENC, centres IFREMER).

Enfin, dans le cadre du rapport sur « L'utilisation de naissain d'écloserie, en particulier triploïde, en ostréiculture : analyse des conséquences sanitaires, environnementales, génétiques et zootechniques », Chevassus au Louis et ses collaborateurs (2009) ont confirmé et même renforcé les conclusions du rapport de 1998, selon lesquelles l'hypothèse de prolifération incontrôlable de triploïdes et tétraploïdes dans les bassins conchylicoles était peu plausible. Les mêmes auteurs ont aussi conclu que, compte tenu des incertitudes inhérentes à tout phénomène biologique, il convenait toujours de maintenir le principe d'un suivi à pas de temps large (tous les deux ou trois ans) de la ploïdie des naissains. Toutefois, devant les attentes des diverses parties concernées, la surveillance réalisée dans le cadre du réseau biovigilance continue à se faire sur une base annuelle.

B. La ploïdie des huîtres

Chez l'huître creuse du Pacifique *Crassostrea gigas*, le nombre chromosomique de base constitutif du matériel génétique se compose de 10 paires de chromosomes ($x = 10$). A l'état **diploïde**, l'huître a donc 20 chromosomes ($2n = 2x = 20$ chromosomes). A côté de cet état diploïde, *C. gigas* peut être polyploïde : triploïde (spontanée ou induite) ou tétraploïde (induite). A l'état triploïde, *C. gigas* a donc 30 chromosomes ($2n = 3x = 30$) et enfin, à l'état tétraploïde, *C. gigas* en a 40 ($2n = 4x = 40$ chromosomes). Ces trois niveaux de ploïdie sont dits **euploïdes** car la multiplication touche l'ensemble des chromosomes constituant le set chromosomique de base. Quant seuls quelques chromosomes voient leur nombre varier (en gain comme en perte), l'état de ploïdie obtenu est appelé **aneuploïdie**. L'aneuploïdie peut apparaître de façon naturelle (vieillesse des géniteurs, instabilité génétique de la méiose) ou plus fréquemment suite à des stress chimiques qui s'opèrent lors des divisions cellulaires somatiques ou germinales (Krepinsky et Heddle 1983 ; Galloway 1994). Ainsi, à partir d'un individu **diploïde**, la perte d'un chromosome dans une cellule somatique est appelée **monosomie (nullisomie** au niveau des gamètes), alors que le gain d'un chromosome est appelé **trisomie (disomie** au niveau des gamètes). D'une façon générale, et chez tous les eucaryotes, les aneuploïdies touchant le compartiment somatique (cellules qui se divisent par des mitoses) sont très souvent à l'origine de dérèglements cellulaires et induisent le développement de divers cancers. Enfin, les aneuploïdies touchant le compartiment germinale (gamètes obtenus suite à des méioses) ont un impact plus important et sont à l'origine de morbidités précoces (avortements) ou de production d'une descendance peu viable et/ou lourdement handicapée (diverses trisomies et monosomies, bien connues même chez l'Homme).

Le milieu aquatique et notamment le milieu marin est bien souvent le point d'arrivée et de stockage de la plupart des déchets issus de l'activité humaine, industrielle, urbaine et agricole. Du fait de leurs caractéristiques propres (organismes filtreurs, mode de vie sessile et capacité de bioaccumulation), les mollusques marins, surtout les bivalves et les gastéropodes, sont très sensibles à ces stress chimiques et sont par conséquent très sujets à des anomalies génomiques qui se traduisent par une perte de matériel génétique (aberrations chromosomiques du type aneuploïdies) et/ou des dégâts structurels à l'ADN (cassures d'ADN). Ainsi, ces organismes ont été, et continuent à être, utilisés comme organismes sentinelles indicateurs d'une génotoxicité aquatique. Par conséquent, chez les bivalves, ces anomalies génomiques et notamment l'aneuploïdie sont observées notamment chez les moules et les huîtres vivants dans les milieux pollués qui subissent de forts et fréquents apports anthropiques notamment en substances chimiques (Alsabti et Kurelec. 1985 ; Elston *et al.* 1992 ; Lowcock *et al.* 1997 ; Bihari *et al.* 1999, 2003). De plus, chez l'huître creuse *C. gigas*, les animaux tolèrent un niveau assez élevé de variation de leur taille du génome (5 à 15 %) et peuvent posséder un certain pourcentage (en moyenne 10%) de cellules à $2n = 19, 18$ ou 17 chromosomes.

En cytogénétique quantitative, différentes méthodes ont été utilisées afin de quantifier les variations de taille des génomes. Historiquement, ces méthodes ont été basées sur des approches de caryologie classique tels le test micronoyaux et surtout les comptages chromosomiques après étalement de préparations métaphasiques. Ces méthodes classiques ont néanmoins comme principal désavantage d'être non seulement lourdes à mettre en œuvre en terme de technicité et de temps, mais surtout produisent des résultats assez peu fiables du fait des erreurs techniques artefactuelles qu'elles induisent. En effet, les diverses méthodes d'étalement chromosomique sont bien connues pour être peu fiables afin de vérifier, à haut débit, la ploïdie (et surtout l'aneuploïdie) du fait des mélanges des métaphases et des cassures et échanges de bras chromosomiques qu'elles induisent de façon non négligeable. C'est d'ailleurs pour cette même raison, à titre d'exemple en cytogénétique clinique humaine, la caryologie est considérée comme suffisante pour confirmer un état euploïde mais tout diagnostic d'aneuploïdie (trisomie 21 par exemple) doit être systématiquement vérifié par une autre méthode comme par exemple l'hybridation *in situ* fluorescente (FISH) sur noyaux interphasiques utilisant une sonde spécifique du chromosome mis en cause (chromosome 21 dans ce cas). A partir de la fin des années 1980, d'autres méthodes de cytogénétique quantitatives plus rapides et surtout plus fiables ont été mises au point.

- La première méthode est une technique utilisant la densitométrie après analyse d'image de noyaux colorés (par exemple Feulgen). Cette technique est basée sur une détermination stœchiométrique de la taille d'ADN après étalement des noyaux fixés sur une lame de microscopie, coloration et détermination de la densité optique de chaque noyau. Cette technique de mesure de la ploïdie et de la taille des génomes reste, malgré sa lourdeur de mise en route, particulièrement la mieux adaptée à l'étude des matériels archivés et/ou disponibles à très petite quantité.
- La deuxième technique est la cytométrie en flux basée sur la mesure de fluorescence émise (DAPI ou IP) et l'utilisation de témoins internes biologiques. Cette technique est actuellement la méthode de référence en cytogénétique quantitative et elle reste particulièrement adaptée aux matériels vivants et

facilement disponibles. Ainsi, de part sa rapidité et sa fiabilité, la cytométrie en flux a été très tôt utilisée afin de déterminer les tailles et niveaux de ploïdie de la plupart des organismes vivants (<http://www.genomesize.com/>; <http://data.keew.org/cvalues/>) mais aussi afin de démontrer et de mesurer les effets aneugènes (induisant des aneuploïdies) et clastogènes (induisant des cassures chromosomiques) causés par les contaminants environnementaux, chimiques comme radioactifs (Deaven 1982 ; McBee et Bickham 1988 ; Bickham *et al.* 1988 ; Bickham 1990 ; Lamb *et al.* 1991, Fernandez *et al.* 1993). Chez les invertébrés marins, la cytométrie en flux est largement utilisée afin de mettre en évidence les anomalies de ploïdie (aneuploïdie, polyploïdie, et cassure d'ADN) notamment chez les moules élevées dans des sites plus ou moins pollués (Dixon 1982 ; Alsabti et Kurelec. 1985 ; Elston *et al.* 1992 ; Bihari *et al.* 2003 ; Baršien *et al.* 2005).

La cytométrie en flux repose sur le principe de la mesure de la fluorescence émise par les noyaux, préalablement individualisés et marqués, défilant un par un grâce à un système fluidique devant un système optique chargé d'exciter le marquage et de récolter la fluorescence émise. Un logiciel informatique est placé en aval pour contrôler l'ensemble, convertir les signaux récoltés et les présenter sous forme d'histogrammes, ou cytogrammes, dont les pics sont des courbes Gaussiennes qui correspondent aux noyaux qui se trouvent dans les différentes phases du cycle cellulaire. Classiquement un histogramme comprend 2000 à 20000 noyaux analysés et, pour un échantillon diploïde, présente deux pics séparés par une ligne de base plus au moins haute. Le premier pic, caractérisé par une valeur donnée du canal de sortie, correspond aux noyaux se trouvant en phase G1 du cycle cellulaire et ayant une quantité 2C d'ADN. C'est ce pic de référence utilisé pour déterminer la taille du génome, et de façon indirecte le niveau de ploïdie, de l'échantillon. Le deuxième pic, beaucoup plus discret et dont la valeur du canal de sortie est le double de celle correspondant au pic G1, correspond aux noyaux se trouvant en phases G2/M et ayant une quantité double d'ADN (4C). Ces deux pics sont séparés par une ligne de base qui correspond aux noyaux se trouvant en phase de synthèse (S) et ayant une quantité d'ADN variable intermédiaire entre 2C et 4C. Cette ligne de base s'étale entre les deux canaux de sortie respectifs aux pics G1 et G2/M. Les fluorochromes les plus utilisés en cytométrie en flux sont :

* Le Bis-benzimide Hoechst (excitation : 365 nm, émission : 455 nm). Le Hoechst 33342 et le Hoechst 33258 sont excitables dans l'ultraviolet. Ils sont spécifiques des liaisons A-T, peu coûteux et le marquage est très rapide (30 secondes).

* Le **DAPI** (4', 6-diamino-2-phenylindole). Ce fluorochrome possède les mêmes qualités que le Hoechst mais il résiste mieux au photoquenching. C'est donc ce fluorochrome qui sera utilisé dans notre étude.

* La mithramycine et la chromomycine A3 (excitation: 450 nm, émission: 560 nm). Ce sont deux fluorochromes spécifiques aux liaisons G-C qui requièrent un marquage de 30 minutes et qui sont en plus hautement toxiques.

* L'iodure de propidium (excitation : 493 nm, émission : 639 nm) et le bromure d'éthidium (excitation : 482 nm, émission : 616 nm). Ce sont deux fluorochromes intercalants qui sont donc non spécifiques au type de liaison et dont l'emploi est plutôt réservé aux appareils de cytométrie équipés en excitation laser.

La cytométrie en flux impose des précautions méthodologiques qui doivent être **impérativement** respectées afin que les résultats obtenus ne soient pas artéfactuels en reflétant des variations propres à l'appareil utilisé et/ou aux erreurs inter journalières de préparation des échantillons. La première de ces précautions est l'utilisation systématique d'un **témoin interne biologique** dont la taille du génome permet de bien identifier celle de l'échantillon à analyser. La deuxième des précautions est de ne considérer comme valables pour une interprétation ultérieure que les données qui ont été obtenues lors des analyses durant lesquelles le coefficient de variation (largeur à mi hauteur (finesse) du pic, ou **CV %**) du témoin interne ne dépasse pas 3%. La valeur du CV % du témoin interne est très importante car, selon le standard international, au delà de la valeur fixée à 3, l'analyse se fait dans des conditions inacceptables et le pic du témoin interne n'est plus à considérer comme une référence acceptable pour l'échantillon. Une fois ces précautions prises, les résultats classiques d'une analyse cytométrique peuvent être exploités en analysant deux données particulièrement intéressantes :

- le **CV%** du pic échantillon : Cette valeur, examinée en premier, est caractéristique de l'intégrité de l'ADN et de la bonne préparation de l'échantillon. Ainsi, plus la valeur de ce CV% est basse, plus fin est le pic et donc moins l'ADN de l'échantillon est dégradé lors de sa préparation.
- Le **ratio** obtenu en divisant la valeur du canal de sortie du pic échantillon par celle du pic témoin interne : Ce ratio ($\pm 5\%$) est caractéristique de la quantité d'ADN nucléaire, et par voie indirecte d'un niveau de ploïdie donné. Théoriquement, chez *C. gigas* et en utilisant comme témoin interne les érythrocytes de truite (TRBC, **T**ROUT **R**ED **B**LOOD **C**ELLS), ce ratio est de $0.4 \pm 5\%$ pour les huîtres diploïdes, de $0.6 \pm 5\%$ pour les triploïdes, et de $0.8 \pm 5\%$ pour les tétraploïdes. A partir d'un état

diploïde (ratio = $0.4 \pm 5\%$), les valeurs de ratio inférieure à 0.38 indiquent des quantités d'ADN en lien avec une hypodiploïdie (perte d'ADN génomique). A l'opposée, les valeurs de ratio supérieure à 0.42 indiquent des quantités d'ADN en lien avec une hyperdiploïdie (gain d'ADN génomique).

