

LABORATOIRE DE PATHOLOGIE ET DE GÉNÉTIQUE
DES INVERTEBRES MARINS

Station de La Tremblade

RAPPORT ANNUEL D'ACTIVITE

Année 1989
Rapport interne

LABORATOIRE DE PATHOLOGIE ET DE GENETIQUE
DES INVERTEBRES MARINS

COMPTE RENDU D'ACTIVITE
1989

1 - FONCTIONNEMENT GENERAL

1.1. PERSONNELS

Cadre :	PATHOLOGIE	GENETIQUE-ECLOSERIE
	E. Bachère	A. Gérard
	V. Boulo (FA)	T. Noël (FA)
	D. Chagot (FA)	
	E. Mialhe	
	G.Le Gall (C.D.D)	
Non cadre :	G. Cailleteau	J.P. Cadoret (FA)
		P. Phélipot(FA)
Secrétariat :	G. Bonhomme, puis Y. Simian	
Administratif :	P. Gras	
Responsable du laboratoire et de la station :	H. Grizel	

1.2. AFFECTATIONS ET MOUVEMENTS

- . A. Gérard a été recruté à compter du 1er octobre.
- . G. Bonhomme a quitté le laboratoire fin octobre (congé sans solde d'un an).
- . Y. Simian employée à la SODAB a été affectée le 1er novembre
- . G. Le Gall a remplacé E. Bachère durant ses congés de maternité

1.3. STAGIAIRES

A/Français

- . A. Diter - Boursier IFREMER - Polyploïdisation en aquaculture. Le contrat s'est terminé fin septembre (rédaction thèse en cours).
- . D. Hervio - Boursière IFREMER depuis octobre - Mécanisme de défense : modèle Bonamia
- . G. Le Gall - Infection rickettsienne chez *Pecten maximus* (thèse en cours de rédaction). Poste trouvé à la station Aviare de Ploufragan.
- . S. Gendreau - CDD SANOFI - Thèse en cours : Génétique des *Peneïdes* : transfert de gènes.
- . D. Noël - Thèse en cours : Neoplasie hémocytaire de la moule.
- . M. Ohresser - Boursier Elf Aquitaine - Thèse sur modèle antisens baculovirus (en poste depuis le 15 octobre).
- . C. Cousin - Magistère - Nancy . Mémoire soutenu octobre. Actuellement en thèse : Mise au point de sondes ADN. Bourse IFREMER région Normandie.
- . E. AUBREE - CDD SANOFI - Fin de contrat décembre 1989. Bactériologie (diagnostic et traitement).
- . B. Desprez - INTM Cherbourg - Stage fin étude (4 mois). Mémoire soutenu en septembre. Actuellement stage production phytoplancton (contrat Elf Aquitaine).
- . C. Ledu - INTM Cherbourg - Stage fin étude (6 mois). Mémoire soutenu en septembre. Recruté VAT à Tahiti.

. A. Fougerous - Stage histologie et bactériologie (3 mois).
Coopération IFREMER (COP) et EVAAM.

. M.R. Le Deuff - Stage 3 mois - Production de phytoplancton
(contrat Elf Aquitaine).

B/Etrangers

. S.Mortensen, Norvège - Fin de stage juin 89 . Pathologie des
mollusques.

. E et M. Zampatti - Argentine - Fin de stage septembre 89.
Reproduction en éclosérie d'*Ostrae puelchana* : tests de
résistance à *B. Ostreae* et *M. Refringens*.

. Lee Gee Tag - Corée du sud - Avril à octobre 89 reproduction
en éclosérie d'*Ostrea denselamellosa*.

1.4 FONCTIONNEMENT DU LABORATOIRE

Certaines des remarques faites l'an dernier sont toujours
d'actualité :

- 1 - le laboratoire n'a pas d'équipe génétique,
- 2 - les stagiaires aident à la réalisation d'une bonne partie
des programmes,
- 3 - Il manque toujours de personnels technique et logistique.

1.5. MISSIONS A L'ETRANGER

. E. Mialhe) Tahiti du 18 au 25 février . Participation au
. H. Grizel (colloque de pathologie en aquaculture. Prise en
charge au COP.

. E. Mialhe
- Japon du 1er au 13 septembre. Participation Congrès
biotechnologie. Prise en charge ADEBIO - IFREMER.

