

Gestion des ressources génétiques de l'huître perlière *Pinctada margaritifera* de Polynésie française : caractérisation génétique des populations et optimisation du recrutement pour l'exploitation perlière

Sophie ARNAUD^(1, 2), Emmanuel GOYARD⁽¹⁾, Jean PROU⁽¹⁾,
Vincent VONAU⁽¹⁾, François BONHOMME⁽³⁾, Pierre BOUDRY^{(2)*}

⁽¹⁾Laboratoire d'Aquaculture Tropicale, IFREMER COP, BP 7004,
98719 Taravao, Tahiti, Polynésie Française

⁽²⁾Laboratoire de Génétique et Pathologie, IFREMER La Tremblade, BP133,
17390 La Tremblade, France

⁽³⁾Laboratoire « Génome, Populations, Interactions », UMR 5000,
Station Méditerranéenne de l'Environnement Littoral, 1 quai de la Daurade,
34200 Sète, France

Abstract: Management of genetic resources of the pearl oyster *Pinctada margaritifera* in French Polynesia: genetic study of populations and optimisation of spat collection for pearl production. Exploitation of the pearl oyster *Pinctada margaritifera*, which has developed in French Polynesia over the last twenty years, is based mainly on the collection of natural spat. Recruitment is highly variable in space and time and so spat is very often transferred by the farmers between atolls or even between archipelagos. In previous studies, anonymous nuclear markers demonstrated that this development has coincided with a genetic homogenisation of the wild stocks since the 1980s. This suggests a high level of reproductive success on farms, which is likely to be due to the high density of animals when compared to the density in the wild. We used the same markers to show that the level of genetic variability observed on farms is not significantly different to that observed in the wild. In this study we show that the genetic variability (number of alleles and expected heterozygosity) observed on spat "collecting stations" and in the wild populations are not significantly different. This tends to indicate that spat from "collecting stations" is efficient in sampling the genetic variability available in the wild. Nevertheless, high values of linkage disequilibrium and F_{is} on these spat "collecting stations" suggest that

* Correspondance et tirés à part : pboudry@ifremer.fr

only a small number of spawners are in reality the parents of the collected spat. This could mean that animals cultivated on the farms are more likely to be related or inbred than those in the wild. Although these results are based on a limited number of locus and deserve to be confirmed with more variable markers, the cumulative effect of this phenomenon at each generation could induce a loss of genetic variability on a long term basis.

Pearl oyster / *Pinctada margaritifera* / spat / genetic diversity / French Polynesia

Résumé : L'exploitation de l'huître perlière *Pinctada margaritifera*, développée en Polynésie depuis vingt ans, repose principalement sur le captage de naissain naturel. Le recrutement étant sporadique spatio-temporellement, le naissain est couramment transféré entre atolls. Dans des études précédentes, l'utilisation de marqueurs moléculaires a montré une homogénéisation de la composition génétique des stocks de plusieurs îles de deux archipels entre lesquelles des translocations massives ont été pratiquées. Cette évolution en vingt ans suggère un fort succès reproducteur dans les fermes et donc une forte contribution des géniteurs de fermes à la constitution de la génération « sauvage » suivante. Les niveaux de variabilité génétique observés en fermes et en milieu naturel ne sont pas significativement différents. Dans cette étude, la variabilité génétique observée sur collecteurs n'est pas significativement différente de la variabilité génétique de la population sauvage de référence. Le collectage semble donc permettre un bon échantillon de la variabilité génétique disponible à l'état sauvage. Cependant, de forts Fis et des déséquilibres de liaisons significatifs sur collecteurs suggèrent qu'un faible nombre de géniteurs sont à l'origine des cohortes recrutées. Bien que cette étude réalisée avec un nombre limité de marqueurs, mérite d'être approfondie avec des marqueurs plus variables, ceci soulève le problème de la possibilité d'apparentement ou de consanguinité dans les fermes qui pourrait induire, à terme, une perte de variabilité par effet cumulatif de génération en génération.

huître perlière / *Pinctada margaritifera* / naissain / diversité génétique / Polynésie française

1. INTRODUCTION

L'élevage de la nacre de Polynésie française *Pinctada margaritifera* pour la production de perles noires est devenue en un peu plus de vingt ans une activité économique d'importance majeure : le chiffre d'affaires de la perliculture en Polynésie française occupe la deuxième place dans l'économie du Territoire après le tourisme et se situe au deuxième rang

des chiffres d'affaires français dans le domaine de l'aquaculture marine (métropole et DOM-TOM confondus) après l'élevage de l'huître creuse et avant la mytiliculture. La perliculture joue également un grand rôle de préservation et de reconstitution du tissu social, en créant des emplois qui limitent l'exode vers l'île de Tahiti, voire qui permettent un redéploiement de la population vers les autres îles.