II. Matériel et méthodes

A. Echantillonnage

En 2010, 8 sites ont été analysés au lieu des six les années précédentes. Les échantillons de naissain naturel ont ainsi été prélevés sur les 8 sites, à raison de 4 sites dans le bassin de Marennes Oléron et 4 sites dans le bassin d'Arcachon (Tableau 1). Au total, 1379 animaux ont été analysés. L'échantillonnage total annuel analysé est donc largement supérieur aux recommandations initialement préconisées (600 animaux à analyser).

Lot	Nombre	Bassin
Comprian	200	Arcachon
Gorp	160	Arcachon
Les Jalles	180	Arcachon
La Vigne	169	Arcachon
Seudre	160	Marennes Oléron
Marsilly	170	Marennes Oléron
Mouclière	180	Marennes Oléron
Bonne anse	160	Marennes Oléron

Tableau 1. Effectifs analysés et distribution géographique de l'échantillonnage

B. Analyse de ploïdie en cytométrie en flux

1) Préparation des échantillons

Les analyses des niveaux de ploïdie sont réalisées par cytométrie en flux à partir de fragments de tissus somatiques sous forme de biopsies branchiales. Les échantillons sont préparés et repris dans le tampon d'extraction (5mM MgCl₂, 85 mM NaCl, 10 mM Tris, 0,1 % Triton X100, pH7). La biopsie branchiale (1mm² de tissu branchial prélevé) est reprise dans 1 ml de tampon et l'extraction des noyaux est accélérée en effectuant des pipetages refoulements à l'aide d'une micropipette. Après filtration de la suspension obtenue, au travers d'un filtre de 30µm de diamètre de maille, est additionné 1 ml de tampon d'extraction contenant le fluorochrome DAPI (2µl/ml) et le témoin interne (2µl/ml de TRBC, DNA reference calibrator, Coulter). Après une incubation de 30 minutes à 4°C et à l'abri de la lumière, les échantillons sont analysés en utilisant le cytomètre en flux Partec PA II.

2) Analyses cytométriques

L'étalonnage du cytomètre est réalisé en utilisant un témoin interne constitué par des érythrocytes de truite TRBC (Trout Red Blood Cells, DNA reference calibrator, Coulter). L'alignement de la lampe est régulièrement vérifié afin d'obtenir des valeurs de CV% les plus basses possibles (inférieures à 3%) garantissant ainsi la fiabilité de nos analyses. 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®. Ce logiciel pour Windows™ permet la prise en compte de plusieurs paramètres tels le temps de l'analyse, la concentration des événements par ml (ou de noyaux), la position relative des différents pics...etc. 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 émise par les cellules somatiques des échantillons divisé(s) par la position moyenne du pic de fluorescence du témoin interne TRBC. Durant ce travail de biovigilance, nous avons mis en évidence que les ratios moyens de fluorescence standardisés étaient de 0,4 chez les huîtres diploïdes (**Figure 1**), de 0,6 pour les huîtres triploïdes et de 0,8 pour les huîtres tétraploïdes.

3) Analyse statistique des données

Les données ont été analysées en utilisant le logiciel XLSTAT pour les traitements statistiques. 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 des 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 une croix 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 :
- $IQ1 = [Q1 - 1,5 \times (Q3 - Q1), Q1]$
- $IQ3 = [Q3, Q3 + 1,5 \times (Q3 - Q1)]$
- 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,
- Les valeurs minimale et maximale sont indiquées sur le box plot.

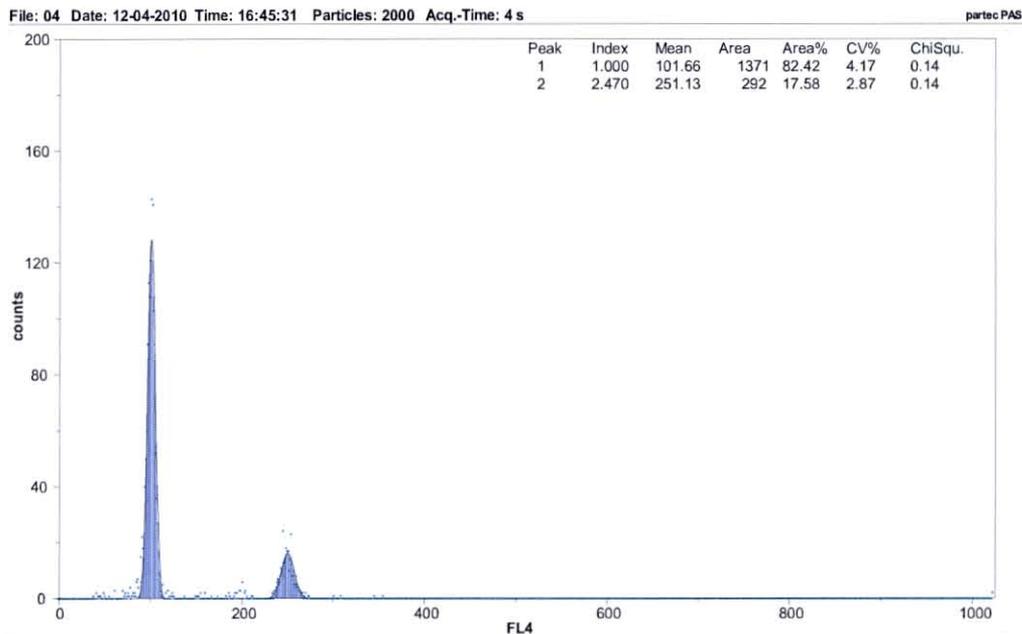


Figure 1 : Histogramme caractéristique d'un animal diploïde (ratio de 0.40)

Peak : Numéro du pic (de gauche à droite ? 1 : échantillon, 2 : témoin interne TRBC).

Index : Position relative du pic en relation avec le premier pic.

Mean : Position moyenne des événements du pic.

Area : Aire du pic, correspondant au nombre de particules appartenant au pic.

Area% : Pourcentage de l'aire du pic relatif de la somme de toutes les aires des pics.

CV% : Coefficient de variation relatif du pic (largeur à mi hauteur du pic).

ChiSqu : Mesure de la variation entre les données expérimentales et le modèle mathématique du pic. Plus le ChiSqu est petit et plus le modèle mathématique se rapproche des données expérimentales.

III. Résultats

En 2010, un total de 1379 individus issus du captage naturel 2009 dans les 2 principaux bassins de captage ont été individuellement analysés. Un premier tri a été réalisé afin d'éliminer les analyses dont le CV% du témoin interne ne permettait pas une interprétation fiable des résultats. 1293 échantillons ont donc été retenus pour l'analyse finale.

1) Bassin d'Arcachon

Au total, 659 naissains analysés ont été retenus pour ce bassin. Les ratios observés sont compris entre 0,310 et 0,429 (tableau 2 et figure 2).

Statistique	camprian	gorp	la vigne	les jalles
Nb. d'observations	155	160	167	177
Minimum	0,326	0,341	0,310	0,357
Maximum	0,429	0,428	0,420	0,425
Moyenne	0,405	0,409	0,384	0,403
Ecart-type (n)	0,013	0,013	0,015	0,010

Tableau 2 : Données obtenues au sein du bassin d'Arcachon

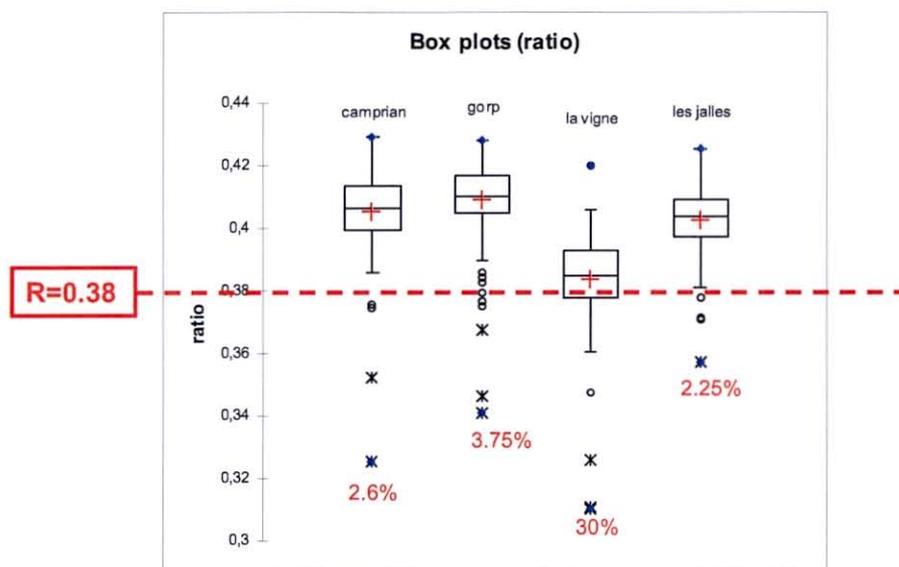


Figure 2 : Distribution inter-sites des ratios de fluorescence au sein du bassin d'Arcachon. En rouge, les pourcentages de naissains ayant un ratio inférieur à 0,38.

En se basant sur les ratios moyens de fluorescence standardisés caractéristiques des huîtres triploïdes (0,60) ou tétraploïdes (0,80), nos données ne mettent pas en évidence la présence d'aucun naissain polyploïde au sein de ces trois sites analysés (figures 2).

Pour le bassin d'Arcachon, des taux variables de naissains ayant une réduction de leur taille du génome (ratio inférieur à 0,38), considérés ici comme hypodiploïdes, ont été détectés dans tous les sites analysés. Toutefois, le site de la Vigne apparaît comme étant particulièrement touché par cette hypodiploïdie vu que 30% des naissains analysés de ce site ont une taille du génome inférieure à la taille d'un génome diploïde. Dans les autres sites, ce pourcentage de naissains hypodiploïdes est beaucoup plus bas et correspond à 2,25, 2,6 et 3,75 % pour respectivement les sites de Les Jalles, Camprian et Gorp.

Le test de normalité montre que les données ne sont pas normales, (p -value unilatéral $< 0,0001$). Un test non paramétrique de comparaison de k échantillons indépendants de Kruskal-Wallis a donc été appliqué. Pour le bassin d'Arcachon, ce test a permis de mettre en évidence des différences significatives entre les 4 sites (p -value $< 0,0001$ donc $< \alpha = 0,05$). Ainsi, les sites Les Jalles et Camprian, qui sont les moins touchés par l'hypodiploïdie Adn, sont significativement différents des deux autres sites qui sont plus fortement (Gorp) ou extrêmement (La Vigne) touchés par l'hypodiploïdie ADN.

Comparaisons multiples par paires suivant la procédure de Dunn / Test bilatéral :

Echantillon	Effectif	Somme des rangs	Moyenne des rangs	Groupes	
ratio la vigne	167	21302,000	127,557	A	
ratio les jalles	177	61164,500	345,562		B
ratio camprian	155	61705,500	398,100		B
ratio gorp	160	73298,000	458,113		C

2) Bassin de Marennes Oléron

Au total, 634 naissains analysés ont été retenus pour ce bassin. Les ratios observés sont compris entre 0,338 et 0,427 pour le Bassin de Marennes Oléron (tableau 3 et figure 3).

