

Département : Ressources Biologiques et Environnement (**RBE**)
 Unité : Santé, Génétique et Microbiologie des Mollusques Marins (**SG2M**)
 Laboratoire de Génétique et Pathologie des Mollusques Marins (**LGPMM**),
IFREMER, station de la Tremblade

Abdellah BENABDELMOUNA,
Elise Maurouard,
Florence D'Amico,
Jean Luc Seugnet,
James Grizon

Février 2014, - R.INT.RBE/SG2M-LGPMM

**Niveau de ploïdie des naissains d'huître creuse captés
 dans les pertuis charentais, le bassin d'Arcachon et la
 baie de Bourgneuf.
 Réseau Biovigilance, campagne 2012**



Niveau de ploïdie des naissains d'huître creuse captés dans les pertuis charentais, le bassin d'Arcachon et la baie de Bourgneuf. Réseau Biovigilance, campagne 2012

Résumé :

Comme pour les années précédentes, le réseau **biovigilance** a réalisé en 2012 la caractérisation du niveau de ploïdie de naissains captés en 2011. En plus des deux principaux bassins de captage que sont Marennes Oléron et Arcachon, un bassin additionnel (baie de Bourgneuf) a été prospecté grâce à l'analyse de naissains sauvages captés en 2011 au niveau du site de la bernerie en Retz. Les échantillons des naissains sauvages issus du captage naturel ont été prélevés sur plusieurs sites de chaque bassin pour un total analysé de 1340 animaux. En tenant compte de l'échantillonnage, les résultats de suivi de ploïdie sont interprétés comme une **absence d'animaux polyploïdes**, triploïdes ou tétraploïdes, captés dans les trois bassins prospectés.

Cependant, comme les années précédentes la présence de naissains affectés de divers taux d'anomalies génomiques a été rapporté en 2012 : cassures d'ADN et aneuploïdie ADN (hypodiploïdie : une diminution de la taille du génome suite à la perte de matériel génétique par rapport au niveau diploïde). Il est important de noter que, comme pour toutes les années précédentes, aucun naissain hypo ou hypertriploïde, marqueur d'une hypothétique reproduction des huîtres triploïdes, n'a été détecté dans les échantillons collectés.

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 pose la question de leur causes et cela notamment en relation avec la qualité du milieu marin au niveau de ces différents bassins.

SOMMAIRE

I.	INTRODUCTION	5
A.	Cadre de l'étude	5
B.	La ploïdie des huîtres	6
II.	MATERIEL ET METHODES	8
A.	Echantillonnage	8
B.	Analyse de ploïdie en cytométrie en flux	8
1)	Préparation des échantillons	8
2)	Analyses cytométriques	8
3)	Analyse statistique	10
III.	RESULTATS	10
1)	Bassin d'Arcachon	10
2)	Bassin de Marennes Oléron	
3)	Baie de Bourgneuf	
4)	Comparaison des trois bassins	13
IV.	CONCLUSION	14
IV.	BIBLIOGRAPHIE	16
ANNEXE :	RESULTATS DE L'ANALYSE DE PLOÏDIE DES NAISSAINS CAPTES EN 2010	17
	Marennes Oléron	18
	Arcachon	24
	Baie de Bourgneuf	36
	Localisation des sites de captage analysés	38

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 à partir des installations d'élevage 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 ».

Le « Réseau biovigilance » a pour objectif premier la surveillance de l'apparition et de l'évolution de naissains polyploïdes dans les zones de captage naturel 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 fournit 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 Maritimes et 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 seraient 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 détriqués, 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 (COMEPRA, octobre 2004), l'Ifremer a mis en place une surveillance annuelle des deux principales zones 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 donnant lieu à des rapports annuels diffusés (Benabdelmouna *et al.* 2005 ; Grouhel *et al.* 2006 ; Benabdelmouna *et al.* 2007 ; Benabdelmouna *et al.* 2008 ; Benabdelmouna *et al.* 2009 ; Benabdelmouna *et al.* 2010 ; Benabdelmouna *et al.* 2011).

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 d'huîtres 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 dans le cadre du réseau biovigilance a continué à être réalisée 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 dix 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. Quand 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). Les aneuploïdies touchant le compartiment germinale (gamètes obtenus suite à des méioses) 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 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 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 dans le milieu aquatique. 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 en substances chimiques (Alsabti et Kurelec. 1985 ; Elston *et al.* 1992 ; Lowcock *et al.* 1997 ; Bihari *et al.* 1999, 2003).

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.kew.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).

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 fluïdique 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.

La cytométrie en flux impose des précautions méthodologiques 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 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, Trout Red Blood Cells), 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 2012, huit sites ont été analysés. Les échantillons de naissain naturel ont ainsi été prélevés sur les huit sites, à raison de quatre sites dans le bassin de Marennes Oléron, trois sites dans le bassin d’Arcachon et un seul site en baie de Bourgneuf en Vendée (Tableau 1). Un total de 1340 naissains ont été analysés durant la campagne 2012. Il est important de noter qu’au vu du faible captage réalisé en 2011 à Arcachon, les naissains des sites de Camprian et de Gorp ont été analysés en mélange.

Lot	Nombre	Bassin
Comprian/Gorp	200	Arcachon
La vigne	200	Arcachon
Charente	210	Marennes Oléron
Marsilly	210	Marennes Oléron
Moulières	210	Marennes Oléron
Estrée	100	Marennes Oléron
Bernerie en Retz	210	Baie de Bourgneuf

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 refoulages 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 équipé d’une LED UV.

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). 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. Seules les données obtenues avec un témoin interne dont la valeur du CV% est inférieure ou égale à 3% sont analysées. 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 0,42 (+/- 5%) 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'intérieure de cet intervalle,
- Les valeurs minimale et maximale sont indiquées sur le box plot.

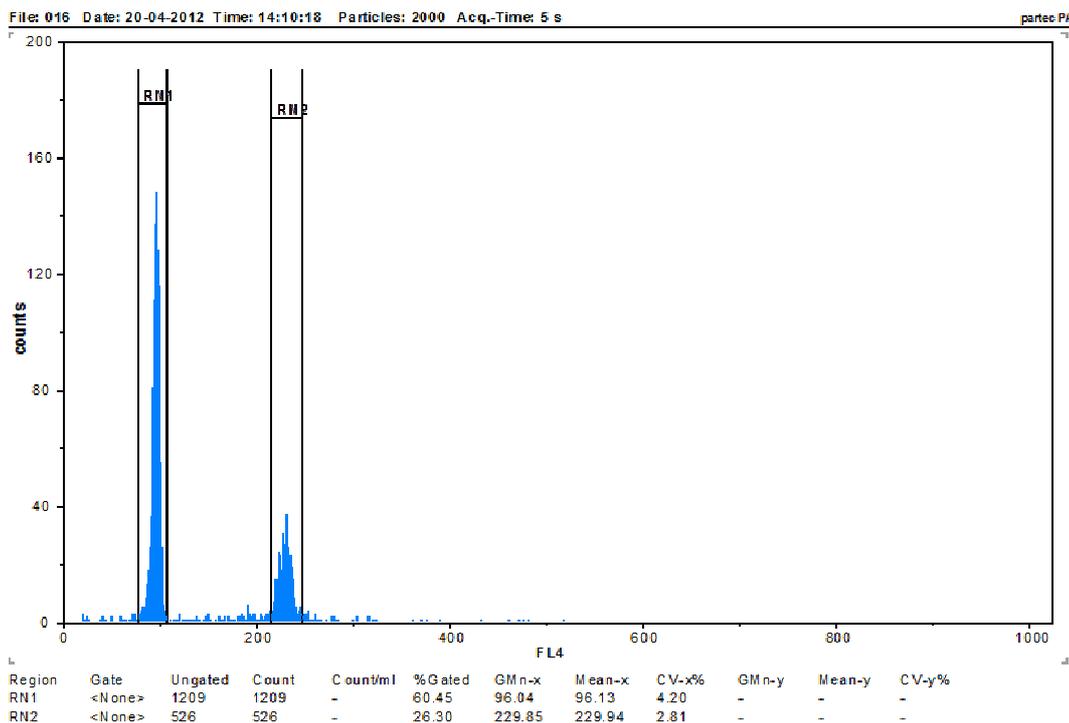


Figure 1 : Histogramme caractéristique d'un animal diploïde (ratio de 0.41)

RN1 : pic échantillon,

RN2 : témoin interne TRBC.