Les stocks exploités reposent aujourd'hui essentiellement sur le captage de naissain naturel, car les techniques de ponte et d'élevage larvaire de la nacre ne sont pas encore pleinement maîtrisées. La stratégie de collectage de juvéniles par les fermes dépend à la fois de leurs besoins en nacres à greffer et du recrutement local. Par exemple, l'atoll de Takarao et depuis plusieurs années une des principales sources de naissain de la Polynésie française. Les fermes à forte production utilisent en général cette source de naissain alors que les petites fermes s'approvisionnent localement. Cependant, le recrutement naturel est généralement très sporadique dans l'espace (certains atolls recrutent plus que d'autres et, sur une même station de collectage, on observe une forte variance du recrutement d'un collecteur à l'autre [16], [11]) et dans le temps (certaines années et certaines périodes de l'année sont plus favorables que d'autres [7]). De ce fait, le transfert de naissain entre atolls s'est développé pour répondre aux besoins croissants des exploitations. Par exemple, des transferts de plusieurs centaines de milliers de juvéniles ont été pratiqués, en 1994 et 1995, entre les archipels de la Société et des Tuamotu-Gambier, distants de plus de 2 000 km (fig. 1). L'impact génétique de ces pratiques sur les populations, aux niveaux intra- et inter-archipels, restait alors inconnu. Les populations sauvages présentaient une différenciation génétique significative à l'échelle inter-archipels dans les années 1980 [9], [3], [1]. Mais il était possible que les pratiques actuelles (notamment le transfert de naissain entre îles) soient susceptibles d'affecter de façon significative la variabilité et la structure génétique des populations naturelles de nacres sauvages. Or, même si l'aire de répartition de *P. margaritifera* s'étend bien au-delà de la Polynésie française (Pacifique occidental, océan indien, mer Rouge) [1], les mesures de prévention des risques liés à l'introduction de pathogènes et l'image d'un produit « 100 % polynésien » font que les seules ressources génétiques réellement exploitables en Polynésie sont celles du Territoire.

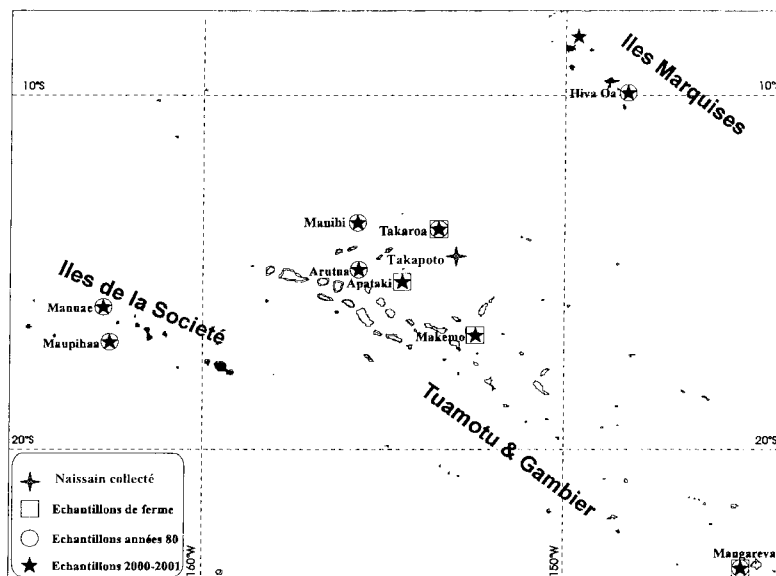


Figure 1 : Carte représentant les îles et atolls échantillonnés dans les quatre archipels de Polynésie française étudiés.

Dans le cadre d'un contrat de développement État-Territoire, des recherches ont donc notamment porté sur l'identification des stocks de nacres présents dans les différents archipels de Polynésie, afin (i) de faire le point sur la situation avant l'essor de la perliculture et avant le développement des pratiques culturelles associées (collectage, translocation de naissain), (ii) d'étudier l'évolution des stocks liée au développement de ces pratiques, et (iii) d'évaluer le nombre de « souches » génétiquement différenciées potentiellement exploitables. Ce travail, qui a fait l'objet d'un financement propre (et qui n'est donc que résumé ici) a été réalisé à partir d'échantillons prélevés dans les années 1980 [9] et à partir d'autres échantillons prélevés sur les mêmes sites en 2000-2002. Ces échantillons, analysés à l'aide de quatre marqueurs nucléaires anonymes [2] ont permis de montrer qu'on disposait, dans les années 1980, d'au moins une population différenciée par archipel, et qu'au sein de ces archipels on disposait d'au moins deux stocks dans les Tuamotu-Gambier, et trois dans l'archipel de la Société [3]. Il a également été montré que plus aucune différenciation génétique n'apparaît en 2000, ni entre la Société (Maupihaa et Manuae) et les Tuamotu Gambier, ni au sein des Tuamotu Gambier (entre Takaroa, Manihi et Arutua et Mangareva) (fig. 2) [5]. Il est vraisemblable que