Statistique	Bonne anse	marcilly	moulière	seudre
Nb. d'observations	160	169	146	159
Minimum	0,379	0,349	0,338	0,367
Maximum	0,427	0,423	0,425	0,421
Moyenne	0,413	0,405	0,404	0,400
Ecart-type (n)	0,006	0,012	0,014	0,010

Tableau 3 : Données obtenues au sein du bassin de Marennes Oléron.

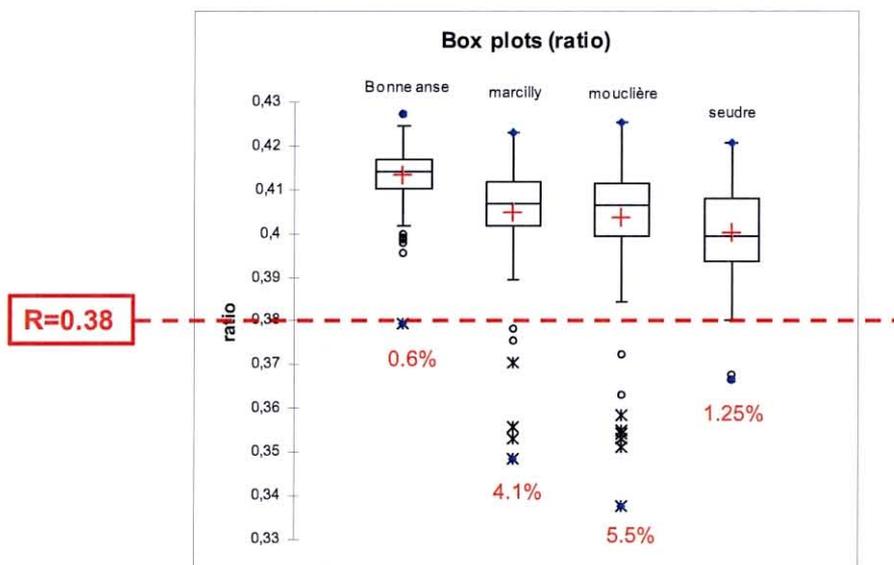


Figure 4 : distribution inter-sites des ratios de fluorescence au sein du bassin de Marennes Oléron. En rouge, les pourcentages de naissains ayant un ratio inférieur à 0,38.

En se basant sur les ratios moyens de fluorescence standardisés caractéristiques des huîtres triploïdes (0,60) ou tétraploïdes (0,80), nos données ne mettent pas en évidence la présence d'animaux polyploïdes au sein de ces trois sites analysés (figures 4).

Pour ce bassin de Marennes Oléron, des taux variables de naissains ayant une réduction de leur taille du génome (ratio inférieur à 0.38), considérés ici comme hypodiploïdes, ont été détectés dans certains sites analysés de ce bassin de Marennes Oléron. Ainsi, 5.5 et 4.1% des naissains captés respectivement à la moulière et Marcilly se ont révélés hypodiploïdes, alors que ceux captés dans le site de la Seudre et surtout de Bonne anse apparaissent comme étant peu ou non touché par cette réduction de leur taille du génome.

De même que pour le bassin d'Arcachon, les données cytométrique du ratio ont été traitées par un test non paramétrique de comparaison de k échantillons indépendants de Kruskal-Wallis. Pour le bassin de Marennes Oléron, il existe une différence significative entre les 4 sites (p-value<0,0001 donc < à alpha=0,05) avec les sites de Seudre et de Bonne anse, les moins touchés par l'aneuploïdie ADN, qui sont chacun significativement différent des trois autres sites analysés alors que les deux sites Marcilly et Moulière, les plus touchés par l'aneuploïdie ADN, ne sont pas significativement différents l'un de l'autre.

Comparaisons multiples par paires suivant la procédure de Dunn / Test bilatéral :

Echantillon	Effectif	Somme des rangs	Moyenne des rangs	Groupes	
ratio seudre	159	33339,000	209,679	A	
ratio moulière	146	43421,000	297,404		B
ratio marcilly	169	51094,000	302,331		B
ratio Bonne anse	160	73441,000	459,006		C

3) Comparaison des deux bassins

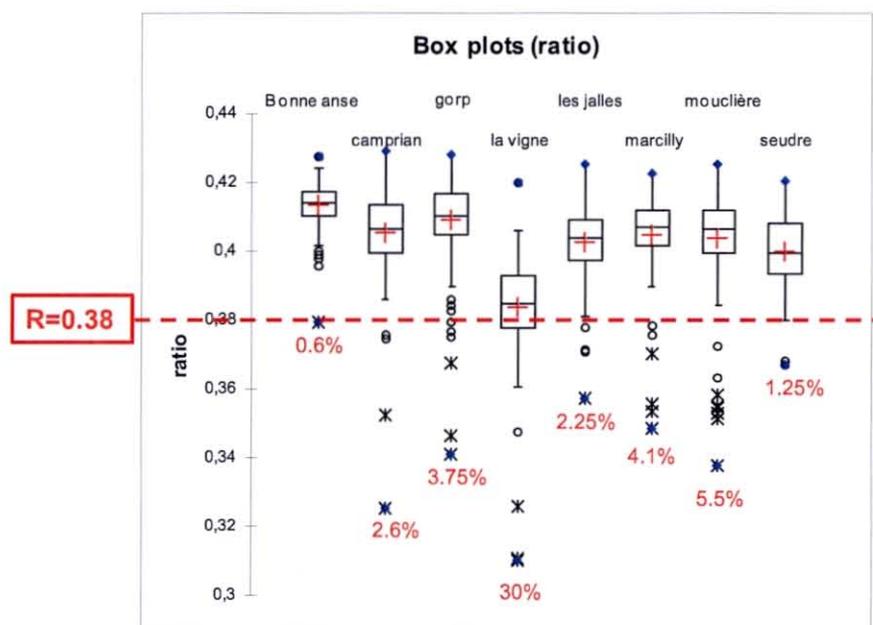


Figure 5 : Distribution inter sites des ratios de fluorescence des naissains captés en 2009 au sein des deux bassins prospectés dans le cadre de la campagne Biovigilance 2010. En rouge, les pourcentages de naissains ayant un ratio inférieur à 0.38.

La comparaison des huit sites prospectés au niveau des deux bassins (**Figure 5**) montre des différences très significatives (p-value<0,0001 donc < à alpha=0,05) entre eux en terme d'occurrence de l'aneuploïdie ADN. Deux sites se distinguent nettement : le site de Bonne Anse (Marennes Oléron) qui paraît très peu touché (0.6%) par l'hypodiploïdie ADN, et le site de La Vigne (Arcachon) qui paraît le plus touché (30%) par ce phénomène. Les autres sites prospectés montrent des taux d'hypodiploïdie ADN faibles, compris entre 2.5 et 5%.

Comparaisons multiples par paires suivant la procédure de Dunn / Test bilatéral :

Echantillon	Effectif	Somme des rangs	Moyenne des rangs	Groupes		
ratio la vigne	167	30927,000	185,192	A		
ratio seudre	159	81832,000	514,667		B	
ratio les jalles	177	104143,500	588,381		B	C
ratio mouclière	146	99952,000	684,603			C
ratio marcilly	169	118260,000	699,763			C
ratio camprian	155	109787,500	708,306			C
ratio gorp	160	134027,000	837,669			D
ratio Bonne anse	160	157642,000	985,263			D
						E

Enfin, concernant les données à l'échelle d'un bassin en entier, en se basant sur les ratios typiques d'animaux polyploïdes, **nos analyses n'ont pas montré la présence d'animaux polyploïdes, ni triploïdes ni tétraploïdes, au sein des deux bassins de captage étudiés durant cette campagne 2009.**

IV. Conclusion et perspectives

En se basant sur les ratios moyens de fluorescence standardisés caractéristiques des huîtres triploïdes (0,60) ou tétraploïdes (0,80), il apparaît clairement d'après nos analyses que, comme pour les autres années, **nos données ne mettent pas en évidence la présence d'animaux polyploïdes, triploïdes et à fortiori tétraploïdes, au sein des deux bassins de captage naturel que sont Marennes Oléron et Arcachon.** Il apparaît donc clairement d'après ces analyses pratiquées sur plusieurs sites des bassins de production de naissain de Marennes Oléron et d'Arcachon que nous n'avons pas pu mettre en évidence la présence de polyploïdes dans les naissains recrutés malgré un effort d'échantillonnage important et supérieur au minimum initialement défini (8 sites au lieu de 6 et 1379 naissains au lieu des 500 naissains préconisés auparavant). Ces résultats sont conformes aux prévisions en la matière et n'apportent aucune raison de modification des pratiques ostréicoles en cours dans les 2 bassins.

Au sein des deux bassins de captage examinés en 2010 et en fonction du site de captage, les naissains issus de captage naturel 2009 montrent une tendance variable à la réduction de la taille de leur génome interprétée comme une aneuploïdie ADN. Il est important de signaler que depuis le début du réseau biovigilance, année 2008 comprise, l'aneuploïdie détectée dans les deux bassins prospectés a toujours été du type hypodiploïde, c à d obtenue suite à la perte, à partir d'un état initial diploïde, d'une quantité d'ADN équivalente à un ou plusieurs chromosomes. En effet, depuis le début des campagnes de suivi réalisées dans le cadre du réseau biovigilance, aucun naissain aneuploïde du type hypo ou hyper-triploïde (perte ou gain de chromosomes à un état triploïde) n'a été détecté, ni à Arcachon, ni à Marennes Oléron. Ceci implique que l'aneuploïdie hypodiploïde ADN observée jusqu'à nos jours dans les deux bassins de captage suivis dans notre réseau n'est pas liée à une reproduction des triploïdes, qui est pour rappel la seule capable de produire dans les essais de laboratoire des naissains hyper et hypotriploïdes. L'hypodiploïdie ADN détectée dans les deux bassins de captage étudiés pourrait être le résultat de l'impact direct de facteurs environnementaux particuliers notamment via les précipitations qui entraînent un lessivage des sols, en particulier agricoles, et par conséquent un apport de produits toxiques tels les herbicides, fongicides et métaux lourds dont l'action génotoxique (aneugène et clastogène) est bien établie chez les invertébrés marins, en particulier les huîtres et les moules (Dixon 1982 ; Stiles et al. 1991; Wersto et al. 1991 ; Parry. 1998 ; Bihari et al. 1999, 2003; Barsienne et Lovejoy 2000 ; Thiriou-Quiévreux et Wolowicz 2001 ; Bihari et al. 2003 ; Bouilly et al. 2003).

A l'exception du site La Vigne du Bassin d'Arcachon, caractérisé par un fort taux de naissains aneuploïdes ADN (30%), tous les autres sites analysés en 2010, qu'ils soient de Marennes Oléron ou d'Arcachon, montrent des niveaux faibles d'aneuploïdie ADN (entre 0.6 à 5.5%). Connaissant la relation démontrée dans nos travaux (Benabdelmouna et al. 2010) entre le taux d'anomalie génomique d'un lot de naissains et son histoire de vie, notamment le fait qu'il ait été touché ou non par la mortalité durant son année zéro (sur capteurs), nous supposons fortement que, à l'exception de ce lot La Vigne du bassin d'Arcachon, tous les lots analysés durant cette campagne biovigilance 2010 ont vraisemblablement déjà subi une mortalité précoce sur capteurs et cela durant l'été/automne 2009. Cette mortalité a eu comme conséquence d'éliminer la plupart, sinon la totalité, des naissains atteints par les anomalies génomiques. Par conséquent, analysés au début du printemps 2010, ces lots montrent de faibles taux d'anomalies génomiques comparativement aux lots qui n'ont pas été touchés par la mortalité précoce sur capteurs en 2009, comme c'est le cas pour le lot La Vigne. Les anomalies génomiques, outre leur caractère prédictif de la survie d'un lot de naissains, peuvent donc aussi être considérés comme étant un marqueur de l'histoire de vie d'un lot de naissains, et notamment le fait qu'il ait ou non subi une mortalité précoce.