Mean : Position moyenne des évènements du pic.

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

III. Résultats

En 2012, un total de 1340 individus issus du captage naturel réalisé en 2011 dans les différents bassins de captage ont été individuellement analysés. Un premier tri a été réalisé afin d'éliminer les individus dont le CV% du témoin interne ne permettait pas une interprétation fiable des résultats. 1270 échantillons ont donc été finalement retenus, à raison de 356 naissains issus d'Arcachon, 705 naissains captés à Marennes Oléron et 209 naissains captés en baie de Bourgneuf.

1) Bassin d'Arcachon

Au total, 356 naissains analysés ont été retenus pour ce bassin. Les ratios extrêmes observés sont compris entre 0,346 et 0,443 et les ratios moyens sont compris entre 0.40 et 0.414 (tableau 2 et figure 2).

Statistique	ratio La Vigne	ratio Camprian/Gorp
Nb. d'observations	182	174
Minimum	0,346	0,369
Maximum	0,443	0,428
Moyenne	0,414	0,400
Ecart-type (n-1)	0,012	0,012

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

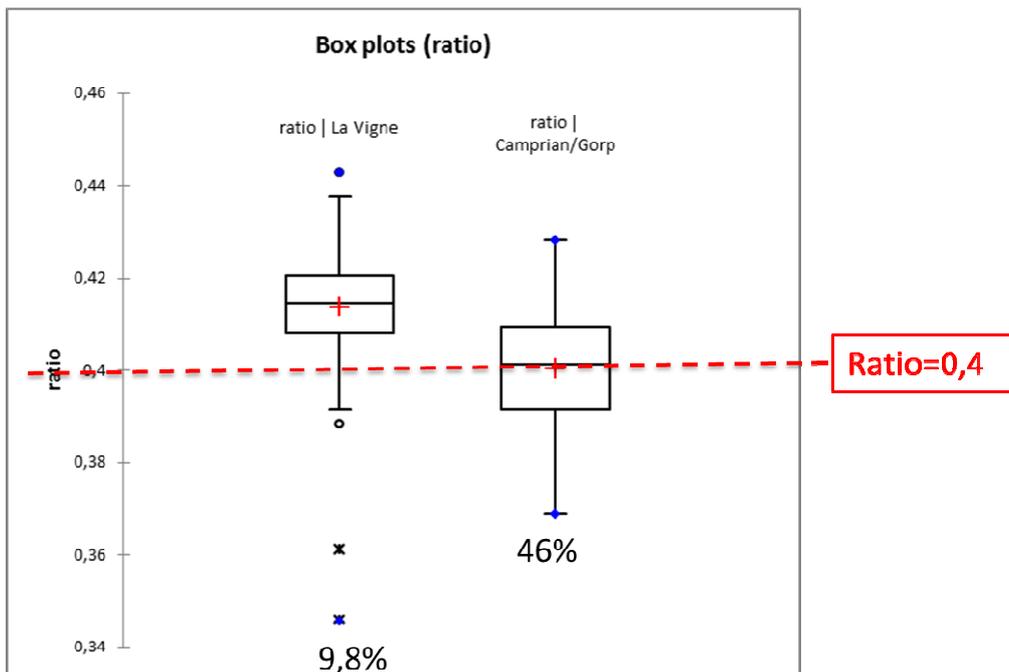


Figure 2 : Distribution inter-sites des ratios de fluorescence au sein des trois sites prospectés du bassin d'Arcachon. Les pourcentages de naissains ayant un ratio inférieur à 0.4 sont indiqués sous chaque site correspondant.

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

Pour le bassin d'Arcachon, des taux variables de naissains ayant une réduction de leur taille du génome (ratio inférieur à 0.4), considérés ici comme hypodiploïdes, ont été détectés dans tous les sites analysés. Toutefois, les

naissains issus des sites Camprian/Gorp, situés sur le côté est du bassin, apparaissent comme étant particulièrement touchés par cette hypodiploïdie. Plus de 46% des naissains analysés de ces sites ont une taille du génome inférieure à la taille d'un génome diploïde normal. Dans le dernier site analysé, la Vigne situé sur le côté ouest du bassin, ce pourcentage de naissains hypodiploïdes est plus bas, mais reste néanmoins assez élevé, 10%.

Le test de normalité montre que les données ne sont pas normales, (p-value unilatérale < 0,0001). Un test non paramétrique de comparaison de deux échantillons indépendants de Mann-Whitney a donc été appliqué. Pour le bassin d'Arcachon, ce test a permis de mettre en évidence des différences significatives entre les sites analysés (p-value < 0,0001 donc < à alpha = 0,05).

Test de Mann-Whitney / Test bilatéral :	
U	6227,000
Espérance	15834,000
Variance (U)	942123,000
p-value (bilatérale)	< 0,0001
alpha	0,05

2) Bassin de Marennes Oléron

Au total, 705 naissains analysés ont été retenus pour ce bassin. Pour le Bassin de Marennes Oléron, les ratios observés sont compris entre des valeurs extrêmes comprises entre 0,320 et 0,450. Les ratios moyens sont quant à eux compris entre 0,406 et 0,426 (tableau 3 et figure 3).

Statistique	Charente	Marcilly	estrée	moulière
Nb. d'observations	200	200	99	206
Minimum	0,371	0,404	0,377	0,320
Maximum	0,437	0,449	0,450	0,437
Moyenne	0,418	0,426	0,416	0,406
Ecart-type (n-1)	0,011	0,008	0,012	0,018

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

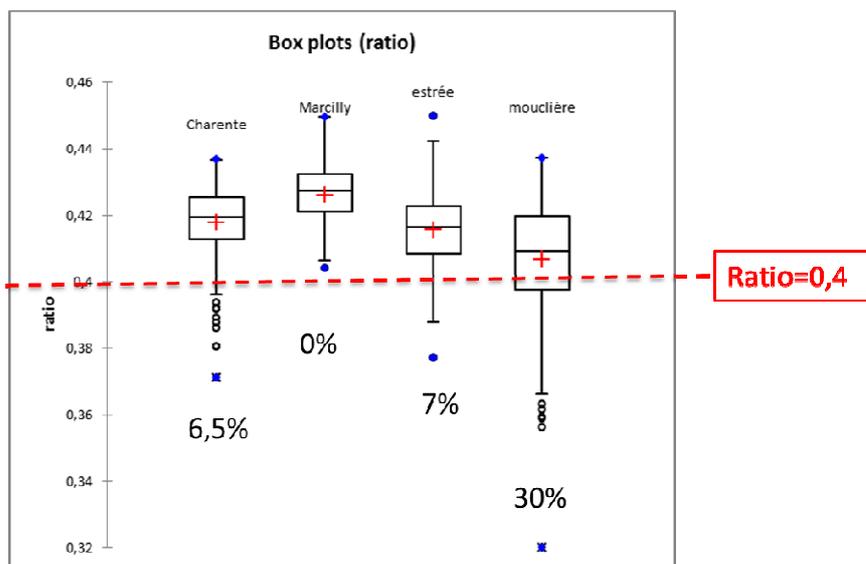


Figure 3 : Distribution inter-sites des ratios de fluorescence au sein des quatre sites prospectés du bassin de Marennes Oléron. Les pourcentages de naissains ayant un ratio inférieur à 0,4 sont indiqués sous chaque site correspondant.

