



Étude pluridisciplinaire de la **DYNA**mique des **MOR**talités estivales dans le Bassin de Marennes - Oléron

Tristan Renault / LGP

Patrick Soletchnik / LCPC

Travaux effectués à Ifremer La Tremblade



Introduction

➤ **Dynamo de Morest :**

- ❖ **une manip "synergique"**
- ❖ **des partenaires**
- ❖ **un plan d'expérience commun**
- ❖ **des résultats**
- ❖ **des perspectives**



Des partenaires...

mortalité	LCPC
croissance-biochimie	LCPC
activités hématocytaires	LGP
Traçeurs isotopiques	CREMA
aneuploidie	LGP
écotoxicologie	DEL -Nantes

...pas encore tous présents dans l'expression des résultats d'aujourd'hui...

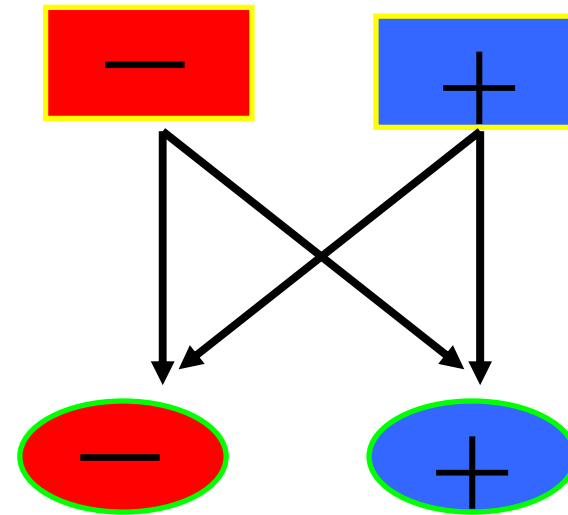
mortalité	LCPC
croissance-biochimie	LCPC
activités hématocytaires	LGP



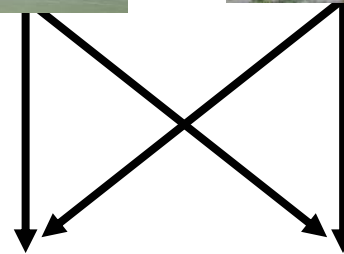
Un plan d'expérience commun ...

Sites
(environnements)

cheptels



du matériel commun ...



Diploïdes
(1 lot d'écloserie
1 lot CN)

Triploïdes



I - Dynamique des mortalités en relation avec la reproduction in situ et la température

O. Le Moine, N. Faury, P. Guilpain, P. Geairon, D. Razet,
J L Seugnet, P. Soletchnik,

"Dynamo" 2002



Mortalité, croissance, reproduction, température

...en 6 mois d'élevage au printemps été

SITE	Dipl-Ecl	Dipl-CN	Triplo
Est-15	43	36	11
Est-70	14	21	7

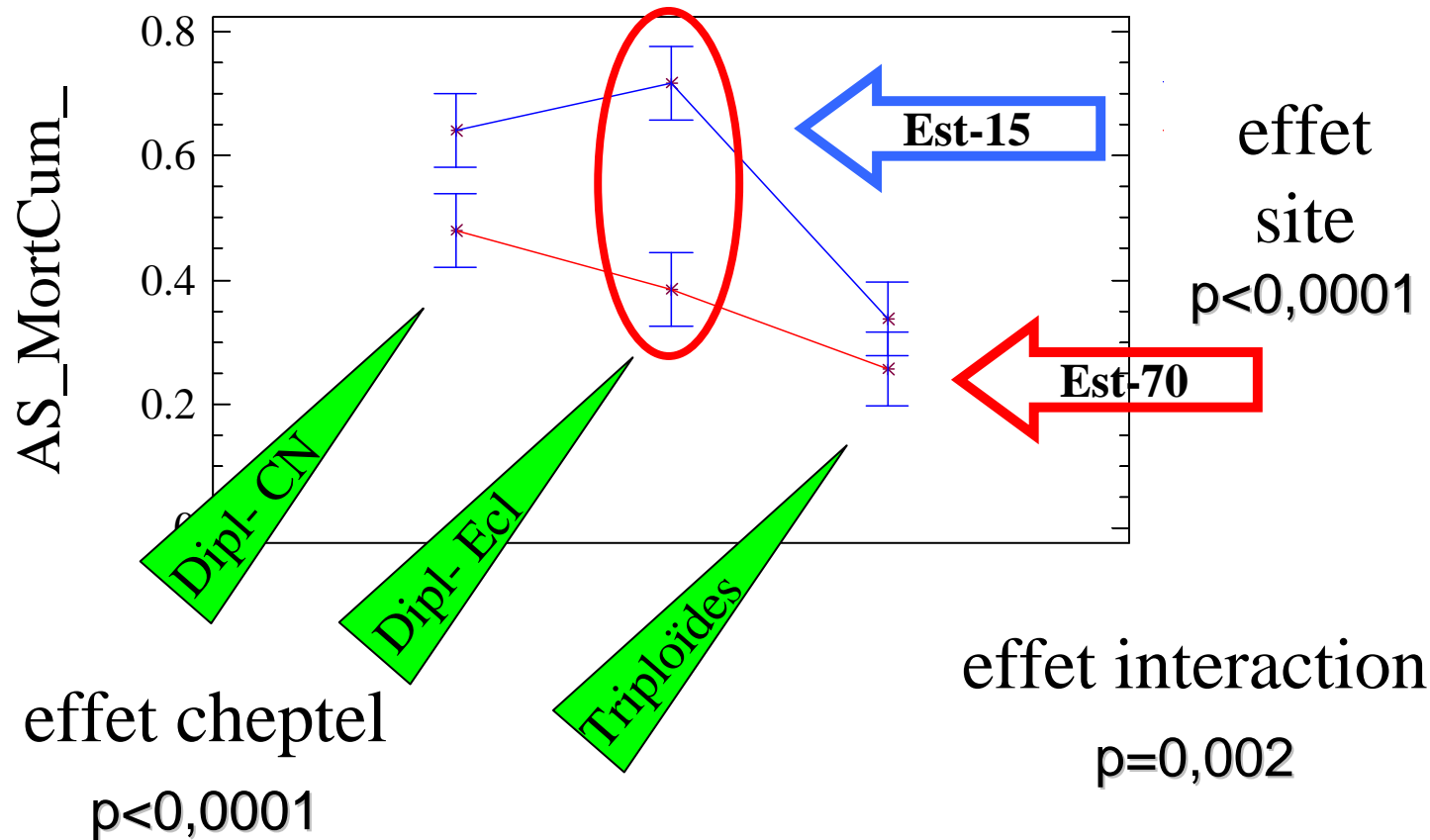
- Faible mortalité des triplos
- Sensibilité plus grande de l'environnement E15 / E70 pour les Diplo (CN et E)
- Les diplos issus d'écloserie (Dipl-Ecl) sont plus affectés en environnement sensible (Est-15) que les diplo issus de captage naturel (D-CN)
- Finalement, la mortalité très contrastée selon les conditions (cheptels x sites)

"Dynamo" 2002



Mortalité, croissance, reproduction, température

effet site , effet cheptel au terme de l'élevage (manova)



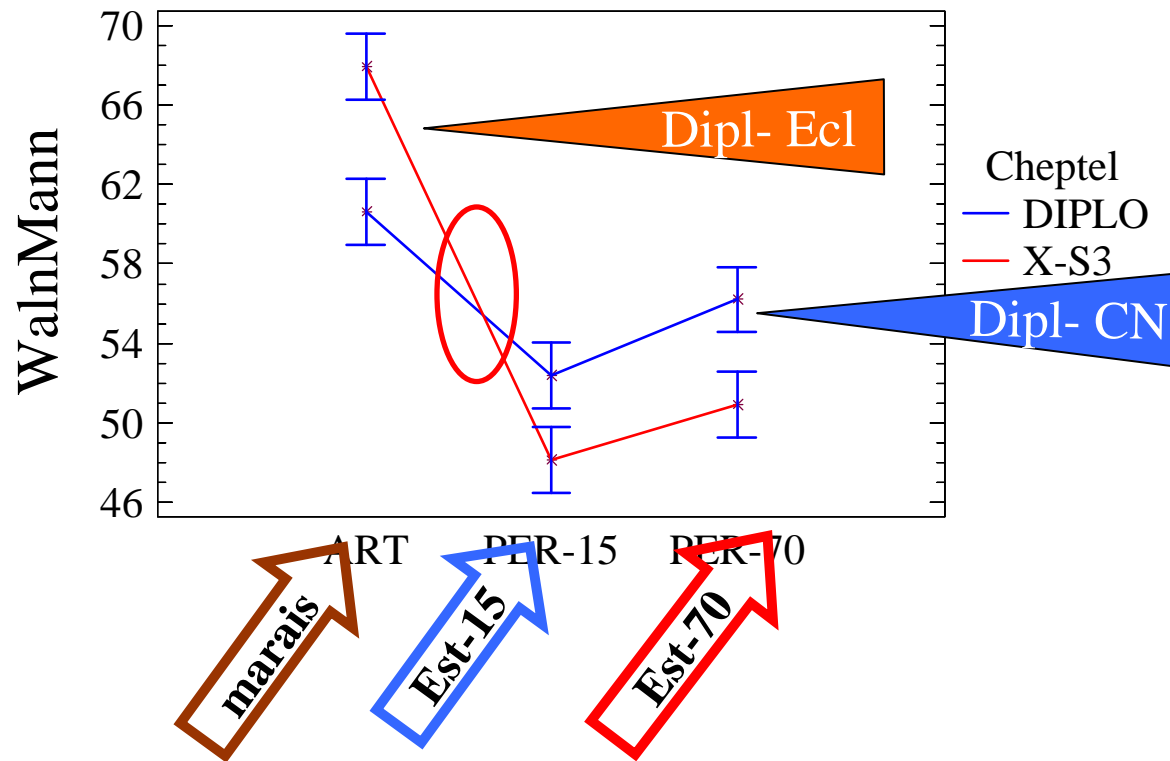
- tests de rang : 1/ mortal(diplo E et CN) > mortal(triplo)
- 2/ mortal(Est-15) > mortal(Est-70)



Mortalité, croissance, reproduction, température

Étrange interaction

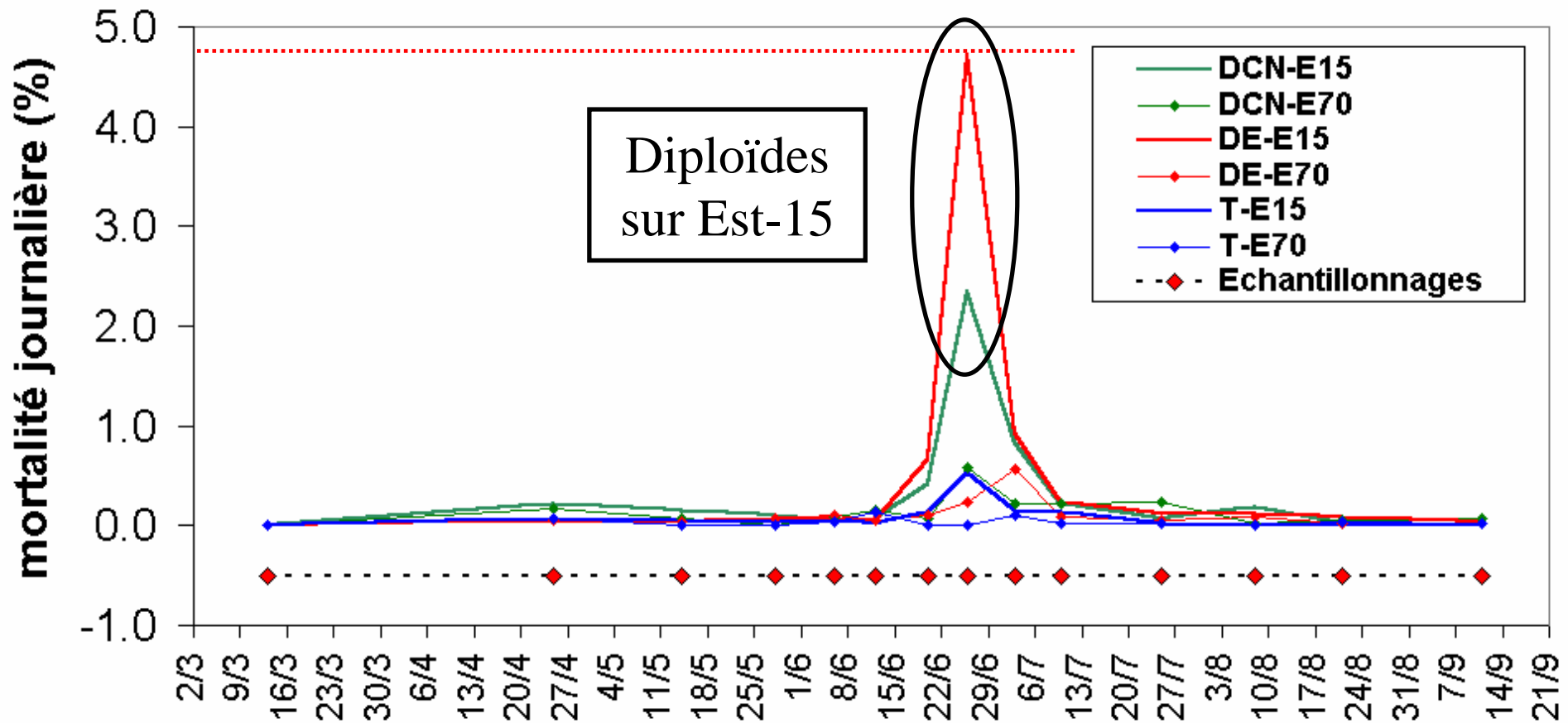
Indice de qualité de Walne et Mann ($pdsec/ pcoq * 1000$) entre marais et estran