. D. Chagot
- Italie du 26 au 30 juin. Participation Congrès Immunologie
des Invertébrés. Prise en charge IFREMER.
- Tahiti du 23 oct. au 11 nov. Récolte du matériel Coopération
COP-La Tremblade. Contrat CORDETE.

V. Boulo) Hollande du 16 au 21 octobre. Groupe de travail

D. Hervio (Bonamia Prise en charge par FA-IFREMER.

H. Grizel)

V. Boulo -) Hollande du 16 au 21 octobre. Groupe de travail
D. Hervio (Bonamia Prise en charge par FA-IFREMER.
H. Grizel)

. H.Grizel

- Irlande du 22 au 26 mai. Groupe de travail CIEM
"Introduction et transfert des organismes marins". Prise en
charge IFREMER.

- Espagne du 25 au 29 septembre et du 28 novembre au 1er
décembre. Participation au congrès de l'E.A.F.P.. Préparation
des programmes de coopération CEE. Prise en charge : Actions
Intégrées Franco-Espagnoles.

- Belgique - Bruxelles du 17 au 18 décembre. Elaboration des
textes zoosanitaires CEE. Prise en charge CEE.

. D. Noël - U.S.A. Juillet/août. Coopération sur néoplasie
hemocytaire. Prise en charge laboratoire de Battele (USA).

1.6. FORMATION CONTINUE DES PERSONNELS IFREMER ET FA

- Utilisation de produits radiomarqués - E. Mialhe - Prise en
charge IFREMER.

- Hybridation in situ (Microscopie optique et électronique) -
D. Chagot - Prise en charge FA.

- Stages à SANOFI Labège - Christelle Cousin et Sylvain
Gendreau : technique de séquençage.

Remarque : Un stage électricité a été refusé à P. Phélipot
alors qu'il doit intervenir obligatoirement dans la salle du
transformateur. Un agrément est absolument indispensable.

1.7. PARTICIPATION DU PERSONNEL A DES FORMATIONS CONTINUES

A La Tremblade :

- 15 février : BPA Zanette

- Stage 1 semaine/novembre : Giorgio Tiscar. Techniques de
diagnostic.

- Stage 2 mois : Jean-Marie Peignon COP. Techniques de triploïdisation, d'insertion de matériel dans les cellules, de caryologie.

A l'extérieur :

- 17 janvier : Participation aux journées de Brest.
- mars : INTM Cherbourg.
- mai : AFMAR Bordeaux.
- 27 juin : Lycée Conchylicole Marennes.

1.8. MANIFESTATION ORGANISEE PAR LA STATION

- Samedi 15 et dimanche 16 avril : Journées portes ouvertes.

1.9. PRINCIPALES VISITES DU LABORATOIRE PAR DES GROUPES ET DES VISITEURS ETRANGERS

- 09 mars : Délégation espagnole. Coopération Franco-espagnole.
- 20 mai : Signature du contrat Région Poitou-Charente-IFREMER.
- juin : Mike Sinclair Canada.
- 06 octobre : Groupe symposium E.A.S.
- Début Oct. : Renée Lavoie Canada.
- 13 octobre : Visite Elf-Aquitaine.
- 13 novembre : Groupe INRA.
- 25 novembre : Groupe journaliste et SR Marennes- Oléron (opérations label rouge).

2 - PRINCIPAUX RESULTATS

2.1. PATHOLOGIE

2.1.1. Préparation de textes et de stratégie de contrôles zoosanitaires (H. Grizel en collaboration avec le C.S.R.U.).

Des textes concernant la liste des maladies-hôts, le descriptif des principales maladies, la stratégie de contrôle et les méthodes de dépistage à mettre en oeuvre ont été soumis à l'Office International des Epizooties. Un travail similaire a été réalisé pour la préparation de textes de réglementations zoosanitaires du cheptel marin au sein de la C.E.E.

2.1.2. Mise au point d'outils de diagnostic (V. Boulo, G. Le Gall, K. Cousin, T. Noël, E. Aubrée, D. Hervio).

Le kit ELISA pour *Bonamia* a été modifié afin de supprimer les réponses de faux positifs.

Des anticorps monoclonaux et une sonde ADN spécifique de la rickettsiose de coquille St-Jacques sont disponibles. Ils pourront, si c'est nécessaire, être utilisés pour le développement de kits de diagnostics.