l'équilibre entre la dérive et la migration a été modifié par les transferts de naissains et/ou d'adultes pratiqués entre atolls et entre archipels (par une augmentation très importante du taux de migration entre les îles). Ainsi, les populations échantillonnées en 2000 représentent un mélange de celles échantillonnées dans les années 1980. Cela suggère que les épisodes de reproduction qui se produisent dans les fermes sont suffisamment nombreux et efficaces pour que les populations sauvages locales soient constituées de façon non négligeable des descendants d'individus exploités.

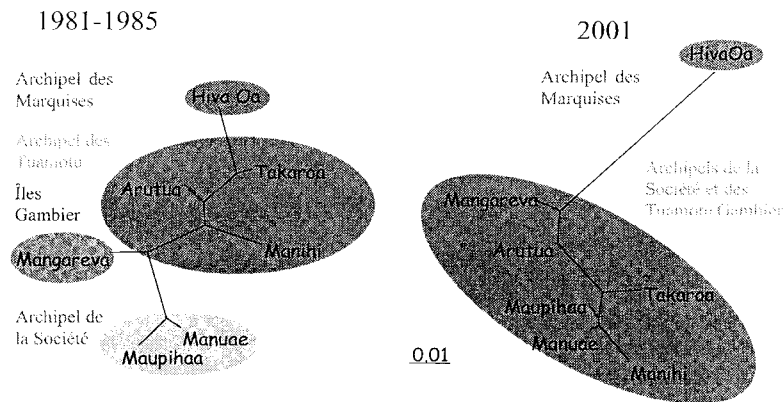


Figure 2 : Comparaison des arbres représentant les distances génétiques de Reynolds entre les échantillons des populations de la Société (Maupihaa), des Tuamotu (Takaroa), des Gambier (Mangareva) et des Marquises (Hiva Oa) collectés en 1981-1985 et en 2001.

La variabilité des populations sauvages et celle des stocks en élevage ont également été comparées dans le cadre du contrat de Développement État-Territoire afin d'évaluer l'incidence du mode de collectage sur la variabilité génétique présente dans les fermes. Les indices d'hétérozygotie non biaisée H_{nb} , estimés à partir des fréquences alléliques observées aux différents locus, ainsi que le nombre d'allèles, ont été comparés pour chacune des quatre paires d'échantillons sauvage-élevage disponibles. Aucune différence significative n'a été observée entre ces différents couples, suggérant que le mode de collectage actuellement pratiqué ne conduit pas à une réduction drastique de la variabilité génétique par rapport à ce qui est disponible à l'état sauvage (fig. 3) [4]. Toutefois, le niveau moyen de polymorphisme des marqueurs utilisés (4 à 6 allèles) [2] ne permet pas d'exclure l'hypothèse

que le collectage conduise à une perte de variabilité peu importante, qui pourrait éventuellement être détectée avec des marqueurs plus variables. Étant donné les résultats obtenus précédemment, montrant la forte participation des individus élevés à la constitution du stock sauvage, une telle perte de variabilité, même faible, pourrait dans certains cas s'avérer préjudiciable, à moyen ou à long terme, pour les stocks sauvages et d'élevages.

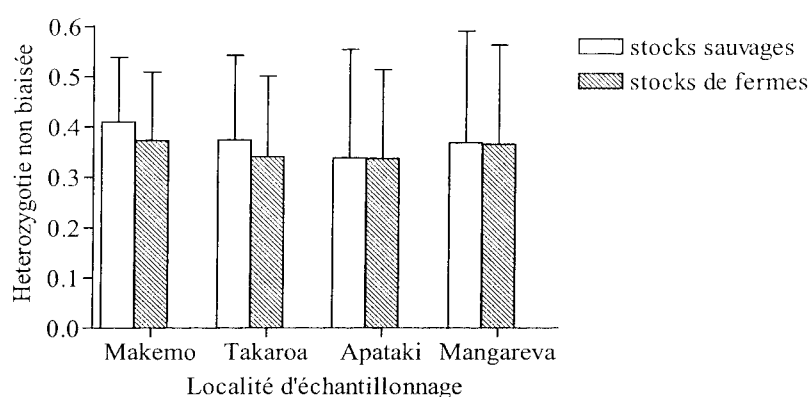


Figure 3 : Comparaison des niveaux d'hétérozygotie observés dans les échantillons des populations sauvages et d'élevage de Apataki, Takaroa, Makemo et Mangareva.