Mortalité, croissance, reproduction, température

Dynamique de la mortalité



La mortalité survient entre le 20 et le 26 juin

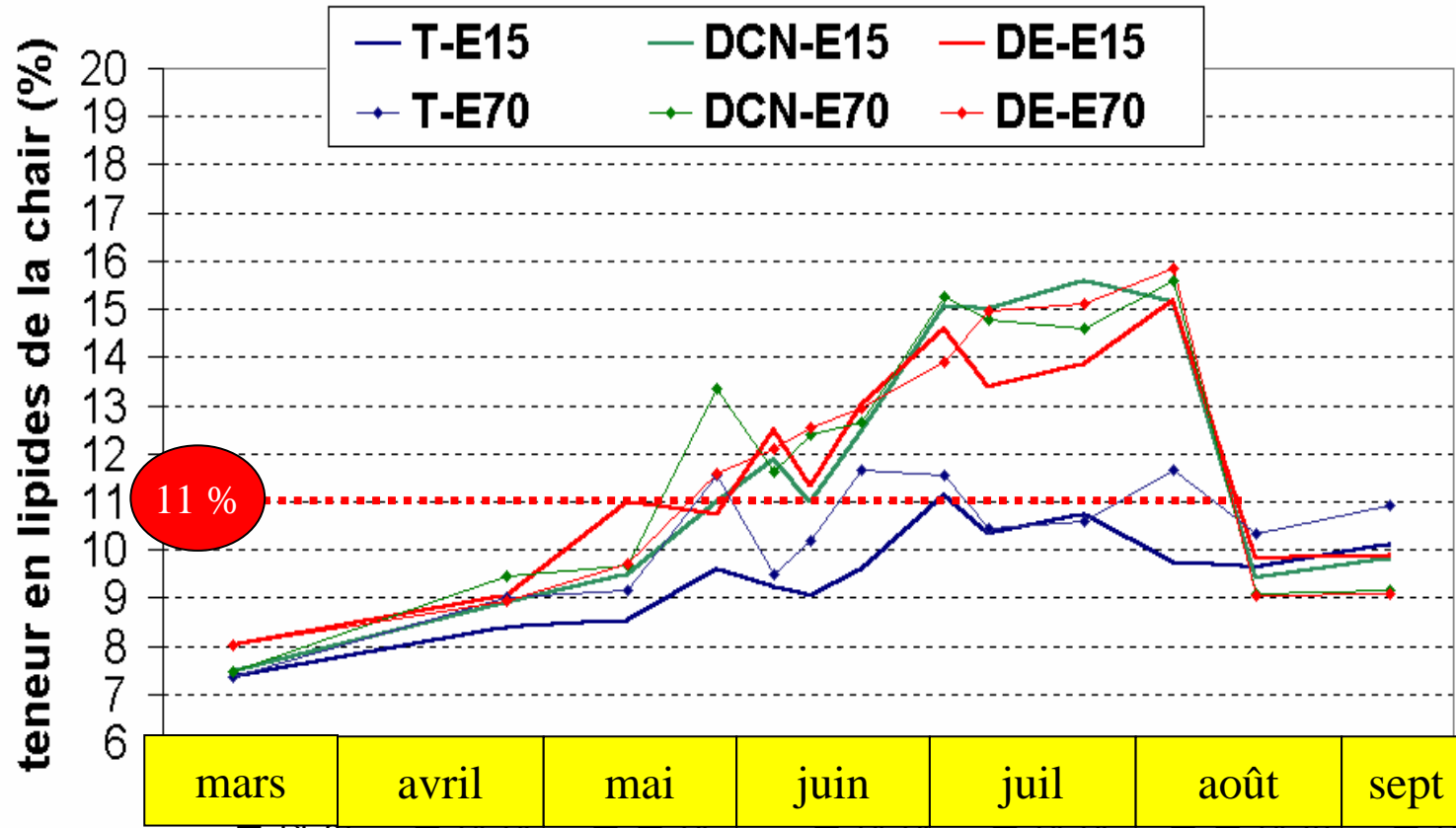
(sauf pour les diploïdes d'écloserie à 15 cm !...)

"Dynamo" 2002



Mortalité, croissance, **reproduction**, température

Teneur en **lipides** de la chair (*PLG*)



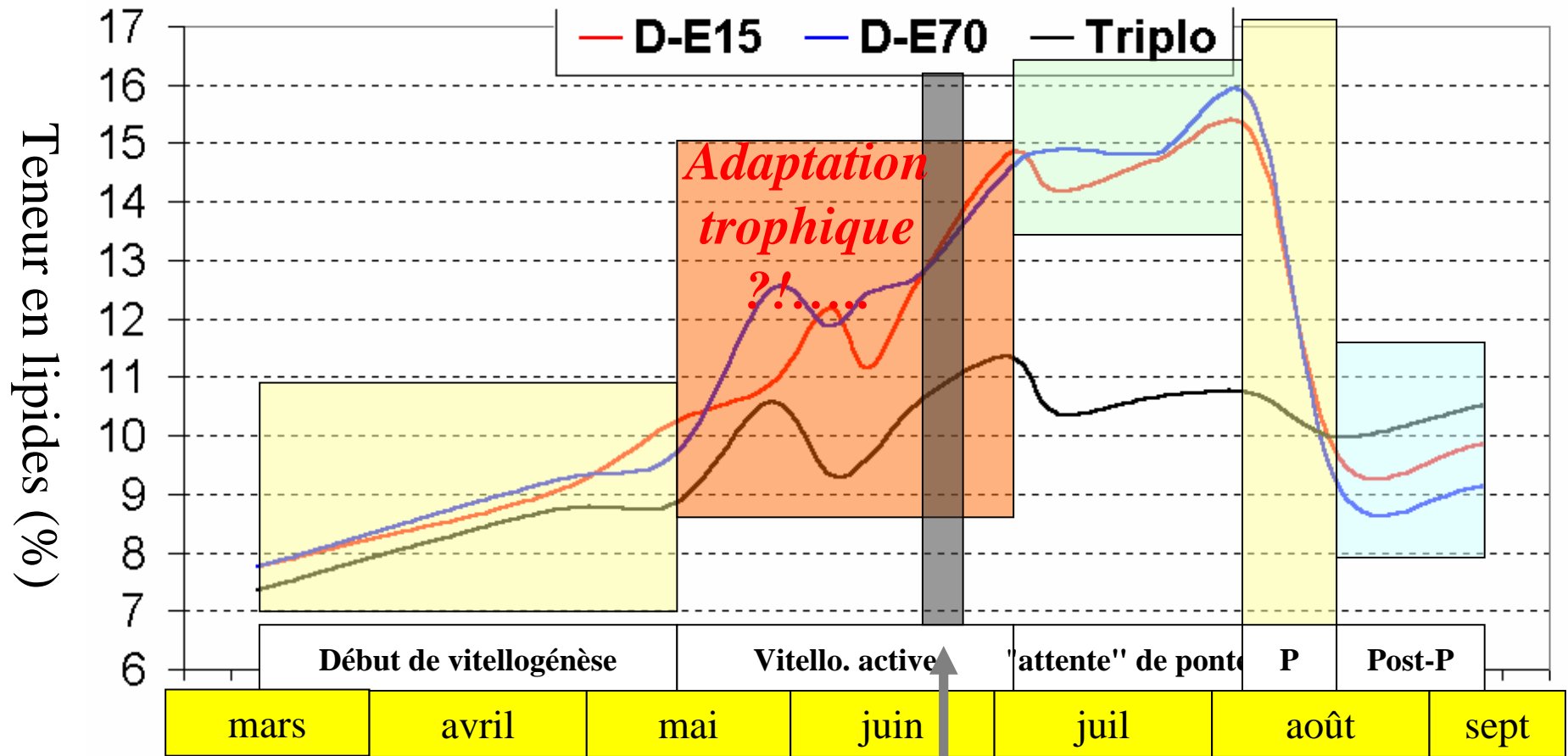
la teneur en lipides de la chair constitue un bon indicateur de maturation et de ponte des cheptels diploïdes

"Dynamo" 2002



Mortalité, croissance, reproduction, température

Cycle lipidique : 5 "phases" pour les diplos...



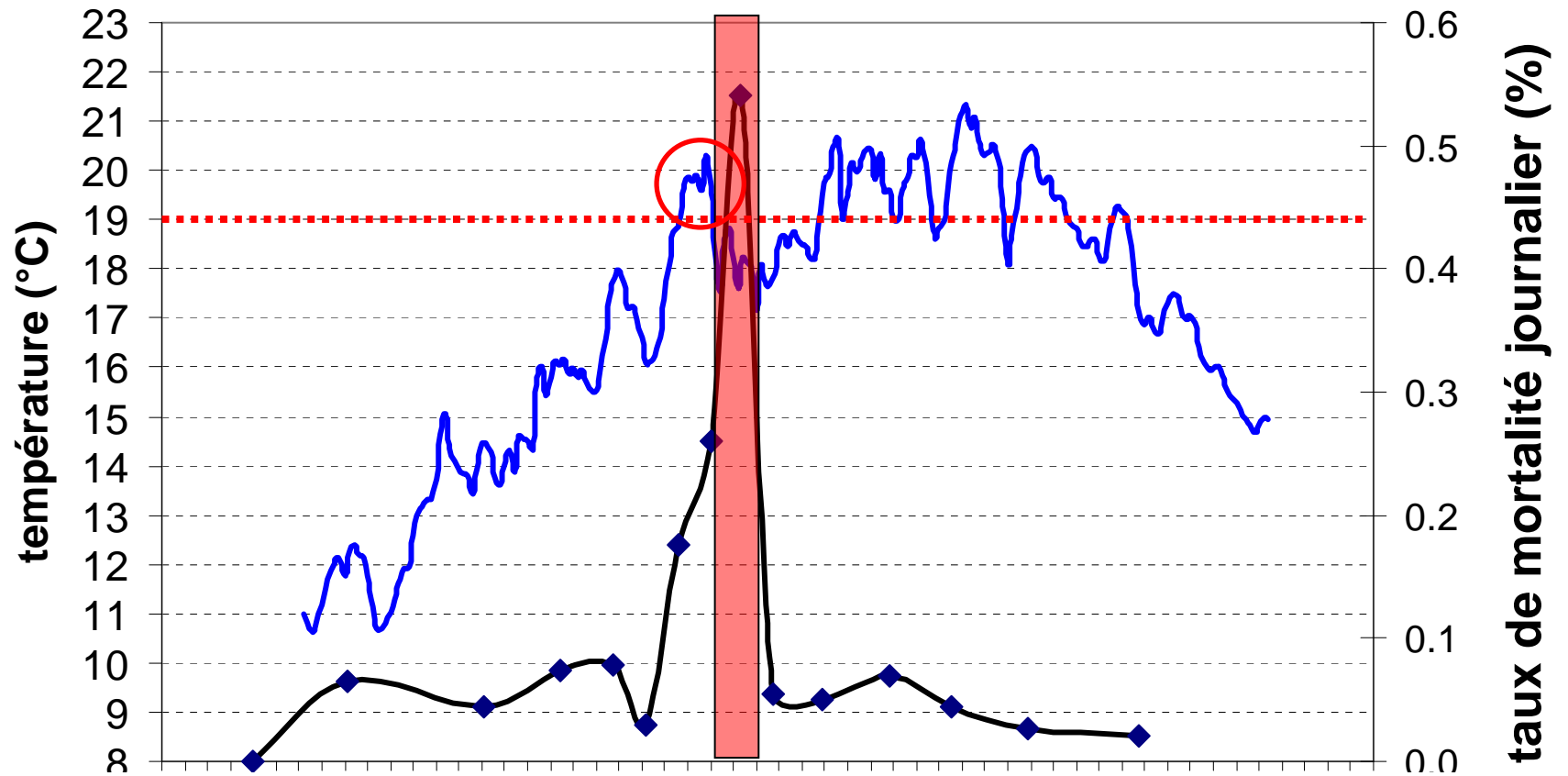
La mortalité survient entre le 20 et le 26 juin