L'ADN total de *Bonamia ostreae* a été extrait directement à partir d'huîtres parasitées. Un début de banque génomique de *B. ostreae* a été créé par l'obtention de trois cents clones recombinants dont 10 ont été caractérisés. Des sondes ADN préparés selon un marquage froid (kit Amersham) sont disponibles. Une comparaison de l'ADN total et de ces sondes sera faite avec du matériel génomique extrait à partir de *Bonamia purifié*. La technique d'extraction du DNA total a été également appliquée à *Marteilia refrigens*.

Des premiers essais de recherche d'agents pathogènes (rickettsie de coquille St-Jacques), selon la technique P.C.R., ont été réalisés. Le testage de trois enzymes pouvant intervenir dans les réactions a permis de retenir la Taq polymérase Peninsula. Le fragment utilisé (sonde ADN de 375 paires de base) a donné de bonnes réponses, l'amplification permettant de déceler l'équivalent de 500pg d'ADN , alors

qu'une sonde normale utilisée sur film nitrocellulose ne permet qu'une détection de 100ng d'ADN.

Enfin les plaques de quantification bactériennes préparées par déshydratation ou par lyophilisation ont été testées. La première technique a dû être abandonnée car elle donnait des résultats anarchiques. Après un nécessaire réajustement des pH qui sont modifiés au cours de la lyophilisation cette technique a été retenue. Les tests de stabilité et de spécificité ont donné de bons résultats, ceux de sensibilité sont en cours. La plaque est d'ores et déjà commercialisée.

Remarque : L'absence d'envoi de matériel biologique ad hoc n'a toujours pas permis d'aborder la mise au point de diagnostic Crevettes.

2.1.3. Etude des cas de mortalités et des maladies.

2.1.3.1. Cas de mortalités

A/MOLLUSQUES

(D. Chagot, H. Grizel)

Une étude anatomopathologique de Palourdes (*Ruditapes philippinarum*), subissant des mortalités anormales, en novembre, a permis de diagnostiquer la présence de Trematodes. Ce lot qui était dans de très mauvaises conditions d'élevage a été éliminé. Cette infection semble être très localisée. Une étude complémentaire sera réalisée en M. E. au niveau des lésions cellulaires.

B/CRUSTACES

(D. Chagot en coopération avec Weppe)

L'histologie de Crevettes des Philippines a révélé la présence de corps d'inclusion, type MBV, dans les cellules de l'hépatopancréas.

REMARQUE : Plusieurs échantillons nous ont été transmis mais mal fixés et inutilisables. Un protocole va être diffusé auprès des collègues FA.

2.1.3.2. Rickettsioses (G. Le Gall)

L'étude de la rickettsiose de coquille St-Jacques s'est terminée cette année. Les résultats des expériences de physiopathologie permettent de penser que la présence de rickettsies (forte infection) associée à des stress (en particulier des températures inférieures à 8°C) entraînent des mortalités (Rapport mai 1989).

La seule hypothèse restant à vérifier, est le rôle de l'âge sur la contamination. Des coquilles âgées de 8 à 10 mois sont elles aussi réceptives à la maladie que des coquilles de 4 à 6 mois ? Pour vérifier ce point, un transfert de Méditerranée vers la baie de St-Brieuc a du avoir lieu mi-novembre.

2.1.3.3. Néoplasie hémocytaire des moules. (D. Noël, V. Boulo).

- Trois essais d'induction utilisant le bromodioxyuridine pour mettre en évidence des retrovirus soupçonnés d'être à l'origine des transformations cellulaires n'ont pas abouti. D'autres essais utilisant une enzyme, la reverse transcriptase, sont en cours en collaboration avec le laboratoire de Batelle (U.S.A.).

- Par ailleurs, 27 anticorps monoclonaux reconnaissant des cellules saines et des cellules transformées ont été produits. Deux d'entre eux ont été purifiés et utilisés pour un immunodosage. La caractérisation de ces anticorps sera faite ultérieurement. L'étude sera désormais orientée sur l'identification de gènes oncogènes, et sur leur mode d'action.

2.1.3.4. Syndromes des anneaux bruns chez la Palourde (T. Noël, E. Aubrée en collaboration avec LR La Trinité/Mer et l'UBO).

