

## OBTENTION DE SOUCHES CONCHYLICOLES PERFORMANTES PAR POLYPLOIDISATION (5ème partie)

**GERARD A., NACIRI Y., PEIGNON J.M., LEDU C., PHELIPOT P.,**

Unité de Recherche en Génétique et Eclosion, La Tremblade

**HEURTEBISE S., GARNIER J.**

Unité de Recherche Régionale en Aquaculture, La Tremblade

**BAUD J.P., NOURRY M., HAURE J.,**

Unité de Recherche Régionale en Aquaculture, Bouin

**MARTIN A.G., CLAUDE S., LANGLADE A.,**

Station IFREMER de La Trinité-sur-Mer

**JOLY J.P., GOULLETQUER P., RUELLE F.,**

Station IFREMER de Port-en-Bessin

**COATANEA D., OHEIX J., VERCELLI C., CHABIRANT J.M.,**

Station IFREMER de Palavas

**MAURER D., BOREL M.,**

Station IFREMER d'Arcachon

**CARDINAL M., CORNET J.,**

Département de Valorisation des Produits, Nantes

**LE PENNEC M., LE MERCIER A.,**

Université de Bretagne Occidentale



IFREMER - URGE  
BP. 133 - La Tremblade (FRANCE)  
Tél. : 46 36 30 07  
Fax : 46 36 37 51

**IFREMER**

RIDRV-94-17 - RA/LA TREMBLADE

## PREAMBULE

Ce document présente le cinquième volet du programme "Obtention de souches conchylicoles performantes par polyploïdisation" réalisé dans le cadre du Contrat Etat-Région Poitou-Charentes.

Il fait suite aux rapports intermédiaires présentant les résultats de 1989, 1990, 1991 et 1992 :

- "Maîtrise des techniques de polyploïdisation, application aux espèces d'intérêt commercial en France (huîtres creuses et palourdes)". Rapport interne IFREMER - RIDRV - 90-29 - RA/LA TREMBLADE.
- "Obtention de souches conchylicoles performantes par polyloïdisation (2ème partie)". Rapport interne IFREMER - RIDRV - 91-08 - RA/LA TREMBLADE,
- "Obtention de souches conchylicoles performantes par polyloïdisation (3ème partie)". Rapport interne IFREMER - RIDRV - 92-11 - RA/LA TREMBLADE,
- "Obtention de souches conchylicoles performantes par polyloïdisation (4ème partie)". Rapport interne IFREMER - RIDRV - 93-22 - RA/LA TREMBLADE,

Ce bilan provisoire présente le travail de plusieurs laboratoires de l'IFREMER regroupés au sein du "Réseau Génétique Mollusques" (REGEMO), illustré page suivante :

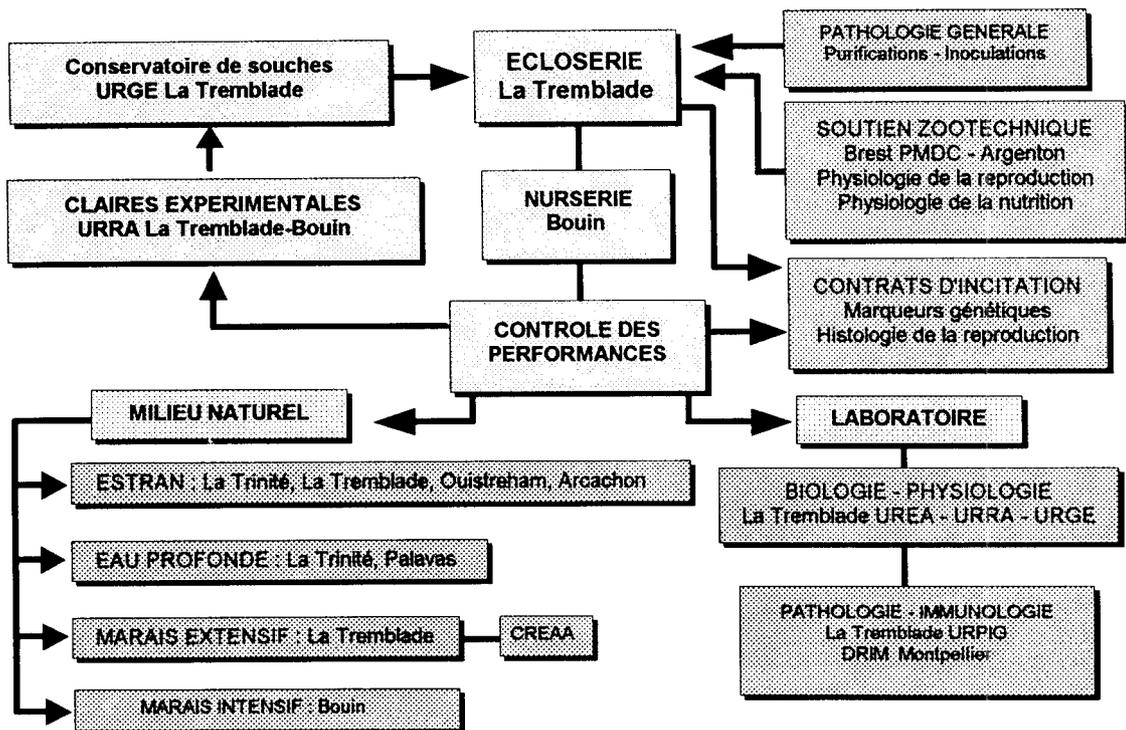
- L'Unité de Recherche de Génétique et Eclosion de La Tremblade, pour la mise au point des techniques et des protocoles, la production des souches, le contrôle de la ploïdie par imagerie numérique, et le traitement des données.
- L'Unité de Recherche Régionale en Aquaculture de Bouin, pour les suivis en nurserie et pour le contrôle des performances biologiques en milieu contrôlé,
- L'Unité de Recherche Régionale en Aquaculture de La Tremblade, les laboratoires RA de Port-en-Bessin, de La Trinité-sur-mer et de Palavas, et le laboratoire DEL d'Arcachon pour le contrôle des performances biologiques dans le milieu naturel,
- L'Unité de Recherche des Ecosystèmes Aquacoles de La Tremblade, pour les études physiologiques.
- La cellule d'analyses sensorielles du Centre IFREMER de Nantes.

et la participation d'une structure externe :

- Le laboratoire de Zoologie de L'Université de Bretagne Occidentale pour l'histologie de la reproduction.

*Photo de couverture : huître diploïde (à gauche) et huître triploïde (à droite) en période estivale à Arcachon.*

## RESEAU GENETIQUE MOLLUSQUES



# SOMMAIRE

<b>1. INTRODUCTION</b>	<b>7</b>
<b>2. RAPPEL DES PROPOSITIONS DE TRAVAIL ET DES PRINCIPAUX ACQUIS</b>	<b>8</b>
<b>3. RAPPEL DU PRINCIPE ET DES TECHNIQUES DE POLYPLOÏDISATION</b>	<b>9</b>
3.1. INDUCTION DE LA TRIPLOIDIE	9
3.2. INDUCTION DE LA TETRAPLOIDIE	9
<b>4. RESULTATS OBTENUS EN 1993.</b>	<b>11</b>
<b>4.1. CONTROLE DES PERFORMANCES BIOLOGIQUES DES POPULATIONS DIPLOIDES ET TRIPLOIDES D'<i>OSTREA EDULIS</i>.</b>	<b>11</b>
4.1.1. PROTOCOLES MIS EN ŒUVRE	11
4.1.1.1. Origine des lots	11
4.1.1.2. Prélèvements et paramètres étudiés	11
4.1.2. BILAN PROVISOIRE DES CONTROLES A LA TRINITE SUR MER	12
4.1.2.1. Evolution des paramètres biométriques.	12
4.1.2.2. Evolution du taux de triploïdie	12
4.1.2.3. Mortalité et parasitisme	12
4.1.2.4. Evolution de la maturation sexuelle	12
4.1.3. BILAN PROVISOIRE DES CONTROLES A PALAVAS	18
4.1.3.1. Evolution des paramètres biométriques	18
4.1.3.2. Evolution des taux de survie et de ploïdie.	18
4.1.4. CONCLUSION PARTIELLE.	18
<b>4.2. CONTROLE DES PERFORMANCES BIOLOGIQUES DES POPULATIONS DIPLOIDES ET TRIPLOIDES DE <i>CRASSOSTREA GIGAS</i> DANS LE MILIEU NATUREL.</b>	<b>22</b>
4.2.1. PROTOCOLES MIS EN ŒUVRE	22
4.2.1.1. Origine des lots	22
4.2.1.2. Prélèvements et paramètres étudiés	22
4.2.2. BILAN PROVISOIRE DES CONTROLES A PORT-EN-BESSIN.	23
4.2.2.1. Evolution des paramètres biométriques.	23
4.2.2.2. Evolution des taux de survie et de triploïdie.	23
4.2.3. BILAN PROVISOIRE DES CONTROLES A MARENNES-OLERON SUR ESTRAN	28
4.2.3.1. Choix du site d'élevage	28
4.2.3.2. Evolution du milieu d'élevage	28
4.2.3.3. Evolution des paramètres biométriques.	28
4.2.3.4. Evolution des paramètres biochimiques.	29
4.2.3.5. Evolution des taux de survie et de triploïdie.	29
4.2.4. BILAN PROVISOIRE DES CONTROLES A MARENNES-OLERON EN CLAIRE.	39
4.2.4.1. Choix du site d'élevage.	39
4.2.4.2. Evolution du milieu d'élevage.	39
4.2.4.3. Evolution des paramètres biométriques.	39
4.2.4.4. Evolution des paramètres biochimiques.	40
4.2.4.5. Evolution des taux de survie et de triploïdie.	40

4.2.5. BILAN PROVISOIRE DES CONTROLES A ARCACHON.	50
4.2.5.1. Site d'élevage.	50
4.2.5.2. Evolution des paramètres biométriques.	50
4.2.5.3. Evolution des taux de survie et de triploïdie	50
4.2.6. BILAN PROVISOIRE DES CONTROLES A PALAVAS.	56
4.2.6.1. Site d'élevage.	56
4.2.6.2. Evolution des paramètres biométriques.	56
4.2.6.3. Evolution des taux de survie et de triploïdie.	56
4.2.6.4. Conclusion partielle.	56
<b>4.3. ETUDE DE LA GAMETOGENESE.</b>	<b>61</b>
4.3.1. MATERIEL ET METHODES.	61
4.3.2. RESULTATS.	61
4.3.2.1. Individus diploïdes (photos 3 à 19).	61
4.3.2.2. Individus triploïdes (photos 20 à 23).	67
4.3.2.3. Conclusion partielle.	69
<b>4.4. ANALYSE SENSORIELLE.</b>	<b>71</b>
4.4.1. OBJECTIF DU TEST.	71
4.4.2. MATERIEL ET METHODES.	71
4.4.2.1. Composition du jury d'analyse sensorielle.	71
4.4.2.2. La salle de dégustation.	71
4.4.2.3. Le test triangulaire.	71
4.4.2.4. Les échantillons.	72
4.4.3. RESULTATS.	72
<b>5. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.</b>	<b>73</b>
<b>6. BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>74</b>

## 1. INTRODUCTION

L'effort de reproduction chez les mollusques bivalves est prioritaire sur la croissance somatique. Dès le printemps, il monopolise le métabolisme énergétique pour la gamétogenèse induisant ainsi un retard de croissance et une modification des qualités organoleptiques de la chair (Héral & Deslous-Paoli, 1983). Ces mêmes auteurs ont montré que cet effort augmente avec l'âge de l'huître (figure 1). Chez les jeunes huîtres de 1 an, l'énergie est principalement utilisée pour la croissance, seulement 18% sont impliqués dans la reproduction, alors que pour une huître de deux ans, 60 à 65% de l'énergie accumulée sert à la formation des gamètes (Deslous-Paoli & Héral, 1988). En période estivale, le poids des gamètes représente 7% de celui de la chair pour une huître de 1 an, 60% pour celle de 2 ans et 80% à 3 ans.

La réduction de la gonadogenèse par induction de la triploïdie devrait permettre de réorienter ce flux énergétique vers la croissance somatique. La triploïdisation est une des premières techniques de cytogénétique à déboucher sur des applications aquacoles. Chez les mollusques, les recherches ont été menées aux Etats Unis (Allen, 1987) sur plusieurs espèces : *Crassostrea virginica* (Stanley *et al.*, 1981), *C. gigas* (Downing & Allen, 1987 ; Allen & Downing, 1986 ; 1990), *Argopecten irradians* (Tabarini, 1984), *Haliotis discus* (Arai *et al.*, 1986). Ces expériences ont montré, notamment chez *C. gigas*, une stérilité partielle des individus triploïdes accompagnée d'une amélioration des performances de croissance et du maintien d'une teneur élevée en glycogène tout au long de l'année (Allen & Downing, 1986 ; 1990).

En France, cette technique a été développée dans le domaine piscicole par l'INRA. La production de poissons triploïdes a ainsi permis d'obtenir des gains de croissance (Chourrout, 1989) et une stabilité de la qualité de la chair (Chevassus, 1987) résultant d'une réduction de l'activité gonadique. Chez les mollusques, les recherches ont été approfondies depuis la création de l'écloserie de La Tremblade, notamment dans le cadre du présent contrat Etat-Région Poitou-Charentes. Son objectif est de tester des techniques de triploïdisation sur les principales espèces françaises d'intérêt commercial : l'huître creuse *Crassostrea gigas* (Ledu, 1989 ; Diter, 1990 ; Desrosier *et al.*, 1993 ; Gérard *et al.*, 1994a), l'huître plate *Ostrea edulis* (Gendreau & Grizel, 1990), la palourde japonaise *Ruditapes philippinarum* (Dufy, 1988 ; Dufy & Diter, 1990 ; Diter & Dufy, 1990) et la palourde européenne *Ruditapes decussatus* (Noiret, 1991 ; Gérard *et al.*, 1992 ; 1994c).

## 2. RAPPEL DES PROPOSITIONS DE TRAVAIL ET DES PRINCIPAUX ACQUIS

Tenant compte de l'état d'avancement des recherches et de l'intérêt des applications possibles résultant de l'obtention d'animaux triploïdes et tétraploïdes, le programme proposé s'articule en trois grandes parties :

- acquisition des techniques de triploïdisation et applications aux espèces françaises d'intérêt commercial (l'huître creuse *C. gigas*, l'huître plate *Ostrea edulis*, la palourde du Pacifique *Ruditapes philippinarum*, la palourde indigène *R. decussatus*),
- production de populations diploïdes et triploïdes : comparaison de leurs performances de croissance dans les eaux littorales françaises, comparaison de la qualité de la chair et étude de la fonction de reproduction,
- mise au point de techniques de tétraploïdisation et essais d'obtention de géniteurs tétraploïdes viables. En cas de succès, essais de croisement avec des géniteurs diploïdes et vérification de la descendance.

L'année 1989 (Anonyme, 1990) a été consacrée à :

- la mise en place de systèmes expérimentaux,
- l'acquisition et l'amélioration des techniques de triploïdisation pour *C. gigas*, l'huître creuse,
- l'application de ces techniques à *R. philippinarum*, la palourde du Pacifique.

L'année 1990 (Gérard, 1991) a été consacrée à :

- à la production de populations diploïdes et triploïdes de *Crassostrea gigas* et de *Ruditapes philippinarum*,
- aux premiers essais d'induction de la triploïdie chez *Ruditapes decussatus*,
- au début de la mise au point d'une technique de contrôle de la ploïdie par imagerie numérique (Gérard *et al.*, 1991),
- au début du contrôle des performances dans le milieu naturel des populations diploïdes et triploïdes de *C. gigas*,
- aux premiers essais d'induction de la tétraploïdie.

L'année 1991 (Gérard *et al.*, 1992) a été consacrée à :

- à la poursuite des essais de mise au point de la technique d'induction de la triploïdie chez *Ruditapes decussatus*, la palourde indigène,
- à la production de populations diploïdes et triploïdes d'*Ostrea edulis*, l'huître plate,
- au contrôle des performances des populations diploïdes et triploïdes d'huîtres creuse et de palourde du Pacifique dans le milieu naturel,
- à la poursuite de la mise au point de la technique de contrôle de la ploïdie par analyse d'image (Gérard *et al.*, 1994b),
- au début de la mise au point d'une nouvelle technique d'induction de la polyploïdie chez les mollusques bivalves.

L'année 1992 (Gérard *et al.*, 1993) a été consacrée :

- l'acquisition d'une technique de microscopie à épifluorescence,
- la mise au point d'une nouvelle technique d'induction de la polyploïdie,
- l'induction de la triploïdie chez la palourde indigène *Ruditapes decussatus*,
- la mise en place du contrôle de performances pour les populations diploïdes et triploïdes d'*Ostrea edulis*,
- les résultats des contrôles de performances pour les populations diploïdes et triploïdes de *Crassostrea gigas* et *Ruditapes philippinarum*.

### 3. RAPPEL DU PRINCIPE ET DES TECHNIQUES DE POLYPLOÏDISATION

Un animal est polyploïde quand il possède plus de deux génomes de base, ceux-ci pouvant être homologues ou non selon que la ploïdie provient d'un doublement chromosomique ou d'une hybridation interspécifique naturelle ou artificielle (Sournia *et al.*, 1991). Chez les mollusques, la polyploïdisation n'est envisageable que sur les ovocytes qui sont bloqués, au moment de leur émission, au stade prophase ou au début de la métaphase de la 1<sup>ère</sup> division méiotique (Lucas, 1971). L'achèvement de la méiose qui se concrétise par l'expulsion de deux globules polaires, n'est provoquée que par la pénétration du spermatozoïde (Figure 2).

#### 3.1. Induction de la triploïdie

La triploïdisation peut être obtenue par :

- rétention d'un des deux globules polaires en soumettant les oeufs, quelques minutes après la fécondation, à des chocs physiques (température, pression) ou à un traitement chimique (Figure 2),
- le croisement d'un individu diploïde (2N) avec un individu tétraploïde (4N) qui engendre des individus triploïdes (3N). Cette méthode, qui est la plus fiable et qui évite le traitement des oeufs à chaque génération, ne sera applicable que si des tétraploïdes viables et fertiles sont obtenus.

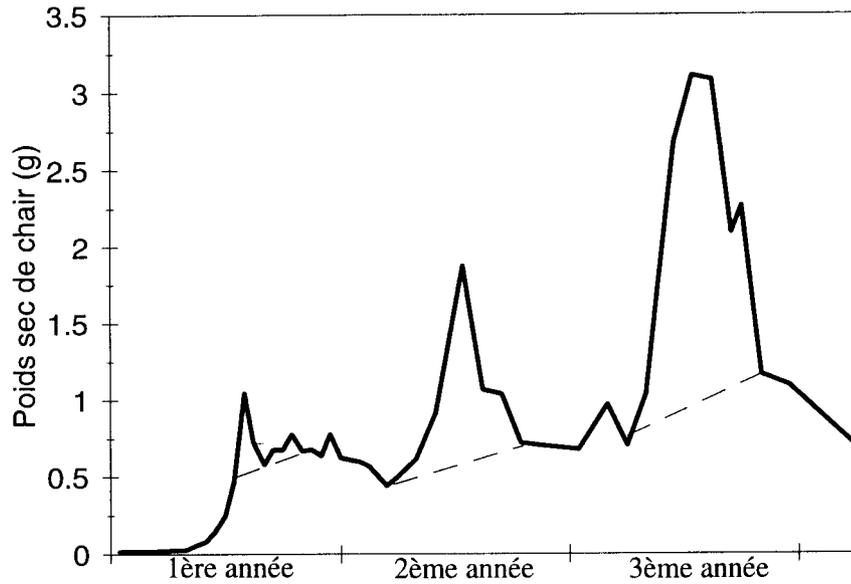
A l'issue des premiers essais, la technique d'induction chimique à la cytochalasine B a été retenue. Son efficacité dépend de la concentration, de la température, de la durée et du moment d'application du traitement. Ces paramètres qui sont fonction de la biologie et du développement embryonnaire doivent être déterminés pour chaque espèce.

#### 3.2. Induction de la tétraploïdie

Diverses techniques (traitements chimiques, chocs de pression, chocs thermiques, électrofusion) sont utilisables, dont le but principal est :

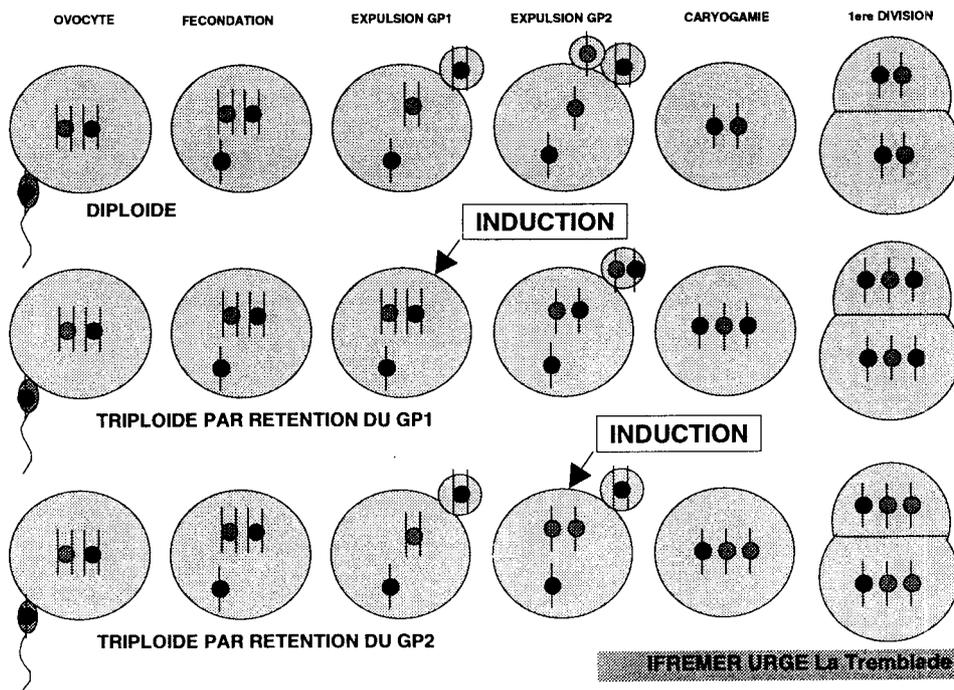
- la rétention des deux globules polaires précédée d'une inactivation du stock chromosomique du spermatozoïde (tétraploïdie gynogénétique),
- la suppression de la première division mitotique (tétraploïde endomitotique).

**Fig.1 : Evolution du poids sec de Crassostrea gigas à Marennes-Oléron**



(D'après Deslous-Paoli et Héral, 1988)

**Fig.2 : Induction de la triploïdie**



## 4. RESULTATS OBTENUS EN 1993.

### 4.1. Contrôle des performances biologiques des populations diploïdes et triploïdes d'*Ostrea edulis*.

#### 4.1.1. Protocoles mis en œuvre

##### 4.1.1.1. Origine des lots

En mai 1992, après une période de prégrossissement de quelques mois et une vérification des taux de ploïdie par imagerie numérique, les huîtres plates diploïdes et triploïdes produites en juillet 1991 (Gérard *et al.*, 1992) ont été transférées dans les stations IFREMER de Palavas et de La Trinité-sur-mer, pour tester leurs performances biologiques.

En raison de mortalités enregistrées pendant l'hiver 1991-92, causées par un dégagement toxique des nouvelles bâches des bassins de réserve d'eau de mer de l'écloserie de La Tremblade, seul un lot comprenant un mélange de diploïdes, de diploïdes réfractaires au traitement et de triploïdes, a pu être constitué pour réaliser ce suivi biologique.

Ce lot a été divisé en deux sous-lots de 2000 individus qui ont été implantés courant mai 1992 à La Trinité-sur-mer (4 poches de 500 à 5 mètres de profondeur) et à Palavas (4 poches de 500 à 20 mètres de profondeur). Un dédoublement a été opéré à Palavas au mois d'août 1992 et, à La Trinité en novembre 1992.

##### 4.1.1.2. Prélèvements et paramètres étudiés

Les différences attendues entre les diploïdes et les triploïdes, ne devant intervenir qu'après une période de maturation, le protocole de suivi mis en place prévoyait un rythme très lâche d'échantillonnage pendant la première année et un contrôle plus soutenu durant la deuxième année (7 à 8 points de contrôle).

Différents paramètres ont été étudiés :

Paramètres biométriques :

- poids total
- poids frais de la chair
- poids sec de la chair après lyophilisation
- poids coquille sèche (24h à l'étuve à 60°C)
- indice de condition de Lawrence et Scott

Paramètres biochimiques :

- protides
- lipides
- glucides totaux
- glycogène

Ploïdie : elle a été déterminée par analyse d'image sur des empreintes branchiales effectuées à partir de chaque animal prélevé ce qui permet *a posteriori* de reclasser les huîtres en populations diploïde et triploïde.

Pathologie : la recherche de parasites (*Bonamia* et *Marteilia*) sur des frottis cardiaques a été réalisée par La Trinité pour leurs propres prélèvements, et par l'URPIG de La Tremblade pour les huîtres de Palavas.

Mortalité : elle a été estimée trimestriellement sur des poches ostréicoles réservées à cet effet. Les conditions expérimentales, population unique comprenant un mélange de diploïdes et de triploïdes, n'ont pas permis un suivi de la mortalité par classe de ploïdie.

## **4.1.2. Bilan provisoire des contrôles à La Trinité sur mer**

### **4.1.2.1. Evolution des paramètres biométriques.**

Les résultats des principaux paramètres étudiés sont présentés dans les figures 3 à 8. Les individus triploïdes, de poids inférieur aux individus diploïdes en début d'élevage (figures 3 et 4), se développent plus rapidement que ces derniers à partir de la fin juin. Cette inversion de la tendance correspond à la période de maturation des huîtres (§§ 4.1.2.4). Toutefois, il est très difficile de relier les observations de l'étude de la maturation, qui révèle un faible développement gonadique chez les triploïdes, avec les évolutions du poids de chair sèche (figure 5) et de l'indice de condition (figure 6), qui ne montrent pas de différence sensible de comportement entre les deux classes de ploïdie au moment de l'émission gamétique. Une décroissance simultanée de ces deux paramètres entre les mois de juillet et octobre est observée, avec néanmoins des valeurs plus élevées en faveur des triploïdes. L'échantillon du mois de novembre montre un rééquilibrage entre les diploïdes et les triploïdes.

### **4.1.2.2. Evolution du taux de triploïdie**

L'évolution du taux de triploïdie, vérifié par imagerie numérique sur des échantillons de 60 individus, est présentée dans la figure 9. Les fluctuations enregistrées sont probablement dues à l'échantillonnage. Le fait que le nombre de triploïdes soit variable et souvent nettement supérieur au nombre de diploïdes rend le traitement statistique moins puissant et diminue le degré de signification des différences observées. L'analyse des résultats ne permet pas de conclure à une mortalité différentielle d'une classe de ploïdie par rapport à l'autre.

### **4.1.2.3. Mortalité et parasitisme**

La mortalité consécutive à la mise en élevage est faible (6.6%) et essentiellement due à l'action des bigorneaux perceurs. A partir d'août 1992, la mortalité augmente tout en restant compatible avec les taux observés habituellement. La prédation par perceurs n'en est plus la cause principale. Le taux global en novembre 1992 est de 26.5% dont près d'un quart par perceur. Après dédoublement, la mortalité sur un an, de novembre 1992 à novembre 1993 est en moyenne de 40% dont la moitié par perceur. Au total, depuis la mise en élevage, la mortalité cumulée sur un an et demi, sur la poche témoin, est de 56 % (303/540) dont un tiers environ dû aux perceurs. Les résultats exprimés en survie sont représentés dans la figure 10.

Ni *Bonamia* ni *Marteilia* n'ont été observés jusqu'en novembre. *Bonamia* a été décelé à faible taux en février (1/20 diploïdes, 0/40 triploïdes). Les analyses des lots suivants sont en cours. La présence de *Polydora* est par contre non négligeable puisque décelée dès novembre sur 97% des huîtres et confirmée par la suite sur 92 à 98% des huîtres, selon les lots avec 2 à 12% d'individus sérieusement atteints.

### **4.1.2.4. Evolution de la maturation sexuelle**

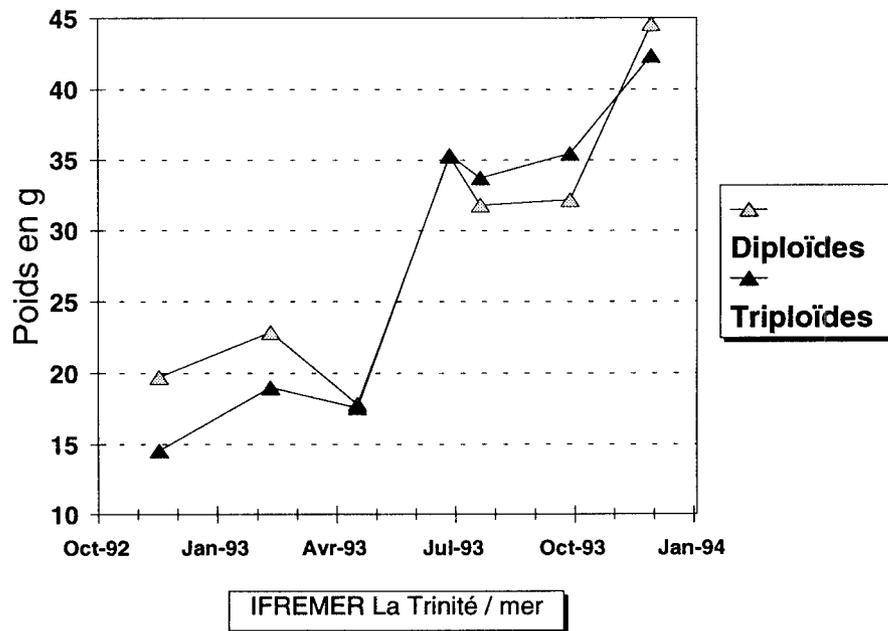
Le taux de maturation n'est qu'indicatif puisque déterminé par simple observation de produits sexuels sur les frottis destinés à l'examen pathologique (cf échelle de maturation, tableau 1).