"Dynamo" 2002



Mortalité, croissance, reproduction, température

relation mortalité - température



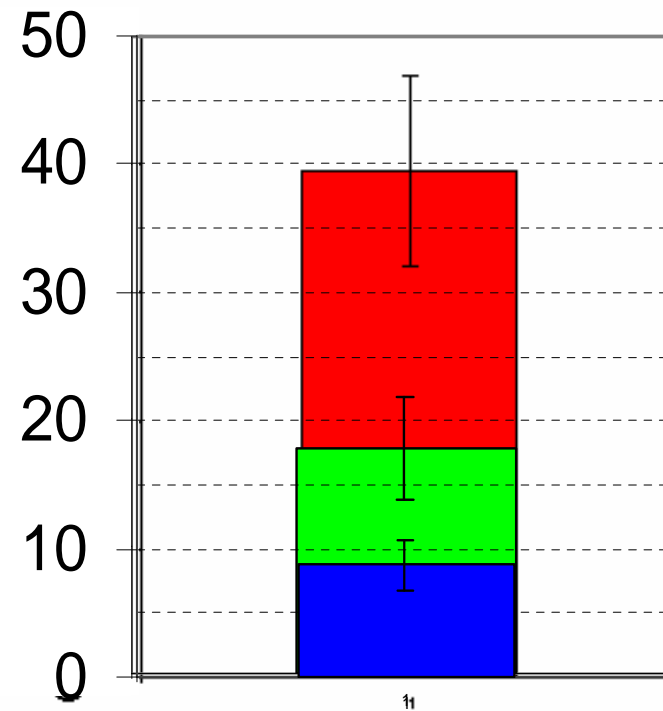
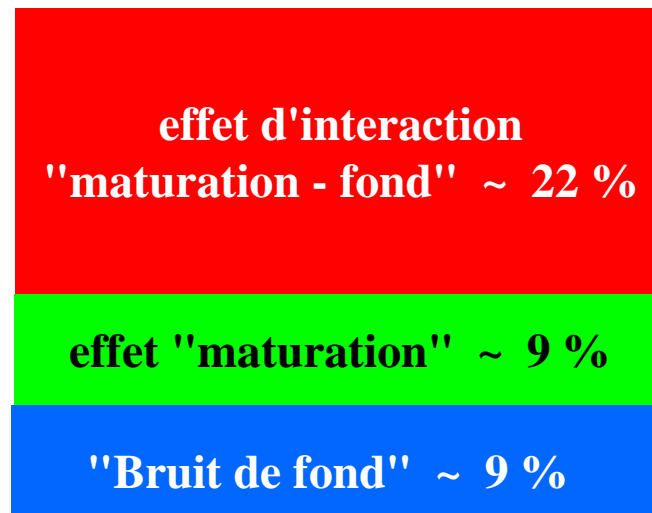
Température supérieure à 19°C entre le 16 et le 23 juin

Pic de mortalité entre le 23 et le 29 juin

"Dynamo" 2002

Mortalité, croissance, reproduction, température

"décomposition" des Mortalités





Mortalité, croissance, reproduction, température

Conclusion

- Le plan d'expérience proposé (cheptel "maturant" et "non maturant" et site sensible et non sensible) permet de **préciser la contribution à la mortalité, de la maturation et du site.**
- **Les triploïdes ne subissent pas les pics de mortalités** qui touchent les cheptels de diploïdes au niveau de l'environnement "à risque". C'est la **"proximité" du fond** qui constitue un **facteur risque** dans le bmo.
- La **mortalité** survient bien dans le bmo autour d'une période de maturation "active", **mais surtout**, simultanément au **franchissement d'une température supérieure à 19°C** (*idem marais cf*)
- les diploïdes issus d'écloserie ont des performances zootechniques sur estran inférieures à celle des diplo issus du captage naturel, surtout quand l'environnement est sensible (proximité du fond) et inversement...**effet "historique" fort** et ou (?) effet "génétique" ?

Fin de la 1^{ère}
partie

A toi Tristan !

ifremer

LOGO
personnalisé
si besoin



II - Suivi de paramètres hématocytaires

B. Gagnaire, N. Kerdudou et T. Renault



Suivi de paramètres hématocytaires

Objectifs

- Mesurer régulièrement au cours du temps (pendant 5 mois avec un pas de prélèvement de 8 à 15 jours) des paramètres hématocytaires
- Mesurer des paramètres hématocytaires chez différents groupes d'animaux (triploïdes, diploïdes de captage naturel et diploïdes XS3)
- Mesurer des paramètres hématocytaires dans différentes conditions environnementales (marais et estran à 15 cm et 70 cm)
- Comparer les mesures obtenues pour les paramètres hématocytaires suivis en fonction des groupes d'animaux et des conditions d'environnement
- Comparer les mesures obtenues pour les paramètres hématocytaires sélectionnés et d'autres paramètres suivis

Suivi de paramètres hématocytaires

Matériel et Méthodes

- Ponction d'hémolymphe dans la cavité péricardique (0,5 à 1 ml d'hémolymphe) : obtention d'hémocytes circulants (environ 1 million par ml)





Suivi de paramètres hématocytaires

Matériel et Méthodes

Pour chaque condition (site/groupe d'animaux) et chaque prélèvement, 30 huîtres sont ponctionnées et 3 pools de 10 hémolymphe réalisés.



Suivi de paramètres hématocytaires

Matériel et Méthodes

- Analyse directe en cytométrie de flux des hémocytes sans traitement particulier préalable :
 - > Détermination des pourcentages de granulocytes et de hyalinocytes
 - > Mortalité : marquage des cellules mortes à l'iodure de propidium (fluorescence rouge)
 - > Activités enzymatiques : marquage des cellules possédant certaines enzymes (estérase, peroxydase et aminopeptidase) à l'aide de kits du commerce (fluorescence verte)
 - > Phagocytose : marquage des cellules à activité phagocytaire suite à l'internalisation de billes fluorescentes (fluorescence verte)

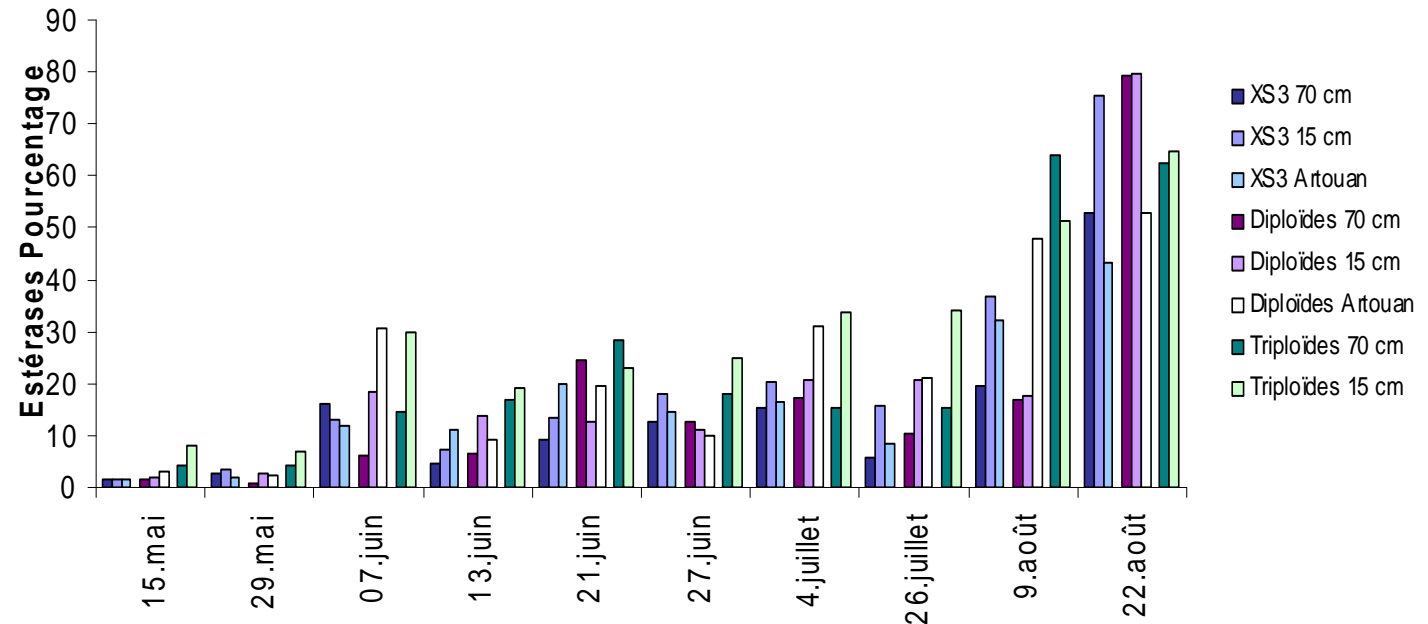


Suivi de paramètres hémocytaires

Résultats et discussion

- Evolution au cours du temps des paramètres hémocytaires sélectionnés

> Augmentation des valeurs observées pour la phagocytose et l'activité estérase

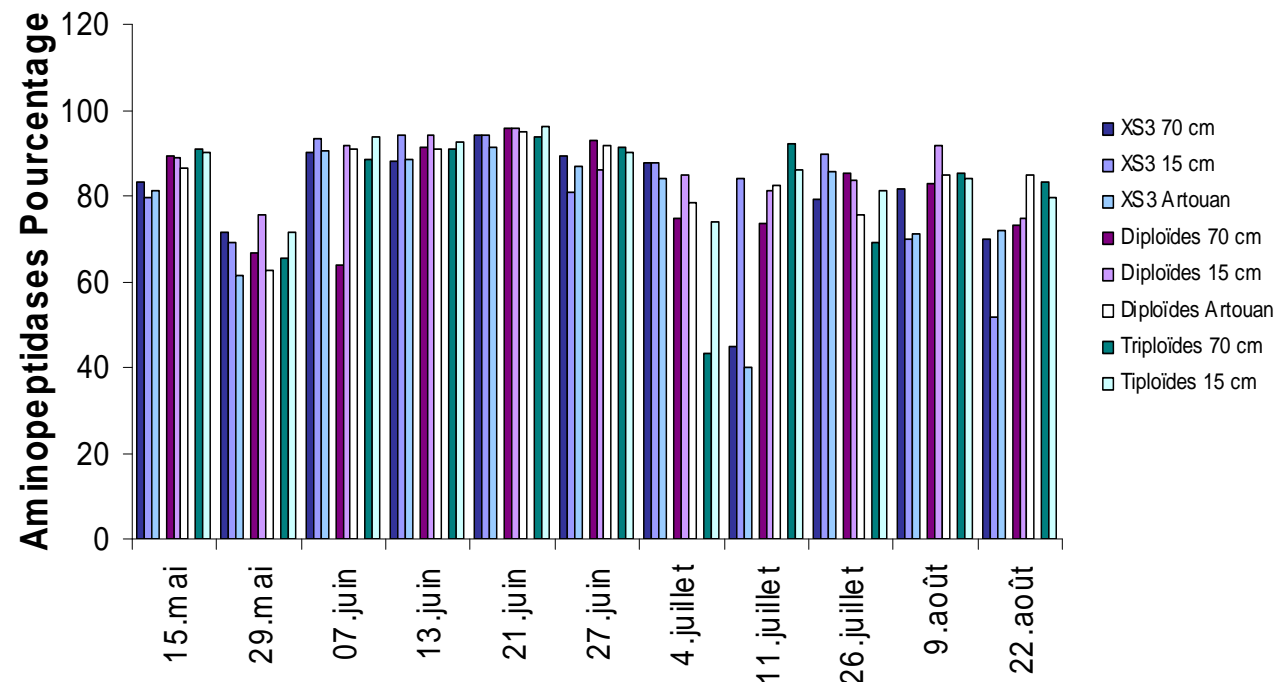


Suivi de paramètres hématologiques

Résultats et discussion

- Evolution au cours du temps des paramètres hématologiques sélectionnés

> Stabilité au cours du temps des valeurs observées pour les activités aminopeptidases et le rapport hyalinocytes/granulocytes (exceptés pour deux prélèvements en juillet)