Au vu des résultats de nos différentes campagnes de Biovigilance, la situation de prévalence de naissains aneuploïdes peut être considérée, à notre sens, comme un des facteurs primordiaux qui contrôlent la qualité des naissains et notamment leur capacité de faire face aux stress biotiques et abiotiques impliqués dans les derniers épisodes de mortalité estivale touchant les naissains de *C. gigas*. Dans ce cadre, l'occurrence de l'aneuploïdie ADN observée durant les dernières années dans les deux principaux bassins de captage en France pose avec force la question de la caractérisation de la qualité des naissains. En effet, sachant que l'aneuploïdie a été montrée comme étant significativement corrélée avec une baisse des performances biologiques des naissains surtout en terme de croissance et de survie (Benabdelmouna et al. 2010), il est légitime de se questionner sur la capacité des animaux hypodiploïdes à survivre face aux divers stress biotiques et abiotiques qu'ils vont rencontrer durant leur mise en élevage. Il est par conséquent important d'accorder un soin particulier à l'estimation la plus précoce possible et à la caractérisation la plus fine possible de ce caractère « aneuploïdie » au sein des deux bassins principaux de captage qui sont, et de loin, à la base de la conchyliculture Française via la fourniture des trois quarts des naissains annuellement utilisés.

Bibliographie :

- AlSabti, K., Kurelec, B., 1985. Induction of chromosomal aberrations in the mussel *Mytilus galloprovincialis* watch. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 35, 660_665.
- Baršien, J., Schiedek, D., Rybakovas, A., Šyvokien, J., Kopecka, J., and Förlin, L. (2005). Cytogenetic and cytotoxic effects in gill cells of the blue mussel *Mytilus* spp. From different zones of the Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin*, Volume 53, Issues 8-9, 2006, Pages 469-478.
- Barsienne, J. and Lovejoy, D.B. (2000) Environmental genotoxicity in Klaipeda port area. *Int. Rev. Hydrobiol.*, 85, 663-672.
- Benabdelmouna, A., Cornette, F., Grouhel, S., Lapegue, S., Boudry, P., et Gouletquer, P. (2005). Suivi du niveau de ploïdie des huîtres dans les deux bassins de captage de Marennes Oléron et Arcachon. Rapport biovigilance 2005.
- Benabdelmouna, A., Grouhel, S., D'Amico, F., Cantin, C., Grizon, J., Seugnet, J.L. (2007). Niveau de ploïdie des huîtres des bassins de captage de Marennes Oléron et Arcachon. Campagne biovigilance 2007.
- Benabdelmouna, A., Huber, M., Cantin, C., D'Amico, F., Grizon, J., Seugnet, J.L. (2008). Niveau de ploïdie des huîtres des bassins de captage de Marennes Oléron et Arcachon. Campagne biovigilance 2008.
- Benabdelmouna, A., Tourbiez, D., D'Amico, F., Cantin, C., Grizon, J., Seugnet, J.L. (2009). Niveau de ploïdie des naissains d'huître creuse captés dans les bassins de Marennes Oléron et d'Arcachon. Réseau Biovigilance, campagne 2009.
- Benabdelmouna, A., Hemissi, I., Robert, S., Bodin, S., Ledu, C., et Laporte, P. Etude comparative des caractéristiques cytogénétiques et des performances de survie de naissains sauvages issus du CAPtage PREcoce ou TARdif. Bilan du projet « surmortalité des huîtres creuses 2010 ». 1 et 2 décembre 2010. IFREMER, Centre Atlantique, Nantes
- Bickham, J.W., 1990. Flow cytometry as a technique to monitor the effects of environmental genotoxins on wildlife populations. In: Sandhu, S., Lower, W.R., De Serres, F.J., Suk, W.A., Tice, R.R. (Eds.), *In Situ Evaluation of Biological Hazards of Environmental Pollutants*. Environmental Research Series, vol. 38. Plenum Press, New York, NY, USA, pp. 97_108.
- Bickham, J.W., Hanks, B.G., Smolen, M.J., Lamb, T. and Gibbons, J.W. (1988). Flow cytometric analysis of low-level radiation exposure on natural populations of slider turtles (*Pseudemys scripta*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 17 : 837-841.
- Bihari, N., Batel, R., Zahn, R.K., 1999. Flow cytometry in marine environmental research. *Periodicum Biologorum* 101, 151_155.
- Bihari, N., Mic'ic, M., Batel, R. and Zahn, R.K. (2003). Flow cytometric detection of DNA cell cycle alterations in hemocytes of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) off the Adriatic coast, Croatia. *Aquatic Toxicology* 64 (2003) 121_129.
- Bouilly, K., Leitão, A., McCombie, H., and Lapègue, S. (2003). Impact of atrazine on aneuploidy in Pacific oysters, *Crassostrea gigas*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 22 (1): 229-233.
- Chevassus au Louis, B. (1998). Effet d'un flux éventuel de tétraploïdes dans les zones conchylicoles : évaluation de l'impact environnemental. Rapport d'expertise pour le Comité Scientifique du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche (COSMAP), séance du 24/11/1998.
- Chevassus au Louis, B., Bœuf, G., Bonhomme, F., Mathieu, M. (2009). L'utilisation de naissain d'écloserie, en particulier triploïde, en ostréiculture : analyse des conséquences sanitaires, environnementales, génétiques et zootechniques. Rapport au Directeur de Cabinet du Ministre de l'Agriculture et de la Pêche.
<http://agriculture.gouv.fr/sections/publications/rapports/utilisation-naissain-d>
- COMEpra (octobre 2004). Premier avis du comité Ostréiculture et biotechnologies.
<http://www.inra.fr/content/download/2364/23401/file/Comepra-ifremer.pdf>
- Cornette, F., Grouhel, S., Sharbel, T., Boudry, P., Gouletquer, P. et Lapegue, S. (2004). Niveau de ploïdie des huîtres des bassins de captage de Marennes Oléron et Arcachon. Rapport biovigilance 2004.
- Deaven, L.L. (1982). Application of flow cytometry to cytogenetic testing of environmental mutagens. In: T.C. Hsu (Editor), *Cytogenetic Assays of Environmental Mutagens*. Allanheld, Montclair, NJ, pp. 325-351.
- Dixon, D.R. (1982) Aneuploidy in mussel embryos (*Mytilus edulis* L.) originating from a polluted dock. *Mar. Biol. Lett.*, 3, 155-161.
- Elston, R.A., Moore, J.D., Brooks, K., 1992. Disseminated neoplasia of bivalve mollusks. *Rev. Aquat. Sci.* 6, 405_466.

- Fernandez, M., L'Haridon, J., Gauthier, L. and Zoll-Moreux, C. (1993). Amphibian micronucleus test(s) : a simple and reliable method for evaluating *in vivo* genotoxic effects of freshwater pollutants and radiations. Initial assessment. *Mutat. Res.*, 292: 83-89.
- Galloway, S.M. (1994). Chromosome aberrations induced *in vitro* : mechanisms, delayed expression, and intriguing questions. *Environ. Mol. Mutagen.*, 23(suppl)24 : 44-53.
- Grouhel, S., D'Amico, F., Cantin, C., Grizon, J., Benabdelmouna, A. (2006). Niveau de ploïdie des huîtres des bassins de captage de Marennes Oléron et Arcachon. Rapport biovigilance 2006.
- Krepinsky, A.B. and Heddle, J.A. (1983). Micronuclei as a rapid and inexpensive measure of radiation-induced chromosomal aberrations; In: T. Ishihara and M.S. Sasaki (Editors), *Radiation-Induced Chromosome Damage in Man*; Alan R.L. Liss, NY, pp 93-109.
- Lamb, T., Bickham, J.W., Gibbons, J.W., Smolen, M.J. and McDowells, S. (1991). Genetic damage in a population of slider turtles (*Trachemys scripta*) in a radioactive reservoir. *Arc. Environ. Contam. Toxicol.*, 20 :138-142.
- Leitao, A., Boudry, P., and Thiriot-Quievreux, C. (2001). Evidence of differential chromosome loss in aneuploid karyotypes of the pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Genome* 44 (4) : 735-737.
- Lowcock, L.A., Sharbel, T.F., Bonin, J., Ouallet, M., Rodrigue, J., DesGranges, J.-L., 1997. Flow cytometry assay for *in vivo* genotoxic effects of pesticides in Green frogs (*Rana clamintas*). *Aquat. Toxicol.* 30, 241_255.
- McBee, K. and Bickham, J.W. (1988). Petrochemical-related DNA damage in wild rodents detected by flow cytometry. *Bull; Environ. Contam. Chem.*, 13 :259-265.
- Parry, J.M. (1998) Detecting chemical aneuploids: a commentary to 'Aneuploidy: a report of an ECETOC task force'. *Mutat. Res.*, **410**, 117-120.
- Stiles, S., Chromanski, J., Nelson, D., Miller, J., Creig, R. and Sennenfelder, G. (1991) Early reproductive success of the hard clam (*Mercuraria mercenaria*) from five sites in Long Island Sound. *Estuaries*, **14**, 332-342.
- Thiriot-Quievreux, C. and Wolowicz, M. (2001) Chromosomal study of spatial variation of the prevalence of a gill neoplasia in *Macoma balthica* (L.) from the Gulf of Gdansk (Baltic sea). *Ophelia*, **54**, 75-81.
- Wersto, R.P., Liblit, R.L., Koss, L.G., 1991. Flow cytometric DNA analysis of human solid tumors: a review of the interpretation of DNA histograms. *Progr. Pathol.* 22, 1085-1098.