Stade	0	1	2	3	4	5
Degré	maigre	peu gras	gras	très gras	laiteux	ardoisé

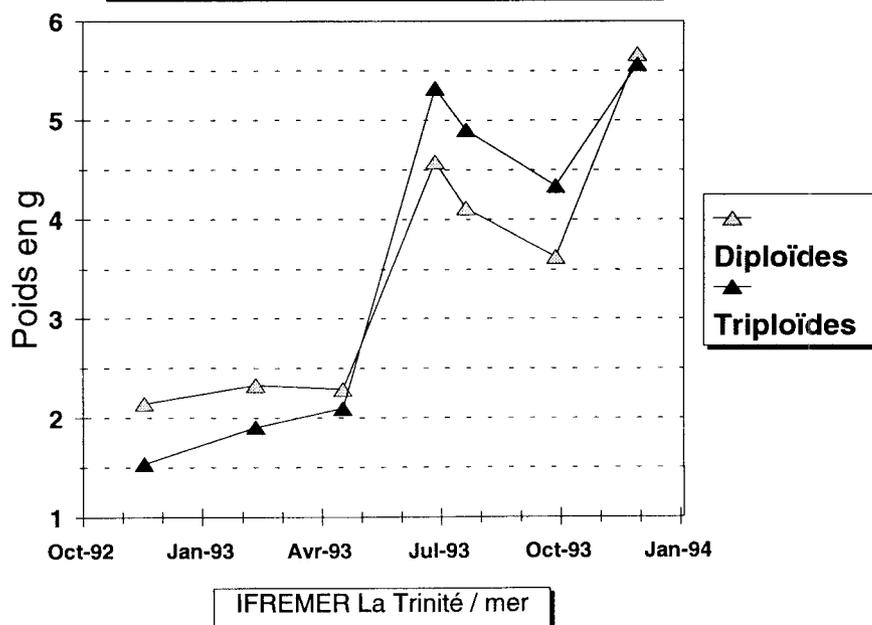
Tableau 1 : Echelle macroscopique de maturation des huîtres plates (Marteil, 1976).

On constate cependant la présence de produits sexuels en formation sur certains des individus triploïdes dès novembre, puis en février et en avril (stade 1). En juin et juillet, des stades plus évolués de la gamétogenèse sont trouvés, allant jusqu'au stade 3 pour les triploïdes et jusqu'au stade 5 pour les diploïdes. Le taux d'individus en cours de maturation est beaucoup plus élevé chez les diploïdes que chez les triploïdes.

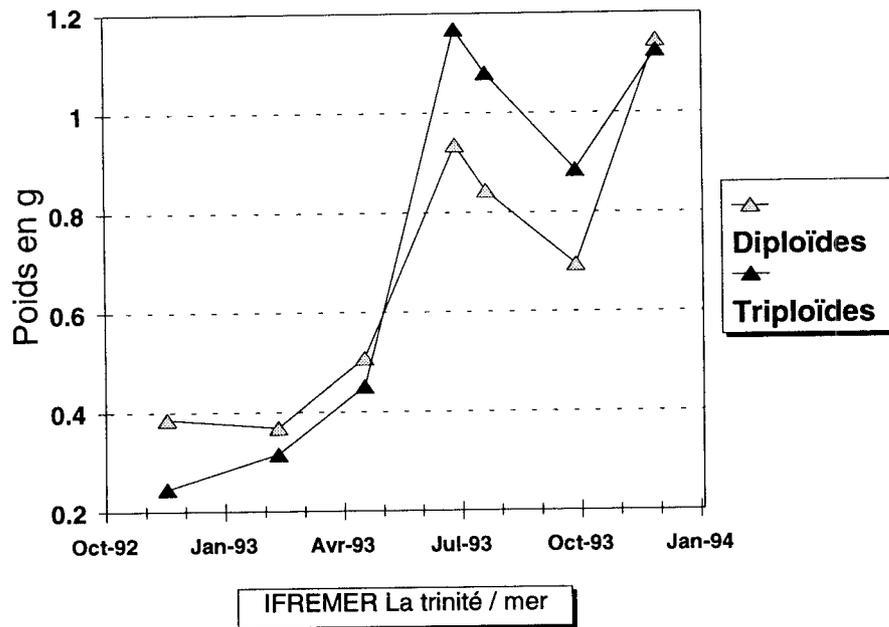
**Fig. 3 : *Ostrea edulis***  
**Evolution du poids total**



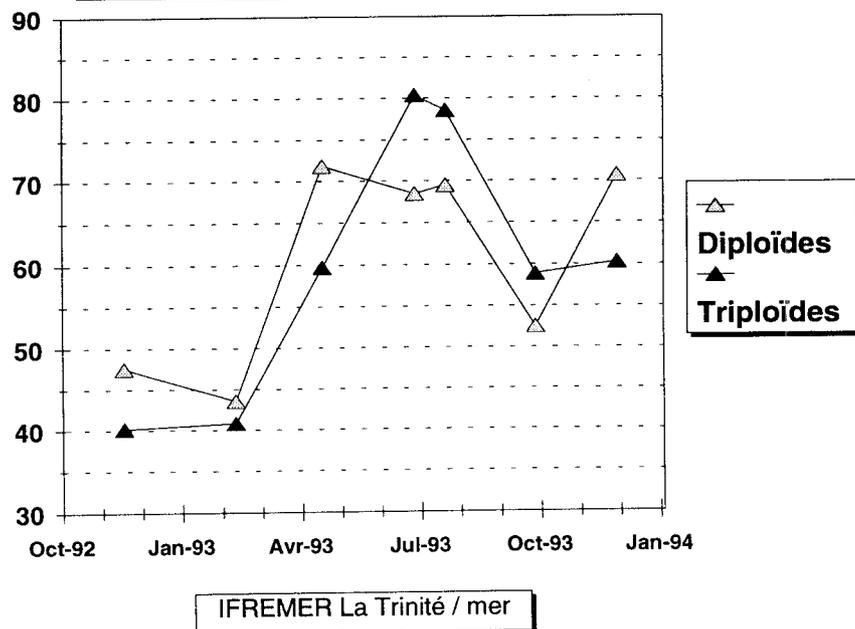
**Fig. 4 : *Ostrea edulis***  
**Evolution du poids frais de chair**



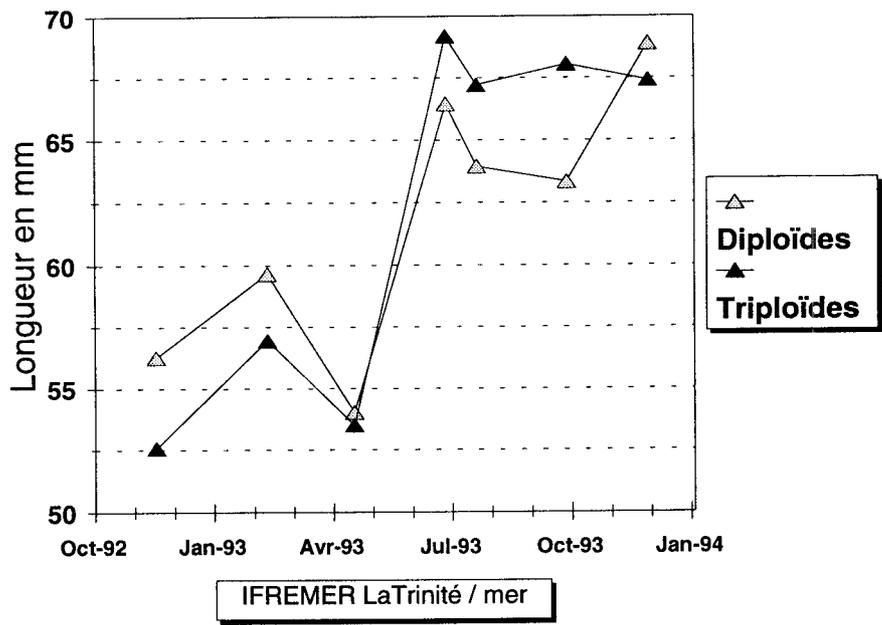
**Fig. 5 : *Ostrea edulis***  
**Evolution du poids de chair sèche**



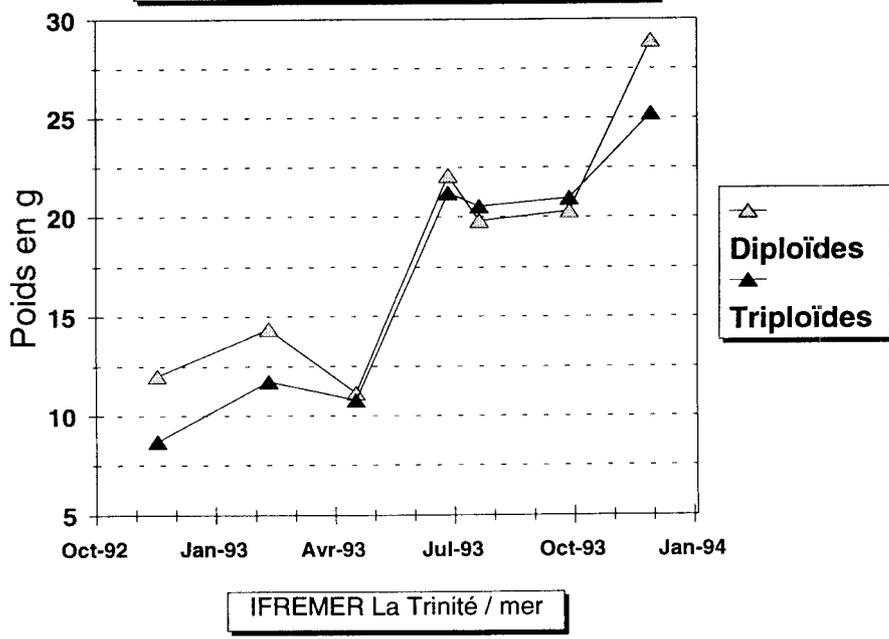
**Fig. 6 : *Ostrea edulis***  
**Evolution de l'indice de condition**



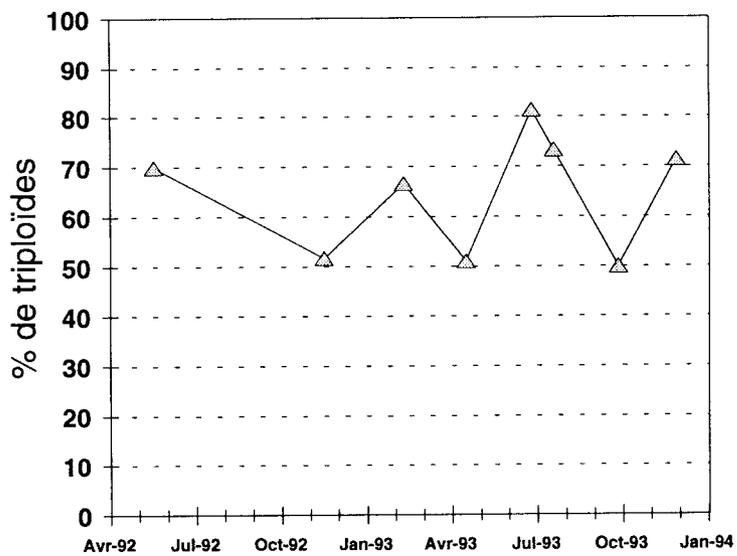
**Fig. 7 : *Ostrea edulis***  
**Evolution de la longueur**



**Fig. 8 : *Ostrea edulis***  
**Evolution du poids de coquille**



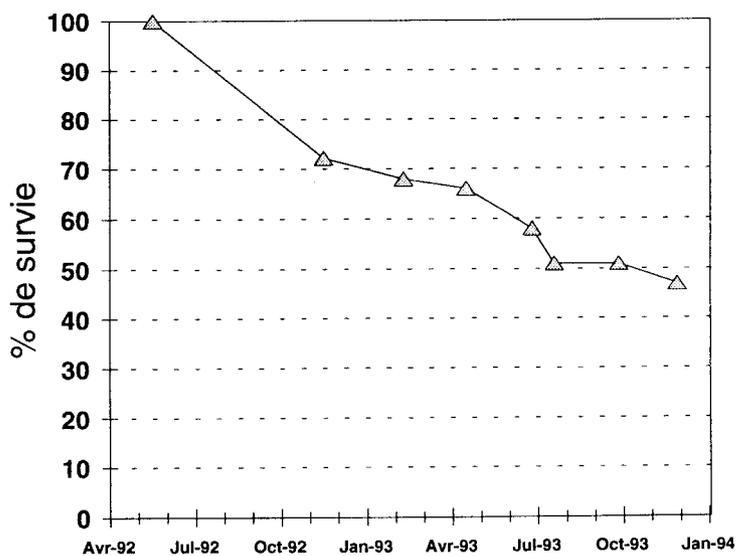
**Fig. 9 : *Ostrea edulis***  
**Evolution du taux de triploïdes**



△  
**% 3N**

IFREMER La trinité / mer

**Fig. 10 : *Ostrea edulis***  
**Evolution du taux de survie**



△  
**% survie**

IFREMER La trinité / mer

### **4.1.3. Bilan provisoire des contrôles à Palavas**

#### **4.1.3.1. Evolution des paramètres biométriques**

Les résultats des principaux paramètres étudiés sont présentés dans les figures 11 à 14.

*La croissance*, très rapide de mai à novembre 1992 (3.8 à 19.6 g), ralentit pendant la période estivale, pour reprendre au début de l'automne au moment de l'enregistrement des plus fortes températures sur la zone (figure 70). La chute de poids de juillet-août 1993 chez les diploïdes est probablement en relation avec l'émission des gamètes. La différence entre les huîtres diploïdes et triploïdes est significative à partir de cette période, elle se note particulièrement au niveau de l'évolution du poids frais et du poids sec de chair (figures 12 et 13). Le poids moyen, après 17 mois d'élevage, est de  $36.7 \pm 6.7$ g pour les diploïdes, et de  $43.8 \pm 5.8$  g pour les triploïdes (figure 11), soit une différence proche de **20%** en faveur de ces derniers. Toutefois la variabilité des échantillons ne permet de conclure à une différence significative au seuil de 5%. Par contre, les différences sont statistiquement significatives pour le poids frais de chair ( $t=2.62$ ,  $P=0.005$ ), et, pour le poids de chair sèche ( $t=2.82$ ,  $P=0.003$ ).

Ces performances de croissance d'huîtres en poches ostréicoles, mises en élevage en eau profonde, ne sont pas le reflet des croissances qui peuvent être obtenus dans la région. A titre d'exemple, le poids moyen d'huîtres plates, produites en télécaptage à IFREMER-Palavas en juin 1991, est passé après collage sur corde et immersion dans l'étang de Thau, de 2,8 g à 42 g entre mai et novembre 1992, avec une survie de 74 % et un indice de condition Lawrence-Scott de 80.

*L'indice de condition de Lawrence-Scott* suit la même évolution que les paramètres de croissance, mais la différence entre les deux classes de ploïdie est moins nette. Après avoir marqué un maximum autour de 80 de juin à août 1993, il est particulièrement faible en novembre puisqu'il se situe à  $44,4 \pm 2,8$  pour les diploïdes et  $52,9 \pm 4,5$  pour les triploïdes (Figure 14).

#### **4.1.3.2. Evolution des taux de survie et de ploïdie.**

Les variations du *taux de triploïdes* présentés dans la figure 15, sont plus faibles que celles enregistrées à La Trinité-sur-mer. Elles fluctuent entre 58 et 70% ce qui permet de penser, qu'il n'y a pas de mortalité différentielle entre les deux classes de ploïdie sur ce site.

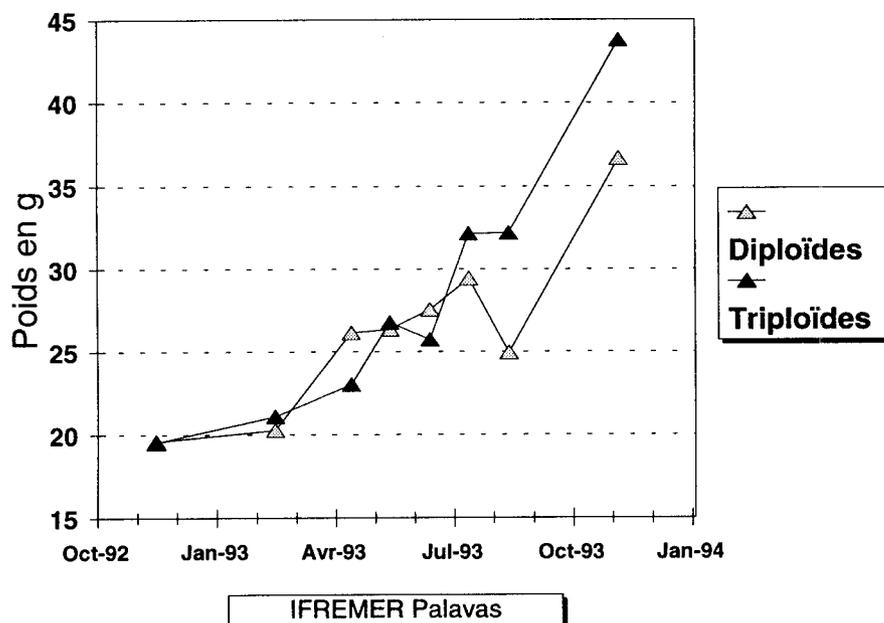
*La mortalité*, estimée globalement sur l'ensemble de la population (mélange d'huîtres diploïdes et triploïdes), s'est avérée beaucoup plus forte lors de la mise en élevage qu'à La Trinité-sur-mer. Elle se stabilise ensuite et la survie atteint 35 % à la fin de l'année 1993 (Figure 16).

#### **4.1.4. Conclusion partielle.**

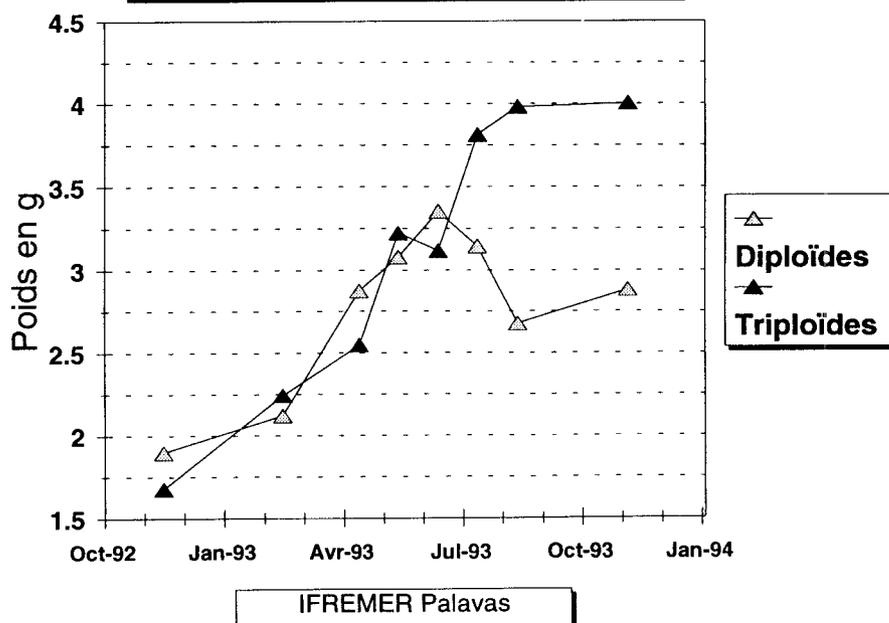
Seules quelques différences significatives entre les diploïdes et les triploïdes d'huître plate *Ostrea edulis*, ont pu être enregistrées sur certains paramètres biométriques à Palavas. La configuration de l'expérimentation, population unique comprenant un mélange non équilibré de diploïdes et de triploïdes contrarie les traitements statistiques et diminue le degré de signification des différences observées.

Initialement prévu sur une période de deux ans, le contrôle des performances biologiques sur les sites de La Trinité/mer et de Palavas sera prolongé d'une année, afin de statuer sur l'intérêt de la triploïdisation chez l'huître plate *Ostrea edulis*. La forte diminution du nombre d'huîtres dans les populations, liée à la mortalité naturelle et aux échantillonnages, imposera toutefois un allègement du protocole de suivi.

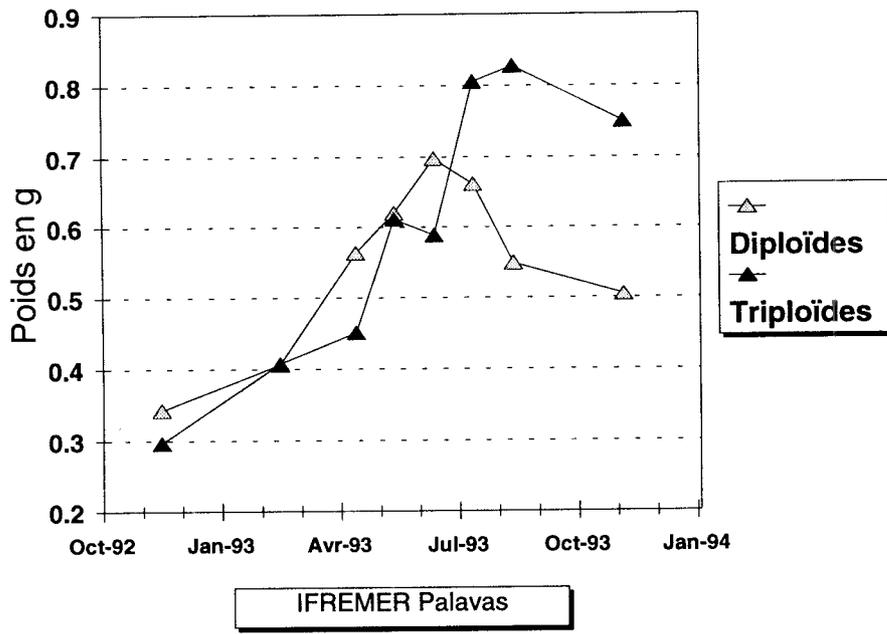
**Fig. 11 : *Ostrea edulis***  
**Evolution du poids total**



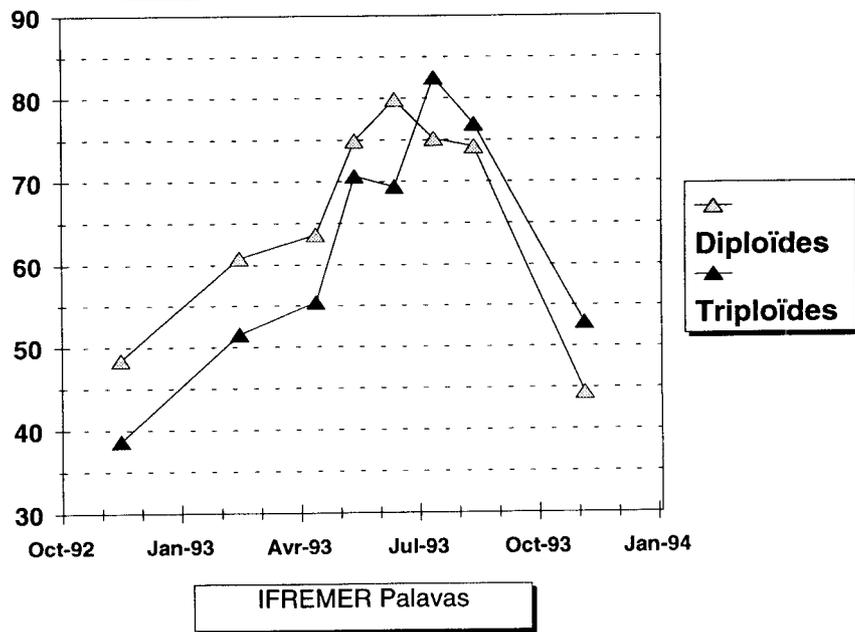
**Fig. 12 : *Ostrea edulis***  
**Evolution du poids frais de chair**



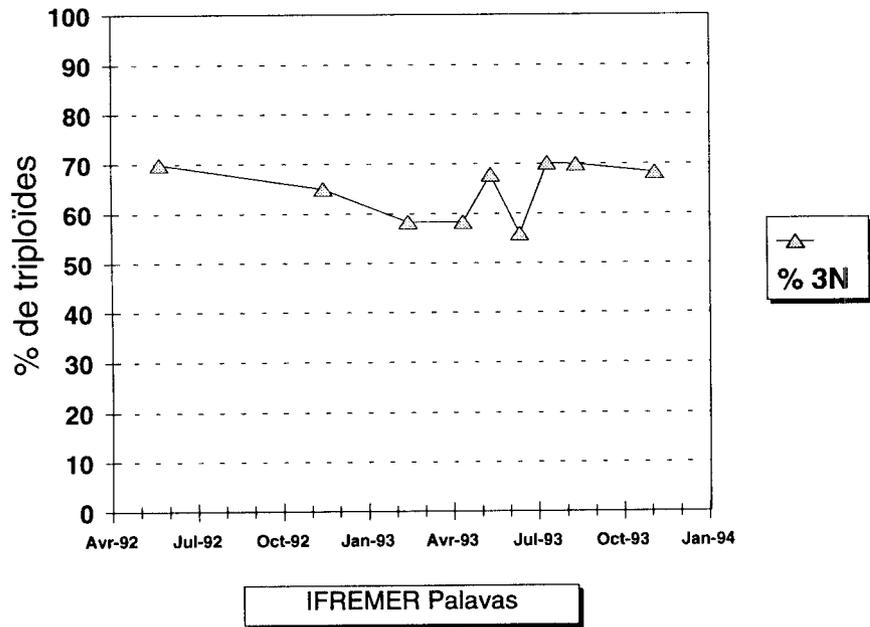
**Fig. 13 : *Ostrea edulis***  
**Evolution du poids de chair sèche**



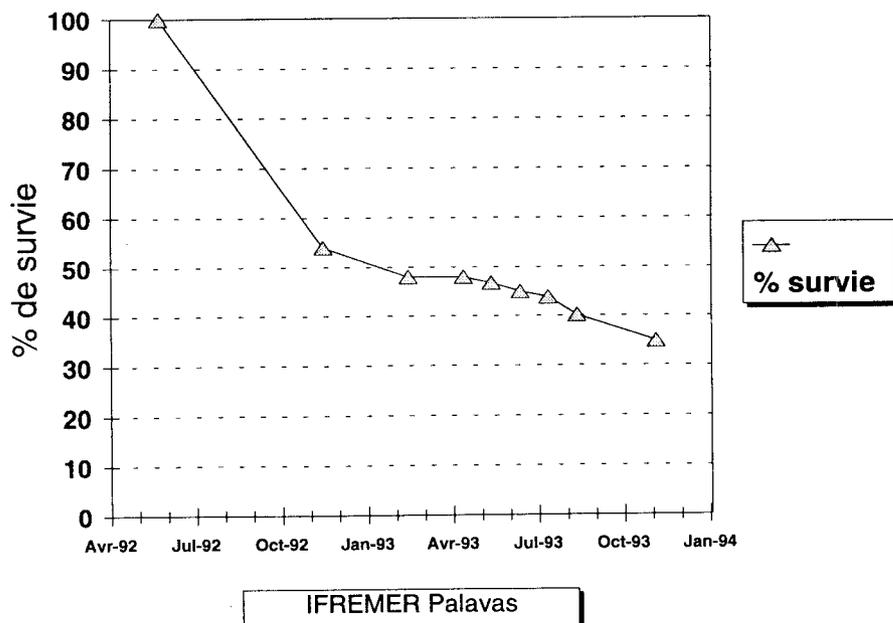
**Fig. 14 : *Ostrea edulis***  
**Evolution de l'indice de condition**



**Fig. 15 : *Ostrea edulis***  
**Evolution du taux de triploïdes**



**Fig. 16 : *Ostrea edulis***  
**Evolution du taux de survie**



## **4.2. Contrôle des performances biologiques des populations diploïdes et triploïdes de *Crassostrea gigas* dans le milieu naturel.**

Les difficultés d'ordre zootechnique, rencontrées en 1991 à Marennes-Oléron lors du premier test de contrôle de performances (Gérard *et al.*, 1992) nécessitaient la mise en place d'une seconde série d'expérimentations pour statuer sur l'intérêt des triploïdes pour l'ostréiculture française. Afin de tester la variabilité des performances en fonction des conditions de milieu, le nombre de sites étudiés a été nettement augmenté grâce à la participation active des laboratoires côtiers de l'IFREMER dans le cadre du REGEMO (Réseau Génétique Mollusques) :

- Port-en-Bessin (Normandie, Baie des Veys),
- La Tremblade sous deux conditions, en claire et sur estran,
- Arcachon sur estran (sur un parc du Tes),
- Palavas (concession en eau profonde).

### **4.2.1. Protocoles mis en œuvre**

#### **4.2.1.1. Origine des lots**

Les populations de triploïdes ont été constituées à partir de deux élevages distincts réalisés à La Tremblade en 1992, CG3N9218 (taux de triploïdes : 90%) et CGGY9226 (taux de triploïdes : 95%) en respectant les classes de taille quand un mélange a été nécessaire.

*Port-en-Bessin et La Tremblade* : la population triploïde a été constituée à partir de l'élevage CGGY9226 (poids moyen de 8,62 g) et du lot de queue de l'élevage CG3N9218 (poids moyen de 10,21 g). Une population triploïde homogène d'environ 4600 huîtres a ainsi été formée. Un mélange des lots diploïdes correspondants a été effectué dans les mêmes proportions, pour constituer une population diploïde témoin. Chaque site étudié a reçu 2400 huîtres (1200 diploïdes et 1200 triploïdes).

*Arcachon et Palavas* : les populations diploïdes et triploïdes ont été constituées à partir de l'élevage CG3N9218 (lot de tête et corps de lot), l'étude a été réalisée avec 1500 huîtres par lot à Arcachon et 750 huîtres par lot à Palavas.

#### **4.2.1.2. Prélèvements et paramètres étudiés**

Les huîtres ont été transférées pendant la deuxième quinzaine de mars 1993, dans chaque site. Le premier échantillonnage a été réalisé à cette occasion, les prélèvements en mer ont débuté dès le 15 Avril et se sont échelonnés tous les mois jusqu'en Novembre. Pendant la période de ponte des prélèvements bi-mensuels ont été effectués.