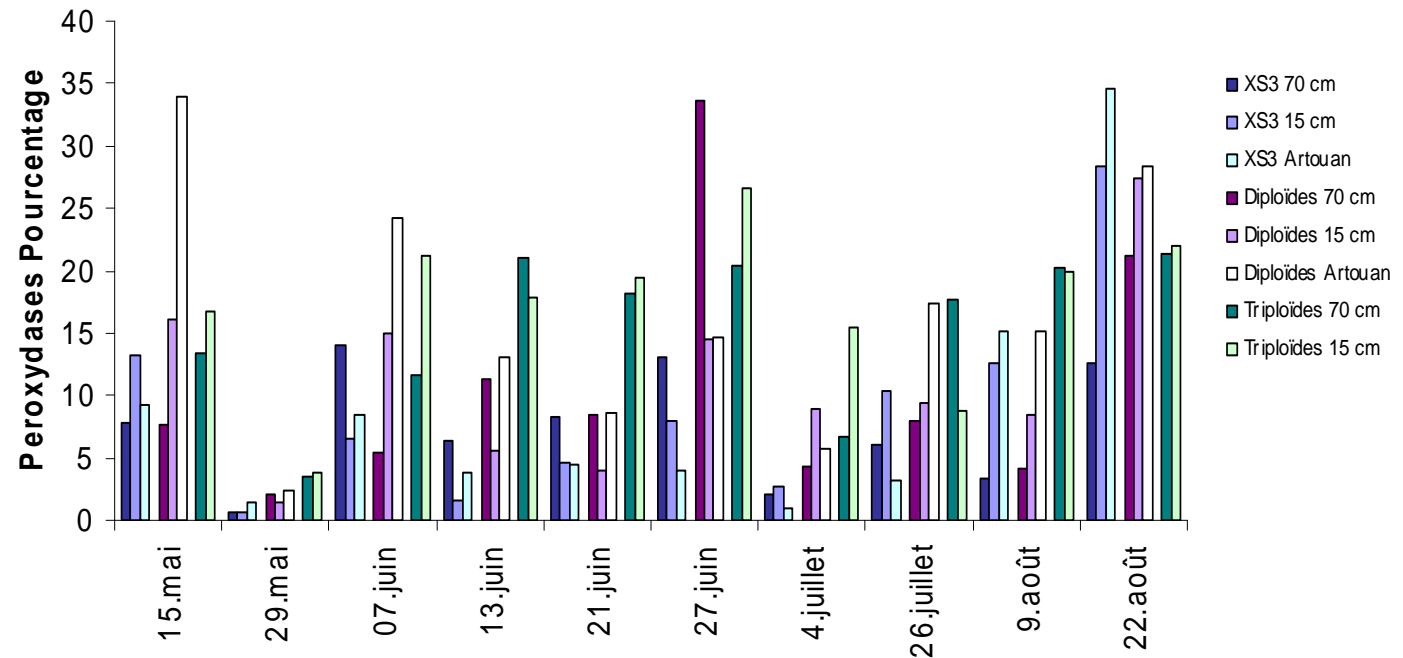


Suivi de paramètres hématologiques

Résultats et discussion

- Evolution au cours du temps des paramètres hématologiques sélectionnés

> Fluctuations des valeurs observées pour les activités peroxydases





Suivi de paramètres hématologiques

Résultats et discussion

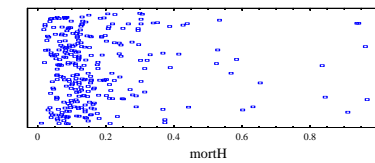
- Evolution au cours du temps des paramètres hématologiques sélectionnés : la distribution globale des descripteurs montre des différences en fonction des paramètres choisis
 - > Mortalité et rapport hyalinocytes/granulocytes
 - > Phagocytose, activités peroxydase et estérase
 - > Activité aminopeptidase



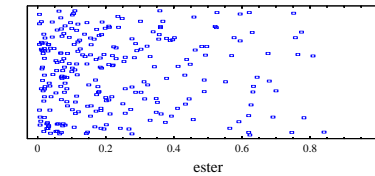
Suivi de paramètres hémocytaires

Résultats et discussion

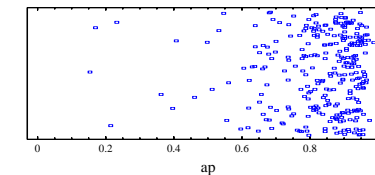
Mortalité hémocyttaire



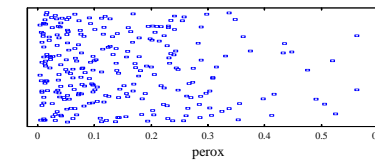
Estérases



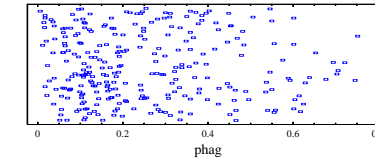
Aminopeptidase



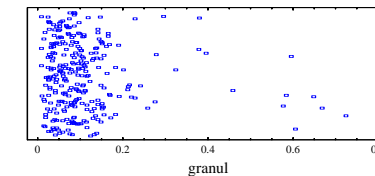
Peroxydase



Phagocytose



Granulocytes





Suivi de paramètres hématocytaires

Résultats et discussion

- Evolution au cours du temps des paramètres hématocytaires sélectionnés : des corrélations entre descripteurs sont observées
 - > Les paramètres Phagocytose/Estérase et Peroxydase présentent des corrélations dont le R2 est supérieur à 50%



Suivi de paramètres hématocytaires

Résultats et discussion

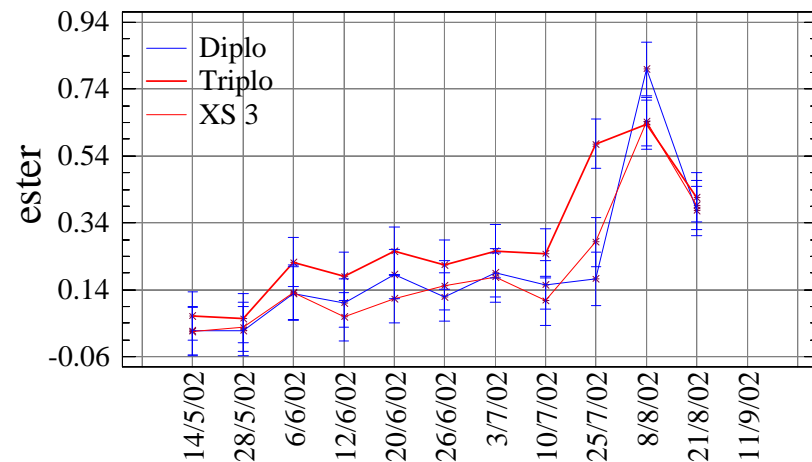
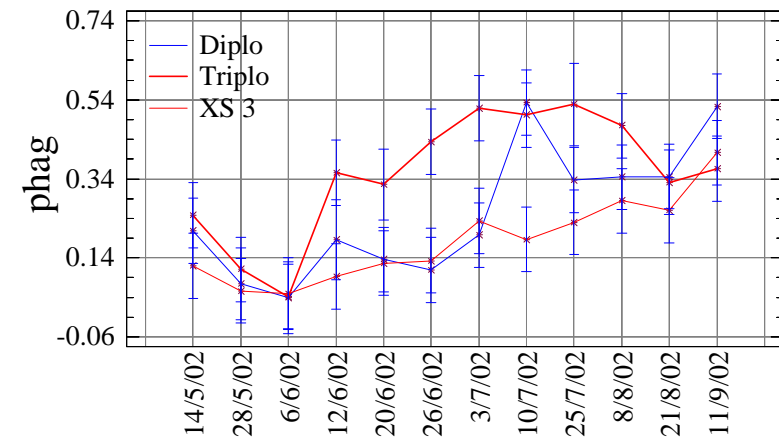
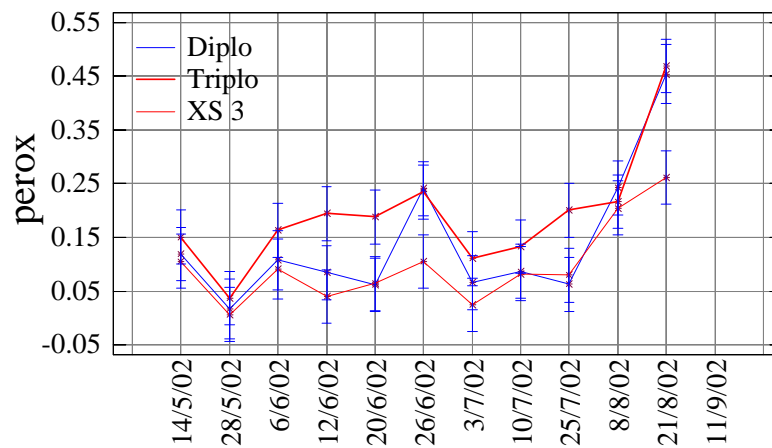
- Paramètres hématocytaires et cheptels pour les deux sites sur estran confondus
 - > Pour les paramètres Phagocytose/Estérase et Peroxydase, il existe des différences
 - > Pour les autres paramètres, des différences ponctuelles peuvent être observées (pour des prélèvements particuliers)



Suivi de paramètres hémocytaires

Résultats et discussion

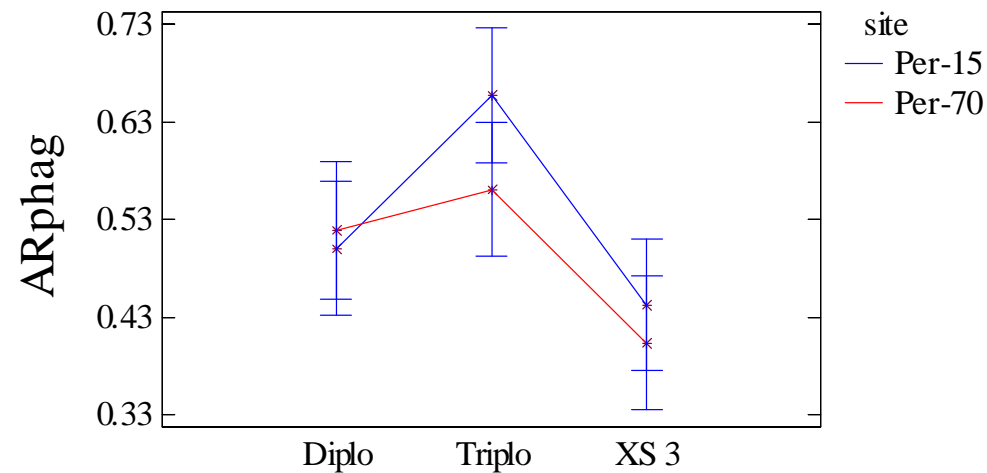
- Paramètres hémocytaires et cheptels pour les deux sites sur estran confondus



