

Cette communication ne peut être citée sans l'autorisation préalable des auteurs.

Conseil International pour
l'Exploration de la Mer

C.M. 1982 / F : 30
Comité de la Mariculture

Ref. : K

ETUDE DE LA VARIABILITE GENETIQUE DE POPULATIONS NATURELLES
D'HUITRES CREUSES CRASSOSTREA GIGAS (THUNBERG) DU LITTORAL
ATLANTIQUE FRANCAIS

par

M.P. GRAS et P. GRAS

Institut Scientifique et Technique
des Pêches Maritimes
Mis de Loup
17390 - LA TREMBLADE
FRANCE

RESUME : Les protéines du muscle adducteur d'huitres creuses C. gigas provenant de trois populations naturelles, géographiquement isolées ont été étudiées par électrophorèse sur gel polyacrylamide.

Les premiers résultats ont permis de mettre en évidence un polymorphisme au niveau d'une fraction protéinique.

ABSTRACT : The adductor muscle proteins of Japanese oysters C. gigas collected from three different geographical wild stocks were studied by acrylamid gel electrophoresis.

The first results reveal a biochemical polymorphism of a protein fraction.

L'huître du Pacifique Crassostrea gigas Thunberg encore appelée l'huître japonaise présente en France un grand intérêt économique. La quantité d'huîtres de cette espèce qui a été commercialisée en 1979 comme en 1980 est d'environ 95 000 tonnes (sources : Marine Marchande).

Son introduction en France fut décidée à la suite de l'importante épizootie qui décima en 1970 - 1971 la quasi-totalité des huîtres portugaises Crassostrea angulata Lamarck cultivées sur les côtes françaises.

Elle fut importée sous forme de naissain capté au Japon et de géniteurs de Colombie britannique (Canada).

Le naissain, mis en élevage en surélévation dès son arrivée, a permis aux ostréiculteurs de commercialiser dès la fin de l'année 1971 des huîtres japonaises âgées de 18 mois.

Les géniteurs, huîtres de 100 g à plus de 500g, servirent à la reconstitution des gisements naturels décimés et assurèrent un bon captage quelques mois après leur semis (Gras et coll., 1971).

Cette huître du Pacifique a montré en plus d'une vigueur et d'une résistance exceptionnelle à la mortalité, un excellent développement. Mais, depuis quelques années, on observe un abaissement du taux de croissance, une qualité irrégulière, un captage déficient dans certains secteurs, et, comme le montre le figure 1, l'apparition de variations phénotypiques chez les populations d'huîtres de gisements géographiquement isolés (fig. 2).

Les huîtres C. gigas du gisement des Flamands (bassin de Marennes-Oléron) ont une forme très allongées, tandis que celles du gisement de la Villa algérienne (bassin d'Arcachon) ont une coquille épaisse, feuilletée, en forme de boule. Sur le gisement de Mouillelande (rivière Seudre - Marennes-Oléron) les individus ont également une forme allongée, mais les générations les plus récentes présentent une tendance à s'arrondir.

Pour envisager une bonne gestion des populations naturelles de ces gisements, et, ultérieurement une sélection d'individus à partir de celles-ci, il apparait indispensable de connaître leurs différences génotypiques intraspécifiques.

Si l'hétérogénéité des individus est la règle dans une population naturelle, chacun d'eux détenant une fraction du matériel génétique de l'espèce, il peut se faire que sous l'action de facteurs divers et notamment de conditions de milieu, certains génotypes se trouvent favorisés et par conséquent sélectionnés.

Les différences génétiques individuelles et les variations possibles dans la fréquence des gènes d'une population à l'autre peuvent être mises en évidence par analyse électrophorétique des polymorphismes biochimiques.

C'est ainsi que nous avons étudié, par analyse électrophorétique des protéines du muscle adducteur, trois populations d'huîtres creuses Crassostrea gigas des gisements naturels du littoral atlantique français.

Matériel et méthodes

Les huîtres C. gigas analysées, ont été prélevées au hasard en 1981 dans les populations constituant les gisements des Flamands et de Houillelande (bassin de Marennes-Oléron), et de la Villa algérienne (bassin d'Arcachon).

Les extractions des protéines ont été réalisées sur des échantillons frais, des individus congelés dès leur arrivée et conservés à -20°C , et du matériel lyophilisé.