Différents paramètres ont été étudiés :

**Mortalité** : elle est estimée à chaque prélèvement, sur une poche réservée à cet usage,

**Paramètres biométriques** : ils sont mesurés sur 30 individus

- Poids total de l'huître brossée et essuyée rapidement,
- Poids frais de chair,
- Poids sec de chair après lyophilisation,
- Poids sec de coquille (24h à l'étuve à 60°C),
- Indice de condition de Lawrence et Scott (1982),

$$I.C. = \frac{\text{poids sec de chair}}{(\text{poids total}) - (\text{poids coquille sèche})} \times 10^3$$

Paramètres biochimiques : ils sont mesurés sur les individus ayant servi à la mesure des paramètres biométriques

- Protides
- Lipides
- Glucides
- Glycogène

Ploïdie : elle est déterminée selon la méthode mise au point par Gérard *et al.* (1991, 1994b), basée sur l'analyse d'images d'empreintes branchiales. Les prélèvements branchiaux sont réalisés sur les huîtres du lot triploïde au moment des mesures biométriques.

#### **4.2.2. Bilan provisoire des contrôles à Port-en-Bessin.**

##### **4.2.2.1. Evolution des paramètres biométriques.**

Les principaux résultats sont présentés dans les figures de 17 à 22. Lors du dernier prélèvement, les huîtres triploïdes présentent une croissance supérieure aux diploïdes témoins pour tous les paramètres biométriques suivis. L'évolution du poids total (figure 17) montre que cette différence n'intervient qu'à partir du mois de juillet quand l'effort de reproduction des individus diploïdes commence à être enregistré. Cette réduction de la gonadogenèse chez les triploïdes, se traduit par une différence de poids total au mois de novembre, de **16%**. Cette différence est statistiquement significative au seuil de 5% ( $t=1.91$ ,  $P=0.031$ ).

La croissance supérieure des animaux triploïdes est corrélée à une prise de poids de coquille supérieure à celle observée chez les animaux témoins (figure 22). L'émission des gamètes est enregistrée entre le 16/08 et le 2/09. Chez les diploïdes elle se traduit par une diminution du poids de chair sèche de 34,4% (figure 19), une perte de 13,8% est également observée chez les triploïdes montrant que l'activité gonadique n'est pas nulle chez ces individus.

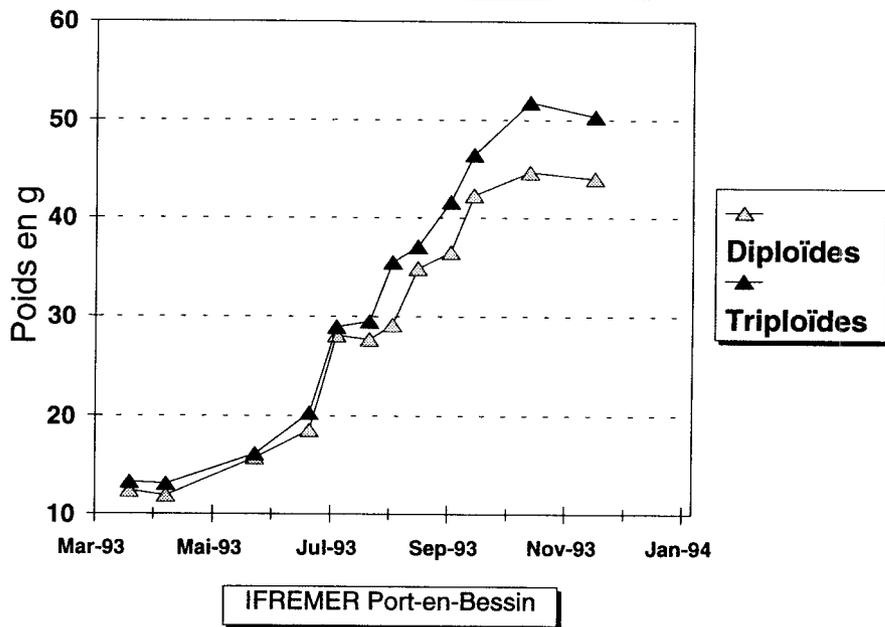
L'indice de condition de Lawrence et Scott (figure 19) est supérieur chez les animaux diploïdes jusqu'en période d'émission de gamètes (2/09) où la tendance s'inverse. Cet indice de qualité, qui est le reflet du taux de remplissage de l'espace intervalvaire, est particulièrement élevé en Normandie. Son évolution est à comparer avec les enregistrements particulièrement faibles de Marennes-Oléron (figures 32 et 50), Arcachon (figure 64) et Palavas (figure 74).

##### **4.2.2.2. Evolution des taux de survie et de triploïdie.**

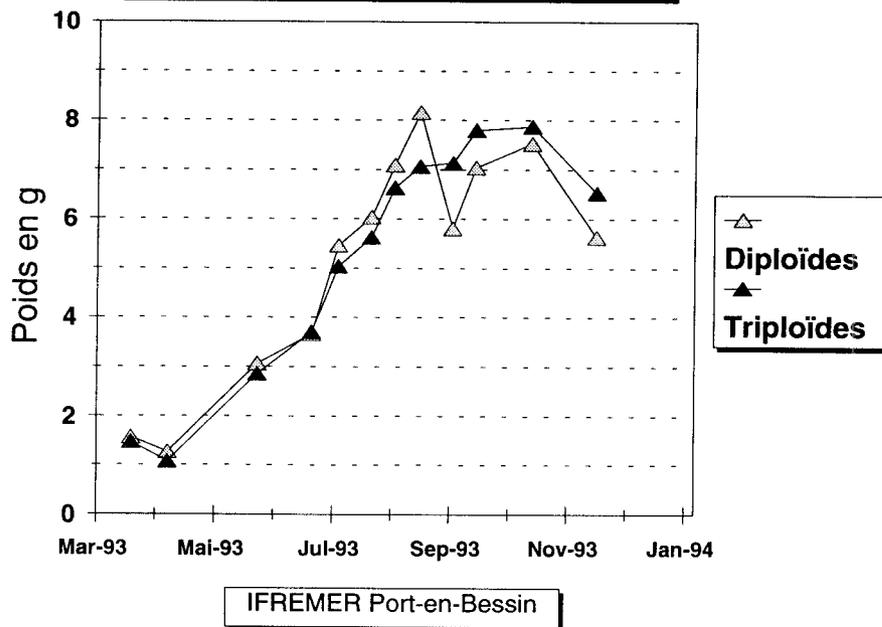
Tout comme dans le premier suivi réalisé en 1991-1992 dans la baie des Veys (Gouletquer *et al.*, 1993; Gérard *et al.*, 1993), le taux de survie chez les triploïdes est légèrement inférieur à celui des témoins non traités (figure 23). Il est à noter que le taux de survie des triploïdes décroît principalement après l'émission des gamètes.

Le taux de triploïdie (figure 24) reste globalement constant au cours de la période d'échantillonnage ( $83.2\% \pm 2.69$ ), indiquant qu'il y a pas eu de mortalité différentielle entre les deux classes de ploïdie.

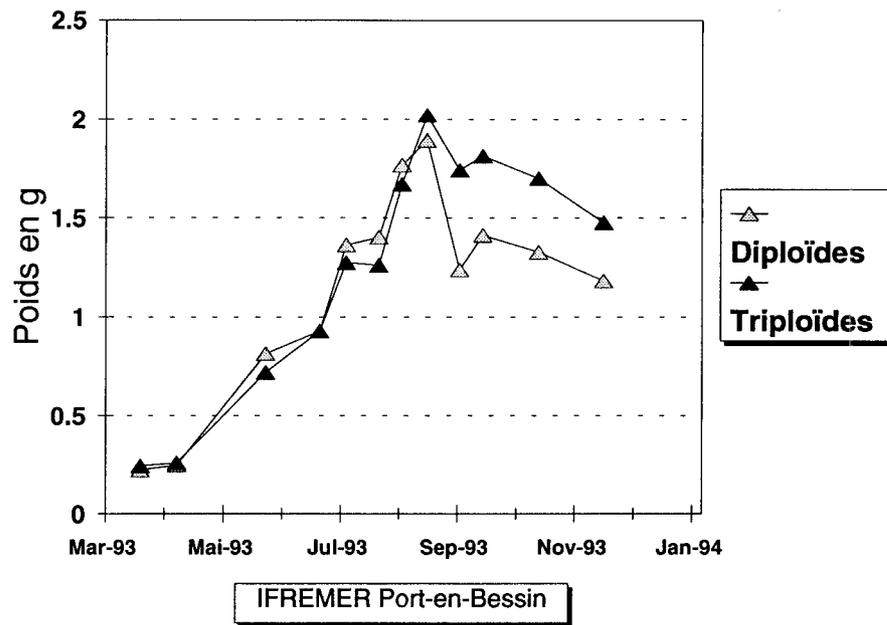
**Fig. 17 : Crassostrea gigas**  
**Evolution du poids total**



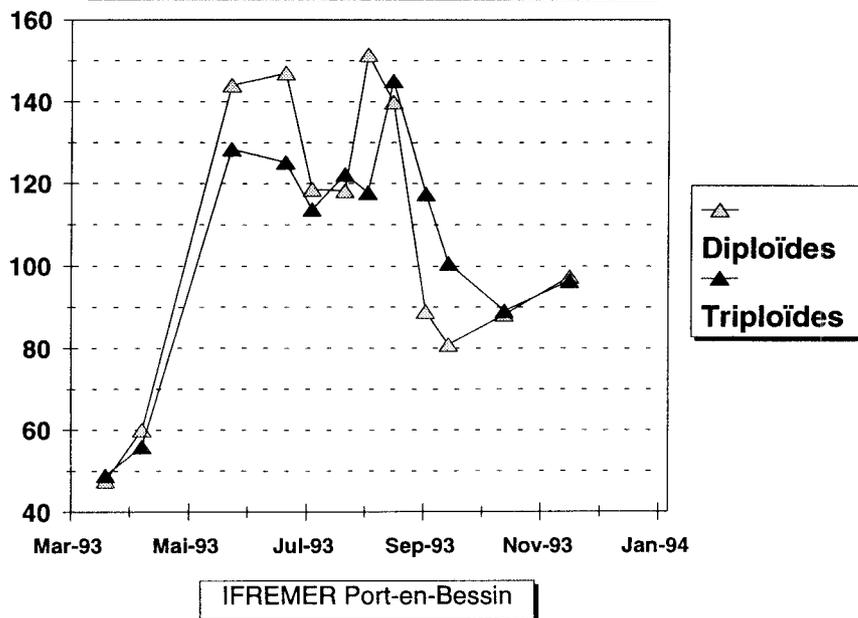
**Fig. 18 : Crassostrea gigas**  
**Evolution du poids frais de chair**



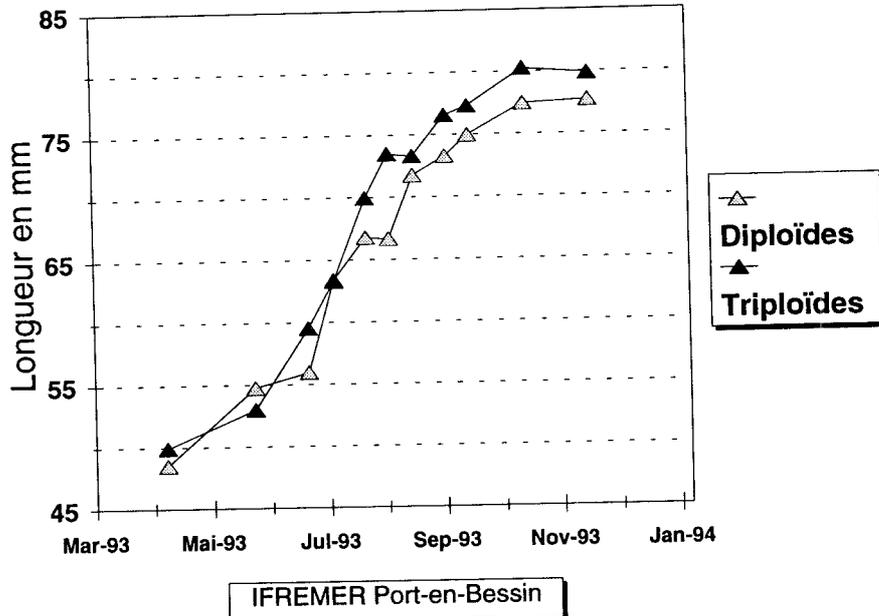
**Fig. 19 : *Crassostrea gigas*  
Evolution du poids de chair sèche**



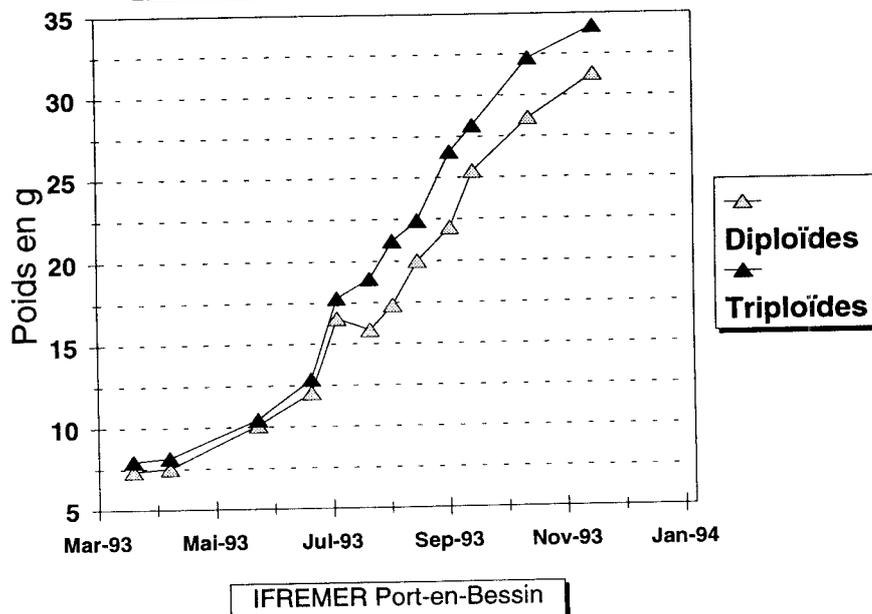
**Fig. 20 : *Crassostrea gigas*  
Evolution de l'indice de condition**



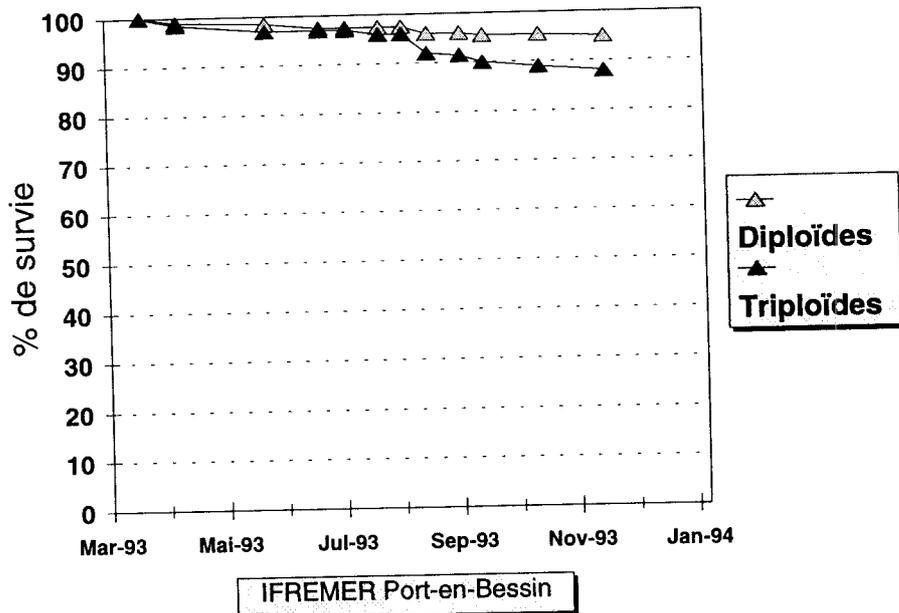
**Fig. 21 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution de la longueur**



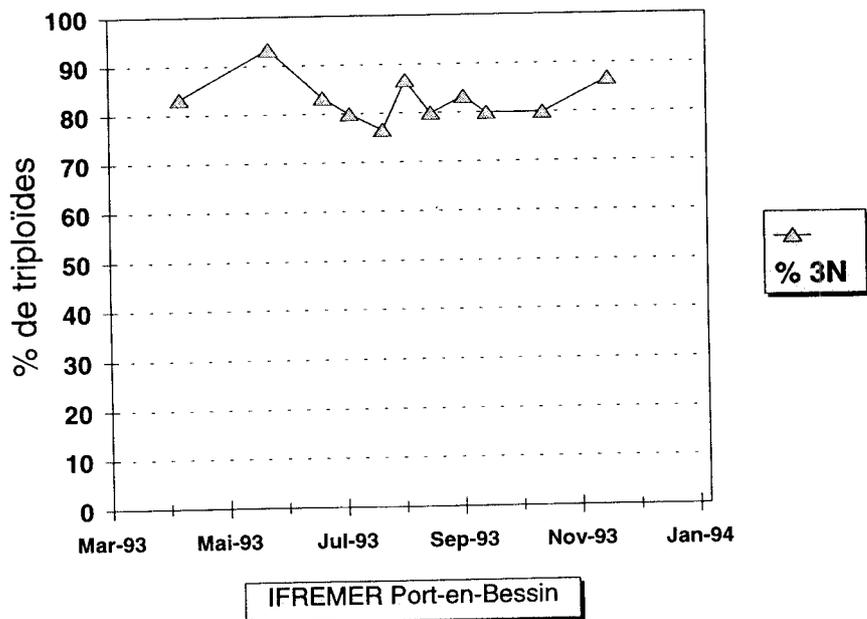
**Fig. 22 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution du poids de coquille**



**Fig. 23 : Crassostrea gigas**  
**Evolution du taux de survie**



**Fig. 24 : Crassostrea gigas**  
**Evolution du taux de triploïdes**



### **4.2.3. Bilan provisoire des contrôles à Marennes-Oléron sur estran**

#### **4.2.3.1. Choix du site d'élevage**

Le site qui a été retenu pour comparer la croissance des diploïdes et des triploïdes sur estran, est le banc de Bourgeois (figure 25). Ce banc ostréicole situé au sud du bassin de Marennes-Oléron est traditionnellement réservé au prégrossissement des huîtres. Il a donc été retenu en 1993 pour réaliser la première année du contrôle des performances biologiques.

#### **4.2.3.2. Evolution du milieu d'élevage**

Les paramètres environnementaux ont été suivis dans le cadre du réseau de suivi de milieu (REMI) réalisé par le laboratoire IFREMER de la Direction Environnement Littoral (DEL) de La Tremblade. Dans un milieu aussi sensible que celui de Marennes-Oléron, ces paramètres permettent de définir les conditions physiques dans lesquelles se sont déroulés la croissance et l'engraissement des huîtres, et, de quantifier les apports nutritifs susceptibles d'être filtrés par les mollusques en mesurant le matériel particulaire vivant ou dégradé.

Les fluctuations de la température et de la salinité, présentées dans la figure 26, montrent que les températures estivales, environ 21°C, sont restées assez basses en regard des maximas observés habituellement à Marennes-Oléron. Les salinités sont restées relativement constantes, hormis une baisse sensible de l'ordre de 7‰ en relation avec de fortes précipitations enregistrées pendant la première quinzaine d'octobre.

Les charges sestoniques minérale et organique sont présentées dans la figure 27. Le seston organique reste à peu près stable et faible toute l'année. Les charges en seston minéral reflètent parfaitement les périodes de forte agitation météorologique avec remise en suspension du sédiment (avril, septembre et novembre) et les périodes plus calmes (mai à septembre).

L'évolution des pigments (chlorophylles et phéopigments), illustrée dans la figure 28, souligne l'apparition des blooms phytoplanctoniques des mois de mai et juillet, et dans une moindre proportion celui du mois de novembre. Le rapport  $R = (\text{chloro} \times 100) / (\text{chloro} + \text{phéo})$  est supérieur à 80% du mois de mai au mois d'août, ce qui traduit un renouvellement permanent du phytoplancton et une bonne qualité trophique du milieu, mais avec des teneurs en chlorophylle conformes aux valeurs enregistrées en période de bloom sur le banc de Bourgeois ( $\pm 6 \mu\text{g/l}$ ).

#### **4.2.3.3. Evolution des paramètres biométriques.**

La croissance de l'ensemble de l'élevage a été satisfaisante comparée aux résultats obtenus sur les autres bassins (Arcachon et Normandie), mais également en regard des performances enregistrées sur le banc de Bourgeois dans le cadre du REMORA en 1992 et 1993.

Les caractéristiques biométriques sont présentées dans les figures 29 à 34. Au niveau du poids total (figure 29), excepté l'avant dernier prélèvement où il y a certainement une erreur d'échantillonnage, les performances des triploïdes se sont révélées supérieures à celles des diploïdes. Cette différence s'accroît au moment de la maturation des diploïdes à la fin du mois de juin, elle atteint **20%** lors du dernier prélèvement au mois de novembre (différence significative au seuil de 5%,  $t=2.65$ ,  $P=0.005$ ).

L'évolution du poids sec de chair et de l'indice de condition (figures 31 et 32), traduisent dans les premiers mois, une adaptation rapide des huîtres aux conditions d'élevage. La chute de l'indice au mois de juin, chez les diploïdes comme chez les triploïdes, correspond à un gain de poids de coquille supérieur au gain de poids de chair. Par contre chez les diploïdes au mois de juillet, après une légère remontée de l'indice et une nette augmentation du poids sec de chair, une chute brutale de ces deux paramètres est observée. Celle-ci est corrélée à l'émission des gamètes, observation confirmée par l'étude de la gamétogenèse réalisée par l'Université de Bretagne Occidentale (cf §§ 4.3). Cet effort de reproduction chez les diploïdes se traduit par une perte de 32% de matière sèche, effort comparable à celui enregistré plus tardivement, en Normandie. La situation des triploïdes est moins évidente, deux

diminutions du poids sec de chair sont enregistrées en août et septembre, les résultats de l'étude de la gamétogenèse ne permettent pas de les relier à des émissions gamétiques.

#### **4.2.3.4. Evolution des paramètres biochimiques.**

Les résultats des dosages des principaux constituants biochimiques sont exprimés en pourcentage du poids de chair sèche (figures 35 à 38).

Les teneurs relatives en *protéines* (figure 35) suivent l'évolution du poids de chair sèche et sont représentatives de la croissance somatique. Le pic de juillet, chez les diploïdes, traduit le développement de la gamétogenèse et la chute des pourcentages correspond à la ponte. Un phénomène analogue, un peu plus tardif, est observé chez les triploïdes, qui semble être en relation avec une légère émission gamétique.

Les fluctuations temporelles des teneurs en *lipides* (figure 36) présentent une relative simultanéité entre les diploïdes et les triploïdes. Cependant, l'amplitude des variations est beaucoup plus forte pour les témoins diploïdes. Elle doit être reliée, pendant le printemps et l'été, à la formation des gamètes puis à leur expulsion vers la fin du mois de juillet. Chez les triploïdes, les variations enregistrées sont plus faibles, non seulement en raison de la réduction de la gonadogenèse, mais également du fait de la très faible proportion d'huîtres triploïdes femelles détectée lors de l'étude de la gamétogenèse menée par l'Université de Bretagne Occidentale (figures 78 à 80). Rappelons, que la teneur en lipides des gamètes femelles est plus élevée que celle des gamètes mâles (Deslous-Paoli *et al.*, 1982; Deslous-Paoli & Héral, 1988).

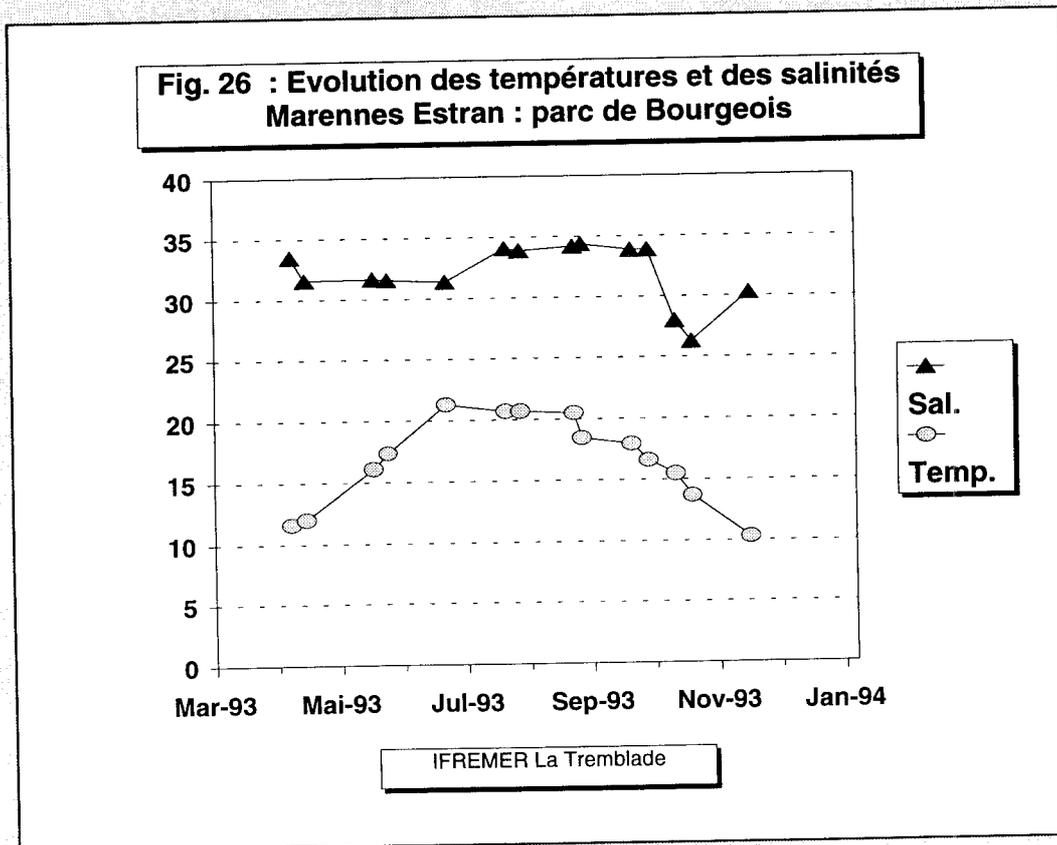
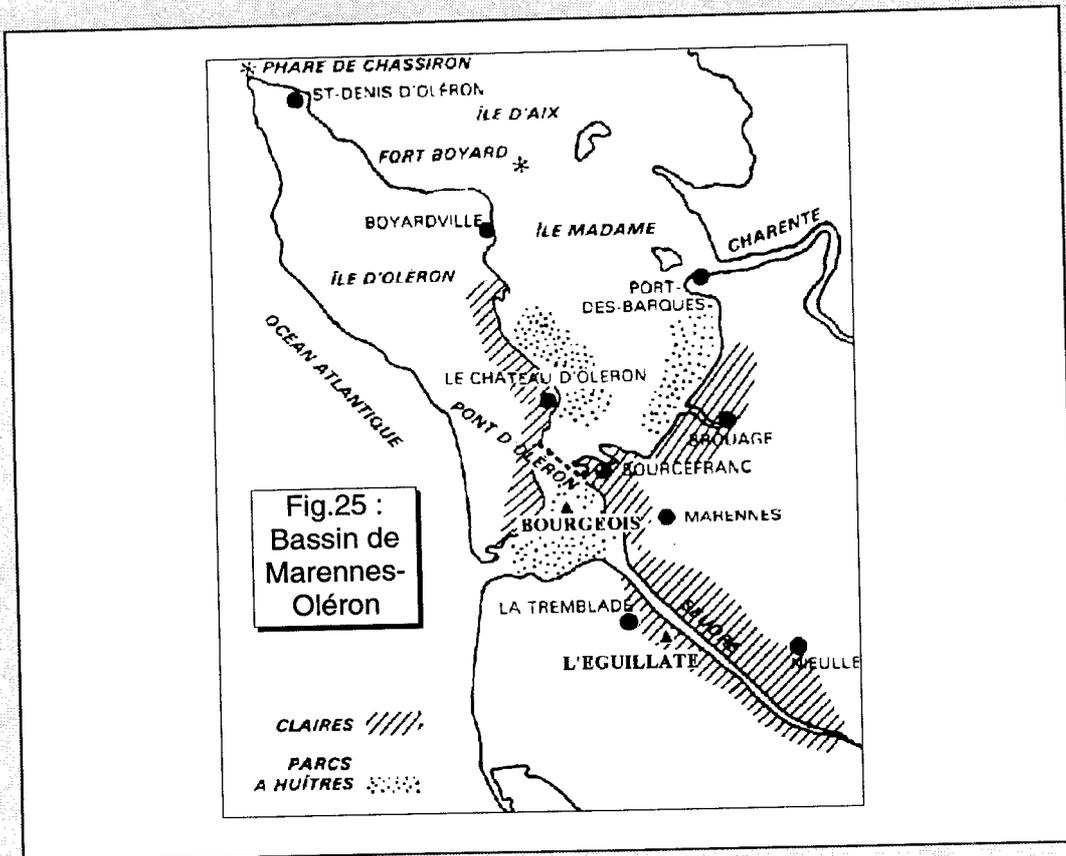
Les teneurs relatives en *glucides* et en *glycogène* sont illustrées dans les figures 37 et 38. Une chute de ces paramètres est enregistrée consécutivement à l'immersion des huîtres dans le bassin. Les réserves glucidiques, emmagasinées pendant la phase de nurserie à Bouin, sont rapidement utilisées par les huîtres diploïdes et triploïdes. Pendant la période printanière, les données enregistrées rejoignent les observations de Allen et Downing (1986), les huîtres diploïdes épuisent leurs réserves glucidiques parallèlement au développement des gamètes. A l'inverse, la réduction de la gonadogenèse chez les triploïdes, se traduit par une accumulation des glucides pendant la phase des blooms phytoplanctoniques. Toutefois, pour faire face à l'appauvrissement du milieu d'élevage pendant le mois de juillet, ces réserves sont rapidement épuisées.

Après la période de ponte, l'évolution des teneurs est sensiblement la même chez les individus diploïdes et triploïdes, elle suit les aléas des conditions de milieu qui permettent ou non l'accumulation de réserves. Les figures 39 et 40, présentant les variations des rapports glycogène/lipides et glycogène/protides, illustrent cette évolution distincte des huîtres diploïdes et triploïdes pendant la phase de maturation. Sans ces variations brutales des conditions de milieu, la teneur en glycogène chez les triploïdes aurait dû rester plus stable toute l'année (Allen et Downing, 1986).