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

Pour ce bassin de Marennes Oléron, et comme pour les autres années, des taux variables de naissains ayant une réduction de leur taille du génome (ratio inférieur à 0.4), considérés ici comme hypodiploïdes, ont été détectés dans certains sites analysés permettant de distinguer trois groupes. Le premier groupe n'est constitué que d'animaux collectés sur le site de Marcilly ne présentant pas de naissains hypodiploïdes. Le deuxième groupe est constitué des animaux collectés sur le site de La Mouclière qui présentent le taux le plus élevé de naissains hypodiploïdes (30%). Le dernier groupe est quant à lui constitué des animaux collectés sur les deux derniers sites, Charente et Estrée, présentant des taux plutôt faibles de naissains hypodiploïdes (6.5-7%). De même que pour le bassin d'Arcachon, les données cytométrique du ratio obtenues dans le bassin de Marennes Oléron ont été traitées par un test non paramétrique de comparaison de k échantillons indépendants de Kruskal-Wallis permettant de montrer des différences très significatives entre ces trois groupes (p-value<0,0001 donc < à alpha=0,05).

Comparaisons multiples par paires suivant la procédure de Dunn / Test bilatéral :					
Echantillon	Effectif	Somme des rangs	Moyenne des rangs	Groupes	
ratio mouclière	206	46314,000	224,825	A	
ratio estrée	99	31011,000	313,242		B
ratio Charente	200	71359,000	356,795		B
ratio Marcilly	200	100181,000	500,905		C

3) Baie de Bourgneuf

Au total, 209 naissains analysés ont été retenus pour ce bassin. Pour l'unique site de captage de cette baie de Bourgneuf (Bernerie en Retz), les ratios observés sont compris entre 0,357 et 0,447, avec une moyenne de 0.417; (tableau 4 et figure 4).

Statistique	ratio Bourgneuf
Nb. d'observations	209
Minimum	0,357
Maximum	0,447
Moyenne	0,417
Ecart-type (n-1)	0,013

Tableau 4 : Données obtenues sur le site de la Bernerie en Retz (baie de Bourgneuf).

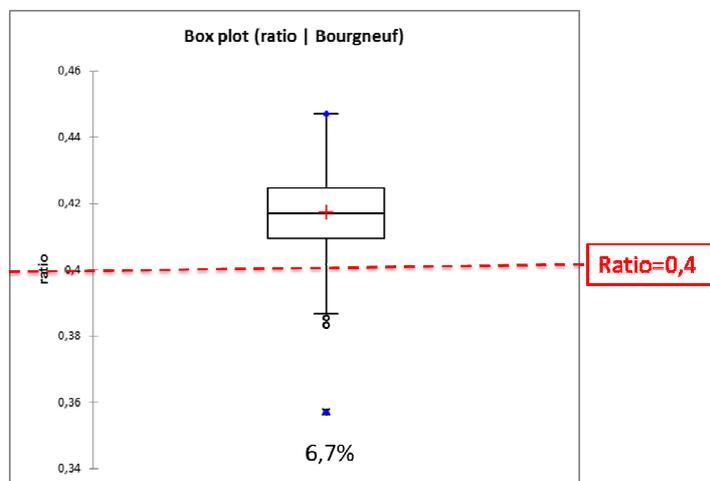


Figure 4 : Distribution des

ratios de fluorescence au

sein du site prospecté de la baie de Bourgneuf (bassin de Vendée). Le pourcentage de naissains ayant un ratio inférieur à 0.4 est indiqué.

En se basant sur les ratios moyens de fluorescence standardisés caractéristiques des huîtres triploïdes (0,60) ou tétraploïdes (0,80), les données ne mettent pas en évidence la présence d'animaux polyploïdes, ni triploïdes ni tétraploïdes, au sein des huîtres collectés sur le site de la baie de Bourgneuf en Vendée (figures 5).

4) Comparaison des trois bassins

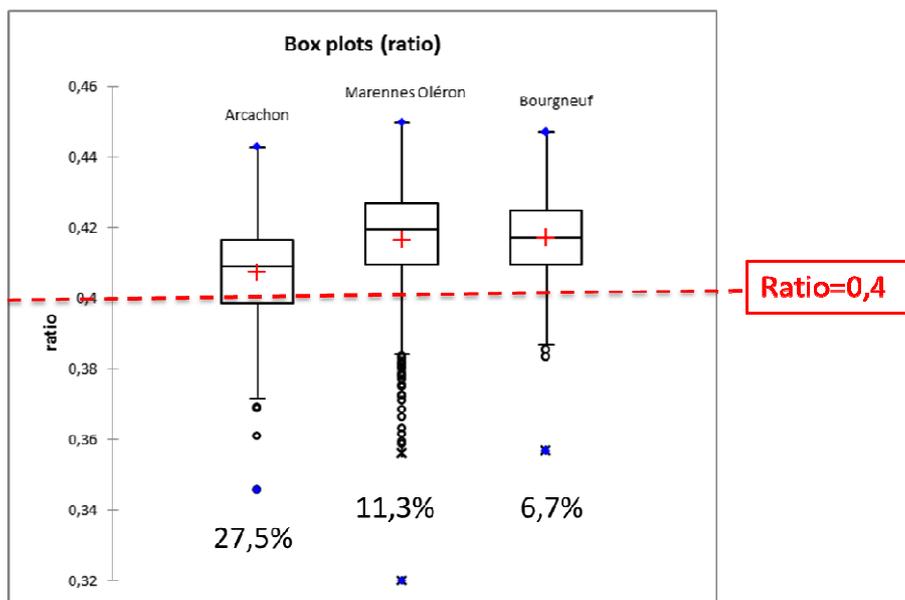


Figure 5 : Distribution inter-bassins des ratios de fluorescence obtenus pour les naissains captés en 2011 et analysés en 2012. Les pourcentages de naissains ayant un ratio inférieur à 0.4 sont indiqués sous chaque bassin correspondant.

Concernant les données à l'échelle d'un bassin en entier, en se basant sur les ratios typiques d'animaux polyploïdes, **les analyses n'ont pas montré la présence d'animaux polyploïdes, ni triploïdes ni tétraploïdes, au sein des trois bassins de captage étudiés durant la campagne 2012.**

Les données cytométriques du ratio obtenues à l'échelle de bassins entier ont été comparées par un test non paramétrique de comparaison de k échantillons indépendants de Kruskal-Wallis. Pour ces trois bassins, l'analyse montre une différence significative ($p\text{-value} < 0,0001$ donc $< \alpha = 0,05$) entre d'une part les bassins de Marennes Oléron et de Vendée, caractérisés par une faible détection de naissains aneuploïdes ADN, et d'autre part, le bassin d'Arcachon pour lequel la détection en naissains aneuploïdes ADN captés en 2011 est plus importante.

Comparaisons multiples par paires suivant la procédure de Dunn / Test bilatéral :				
Echantillon	Effectif	Somme des rangs	Moyenne des rangs	Groupes
ratio Arcachon	356	159161,000	447,081	A
ratio Bourgneuf	209	144809,000	692,866	B
ratio Marennes Oléron	705	503115,000	713,638	B

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 que, comme pour les autres années, les analyses **ne mettent pas en évidence la présence d'animaux polyploïdes, triploïdes et à *fortiori* tétraploïdes, dans les naissains issus du captage naturel, et collectés dans les trois bassins qui fournissent l'essentiel de ce naissain de captage, Marennes Oléron, Arcachon et la baie de Bourgneuf**. Il n'est pas mis en évidence la présence de polyploïdes dans les animaux analysés malgré un effort d'échantillonnage important et supérieur au minimum initialement défini (huit sites au lieu de six, 1340 naissains au lieu de 500 et trois bassins au lieu de deux initialement préconisés).