Les muscles adducteurs ont été homogénéisés dans un tampon phosphate 0,1 M, pH = 6,5, contenant 5 % de saccharose, à l'aide d'un broyeur de type potter elvehjem, maintenu à la température de la glace fondante. L'homogénat a été ensuite centrifugé à 5 000 g pendant 20 mn à température de 4°C . Après centrifugation, une partie ^{du} surnageant contenant les protéines est déposée sur gel polyacrylamide (7,5 %) en tube. La migration s'effectue dans une cuve

.../...

réfrigérée Shandon à voltage constant. Le système tampon utilisé est celui préconisé par BEAUMONT, 1982 : tampon tris-glycine pH = 8,6. Une solution de sérum standard colorée au bleu de bromophénol sert de témoin et permet de suivre la distance de migration.

Après électrophorèse les gels sont colorés au bleu de Coomassie. Un autre mode de révélation des protéines totales a aussi été utilisé, la coloration à l'amidoschwartz. La décoloration s'effectue par une solution d'acide acétique. Les bandes de migration ainsi révélées sont enregistrées au photomètre intégrateur enregistreur Vernon.

Résultats

• • Caractéristiques morphométriques

Les caractéristiques H : hauteur (dimension dorso-ventrale de l'animal), L : longueur (axe antéro-postérieur), e : épaisseur (axe latéral, c'est-à-dire la mesure externe, la plus grande entre les valves, perpendiculaire au plan de commissure) ont été mesurées sur chaque individu. Les valeurs moyennes pour chaque lot ainsi que l'index de forme :

$$I_f = \frac{H + e}{L}$$

sont reportées dans le tableau n° 1 suivant :

Bassins et gisements		H cm	L cm	e cm	I _f cm
Bassin d'Arcachon	Villa algérienne	9,4	5	4,6	2,8
Bassin de Marennes-	Mouillolande	11,5	4	2,75	3,5
Oléron	Les Flamands	15,5	3,6	2,75	5

Tableau 1 : Valeurs moyennes des caractéristiques morphométriques.

Des différences morphologiques apparaissent nettement entre ces huîtres de même âge, mais provenant de gisements différents. Les variations de l'épaisseur sont très marquées entre les individus des deux bassins.

. Protéines totales du muscle adducteur

Sur les enregistrements photométriques des électrophorogrammes de ces protéines (fig. 3) apparaissent différentes fractions protéiques qui se répartissent en trois zones :

- une zone lente I (fractions 1 à 6)
- une zone intermédiaire II (fractions 7 à 9)
- une zone rapide III (fractions 10 à 12)

L'examen comparé des enregistrements des protéines des huîtres des trois gisements ne montre pas de variation dans les zones I et III.

Par contre, dans la zone intermédiaire on remarque une variabilité au niveau de la fraction 8, qui apparaît soit plus près de la fraction 9 (P_{MB}^A) position observée essentiellement sur les huîtres du gisement d'Arca-
chon, soit en position plus anodique (P_{MB}^B) qui se rencontre chez les huîtres des gisements de Mouillelande et des Flamands. Ces 2 positions P_{MB}^A et P_{MB}^B peuvent se présenter sur le même enregistrement pour certaines huîtres de la population du gisement des Flamands et de Mouillelande. Cette variabilité traduit un polymorphisme biochimique à deux allèles, dont la combinaison correspond à 3 phénotypes.

L'étude de ce polymorphisme est rapportée dans le tableau n° 2.

Conclusion

L'analyse des protéines du muscle adducteur de ces trois populations d'huîtres C. gigas a permis de mettre en évidence un polymorphisme biochimique au niveau de la fraction protéique.

Les huîtres du bassin de Marennes-Oléron des gisements des Flamands et de Mouillelande sont plus polymorphes que celles du bassin d'Arca-
chon qui apparaissent monomorphiques.

Les différenciations observées entre les trois populations correspondent à un isolement géographique qui semble résulter de la pression sélective exercée par trois milieux différents depuis l'introduction des géniteurs en 1971.

Cette étude préliminaire se poursuit actuellement avec une identification de ce locus par des réactions enzymatiques, qui permettra de préciser l'existence de populations locales telles que celles mises en évidence chez Ostréa edulis de la côte ouest de l'Irlande par WILKINS et coll. (1973) ou chez Crassostrea gigas des côtes d'Hokkaido et du Nord du Japon par NAGAYA et coll. (1978).

Gisements	N	Phénotypes ⁽¹⁾			Fréquence des allèles		X ²	d	P	H
		AA	AB	BB	A	B				
					p	q				
Villa Algérienne	50	50 (50)	0	0	1					
Mouillelande	50	0 (2)	20 (16)	30 (32)	0,2	0,8	1,125	1	0,45 < P < 1,32	0,32
Les Flamands	50	0 (3,125)	25 (18,75)	25 (28,125)	0,25	0,75	2,4305	1	1,32 < P < 2,71	0,375

(1) Les valeurs entre parenthèses sont celles des fréquences calculées.