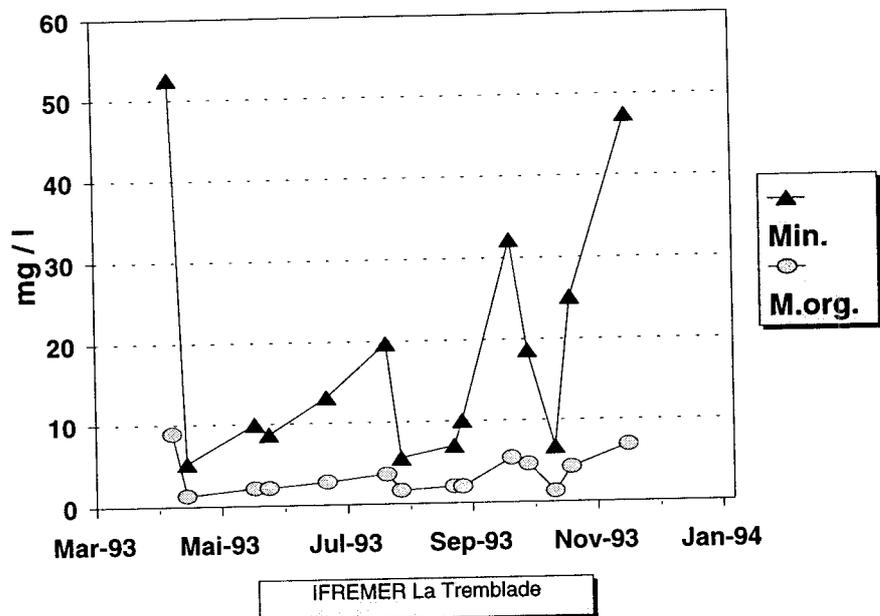
#### **4.2.3.5. Evolution des taux de survie et de triploïdie.**

Les mortalités sur estran sont restées faibles jusqu'à la période estivale (figure 41). Elles ont été significativement plus fortes chez les diploïdes en période d'émission gamétique, le bilan final en fin d'année restant en faveur du lot triploïde.

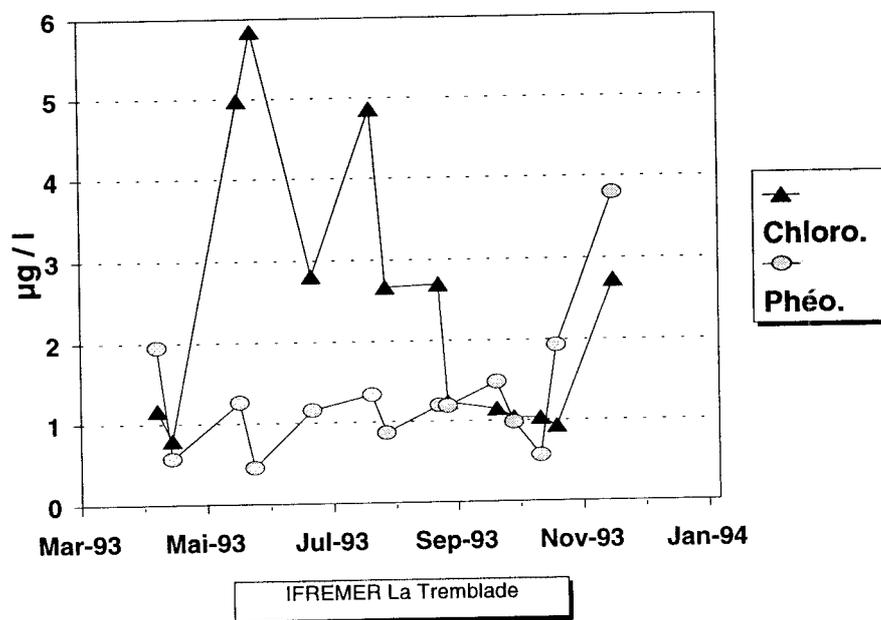
En raison de problèmes techniques rencontrés en imagerie numérique lors des deux premiers prélèvements, les huîtres du lot "triploïde" ont toutes été considérées comme étant des vrais triploïdes. Si l'on excepte ces deux échantillons, l'évolution du taux de triploïdie dans l'élevage est restée stable au cours de l'année, indiquant qu'il n'y a pas eu de mortalité différentielle entre les deux classes de ploïdie.



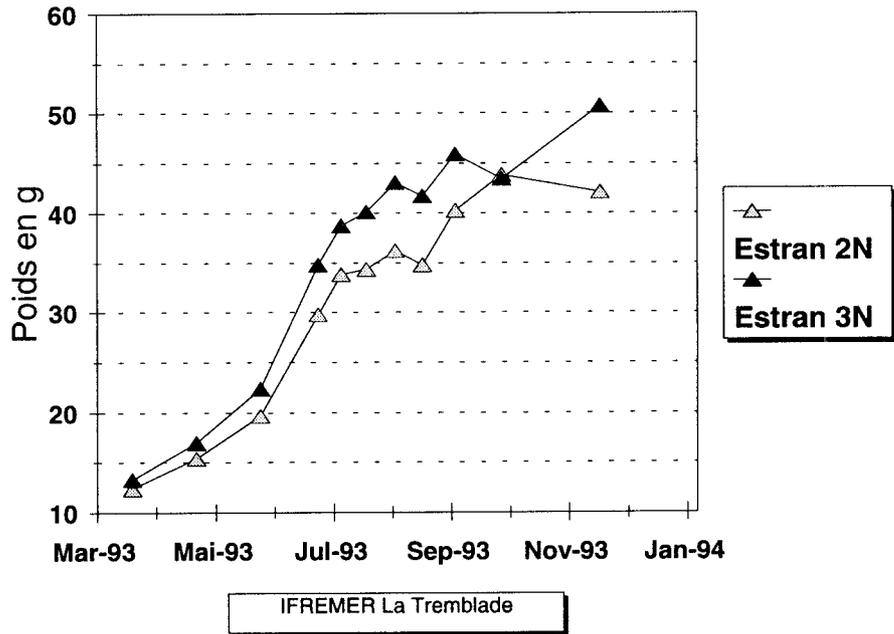
**Fig. 27 : Evolution des sestons organiques et minéraux  
Marennes Estran : parc de Bourgeois**



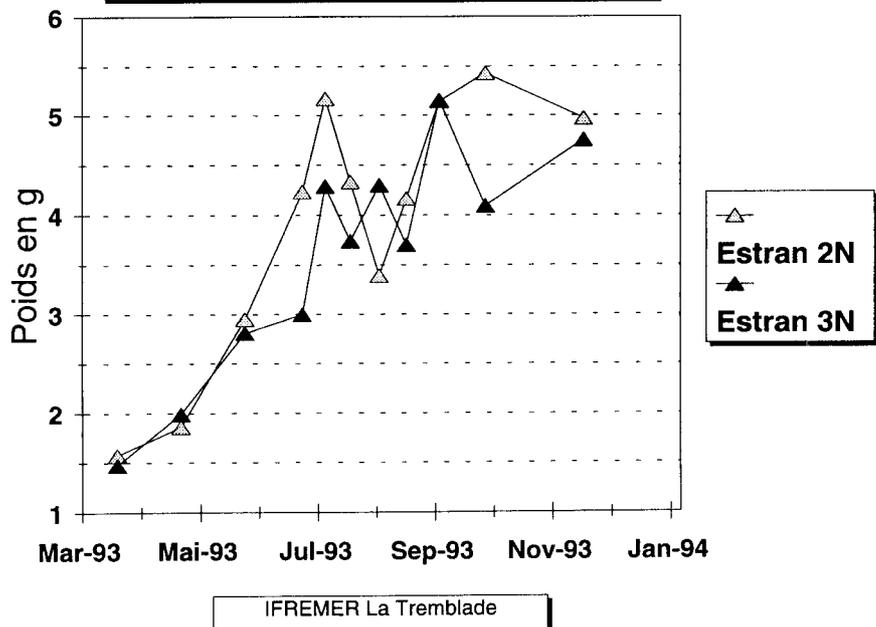
**Fig. 28 : Evolution des teneurs en chlorophylles a et phéopigments  
Marennes Estran : parc de Bourgeois**



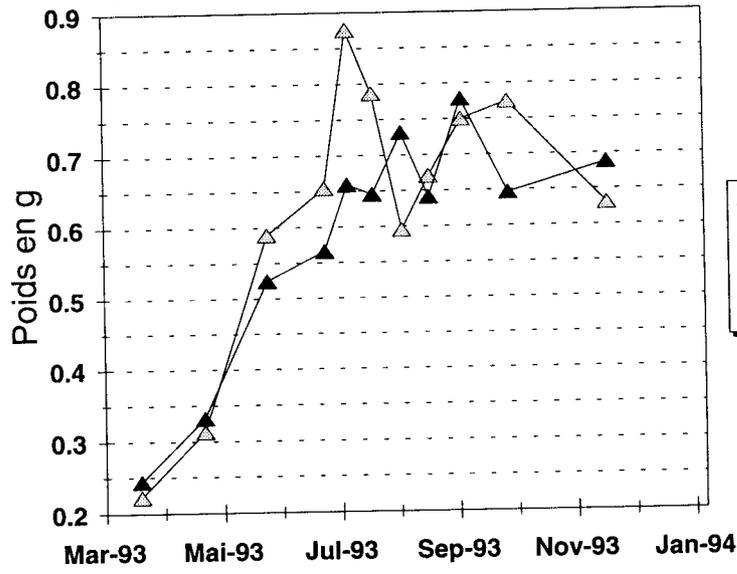
**Fig. 29 : Crassostrea gigas**  
Evolution du poids total



**Fig. 30 : Crassostrea gigas**  
Evolution du poids frais de chair



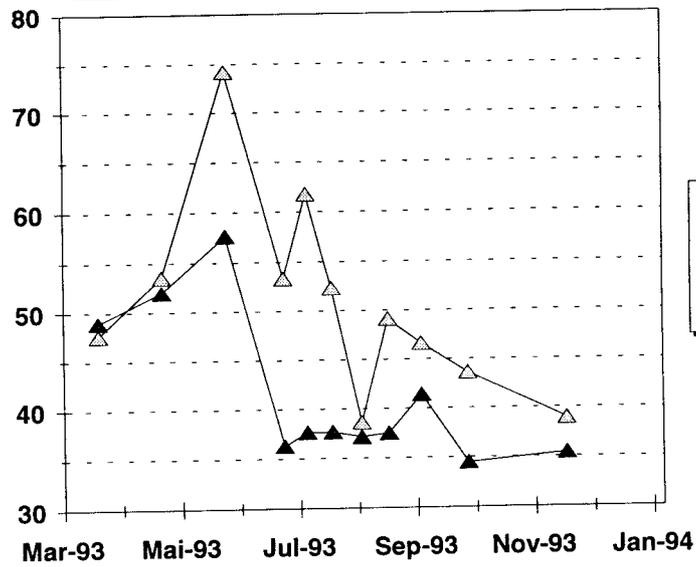
**Fig. 31 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution du poids de chair sèche**



△ Estran 2N  
 ▲ Estran 3N

IFREMER La Tremblade

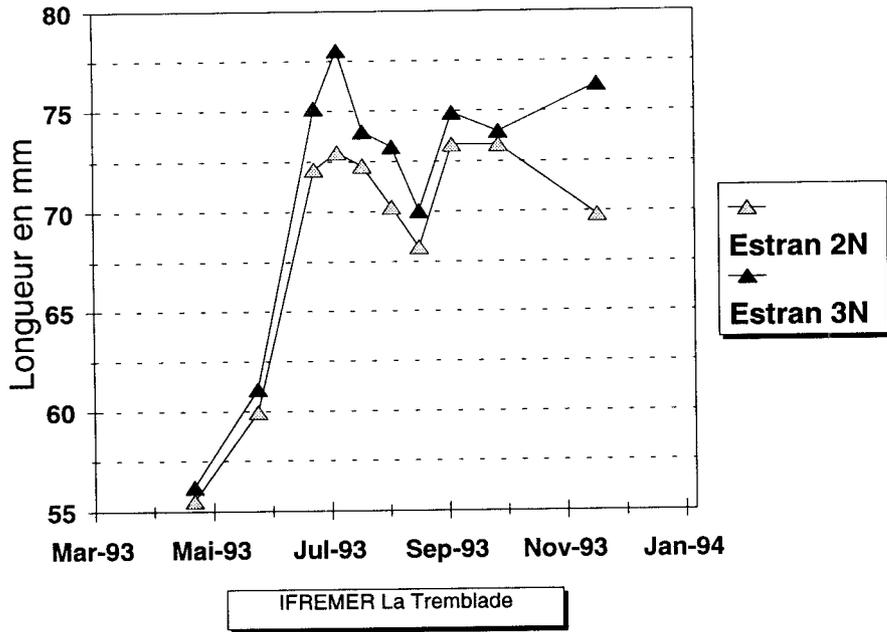
**Fig. 32 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution de l'indice de condition**



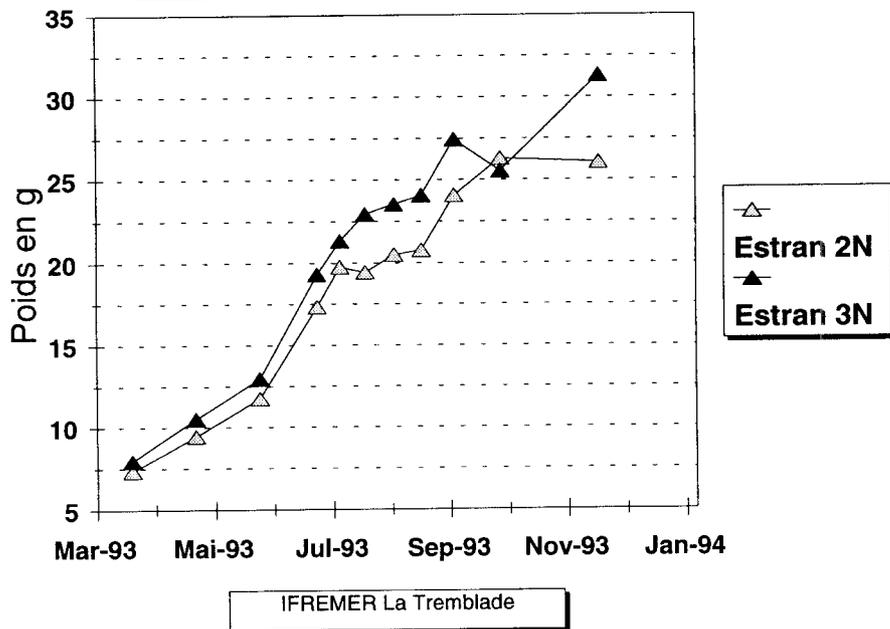
△ Estran 2N  
 ▲ Estran 3N

IFREMER La Tremblade

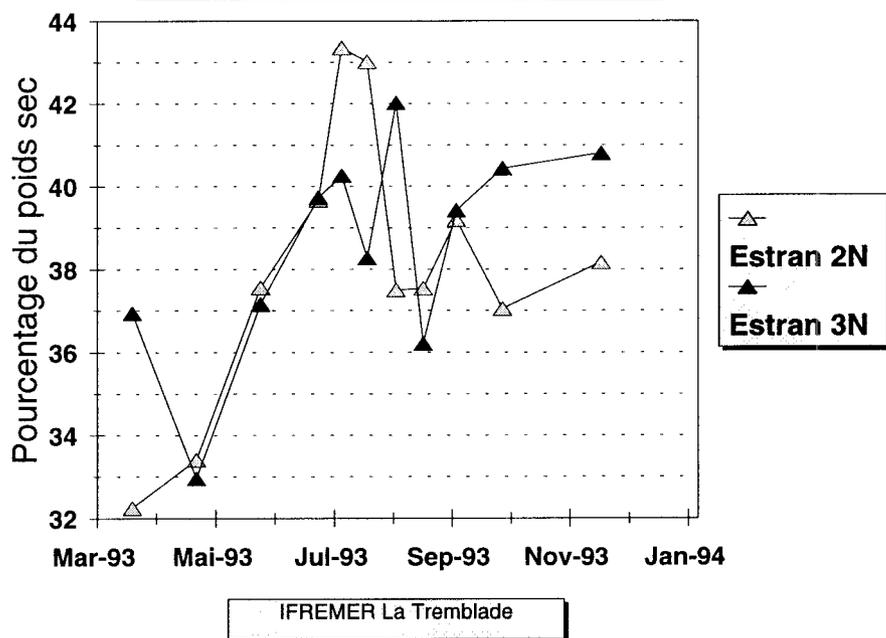
**Fig. 33 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution de la longueur**



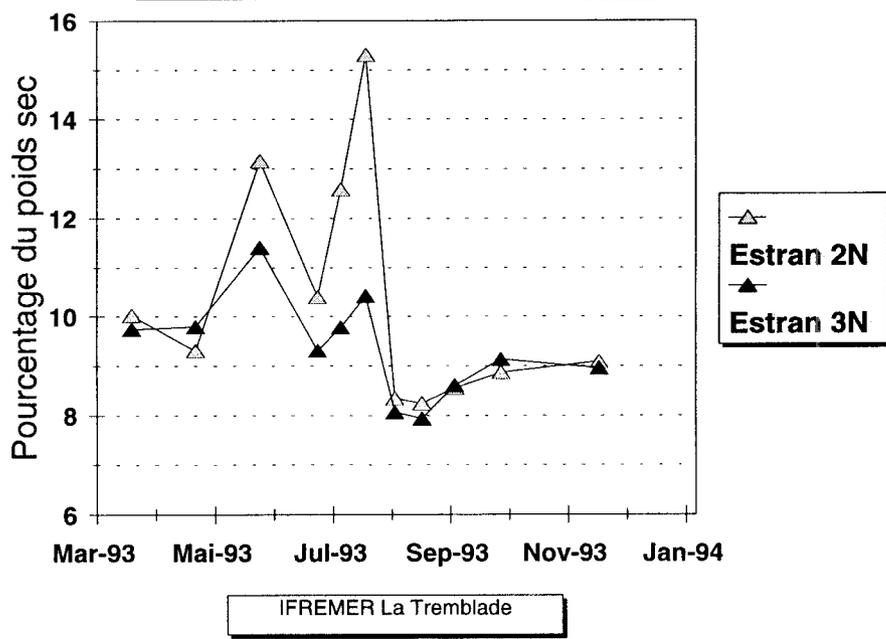
**Fig. 34 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution du poids de coquille**



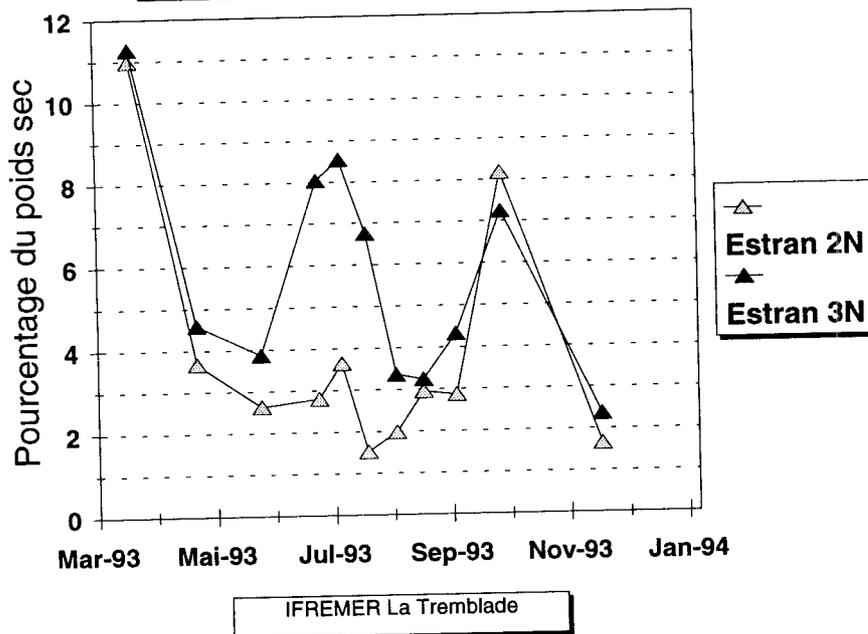
**Fig. 35 : *Crassostrea gigas*  
Evolution du taux de protides**



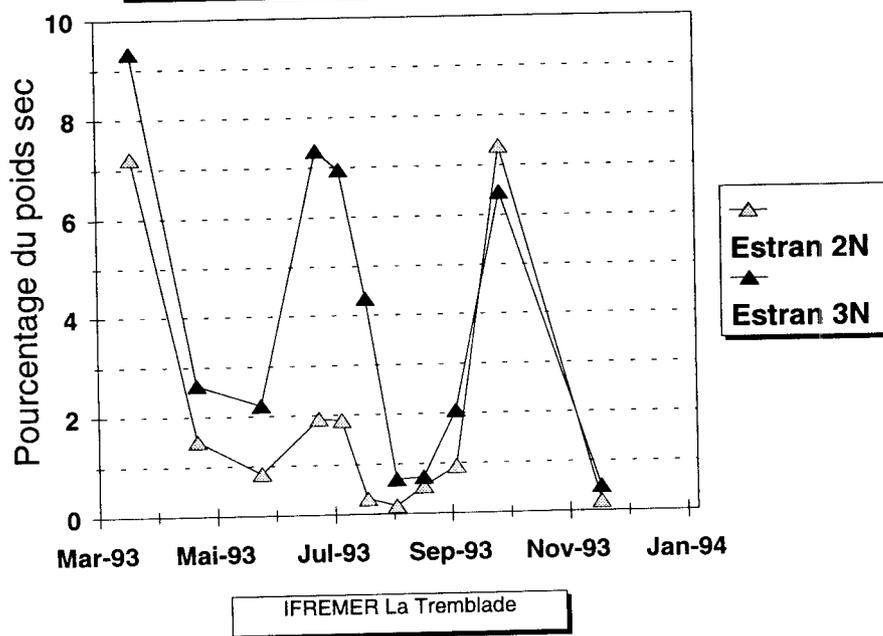
**Fig. 36 : *Crassostrea gigas*  
Evolution du taux de lipides**



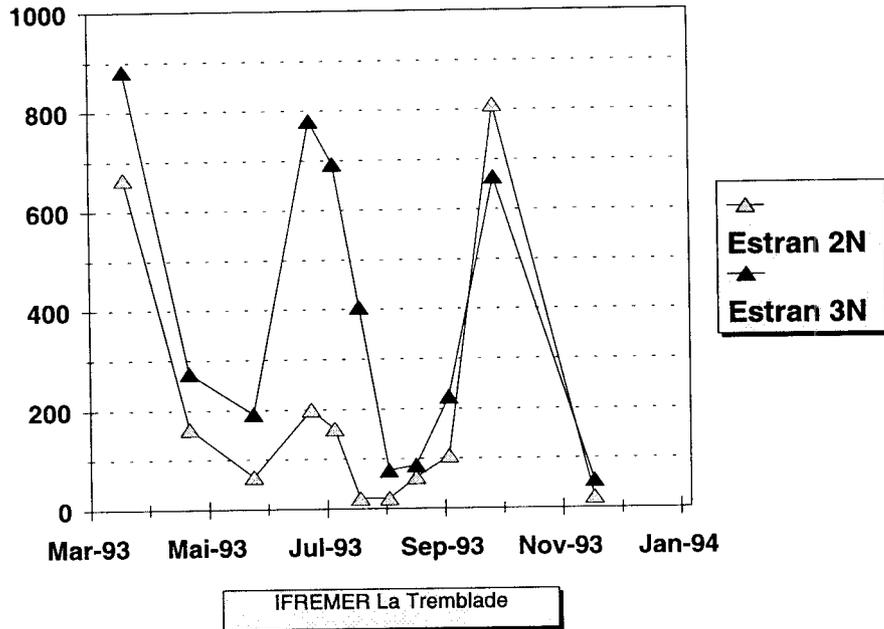
**Fig. 37 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution du taux de glucides**



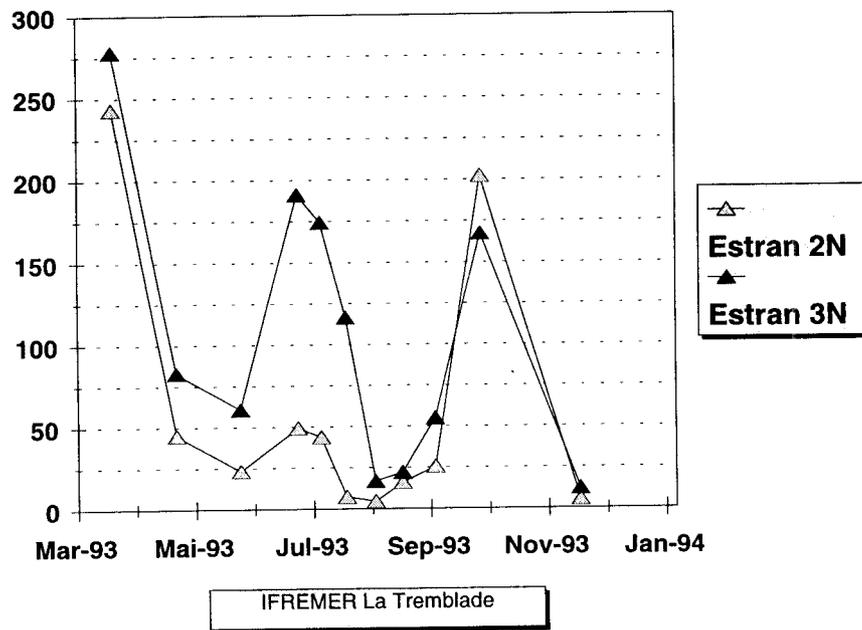
**Fig. 38 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution du taux de glycogène**



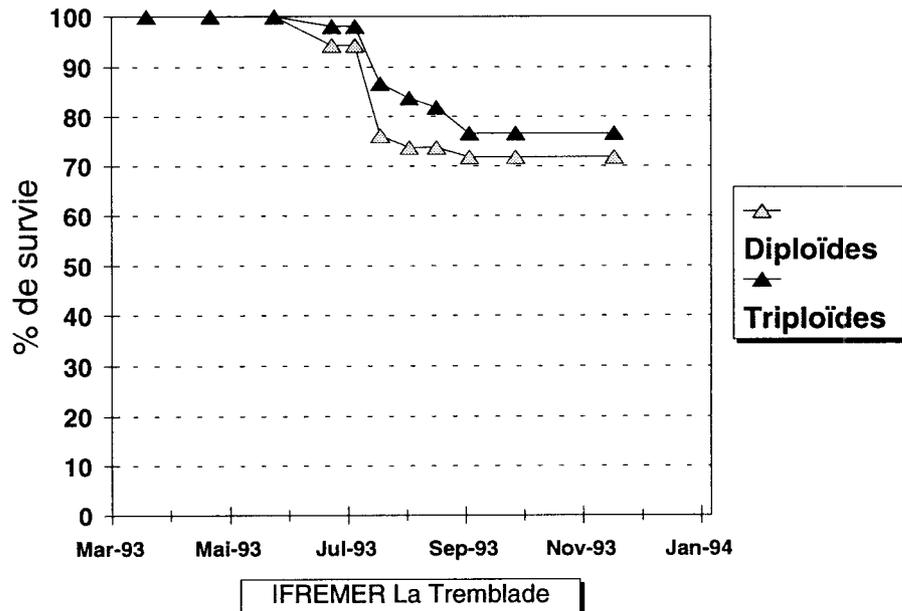
**Fig. 39 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution du rapport Glycogène/Lipides**



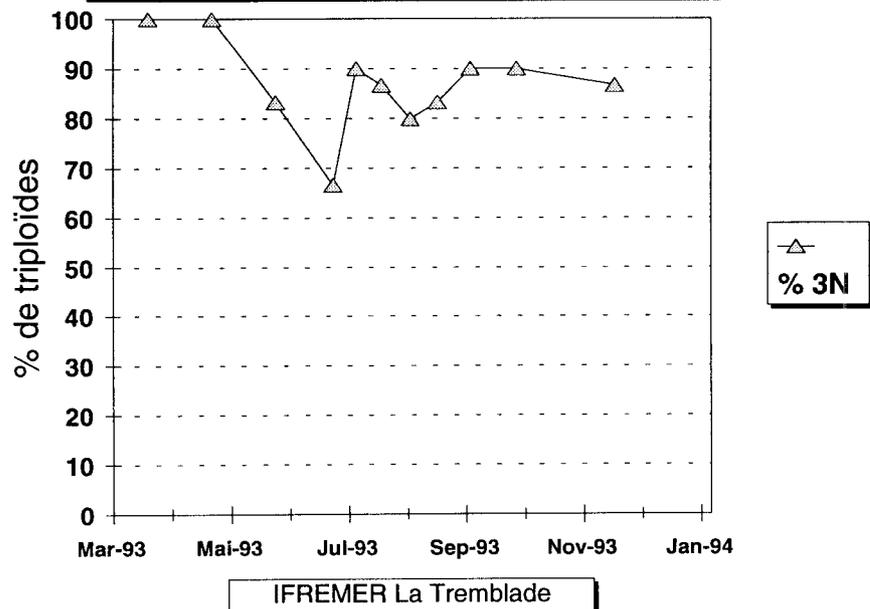
**Fig. 40 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution du rapport Glyco./Protides**



**Fig. 41 : *Crassostrea gigas*  
Evolution du taux de survie**



**Fig. 42 : *Crassostrea gigas*  
Evolution du taux de triploïdes**



## **4.2.4. Bilan provisoire des contrôles à Marennes-Oléron en claire.**

### **4.2.4.1. Choix du site d'élevage.**

L'élevage en claire, en poches ostréicoles surélevées sur table à 20 cm du sol, a été reconduit comme en 1991 à titre de comparaison avec l'élevage sur estran. Les claires expérimentales de l'IFREMER à Ronces les Bains n'étant pas encore fonctionnelles, l'élevage a été conduit dans le marais de la Section Régionale Conchylicole à l'Eguillate (figure 25).

### **4.2.4.2. Evolution du milieu d'élevage.**

Les paramètres environnementaux ont été suivis à l'occasion de prélèvements périodiques selon une fréquence de 3 à 4 jours.

Les fluctuations de la température et de la salinité traduisent une année d'ensoleillement moyen, les températures n'ayant pas excédé 25°C (figure 43). Les salinités, relativement stables entre mai et septembre, varient régulièrement entre 30‰ et 35‰. Une baisse très importante est enregistrée pendant la première quinzaine d'octobre en raison des précipitations. Cette chute de la salinité, déjà observée sur l'estran, est ici beaucoup plus intense puisqu'elle avoisine les 10‰.