Des essais de reproduction des symptômes de l'anneau brun ont été effectués en utilisant une suspension de vibrio P₁, des broyats de palourdes malades et du talc. Les symptômes ont été obtenus, quelle que soit la méthode, mais à des faibles taux 7% et 10% avec le talc. Enfin il est important de noter que les jeunes palourdes (T_g), dans les mêmes conditions

d'expérimentations, sont plus sensibles à la maladie que des palourdes de 30 à 40 mm.

2.1.3.5. Malformation du manteau chez *Pinctada margaritifera*
(D. Chagot and collaboration avec Rula U.P.V. Montpellier).

Une étude anatomique du manteau a été réalisée. Six types cellulaires différents ont été identifiés, en particulier les cellules à conchyoline situées uniquement au niveau d'un des replis de la bordure du manteau. Tous ces types cellulaires présentent une activité peroxydase. L'observation du manteau au niveau des malformations de la coquille n'a pas permis de mettre en évidence d'agent pathogène connu. Les lésions sont caractérisées par une ulcération d'un type cellulaire située sur le côté externe du manteau.

L'étude d'activité enzymatique sera poursuivie en collaboration avec le laboratoire de F. Blanc (U.P.V. Montpellier).

2.1.4 THERAPIES

A) MOLLUSQUES

(T. Noël, E. Aubrée, E. Mialhe, H. Grizel - Coopérations
D. Blateau La Trinité/Mer, U.B.O. Brest)

L'essai clinique après traitement de *Mytilicola intestinalis* a été arrêtée, les infections chez les témoins n'étant pas suffisamment importante. Néanmoins, il apparaît que le traitement ne gêne pas la croissance et n'induit pas de mortalités anormales. Conclusions : une posologie et une méthode d'application de celle-ci sont disponibles en cas d'infection aiguë à *Mytilicola*.

Un traitement, dont l'objectif est de mettre sur le marché de l'élevage des Palourdes non infectées, a été recherché.

Huit produits désinfectants ont été testés *in vitro* sur une souche de vibrio P₁. Plusieurs d'entre eux se sont révélés efficaces, mais certains comme l'Agroseptil se sont aussi

révélés toxiques et difficiles d'emploi, un traitement préliminaire devant être effectué pour faire ouvrir les palourdes.

Par ailleurs, deux antibiotiques ont également été employés. Des résultats très intéressants ont été obtenus avec la Furazolidone (10ppm, 1 traitement par jour pendant 3 jours) aucune souche de P_1 n'ayant été identifiée chez les palourdes traitées, alors que ce vibrio a été décelé chez 52% des témoins présentant les symptômes "anneaux bruns" et chez 20% des témoins ne présentant pas ces signes.

B) CRUSTACES

(E. Mialhe, GAEC Poissons du Soleil)

La mise en évidence *in vivo* d'une action de SR10 sur les conidies de *Fusarium* a conduit à réaliser un essai clinique au GAEC "Les Poissons du Soleil". Cet essai comportait :

- pour un bac, un traitement initial des géniteurs (*Peneaus japonicus*) suivi d'un traitement mensuel;
- pour un deuxième bac, un traitement initial de l'eau et du sable suivi uniquement d'un deuxième traitement;
- un témoin sans traitement.

D'importantes mortalités liées à la présence de *Fusarium* (environ 45%) sont survenues chez le lot témoin, alors que seulement 25% des animaux traités sont morts.

Ce traitement paraît relativement efficace, mais, tenant compte de l'absence d'un tri initial efficace des géniteurs, et de l'impossibilité de définir l'impact ou non du traitement sur la maturation des géniteurs (problème général au GAEC au cours de l'été 89), un nouvel essai a été envisagé pour la saison 89-90.

2.1.5. IMMUNOPATHOLOGIE

(E. Bachère, D. Chagot, V. Boulo, D. Hervio,
B. Desprez, S. Mortensen).

La poursuite des travaux en immunologie sur les différents modèles a nécessité la mise au point d'outils et l'amélioration de ces modèles qui devront encore être plus performants.