Annexe : Résultats d'analyse de ploïdie du naissain 2008

Marennes Oléron

Bassin	Site	ratio	MO	Bonne anse	0,41627549
MO	Bonne anse	0,42739591	MO	Bonne anse	0,41614024
MO	Bonne anse	0,42441812	MO	Bonne anse	0,41611271
MO	Bonne anse	0,42407706	MO	Bonne anse	0,41609538
MO	Bonne anse	0,42311882	MO	Bonne anse	0,41609368
MO	Bonne anse	0,42246147	MO	Bonne anse	0,4160529
MO	Bonne anse	0,42181043	MO	Bonne anse	0,41591253
MO	Bonne anse	0,42162962	MO	Bonne anse	0,4156515
MO	Bonne anse	0,42135739	MO	Bonne anse	0,41563209
MO	Bonne anse	0,4208216	MO	Bonne anse	0,41561574
MO	Bonne anse	0,42073071	MO	Bonne anse	0,41561207
MO	Bonne anse	0,42071759	MO	Bonne anse	0,41552761
MO	Bonne anse	0,42057374	MO	Bonne anse	0,41546608
MO	Bonne anse	0,42003032	MO	Bonne anse	0,41545233
MO	Bonne anse	0,41996351	MO	Bonne anse	0,41523442
MO	Bonne anse	0,41981913	MO	Bonne anse	0,41496852
MO	Bonne anse	0,41980383	MO	Bonne anse	0,41495931
MO	Bonne anse	0,41969475	MO	Bonne anse	0,41492198
MO	Bonne anse	0,41959046	MO	Bonne anse	0,41489184
MO	Bonne anse	0,41955786	MO	Bonne anse	0,41473596
MO	Bonne anse	0,41954586	MO	Bonne anse	0,41464406
MO	Bonne anse	0,41929685	MO	Bonne anse	0,41449004
MO	Bonne anse	0,41917831	MO	Bonne anse	0,4144829
MO	Bonne anse	0,41912638	MO	Bonne anse	0,41445607
MO	Bonne anse	0,41911466	MO	Bonne anse	0,4143988
MO	Bonne anse	0,41909717	MO	Bonne anse	0,414159
MO	Bonne anse	0,41900342	MO	Bonne anse	0,41411148
MO	Bonne anse	0,41879257	MO	Bonne anse	0,41409635
MO	Bonne anse	0,4185981	MO	Bonne anse	0,4140117
MO	Bonne anse	0,41859601	MO	Bonne anse	0,41399763
MO	Bonne anse	0,41857119	MO	Bonne anse	0,41392247
MO	Bonne anse	0,41827988	MO	Bonne anse	0,41378733
MO	Bonne anse	0,41824805	MO	Bonne anse	0,41359651
MO	Bonne anse	0,41799849	MO	Bonne anse	0,41358075
MO	Bonne anse	0,41772206	MO	Bonne anse	0,41353157
MO	Bonne anse	0,41735301	MO	Bonne anse	0,41344716
MO	Bonne anse	0,41731805	MO	Bonne anse	0,41331762
MO	Bonne anse	0,41719515	MO	Bonne anse	0,41317686
MO	Bonne anse	0,417115	MO	Bonne anse	0,41316278
MO	Bonne anse	0,41710532	MO	Bonne anse	0,41311117
MO	Bonne anse	0,41708563	MO	Bonne anse	0,41306962
MO	Bonne anse	0,41705271	MO	Bonne anse	0,41298427
MO	Bonne anse	0,41700955	MO	Bonne anse	0,41285045
MO	Bonne anse	0,41682743	MO	Bonne anse	0,41273875
MO	Bonne anse	0,4167039	MO	Bonne anse	0,41260896
MO	Bonne anse	0,41667673	MO	Bonne anse	0,41259645
MO	Bonne anse	0,41667018	MO	Bonne anse	0,41257802
MO	Bonne anse	0,41665611	MO	Bonne anse	0,41234261
MO	Bonne anse	0,41636995	MO	Bonne anse	0,41225478
MO	Bonne anse	0,41636197	MO	Bonne anse	0,41214444
MO	Bonne anse	0,41634241	MO	Bonne anse	0,4119825
MO	Bonne anse	0,41631378	MO	Bonne anse	0,41197628

MO	Bonne anse	0,41190406	MO	Bonne anse	0,39579275
MO	Bonne anse	0,41174145	MO	Bonne anse	0,37948873
MO	Bonne anse	0,41163238	MO	mouclière	0,42538655
MO	Bonne anse	0,41153798	MO	mouclière	0,42162519
MO	Bonne anse	0,41148162	MO	mouclière	0,4214123
MO	Bonne anse	0,4114724	MO	mouclière	0,42122136
MO	Bonne anse	0,41147111	MO	mouclière	0,41948829
MO	Bonne anse	0,41137994	MO	mouclière	0,4190548
MO	Bonne anse	0,41121836	MO	mouclière	0,41903195
MO	Bonne anse	0,41102969	MO	mouclière	0,41895755
MO	Bonne anse	0,41093511	MO	mouclière	0,41884794
MO	Bonne anse	0,41090676	MO	mouclière	0,41858363
MO	Bonne anse	0,41086622	MO	mouclière	0,41854446
MO	Bonne anse	0,41077561	MO	mouclière	0,41833787
MO	Bonne anse	0,41068961	MO	mouclière	0,4182342
MO	Bonne anse	0,41066558	MO	mouclière	0,41781462
MO	Bonne anse	0,41032631	MO	mouclière	0,417441
MO	Bonne anse	0,41028176	MO	mouclière	0,41718103
MO	Bonne anse	0,41027362	MO	mouclière	0,41707482
MO	Bonne anse	0,41024998	MO	mouclière	0,4164404
MO	Bonne anse	0,41001376	MO	mouclière	0,41619647
MO	Bonne anse	0,40994983	MO	mouclière	0,41593994
MO	Bonne anse	0,40992489	MO	mouclière	0,41591531
MO	Bonne anse	0,40986181	MO	mouclière	0,41563216
MO	Bonne anse	0,40985045	MO	mouclière	0,41539763
MO	Bonne anse	0,4098409	MO	mouclière	0,41537789
MO	Bonne anse	0,40975768	MO	mouclière	0,41429354
MO	Bonne anse	0,40954683	MO	mouclière	0,41414141
MO	Bonne anse	0,40894054	MO	mouclière	0,41404955
MO	Bonne anse	0,40876979	MO	mouclière	0,41390306
MO	Bonne anse	0,40856188	MO	mouclière	0,41373177
MO	Bonne anse	0,40831956	MO	mouclière	0,41368092
MO	Bonne anse	0,40816742	MO	mouclière	0,41359032
MO	Bonne anse	0,40770979	MO	mouclière	0,41292607
MO	Bonne anse	0,40760803	MO	mouclière	0,41270176
MO	Bonne anse	0,4072931	MO	mouclière	0,41259908
MO	Bonne anse	0,40692095	MO	mouclière	0,41207283
MO	Bonne anse	0,40666916	MO	mouclière	0,41186616
MO	Bonne anse	0,40662979	MO	mouclière	0,41173662
MO	Bonne anse	0,40653522	MO	mouclière	0,41138263
MO	Bonne anse	0,40625131	MO	mouclière	0,41137548
MO	Bonne anse	0,40534574	MO	mouclière	0,41124363
MO	Bonne anse	0,40528403	MO	mouclière	0,41098613
MO	Bonne anse	0,40524262	MO	mouclière	0,41095484
MO	Bonne anse	0,40490823	MO	mouclière	0,41090827
MO	Bonne anse	0,4046595	MO	mouclière	0,4108973
MO	Bonne anse	0,40406191	MO	mouclière	0,41089609
MO	Bonne anse	0,40394288	MO	mouclière	0,41086402
MO	Bonne anse	0,40336905	MO	mouclière	0,4108189
MO	Bonne anse	0,40285992	MO	mouclière	0,41080046
MO	Bonne anse	0,40177289	MO	mouclière	0,41073837
MO	Bonne anse	0,39983391	MO	mouclière	0,41056894
MO	Bonne anse	0,39911537	MO	mouclière	0,41052766
MO	Bonne anse	0,39876024	MO	mouclière	0,41010426
MO	Bonne anse	0,39804435	MO	mouclière	0,41008058

MO	mouclière	0,41005112	MO	mouclière	0,40015581
MO	mouclière	0,40982352	MO	mouclière	0,39908048
MO	mouclière	0,40977444	MO	mouclière	0,39819372
MO	mouclière	0,4096518	MO	mouclière	0,39755888
MO	mouclière	0,40957108	MO	mouclière	0,39742369
MO	mouclière	0,40945202	MO	mouclière	0,39674365
MO	mouclière	0,40931383	MO	mouclière	0,39664653
MO	mouclière	0,40929772	MO	mouclière	0,39661799
MO	mouclière	0,40912312	MO	mouclière	0,3962444
MO	mouclière	0,40907255	MO	mouclière	0,39623614
MO	mouclière	0,40880167	MO	mouclière	0,3961004
MO	mouclière	0,40848485	MO	mouclière	0,39598503
MO	mouclière	0,40842603	MO	mouclière	0,39597732
MO	mouclière	0,40829987	MO	mouclière	0,39477555
MO	mouclière	0,40771111	MO	mouclière	0,39459732
MO	mouclière	0,40767426	MO	mouclière	0,39445854
MO	mouclière	0,40747921	MO	mouclière	0,39424989
MO	mouclière	0,40691993	MO	mouclière	0,39404892
MO	mouclière	0,40671848	MO	mouclière	0,39399184
MO	mouclière	0,40661164	MO	mouclière	0,39346144
MO	mouclière	0,40659196	MO	mouclière	0,39308122
MO	mouclière	0,40654636	MO	mouclière	0,39297125
MO	mouclière	0,40643214	MO	mouclière	0,39153716
MO	mouclière	0,4063972	MO	mouclière	0,39147963
MO	mouclière	0,40628909	MO	mouclière	0,39083479
MO	mouclière	0,4058333	MO	mouclière	0,3903457
MO	mouclière	0,40559567	MO	mouclière	0,38914956
MO	mouclière	0,40526654	MO	mouclière	0,38836209
MO	mouclière	0,40519863	MO	mouclière	0,38598999
MO	mouclière	0,40519288	MO	mouclière	0,38458623
MO	mouclière	0,40517125	MO	mouclière	0,37246416
MO	mouclière	0,40510917	MO	mouclière	0,363353
MO	mouclière	0,40486327	MO	mouclière	0,35855456
MO	mouclière	0,40465336	MO	mouclière	0,35525604
MO	mouclière	0,40458842	MO	mouclière	0,35438381
MO	mouclière	0,40457384	MO	mouclière	0,35322296
MO	mouclière	0,4043897	MO	mouclière	0,35125816
MO	mouclière	0,40418392	MO	mouclière	0,33779531
MO	mouclière	0,40410143	MO	marcilly	0,42294626
MO	mouclière	0,40374693	MO	marcilly	0,4221998
MO	mouclière	0,40334895	MO	marcilly	0,42083418
MO	mouclière	0,40326435	MO	marcilly	0,41933368
MO	mouclière	0,40289103	MO	marcilly	0,41817658
MO	mouclière	0,40243752	MO	marcilly	0,41782977
MO	mouclière	0,40235316	MO	marcilly	0,41777814
MO	mouclière	0,4023362	MO	marcilly	0,41774275
MO	mouclière	0,40205276	MO	marcilly	0,41745905
MO	mouclière	0,40158752	MO	marcilly	0,41745122
MO	mouclière	0,40124187	MO	marcilly	0,41722781
MO	mouclière	0,40123766	MO	marcilly	0,41630536
MO	mouclière	0,40123251	MO	marcilly	0,41619156
MO	mouclière	0,40117727	MO	marcilly	0,41615555
MO	mouclière	0,40111331	MO	marcilly	0,41602237
MO	mouclière	0,40090739	MO	marcilly	0,41599166
MO	mouclière	0,40022383	MO	marcilly	0,41592744

MO	marcilly	0,41585774	MO	marcilly	0,40807356
MO	marcilly	0,41577492	MO	marcilly	0,40805369
MO	marcilly	0,41531535	MO	marcilly	0,40801979
MO	marcilly	0,4150311	MO	marcilly	0,40800449
MO	marcilly	0,41457297	MO	marcilly	0,40779581
MO	marcilly	0,41424361	MO	marcilly	0,40778349
MO	marcilly	0,41415998	MO	marcilly	0,40778322
MO	marcilly	0,41404879	MO	marcilly	0,40762702
MO	marcilly	0,41356172	MO	marcilly	0,40759596
MO	marcilly	0,41352265	MO	marcilly	0,40712976
MO	marcilly	0,41345926	MO	marcilly	0,40703401
MO	marcilly	0,41341795	MO	marcilly	0,4070333
MO	marcilly	0,41336568	MO	marcilly	0,40696713
MO	marcilly	0,41321307	MO	marcilly	0,40692323
MO	marcilly	0,41306742	MO	marcilly	0,40663832
MO	marcilly	0,41289061	MO	marcilly	0,40647625
MO	marcilly	0,41286282	MO	marcilly	0,40629643
MO	marcilly	0,41279213	MO	marcilly	0,40619961
MO	marcilly	0,41271855	MO	marcilly	0,40617339
MO	marcilly	0,41257487	MO	marcilly	0,40615811
MO	marcilly	0,41235459	MO	marcilly	0,406142
MO	marcilly	0,41224798	MO	marcilly	0,40599992
MO	marcilly	0,4121411	MO	marcilly	0,40587964
MO	marcilly	0,41204501	MO	marcilly	0,40571046
MO	marcilly	0,41199536	MO	marcilly	0,405622
MO	marcilly	0,41191555	MO	marcilly	0,40553865
MO	marcilly	0,41180236	MO	marcilly	0,40549144
MO	marcilly	0,41174732	MO	marcilly	0,40542314
MO	marcilly	0,41174153	MO	marcilly	0,40533484
MO	marcilly	0,4112801	MO	marcilly	0,40533065
MO	marcilly	0,41122234	MO	marcilly	0,40512954
MO	marcilly	0,41121945	MO	marcilly	0,40506586
MO	marcilly	0,41115521	MO	marcilly	0,40469449
MO	marcilly	0,41108188	MO	marcilly	0,40469039
MO	marcilly	0,41074384	MO	marcilly	0,40454727
MO	marcilly	0,41072517	MO	marcilly	0,40441971
MO	marcilly	0,41070484	MO	marcilly	0,40379684
MO	marcilly	0,41061742	MO	marcilly	0,40379044
MO	marcilly	0,41058615	MO	marcilly	0,40368712
MO	marcilly	0,41044449	MO	marcilly	0,4036791
MO	marcilly	0,41040439	MO	marcilly	0,40353311
MO	marcilly	0,41037943	MO	marcilly	0,40346444
MO	marcilly	0,41032447	MO	marcilly	0,40339405
MO	marcilly	0,41023709	MO	marcilly	0,40339278
MO	marcilly	0,41020221	MO	marcilly	0,40326312
MO	marcilly	0,40983865	MO	marcilly	0,4032272
MO	marcilly	0,40961742	MO	marcilly	0,40305002
MO	marcilly	0,40960699	MO	marcilly	0,40281747
MO	marcilly	0,4090493	MO	marcilly	0,4027789
MO	marcilly	0,40885766	MO	marcilly	0,40257707
MO	marcilly	0,40875099	MO	marcilly	0,40246954
MO	marcilly	0,40863844	MO	marcilly	0,40245475
MO	marcilly	0,40845013	MO	marcilly	0,40221795
MO	marcilly	0,40835167	MO	marcilly	0,40197072
MO	marcilly	0,40822571	MO	marcilly	0,40176028