Les charges sestoniques minérale et organique montrent l'importance de la partie minérale qui représente, de la fin mai à septembre, 80% en moyenne de la matière en suspension (figure 44). Le seston organique qui demeure à un niveau assez bas, augmente en mai de 2 à 4,8 mg/l parallèlement à la hausse régulière des températures et au développement des blooms phytoplanctoniques.

L'analyse biochimique de la matière organique particulaire ne révèle qu'à la fin mai, la forte hausse des teneurs en protides et glucides, et, dans une moindre proportion celles en lipides, consécutive au développement du phytoplancton (figure 46). Pendant cette même période (figure 45), le rapport  $R = (\text{chloro} \times 100) / (\text{chloro} + \text{phéo})$  est d'environ 60 à 75% ce qui caractérise un milieu riche en populations phytoplanctoniques jeunes à renouvellement permanent (Zanette, 1980). Au début du mois d'août, la baisse des teneurs moyennes en chlorophylle, de même qu'en protides et glucides particuliers traduit un appauvrissement du milieu jusqu'en octobre où des valeurs de nouveau plus fortes en pigments photosynthétiques sont enregistrées. Cependant, les phéopigments sont majoritaires, soulignant ainsi, la présence de populations phytoplanctoniques en moins bon état physiologique. A l'approche de l'hiver, les valeurs chutent pour l'ensemble des paramètres.

### **4.2.4.3. Evolution des paramètres biométriques.**

Les caractéristiques biométriques sont présentées dans les figures 47 à 52. L'évolution du poids total (figure 47) souligne que les performances des triploïdes après avoir été supérieures jusqu'au mois de septembre à celles des diploïdes, se révèlent sensiblement identiques à ces dernières à partir de cette date. A la même période, une stagnation du poids frais de chair (figure 48) est observée chez les triploïdes.

Les évolutions du poids sec et de l'indice de condition (figures 49 et 50) révèlent une période de stress nutritif entre le mois de mars et la fin mai, tant que les premiers blooms phytoplanctoniques ne sont pas apparus. Ces mauvaises conditions trophiques se traduisent par une stagnation du poids de chair sèche et par une chute de l'indice de condition. A partir de cette période, fin du printemps et début de l'été, l'augmentation de ces deux paramètres chez les diploïdes confirme une gonadogenèse supérieure des diploïdes, mais avec une maturation moins affirmée en claire que sur l'estran (figure 31). L'émission gamétique, en regard de la chute de poids sec enregistrée au mois de juillet, est de faible intensité. L'effort de reproduction se traduit chez les diploïdes par une perte minime de matière sèche: seulement 8% à comparer avec les 32% enregistrés sur estran. Il faut souligner toutefois que la phase de reproduction est perturbée par les mauvaises conditions environnementales rencontrées au mois d'août, fortes températures associées à des mauvaises conditions trophiques. En se référant à l'évolution du poids sec, l'effort de reproduction des triploïdes semble de même intensité que pour les diploïdes, alors que les paramètres biochimiques et les observations macroscopiques indiquent le contraire. Toujours chez les triploïdes, à partir du mois juillet, les variations du poids de chair sèche et

le niveau très bas de l'indice de condition traduisent une mauvaise adaptation des huîtres aux conditions de milieux.

#### **4.2.4.4. Evolution des paramètres biochimiques.**

Les résultats des dosages des principaux constituants biochimiques sont exprimés en pourcentage du poids de chair sèche (figures 53 à 58).

Une forte augmentation des teneurs relatives en *protéines* est observée entre le mois de mai et la mi-juillet, chez les diploïdes comme chez les triploïdes (figure 53). Cette progression peut être reliée à la phase de maturation gonadique, la chute enregistrée à la fin juillet correspondant à l'émission des gamètes. A l'approche de l'hiver, tout comme sur l'estran, les teneurs en protéines sont plus élevées chez les triploïdes que chez les diploïdes.

Les fluctuations des teneurs en *lipides* (figure 54) révèlent une profonde différence entre les diploïdes et les triploïdes. L'importance de la gonadogenèse chez les diploïdes se traduit par une forte augmentation printanière des teneurs en lipides suivie par une forte chute au mois de juillet au moment de l'émission des gamètes. Cette chute se poursuit au mois d'août et septembre, certainement en relation avec les mauvaises conditions hydrobiologiques, les huîtres utilisant leurs lipides et leurs glucides pour assurer leur métabolisme basal. Quand les conditions s'améliorent à partir du mois d'octobre, les teneurs remontent légèrement chez les diploïdes comme chez les triploïdes.

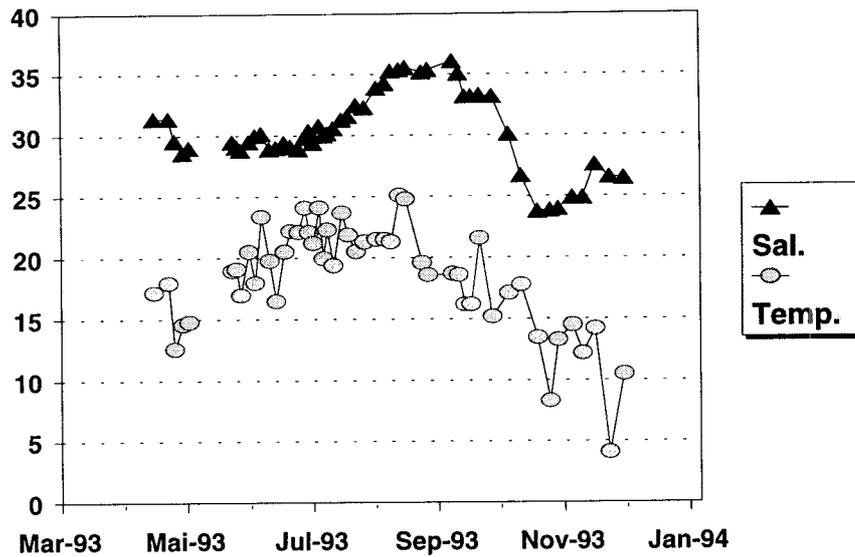
Les teneurs relatives en *glucides* et en *glycogène* (figures 55 et 56) révèlent un stress nutritif. Les réserves glucidiques accumulées dans la nurserie de Bouin sont rapidement catabolisées pour faire face au faible potentiel nutritif du début du printemps dans les claires de l'Eguillate. Cette décroissance est encore plus importante que celle enregistrée sur estran. Les teneurs en glycogène à la fin mai sont proches de 0%. Hors, comme l'ont souligné Deslous-Paoli *et al.* (1982), l'accumulation des réserves en glycogène est absolument nécessaire à la formation des produits génitaux. Les diploïdes ont d'ailleurs déjà commencé, dès la fin avril, la conversion du glycogène en pour la formation de leurs gamètes lipides (figure 54). Dès l'apparition des blooms phytoplanctoniques à la fin mai, une légère remontée des taux est enregistrée chez les diploïdes, mais comme ils poursuivent parallèlement leur gamétogenèse, ces nouvelles réserves sont rapidement épuisées. Le processus diffère chez les triploïdes: dès que le potentiel nutritif s'améliore, la réduction de la gonadogenèse se traduit par une remontée des teneurs en glucides et en glycogène. Toutefois, ces réserves sont rapidement mobilisées dès que les conditions trophiques se détériorent, à la fin juillet et en septembre.

#### **4.2.4.5. Evolution des taux de survie et de triploïdie.**

Tous les événements qui viennent d'être décrits, se répercutent au niveau des taux de survie (figure 59). Les faibles potentialités nutritives du marais au début du printemps se sont traduites par des mortalités d'environ 30% chez les diploïdes comme chez les triploïdes. En période estivale, après l'expulsion des gamètes, une mortalité de 10% est encore enregistrée. Les taux de survie diffèrent, entre les diploïdes et les triploïdes, à partir du mois de septembre. Le bilan au mois de novembre est légèrement en faveur des diploïdes, respectivement de 52.4% pour les diploïdes et de 45.7% pour le lot "triploïdes" (composé de triploïdes vrais et de diploïdes réfractaires au traitement). Ces faibles survies confirment la difficulté de maintenir en élevage des *Crassostrea gigas* en claire traditionnelle au cours de la période de reproduction.

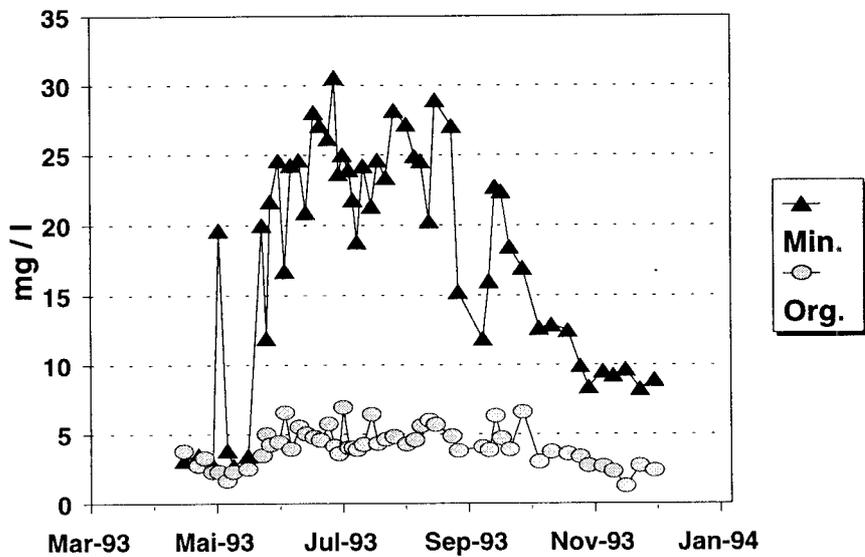
En raison de problèmes techniques rencontrés en imagerie numérique lors des deux premiers prélèvements, les huîtres du lot "triploïde" ont toutes été considérées comme étant des vrais triploïdes. Si l'on excepte ces deux échantillons, l'évolution du taux de triploïdie est restée stable autour de 80% jusqu'au mois de septembre. A partir de cette période, une mortalité différentielle est enregistrée, le taux de triploïdes chute à 57%, ce qui accentue le taux de mortalité présenté figure 59 (rappelons que le lot "triploïde" est constitué d'un mélange de triploïdes et de diploïdes réfractaires au traitement d'induction).

**Fig. 43 : Evolution des températures et des salinités  
Marennas : Claires de l'Eguillate**



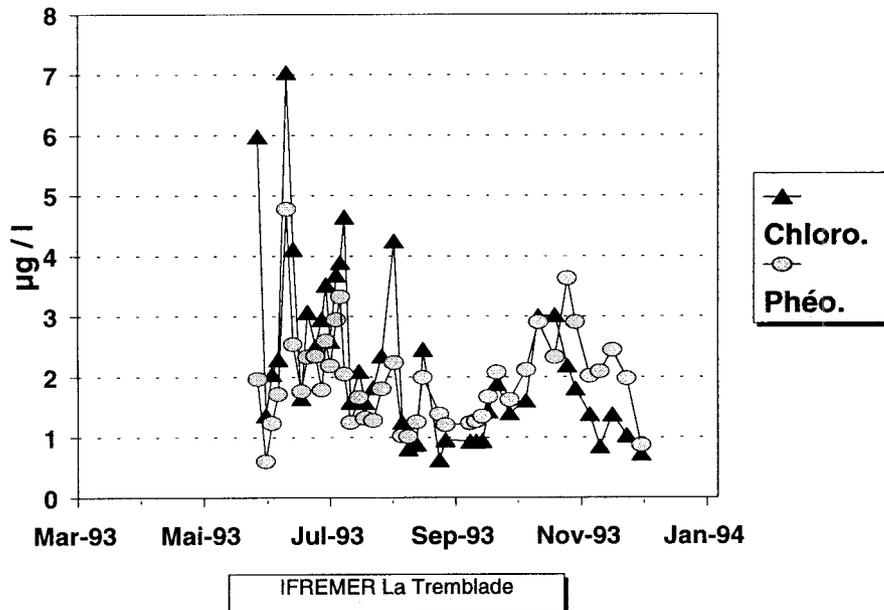
IFREMER La Tremblade

**Fig. 44 : Evolution des sestons organiques et minéraux  
Marennas : claires de l'Eguillate**

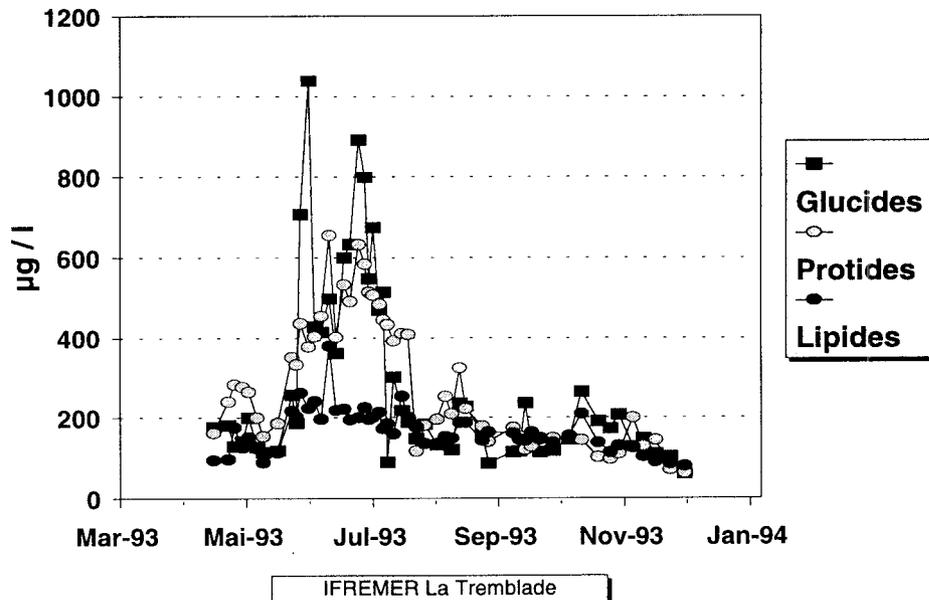


IFREMER La Tremblade

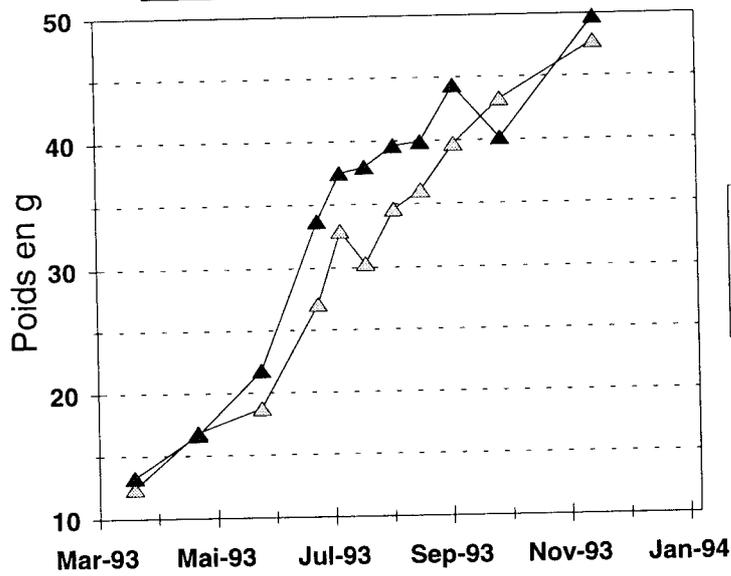
**Fig. 45 : Evolution des teneurs en chlorophylles et pheopigments  
Marennnes : claires de l'Eguillate**



**Fig. 46 : Evolution des glucides, protides, lipides particulaires  
Marennnes : claires de l'Eguillate**

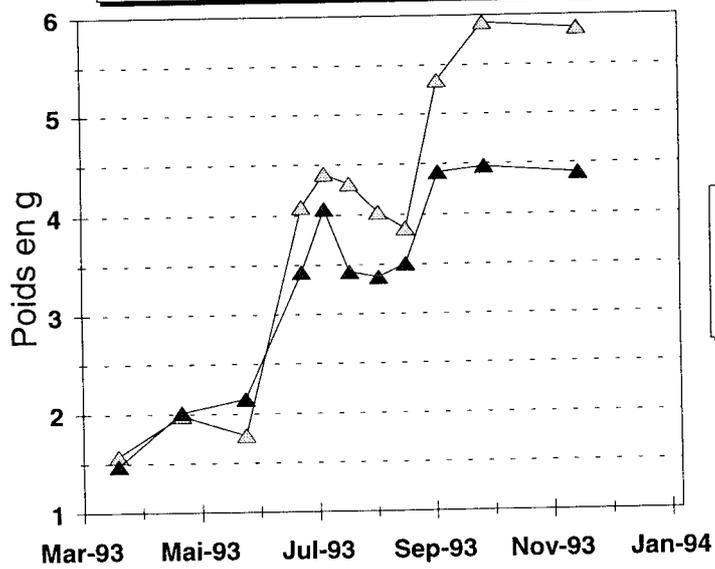


**Fig. 47 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution du poids total**



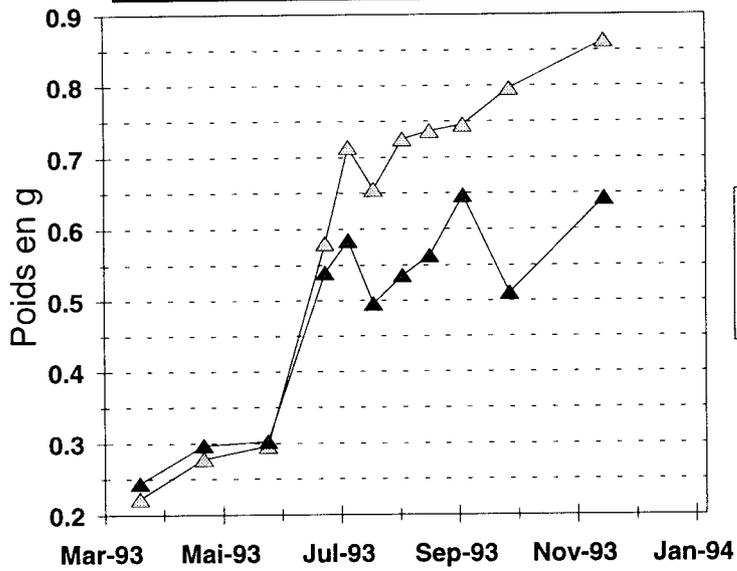
IFREMER La Tremblade

**Fig. 48 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution du poids frais de chair**



IFREMER La Tremblade

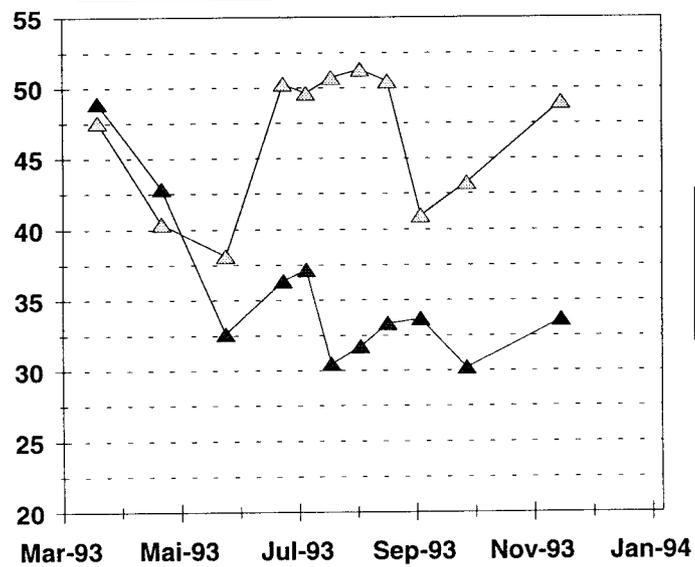
**Fig. 49 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution du poids de chair sèche**



△ Claire 2N  
 ▲ Claire 3N

IFREMER La Tremblade

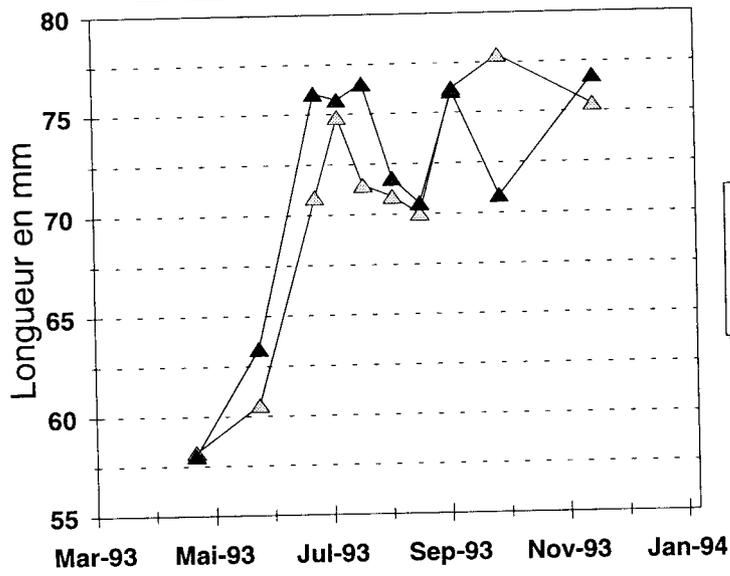
**Fig. 50 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution de l'indice de condition**



△ Claire 2N  
 ▲ Claire 3N

IFREMER La Tremblade

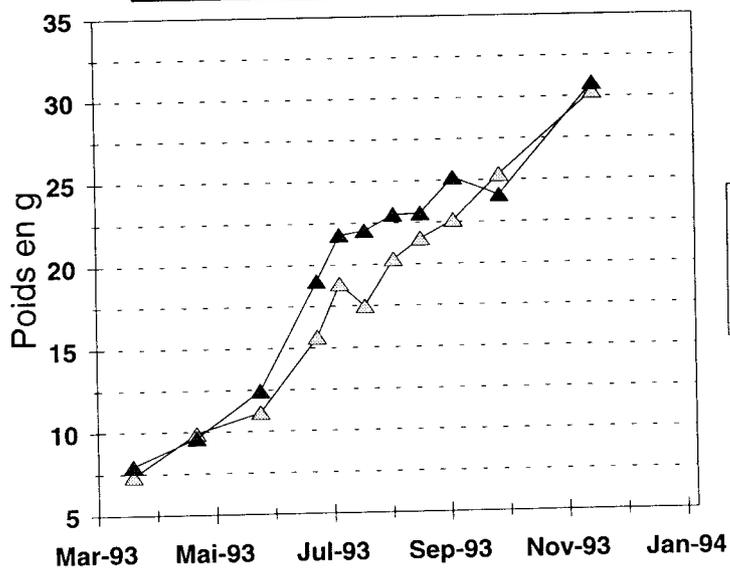
**Fig. 51 : *Crassostrea gigas*  
Evolution de la longueur**



△ Claire 2N  
▲ Claire 3N

IFREMER La Tremblade

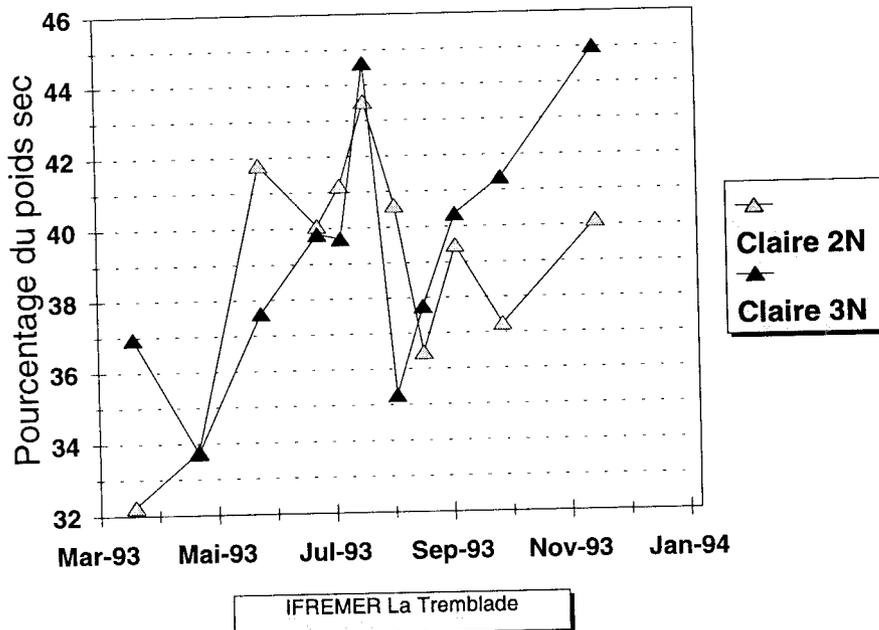
**Fig. 52 : *Crassostrea gigas*  
Evolution du poids de coquille**



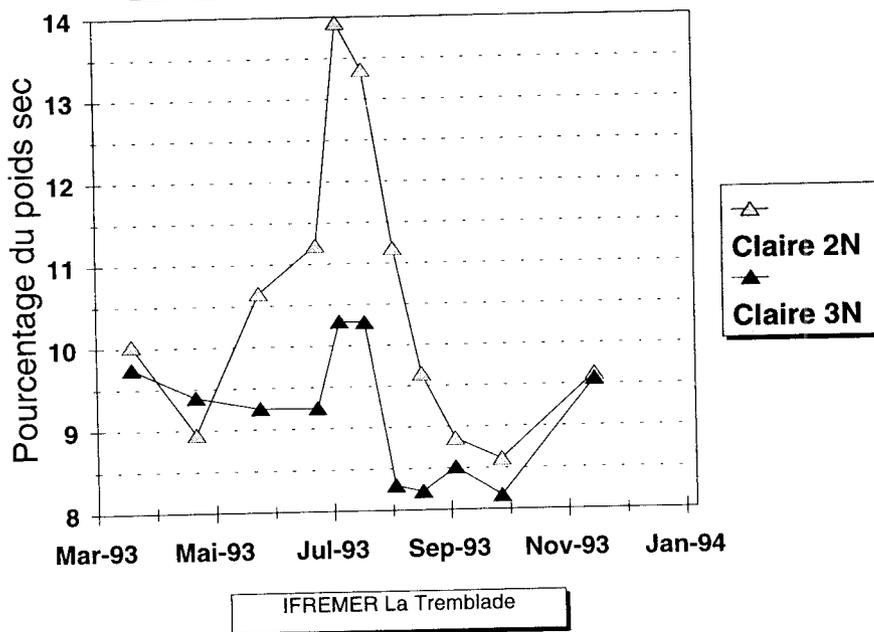
△ Claire 2N  
▲ Claire 3N

IFREMER La Tremblade

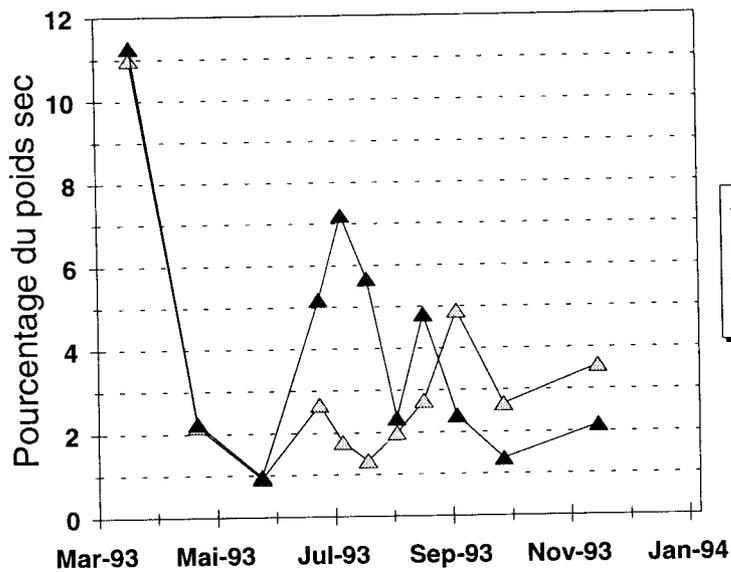
**Fig. 53 : *Crassostrea gigas*  
Evolution du taux de protides**