N : Nombre d'individus.

H : Hétérozygotie.

Tableau 2 : Phénotypes observés et attendus, fréquence des allèles, valeur du X², ~~taux de~~ probabilité ~~statistique~~ et hétérozygotie du locus p₁₁₈ de trois populations d'huîtres C. gigas.

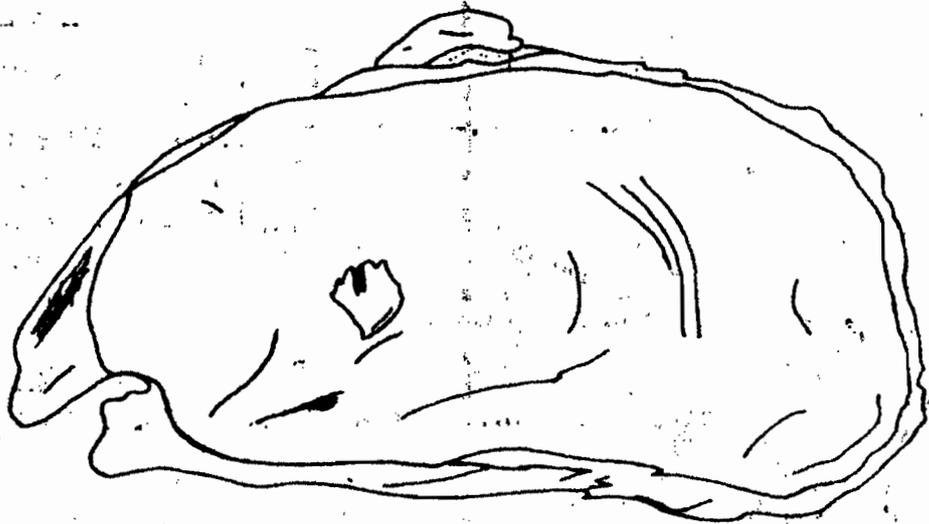
Bibliographie

- BEAUMONT (A.R.), 1982.- Geographic variation in allele frequencies at three loci in Chlamys opercularis from Norway to the Brittany coast.- J. Mar. biol. Ass. U.K, 62; 243 - 261.
- BUROKER (N.E.), HERSHBERGER (W.K.) et CHEW (K.K.), 1975.- Genetic variation in the Pacific oyster, Crassostrea gigas. J. Fish. Res. Board Can. 32 : 2 471 - 2477.
- BUROKER (N.E.), 1979.- Overdominance of a Muscle Protein (Mp1) locus in the Japanese oyster, Crassostrea gigas (Ostreidae).- Journ. of Fisheries Res. Board of Canada - vol. 36, n° 11, p. 1313 - 1318.
- GRAS (P.), COMPS (M.), DAVID (A.) et BARON (G.), 1971.- Observations préliminaires sur la reproduction des huîtres dans le bassin de Marennes-Oléron en 1971. Bull. Onform. Doc. Inst. Pêches Marit., Science et Pêche n° 207, 16 p.
- GRAS (M.P.), 1975.- Etude préliminaire de l'acide désoxyribonucléique (A.D.N.) d'huîtres du littoral atlantique français.
- MORE (P.), MORE (M.T.), MONNET (R.) et POISBEAU (J.), 1971.- Electrophorèse en gel de polyacrylamide des protéines solubles de la partie nacrée du muscle adducteur de cinq espèces d'Ostreidae. Intérêt taxonomique - C.R. Acad. Sa. Paris, t. 273, p. 904 - 906.
- MURDOCK (E.A.), 1975.- Geographical variation in leucine aminopeptidase in Mytilus edulis L. from the Irish coasts - J. exp. mar. Biol. Ecol. vol. 19 p. 33 - 41.
- NAGAYA (S.), SASAKI (K.) et FUJINO (K.), 1978.- Biochemical polymorphism in the Pacific oyster III. Local populations in Hokkaido and the Northeast districts of Japan. Bull of the Jap. Soc. of Sc. Fish.