Suivi de paramètres hématocytaires

Résultats et discussion

- Paramètres hématocytaires et cheptels pour les deux sites sur estran confondus

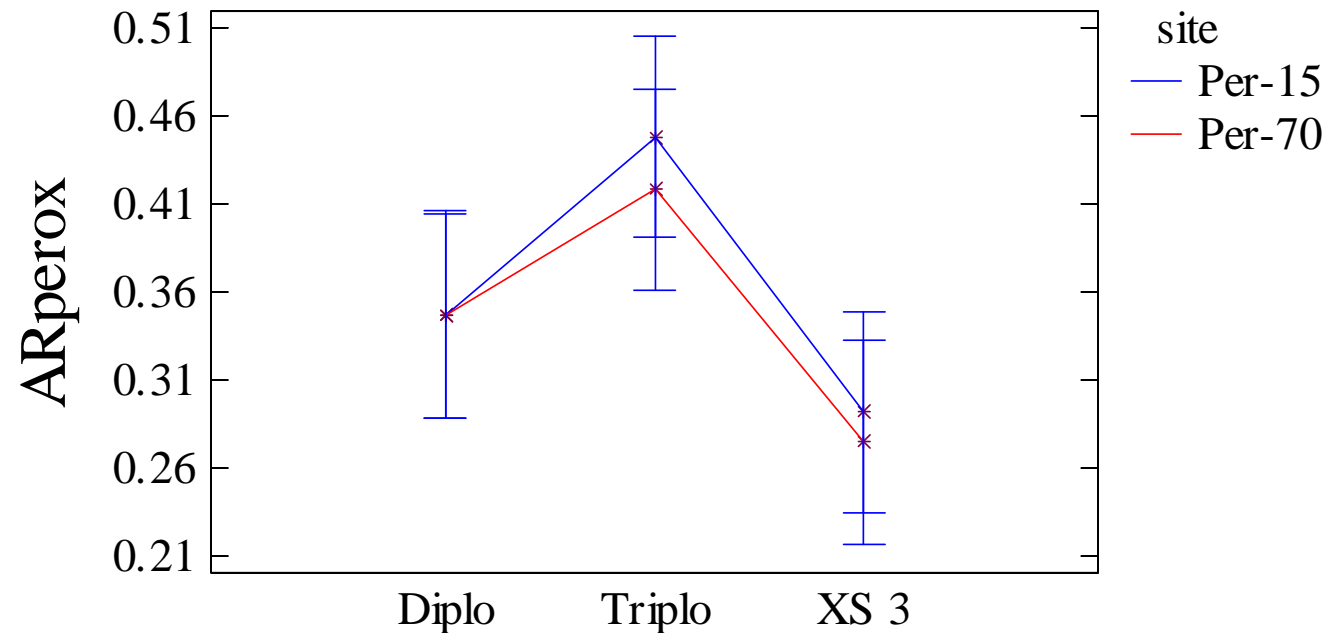


Test de rang LSD : 3 cheptels : XS3 puis diploïdes, puis triploïdes

Suivi de paramètres hématocytaires

Résultats et discussion

- Paramètres hématocytaires et cheptels pour les deux sites sur estran confondus

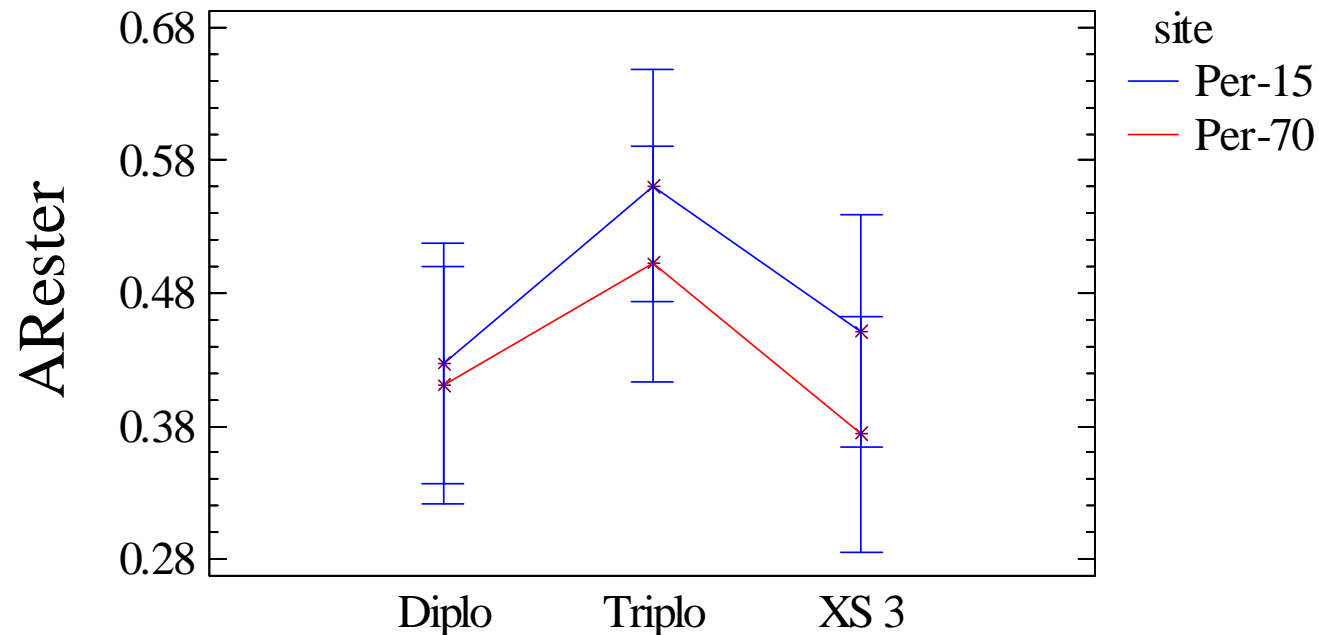


Test de rang LSD : 3 cheptels : XS3 puis diploïdes, puis triploïdes

Suivi de paramètres hématocytaires

Résultats et discussion

- Paramètres hématocytaires et groupes d'individus pour les deux sites sur estran confondus



Test de rang LSD : 2 cheptels : [XS3 - diploïdes] et triploïdes



Suivi de paramètres hématologiques

Résultats et discussion

- Paramètres hématologiques et sites pour les trois cheptels confondus
 - > Pour l'ensemble des paramètres suivis, il n'existe pas de différences (sauf ponctuellement)



Suivi de paramètres hématocytaires

Conclusions

- Augmentation des activités estérase, peroxydase et phagocytose au cours du temps
- Pas d'influence de la ponte sur les paramètres suivis
- Paramètres phagocytose/estérase/ peroxydase liés
- Valeurs des paramètres phagocytose/estérase et peroxydase plus élevées pour les huîtres triploïdes
- Pas de profil immunitaire particulier au moment des mortalités



fremer

LOGO
personnalisé
si besoin



III - Synergie écologie côtière et activité hémocytaire

➤ **Analyse de la phagocytose en relation avec la dynamique de mortalité et la maturation des cheptels dans différents environnements**

O. Le Moine, N. Faury, P. Guilpain, P. Geairon, D. Razet, J L Seugnet, P. SoletchnikLCPC / La Tremblade

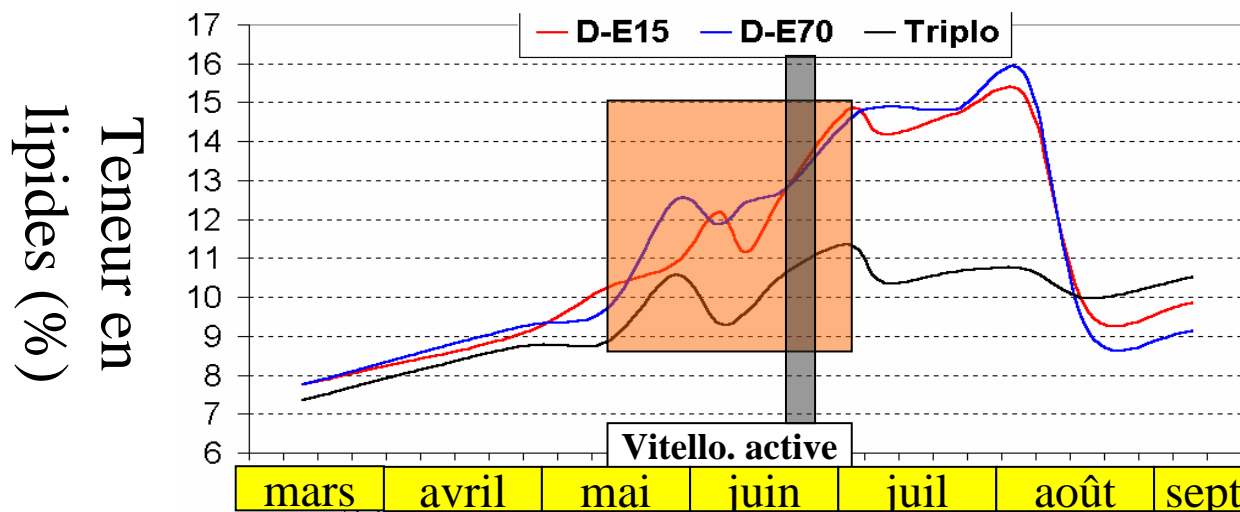
B. Gagnaire, N. Kerdudou et T. Renault ... LGP / La Tremblade



Analyse interdisciplinaire

Objectifs :

- Orienter l'analyse descriptive sur la **période sensible de mi Mai à fin Juin** dans le Bassin de Marennes Oléron au cours de laquelle apparaissent :
 - ✓ Un pic de mortalité important en l'environnement "sensible"
 - ✓ des "oscillations" au niveau des cycles lipidiques et glucidiques (*hypothèse : métabolisme réagissant aux fluctuations des ressources trophiques ?.....*)