**Fig. 54 : *Crassostrea gigas*  
Evolution du taux de lipides**

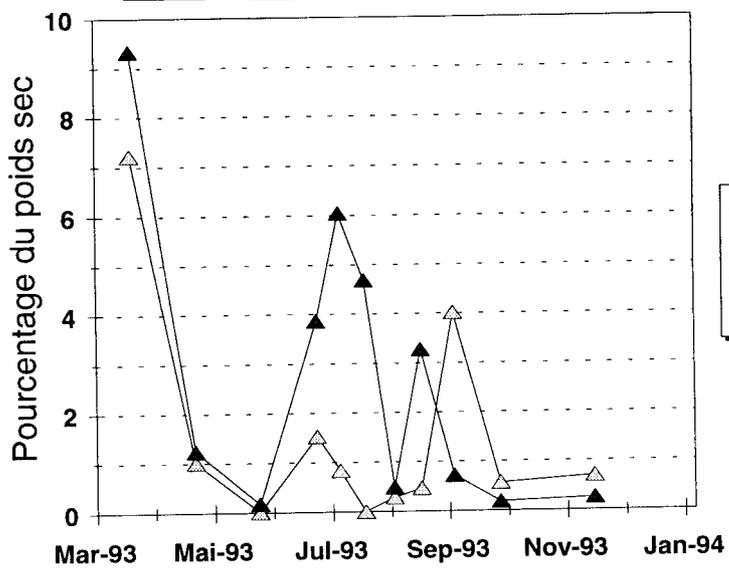


**Fig. 55 : *Crassostrea gigas*  
Evolution du taux de glucides**



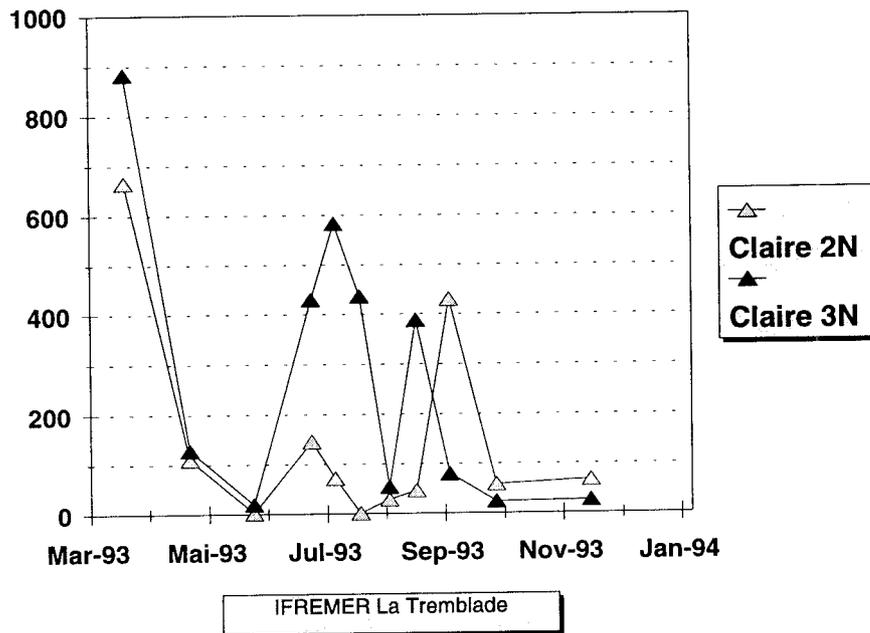
IFREMER La Tremblade

**Fig. 56 : *Crassostrea gigas*  
Evolution du taux de glycogène**

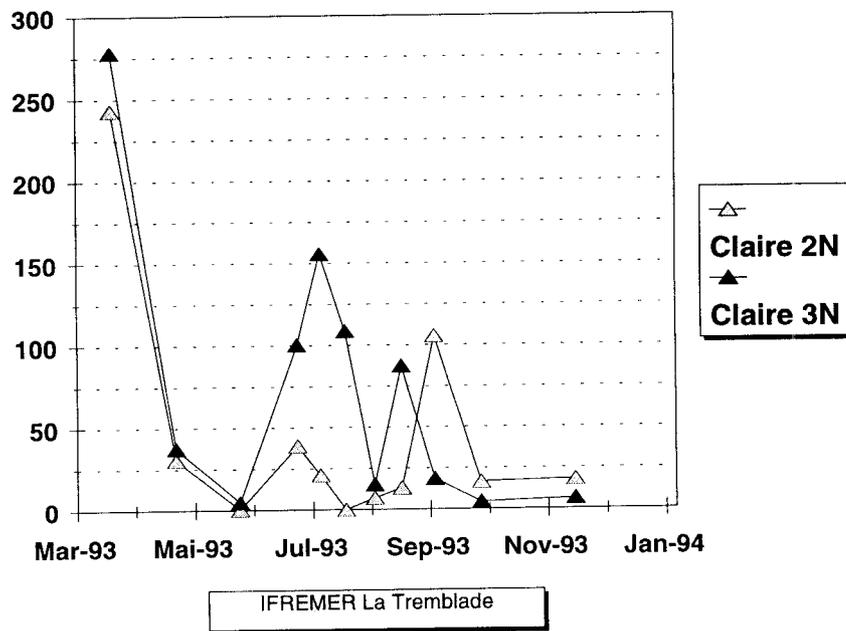


IFREMER La Tremblade

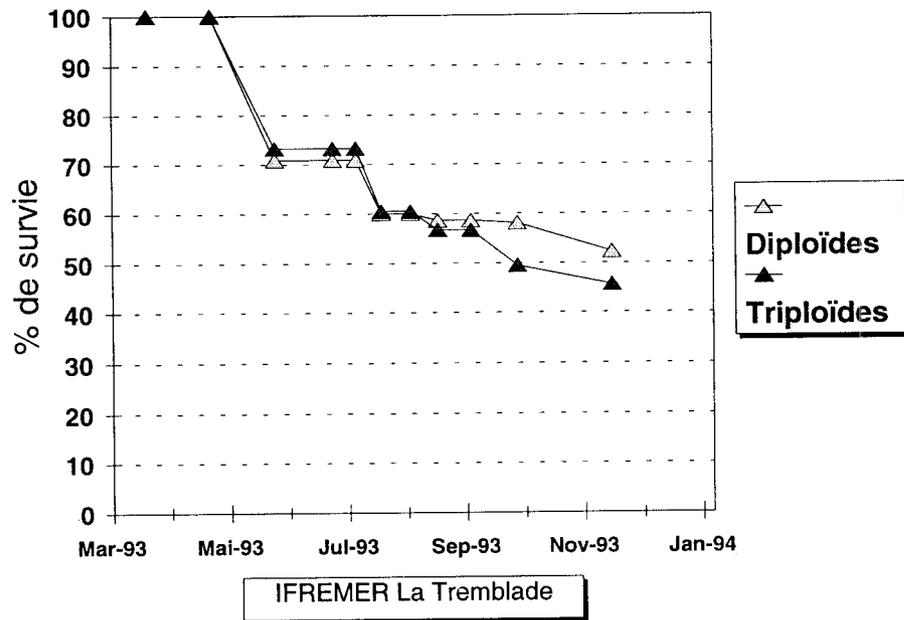
**Fig. 57 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution du rapport Glycogène/Lipides**



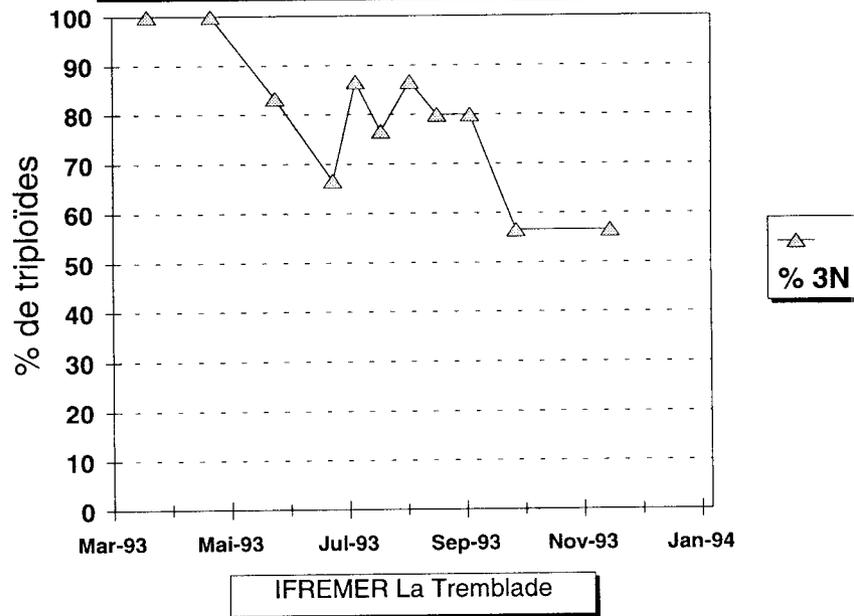
**Fig. 58 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution du rapport Glyco./Protides**



**Fig. 59 : *Crassostrea gigas*  
Evolution du taux de survie**



**Fig. 60 : *Crassostrea gigas*  
Evolution du taux de triploïdes**



## **4.2.5. Bilan provisoire des contrôles à Arcachon.**

### **4.2.5.1. Site d'élevage.**

Deux populations d'huîtres *Crassostrea gigas*, 1500 triploïdes et 1500 diploïdes, ont été immergées le 22 mars 1993, sur un parc du Tes situé en une zone intermédiaire du Bassin d'Arcachon. Ce secteur est baigné par des eaux néritiques externes, c'est-à-dire sous influence océanique, et présente des performances de croissance moyennes pour *C. gigas*. Le parc découvre environ 2 h par coefficient de marée de 70 et par beau temps.

### **4.2.5.2. Evolution des paramètres biométriques.**

Les caractéristiques biométriques sont présentées dans les figures 61 à 66, la morphologie interne des huîtres en période de maturation est illustrée dans les photos 1 et 2.

Dès le mois de juillet, les triploïdes présentent des performances biométriques supérieures à celles des diploïdes, pour l'ensemble des paramètres. En particulier, les poids totaux (figure 61) des huîtres triploïdes passent de 16.8 g à 58.9 g à la mi-novembre contre 15.5 g à 46.6 g pour les huîtres diploïdes. Cette différence de 26% en faveur des triploïdes est statistiquement significative au seuil de 1% ( $t=3.97$ ,  $P=0.0001$ ).

Les évolutions des poids frais et surtout des poids de chair sèche (figures 62 et 63) traduisent dans les deux premiers mois, une adaptation rapide des huîtres diploïdes et triploïdes aux conditions d'élevage. Dès la fin mai, les développements diffèrent entre les deux classes de ploïdie. Chez les diploïdes, une forte augmentation de l'indice de condition (figure 64) et de la teneur en matière sèche est enregistrée en relation avec la gamétogenèse. Cette phase est suivie par une brusque diminution pendant le mois de juillet, corrélée avec l'émission des gamètes. Cet effort de reproduction se manifeste par une perte de matière sèche de 30%, effort comparable à celui observé plus tardivement en Normandie et à Marennes-Oléron sur l'estran. Pendant la même période, chez les triploïdes, une augmentation similaire du poids de chair sèche est enregistrée. L'indice de condition quant à lui, a tendance à stagner. L'émission de "gamètes", nettement moins intense, se déroule au mois d'août. Après cette période de ponte, la quantité de matière sèche demeure beaucoup plus élevée chez les triploïdes, pour un indice de condition légèrement inférieur.

Hormis la période de maturation et par comparaison avec les résultats obtenus en Normandie, l'indice de condition de Lawrence et Scott ne présente pas de valeurs très élevées pour les deux populations, passant d'environ 25 en début d'élevage à 35 en fin d'expérimentation.

### **4.2.5.3. Evolution des taux de survie et de triploïdie**

Les taux de survie à la fin de l'expérience (figure 67) sont en faveur des témoins diploïdes non traités. Ils sont de 84.4% pour le lot "triploïde" comprenant un mélange de triploïdes vrais et de diploïdes réfractaires au traitement, et de 88.7% pour le témoin diploïde non traité. Pour les premiers, ce taux était déjà de 14 % en avril, alors que pour les seconds, les mortalités se sont réparties à peu près régulièrement au cours de l'élevage.

Excepté pour le prélèvement du mois de juillet où le taux de triploïdes chute à 80%, le pourcentage de triploïdes dans les prélèvements reste stable, entre 86 et 97% toute l'année, indiquant qu'il n'y a pas eu de mortalité différentielle entre les deux types de ploïdie.

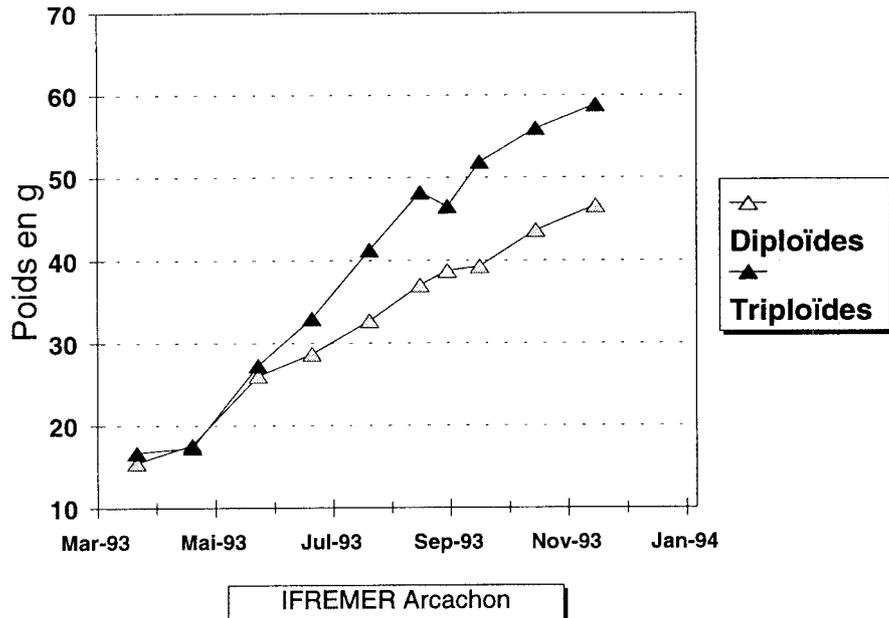


Photo 1 : Huître diploïde prélevée à Arcachon pendant la période estivale, révélant un fort développement gonadique.

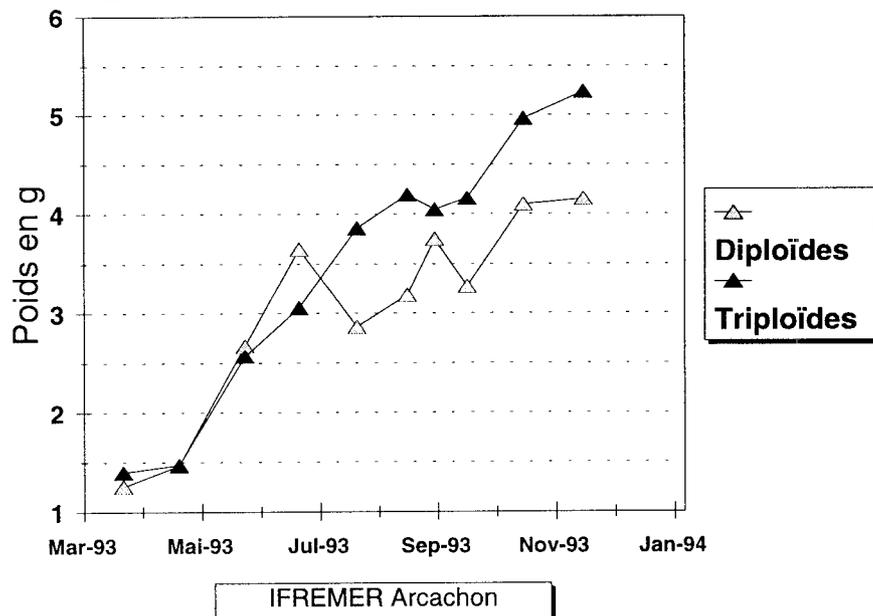


Photo 2 : Huître triploïde prélevée à Arcachon pendant la période estivale, montrant l'absence de développement gonadique et, une masse musculaire plus importante.

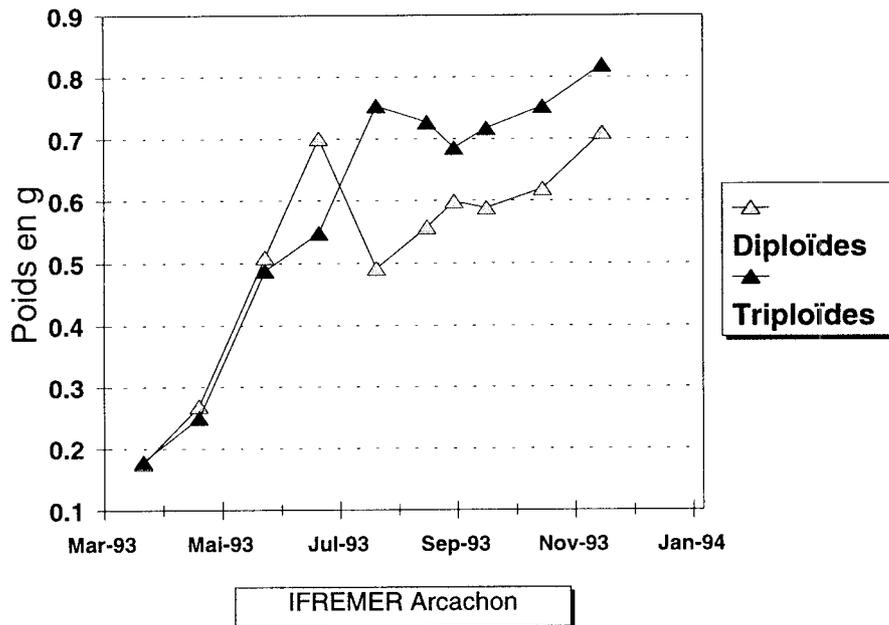
**Fig. 61 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution du poids total**



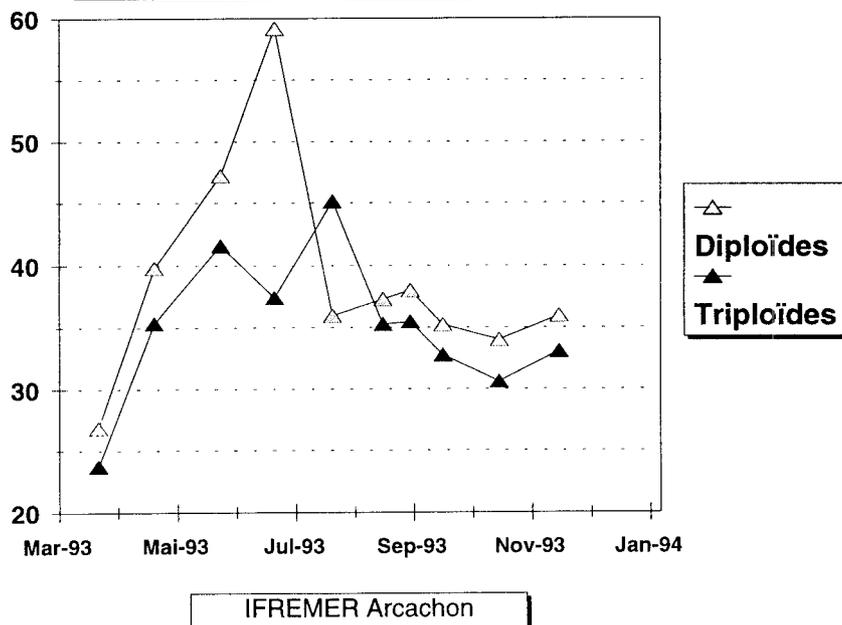
**Fig. 62 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution du poids frais de chair**



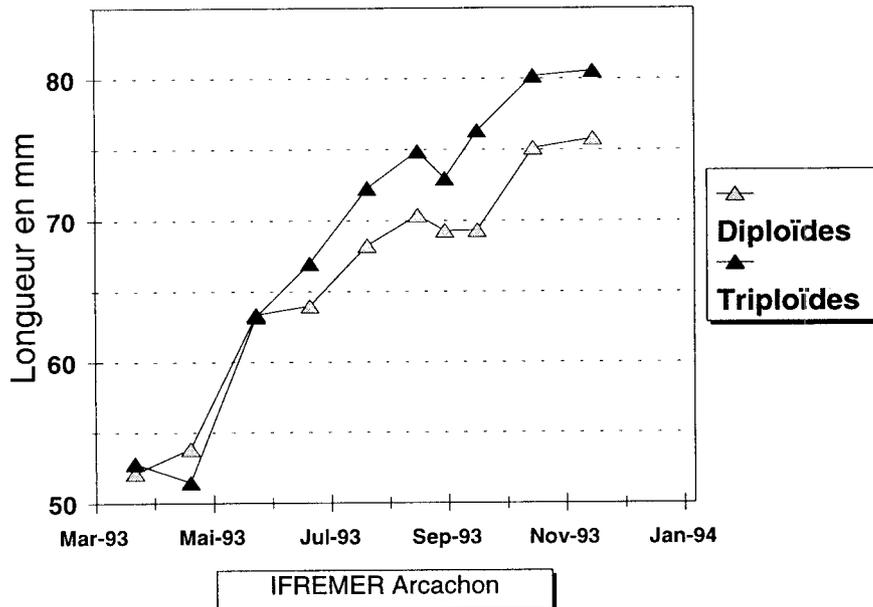
**Fig. 63 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution du poids de chair sèche**



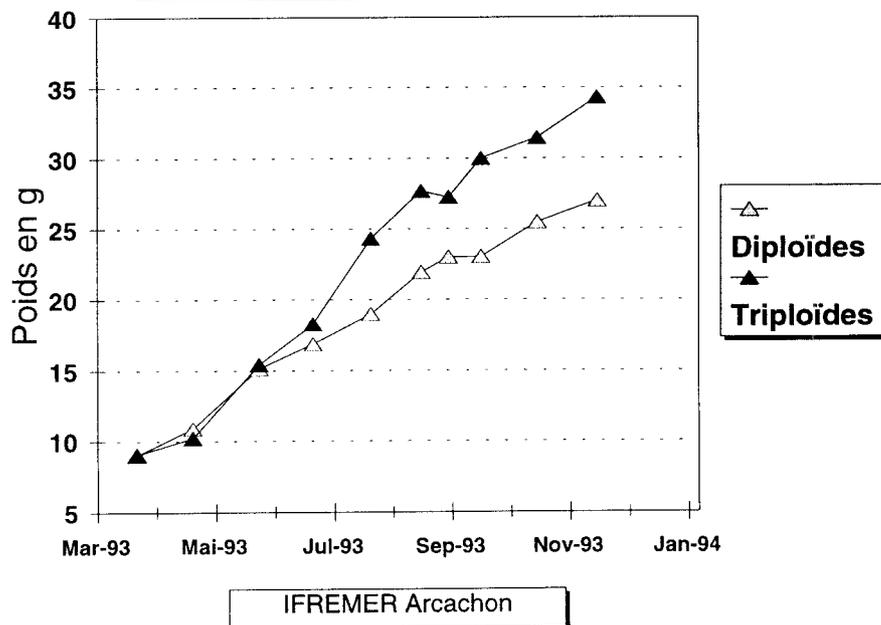
**Fig. 64 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution de l'indice de condition**



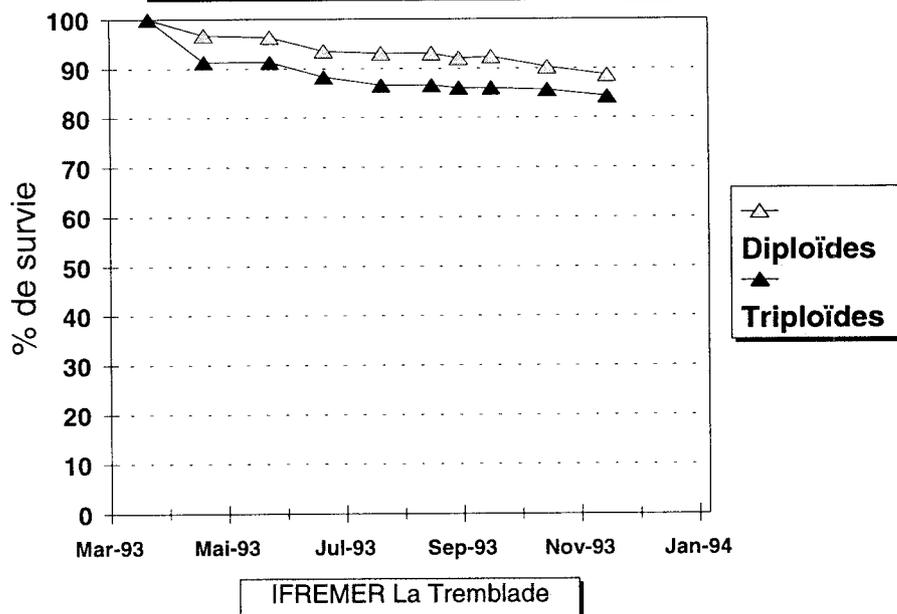
**Fig. 65 : *Crassostrea gigas*  
Evolution de la longueur**



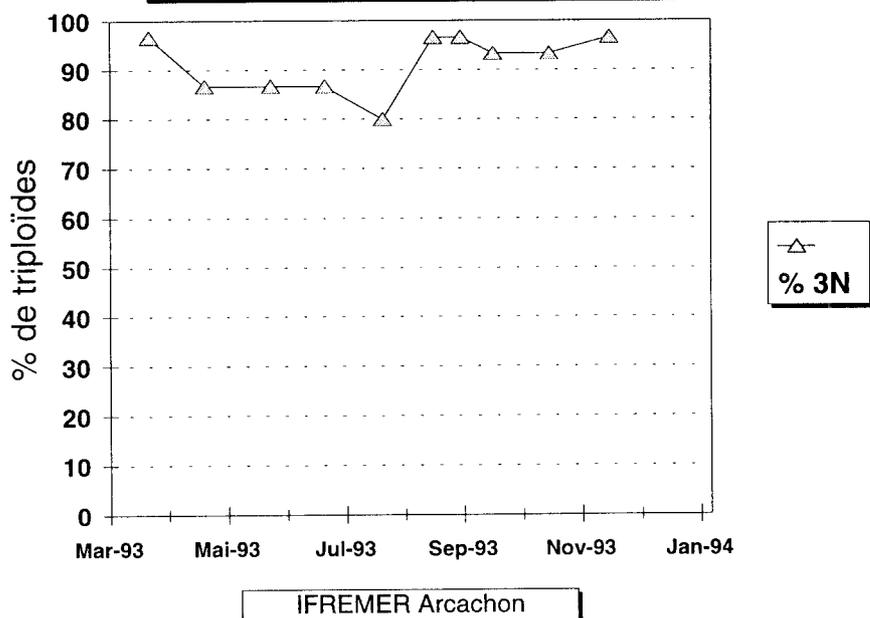
**Fig. 66 : *Crassostrea gigas*  
Evolution du poids de coquille**



**Fig. 67 : *Crassostrea gigas*  
Evolution du taux de survie**



**Fig. 68 : *Crassostrea gigas*  
Evolution du taux de triploïdes**



## **4.2.6. Bilan provisoire des contrôles à Palavas.**

### **4.2.6.1. Site d'élevage.**

L'élevage s'est déroulé sur le même site que pour *Ostrea edulis*, sur la concession des Aresquiers, par 23 mètres de fond, en poches ostréicoles disposées sur des conteneurs Michel Frères reconditionnés (figure 69).

Hormis quelques brefs pics estivaux, les températures au voisinage du fond sont restées modérées. Elles ont oscillé entre 8 et 9°C en hiver et 13 et 19°C en été (figure 70). La fin de l'été et l'automne ont été marqués par de fortes précipitations qui ont entraîné une forte turbidité.

### **4.2.6.2. Evolution des paramètres biométriques.**

Les caractéristiques biométriques sont présentées dans les figures 71 à 76.

L'évolution du poids total (figure 71) souligne la supériorité des triploïdes à partir du mois de juillet, période qui correspond à la fin de la maturation gonadique des huîtres diploïdes. Lors du dernier prélèvement, les triploïdes atteignent un poids total de  $73 \pm 8$ g et les diploïdes un poids total de  $64 \pm 6$ g, soit une différence de **16.6%** en faveur des triploïdes, mais cette différence n'est pas statistiquement significative au seuil de 5% ( $t=1.59$ ,  $P=0.058$ ).

Les évolutions du poids de chair sèche et de l'indice de condition de Lawrence-Scott (figures 73 et 74) montrent une adaptation des huîtres aux conditions de milieu durant le premier mois. L'impact de la gonadogenèse chez les diploïdes se fait ressentir dès le mois de mai, l'évolution du poids de chair sèche et le contrôle macroscopique de la gonadogenèse révèlent une double phase de maturation et d'émission de gamètes. La deuxième phase, très tardive, au mois de septembre et d'octobre, est à relier aux fortes températures de l'eau de mer enregistrées durant cette période. Chez les triploïdes, les variations du poids de chair sèche sont insuffisantes pour être corrélées à une gonadogenèse et à une émission gamétique. A partir du mois de juillet, les fortes décroissances de l'indice de condition, pour les triploïdes comme pour les diploïdes, intègrent en même temps l'impact des dégradations des conditions de milieu et du cycle de reproduction.

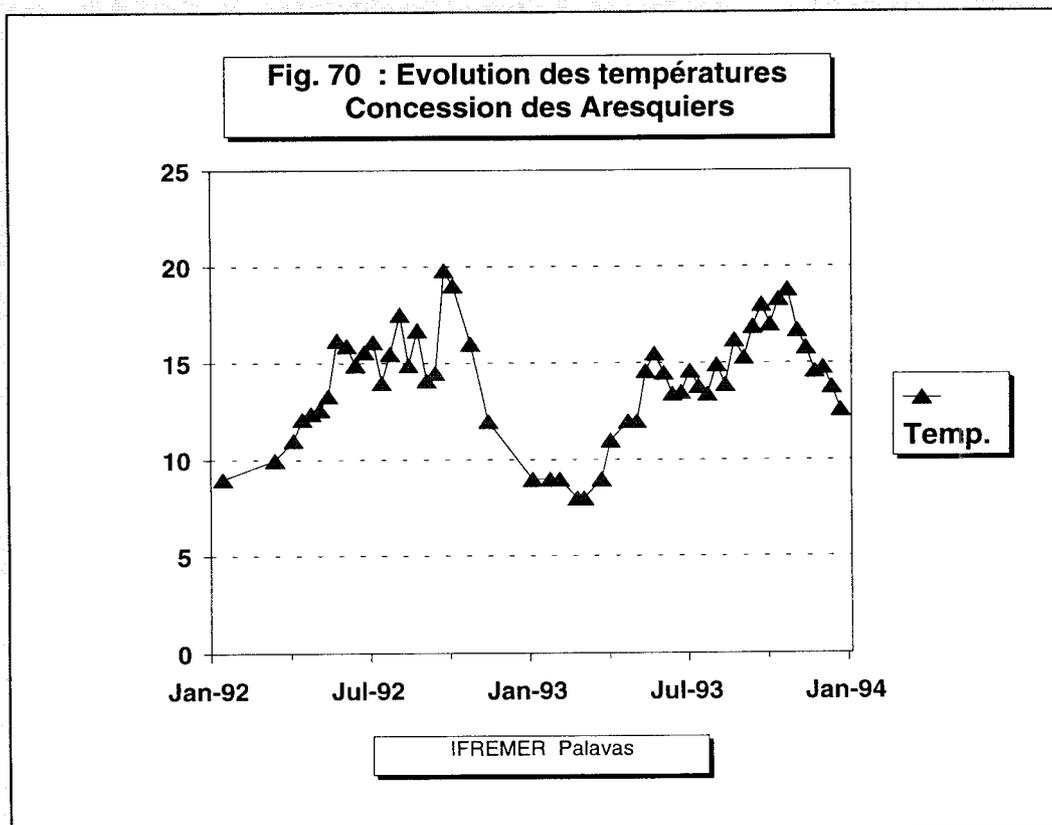
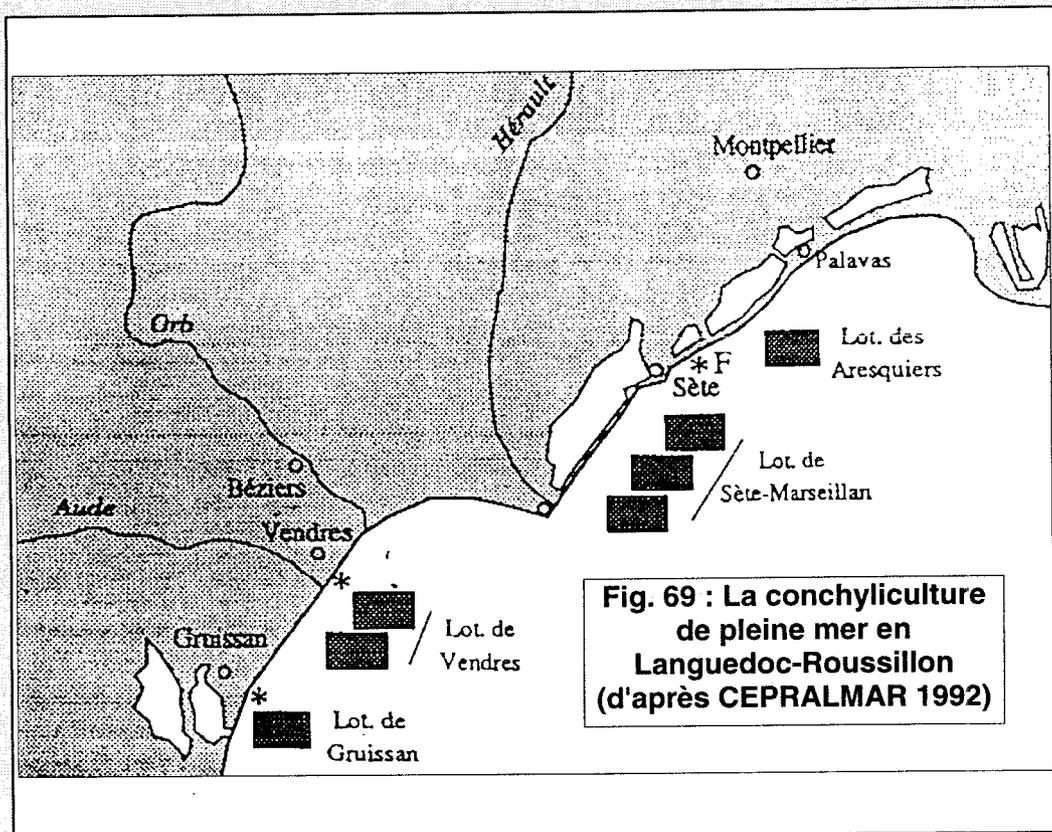
### **4.2.6.3. Evolution des taux de survie et de triploïdie.**

La survie, présentée figure 75, est similaire entre les deux classes de ploïdie, 97% des diploïdes et des triploïdes sont encore en vie à la fin de l'expérience. Toutefois, ces chiffres ne font pas ressortir le taux d'infestation par le *Polydora*, très élevé en fin de période, rendant impossible toute poursuite de l'expérimentation sur ce site.