Au sein des trois bassins de captage ayant fait l'objet de la collecte d'échantillons en 2012 et en fonction du site de captage, les naissains issus de captage naturel 2011 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, l'aneuploïdie ADN détectée dans tous les bassins prospectés a toujours été du type hypodiploïde, c'est à dire 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, ni comme c'est le cas en 2012 en baie de Bourgneuf. Ceci implique que l'aneuploïdie hypodiploïde ADN observée jusqu'à nos jours dans les deux bassins de captage suivis dans le 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 de produits toxiques tels les herbicides, fongicides et métaux lourds dont l'action génotoxique (aneugène et clastogène) est documentée 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 ; Thiriot-Quévieux et Wolowicz 2001 ; Bihari et al. 2003 ; Bouilly et al. 2003, Barranger et al. 2014).

Hormis le site de Marcilly au nord du bassin de Marennes-Oléron, tous les autres sites analysés montrent des niveaux variables et parfois très élevés en naissains hypodiploïdes. C'est ainsi le cas des sites de Camprian/Gorp (Arcachon) et La Mouclière (Marennes-Oléron) où les taux de naissains analysés présentant une aneuploïdie ADN sont de respectivement 46 et 30%. L'aneuploïdie ADN des naissains a été montrée comme corrélée à l'histoire de vie des naissains et notamment la survenue d'épisodes de mortalité précoce sur capteurs (Benabdelmouna et al. 2010). Du fait que certains lots analysés durant cette campagne biovigilance 2012 ont vraisemblablement déjà subi une mortalité précoce sur capteurs et cela durant l'été/automne 2011, il est possible de considérer que cette mortalité s'est accompagnée d'une baisse du taux d'anomalies génomiques observées sur certains des lots analysés en 2012 : le lot issu de Marcilly ne présente pas d'anomalies génomiques alors qu'il a subi une forte mortalité sur capteur. Le taux d'anomalie génomique pourrait être un indicateur de mortalité précoce et il est fondé de se questionner sur la capacité des animaux hypodiploïdes à survivre face aux perturbations, biotiques et abiotiques, qu'ils vont rencontrer durant leur élevage.

Bibliographie :

- AlSabti, K., Kurelec, B., 1985. Induction of chromosomal aberrations in the mussel *Mytilus galloprovincialis* watch. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 35, 660_665.
- Barsienne, J. and Lovejoy, D.B. (2000) Environmental genotoxicity in Klaipeda port area. *Int. Rev. Hydrobiol.*, 85, 663–672.
- Barranger, A., Rouxel, J., Brizard, R., Maurouard, E., Pallud, M., Menard, D., Tapie, N., Budzinski, H., Burgeot, T., Benabdelmouna, A. (2014). Study of genetic damage in the Japanese oyster induced by an environmentally-relevant exposure to diuron: evidence of vertical transmission of DNA damage. *Aquatic Toxicology*, 146, 93-104. <http://archimer.ifremer.fr/doc/00162/27311/>
- 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. <http://archimer.ifremer.fr/doc/00000/3905/>
- 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. <http://archimer.ifremer.fr/doc/00070/18131/>
- 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. <http://archimer.ifremer.fr/doc/00032/14282/>
- Benabdelmouna, A., Guyader, T., D'Amico, F., Cantin, C., Grizon, J., Seugnet, J.L., (2010). Niveau de ploïdie des naissains d'huître creuse captés dans les bassins de Marennes Oléron et d'Arcachon. Réseau Biovigilance, campagne 2010. <http://archimer.ifremer.fr/doc/00070/18124/>
- 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. <http://archimer.ifremer.fr/doc/00062/17283/>
- Benabdelmouna, A., Ollier, S., Maurouard, E., D'Amico, F., Seugnet, J.L., Grizon, J. (2011). Niveau de ploïdie des naissains d'huître creuse captés dans les bassins de Marennes Oléron, Baie de Bourgneuf et Arcachon. Réseau Biovigilance, campagne 2011. <http://archimer.ifremer.fr/doc/00107/21837/>
- 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., Gouilletquer, 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. Mutagens.*, **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 clamitans*). *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 (*Mercenaria 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 des naissains analysés en 2012 Marennes Oléron

lot	Bassin	ratio			
			Charente	MO	0,41088855
Charente	MO	0,3709643	Charente	MO	0,4109148
Charente	MO	0,38019689	Charente	MO	0,41136403
Charente	MO	0,38066301	Charente	MO	0,41136677
Charente	MO	0,38590126	Charente	MO	0,41156311
Charente	MO	0,38758829	Charente	MO	0,41166858
Charente	MO	0,38926233	Charente	MO	0,41254384
Charente	MO	0,3917651	Charente	MO	0,41271274
Charente	MO	0,39210109	Charente	MO	0,41284756
Charente	MO	0,393705	Charente	MO	0,41299918
Charente	MO	0,39626982	Charente	MO	0,41301899
Charente	MO	0,39704108	Charente	MO	0,41304837
Charente	MO	0,39977903	Charente	MO	0,41344053
Charente	MO	0,39985019	Charente	MO	0,41372178
Charente	MO	0,40022819	Charente	MO	0,41381415
Charente	MO	0,40042728	Charente	MO	0,41395328
Charente	MO	0,40187605	Charente	MO	0,41401167
Charente	MO	0,40191427	Charente	MO	0,41401274
Charente	MO	0,40219596	Charente	MO	0,41413641
Charente	MO	0,4023019	Charente	MO	0,41421144
Charente	MO	0,40299747	Charente	MO	0,41438017
Charente	MO	0,40438313	Charente	MO	0,41449367
Charente	MO	0,40511801	Charente	MO	0,41450039
Charente	MO	0,40600784	Charente	MO	0,41471557
Charente	MO	0,40627588	Charente	MO	0,41492487
Charente	MO	0,40682661	Charente	MO	0,4149998
Charente	MO	0,40687421	Charente	MO	0,41501298
Charente	MO	0,40695599	Charente	MO	0,41537038
Charente	MO	0,40739973	Charente	MO	0,41585946
Charente	MO	0,40746453	Charente	MO	0,41599474
Charente	MO	0,40747157	Charente	MO	0,41611665
Charente	MO	0,40847718	Charente	MO	0,41650774
Charente	MO	0,40849195	Charente	MO	0,41686036
Charente	MO	0,40865734	Charente	MO	0,4169416
Charente	MO	0,40875976	Charente	MO	0,41699755
Charente	MO	0,40899605	Charente	MO	0,41706938
Charente	MO	0,40914487	Charente	MO	0,41710044
Charente	MO	0,40927349	Charente	MO	0,41714362
Charente	MO	0,40975651	Charente	MO	0,41717565
Charente	MO	0,40996063	Charente	MO	0,41724655
Charente	MO	0,41023367	Charente	MO	0,4172894
Charente	MO	0,41052205	Charente	MO	0,41729768
Charente	MO	0,41077828	Charente	MO	0,41795301