MO	marcilly	0,40154689	MO	seudre	0,41465849
MO	marcilly	0,40144388	MO	seudre	0,41434138
MO	marcilly	0,40140366	MO	seudre	0,41403789
MO	marcilly	0,4011821	MO	seudre	0,4139669
MO	marcilly	0,40051731	MO	seudre	0,4135716
MO	marcilly	0,39999222	MO	seudre	0,41315803
MO	marcilly	0,39967534	MO	seudre	0,41305448
MO	marcilly	0,39955053	MO	seudre	0,41235294
MO	marcilly	0,39948778	MO	seudre	0,41210227
MO	marcilly	0,39945464	MO	seudre	0,41194815
MO	marcilly	0,39937871	MO	seudre	0,41192606
MO	marcilly	0,39921722	MO	seudre	0,411643
MO	marcilly	0,39920273	MO	seudre	0,41137255
MO	marcilly	0,39859804	MO	seudre	0,41113572
MO	marcilly	0,39763494	MO	seudre	0,41100847
MO	marcilly	0,39741259	MO	seudre	0,4108046
MO	marcilly	0,39605432	MO	seudre	0,4107424
MO	marcilly	0,39560757	MO	seudre	0,4104674
MO	marcilly	0,39543073	MO	seudre	0,41008706
MO	marcilly	0,39536892	MO	seudre	0,41007096
MO	marcilly	0,39520911	MO	seudre	0,40975035
MO	marcilly	0,39506764	MO	seudre	0,40938553
MO	marcilly	0,39454639	MO	seudre	0,40912747
MO	marcilly	0,39452611	MO	seudre	0,40884926
MO	marcilly	0,39444027	MO	seudre	0,40849609
MO	marcilly	0,39441791	MO	seudre	0,40820963
MO	marcilly	0,39408005	MO	seudre	0,40800662
MO	marcilly	0,39393283	MO	seudre	0,4079868
MO	marcilly	0,39381854	MO	seudre	0,40705218
MO	marcilly	0,39360754	MO	seudre	0,40702046
MO	marcilly	0,39242389	MO	seudre	0,40696169
MO	marcilly	0,39236803	MO	seudre	0,40650379
MO	marcilly	0,39194625	MO	seudre	0,40563189
MO	marcilly	0,39082047	MO	seudre	0,40536645
MO	marcilly	0,38953859	MO	seudre	0,40520445
MO	marcilly	0,37824089	MO	seudre	0,40513728
MO	marcilly	0,37559379	MO	seudre	0,40508952
MO	marcilly	0,37052607	MO	seudre	0,40497257
MO	marcilly	0,35588666	MO	seudre	0,40494095
MO	marcilly	0,35331144	MO	seudre	0,40486919
MO	marcilly	0,34867264	MO	seudre	0,40484631
MO	marcilly	0,34852678	MO	seudre	0,40483607
MO	seudre	0,42057019	MO	seudre	0,40474459
MO	seudre	0,42031863	MO	seudre	0,40329592
MO	seudre	0,4201364	MO	seudre	0,40306292
MO	seudre	0,41954774	MO	seudre	0,40299323
MO	seudre	0,41952371	MO	seudre	0,40293672
MO	seudre	0,4192767	MO	seudre	0,40238031
MO	seudre	0,41866667	MO	seudre	0,40225963
MO	seudre	0,41789661	MO	seudre	0,40207184
MO	seudre	0,41710718	MO	seudre	0,40206378
MO	seudre	0,41706669	MO	seudre	0,40202277
MO	seudre	0,41677043	MO	seudre	0,40198654
MO	seudre	0,41634633	MO	seudre	0,4018706
MO	seudre	0,41547859	MO	seudre	0,40181095

MO	seudre	0,40178795	MO	seudre	0,39410674
MO	seudre	0,40165278	MO	seudre	0,3940606
MO	seudre	0,40163022	MO	seudre	0,39395562
MO	seudre	0,40160895	MO	seudre	0,39394893
MO	seudre	0,40154445	MO	seudre	0,39391881
MO	seudre	0,40140073	MO	seudre	0,39360225
MO	seudre	0,40122774	MO	seudre	0,39355595
MO	seudre	0,40100762	MO	seudre	0,39334475
MO	seudre	0,40100338	MO	seudre	0,39330196
MO	seudre	0,39997519	MO	seudre	0,39314457
MO	seudre	0,39952603	MO	seudre	0,39307365
MO	seudre	0,39949574	MO	seudre	0,39296113
MO	seudre	0,39909943	MO	seudre	0,39264208
MO	seudre	0,39883244	MO	seudre	0,39261987
MO	seudre	0,39882411	MO	seudre	0,39196735
MO	seudre	0,39873629	MO	seudre	0,39163943
MO	seudre	0,39872617	MO	seudre	0,39137675
MO	seudre	0,39868497	MO	seudre	0,39097268
MO	seudre	0,39852845	MO	seudre	0,39094669
MO	seudre	0,39844903	MO	seudre	0,39024059
MO	seudre	0,39829007	MO	seudre	0,38991476
MO	seudre	0,39771585	MO	seudre	0,389179
MO	seudre	0,39757031	MO	seudre	0,38903531
MO	seudre	0,39754284	MO	seudre	0,38778706
MO	seudre	0,39697221	MO	seudre	0,38775107
MO	seudre	0,39672766	MO	seudre	0,3876962
MO	seudre	0,39661628	MO	seudre	0,38768333
MO	seudre	0,39643231	MO	seudre	0,38751409
MO	seudre	0,39621121	MO	seudre	0,38744618
MO	seudre	0,39613398	MO	seudre	0,38630774
MO	seudre	0,3961088	MO	seudre	0,38579346
MO	seudre	0,39595488	MO	seudre	0,38515863
MO	seudre	0,39580545	MO	seudre	0,38509915
MO	seudre	0,39574996	MO	seudre	0,38465425
MO	seudre	0,39558442	MO	seudre	0,38458247
MO	seudre	0,39554025	MO	seudre	0,38449765
MO	seudre	0,39527634	MO	seudre	0,38382249
MO	seudre	0,39525128	MO	seudre	0,38316727
MO	seudre	0,39496599	MO	seudre	0,38294638
MO	seudre	0,39489729	MO	seudre	0,38290545
MO	seudre	0,39474963	MO	seudre	0,38209998
MO	seudre	0,39443139	MO	seudre	0,38111619
MO	seudre	0,39441404	MO	seudre	0,38009001
MO	seudre	0,39441168	MO	seudre	0,36798168
MO	seudre	0,39425811	MO	seudre	0,36684679
MO	seudre	0,39414449			

Arcachon

Bassin	Site	Ratio	arcachon	gorp	Ratio
arcachon	gorp	0,42819017	arcachon	gorp	0,41470091
arcachon	gorp	0,42801626	arcachon	gorp	0,41463815
arcachon	gorp	0,42791721	arcachon	gorp	0,41457832
arcachon	gorp	0,42730378	arcachon	gorp	0,41371453
arcachon	gorp	0,42728945	arcachon	gorp	0,41362201
arcachon	gorp	0,42722854	arcachon	gorp	0,41360648
arcachon	gorp	0,42699115	arcachon	gorp	0,41352953
arcachon	gorp	0,4265361	arcachon	gorp	0,41341282
arcachon	gorp	0,4265172	arcachon	gorp	0,41338174
arcachon	gorp	0,42615223	arcachon	gorp	0,41317173
arcachon	gorp	0,42566404	arcachon	gorp	0,41306223
arcachon	gorp	0,4255906	arcachon	gorp	0,41292503
arcachon	gorp	0,42441291	arcachon	gorp	0,41289398
arcachon	gorp	0,42435741	arcachon	gorp	0,41240546
arcachon	gorp	0,42411671	arcachon	gorp	0,41238385
arcachon	gorp	0,42332849	arcachon	gorp	0,41236944
arcachon	gorp	0,42285534	arcachon	gorp	0,41208857
arcachon	gorp	0,42263196	arcachon	gorp	0,4120314
arcachon	gorp	0,42244346	arcachon	gorp	0,41195323
arcachon	gorp	0,42211642	arcachon	gorp	0,41158243
arcachon	gorp	0,42160856	arcachon	gorp	0,41140861
arcachon	gorp	0,4215714	arcachon	gorp	0,41109205
arcachon	gorp	0,42098308	arcachon	gorp	0,41053096
arcachon	gorp	0,42065424	arcachon	gorp	0,41049357
arcachon	gorp	0,42044879	arcachon	gorp	0,41046715
arcachon	gorp	0,41947828	arcachon	gorp	0,4103047
arcachon	gorp	0,4194192	arcachon	gorp	0,41024222
arcachon	gorp	0,41885486	arcachon	gorp	0,41016879
arcachon	gorp	0,41870575	arcachon	gorp	0,41016627
arcachon	gorp	0,41857517	arcachon	gorp	0,40997354
arcachon	gorp	0,41822957	arcachon	gorp	0,40994352
arcachon	gorp	0,41806989	arcachon	gorp	0,40993095
arcachon	gorp	0,41790076	arcachon	gorp	0,40989919
arcachon	gorp	0,41744604	arcachon	gorp	0,40969702
arcachon	gorp	0,41733797	arcachon	gorp	0,40940185
arcachon	gorp	0,41715917	arcachon	gorp	0,40936211
arcachon	gorp	0,41700918	arcachon	gorp	0,40931603
arcachon	gorp	0,41677361	arcachon	gorp	0,40900441
arcachon	gorp	0,41671982	arcachon	gorp	0,40890538
arcachon	gorp	0,41669674	arcachon	gorp	0,4087738
arcachon	gorp	0,41663315	arcachon	gorp	0,40872368
arcachon	gorp	0,41636121	arcachon	gorp	0,40871752
arcachon	gorp	0,41627322	arcachon	gorp	0,40869565
arcachon	gorp	0,41598251	arcachon	gorp	0,40859819
arcachon	gorp	0,41565169	arcachon	gorp	0,40845186
arcachon	gorp	0,41532644	arcachon	gorp	0,40843732
arcachon	gorp	0,41524871	arcachon	gorp	0,40821129
arcachon	gorp	0,41522035	arcachon	gorp	0,40808401
arcachon	gorp	0,41518592	arcachon	gorp	0,40787069
arcachon	gorp	0,4151472	arcachon	gorp	0,40781634
arcachon	gorp	0,41495778	arcachon	gorp	0,40779983
arcachon	gorp	0,41479477	arcachon	gorp	0,40775538
			arcachon	gorp	0,40754351