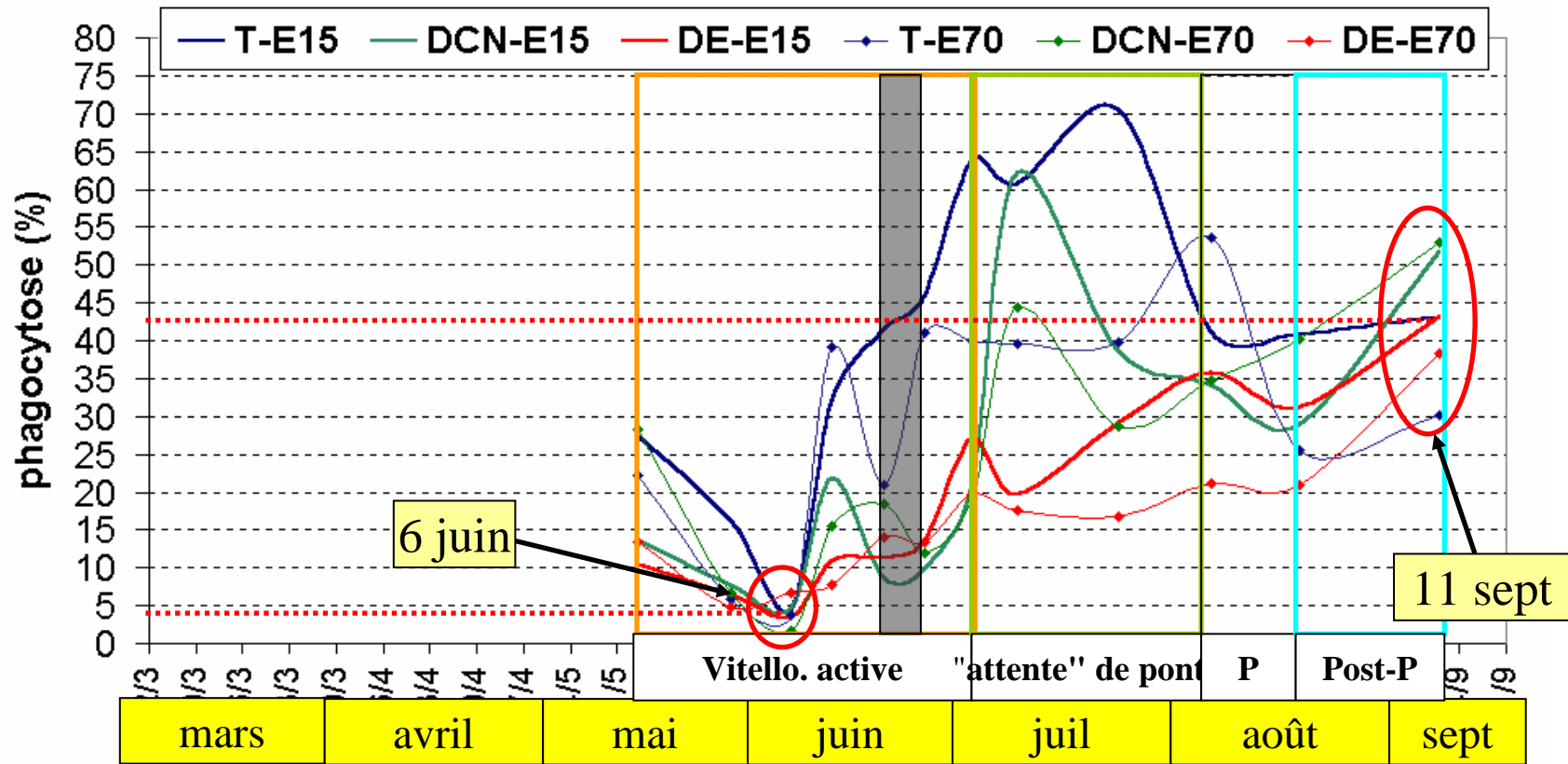


"Dynamo" 2002



Analyse interdisciplinaire

activité de phagocytose



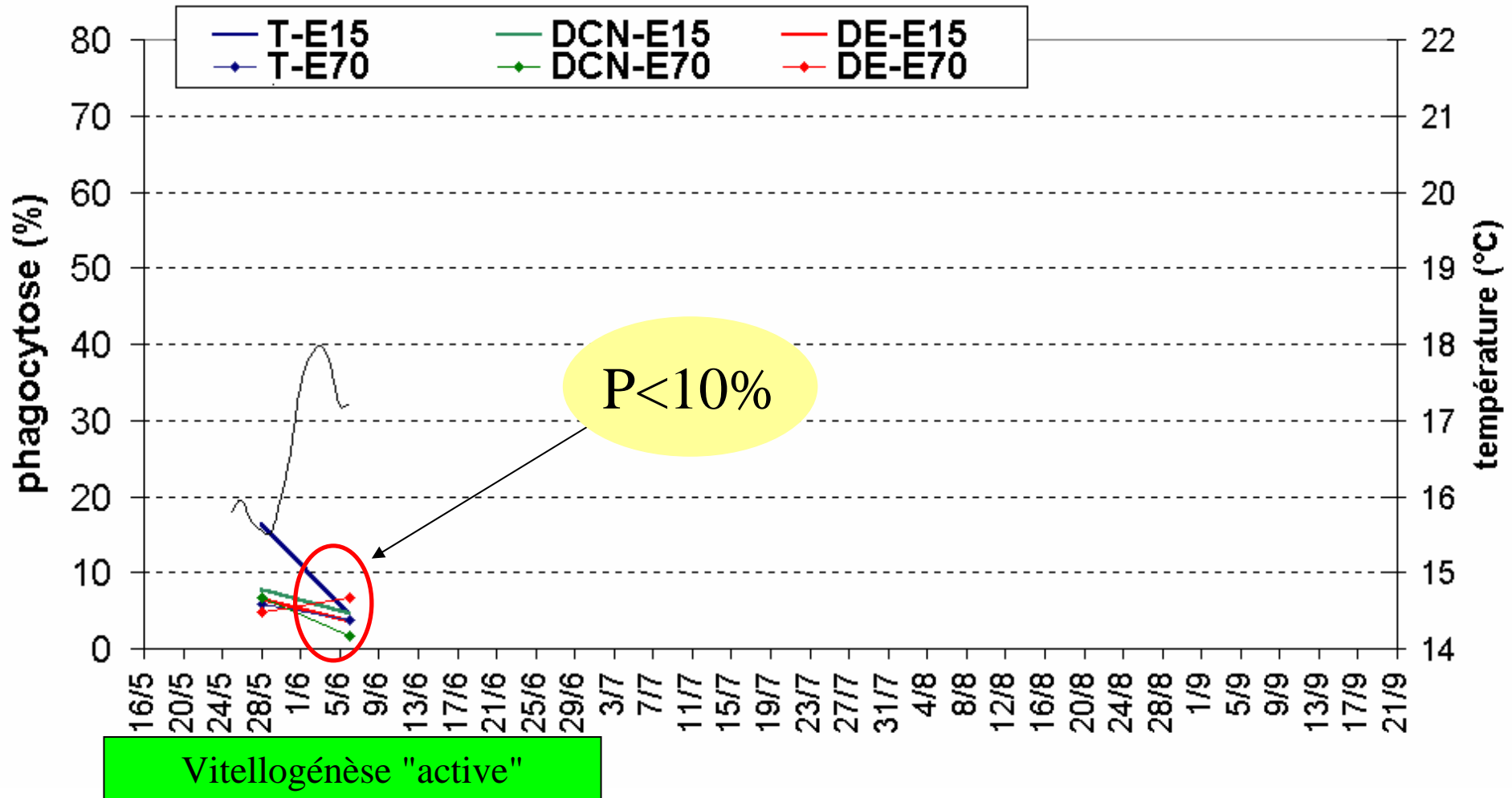
L'activité de phagocytose augmente considérablement durant la deuxième partie de la phase de "vitellogénèse active" et "attente de ponte"

Des contrastes forts apparaissent selon les conditions d'élevage

"Dynamo" 2002



Analyse interdisciplinaire

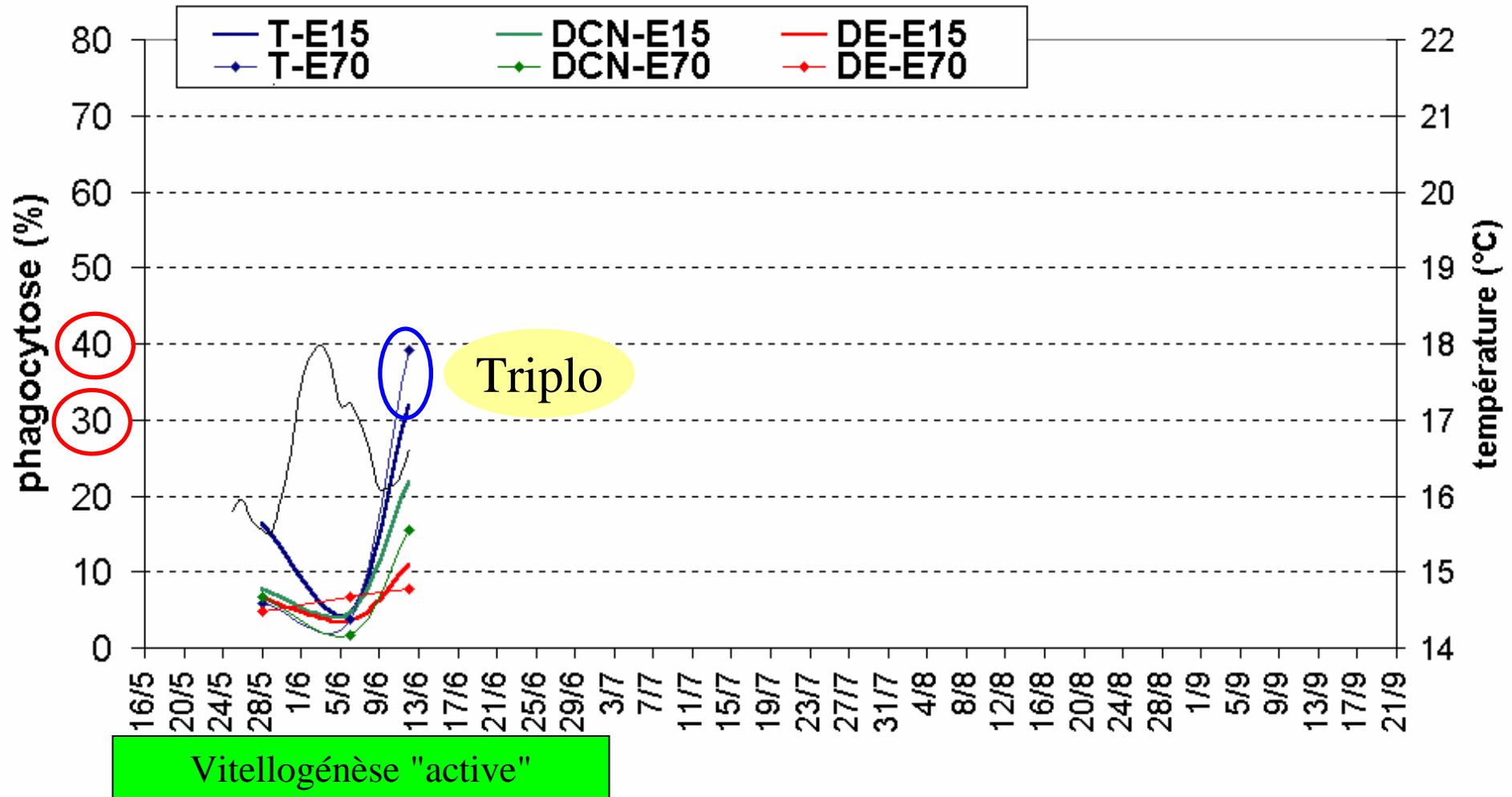


Étude descriptive de l'activité hémodocytaire en relation avec la mortalité, la maturation et la température ...

"Dynamo" 2002



Analyse interdisciplinaire

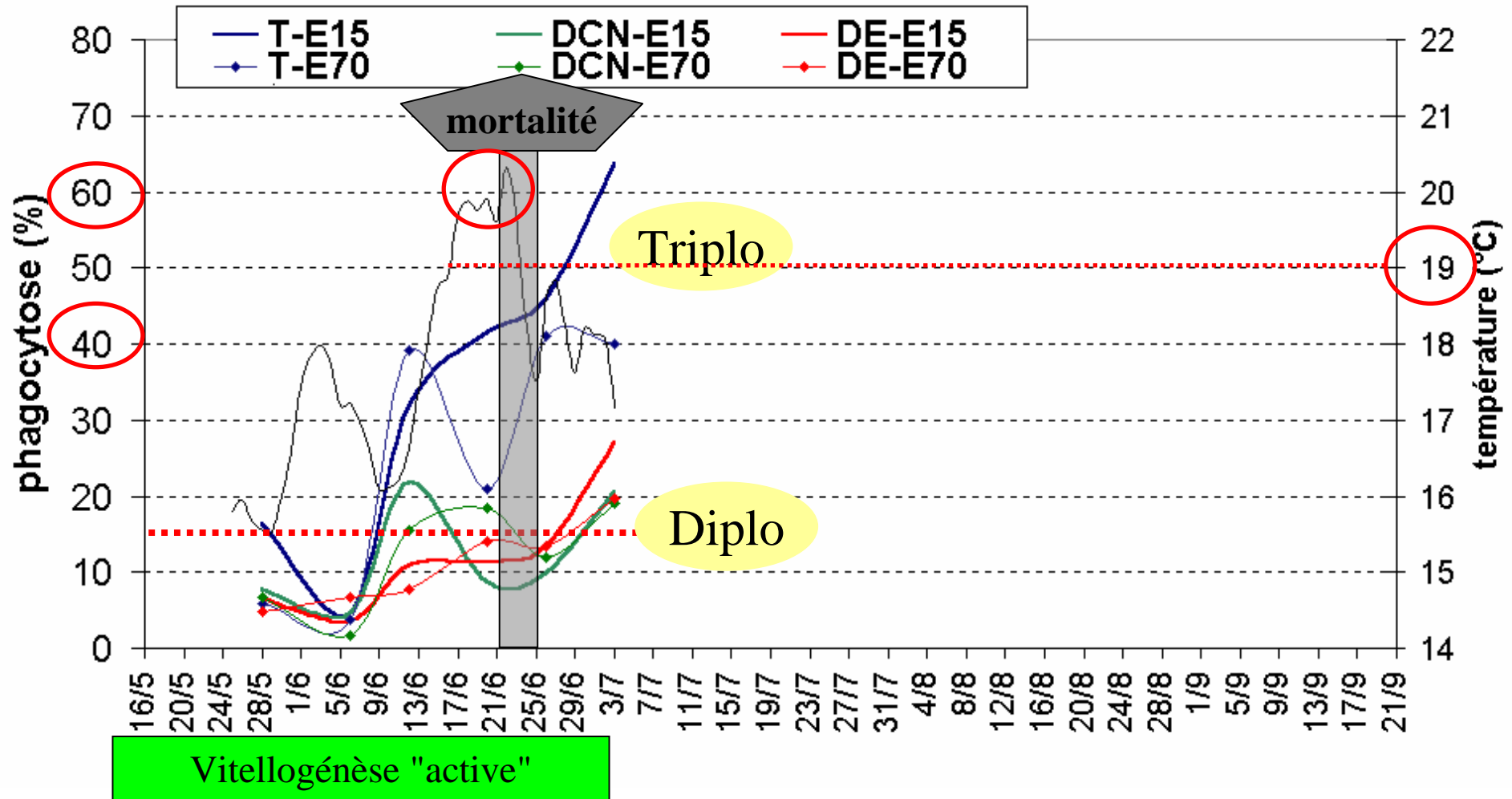


Étude descriptive de l'activité hémocytaire en relation avec la mortalité, la maturation et la température ...

"Dynamo" 2002



Analyse interdisciplinaire

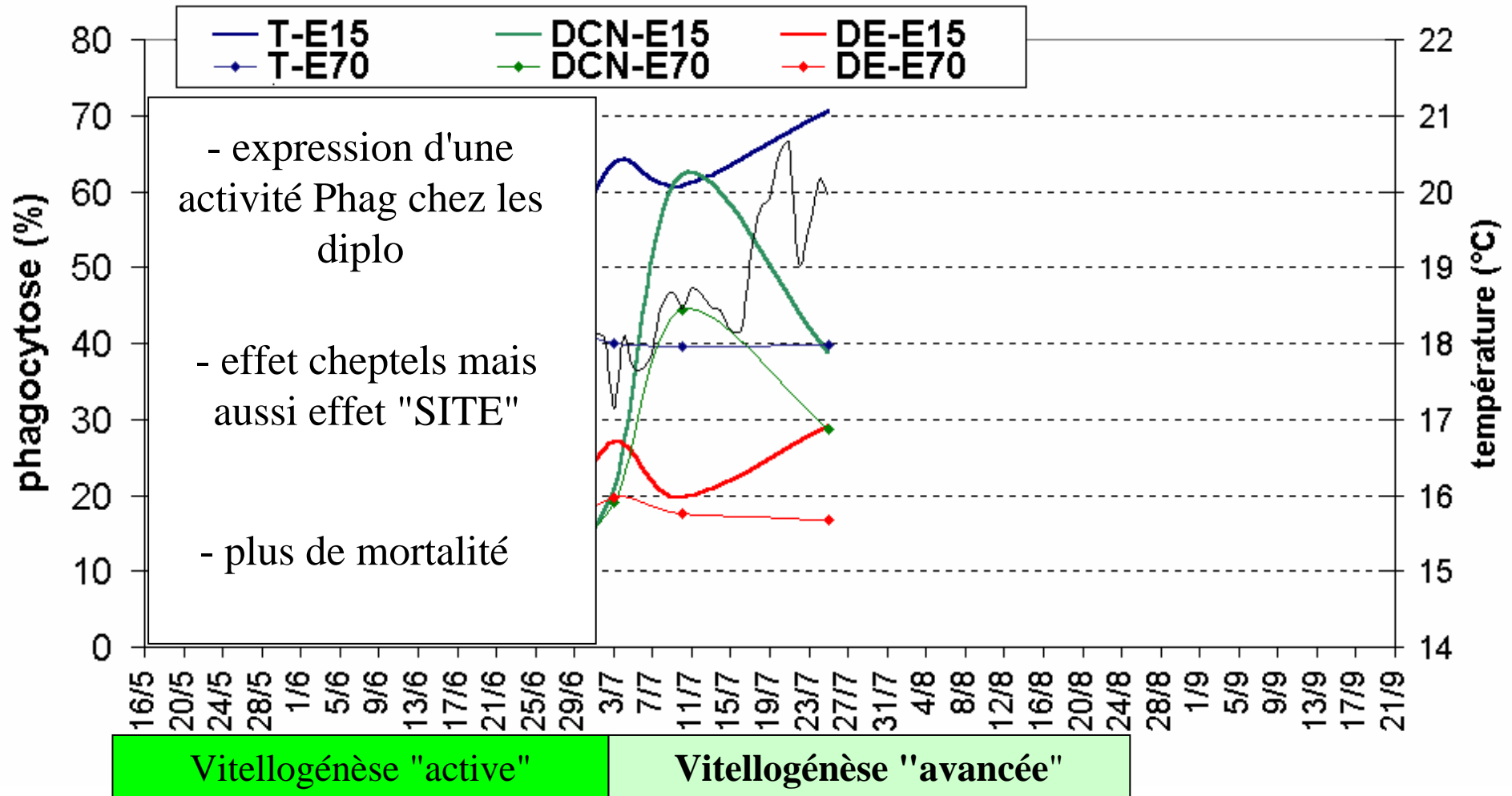


Étude descriptive de l'activité hémocytaire en relation avec la mortalité, la maturation et la température ...