Charente	MO	0,41806558	Charente	MO	0,42200644
Charente	MO	0,41821109	Charente	MO	0,42209644
Charente	MO	0,41830787	Charente	MO	0,42212453
Charente	MO	0,41830967	Charente	MO	0,42239914
Charente	MO	0,41833748	Charente	MO	0,42252661
Charente	MO	0,41838469	Charente	MO	0,4228006
Charente	MO	0,4186735	Charente	MO	0,42280952
Charente	MO	0,41875843	Charente	MO	0,42291073
Charente	MO	0,41877337	Charente	MO	0,4231738
Charente	MO	0,41884976	Charente	MO	0,42334794
Charente	MO	0,41916896	Charente	MO	0,42352125
Charente	MO	0,41926383	Charente	MO	0,42364226
Charente	MO	0,4193507	Charente	MO	0,42394026
Charente	MO	0,41937407	Charente	MO	0,42427239
Charente	MO	0,41946063	Charente	MO	0,4246563
Charente	MO	0,41952628	Charente	MO	0,42471636
Charente	MO	0,4195267	Charente	MO	0,42479367
Charente	MO	0,41962625	Charente	MO	0,42483465
Charente	MO	0,41964563	Charente	MO	0,42490255
Charente	MO	0,41966486	Charente	MO	0,42509469
Charente	MO	0,41990237	Charente	MO	0,42594108
Charente	MO	0,41991621	Charente	MO	0,42595926
Charente	MO	0,42023815	Charente	MO	0,42605648
Charente	MO	0,4203246	Charente	MO	0,42611791
Charente	MO	0,42035688	Charente	MO	0,42624491
Charente	MO	0,42043039	Charente	MO	0,42637665
Charente	MO	0,42078	Charente	MO	0,42648714
Charente	MO	0,42082003	Charente	MO	0,42655462
Charente	MO	0,4209361	Charente	MO	0,42677534
Charente	MO	0,42096731	Charente	MO	0,42689778
Charente	MO	0,42101905	Charente	MO	0,42703769
Charente	MO	0,42105479	Charente	MO	0,42710619
Charente	MO	0,42108073	Charente	MO	0,42712045
Charente	MO	0,42132068	Charente	MO	0,42726631
Charente	MO	0,42147278	Charente	MO	0,42728034
Charente	MO	0,42150068	Charente	MO	0,42743038
Charente	MO	0,42157838	Charente	MO	0,42750455
Charente	MO	0,42163337	Charente	MO	0,42760191
Charente	MO	0,42169686	Charente	MO	0,4276564
Charente	MO	0,42178925	Charente	MO	0,42788004
Charente	MO	0,42179364	Charente	MO	0,42801851
Charente	MO	0,4217979	Charente	MO	0,42813645
Charente	MO	0,42180588	Charente	MO	0,42837849
Charente	MO	0,42182149	Charente	MO	0,42868154
Charente	MO	0,42198293	Charente	MO	0,42899851

Charente	MO	0,42906445	estrée	MO	0,40589332
Charente	MO	0,42918399	estrée	MO	0,40690177
Charente	MO	0,42953382	estrée	MO	0,40756506
Charente	MO	0,42961545	estrée	MO	0,40798636
Charente	MO	0,42982569	estrée	MO	0,40800943
Charente	MO	0,42997339	estrée	MO	0,40886691
Charente	MO	0,43000436	estrée	MO	0,40903731
Charente	MO	0,43011168	estrée	MO	0,40977171
Charente	MO	0,43032589	estrée	MO	0,40991745
Charente	MO	0,43046005	estrée	MO	0,41007776
Charente	MO	0,43049327	estrée	MO	0,41029337
Charente	MO	0,43103448	estrée	MO	0,41059104
Charente	MO	0,43104215	estrée	MO	0,41102656
Charente	MO	0,43111458	estrée	MO	0,41152398
Charente	MO	0,43114109	estrée	MO	0,41160888
Charente	MO	0,43116324	estrée	MO	0,41161952
Charente	MO	0,43125359	estrée	MO	0,41220279
Charente	MO	0,43126836	estrée	MO	0,41269777
Charente	MO	0,43210359	estrée	MO	0,41343772
Charente	MO	0,43293493	estrée	MO	0,41345675
Charente	MO	0,43368861	estrée	MO	0,4137906
Charente	MO	0,43484588	estrée	MO	0,41401573
Charente	MO	0,43556586	estrée	MO	0,4150846
Charente	MO	0,43626027	estrée	MO	0,41512584
Charente	MO	0,43661487	estrée	MO	0,41527368
estrée	MO	0,37716272	estrée	MO	0,41553586
estrée	MO	0,38767002	estrée	MO	0,41586811
estrée	MO	0,39304598	estrée	MO	0,4160135
estrée	MO	0,39441748	estrée	MO	0,41602584
estrée	MO	0,39728174	estrée	MO	0,41632721
estrée	MO	0,39811404	estrée	MO	0,41650263
estrée	MO	0,39831745	estrée	MO	0,41669345
estrée	MO	0,40033907	estrée	MO	0,41711433
estrée	MO	0,40061152	estrée	MO	0,41757111
estrée	MO	0,40124033	estrée	MO	0,41758485
estrée	MO	0,40154431	estrée	MO	0,41759004
estrée	MO	0,40168773	estrée	MO	0,41774346
estrée	MO	0,40189305	estrée	MO	0,41850201
estrée	MO	0,40267272	estrée	MO	0,41851706
estrée	MO	0,40417894	estrée	MO	0,41866601
estrée	MO	0,40429798	estrée	MO	0,41939682
estrée	MO	0,40439729	estrée	MO	0,41953929
estrée	MO	0,40536628	estrée	MO	0,41955139
estrée	MO	0,40548096	estrée	MO	0,41956646
estrée	MO	0,40574778	estrée	MO	0,41986908

estrée	MO	0,42002455	Marcilly	MO	0,41236467
estrée	MO	0,42024994	Marcilly	MO	0,41247285
estrée	MO	0,42063535	Marcilly	MO	0,41249948
estrée	MO	0,42086667	Marcilly	MO	0,41260469
estrée	MO	0,42108417	Marcilly	MO	0,41290003
estrée	MO	0,42143017	Marcilly	MO	0,41302132
estrée	MO	0,42218633	Marcilly	MO	0,41325552
estrée	MO	0,42254233	Marcilly	MO	0,41334362
estrée	MO	0,42254371	Marcilly	MO	0,41354998
estrée	MO	0,4226772	Marcilly	MO	0,41389641
estrée	MO	0,42280436	Marcilly	MO	0,41395023
estrée	MO	0,42365938	Marcilly	MO	0,41404769
estrée	MO	0,42367729	Marcilly	MO	0,41453293
estrée	MO	0,42418999	Marcilly	MO	0,41500454
estrée	MO	0,42492703	Marcilly	MO	0,41511142
estrée	MO	0,42531592	Marcilly	MO	0,41528196
estrée	MO	0,42561975	Marcilly	MO	0,41564167
estrée	MO	0,42647885	Marcilly	MO	0,41578814
estrée	MO	0,42653332	Marcilly	MO	0,41598905
estrée	MO	0,42670763	Marcilly	MO	0,41622346
estrée	MO	0,42680157	Marcilly	MO	0,4170354
estrée	MO	0,42784335	Marcilly	MO	0,41729458
estrée	MO	0,42851225	Marcilly	MO	0,41740341
estrée	MO	0,42977966	Marcilly	MO	0,41743535
estrée	MO	0,43000833	Marcilly	MO	0,4177304
estrée	MO	0,43013445	Marcilly	MO	0,41779729
estrée	MO	0,43108722	Marcilly	MO	0,41782087
estrée	MO	0,43110586	Marcilly	MO	0,41792354
estrée	MO	0,43173207	Marcilly	MO	0,41836321
estrée	MO	0,43317086	Marcilly	MO	0,41856177
estrée	MO	0,43431205	Marcilly	MO	0,41909164
estrée	MO	0,43555204	Marcilly	MO	0,41911115
estrée	MO	0,44218758	Marcilly	MO	0,41911705
estrée	MO	0,44971068	Marcilly	MO	0,41968252
Marcilly	MO	0,40399569	Marcilly	MO	0,42002176
Marcilly	MO	0,40635384	Marcilly	MO	0,42026403
Marcilly	MO	0,40651808	Marcilly	MO	0,42039101
Marcilly	MO	0,40697336	Marcilly	MO	0,42096128
Marcilly	MO	0,40794944	Marcilly	MO	0,4210946
Marcilly	MO	0,40939323	Marcilly	MO	0,4211531
Marcilly	MO	0,40951001	Marcilly	MO	0,42118096
Marcilly	MO	0,41010235	Marcilly	MO	0,42121212
Marcilly	MO	0,41101122	Marcilly	MO	0,42129539
Marcilly	MO	0,41116875	Marcilly	MO	0,42137217
Marcilly	MO	0,41168543	Marcilly	MO	0,42158594