Ainsi, plusieurs anticorps monoclonaux susceptibles de reconnaître les phases précoces de replication de l'Iridovirus (LDV souche Leetow) ont été produits. Trois d'entre eux permettent d'identifier, dès le troisième jour la présence de ce virus dans des cultures cellulaires infectées. Une application pourrait être faite en pathologie poisson (titrage précoce ou immunodosage pour déceler une infection virale à LDV).

Des anticorps monoclonaux spécifiques des cellules sanguines de *Crassostrea gigas* ont également été produits. Ils faciliteront les séparations cellulaires et permettront de mieux cerner les rôles respectifs des différents types cellulaires. Une production identique va être faite pour les hémocytes d'*Ostrea edulis*.

Par ailleurs, un facteur serine-protease a été mis en évidence dans le processus de neutralisation d'un *Birnavirus* de la coquille St-Jacques. Le rôle de ces enzymes qui interviennent dans les mécanismes de défense contre plusieurs groupes de virus va être étudié plus en détail.

Enfin, une phosphatase détectée chez les rickettsies pourrait intervenir dans le phénomène d'inhibition du "respiratory burst".

2.2. GENETIQUE

2.2.1. Polyploïdisation

(A. Diter, C. Ledu, T. Noël, P. Phélipot, J.P.
Cadoret).

Cette action comportait deux points : améliorer les techniques d'obtention de tétraploïdes et produire des animaux triploïdes.

1. Plusieurs méthodes d'obtention d'animaux tétraploïdes ont été testées : le traitement hyperbare, l'électrofusion et l'emploi de la cytochalasine.

- Les traitements hyperbares appliqués entre 60 et 70 mn permettent d'obtenir 30% d'individus tétraploïdes. Cependant, ces animaux subissent très rapidement de fortes mortalités. La présence de fragments chromosomiques dans les caryotypes expliquerait ce constat, les traitements s'avérant trop délétères. Des traitements plus courts seront à envisager.

- En l'état actuel des expériences, l'électrofusion n'a permis d'obtenir que de faibles pourcentages de tétraploïdes (20%). Cette technique devrait être optimisée en orientant les oeufs lors des chocs, et en travaillant sur le nombre et la durée des chocs électriques.

- Les résultats les plus prometteurs ont été obtenus en utilisant la cytochalasine avec des oeufs gynogénétiques. Ces derniers sont produits en fécondant des ovules avec du sperme soumis aux U.V. pendant 190s. Les traitements réalisés 10 mn après la fécondation ont permis d'obtenir 45% d'animaux tétraploïdes. La viabilité de ces animaux sera étudiée cette année.

2. La production d'animaux triploïdes a été perturbée par de mauvaises conditions liées à l'outil et à la météorologie. Des améliorations de l'outil, envisagées début 1989 n'ont pu être réalisées, pour partie, qu'en fin d'année (doublement des circuits, climatisation d'une salle).

En conséquence, seule une production minime de palourdes diploïdes et triploïdes a été obtenue. Les objectifs de 1989 sont reportés pour 1990 à condition d'avoir le personnel nécessaire.

2.2.2. Obtention de "souches résistantes" à la bonamiose.
(T. Noël, P. Phélipot, C. Ledu, D. Hervio et laboratoires Bouin et La Trinité/Mer).

Cette action comportait deux points :

- produire une première génération issue de parents ayant survécus à une inoculation de *B. Ostreae*
- pratiquer la "sursélection" inter population.

1. Plusieurs milliers de naissans ont été transférés à l'écloserie de Bouin au cours de l'automne et ont été semés sur parcs ou en claires en Bretagne. La croissance, la prévalence et les taux de survie de ces huîtres seront étudiés, comparativement, à un lot produit également en écloserie de parents originaires baie de Quiberon et à un lot témoin prélevés sur des collecteurs posés en baie de Quiberon.

2. La sursélection a été réalisée en inoculant, 500.000 *B. ostreae* purifié, à des huîtres plates de différentes populations. Six mois après l'inoculation, le lot inoculé (F1 de vieilles huîtres de la baie de Quiberon) avait un taux de survie de 70% alors que les taux des autres lots étaient compris entre 20 et 30%. Les survivants de la F₁ seront utilisées comme géniteurs en 1990.

2.2.3. Transfert de gènes

(E. Mialhe, J.P. Cadoret, S. Gendreau).