Compte tenu de ces éléments, il est apparu utile d'analyser plus finement la composition génétique des naissains présents sur les collecteurs, afin d'évaluer l'efficacité du mode de collectage pour échantillonner la variabilité génétique présente à l'état sauvage et d'optimiser, le cas échéant, les méthodes de recrutement ou de gestion du naissain. Il s'agissait en particulier d'estimer la variance spatio-temporelle du recrutement en terme de composition génétique du naissain, et d'évaluer les éventuels risques de perte de variabilité génétique, voire de consanguinité, qui pourraient être liés au mode de collectage.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODE

2.1. Échantillonnage des stations de collectage

Une station de collectage est un filin de 50 à 200 mètres sur lequel les collecteurs sont fixés tous les 15 à 50 cm. La densité sur les collecteurs

varie de quelques individus à une centaine pour les plus fortes densités. Nous avons analysé six échantillons de collecteurs issus de trois stations de collectage disposées dans trois zones distinctes du lagon perlicole de Takapoto (fig. 1), distantes de 2 à 10 km (fig. 4). Dans cette atoll, la densité moyenne de naissain par collecteurs est de 30, avec en moyenne un collecteur tous les 30 cm [16]. Les collecteurs échantillonnés dans cette étude ont été relevés 10 à 15 mois après leur pose. Afin de tester l'effet de la forte variabilité spatio-temporelle du recrutement sur la variabilité génétique des cohortes, nous avons comparé une station à densité homogène et forte et des stations à densité hétérogène et faible.

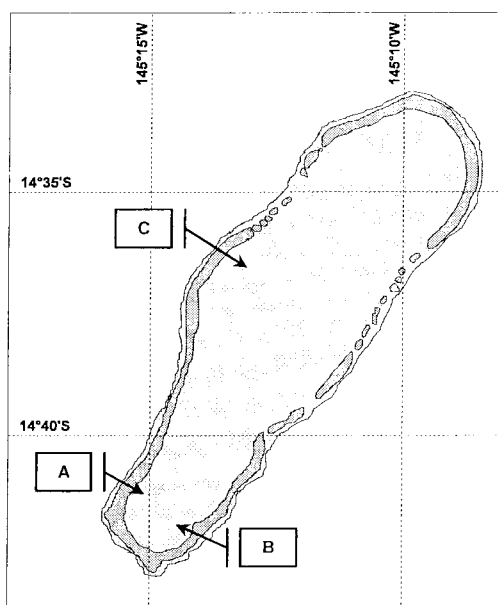


Figure 4 : Carte du lagon de Takapoto indiquant l'emplacement des stations de collectage (à densité homogène et forte : A ; à densité hétérogène et faible : B et C) sur lesquelles des échantillons ont été prélevés (respectivement 3, 2 et 1 collecteurs échantillonnés).

2.2. Typage des échantillons

L'ADN a été extrait à partir d'échantillons de muscle selon une méthode classique de Phénol-Chloroforme [17]. L'amplification par PCR de quatre locus nucléaires anonymes présentant du polymorphisme de longueur [2] a été réalisée, et les produits de PCR déposés sur des gels d'acrylamide dénaturant.

2.3. Estimation du nombre de géniteurs à l'origine des cohortes échantillonnées

Afin d'obtenir une estimation de la taille efficace [10], le nombre de géniteurs efficaces à l'origine d'une cohorte a été estimé en utilisant la méthodologie décrite par Waples [18]. Elle suppose une population diploïde se reproduisant au hasard et de taille finie, où l'échantillonnage des individus a eu lieu avant la reproduction. Cette estimation prend en compte l'évolution des fréquences alléliques dans une population échantillonnée à deux temps différents. Nous avons utilisé trois échantillons distincts de la population sauvage de Takapoto, échantillonnés en 2002 en trois points de l'atoll (fig. 4), et considéré qu'une seule génération les séparaient des cohortes collectées en 2002.

La variance des fréquences alléliques est estimée par :

$$\hat{F}_k = \frac{2}{K-1} \sum_{i=1}^k \frac{(x_i - y_i)^2}{(x_i + y_i)} \text{ où } K \text{ est le nombre d'allèles à un locus, } x_i \text{ et } y_i \text{ les fréquences de l'allèle } i \text{ aux temps } 0 \text{ et } t \text{ respectivement.}$$

La taille efficace est estimée par : $\hat{N}_e = \frac{t}{2[\hat{F}_k - 1/(2S_0) - 1/(2S_t)]}$ où S_0 et S_t

sont les tailles des échantillons au temps 0 et au temps t respectivement. L'intervalle de confiance à 95 % de la façon suivante est estimé par

$$\left[\frac{n\hat{F}}{\chi^2_{\alpha/2}[n]}; \frac{n\hat{F}}{\chi^2_{1-\alpha/2}[n]} \right] \text{ où } n \text{ est le nombre total de classes alléliques}$$

indépendantes observé.