Marcilly	MO	0,42168923	Marcilly	MO	0,42738308
Marcilly	MO	0,42172861	Marcilly	MO	0,42739303
Marcilly	MO	0,42178101	Marcilly	MO	0,42745234
Marcilly	MO	0,42183795	Marcilly	MO	0,42749831
Marcilly	MO	0,42192593	Marcilly	MO	0,42771934
Marcilly	MO	0,4219783	Marcilly	MO	0,42779326
Marcilly	MO	0,422125	Marcilly	MO	0,42780466
Marcilly	MO	0,42214286	Marcilly	MO	0,42783908
Marcilly	MO	0,42234934	Marcilly	MO	0,42795085
Marcilly	MO	0,42236795	Marcilly	MO	0,42796373
Marcilly	MO	0,4227697	Marcilly	MO	0,42802629
Marcilly	MO	0,42286382	Marcilly	MO	0,428054
Marcilly	MO	0,42295972	Marcilly	MO	0,42806365
Marcilly	MO	0,42300951	Marcilly	MO	0,42813572
Marcilly	MO	0,42309134	Marcilly	MO	0,42814508
Marcilly	MO	0,42314732	Marcilly	MO	0,4281463
Marcilly	MO	0,4231475	Marcilly	MO	0,42816401
Marcilly	MO	0,42328467	Marcilly	MO	0,42821598
Marcilly	MO	0,42343955	Marcilly	MO	0,42826317
Marcilly	MO	0,42345587	Marcilly	MO	0,42843173
Marcilly	MO	0,423632	Marcilly	MO	0,42872375
Marcilly	MO	0,42375832	Marcilly	MO	0,42937736
Marcilly	MO	0,4240957	Marcilly	MO	0,42945109
Marcilly	MO	0,42459377	Marcilly	MO	0,4294615
Marcilly	MO	0,42459773	Marcilly	MO	0,42971339
Marcilly	MO	0,42459976	Marcilly	MO	0,43033789
Marcilly	MO	0,42466856	Marcilly	MO	0,43045599
Marcilly	MO	0,42467089	Marcilly	MO	0,4304974
Marcilly	MO	0,42477283	Marcilly	MO	0,43055957
Marcilly	MO	0,42507289	Marcilly	MO	0,43058082
Marcilly	MO	0,42552018	Marcilly	MO	0,43060716
Marcilly	MO	0,42559474	Marcilly	MO	0,43074076
Marcilly	MO	0,42571806	Marcilly	MO	0,4307552
Marcilly	MO	0,4258237	Marcilly	MO	0,43075688
Marcilly	MO	0,4259022	Marcilly	MO	0,4307592
Marcilly	MO	0,42592056	Marcilly	MO	0,43088561
Marcilly	MO	0,42608955	Marcilly	MO	0,43103587
Marcilly	MO	0,42616528	Marcilly	MO	0,43117925
Marcilly	MO	0,42651657	Marcilly	MO	0,43125457
Marcilly	MO	0,42689168	Marcilly	MO	0,43134946
Marcilly	MO	0,42697722	Marcilly	MO	0,43169179
Marcilly	MO	0,42704068	Marcilly	MO	0,43201021
Marcilly	MO	0,42718853	Marcilly	MO	0,43212515
Marcilly	MO	0,42723436	Marcilly	MO	0,4321288
Marcilly	MO	0,42736908	Marcilly	MO	0,43213425

Marcilly	MO	0,43222352	Marcilly	MO	0,43886691
Marcilly	MO	0,43223329	Marcilly	MO	0,4393766
Marcilly	MO	0,43234476	Marcilly	MO	0,43937972
Marcilly	MO	0,43247319	Marcilly	MO	0,43971044
Marcilly	MO	0,43267291	Marcilly	MO	0,43988038
Marcilly	MO	0,43268742	Marcilly	MO	0,44123856
Marcilly	MO	0,43277221	Marcilly	MO	0,44133683
Marcilly	MO	0,43294494	Marcilly	MO	0,44441213
Marcilly	MO	0,43300139	Marcilly	MO	0,44948804
Marcilly	MO	0,43312549	mouclière	MO	0,32002125
Marcilly	MO	0,43336871	mouclière	MO	0,35610029
Marcilly	MO	0,43343902	mouclière	MO	0,35868371
Marcilly	MO	0,43344895	mouclière	MO	0,35928095
Marcilly	MO	0,43354658	mouclière	MO	0,36140631
Marcilly	MO	0,43356614	mouclière	MO	0,36313506
Marcilly	MO	0,43359424	mouclière	MO	0,3662211
Marcilly	MO	0,43365231	mouclière	MO	0,36834019
Marcilly	MO	0,43373841	mouclière	MO	0,37232086
Marcilly	MO	0,43378917	mouclière	MO	0,37238099
Marcilly	MO	0,43394634	mouclière	MO	0,37498891
Marcilly	MO	0,43425972	mouclière	MO	0,37524406
Marcilly	MO	0,43429097	mouclière	MO	0,37558295
Marcilly	MO	0,43435092	mouclière	MO	0,3778824
Marcilly	MO	0,43440172	mouclière	MO	0,37792183
Marcilly	MO	0,43466975	mouclière	MO	0,37850274
Marcilly	MO	0,43473173	mouclière	MO	0,38005256
Marcilly	MO	0,4347512	mouclière	MO	0,38116065
Marcilly	MO	0,4348921	mouclière	MO	0,38158329
Marcilly	MO	0,43498333	mouclière	MO	0,38205117
Marcilly	MO	0,43500829	mouclière	MO	0,38316824
Marcilly	MO	0,43505723	mouclière	MO	0,38365777
Marcilly	MO	0,43531114	mouclière	MO	0,38420091
Marcilly	MO	0,43545423	mouclière	MO	0,38466411
Marcilly	MO	0,4357	mouclière	MO	0,38543174
Marcilly	MO	0,43572202	mouclière	MO	0,38547406
Marcilly	MO	0,43581597	mouclière	MO	0,38696894
Marcilly	MO	0,4358326	mouclière	MO	0,38777883
Marcilly	MO	0,43610842	mouclière	MO	0,38804537
Marcilly	MO	0,43662033	mouclière	MO	0,38920734
Marcilly	MO	0,43669295	mouclière	MO	0,38950943
Marcilly	MO	0,43763103	mouclière	MO	0,39003803
Marcilly	MO	0,43774303	mouclière	MO	0,39015854
Marcilly	MO	0,43870091	mouclière	MO	0,39023456
Marcilly	MO	0,43878529	mouclière	MO	0,3915592
Marcilly	MO	0,4388061			

mouclière	MO	0,39182756	mouclière	MO	0,40399255
mouclière	MO	0,39269897	mouclière	MO	0,40399267
mouclière	MO	0,39285861	mouclière	MO	0,40463096
mouclière	MO	0,39296838	mouclière	MO	0,40480859
mouclière	MO	0,39318777	mouclière	MO	0,40505962
mouclière	MO	0,39351916	mouclière	MO	0,4051594
mouclière	MO	0,39370113	mouclière	MO	0,40519337
mouclière	MO	0,39438261	mouclière	MO	0,4052235
mouclière	MO	0,39460987	mouclière	MO	0,40583373
mouclière	MO	0,39481031	mouclière	MO	0,40590354
mouclière	MO	0,39515403	mouclière	MO	0,40601411
mouclière	MO	0,39581189	mouclière	MO	0,40630343
mouclière	MO	0,39636979	mouclière	MO	0,40631499
mouclière	MO	0,3963964	mouclière	MO	0,40635764
mouclière	MO	0,39665569	mouclière	MO	0,40637843
mouclière	MO	0,39696254	mouclière	MO	0,40682142
mouclière	MO	0,39730373	mouclière	MO	0,40733757
mouclière	MO	0,39765336	mouclière	MO	0,40773546
mouclière	MO	0,39777504	mouclière	MO	0,40782035
mouclière	MO	0,3977813	mouclière	MO	0,40812616
mouclière	MO	0,39792087	mouclière	MO	0,40835392
mouclière	MO	0,39864022	mouclière	MO	0,40868364
mouclière	MO	0,39883486	mouclière	MO	0,40875799
mouclière	MO	0,3989239	mouclière	MO	0,40881107
mouclière	MO	0,39983889	mouclière	MO	0,40899001
mouclière	MO	0,40012446	mouclière	MO	0,40916057
mouclière	MO	0,40032928	mouclière	MO	0,40922104
mouclière	MO	0,40059335	mouclière	MO	0,40951964
mouclière	MO	0,40060875	mouclière	MO	0,40965192
mouclière	MO	0,40179306	mouclière	MO	0,40979694
mouclière	MO	0,40192044	mouclière	MO	0,41056733
mouclière	MO	0,40209367	mouclière	MO	0,4106074
mouclière	MO	0,40217544	mouclière	MO	0,41069916
mouclière	MO	0,40241433	mouclière	MO	0,41130411
mouclière	MO	0,40247838	mouclière	MO	0,41132268
mouclière	MO	0,40252175	mouclière	MO	0,4114571
mouclière	MO	0,40310747	mouclière	MO	0,41166815
mouclière	MO	0,40326751	mouclière	MO	0,41180184
mouclière	MO	0,40329792	mouclière	MO	0,41202699
mouclière	MO	0,4035782	mouclière	MO	0,41219366
mouclière	MO	0,40375084	mouclière	MO	0,41252674
mouclière	MO	0,40384536	mouclière	MO	0,41261503
mouclière	MO	0,40390994	mouclière	MO	0,41261638