"Dynamo" 2002



Analyse interdisciplinaire

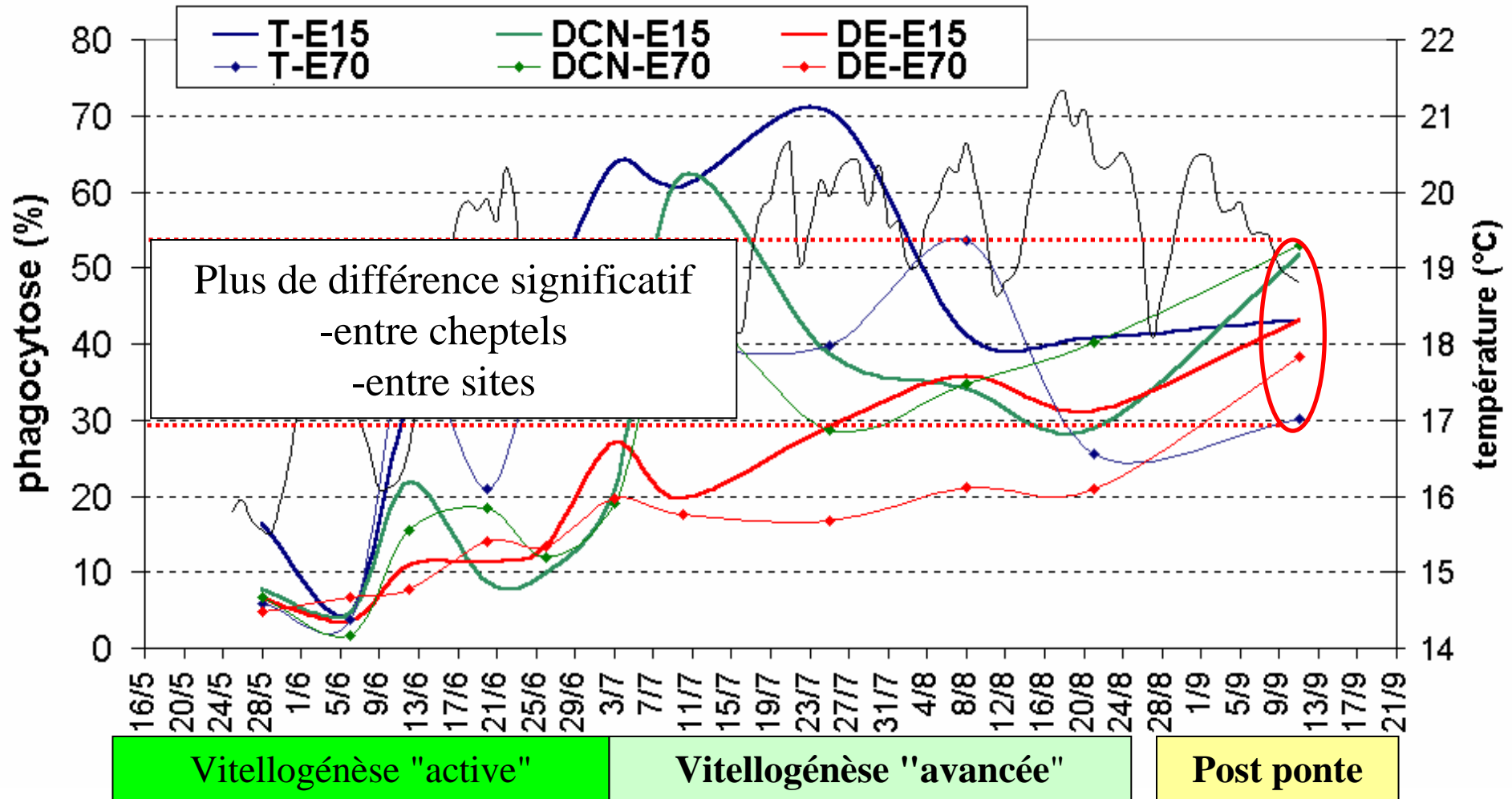


Étude descriptive de l'activité hémoctaire en relation avec la mortalité, la maturation et la température ...

"Dynamo" 2002



Analyse interdisciplinaire



Étude descriptive de l'activité hémocytaire en relation avec la mortalité, la maturation et la température ...

"Dynamo" 2002



Analyse interdisciplinaire

Interprétation des résultats

- **En début de vitellogénèse active**, l'activité de phagocytose est faible (< 10%) (*temp* < 18°C). **En post ponte**, elle est supérieure (~ 40%) sans différences significatives entre les conditions (cheptels x sites) dans les deux cas.
- **En fin de vitellogénèse active** (*vers mi juin*), peu avant la période de mortalités, l'activité de phagocytose augmente pour les Triploïdes (effet cheptel) jusqu'à 60% pour la condition table-15cm au moment des mortalités des diploïdes, et plus fortement pour les triplo sur table-15cm que sur table-70cm... **(Stimulation forte de la phagocytose durant cette période. Seuls les triplo répondent. Ils répondent plus sur table-15 que sur table-70)**
- Pendant cette même période l'activité de phagocytose des Diploïdes reste inférieure à 20%.... Ils subissent la mortalité (20-26 juin) sur table-15cm (*environnement sensible*)... **(Hypothèse de phagocytose "inhibée" ou "réprimée du fait de la maturation)**
- **Durant la période d'"attente de ponte"**, l'activité de phagocytose des diploïdes augmente de façon importante. Pour les diploïdes issus de captage naturel, elle dépasse 40% pour "table 70" et plus de 60% pour "table 15" **("levée" d'inhibition chez les diploïdes ??)**. Cette activité de phagocytose s'exprime plus pour Diplo issus du captage naturel que pour Diplo-Ecloserie.... **(effet génétique de diversité ?)**



Conclusion générale : DYNAMO

➤ Une réussite... de synergie multidisciplinaire.

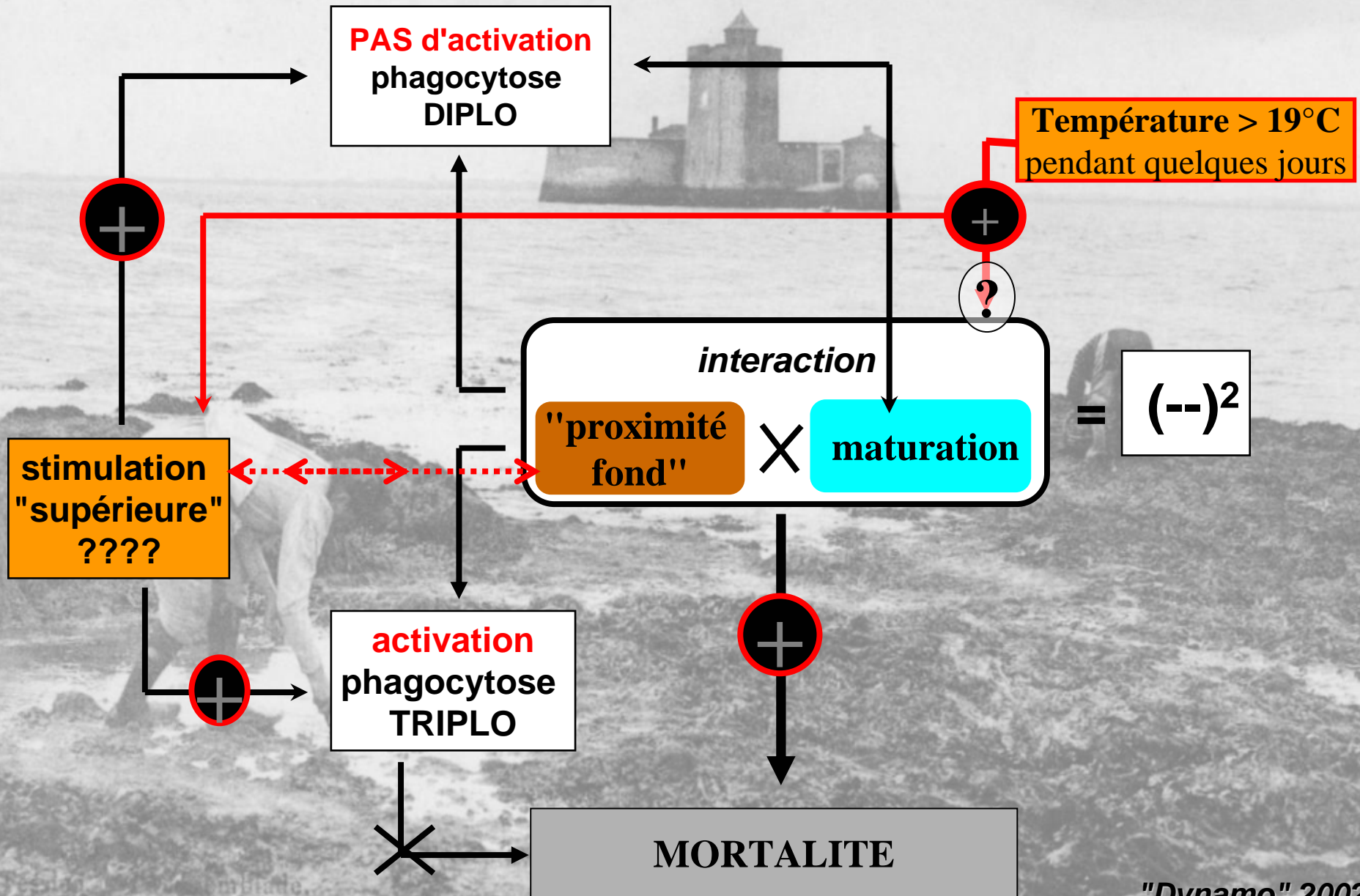
Cette expérimentation précise une des grandes hypothèses du programme Morest : la mise en cause du fonctionnement du système immunitaire (*mesurée ici via l'activité de phagocytose*) durant la période de mortalité de l'huître.