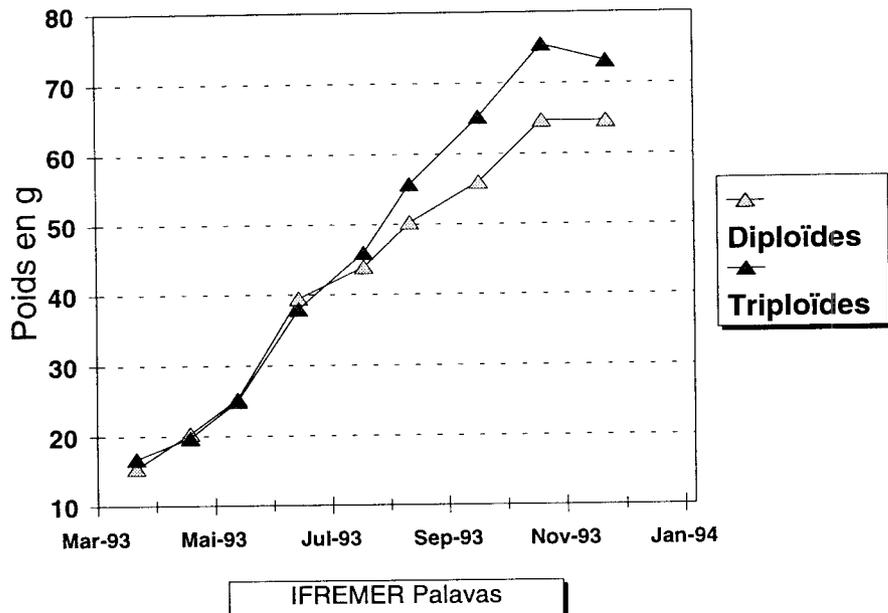
L'évolution du taux de triploïdie a varié entre 60 et 98% en fonction des échantillonnages, le profil de cette évolution ne montre pas de mortalité différentielle entre les deux classes de ploïdie (figure 76).

### **4.2.6.4. Conclusion partielle.**

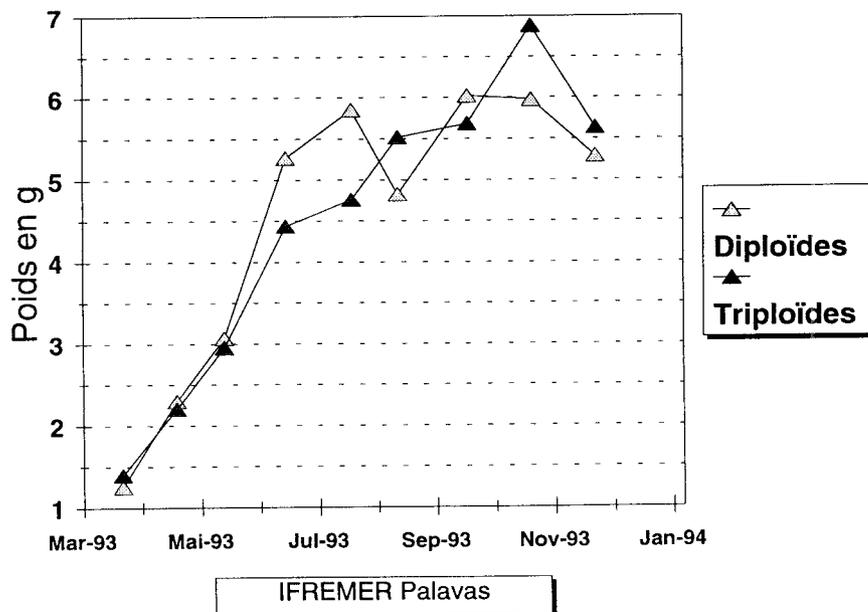
D'une manière générale, les performances de croissance pondérale des lots de diploïdes et de triploïdes mis en élevage en eau profonde sur le site des Aresquiers, sont supérieures à celles des autres sites étudiés du littoral français. Toutefois, elles sont très inférieures à celles que l'on peut obtenir sur des populations diploïdes dans l'étang de Thau en collage sur cordes (REMORA, 1993). Si l'on ajoute à cette observation, un indice de qualité très faible en fin d'élevage en relation avec un fort taux d'infestation par le *Polydora*, on peut s'interroger sur l'adéquation de ce site pour une telle expérimentation.



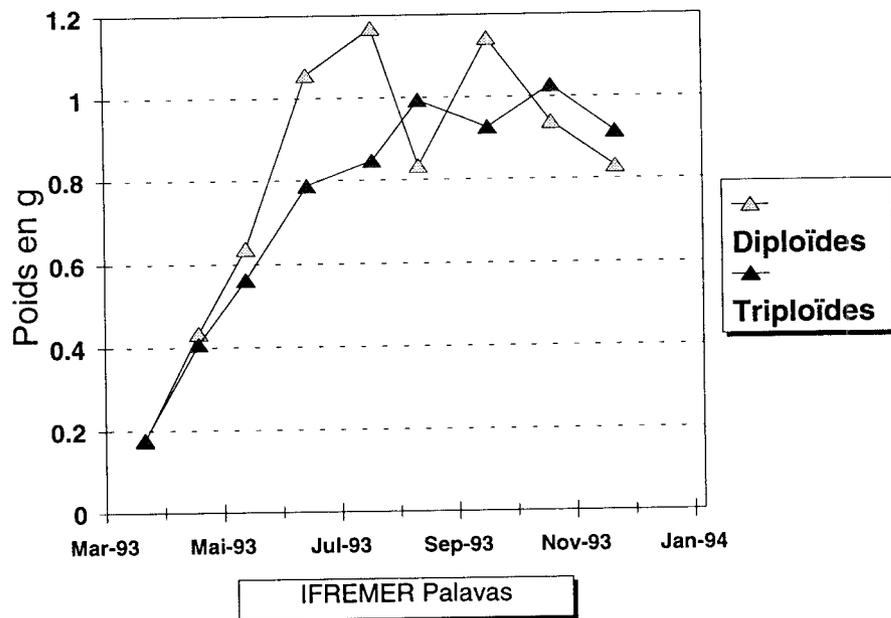
**Fig. 71 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution du poids total**



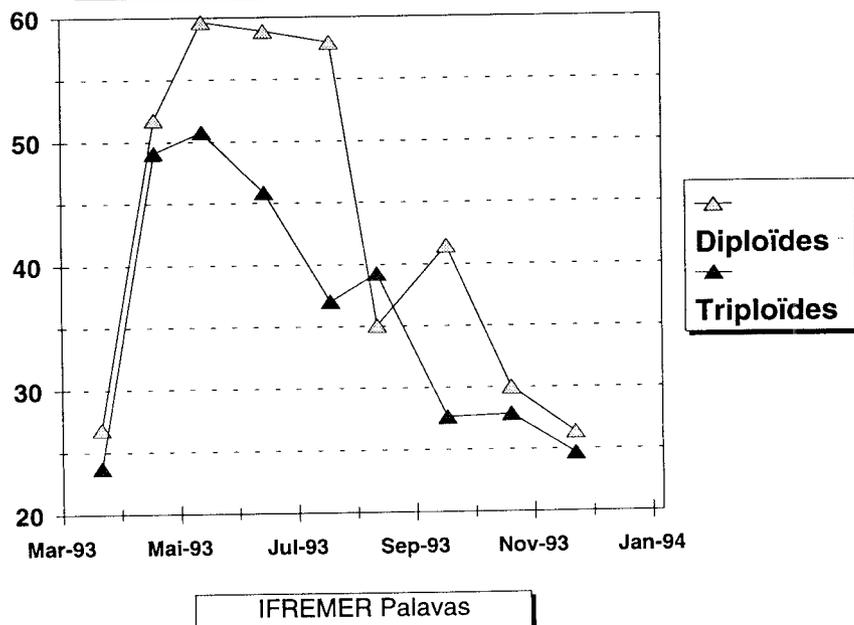
**Fig. 72 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution du poids frais de chair**



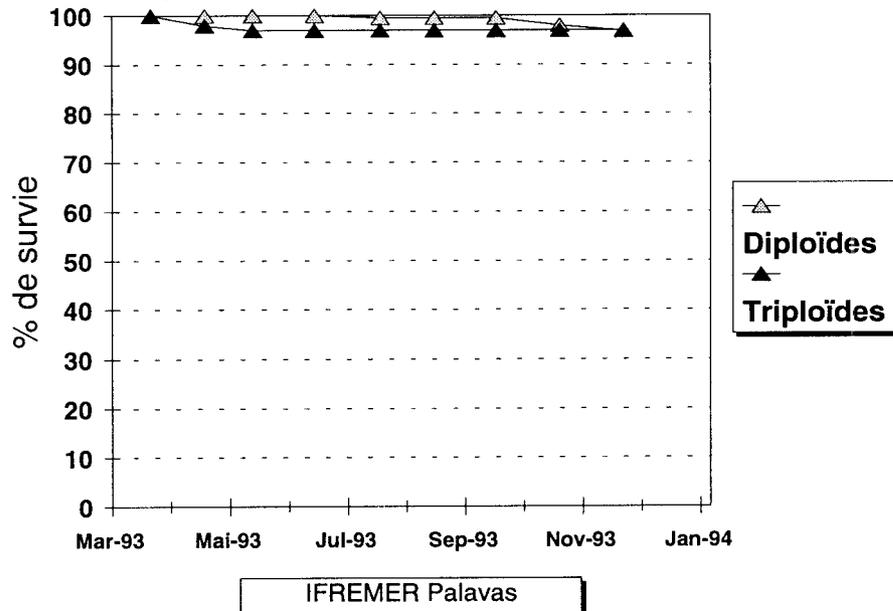
**Fig. 73 : *Crassostrea gigas*  
Evolution du poids de chair sèche**



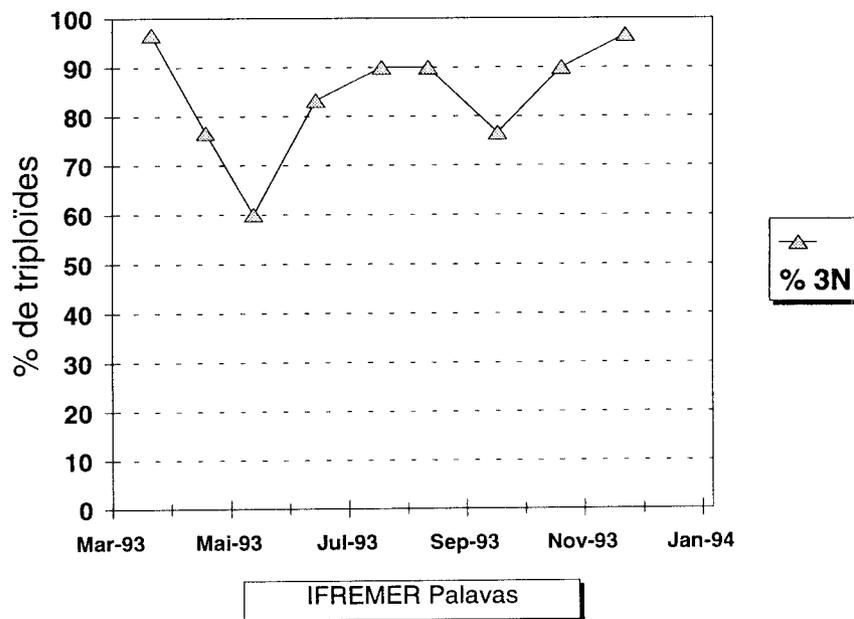
**Fig. 74 : *Crassostrea gigas*  
Evolution de l'indice de condition**



**Fig. 75 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution du taux de survie**



**Fig. 76 : *Crassostrea gigas***  
**Evolution du taux de triploïdes**



### **4.3. Etude de la gamétogenèse.**

Le suivi de la gamétogenèse a été effectué par le laboratoire de Laboratoire de Biologie Marine de l'Université de Bretagne Occidentale sur des prélèvements du site estran de Marennes-Oléron (banc de Bourgeois). L'étude a été réalisée en histologie classique et par imagerie numérique pour déterminer quantitativement le pourcentage d'occupation de la gonade par les cellules sexuelles.

#### **4.3.1. Matériel et méthodes.**

Les individus (10 diploïdes et 10 triploïdes) destinés aux analyses ont été prélevés en 1993 aux dates suivantes : 18 mars, 24 avril, 25 mai, 6 juillet, 19 juillet, 3 août, 18 août, 6 septembre, 29 septembre, 17 novembre. Ils ont été disséqués et fixés dans du Carlson pour leur expédition au Laboratoire de Biologie Marine de la Faculté des Sciences de Brest. Dans ce laboratoire ils ont ensuite été préparés classiquement pour l'inclusion en paraffine. Des coupes de 5 à 7  $\mu\text{m}$  d'épaisseur ont été réalisées. Celles-ci ont été colorées au trichrome de Masson. Les lames ont ensuite été traitées par analyse d'images pour déterminer quantitativement le pourcentage d'occupation de la gonade par les cellules sexuelles chez les individus.

L'analyse d'images s'est faite sur 4 à 5 champs (grossissement 40), délimités dans la gonade qui se développe autour de la glande digestive. Le paramètre mesuré a été pour les mâles comme pour les femelles, le taux d'occupation dans la gonade par les cellules sexuelles, à l'intérieur de ces champs. Cette étude quantitative a commencé avec le prélèvement du mois d'avril au démarrage de la gamétogenèse et elle s'est achevée en septembre après l'émission des gamètes.

#### **4.3.2. Résultats.**

##### **4.3.2.1. Individus diploïdes (photos 3 à 19).**

*En mars* : sur les 10 échantillons étudiés, 9 sont encore en repos sexuel. Le tissu interstitiel lâche, marque l'emplacement de la gonade, à proximité de la glande digestive (photo 3). Un seul individu est en début de gamétogenèse (photos 4 et 5), marquée par la présence de quelques gonies sur le bord de certains acini.

*En avril* : on assiste à la reprise de la gamétogenèse, 9 individus sur les 10 examinés ont des cellules sexuelles en voie de maturité permettant de séparer les sexes. Chez les femelles (photos 6 et 7), le taux d'occupation de la gonade est de 5 à 14 % pour une moyenne de 9,53 %. Chez les mâles (photo 8), le taux est plus élevé, 15,67 % en moyenne (de 9 à 33 %).

*En mai* : sur les 10 échantillons fixés, 4 n'ont pas pu être analysées en raison des mauvais résultats obtenus en histologie. Deux d'entre eux possédaient cependant des ovocytes adhérents aux parois des acini. Les femelles (photo 9) ont un taux d'occupation de 49,54 %. On remarque un individu à près de 80 %. Chez les mâles (photo 10), la progression est plus lente : 27,31 % en moyenne avec une bonne homogénéité.

*En juin* : les gamétogenèses s'accélèrent, notamment chez les femelles (photo 11) qui ont un taux d'occupation gonadique de 74,75 % contre 40,66 % chez les mâles (photo 12). les 10 individus ont été analysés.

*Début juillet* : sur les 10 individus fixés, 1 seul n'a pas pu être analysé. C'est à cette période de l'année que le taux d'occupation de la gonade femelle (photo 13) est maximal, il atteint 79,14 %, avec une bonne homogénéité. Les acini, bien jointifs, possèdent des ovocytes matures. En revanche, chez les mâles (photo 14), le taux n'est encore que de 61,7 %.

*Fin juillet* : 8 individus ont été analysés. C'est au cours de cette deuxième période mensuelle que surviennent les émissions gamétiques. Chez les femelles (photo 15), 4 présentent des taux d'occupation de 89 à 97 % (moyenne : 67,11 %), 2 ont émis leurs gamètes, mais non en totalité (taux restant de 10 à 15 %). Chez les mâles (photo 16), la maturité sexuelle est maximale, le plus fort taux d'occupation de la gonade est atteint avec 74,4 %.

*Début août* : quelque soit le sexe, la gonade est aux 4/5 vide. Chez les femelles (photo 17), les taux d'occupation s'établissent de 2 à 19 % (moyenne : 18,09 %) sauf pour 1 individu où il est encore de plus de 50 %. Chez les mâles (photo 18), on obtient sensiblement les mêmes valeurs, de 10 à 28 % (moyenne : 19,26 %).

*Fin août* : en raison de la vidange des gonades, seuls 4 individus mâles ont pu être identifiés (photo 19). Le taux d'occupation est faible : 2 à 10 % (moyenne : 6,03 %).

*Début septembre* : 8 individus ont une gonade vide. 2 mâles possèdent encore des gamètes, le taux d'occupation gonadique étant alors de 10,79 %.

*En septembre et en novembre* : toutes les gonades sont en repos sexuel.

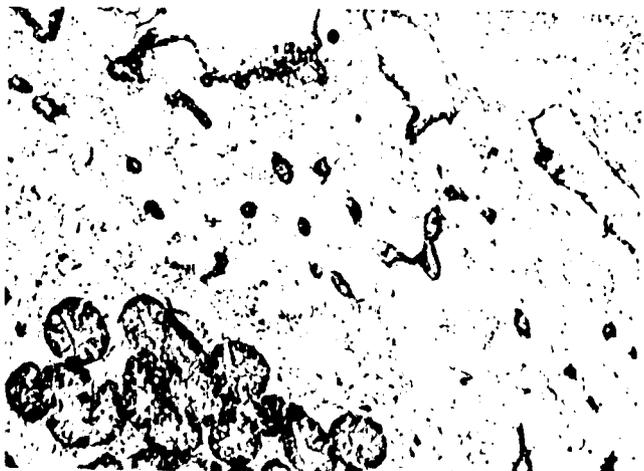
Le tableau 2 résume les résultats des taux d'occupation gonadique chez les individus diploïdes des 2 sexes au cours du temps. La figure 77 illustre bien le décalage entre la maturation des huîtres mâles et femelles.

Prélèvement	Taux d'occupation gonadique femelle (moyenne)	Ecart-type	Taux d'occupation gonadique mâle (moyenne)	Ecart-type
18 mars 93	0		0	
24 avril 93	9,53	3,29	15,67	8,72
25 mai 93	49,54	21,53	27,31	2,34
24 juin 93	74,75	8,39	40,66	10,99
6 juillet 93	79,14	5,70	61,70	2,47
19 juillet 93	67,11	38,37	74,40	5,98
3 août 93	18,09	16,34	19,26	6,28
18 août 93	0		6,03	3,02
6 sept. 93	0		10,79	5,31
29 sept. 93	0		0	
17 nov. 93	0		0	

Tableau 2 : Taux d'occupation de la gonade chez les femelles et les mâles diploïdes.



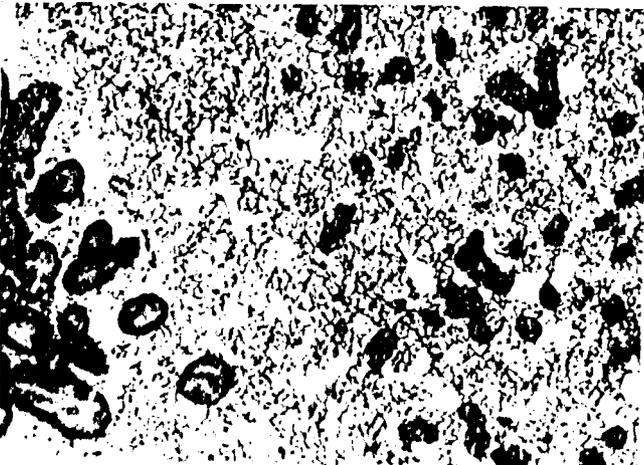
3



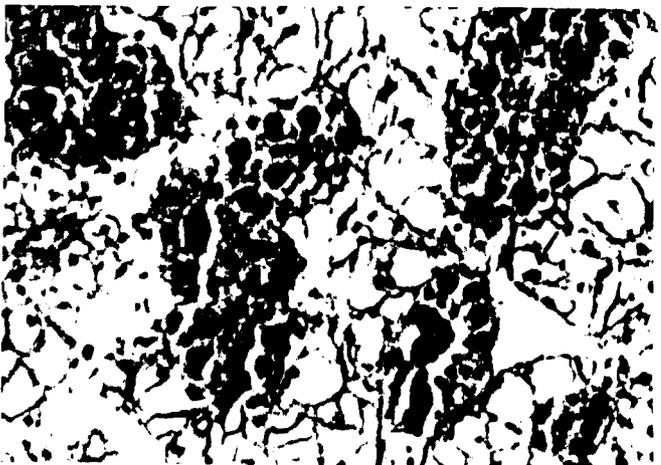
4



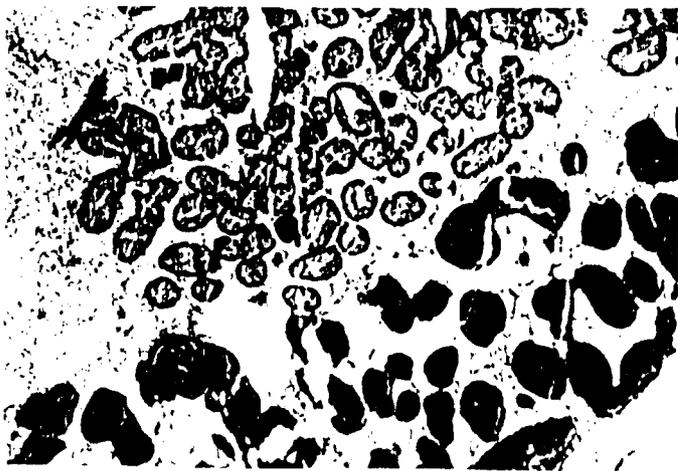
5



6



7



8

## HUÎTRES DIPLOÏDES

**Photo 3** : Tissu interstitiel lâche marquant l'emplacement de la gonade en période de repos sexuel. Sur la gauche, quelques acini digestifs sont visibles. G=40 (lame 63,A).

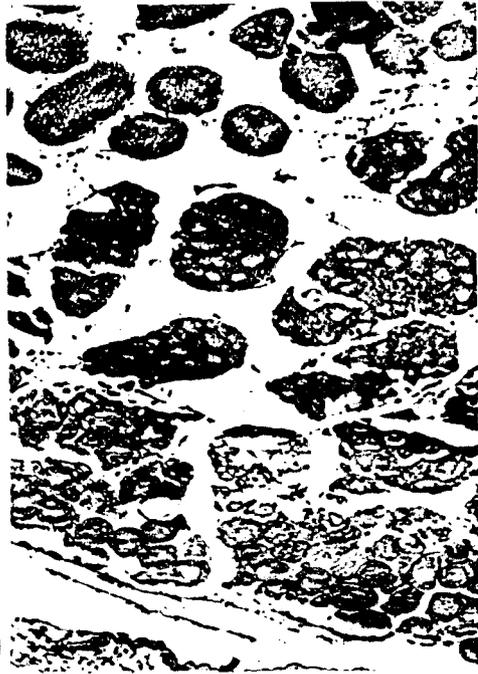
**Photo 4** : Début de la gamétogenèse souligné par la présence de gonies contre la paroi des acini. G=40 (lame 65,A).

**Photo 5** : Détail d'acini montrant les gonies en phase mitotique. G=400 (lame 65,A).

**Photo 6** : Quelques acini commencent à se garnir d'ovocytes. G=40 (lame 61,B).

**Photo 7** : Détail d'acini où les gonies commencent à se différencier en ovocytes de 1er ordre. G=200 (lame 61,B).

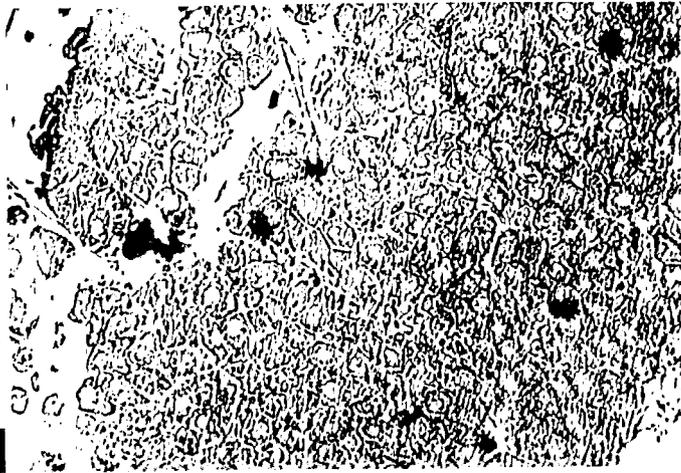
**Photo 8** : Détail de gamétogenèse chez un mâle (taux d'occupation gonadique de 10% environ). G=40 (lame 67,B).



9



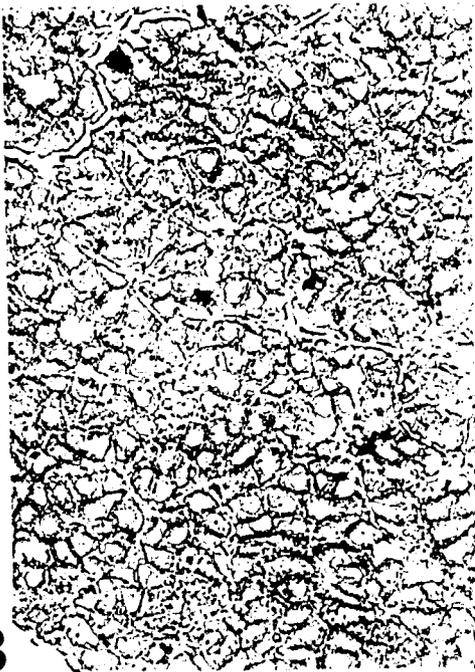
10



11



12



13



14

## HUÎTRES DIPLOÏDES

**Photo 9** : Huître femelle ayant un taux d'occupation gonadique de 50% environ.  
G=40 (lame 64,C).

**Photo 10** : Les cellules sexuelles, chez un mâle, n'occupent encore qu'environ 28% de la gonade. G=40 (lame 62,C).

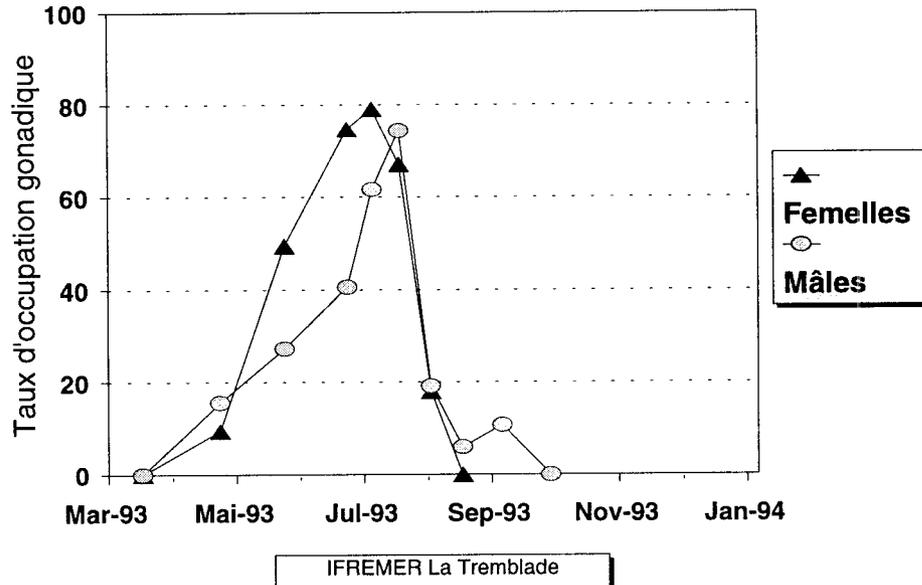
**Photo 11** : Les acini, gonflés par les cellules sexuelles femelles, sont de plus en plus jointifs. G=40 (lame 66,D).

**Photo 12** : Chez un mâle, le tissu interstitiel est encore bien visible entre les acini (taux d'occupation gonadique d'environ 40%). G=40 (lame 65,D).