mouclière	MO	0,4126807	mouclière	MO	0,42137197
mouclière	MO	0,41274456	mouclière	MO	0,42141089
mouclière	MO	0,41295729	mouclière	MO	0,42147968
mouclière	MO	0,41321105	mouclière	MO	0,42151269
mouclière	MO	0,41332555	mouclière	MO	0,42151585
mouclière	MO	0,41373275	mouclière	MO	0,4219843
mouclière	MO	0,41380652	mouclière	MO	0,4221173
mouclière	MO	0,41421316	mouclière	MO	0,42227008
mouclière	MO	0,41429791	mouclière	MO	0,422437
mouclière	MO	0,41457233	mouclière	MO	0,42270806
mouclière	MO	0,41471238	mouclière	MO	0,42288389
mouclière	MO	0,41471325	mouclière	MO	0,42289533
mouclière	MO	0,41535952	mouclière	MO	0,42315816
mouclière	MO	0,41542177	mouclière	MO	0,4233491
mouclière	MO	0,41549179	mouclière	MO	0,42342195
mouclière	MO	0,41560141	mouclière	MO	0,42346319
mouclière	MO	0,41693669	mouclière	MO	0,42412073
mouclière	MO	0,41740798	mouclière	MO	0,42428095
mouclière	MO	0,41754148	mouclière	MO	0,42472192
mouclière	MO	0,41769401	mouclière	MO	0,4248943
mouclière	MO	0,41808723	mouclière	MO	0,42510139
mouclière	MO	0,41814653	mouclière	MO	0,42537624
mouclière	MO	0,41818552	mouclière	MO	0,42540374
mouclière	MO	0,41842228	mouclière	MO	0,4258662
mouclière	MO	0,41845216	mouclière	MO	0,42609769
mouclière	MO	0,41849824	mouclière	MO	0,42633938
mouclière	MO	0,41858692	mouclière	MO	0,42652785
mouclière	MO	0,41908905	mouclière	MO	0,42663696
mouclière	MO	0,41928772	mouclière	MO	0,426677
mouclière	MO	0,41935611	mouclière	MO	0,42671411
mouclière	MO	0,41957468	mouclière	MO	0,42782027
mouclière	MO	0,41972142	mouclière	MO	0,42795451
mouclière	MO	0,41973758	mouclière	MO	0,42812409
mouclière	MO	0,41984112	mouclière	MO	0,42827557
mouclière	MO	0,41998461	mouclière	MO	0,42934363
mouclière	MO	0,42015805	mouclière	MO	0,42971389
mouclière	MO	0,42027997	mouclière	MO	0,43192774
mouclière	MO	0,42036693	mouclière	MO	0,43269634
mouclière	MO	0,42041673	mouclière	MO	0,4336913
mouclière	MO	0,42075518	mouclière	MO	0,43391366
mouclière	MO	0,42112363	mouclière	MO	0,43529926
mouclière	MO	0,42128809	mouclière	MO	0,43706907
mouclière	MO	0,4213329			

Baie de Bourgneuf

Lot	Bassin	ratio			
Bernerie	Bourgneuf	0,35676153	Bernerie	Bourgneuf	0,40673805
Bernerie	Bourgneuf	0,38332584	Bernerie	Bourgneuf	0,40696203
Bernerie	Bourgneuf	0,38545936	Bernerie	Bourgneuf	0,40787884
Bernerie	Bourgneuf	0,38674826	Bernerie	Bourgneuf	0,40798703
Bernerie	Bourgneuf	0,39056979	Bernerie	Bourgneuf	0,40807501
Bernerie	Bourgneuf	0,39206525	Bernerie	Bourgneuf	0,408285
Bernerie	Bourgneuf	0,39507887	Bernerie	Bourgneuf	0,40908716
Bernerie	Bourgneuf	0,39558463	Bernerie	Bourgneuf	0,40939213
Bernerie	Bourgneuf	0,39611454	Bernerie	Bourgneuf	0,4094312
Bernerie	Bourgneuf	0,39620165	Bernerie	Bourgneuf	0,4094831
Bernerie	Bourgneuf	0,39706193	Bernerie	Bourgneuf	0,40960627
Bernerie	Bourgneuf	0,3971369	Bernerie	Bourgneuf	0,40962087
Bernerie	Bourgneuf	0,39720472	Bernerie	Bourgneuf	0,41004029
Bernerie	Bourgneuf	0,39992695	Bernerie	Bourgneuf	0,41012018
Bernerie	Bourgneuf	0,40084613	Bernerie	Bourgneuf	0,41015759
Bernerie	Bourgneuf	0,4015133	Bernerie	Bourgneuf	0,41039796
Bernerie	Bourgneuf	0,40160881	Bernerie	Bourgneuf	0,41052291
Bernerie	Bourgneuf	0,401701	Bernerie	Bourgneuf	0,41061234
Bernerie	Bourgneuf	0,40191841	Bernerie	Bourgneuf	0,41081751
Bernerie	Bourgneuf	0,40251444	Bernerie	Bourgneuf	0,41091427
Bernerie	Bourgneuf	0,40257147	Bernerie	Bourgneuf	0,41109513
Bernerie	Bourgneuf	0,40289308	Bernerie	Bourgneuf	0,41126237
Bernerie	Bourgneuf	0,40308534	Bernerie	Bourgneuf	0,41148858
Bernerie	Bourgneuf	0,40401299	Bernerie	Bourgneuf	0,41149178
Bernerie	Bourgneuf	0,40401449	Bernerie	Bourgneuf	0,41170948
Bernerie	Bourgneuf	0,4040404	Bernerie	Bourgneuf	0,41183451
Bernerie	Bourgneuf	0,40428875	Bernerie	Bourgneuf	0,41188256
Bernerie	Bourgneuf	0,40435055	Bernerie	Bourgneuf	0,41215275
Bernerie	Bourgneuf	0,40485983	Bernerie	Bourgneuf	0,41236294
Bernerie	Bourgneuf	0,40486091	Bernerie	Bourgneuf	0,4123928
Bernerie	Bourgneuf	0,40530256	Bernerie	Bourgneuf	0,41256243
Bernerie	Bourgneuf	0,40564565	Bernerie	Bourgneuf	0,4126419
Bernerie	Bourgneuf	0,40569132	Bernerie	Bourgneuf	0,41265458
Bernerie	Bourgneuf	0,40583383	Bernerie	Bourgneuf	0,41287723
Bernerie	Bourgneuf	0,40586388	Bernerie	Bourgneuf	0,41293045
Bernerie	Bourgneuf	0,40601566	Bernerie	Bourgneuf	0,41310577
Bernerie	Bourgneuf	0,40602309	Bernerie	Bourgneuf	0,41310687
Bernerie	Bourgneuf	0,40618652	Bernerie	Bourgneuf	0,41321979
Bernerie	Bourgneuf	0,40619375	Bernerie	Bourgneuf	0,41363231
Bernerie	Bourgneuf	0,40621963	Bernerie	Bourgneuf	0,41365275
Bernerie	Bourgneuf	0,40634331	Bernerie	Bourgneuf	0,4137917
Bernerie	Bourgneuf	0,40653166	Bernerie	Bourgneuf	0,41380444
Bernerie	Bourgneuf	0,40660564	Bernerie	Bourgneuf	0,41403479
			Bernerie	Bourgneuf	0,41434741