arcachon	gorp	0,40738212	arcachon	les jalles	0,42548319
arcachon	gorp	0,40725307	arcachon	les jalles	0,42207702
arcachon	gorp	0,40698653	arcachon	les jalles	0,42187492
arcachon	gorp	0,40647468	arcachon	les jalles	0,41843073
arcachon	gorp	0,40628448	arcachon	les jalles	0,41753105
arcachon	gorp	0,40617667	arcachon	les jalles	0,41670802
arcachon	gorp	0,40591468	arcachon	les jalles	0,41568162
arcachon	gorp	0,40590376	arcachon	les jalles	0,41552646
arcachon	gorp	0,40586401	arcachon	les jalles	0,41535395
arcachon	gorp	0,40579648	arcachon	les jalles	0,41446952
arcachon	gorp	0,4057032	arcachon	les jalles	0,41440968
arcachon	gorp	0,40544898	arcachon	les jalles	0,414245
arcachon	gorp	0,40544647	arcachon	les jalles	0,41392377
arcachon	gorp	0,4051246	arcachon	les jalles	0,41370433
arcachon	gorp	0,40502641	arcachon	les jalles	0,41362192
arcachon	gorp	0,40417685	arcachon	les jalles	0,41332455
arcachon	gorp	0,40411516	arcachon	les jalles	0,41322523
arcachon	gorp	0,40409021	arcachon	les jalles	0,41305459
arcachon	gorp	0,40394862	arcachon	les jalles	0,41295696
arcachon	gorp	0,40394262	arcachon	les jalles	0,41272746
arcachon	gorp	0,40364241	arcachon	les jalles	0,41243375
arcachon	gorp	0,40311315	arcachon	les jalles	0,41226495
arcachon	gorp	0,40288438	arcachon	les jalles	0,41216656
arcachon	gorp	0,40281679	arcachon	les jalles	0,41210145
arcachon	gorp	0,40273274	arcachon	les jalles	0,41177429
arcachon	gorp	0,40220879	arcachon	les jalles	0,4116471
arcachon	gorp	0,40218562	arcachon	les jalles	0,41127805
arcachon	gorp	0,40213744	arcachon	les jalles	0,4109629
arcachon	gorp	0,40181498	arcachon	les jalles	0,41089955
arcachon	gorp	0,40147734	arcachon	les jalles	0,41079786
arcachon	gorp	0,40080806	arcachon	les jalles	0,41067225
arcachon	gorp	0,40061538	arcachon	les jalles	0,41029047
arcachon	gorp	0,40018426	arcachon	les jalles	0,41020119
arcachon	gorp	0,39980064	arcachon	les jalles	0,41001081
arcachon	gorp	0,39961085	arcachon	les jalles	0,40998488
arcachon	gorp	0,39935742	arcachon	les jalles	0,40965765
arcachon	gorp	0,39915932	arcachon	les jalles	0,40958924
arcachon	gorp	0,39894057	arcachon	les jalles	0,4095691
arcachon	gorp	0,39883292	arcachon	les jalles	0,40943209
arcachon	gorp	0,3978568	arcachon	les jalles	0,40934566
arcachon	gorp	0,39784619	arcachon	les jalles	0,4093365
arcachon	gorp	0,39587871	arcachon	les jalles	0,40925852
arcachon	gorp	0,3936616	arcachon	les jalles	0,40919277
arcachon	gorp	0,39240706	arcachon	les jalles	0,4089546
arcachon	gorp	0,3918281	arcachon	les jalles	0,40892624
arcachon	gorp	0,38994291	arcachon	les jalles	0,40874085
arcachon	gorp	0,3860241	arcachon	les jalles	0,40848231
arcachon	gorp	0,38435525	arcachon	les jalles	0,40846659
arcachon	gorp	0,3826968	arcachon	les jalles	0,40831641
arcachon	gorp	0,37947123	arcachon	les jalles	0,40801235
arcachon	gorp	0,37696739	arcachon	les jalles	0,40787106
arcachon	gorp	0,37527604	arcachon	les jalles	0,40779751
arcachon	gorp	0,36746102	arcachon	les jalles	0,40779579
arcachon	gorp	0,34671771	arcachon	les jalles	0,40771513
arcachon	gorp	0,34090712	arcachon	les jalles	0,40748732

arcachon	les jalles	0,4074287	arcachon	les jalles	0,40154009
arcachon	les jalles	0,40703502	arcachon	les jalles	0,40148404
arcachon	les jalles	0,40703132	arcachon	les jalles	0,40127866
arcachon	les jalles	0,40702344	arcachon	les jalles	0,40123019
arcachon	les jalles	0,40678823	arcachon	les jalles	0,40114182
arcachon	les jalles	0,40671799	arcachon	les jalles	0,40042455
arcachon	les jalles	0,40659112	arcachon	les jalles	0,40032295
arcachon	les jalles	0,40652523	arcachon	les jalles	0,40020568
arcachon	les jalles	0,40646932	arcachon	les jalles	0,40008293
arcachon	les jalles	0,40646029	arcachon	les jalles	0,39977028
arcachon	les jalles	0,40626171	arcachon	les jalles	0,39975144
arcachon	les jalles	0,40622032	arcachon	les jalles	0,39918839
arcachon	les jalles	0,40596964	arcachon	les jalles	0,39918485
arcachon	les jalles	0,40595954	arcachon	les jalles	0,39918477
arcachon	les jalles	0,40581633	arcachon	les jalles	0,39866462
arcachon	les jalles	0,4058046	arcachon	les jalles	0,39858896
arcachon	les jalles	0,40567755	arcachon	les jalles	0,39855999
arcachon	les jalles	0,4056358	arcachon	les jalles	0,39836429
arcachon	les jalles	0,40542953	arcachon	les jalles	0,39798753
arcachon	les jalles	0,40539975	arcachon	les jalles	0,39791385
arcachon	les jalles	0,40525533	arcachon	les jalles	0,39772302
arcachon	les jalles	0,40519132	arcachon	les jalles	0,39731159
arcachon	les jalles	0,40515963	arcachon	les jalles	0,39716987
arcachon	les jalles	0,40514943	arcachon	les jalles	0,3970286
arcachon	les jalles	0,40509434	arcachon	les jalles	0,39695793
arcachon	les jalles	0,40466644	arcachon	les jalles	0,39694502
arcachon	les jalles	0,40434128	arcachon	les jalles	0,39682348
arcachon	les jalles	0,40430834	arcachon	les jalles	0,3966439
arcachon	les jalles	0,40429619	arcachon	les jalles	0,39659434
arcachon	les jalles	0,40404822	arcachon	les jalles	0,39641469
arcachon	les jalles	0,40403738	arcachon	les jalles	0,39632148
arcachon	les jalles	0,40400801	arcachon	les jalles	0,39583827
arcachon	les jalles	0,40389231	arcachon	les jalles	0,39579475
arcachon	les jalles	0,40385691	arcachon	les jalles	0,3957667
arcachon	les jalles	0,40380308	arcachon	les jalles	0,39548884
arcachon	les jalles	0,40367983	arcachon	les jalles	0,39496778
arcachon	les jalles	0,40367348	arcachon	les jalles	0,39492504
arcachon	les jalles	0,40367186	arcachon	les jalles	0,39488599
arcachon	les jalles	0,4036027	arcachon	les jalles	0,39477117
arcachon	les jalles	0,40350071	arcachon	les jalles	0,39459458
arcachon	les jalles	0,40338076	arcachon	les jalles	0,39380928
arcachon	les jalles	0,40312938	arcachon	les jalles	0,39371684
arcachon	les jalles	0,40310308	arcachon	les jalles	0,3936961
arcachon	les jalles	0,40309115	arcachon	les jalles	0,39369174
arcachon	les jalles	0,40302028	arcachon	les jalles	0,39360897
arcachon	les jalles	0,40279509	arcachon	les jalles	0,39308108
arcachon	les jalles	0,40275002	arcachon	les jalles	0,39228468
arcachon	les jalles	0,40271766	arcachon	les jalles	0,39189311
arcachon	les jalles	0,40258536	arcachon	les jalles	0,39177686
arcachon	les jalles	0,40248864	arcachon	les jalles	0,39177562
arcachon	les jalles	0,40233117	arcachon	les jalles	0,39101635
arcachon	les jalles	0,40219244	arcachon	les jalles	0,39093705
arcachon	les jalles	0,40216633	arcachon	les jalles	0,38961274
arcachon	les jalles	0,40184388	arcachon	les jalles	0,38959363
arcachon	les jalles	0,40173257	arcachon	les jalles	0,38575436

arcachon	les jalles	0,38534983	arcachon	la vigne	0,3929401
arcachon	les jalles	0,38500857	arcachon	la vigne	0,39283167
arcachon	les jalles	0,38490204	arcachon	la vigne	0,39258307
arcachon	les jalles	0,38373562	arcachon	la vigne	0,39252553
arcachon	les jalles	0,38231534	arcachon	la vigne	0,39233294
arcachon	les jalles	0,38219652	arcachon	la vigne	0,39210792
arcachon	les jalles	0,38186096	arcachon	la vigne	0,39199982
arcachon	les jalles	0,38133517	arcachon	la vigne	0,39184476
arcachon	les jalles	0,37804134	arcachon	la vigne	0,39177275
arcachon	les jalles	0,37113684	arcachon	la vigne	0,39170266
arcachon	les jalles	0,37096868	arcachon	la vigne	0,39160974
arcachon	les jalles	0,35721856	arcachon	la vigne	0,39156604
arcachon	la vigne	0,42021159	arcachon	la vigne	0,39124153
arcachon	la vigne	0,40576381	arcachon	la vigne	0,39114806
arcachon	la vigne	0,40552606	arcachon	la vigne	0,39100042
arcachon	la vigne	0,40467986	arcachon	la vigne	0,39062943
arcachon	la vigne	0,40431337	arcachon	la vigne	0,39048515
arcachon	la vigne	0,40329916	arcachon	la vigne	0,39041106
arcachon	la vigne	0,40264558	arcachon	la vigne	0,39028939
arcachon	la vigne	0,40213224	arcachon	la vigne	0,39022175
arcachon	la vigne	0,40168244	arcachon	la vigne	0,39002694
arcachon	la vigne	0,40165474	arcachon	la vigne	0,38979193
arcachon	la vigne	0,40159001	arcachon	la vigne	0,38975528
arcachon	la vigne	0,40138394	arcachon	la vigne	0,38893735
arcachon	la vigne	0,40101683	arcachon	la vigne	0,38832313
arcachon	la vigne	0,40086645	arcachon	la vigne	0,38804024
arcachon	la vigne	0,40009052	arcachon	la vigne	0,38699447
arcachon	la vigne	0,39978251	arcachon	la vigne	0,38696659
arcachon	la vigne	0,39969907	arcachon	la vigne	0,38689346
arcachon	la vigne	0,39925079	arcachon	la vigne	0,38657172
arcachon	la vigne	0,39763557	arcachon	la vigne	0,38655587
arcachon	la vigne	0,39763497	arcachon	la vigne	0,3862974
arcachon	la vigne	0,39757303	arcachon	la vigne	0,38612337
arcachon	la vigne	0,39717654	arcachon	la vigne	0,38592176
arcachon	la vigne	0,39704451	arcachon	la vigne	0,38563332
arcachon	la vigne	0,39680525	arcachon	la vigne	0,38549342
arcachon	la vigne	0,39628785	arcachon	la vigne	0,3852282
arcachon	la vigne	0,396072	arcachon	la vigne	0,38518449
arcachon	la vigne	0,39596326	arcachon	la vigne	0,38506645
arcachon	la vigne	0,39595059	arcachon	la vigne	0,38499959
arcachon	la vigne	0,39594981	arcachon	la vigne	0,38470107
arcachon	la vigne	0,39586082	arcachon	la vigne	0,38470107
arcachon	la vigne	0,39560239	arcachon	la vigne	0,38464217
arcachon	la vigne	0,39546956	arcachon	la vigne	0,38447704
arcachon	la vigne	0,39463856	arcachon	la vigne	0,38429291
arcachon	la vigne	0,39445603	arcachon	la vigne	0,38426486
arcachon	la vigne	0,39427256	arcachon	la vigne	0,38395666
arcachon	la vigne	0,39408093	arcachon	la vigne	0,3837478
arcachon	la vigne	0,39390106	arcachon	la vigne	0,38369702
arcachon	la vigne	0,39380435	arcachon	la vigne	0,38365199
arcachon	la vigne	0,39370413	arcachon	la vigne	0,38356657
arcachon	la vigne	0,39329814	arcachon	la vigne	0,38342621
arcachon	la vigne	0,39316827	arcachon	la vigne	0,38312836
arcachon	la vigne	0,39305267	arcachon	la vigne	0,38300269
arcachon	la vigne	0,39302776	arcachon	la vigne	0,38288066