➤ Une réussite... dans la qualité du set expérimental proposé en écologie côtière... et dans les **gradients de mortalités obtenus...**

		ENV T	
		Tab-70	Tab-15
cheptel	triplo	1	2
	diplo	2,5	6,5



Conclusion générale

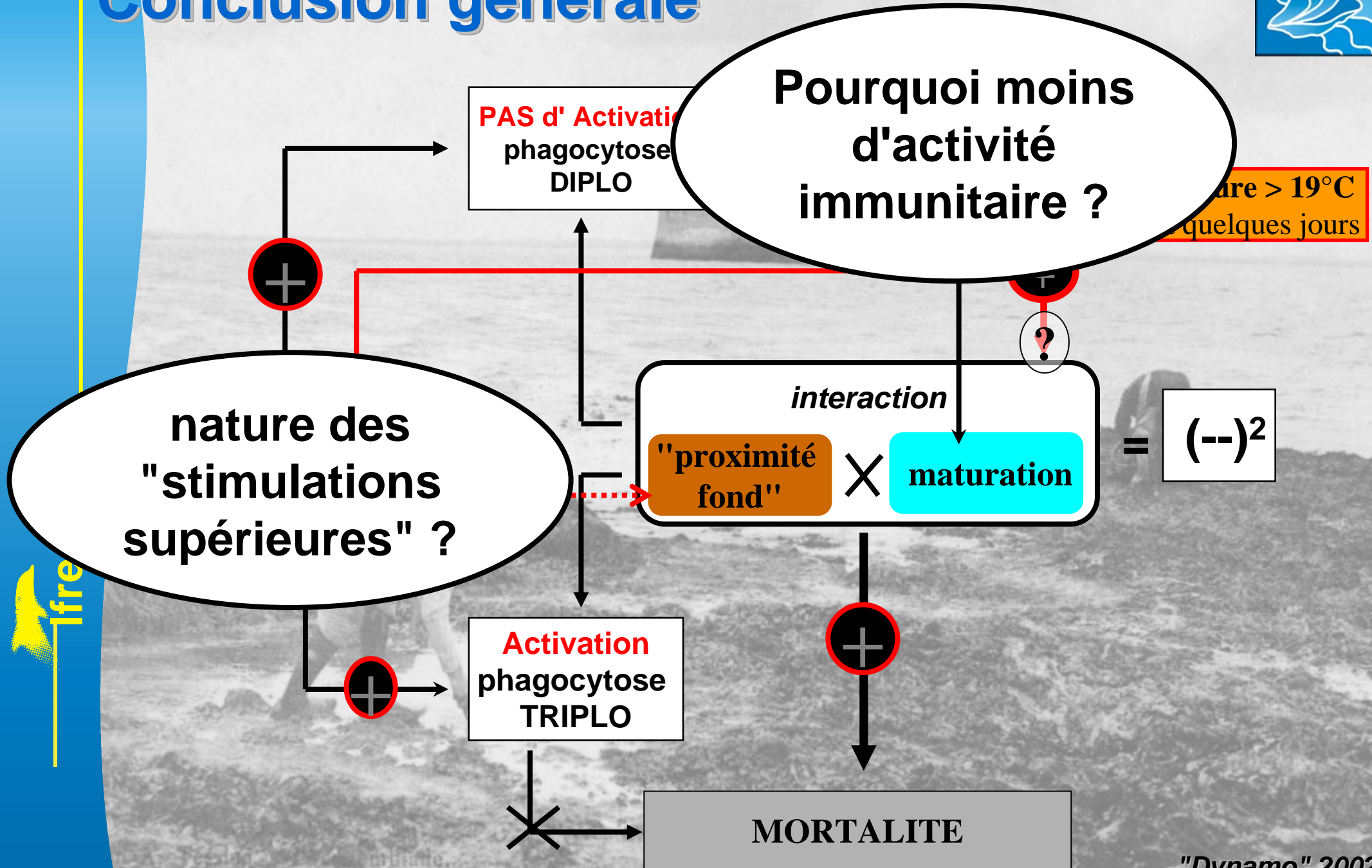


Ifremer

"Dynamo" 2002



Conclusion générale



"Dynamo" 2002



Conclusion générale

Le Fort du CHAPUS. - Pêcheuses d'huîtres.

agent(?)
"agressifs"

Rejet(s)
anthropique(s)

Environnement
physico chimique
"extrême"

Variabilité dans la qualité
et la disponibilité en
ressource trophique

autres(?)

nature des
"stimulations
supérieures" ?



PAS
ph

Ac
pha
T

ifremer



Conclusion / Perspectives 2003

- Identifier les causes de mortalités survenant dans le modèle expérimental BMO, in situ: *huîtres en stade de maturation avancée, à proximité du sédiment, quand température dépasse 19°C.*
- Effectuer un "zoom temporel et disciplinaire" sur la période de mortalité avec :
 - ❖ suivi de la mortalité (LCPC)
 - ❖ recherche d'agents pathogènes (T.Renault et al.,)
 - ❖ Étude d'écologie bactérienne sur la structure poche ostréicole (F. Leroux)
 - ❖ Étude analytique sur le sédiment (thème écotox)
 - ❖ Identification d'agents toxiques dans la chair (*Dynamo 2002 devrait déjà apporter des éléments- T.Burgeot*)
 - ❖ suivi du statut de reproduction (*au delà de l'indice lipidique ?*)
 - ❖ travailler avec un modèle familles génétiques "S" et "R" : *quel apport original dans le modèle : Diplo / Triplo - réflexion à développer !...*



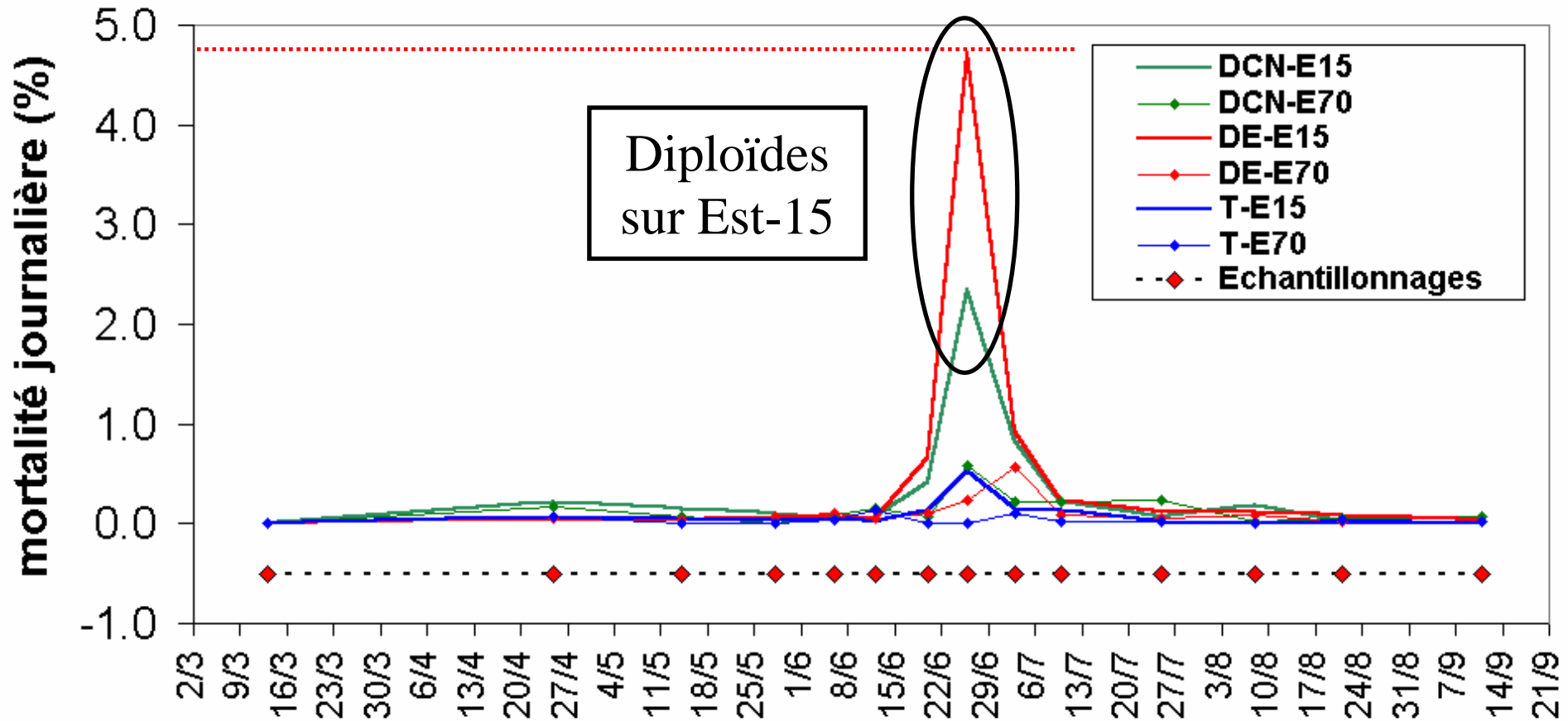
Conclusion / Perspectives 2003 (suite)

- ❖ suivi des indices physiologiques de qualité des cheptels en élevage :
 - ✓ Evolution de l'activité hémocytaire au cours de la dynamique de mortalité (T.Renault et al.,)
 - ✓ statut d'aneuploidie des populations sensibles (*Dynamo 2002 devrait déjà apporter quelques éléments de réponse - K. Brouilly et al.,*)
 - ✓ Étude HSP ??? (LCPC-LGP- ???)
 - ✓ classe des AGL ??? (J.Moal et al. ??)
- ❖ Suivi environnemental :
 - ✓ conditions environnementales aux deux "altitudes par sondes HF (LCPC)
 - ✓ analyse de la qualité de la ressource trophique dans les deux environnements (étude aux traceurs isotopiques. *Dynamo 2002 devrait déjà apporter des éléments de réponse (N. Malet CREMA)*)
 - ✓ Autres analyses pour recherche de facteurs physico-chimiques pouvant perturber le métabolisme de l'huître durant cette période sensible de maturation avancée
- ❖ Quelles analyses physiologiques des voies du métabolismes durant la période sensible peuvent être envisagées ? (alternance catabolisme et anabolisme des Lip et Glu ??) ; *Physiologie aérobioses et anaérobioses (A. Huvet et al.,)*



Mortalité, croissance, reproduction, température

Dynamique de la mortalité

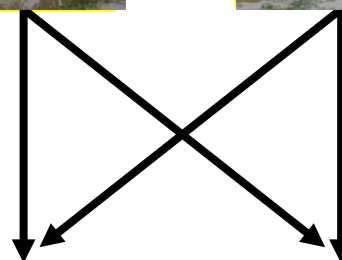


La mortalité survient entre le 20 et le 26 juin

(sauf pour les diploïdes d'écloserie à 70 cm !...)

"Dynamo" 2002

du matériel commun ...

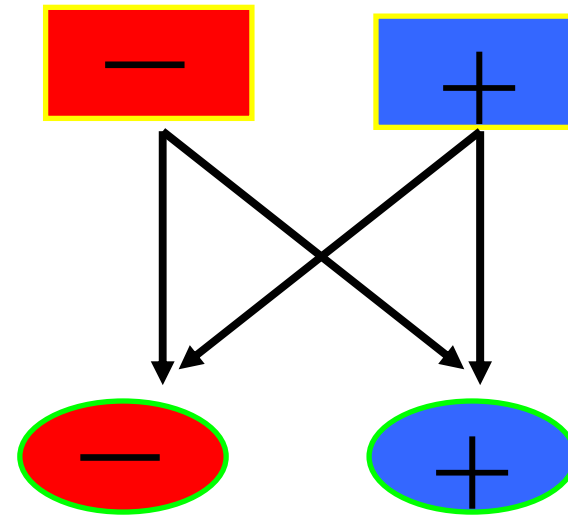


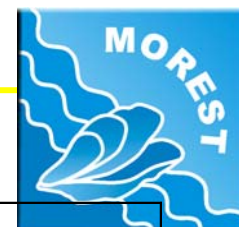


Un plan d'expérience commun ...

Sites
(environnements)

cheptels





Axes	Sujet / objectifs	équipe	
Ecologie côtière	Proposition, mise en place et suivi in situ des cheptels	LCPC	
	Suivi mortalité	LCPC	
	Indicateur de maturation	LCPC / LPI ??	
Pathologie	Recherche d'herpes sur pas de temps serré	LGP / T Renault et al	
	Recherche autres pathogènes ???????	LGP / TR ???	
	Autre équipe en complémentarité ????	??????	
Immunologie	Activités hémostatiques	LGP / T R - B. Gagnaire	
bactériologie	Etude de la flore bactérienne du sédiment Perquis / site atelier (suspicion d'un vecteur au niveau de la vase)	LGP / F Leroux et al.,	
	Test du sédiment de Perquis par cohabitation (suspicion d'un vecteur au niveau de la vase)	LGP / F Leroux et al.,	
Ecotoxicologie	Détection de produits toxiques dans la chair des huîtres ??? (à préciser) (déjà données à analyser de prélèvements Dynamo 2002).	DEL N/ T Burgeot et al.,	
	Analytique sur l'eau ...quelles substances ??? (à préciser) ...	DEL N / T Burgeot et al	
	Embryotoxicité du sédiment autour de la période critique + témoins	DEL B /F .Quiniou	
	Analyse de l'eau interstitielle de cette même vase (à préciser)	Angers ou ????	
	Etude du "bioindicateur -larve" des cheptels des différents envt (année n)	DEL B /F .Quiniou	
	Etude du "bioindicateur -larve" des chept des différents envt (an n+1) ???	DEL B /F .Quiniou	
Envt extrême / Hypoxie....	Bilan écophy avant, pendant et après période sensible	LCPL / J. Haure	
	Biomarqueurs de l'hypoxie	DEL / Florence Geret	
	Les paramètres de l'hémolymphe en relation les conditions exp proposées (mise au points d'outils et recherche sur les indicateurs d'hypoxie !...)	LPI / A. Huvet Annick LeRoux	
	Suivi de l'environnement - 2 sondes (1 par altitude d'élevage-15 et 70)	LCPC	
	Mesures physico chimiques spécifiques ????	????	