3. RÉSULTATS

3.1. Variabilité génétique et équilibre d'Hardy-Weinberg

Le nombre d'allèles (3,5 à 4) et l'hétérozygotie non biaisée (H_{nb}) sont peu variables (0,360 à 0,404) sur l'ensemble de l'échantillonnage (tabl. I). Ils ne sont pas significativement différents d'un collecteur à l'autre, ni des collecteurs à la population sauvage de référence, excepté dans le cas du collecteur 1 qui présente une H_{nb} inférieure à tous les autres échantillons (0,294) malgré un nombre d'allèles similaire (4). On observe un fort écart aux proportions attendues sous Hardy-Weinberg sur 5 des 6 collecteurs, c'est-à-dire une hétérozygotie observée (H_{obs})

significativement inférieure à l'hétérozygotie non biaisée estimée sur la base des fréquences alléliques. Cet écart se traduit par l'observation de déficits en hétérozygotes importants (0,144 à 0,338 contre 0,074 en population naturelle) significatifs après un test sur 3 000 permutations.

Tableau I : Effectif des échantillons (N) prélevés sur 6 collecteurs et des échantillons de population sauvage de Takapoto, zone de collectage, nombre d'allèles (Nb allèles), niveaux d'hétérozygotie attendus (H nb.) et observés (H obs.) et déficit en hétérozygotes (F_{is}) ** significatifs après un test sur permutations (1 000 permutations) observés dans les échantillons et après une correction de Bonferonni pour tests multiples.

Échantillon	Zone de collectage	N	Nb allèles	H _{nb}	H _{obs}	F_{is}
Takapoto 1	1	37	3,75	0,342	0,212	0,383**
Takapoto 2	2	54	3,75	0,346	0,300	0,138
Takapoto 3	3	29	4,25	0,366	0,315	0,142
Collecteur 1	C	37	4,00	0,294	0,252	0,144
Collecteur 2	B	52	3,75	0,365	0,242	0,338**
Collecteur 3	B	41	3,50	0,382	0,374	0,021
Collecteur 4	A	50	3,50	0,360	0,240	0,283**
Collecteur 5	A	50	4,00	0,392	0,282	0,148**
Collecteur 6	A	50	4,00	0,404	0,344	0,336**

Certains locus présentent un déséquilibre de liaison (DDL) selon Black et Krafur [6] significatif (au seuil de 5 %) sur 5 des 6 collecteurs, et pour trois d'entre eux, ce déséquilibre reste significatif après un test sur permutations (3 000 permutations) (tabl. II).

Tableau II : Corrélations (coefficient de corrélation R) entre les fréquences alléliques aux différents locus, par paire de locus dans chaque échantillon de collecteurs. *P < 0,05, **P < 0,01. Les valeurs significatives après test sur permutations sont en caractères gras.

Paire	Collecteur	Collecteur	Collecteur	Collecteur	Collecteur	Collecteur	Total
	1	2	3	4	5	6	
Pin2-pin3	0,148	0,115	0,432**	0,095*	0,081	0,121	0,048*
Pin2-Pinaldo	0,125	0,186**	0,287**	0,068	0,115	0,132**	0,059**
Pin2-PinU4	0,100	0,179**	0,105	0,091	0,197*	0,179**	0,049
Pin3-Pinaldo	0,122	0,106	0,206	0,089	0,130	0,088	0,019
Pin3-PinU4	0,199	0,102	0,113	0,114	0,103	0,149	0,026
Pinaldo-PinU4	0,084	0,063	0,175	0,121	0,125	0,140	0,035

On peut noter que lors de l'étude globale portant sur 22 populations des Tuamotu-Gambier, quelques DDLs significatifs au seuil de 5 % ont pu être observés, mais aucun n'était resté significatif après le test sur permutations, sauf dans le cas de Takapoto 3 où une valeur est restée significative. Toutefois, dans le cas des échantillons issus de collectage,

les DDL étant estimés sous l'hypothèse que les populations sont à l'équilibre de Hardy Weinberg, les F_{is} significatifs obtenus sur la majorité des collecteurs peuvent, au moins partiellement, expliquer les DDL significatifs observés.

3.2. Différenciation génétique

Le F_{st} global estimé selon le θ de Weir et Cockeram [19] est de 1,1 % ($p < 0,01$ après un test sur 3 000 permutations). L'ensemble des échantillons de collectage n'est donc pas génétiquement homogène. La structure génétique observée est en grande partie due à la différenciation génétique du collecteur 1 (tabl. III).

Tableau III : Estimateur θ de différenciation génétique par paire d'échantillons de population naturelle et de collecteurs. Les valeurs significatives après le test sur permutations (3 000 permutations) sont indiquées en gras et italique ($P < 0,05$).