arcachon	la vigne	0,38285162	arcachon	la vigne	0,36501207
arcachon	la vigne	0,38264423	arcachon	la vigne	0,36482971
arcachon	la vigne	0,38264167	arcachon	la vigne	0,36338192
arcachon	la vigne	0,38253759	arcachon	la vigne	0,36247595
arcachon	la vigne	0,38239843	arcachon	la vigne	0,36211799
arcachon	la vigne	0,38227396	arcachon	la vigne	0,36185335
arcachon	la vigne	0,38206606	arcachon	la vigne	0,36145243
arcachon	la vigne	0,38200578	arcachon	la vigne	0,36112116
arcachon	la vigne	0,38161304	arcachon	la vigne	0,36093783
arcachon	la vigne	0,38130315	arcachon	la vigne	0,3603702
arcachon	la vigne	0,38107772	arcachon	la vigne	0,34770404
arcachon	la vigne	0,38107648	arcachon	la vigne	0,32597156
arcachon	la vigne	0,38101865	arcachon	la vigne	0,31062227
arcachon	la vigne	0,38095424	arcachon	la vigne	0,31002895
arcachon	la vigne	0,38076493	arcachon	camprian	0,42908641
arcachon	la vigne	0,38071838	arcachon	camprian	0,4288057
arcachon	la vigne	0,38033927	arcachon	camprian	0,4261721
arcachon	la vigne	0,38022178	arcachon	camprian	0,42465656
arcachon	la vigne	0,38009021	arcachon	camprian	0,42289092
arcachon	la vigne	0,37984431	arcachon	camprian	0,42263435
arcachon	la vigne	0,37972757	arcachon	camprian	0,42227436
arcachon	la vigne	0,37967747	arcachon	camprian	0,42117221
arcachon	la vigne	0,3796346	arcachon	camprian	0,42107505
arcachon	la vigne	0,37918143	arcachon	camprian	0,42054173
arcachon	la vigne	0,3785825	arcachon	camprian	0,42050957
arcachon	la vigne	0,37840439	arcachon	camprian	0,4204566
arcachon	la vigne	0,37821121	arcachon	camprian	0,42030468
arcachon	la vigne	0,37797388	arcachon	camprian	0,42022141
arcachon	la vigne	0,37753715	arcachon	camprian	0,4200492
arcachon	la vigne	0,37731114	arcachon	camprian	0,41988954
arcachon	la vigne	0,37676714	arcachon	camprian	0,41967029
arcachon	la vigne	0,37633723	arcachon	camprian	0,41929728
arcachon	la vigne	0,37605978	arcachon	camprian	0,41928807
arcachon	la vigne	0,37591294	arcachon	camprian	0,41847656
arcachon	la vigne	0,37512597	arcachon	camprian	0,4181944
arcachon	la vigne	0,37509646	arcachon	camprian	0,41761952
arcachon	la vigne	0,37486628	arcachon	camprian	0,41749707
arcachon	la vigne	0,374789	arcachon	camprian	0,41725152
arcachon	la vigne	0,37447579	arcachon	camprian	0,41693476
arcachon	la vigne	0,37402096	arcachon	camprian	0,41621865
arcachon	la vigne	0,37382207	arcachon	camprian	0,41600277
arcachon	la vigne	0,37368672	arcachon	camprian	0,41585005
arcachon	la vigne	0,37297942	arcachon	camprian	0,41579439
arcachon	la vigne	0,3725642	arcachon	camprian	0,41574601
arcachon	la vigne	0,3722094	arcachon	camprian	0,41563969
arcachon	la vigne	0,37215767	arcachon	camprian	0,41506975
arcachon	la vigne	0,37212168	arcachon	camprian	0,41480614
arcachon	la vigne	0,37151878	arcachon	camprian	0,41458484
arcachon	la vigne	0,37111348	arcachon	camprian	0,41455379
arcachon	la vigne	0,36984149	arcachon	camprian	0,41380237
arcachon	la vigne	0,36642966	arcachon	camprian	0,41379149
arcachon	la vigne	0,36628611	arcachon	camprian	0,41378911
arcachon	la vigne	0,36607935	arcachon	camprian	0,41362003
arcachon	la vigne	0,36545813	arcachon	camprian	0,41361345
arcachon	la vigne	0,36519799	arcachon	camprian	0,41360342

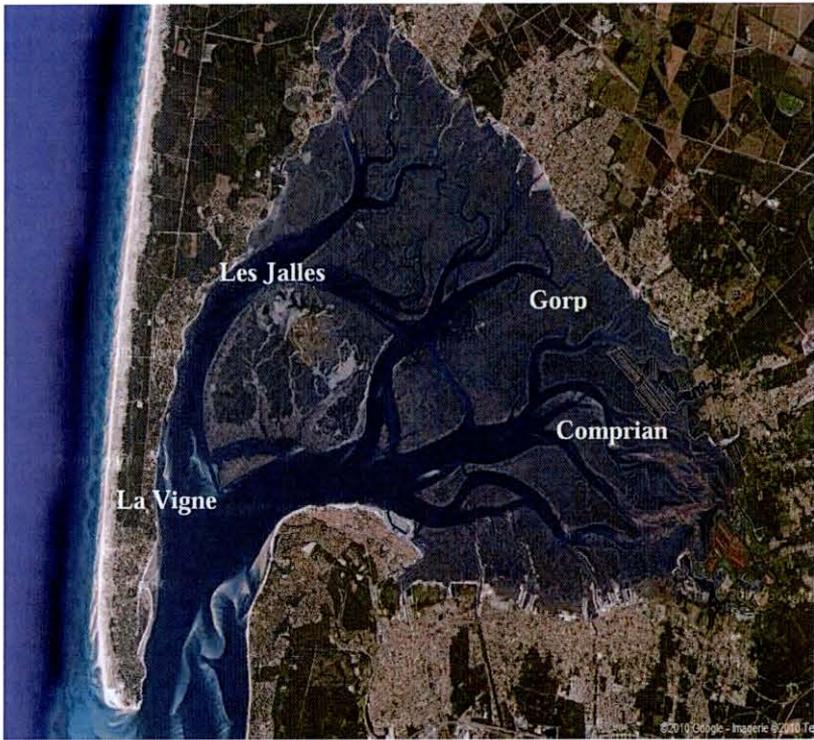
arcachon	camprian	0,41338956	arcachon	camprian	0,4042204
arcachon	camprian	0,41338469	arcachon	camprian	0,40363415
arcachon	camprian	0,41305803	arcachon	camprian	0,40306413
arcachon	camprian	0,41298609	arcachon	camprian	0,40300283
arcachon	camprian	0,4126936	arcachon	camprian	0,40267057
arcachon	camprian	0,41167982	arcachon	camprian	0,40243726
arcachon	camprian	0,41165636	arcachon	camprian	0,40235989
arcachon	camprian	0,41136918	arcachon	camprian	0,40170452
arcachon	camprian	0,41129095	arcachon	camprian	0,40169896
arcachon	camprian	0,41112294	arcachon	camprian	0,40161202
arcachon	camprian	0,41093532	arcachon	camprian	0,40116503
arcachon	camprian	0,41088343	arcachon	camprian	0,40108809
arcachon	camprian	0,41079786	arcachon	camprian	0,40105848
arcachon	camprian	0,41050092	arcachon	camprian	0,4010047
arcachon	camprian	0,41042099	arcachon	camprian	0,40082496
arcachon	camprian	0,41034985	arcachon	camprian	0,40056499
arcachon	camprian	0,41022375	arcachon	camprian	0,40026411
arcachon	camprian	0,40974805	arcachon	camprian	0,40014379
arcachon	camprian	0,40967416	arcachon	camprian	0,40003509
arcachon	camprian	0,40934144	arcachon	camprian	0,40002604
arcachon	camprian	0,40930011	arcachon	camprian	0,39941073
arcachon	camprian	0,40927885	arcachon	camprian	0,39905838
arcachon	camprian	0,40910503	arcachon	camprian	0,39891919
arcachon	camprian	0,40894512	arcachon	camprian	0,39859438
arcachon	camprian	0,40893768	arcachon	camprian	0,39808987
arcachon	camprian	0,40881171	arcachon	camprian	0,39779333
arcachon	camprian	0,40752268	arcachon	camprian	0,3974949
arcachon	camprian	0,40738853	arcachon	camprian	0,39734152
arcachon	camprian	0,40719078	arcachon	camprian	0,39708419
arcachon	camprian	0,4070139	arcachon	camprian	0,39707965
arcachon	camprian	0,40690551	arcachon	camprian	0,39682333
arcachon	camprian	0,4066773	arcachon	camprian	0,39671051
arcachon	camprian	0,4066632	arcachon	camprian	0,39667044
arcachon	camprian	0,40657086	arcachon	camprian	0,39655794
arcachon	camprian	0,40656938	arcachon	camprian	0,39647258
arcachon	camprian	0,40652403	arcachon	camprian	0,39621941
arcachon	camprian	0,40635542	arcachon	camprian	0,39612602
arcachon	camprian	0,40628538	arcachon	camprian	0,39551539
arcachon	camprian	0,40603753	arcachon	camprian	0,39510742
arcachon	camprian	0,40582047	arcachon	camprian	0,39385391
arcachon	camprian	0,40574597	arcachon	camprian	0,39293683
arcachon	camprian	0,40569984	arcachon	camprian	0,39174766
arcachon	camprian	0,40565431	arcachon	camprian	0,39140357
arcachon	camprian	0,40547425	arcachon	camprian	0,39111409
arcachon	camprian	0,40540862	arcachon	camprian	0,39055065
arcachon	camprian	0,40523949	arcachon	camprian	0,3902887
arcachon	camprian	0,40523287	arcachon	camprian	0,38884393
arcachon	camprian	0,40520188	arcachon	camprian	0,38799049
arcachon	camprian	0,4049825	arcachon	camprian	0,38745439
arcachon	camprian	0,40496166	arcachon	camprian	0,38711788
arcachon	camprian	0,40478864	arcachon	camprian	0,38681645
arcachon	camprian	0,4047562	arcachon	camprian	0,38673936
arcachon	camprian	0,40473038	arcachon	camprian	0,38623396
arcachon	camprian	0,40448875	arcachon	camprian	0,38583333
arcachon	camprian	0,40424233	arcachon	camprian	0,38577448

arcachon	camprian	0,37562062
arcachon	camprian	0,3747729

arcachon	camprian	0,35219579
arcachon	camprian	0,32556442



Bassin de Marennes Oléron



Bassin d'Arcachon