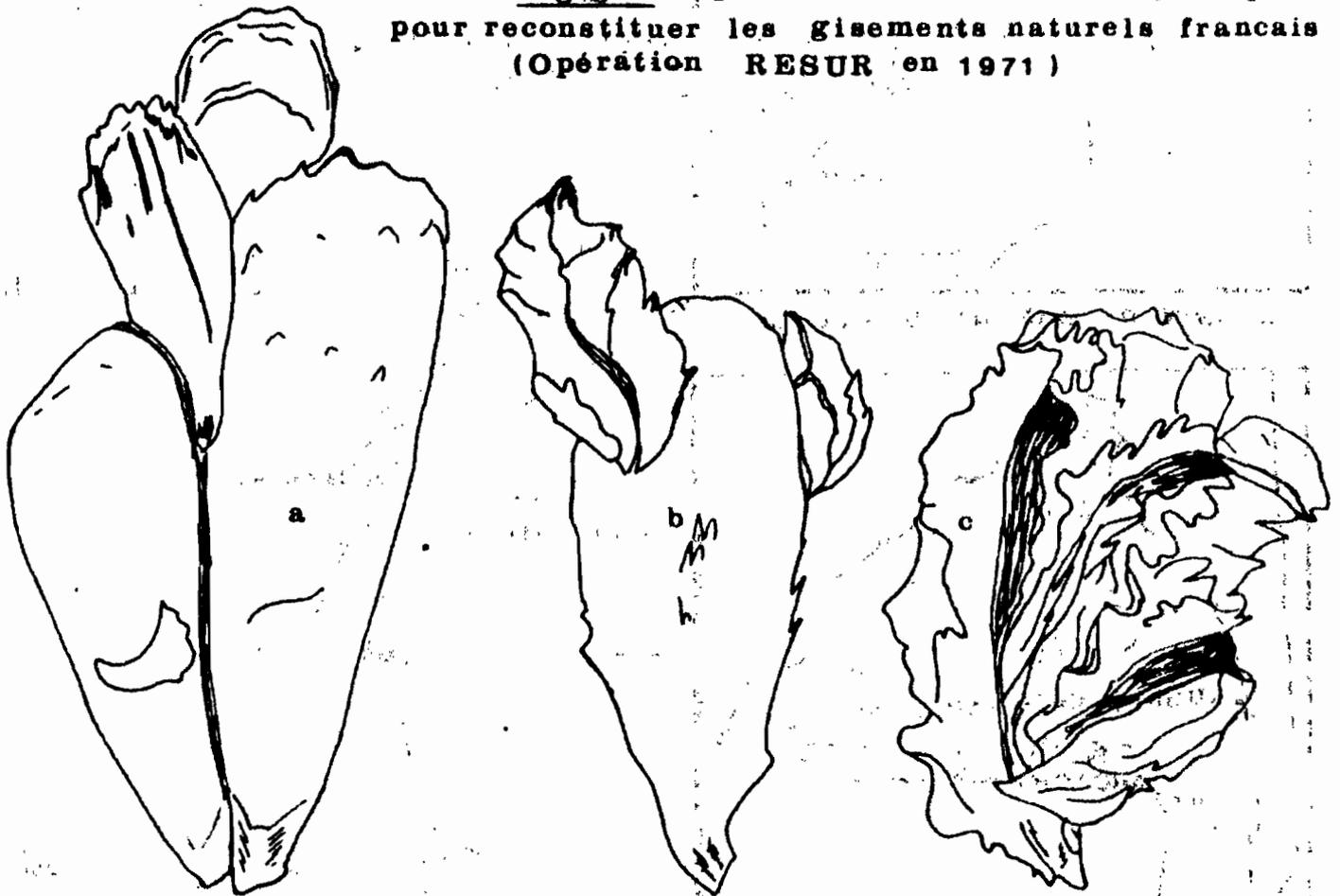
PICHOT (P.) et PICHOT (Y.), 1980.- Le polymorphisme électrophorétique ; un moyen d'étude des populations.- Rev. Trav. Inst. Pêches marit., 44 (3) : 201 - 210.

PICHOT (Y.) et PICHOT (P.), 1981.- Étude électrophorétique des protéines du muscle adducteur de l'huître japonaise Crassostrea gigas (thunberg). Cons. Int. Expl. Mer C.M. 1981 / F : 45.

POUVREAU (B.), 1977.- L'huître plate Ostrea edulis : maturité sexuelle contrôlée, élevage larvaire, croissance et mortalité, variabilité génétique - Thèse 3ème cycle - 115 p.



A. Huitre C. gigas importée de Colombie britannique pour reconstituer les gisements naturels français (Opération RESUR en 1971)



B. Huitres récoltées en 1981 sur :

- a - le gisement des Flamands
- b - le gisement de Mouillelande
- c - le gisement de la Villa algérienne

Fig. 1 - Variations phénotypiques des huitres creuses Crassostrea gigas