	T1	T2	T3	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Takapoto 1	-	0,011	<i>0,029</i>	<i>0,054</i>	0,005	0,018	0,010	0,015	<i>0,033</i>
Takapoto 2		-	- 0,005	<i>0,032</i>	0,006	<i>0,019</i>	0,015	0,000	<i>0,029</i>
Takapoto 3			-	<i>0,034</i>	0,014	<i>0,032</i>	<i>0,020</i>	0,009	<i>0,027</i>
Collecteur1				-	<i>0,023</i>	<i>0,023</i>	<i>0,039</i>	<i>0,026</i>	0,015
Collecteur2					-	0,007	-0,001	0,004	0,009
Collecteur 3						-	0,013	0,004	0,004
Collecteur 4							-	0,008	0,003
Collecteur 5								-	0,009
Collecteur 6									-

En effet, en comparant les échantillons par paire, ce collecteur est significativement différencié (entre 2 et 4 %) de 4 des 5 autres, et présente des indices de différenciation relativement élevés (entre 1,4 et 1,5 %) avec la population sauvage de référence et le 5^e collecteur. Ces indices sont à mettre en relation avec les indices de différenciation de 0 à 3 % observés entre populations sauvages au sein des Tuamotu en 1980. On observe donc ici sur une distance de 8 à 9 km une différenciation génétique supérieure à ce que l'on observe sur une distance de 80 à 200 km, entre les atolls de Manihi, Arutua et Takaroa.

3.3. Estimation du nombre de géniteurs à l'origine des cohortes échantillonnées

Les nombres de géniteurs efficaces à l'origine d'une cohorte, estimé en suivant la méthodologie décrite par Waples (1988), apparaissent faibles (tabl. IV) si la population de géniteur considérée est Takapoto.

Ressources génétiques et recrutement chez l'huître perlière

Leur valeur est comprise entre 8 et 30, avec des intervalles de confiance souvent réduits (à moins de 100). Si la population d'origine supposée est un mélange des échantillons du nord des Tuamotu, alors le nombre de géniteurs à l'origine des cohortes est plus conséquent (entre 37 et 132), et les intervalles de confiance parfois large ou infinis, mais également parfois restreints (entre 200 et 400).

Tableau IV : Estimation des tailles efficaces (N_e) des groupes de géniteurs à l'origine des cohortes collectées sur les différents collecteurs, sous l'hypothèse d'une appartenance des géniteurs à l'un des trois bans naturels échantillonnés à Takapoto, à l'ensemble des trois, ou à l'ensemble des populations du nord des Tuamotu-Gambier. L'estimation de la taille efficace moyenne la plus probable (N_e moyen) et le calcul de l'intervalle de confiance donnant les valeurs maximales ($P < 0,975$) et minimales ($P < 0,025$) possibles de N_e sont indiqués.

Échantillon	N	Tkp 1	Tkp 2	Tkp 3	Takapoto	Tuamotu
Collecteur 1	37	16_{5}^{93}	13_{4}^{47}	11_{4}^{43}	18_{6}^{59}	57_{13}^{∞}
Collecteur 2	52	14_{5}^{59}	12_{4}^{36}	10_{4}^{33}	18_{7}^{48}	41_{12}^{382}
Collecteur 3	41	14_{4}^{79}	9_{3}^{23}	8_{3}^{21}	12_{5}^{31}	132_{17}^{∞}
Collecteur 4	50	15_{43}^{69}	12_{4}^{43}	11_{3}^{40}	20_{7}^{65}	79_{16}^{∞}
Collecteur 5	50	14_{4}^{49}	35_{6}^{∞}	15_{5}^{75}	30_{10}^{136}	37_{12}^{270}
Collecteur 6	50	11_{4}^{36}	9_{3}^{24}	9_{3}^{28}	13_{5}^{34}	46_{22}^{14381}

4. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS ET DISCUSSION

4.1. Échantillonnage de la variabilité génétique par le collectage

Pour les six collecteurs étudiés ici, la variabilité génétique (en terme de nombre d'allèles ou d'hétérozygotie attendue) n'est pas significativement différente de la variabilité génétique dans la population sauvage de référence. Aucune tendance générale n'est détectée, contrairement à ce qui avait été observé dans les stocks de fermes de quatre atolls [4]. Cette observation suggère que, globalement, le collectage permet d'obtenir un bon échantillon de la variabilité génétique disponible à l'état sauvage. Toutefois, cette observation est restreinte à l'atoll de Takapoto, dans lequel une grande quantité de nacres, en élevage (1,8 millions) et sauvages (4 millions) a été recensée (Prou, com. pers.), et dans lequel l'hydrologie particulière peut induire des conditions spécifiques de dispersion et de survie des larves. Pour

être généralisée à l'ensemble des atolls où le captage est réalisé, cette observation devrait donc être réalisée également dans d'autres atolls.