Les actions du programme se rapportant au transfert des gènes concernent la mise au point de méthodes d'introduction du DNA, de préparation de sondes et de recherche de DNA répétitif chez les hôtes.

La moule a été retenue comme modèle pour les mollusques, l'Artémie prise initialement comme modèle pour les crustacés a été abandonnée, en raison de son mode de reproduction complexe, au profit de *Peneaus indicus*, espèce cible.

Les paramètres d'électroporation des membranes restent à améliorer : le seuil de perméabilisation qui donnerait les meilleurs rendements d'entrée de DNA, devant être défini.

La technique de micro-injection, qui demande aussi quelques améliorations portant notamment sur le milieu d'inoculation,

est quasiment au point. Elle pourrait être utilisée à d'autres fins, tel l'hybridation.

Le plasmide blue script a été retenu pour la préparation de la sonde d'un gène test (β galactosidase) couplé aux promoteurs HSP70 ou SV40.

Enfin du DNA satellite a été mis en évidence chez les artémies, *P. monodom* et *P. Japonicus*. L'étude du DNA des Pénéides continue afin d'identifier la présence de séquence répétitive.

2.3. ACCLIMATATION D'ESPECE NON INDIGENE

(E. et M. Zampatti, P. Phélipot, T. Noël, C. Ledu Lee Gee Tag).

1. Huit cent mille naissains d'*Ostreae puelchana* ont été produits. Cependant, les températures élevées enregistrées en fin de printemps et au début de l'été ont induit d'importantes mortalités. Ce constat s'applique aussi aux jeunes huîtres *C. gigas* captées l'année précédente dans plusieurs bassins ostréicoles (Arcachon, Marennes-Oléron).

Il en est résulté un transfert rapide des lots expérimentaux vers la Bretagne, puis Arcachon et la Méditerranée. Trois lots issus de combinaisons parentales différentes ont été mis en élevage dans chaque centre :

Femelle non porteuse	x	Grand mâle libre	Femelle non porteuse	x	Petit mâle séparé
et		Femelle porteuse	x	Petit mâle fixé sur femelle	

La mortalité, la croissance et la sensibilité aux Protozooses de l'huître plate seront étudiées.

Les premiers contrôles épidémiologiques ont révélé la présence de *Marteillia refringens* chez des huîtres élevées dans la rivière de St Philibert et à Arcachon (analyses La Trinité/Mer et Sète).

2. Quelques milliers d'*Ostreae denselamellosa* sont actuellement en nurserie au laboratoire. Les élevages larvaires de cette huître ont nécessité la complémentation du régime algal par l'apport de *Chaetoceros calcitrans* variété pumilum. Les juvéniles seront transférés au printemps prochain en Bretagne.

2.4. ECLOSERIE ET PRODUCTION ALGALE

(J.P. Cadoret, R.M. Le Deuff et B. Desprez)

Outre la production algale nécessaire aux animaux de l'écloserie, quatre espèces (*Chaetoceros calcitrans*) *Dunaliella*, BT6 et *Prorocentrum micans*) ont été produites et lyophilisées pour le laboratoire d'Elf-Aquitaine de Pau.

3 - ACTION DE SUPPORT

- Production d'algues pour le LEC
- Fourniture de souches d'algues à des écloseries locales.

4 - PUBLICATION DU LABORATOIRE

4. 1 Publications soumises à revues internationales.

- E. Bachère, D. Hervio, E. Mialhe et H. Grizel. Evidence for neutralizing activity against T₃ coliphage in oyster *Crassostrea gigas* hemolymph. Developmental and comparative Immunology (in press).
- C. Dufy, A. Diter et H. Grizel. Poliploïdy in the Manilla Clam *Ruditapes philippinarum*. I Chemical induction and larval performances of triploïdes. Aquatic living resources (in press).
- H. Rogier, E. Mialhe, V. Boulo, E. Bachère, H. Grizel et F. Paolucci. Monoclonal antibodies against *Bonamia ostreae* (Protozoa Ascetospora). Diseases of Aquatic Organisms (in press).
- H. Grizel et M. Heral. Introduction in France of the Japanese oyster *Crassostrea gigas*. Journal du Conseil (in press).
- S. Gendreau and H. Grizel. Induced triploïdy and tetraploïdy in the European flat oyster, *Ostrea edulis* Aquaculture (in press).
- D. Hervio, D. Chagot, E. Mialhe, P. Godin et H. Grizel. Localization and caractérisation of acid phosphatase activity in *Bonamia ostreae* (Ascetospora) intrahemocytic Protozoan parasite of the flat oyster *Ostrea edulis* (Bivalvia). Publication soumise à Journal of Invertebrate Pathology.
- C. Mourton, V. Boulo, D. Chagot, D. Hervio, E. Mialhe et H. Grizel. Interactions between *Bonamia ostreae* (Protozoa : Ascetospora) and hemocytes of *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas* (Mollusca : Bivalvia) : I In vitro model establishment. Publication soumise à Journal of Invertebrate Pathology.