Bernerie	Bourgneuf	0,41448849	Bernerie	Bourgneuf	0,42102126
Bernerie	Bourgneuf	0,41453599	Bernerie	Bourgneuf	0,42115925
Bernerie	Bourgneuf	0,41457821	Bernerie	Bourgneuf	0,42121495
Bernerie	Bourgneuf	0,41485867	Bernerie	Bourgneuf	0,42134186
Bernerie	Bourgneuf	0,41494267	Bernerie	Bourgneuf	0,42134808
Bernerie	Bourgneuf	0,41511838	Bernerie	Bourgneuf	0,42183056
Bernerie	Bourgneuf	0,41520737	Bernerie	Bourgneuf	0,4219615
Bernerie	Bourgneuf	0,41542822	Bernerie	Bourgneuf	0,42197963
Bernerie	Bourgneuf	0,4156302	Bernerie	Bourgneuf	0,42200825
Bernerie	Bourgneuf	0,41570889	Bernerie	Bourgneuf	0,42213098
Bernerie	Bourgneuf	0,41580881	Bernerie	Bourgneuf	0,42216425
Bernerie	Bourgneuf	0,4158696	Bernerie	Bourgneuf	0,42227854
Bernerie	Bourgneuf	0,41594073	Bernerie	Bourgneuf	0,4223491
Bernerie	Bourgneuf	0,416122	Bernerie	Bourgneuf	0,4224066
Bernerie	Bourgneuf	0,41640302	Bernerie	Bourgneuf	0,42289491
Bernerie	Bourgneuf	0,41644248	Bernerie	Bourgneuf	0,42338444
Bernerie	Bourgneuf	0,41675297	Bernerie	Bourgneuf	0,42339094
Bernerie	Bourgneuf	0,41709268	Bernerie	Bourgneuf	0,42363219
Bernerie	Bourgneuf	0,41736276	Bernerie	Bourgneuf	0,42366875
Bernerie	Bourgneuf	0,41749016	Bernerie	Bourgneuf	0,42382454
Bernerie	Bourgneuf	0,41753788	Bernerie	Bourgneuf	0,42383865
Bernerie	Bourgneuf	0,41769317	Bernerie	Bourgneuf	0,42390506
Bernerie	Bourgneuf	0,41780647	Bernerie	Bourgneuf	0,42407918
Bernerie	Bourgneuf	0,41781404	Bernerie	Bourgneuf	0,42467883
Bernerie	Bourgneuf	0,41810381	Bernerie	Bourgneuf	0,42471929
Bernerie	Bourgneuf	0,4181152	Bernerie	Bourgneuf	0,42506083
Bernerie	Bourgneuf	0,418122	Bernerie	Bourgneuf	0,42508636
Bernerie	Bourgneuf	0,41812303	Bernerie	Bourgneuf	0,4254717
Bernerie	Bourgneuf	0,41827488	Bernerie	Bourgneuf	0,42609866
Bernerie	Bourgneuf	0,41845502	Bernerie	Bourgneuf	0,42617935
Bernerie	Bourgneuf	0,41856038	Bernerie	Bourgneuf	0,42623297
Bernerie	Bourgneuf	0,41872637	Bernerie	Bourgneuf	0,42669879
Bernerie	Bourgneuf	0,41878368	Bernerie	Bourgneuf	0,42734593
Bernerie	Bourgneuf	0,41883793	Bernerie	Bourgneuf	0,42761576
Bernerie	Bourgneuf	0,41885362	Bernerie	Bourgneuf	0,42777865
Bernerie	Bourgneuf	0,41899301	Bernerie	Bourgneuf	0,42797745
Bernerie	Bourgneuf	0,41904346	Bernerie	Bourgneuf	0,42806933
Bernerie	Bourgneuf	0,41926358	Bernerie	Bourgneuf	0,42811322
Bernerie	Bourgneuf	0,41926638	Bernerie	Bourgneuf	0,42815499
Bernerie	Bourgneuf	0,41936151	Bernerie	Bourgneuf	0,42837922
Bernerie	Bourgneuf	0,41953904	Bernerie	Bourgneuf	0,42871118
Bernerie	Bourgneuf	0,41960564	Bernerie	Bourgneuf	0,42895691
Bernerie	Bourgneuf	0,41997243	Bernerie	Bourgneuf	0,42899167
Bernerie	Bourgneuf	0,42031942	Bernerie	Bourgneuf	0,4294723
Bernerie	Bourgneuf	0,42034171	Bernerie	Bourgneuf	0,43183364

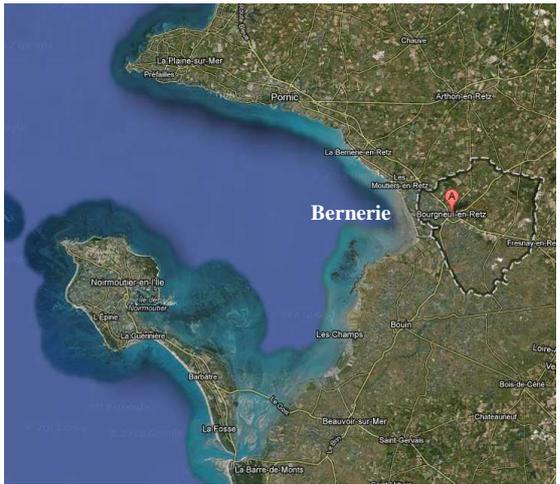
Bernerie	Bourgneuf	0,43201209	Bernerie	Bourgneuf	0,43567433
Bernerie	Bourgneuf	0,43220031	Bernerie	Bourgneuf	0,4356979
Bernerie	Bourgneuf	0,43250222	Bernerie	Bourgneuf	0,43591492
Bernerie	Bourgneuf	0,43258874	Bernerie	Bourgneuf	0,43635256
Bernerie	Bourgneuf	0,43277746	Bernerie	Bourgneuf	0,43660875
Bernerie	Bourgneuf	0,43284731	Bernerie	Bourgneuf	0,43729663
Bernerie	Bourgneuf	0,43293957	Bernerie	Bourgneuf	0,43844055
Bernerie	Bourgneuf	0,43314256	Bernerie	Bourgneuf	0,43849753
Bernerie	Bourgneuf	0,4331428	Bernerie	Bourgneuf	0,43963267
Bernerie	Bourgneuf	0,43316989	Bernerie	Bourgneuf	0,44060945
Bernerie	Bourgneuf	0,43325364	Bernerie	Bourgneuf	0,4406468
Bernerie	Bourgneuf	0,4340106	Bernerie	Bourgneuf	0,4418037
Bernerie	Bourgneuf	0,43503182	Bernerie	Bourgneuf	0,44445877
Bernerie	Bourgneuf	0,43513671	Bernerie	Bourgneuf	0,44491309
Bernerie	Bourgneuf	0,43518821	Bernerie	Bourgneuf	0,44565896
Bernerie	Bourgneuf	0,43538688	Bernerie	Bourgneuf	0,44691586



Bassin de Marennes Oléron



Bassin d'Arcachon



Baie de Bourgneuf