4.2. Hétérogénéité spatio-temporelle du recrutement : F_{ST} , F_{IS} , DDL et estimation de N_e

Il est fréquent, chez les invertébrés marins, que l'homogénéité génétique à grande échelle « cache » une hétérogénéité génétique à petite échelle [14], [8]. Ceci peut être le reflet de sélection différentielle post-recrutement, en fonction de conditions micro-environnementales. Toutefois, cette observation demeure lorsque l'analyse est pratiquée sur de très jeunes recrues [15], [12]. La différenciation génétique observée à petite échelle peut donc résulter de différenciation génétique entre les cohortes recrutées à différents pas de temps, ou dans des localités différentes. De telles différences dans la constitution génétique des nuages larvaires recrutés peut résulter soit de pressions sélectives différentes selon les cohortes, soit d'une origine génétique différente des diverses cohortes. Pour tester la première hypothèse, l'analyse de très jeunes naissains serait nécessaire. Quand à la seconde hypothèse, elle implique qu'un nombre limité de géniteurs soit à l'origine des cohortes, impliquant un effet de « dérive instantanée », expliquant la différenciation génétique observée entre les cohortes. Dans notre cas, la seconde hypothèse est en accord à la fois avec l'existence d'une différenciation significative du collecteur 1 (F_{ST} entre 1,5 et 4 %), avec les estimations des tailles efficaces effectuées selon la méthode de Waples (N_e moyens compris entre 7 et 21 pour tous les collecteurs analysés), et avec l'existence de déséquilibre de liaison entre locus.

Chez les bivalves, de forts déficits en hétérozygotes sont classiquement observés [20], et peuvent être attribués à plusieurs causes : des causes « locus dépendantes » techniques (artefact de type allèles nuls) ou biologiques (imprinting, ou sélection directe chez les allozymes), ou des causes « locus indépendantes » populationnelles comme l'effet Wahlund spatial ou temporel (mélange de cohortes différenciées [13] ou la consanguinité. Ici une partie du F_{IS} , locus spécifique, peut être attribuée à une cause technique : dans le cas du locus pinucl 2 une partie de ces déficits peut en effet être attribuée à l'existence d'allèles nuls puisque des valeurs significatives de F_{IS} sont également observées en populations naturelles (dans 9 populations sur 22 étudiées). Pour les trois autres locus en revanche, des F_{IS} significatifs sont observés sur la plupart des collecteurs alors que quasiment aucun F_{IS} significatif n'a été observé sur

22 populations naturelles étudiées précédemment (sur 22 populations analysées, respectivement 1, 1 et 2 pour les locus pinucl 3, pinaldo et pinU4). Étant donné les observations faites sur la structure génétique et le probablement faible nombre de géniteurs à l'origine des cohortes recrutées, deux hypothèses nous paraissent importantes à retenir pour expliquer ces déficits en hétérozygotes :

- l'apparentement des géniteurs (consanguinité),
- le mélange sur certains collecteurs de cohortes génétiquement différenciées (effet Wahlund). Étant donné l'absence de structure génétique observée à l'échelle de l'archipel (qui implique un fort taux de migration m), seul un fort effet de dérive instantanée (faible N_e) pourrait permettre une différenciation de deux cohortes suffisante pour expliquer par un effet Wahlund les F_{is} significatifs observés.

5. CONCLUSIONS EN VUE DE L'ÉLABORATION DES STRATÉGIES DE CONSERVATION

Il semble que les techniques actuellement pratiquées pour le collectage de naissain soient suffisamment performantes pour obtenir sur les collecteurs un bon échantillonnage de la variabilité génétique exploitable : hétérozygotie et nombre d'allèles sont similaires sur les collecteurs et en populations naturelles. Toutefois, le même type d'expérience devrait être pratiqué dans plusieurs lagons différents, et éventuellement avec des marqueurs plus variables, afin de confirmer ce résultat.

Cependant, le nombre de géniteurs à l'origine d'une cohorte donnée est probablement faible par rapport à l'importance des stocks naturels et cultivés du lagon de Takapoto. Cela conduit à considérer le risque que la reproduction d'individus collectés sur un même collecteur, voire sur une même station de collectage, induise de la consanguinité (avec tous les effets délétères que ce processus implique : baisse des performances, forte mortalité, etc.). Il pourrait en résulter, à long terme, une perte de variabilité par un effet cumulatif de génération en génération.

Or, pour des raisons techniques, le naissain détroqué est habituellement mis au fur et à mesure sur les filières et reste donc généralement groupé : la reproduction entre individus apparentés est donc favorisée par leur proximité. Afin d'éviter ce phénomène, il est possible de recommander que lors du détroquage du naissain, les

individus présents sur un même collecteur ou sur des collecteurs proches soient disposés sur des filières différentes. La mise en œuvre de cette recommandation, conceptuellement simple mais vraisemblablement efficace au regard de nos résultats, passe nécessairement par une sensibilisation des perliculteurs aux conséquences négatives de la consanguinité, et par un encadrement professionnel adapté, aidant à la mise en place d'un plan de gestion des filières facilitant ce brassage.