- D.Chagot, V. Boulo, D. Hervio, E. Mialhe, C. Mourton et H. Grizel. Interactions between *Bonamia ostreae* (Protozoan : Acestopora) and hemocytes of *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas* (Mollusca : Bivalvia) : II Entry mechanisms. Publication soumise à Journal of Invertebrate Pathology.

- D. Noël, V. Boulo, D. Chagot, E. Mialhe, R. Elston et H. Grizel. Preparation and characterization of monoclonal antibodies against neoplastic hemocytes of the bay mussel *Mytilus edulis* (Bivalvia). Publication soumise à Developmental and Comparative Immunology.

- G. Le Gall, E. Mialhe et H. Grizel. Epidemiological study of *Pecten maximus* rickettsiosis. Publication soumise à Disease of Aquatic Organisms.

- N. Cochennec, B. Panatier, V. Boulo, E. Mialhe, H. Grizel et F. Paolucci. Use of monoclonal antibody in a direct sandwich immunoassay for the detection of *Bonamia ostreae* (Ascetospora) in hemolymph samples of flat oyster *Ostrea edulis*. Publication soumise à Diseases of Aquatic Organisms.

- A. Diter et C. Dufy. Polyploidy in the Manila clam *Ruditapes philipinarum* II Chemical induction of tetraploid embryos. Publication soumise à Aquatic Living Resources.

- S. Gendreau, J.P. Cadoret et H. Grizel. *In vitro* fertilization analysis of embryonic development and extramaternnal larval rearing of the larviparous european flat oyster, *Ostrea edulis* L. Publication soumise à Aquatic Living Resources.

- D. Chagot, J. San Juan, C. Alzieu et H. Grizel. Sublethal and histopathological effects of environmental concentrations of tributyl tin fluoride on adult oysters *Crassostera gigas*. Publication soumise a Aquatic Living Resources.

4.2 Publications symposiums. Proceedings.

- **Congrès Biotechnologies marines Japon.**

E. Mialhe, V. Boulo, K. Cousin and H. Grizel :

- Probes to new diagnostic methods for pathogen of molluscs.

- **Invertebrate Immunologie symposium. Lecce Italie.**

E. Bachère et al. Establishment of models for *in vitro* studies of anti infectious immune response of bivalves molluscs.

D. Chagot et al. Functional study of hemocytes of *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas*.

- **International conference of phylogeny of immunity Roscoff.**

D. Chagot et al, . Morphological, biochemical and functional analysis of *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas* hemocytes.

- **Congres ICES 1989 EMEM. Nantes.**

H. Grizel et E. Mialhe. Pathology of molluscs and their protection against infectious diseases.

- **Journées diagnostics par sonde. Ploufragan.**

K. Cousin et al, . Epidemiologie et taxonomie des rickettioses des mollusques marins : la coquille St-Jacques.

- **Congrès EAS. Bordeaux. Table ronde Biotechnologie.**

H. Grizel : Utilisation des anticorps monoclonaux et des sondes ADN pour le diagnostic des maladies de mollusques.

- **Congrès Advances in tropical Aquaculture. Tahiti.**

H. Grizel. Prophylactics strategies and zootechnic measures.

E. Mialhe. infectious pathology in hatcheries of molluscs and shrimps.

- Journées GABIM. Nantes.

K. Cousin. Sondes froides d'acides nucléiques : Application préparation de sondes d'ADN de Rickettsies de *Pecten maximus*.