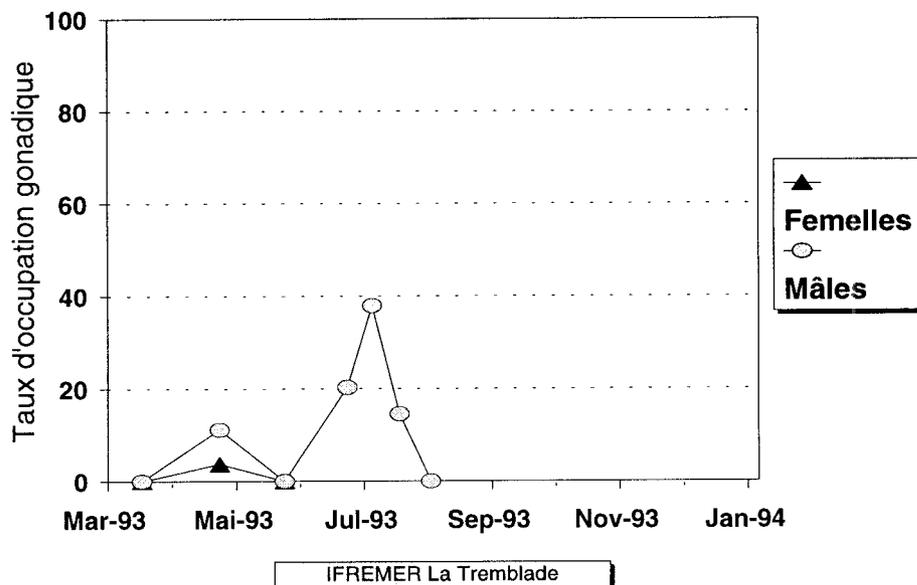
**Photo 13** : Les cellules sexuelles, au stade ovocyte vitellogénique, occupent environ 80% de la gonade. G=40 (lame 63,E).

**Photo 14** : Chez les mâles, les taux d'occupations gonadique (environ 75%) sont moins élevés que chez les femelles. G=40 (lame 70,E).

**Fig. 77 : Taux d'occupation gonadique moyen  
chez les huîtres diploïdes  
Marennes Estran : parc de Bourgeois**



**Fig. 78 : Taux d'occupation gonadique moyen  
chez les huîtres triploïdes  
Marennes Estran : parc de Bourgeois**



#### **4.3.2.2. Individus triploïdes (photos 20 à 23).**

*En mars* : aucune cellule sexuelle n'est visible chez les huîtres triploïdes.

*En avril* : sur les 10 échantillons analysés, 4 ne présentent aucun développement gonadique, 3 possèdent des cellules sexuelles femelles occupant de 3 à 5 % de la gonade, 3 ont des cellules sexuelles mâles occupant de 5 à 21 % de la gonade.

*En mai* : les 9 triploïdes ne présentent aucune amorce de gamétogenèse.

*En juin* : chez 5 individus, aucune cellule sexuelle n'est visible (photo 20), 2 huîtres présentent un début de cycle sexuel mâle, 2 autres ont des spermatoocytes occupant environ 20 % de la gonade.

*Début juillet* : 5 huîtres triploïdes sont des mâles ayant une gamétogenèse plus ou moins évoluée selon les individus. Pour l'un d'entre eux, le taux d'occupation gonadique est de 6 %, pour un autre 31 % et pour 3 autres de 43 à 64 % (moyenne de 38 %). Ce taux d'occupation est hétérogène, contrairement aux diploïdes du même prélèvement, et d'un taux moyen inférieur à celui. Les photos 21, 22, 23, illustrent cette gamétogenèse où l'on observe des cellules sexuelles dont l'organisation paraît différente de celle classiquement observée chez les huîtres diploïdes mâles.

*Fin juillet* : 4 huîtres sont des mâles présentant une gamétogenèse identique à celle observée au début du mois. Deux huîtres n'ont pu être examinées en raison de la mauvaise qualité de fixation.

*Début août* : 2 huîtres sont des mâles ayant une légère gamétogenèse irrégulière.

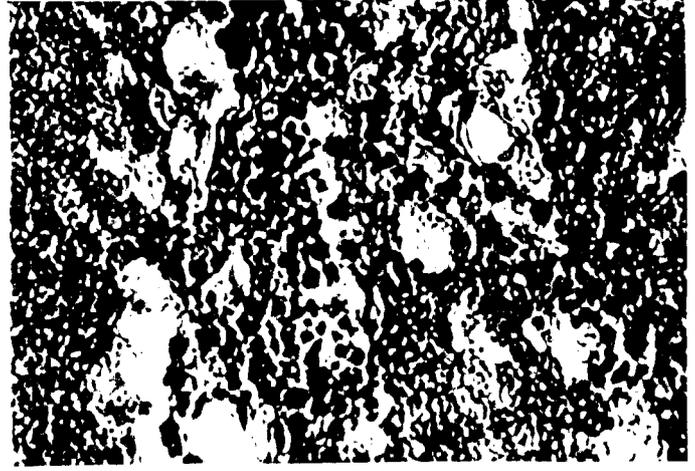
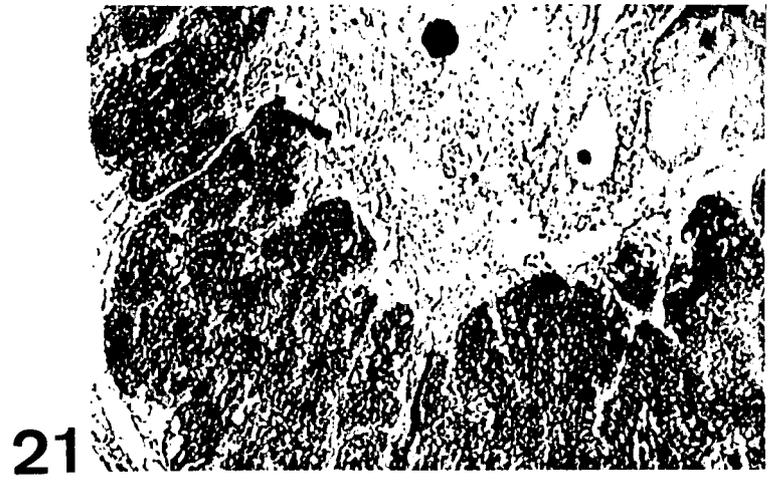
*Fin août* : On observe quelques cellules sexuelles chez 3 individus, sans pouvoir préciser s'il s'agit de mâles ou de femelles.

*En septembre et en novembre* : aucune gamétogenèse n'est observée.

Les résultats des taux d'occupation de la gonade, pour les divers échantillons examinés, figurent dans le tableau 3 et sont illustrés dans la figure 78.

Prélèvement	Taux d'occupation gonadique femelle (moyenne)	Ecart-type	Taux d'occupation gonadique mâle (moyenne)	Ecart-type
18 mars 93	0		0	
24 avril 93	3.77	0.99	11.24	7.04
25 mai 93	0		0	0
24 juin 93	0		20.30	5.47
6 juillet 93	0		37.89	19.18
19 juillet 93	0		14.64	7.07
3 août 93	0		0	
18 août 93	0		0	
6 sept. 93	0		0	
29 sept. 93	0		0	
17 nov. 93	0		0	

Tableau 3 : Taux d'occupation de la gonade chez les femelles et mâles triploïdes.



## HUÎTRES TRIPLOÏDES

**Photo 20** : Individus triploïdes présentant un tissu conjonctif lâche à l'emplacement de la gonade, à proximité des acini digestifs (à gauche). G=40 (lame 72,D).

**Photo 21** : Huître triploïde possédant des cellules sexuelles mâles au stade spermatocyte. G=40 (lame 77,E).

**Photo 22 et 23** : Détail de cette gonade. G=400 (lame 77,E).

#### **4.3.2.3. Conclusion partielle.**

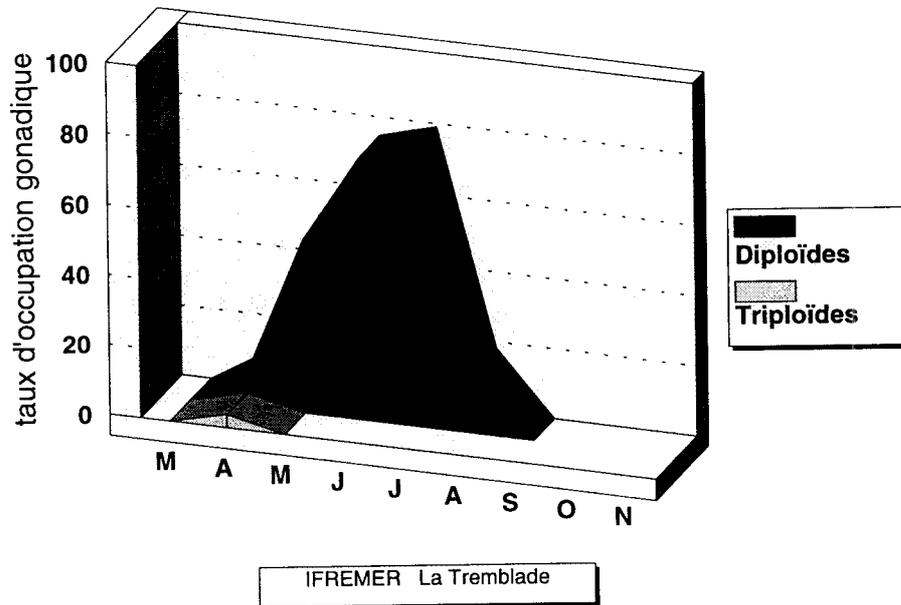
En 1993, chez les huîtres diploïdes, le cycle gamétique a commencé début avril, lorsque les paramètres biotiques et abiotiques de l'environnement ont évolué favorablement. En avril, la gamétogenèse est plus rapide chez les mâles que chez les femelles puisque le taux d'occupation de la gonade mâle par les spermatogonies et les spermatocytes est presque deux fois plus élevé. Par la suite, cette évolution s'inverse, en juin les valeurs moyennes des taux d'occupation gonadique des huîtres femelles sont le double de celles des mâles.

Les émissions gamétiques se déroulent durant la deuxième quinzaine de juillet, mais l'expulsion des cellules sexuelles n'est pas totale puisqu'au début du mois d'août le taux d'occupation gonadique est encore de 1/4 de ce qu'il était en juin. Il faut attendre fin août pour avoir des valeurs proches de zéro. Chez les mâles, il subsiste encore des cellules sexuelles jusqu'au début septembre. Fin septembre les deux sexes sont en repos sexuel.

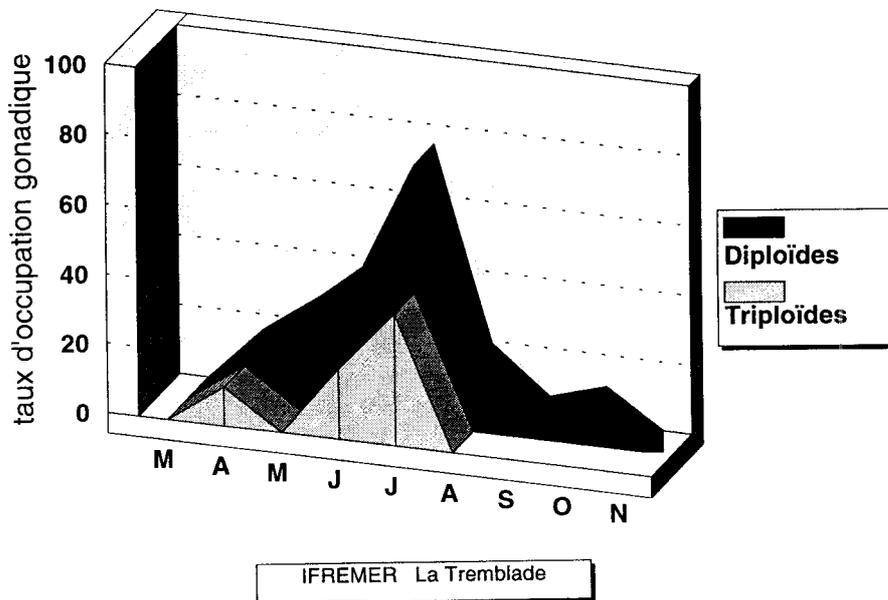
Les analyses de mars concernant les triploïdes ne permettent aucun commentaire en raison de l'absence de cellules sexuelles. Ce n'est qu'en avril que des gonies, des spermatocytes et des ovocytes sont repérés dans les gonades de 6 individus sur 10. En mai, alors que les diploïdes ont largement débuté leur cycle de maturité gonadique, aucun individu du lot analysé n'est porteur de cellules sexuelles. En juin, en revanche, les spermatogonies et des spermatocytes sont observés chez 4 individus issus d'oeufs triploïdes. En début juillet, 5 individus triploïdes ont des cellules de la lignée mâle. Les mêmes observations se renouvellent jusqu'en août. Au-delà on retrouve les conditions de mars.

Pour les huîtres diploïdes, l'évolution du cycle sexuel est conforme à celui qui est classiquement décrit dans littérature. En revanche, les huîtres triploïdes ne présentent qu'une amorce de développement des cellules sexuelles. Il s'agit principalement de cellules de la lignée mâle. Cette différence entre le développement gamétique des diploïdes et des triploïdes, qui rejoignent les observations d'Allen et Downing en 1986 et 1990, sont illustrées dans les figures 79 et 80.

**Fig. 79 : Comparaison des taux d'occupation gonadique chez les huîtres diploïdes et triploïdes femelles  
Marennes Estran : parc de Bourgeois**



**Fig. 80 : Comparaison des taux d'occupation gonadique chez les huîtres diploïdes et triploïdes mâles  
Marennes Estran : parc de Bourgeois**



L'interprétation statistique est basée sur la comparaison du nombre total de réponses correctes à la valeur lue dans la table de loi binômiale pour une probabilité de 1/3. On peut ainsi, lorsque le nombre de réponses correctes dépasse celui obtenu par une simple réponse au hasard, conclure à une différence significative.

#### **4.4.2.4. Les échantillons.**

Les huîtres diploïdes et triploïdes devant servir à ces tests, ont été élevées à la nurserie de Bouin. Les différents lots d'huîtres analysées sont réceptionnés le matin même de la dégustation. Les huîtres sont ouvertes environ 1 heure avant l'évaluation. Il était initialement prévu une analyse par trimestre afin de pouvoir suivre l'évolution saisonnière de la composition biochimique des huîtres.

Chaque personne reçoit 3 huîtres, codées par un nombre à 3 chiffres pour rendre les échantillons anonymes. Sur chaque huître du lot "triploïde", un prélèvement de branchie est effectué pour vérifier ultérieurement à La Tremblade, la ploïdie par imagerie numérique.

#### **4.4.3. Résultats.**

Seulement deux tests triangulaires ont été réalisés en avril 93 et août 93 dans les conditions décrites ci-dessus ; les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

	Nombre de juges	Nombre de réponses exactes	Résultat
Avril 93	30	8	pas de différence significative
Août 93	25	10	pas de différence significative

Tableau 4 : Résultats des tests d'analyse sensorielle.

Dans les deux cas étudiés, aucun de ces tests n'a permis de montrer une différence significative entre le lot diploïde et le lot triploïde. Pour le premier test, il aurait fallu au moins 15 réponses correctes pour mettre en évidence une différence significative au seuil de 5 % et dans le second cas, il en aurait fallu 13.

Lors de ces premières analyses, les huîtres diploïdes ne présentaient pas un développement gamétique suffisant pour mettre en évidence un effet de la ploïdie sur les propriétés organoleptiques. Les huîtres étant visiblement encore trop jeunes pour réaliser ce test dans de bonnes conditions, l'expérience a été écourtée et reportée à l'année suivante.

## 6. BIBLIOGRAPHIE

- Anonyme, 1990.** Obtention de souches conchylicoles performantes par polyploïdisation (1<sup>ère</sup> partie). Rapports internes IFREMER - RIDRV - 90.29 -RA/La Tremblade.
- Allen, S.K., 1987.** Genetic manipulations : critical review of methods and performances, shellfish. *In Proc World Symp. on Selection, Hybridization, and Genetic Engineering in aquaculture*, Bordeaux 27-30 May 1986, Vol. II, K. Tiews Ed., Berlin, pp. 127-144.
- Allen, S.K., JR. & Downing, S.L., 1986.** Performance of triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg). I. Survival, growth, glycogen content, and sexual maturation in yearlings. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **102** : 197-208.
- Allen, S.K., JR., & Downing, S.L., 1990.** Performance of triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* : Gametogenesis. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **47**, 1213-1222.
- Arai, K., Naito, F. & Fujino, K., 1986.** Triploidization of the Pacific abalone with temperature and pressure treatments. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **52** : 417-422.
- Chevassus, B., 1987.** Caractéristiques et performances des lignées uniparentales et de polyplôïdes chez les poissons d'eau froide. *In Proc. World Symp. on Selection, Hybridization and Genetic Engineering in Aquaculture*, Bordeaux 27-30 May, 1986. Vol. II, K. Tiews Ed., Berlin, PP. 145-161.
- Chourrout, D., 1989.** Gynogenèse, polyploïdie et transfert de gènes chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*). Thèse de doctorat de l'université de Paris VI, 60p.
- Deslous-Paoli, J.M., Héral, M., Berthome, J.P., Razet, D. & Garnier, J., 1982.** Reproduction naturelle de *Crassostrea gigas* Thurnberg dans le bassin de Marennes-Oléron en 1979 et 1981: aspects biochimiques et énergétiques. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **45**, 319-327.
- Deslous-Paoli, J.M. & Héral, M., 1988.** Biochemical composition and energy value of *Crassostrea gigas* (Thunberg) cultured in the bay of Marennes-Oléron. *Aquat. Liv. Resour.*, **1** : 239-249.
- Desrosier, R., Gérard, A., Peignon, J.-M., Naciri, Y., Dufresne, L., Morasse, J., Ledu, C., Phélipot, P., Guerrier, P. & Dube, F., 1993.** A novel method to produce triploid embryos in bivalve molluscs by the use of 6-dimethylaminopurine. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 170:29-43.
- Diter, A., 1990.** Reproduction uniparentale et polyploïdie induites chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) et chez les bivalves *Crassostrea gigas*, *Ruditapes philippinarum* et *Clamys varia*. Thèse de doctorat de l'Université de Paris VI, 88p. et annexes.
- Diter, A. & Dufy, 1990.** Polyploidy in the Manila clam *Ruditapes philippinarum*. II Chemical induction of tetraploid embryos., *Aquac. Liv. Res.*, **3** : 107-112.
- Downing, S.L. & Allen, S.K., Jr., 1987.** Induced triploidy in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* : optimal treatments with cytochalasin B depend on temperature. *Aquaculture*, **61** : 1 -15.
- Dufy, C., 1988.** La Polyplôïdie chez la palourde japonaise *Ruditapes philippinarum* : Induction et influence sur les performances larvaires. Mémoire de DEA, Univ. Aix - Marseille II. 40p.

- Dufy, C. & Diter, A., 1990.** Polyploidy in the Manila clam *Ruditapes philippinarum*. I - Chemical induction and larval performances of triploids. *Aquat. Liv. Resour.*, **3** : 55-60.
- Gendreau, S. & Grizel, H., 1990.** Induced triploidy and tetraploidy in the European flat oyster, *Ostrea edulis* L.. *Aquaculture*, **90** : 229-238.
- Gérard, A., 1991.** Obtention de souches conchylicoles performantes par polyploïdisation (2<sup>ème</sup> partie). Rapport Interne IFREMER, RIDRV-91.08 - RA La Tremblade.
- Gérard, A., Peignon, J.M. & Chagot, D., 1991.** Contrôle de la ploïdie par imagerie numérique dans des expériences d'induction de la triploïdie chez les mollusques bivalves. CIEM La Rochelle. Paper C.M. 1991/F:12 réf. K.
- Gérard, A., Peignon, J.-M., Ledu, C., Phélipot, P., Noiret, C., Bodoy, A., Heurtebise, S., & Garnier, J., 1992.** Obtention de souches conchylicoles performantes par polyploïdisation (3<sup>ème</sup> partie). Rapport Interne IFREMER, RIDRV-92.11 - RA La Tremblade.
- Gérard, A., Naciri, Y., Peignon, J.-M., Ledu, C., Phélipot, P., Noiret, C., Bodoy, A., Heurtebise, S., & Garnier, J., Baud, J.-P., Nourry, M., Haure, J., Martin A.-G., Claude, S., Barret, J., Devauchelle, N., Joly, J.-P., Gouletquer, P., Coatanea, D., Oheix, J., Zanette, Y. & Blachier P., 1993.** Obtention de souches conchylicoles performantes par polyploïdisation (4<sup>ème</sup> partie). Rapport Interne IFREMER, RIDRV-93.22 - RA La Tremblade.
- Gérard, A., Naciri, Y., Peignon, J.-M., Ledu, C. & Phélipot, P., 1994a.** Optimization of triploid induction by the use of 6-DMAP for the oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture and Fisheries Management*, **25(7)** : 709-720.
- Gérard, A., Naciri, Y., Peignon, J.-M., Ledu, C., Phélipot, P., Noiret, C., Peudenier, I. & Grizel, H., 1994b.** Image analysis : A new method for estimating triploidy in commercial bivalves. *Aquaculture and Fisheries Management*, **25(7)** : 697-708.
- Gérard, A., Naciri, Y., Noiret, C., Ledu, C., Peignon, J.-M. & Phélipot, P., 1994c.** Induced triploidy in the European clam *Ruditapes decussatus* (L.) and performance of triploid larvae. *Aquaculture and Fisheries Management*, **25(8)** : .
- Gouletquer, P., Joly, J.P., Gérard, A., Le Gagneur, E., Moriceau, J., Peignon, J.M., Heurtebise, S. & Phélipot, P., 1993.** Performance of triploid Pacific oysters *Crassostrea gigas* (Thunberg) reared in high carrying capacity ecosystem: survival, growth, and proximate biochemical composition. Dublin, ICES Statutory meeting , septembre 1993. Mariculture Committee 1993/F:24.
- Héral, M., & Deslous-Paoli, J.M., 1983.** Valeur énergétique de la chair de l'huître *Crassostrea gigas* estimée par mesure microcalorimétriques et par dosages biochimiques. *Oceanol. Acta*, **1983**, **6(2)** : 193-199.
- Lawrence, D.R., & Scott, G.I., 1982.** The determination and use of condition index of oysters. *Estaries*, **5(1)** : 23-27.
- Ledu, C., 1989.** Applications de méthodes cytogénétiques aux mollusques bivalves. Mémoire de DTSM Intechmer. 30p.

**Lucas, A., 1971.** Les gamètes des mollusques. *Haliotis*, **1**(2) : 185-214.

**Marteil, L., 1976.** Biologie de l'huître et de la moule. Rev. Trav. Inst. Pêches marit., **40** (2), 149-346.

**Noiret, C., 1991.** Induction de la triploïdie chez la palourde européenne *Ruditapes decussatus*. RIDRV-91-17-RA/La Tremblade.

**Sournia, J.C., Amouroux, C., Belliard, J., Cauderon, Y., Duplan, J.M., Naciri, Y. & Novel, G., 1991.** Dictionnaire de génétique. Edition du Conseil International de la langue Française . 21 bis, rue du Cardinal Lemoine, 75005 - Paris

**Stanley, J.G., Allen, S.K., Jr. & Hidu, H., 1981.** Polyploidy induced in the American oyster, *Crassostrea virginica*, with cytochalasin B. *Aquaculture*, **23**: 1-10.

**Tabarini, C.L., 1984.** Induced triploidy in the bay scallop, *Argopecten irradians*, and its effect on growth and gametogenesis. *Aquaculture*, **42** : 151-160.

**Zanette, Y., 1980.** Intervention de quelques facteurs dans l'évolution de la biomasse des claires de Oléron. CIEM, CM 1980/L : 45.

RAPPORTS INTERNES DRV 1994

N°RI DRV	DEPARTEMENT	LABORATOIRE	AUTEURS	TITRE	DATE SORTIE	DIFFUS	NB PAGES	TIRAGE
94-01	DRV/RA	STATION PALAVAS	D.COATANEA, J.OHEIX, L.MAZZARA, C.VERCELLI	ELEVAGE D'HUITRE PLATE EN LANGUEDOC-ROUSSILLON - BILAN DES TRAVAUX 1990-1992 - RAPPORT FINAL CONVENTION DE RECHERCHE IFREMER-REGION LANGUEDOC-ROUSSILLON -	Fév-94	Libre	72	40
94-02	DRV/RA	LABORATOIRE COTIER PORT EN BESSIN	PH.GOULLETQUER, J.P.JOLY, J.KOPP, E.LEGAGNEUR, J.MORICEAU et F.RUELLE.	L'OSTREICULTURE SUR LA COTE OUEST DU COTENTIN	Fév-94	Libre	81	100
94-03	DRV/RA	CREMA L'HOUMEAU	J.HUSSENOT, D.GAUTIER.	TECHNIQUES D'UTILISATION DE LA SILICE POUR LA PRODUCTION DE MASSE DES ALGUES DIATOMEES - SYNTHESE DES TRAVAUX 1989-1993.	Fév-94	Libre	24	60
94-04	DRV/RH	RH/L'HOUMEAU	G.PAULMIER, P.GERVAIN	PÊCHES EXPERIMENTALES DES CRUSTACES PROFONDS DANS LES EAUX DE LA MARTINIQUE (PANDALIDAE, NEPHROPIDAE). PROSPECTIONS, RENDEMENTS ET BIOLOGIE DES ESPECES.	Mar-94	Libre	44	30
94-05	DRV/RA-DRV/RH-DEL	RA/BREST, RH/ARCACHON, DEL/ARCACHON	G.TRUT, R.ROBERT, J.L.LABORDE	CROISSANCE ET MORTALITE DU PETONCLE NOIR CHLAMYS VARIA DANS LE BASSIN D'ARCACHON, FRANCE.	Mar-94	Libre	33	50
94-06	DRV/RA	RA/ LA TREMBLADE	J.PROU, S.POUVREAU, M.HERAL, V.RENAUD	ESTIMATION DE LA BIOMASSE D'HUITRES NON CULTIVEES DANS LE BASSIN DE MARENNES-OLERON	Mar-94	Libre	27	45
94-07	DRV/RA-DRV/SEM	GIE/RA PALAVAS, SEM/PARIS	D.COATANEA, PH.PAQUOTTE, D.BUESTEL, J.DEFOSSEZ, J.MORICEAU	BILAN DES ESSAIS D'ELEVAGE DES PECTINIDES EN MEDITERRANEE : 1987-1991	Avr-94	Libre	31	40
94-08	DRV/RA	GIE/RA, AQUALIVE, NOIRMOUTIER	V.BUCHET, P.VILLANOVE	PREGROSSISSEMENT DE LA DORADE ROYALE (SPARUS AURATA) EN MARAIS MARITIMES. EFFICACITES COMPAREES DES DIFFERENTS SYSTEMES D'ALIMENTATION.	Avr-94	Libre	23	50
94-09	DRV/RA-DRV/RH	STATION PECHE-AQUACULTURE, BREST	H.CHARTOIS, D.LATROUITE, P.LE CARRE	STOCKAGE ET TRANSPORT DES CRUSTACES VIVANTS	Mai-94	Libre	66	100
94-10	DRV/RH-DRV/RH-DEL	STATION PECHE AQUACULTURE, BREST-DEL, BREST	RAPPORT COLLECTIF IFREMER (43 AUTEURS)	CONTRAT DE BAIE, RADE DE BREST, RAPPORT D'ACTIVITES IFREMER 1993.	Avr-94	Libre	238	150

## RAPPORTS INTERNES DRV 1994

94-11	DRV/RA	STATION AQUALIVE DE NOIRMOUTIER	F.BLOUIN	OBSERVATOIRE DE LA NAPPE SALEE DE L'EOCENE DE L'ILE DE NOIRMOUTIER - SUIVI DES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES	Jun-94	Libre	50	24
94-12	DRV/RH-DEL	RH/NANTES, DEL/BREST	D.HALGAND, G.ARZUL, E.ERARD-LE-DENN, L.FIANT, J.HUET, F.QUINIOU, F.ROGER, A.TETARD	SURVEILLANCE ECOLOGIQUE ET HALIEUTIQUE DE L'ENVIRONNEMENT MARIN DU SITE DE LA CENTRALE DE PENLY (MANCHE EST) : ANNEE 1993.	Jun-94	Restreinte	37	129
94-13	DR V/RA- DRV/SEM	RA/BREST, SEM/PARIS	P.PAQUOTTE, P.G.FLEURY	ANALYSE TECHNIQUE ET FINANCIERE D'UN PROJET D'ELEVAGE DE COQUILLE ST-JACQUES DE L'ECLOSERIE JUSQU'A LA RECAPTURE DES SEMIS.	Jul-94	Libre	34	120
94-14	DRV/RA	RA/L'HOUMEAU	M.J.DARDIGNAC-CORBEIL	ESTIMATION DES BIOMASSES DE MOULES ( <i>Mytilus edulis</i> ) EN ELEVAGE DANS LES BOUCHOTS DU PERTUIS BRETON - EVALUATION ENTRE 1988 ET 1993.	Sep-94	Libre	16	?
94-15	DRV/RA	RA/TAHITI	E.THOUARD, G.NEDELEC, R.PIERSON	L'ELEVAGE DU LOUP TROPICAL (LATES CALCARIFER, BLOCH) EN POLYNESIE FRANCAISE. TECHNIQUES D'ELEVAGE. SYNTHESE DE NEUF ANNEES DE RECHERCHE	Oct-94	Libre	103	50
94-16	DRV/RA	RA/TAHITI	R.PIERSON, E.THOUARD, G.NEDELEC	L'ELEVAGE DU LOUP TROPICAL (LATES CALCARIFER, BLOCH) EN POLYNESIE FRANCAISE. APPROCHE TECHNICO-ECONOMIQUE	Oct-94	Libre	106	?
94-17	DRV/RA	RA/LA TREMBLADE	A.GERARD et 25 coll.	OBTENTION DE SOUCHES CONCHYLICOLES PERFORMANTES PAR POLYPLOIDISATION (5ème partie)	Nov-94	Libre	76	50
94-18	DRV/RA	RA/LA TRINITE	G.LEMOINE	ETUDE SEDIMENTAIRE APPLIQUEE A L'AQUACULTURE SUR CINQ ESTRANS DE BRETAGNE SUD (MORBIHAN, LOIRE ATLANTIQUE)	Nov-94	Libre	86	