RÉFÉRENCES

- [1] Arnaud S., Flux génique et phylogéographie comparée de deux espèces de bivalves du Pacifique : *Pinctada mazatlanica* et *P. margaritifera* : marqueurs mitochondriaux et nucléaires, thèse de doctorat Université Montpellier II, 2000, 109 p.
- [2] Arnaud-Haond S., Boudry P., Saulnier D., Seaman T., Vonau V., Bonhomme F., Goyard E., New anonymous nuclear DNA markers for the pearl oyster *Pinctada margaritifera* and other *Pinctada* species, *Molecular Ecology Notes* 2 (2002) 220-222.
- [3] Arnaud-Haond S., Bonhomme F., Blanc F., Large discrepancies in differentiation of allozymes, nuclear and mitochondrial DNA loci in recently founded Pacific populations of the pearl oyster *Pinctada margaritifera*, *Journal of Evolutionary Biology* 16 (2003a) 388-398.
- [4] Arnaud-Haond S., Vonau V., Bonhomme F., Boudry P., Prou J., Seaman T., Veyret M., Goyard E., Spat collection of the pearl oyster (*Pinctada margaritifera cumingii*) in French Polynesia: an evaluation of the potential impact on genetic variability of wild and farmed populations after 20 years of commercial exploitation, *Aquaculture* 219 (2003b) 181-192.
- [5] Arnaud-Haond S., Vonau V., Bonhomme F., Boudry P., Prou J., Seaman T., Goyard E., On the impact of cultural practices on genetic resources: evolution of the genetic composition of wild stocks of pearl oyster (*Pinctada margaritifera cumingii*) in French Polynesia after twenty years of spat translocation. *Molecular Ecology*, 13(7) (2004) 2001-2007.
- [6] Black W.C., Krafur E.S., A FORTRAN program for the calculation and analysis of two-locus linkage disequilibrium coefficients, *Theor. Appl. Genet.* 70 (1985) 491-496.
- [7] Cabral P., Problems and perspectives of the pearl oyster aquaculture in French Polynesia, *Proc. Coll. Advances in Tropical Aquaculture* 9 (1989) 57-66.
- [8] David P., Berthou P., Patchy recruitment patterns in marine invertebrates: a spatial test of the density-dependent hypothesis in the bivalve *Spisula ovalis*, *Oecologia* 111 (1997) 331-340.

- [9] Durand P., Blanc F., Divergence génétique chez un bivalve marin tropical : *Pinctada margaritifera*, Coll. Nat. CNRS « Biologie des populations » (1986) 323-330.
- [10] Ewens W. J., Mathematical Population Genetics, Springer-Verlag, Berlin, 1979.
- [11] Friedman K.J., Bell J.D., Tiroba G., Availability of wild spat of the black-lip pearl oyster, *Pinctada margaritifera*, from "open" reef systems in Solomon islands, *Aquaculture* 167 (1998) 283-299.
- [12] Gosling E.M., Wilkins N.P., Genetic of settling cohorts of *Mytilus edulis* (L.): a preliminary observation, *Aquaculture* 44 (1985) 115-123.
- [13] Hartl D.L., Clark A.G., Principles of Population Genetics, Publisher: Sinauer Associates, Inc: 3rd edition, 1997, 471p.
- [14] Johnson M.S., Black R., Chaotic Genetic Patchiness in an Intertidal Limpet, *Siphonaria* sp., *Marine Biology* 70 (1982) 157-164.
- [15] Johnson M.S., Black R., Pattern beneath the chaos: the effect of recruitment on genetic patchiness in an intertidal limpet, *Evolution* 38(6) (1984) 1371-1383.
- [16] Prou J., Benett A., Tiapari J., Estimation des stocks de nacres *Pinctada margaritifera* en élevage à Takapoto (Polynésie française), PGRN Phase II, 1999, 1997-1998: 2-33.
- [17] Sambrook J.J., Fritsch E.F., Maniatis T., Molecular cloning. A laboratory manual, Cold Spring Harbour Laboratory Press, New-York, 1989.
- [18] Waples R.S., A generalized approach for estimating effective population size from temporal changes in allele frequency, *Genetics* 121 (1989) 379-391.
- [19] Weir B.S., Cockerham C.C., Estimating F-statistics for the analysis of population structure, *Evolution*, 38 (1984) 1358-1370.
- [20] Zouros, E., Foltz D.W., Possible explanations of heterozygote deficiency in bivalve molluscs, *Malacologia* 25 (1984) 583-591.