V. Boulo. Les immunodiagnostic : utilisation en aquaculture

S. Gendreau. Approche méthodologiques du transfert de gènes chez les Invertébrés Marins.

4.3. Thèse.

V. Tendel. La Bonamiose, maladie de l'huître plate. Thèse Doctorat vétérinaire. 102p. Ecole de Toulouse.

4.4. Rapports.

4.4.1. Rapports de stage.

K. Cousin. Préparation et caractérisation des sondes froides d'ADN d'un procaryote de type rickettsie associé à la coquille St-Jacques *Pecten maximus*. Diplôme Magistère Microbiologie Nancy. Octobre 89. 40p.

B. Despres. Application des techniques d'hybridation lymphocytaire et d'immunodosages en pathologie et en immunologie des mollusques. Diplôme INTECHMER Cherbourg. Septembre 89. 32p.

C. Ledu. Application de méthodes cytogénétiques aux mollusques bivalves. Diplôme INTECHMER Cherbourg. Septembre 89. 29p.

E. et M. Zampatti. Larval rearing, nursery growing and implantation at oyster parks of the Argentinian oyster, *Ostrea puelchanca* d'ORB. Septembre 89. 13p.

S. Mortensen. Report from a stay at IFREMER LPGIM. Août 89.
14p.

4.4.2. Rapports de contrats.

- Relance de l'huître plate. Rapport de synthèse. Contrat de plan Etat/région. Laboratoires de La Trinité sur Mer et LPGIM
- DRV - 89 004 RA.

- Etude des cas de mortalités de Coquille St-Jacques en baie de St-Brieuc : Rôle pathogène d'une rickettsie. Contrat IFREMER n° 885-56432. Mai 89. 46p.

- Activité antifongique des morpholines sur une souche de *Fusarium solani* pathogène pour la crevette *Penaeus japonicus*. Rapport confidentiel. Contrat IFREMER-SANOFI. 32p.

- Sélection de molécules antifongiques selon leur activité *in vitro* sur une souche de *Fusarium solani* pathogène pour *Penaeus japonicus*. Rapport confidentiel. Contrat IFREMER-SANOFI. 35p.

- Rapport d'activité. Action Intégrée Franco-Espagnole. Dossier n° 117.

- Rapport étude toxicologie : Effets histologiques du tétrachloroéthylène sur *P. varians*.

4.4.3. Rapports de missions (rapports internes).

- Rapport groupe de travail *Bonamia ostreae*. Ijmuiden du 17 au 19 octobre 1989.

- Rapport Colloque biotechnologie Japon.

- C.R. groupe de travail du CIEM. Introduction et transfert des Organismes marins, Dublin du 23 au 26 mai 89.

4.5 Posters

Symposium E.A.S. Bordeaux.

S. Gendreau, F.P. Cadoret et H. Grizel. Triploidy induction of the larviparous european flat oyster, *Ostrea edulis* L.

R. Robert, T. Noël. Digestion and food value of five unicellular diatoms for *Crassostrea gigas* larvae.

T. Noël, E. Aubrée, E. Mialhe, B. Panatier et H. Grizel. Microplaque de quantification de la flore bactérienne totale et des germes de type "Vibrio" en aquaculture.

D. Blateau, Y. Le Coguc, E. Mialhe, H. Grizel et G. Flamion. Mussel (*M. edulis*) treatment against the red Cop.*Mytilicola intestinalis*.

LISTE DES DESTNATAIRES

Nombre
d'exemplaires

Laboratoires R.A. pour diffusion.

- IFREMER Brest	Yves HARACHE	1
- IFREMER La Trinité/Mer	Joseph MAZURIE	1
- IFREMER Nantes	Jean-Pierre Flasch	1
- IFREMER Bouin	Jean-Pierre Baud	1
- IFREMER L'Houmeau	Marie-José DARDIGNAC	1
- L'HOUMEAU	Alain HERBLAND	1
- IFREMER La Tremblade		5
- IFREMER Arcachon	Jean-Paul DRENO	1
- IFREMER Palavas	Jean-Marc RICARD	1
- IFREMER Sète	Jean-Marc DESLOU PAOLI	1
- IFREMER Tahiti	Jacques CALVAS	1

Pour information :

- Jean-Marc DELAMARE, Directeur Centre IFREMER Nantes	1
- IFREMER/PARIS/DREC	1

Pour attribution :

- IFREMER/PARIS/DRV	1
- IFREMER/PARIS/DRV/RA	2