

THESE de DOCTORAT de l'UNIVERSITE PARIS 6

Spécialité :
GENETIQUE

présentée

par **Alain DITER**

pour obtenir le titre de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE PARIS 6

Sujet de la thèse :

**REPRODUCTION UNIPARENTALE ET POLYPLOIDIE INDUITES
CHEZ LA TRUITE ARC-EN-CIEL (*Oncorhynchus mykiss*) ET CHEZ LES
BIVALVES *Crassostrea gigas*, *Ruditapes philippinarum*
ET *Chlamys varia*.**

TOME II (Illustrations)

Soutenue le 28 mai 1990

devant le jury composé de :

MM. J. GENERMONT	Président
D. CHOURROUT	Rapporteur
P. LUBET	"
D. ANXOLABEHERE	Examineur
H. GRIZEL	"



FIGURES



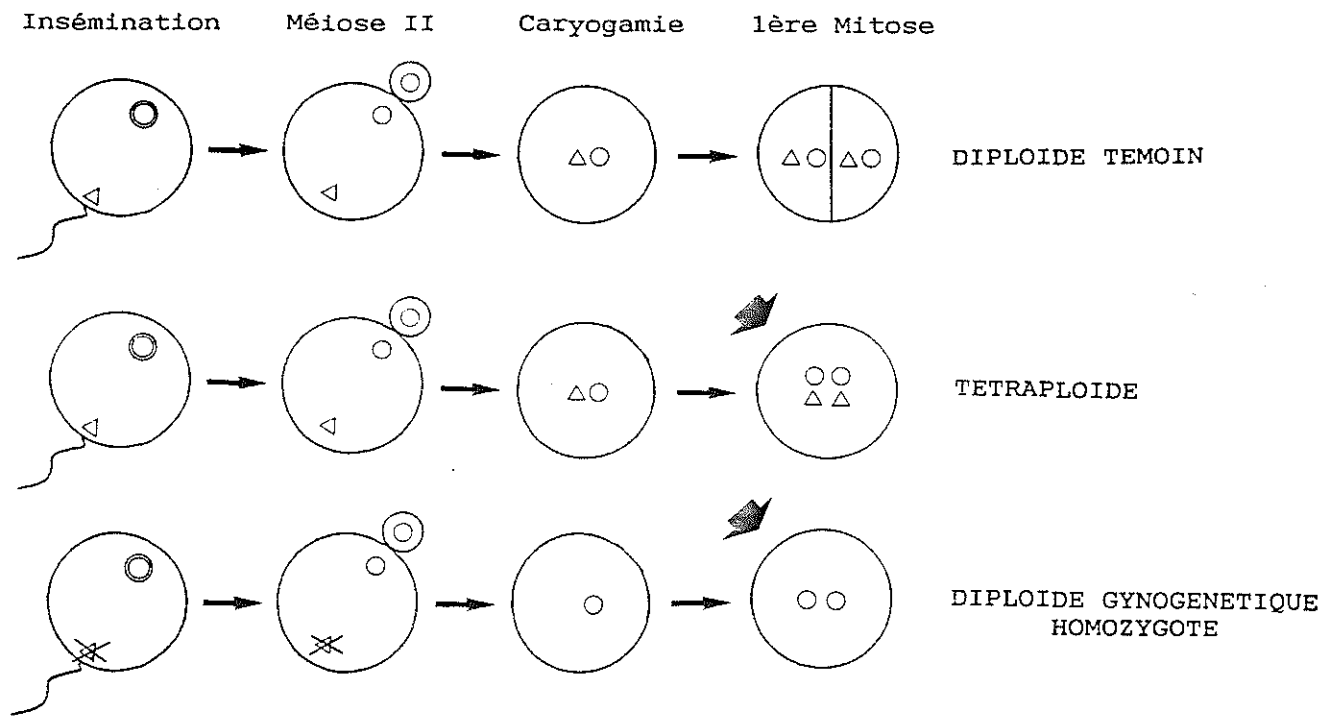


Figure 1 : Effet recherché par le choc thermique et types d'individus attendus après une insémination par du sperme irradié ou intact.

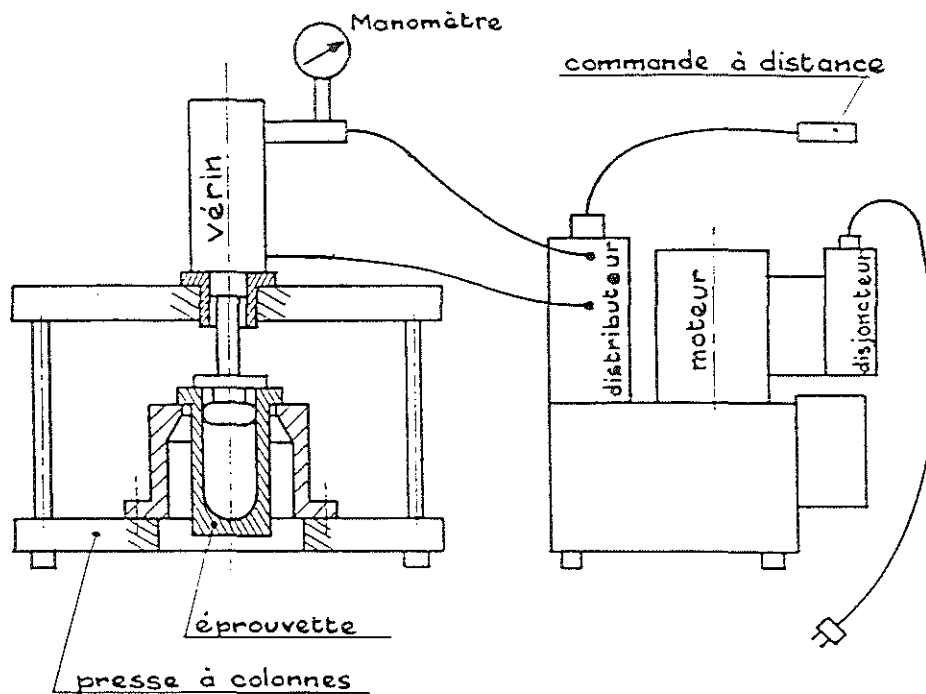


Figure 2 : Schéma de l'appareil hyperbare employé pour appliquer des chocs de pression sur les oeufs de truite et d'huître. Cet appareil a été conçu par L. Potin, IFREMER - DIT, Brest.

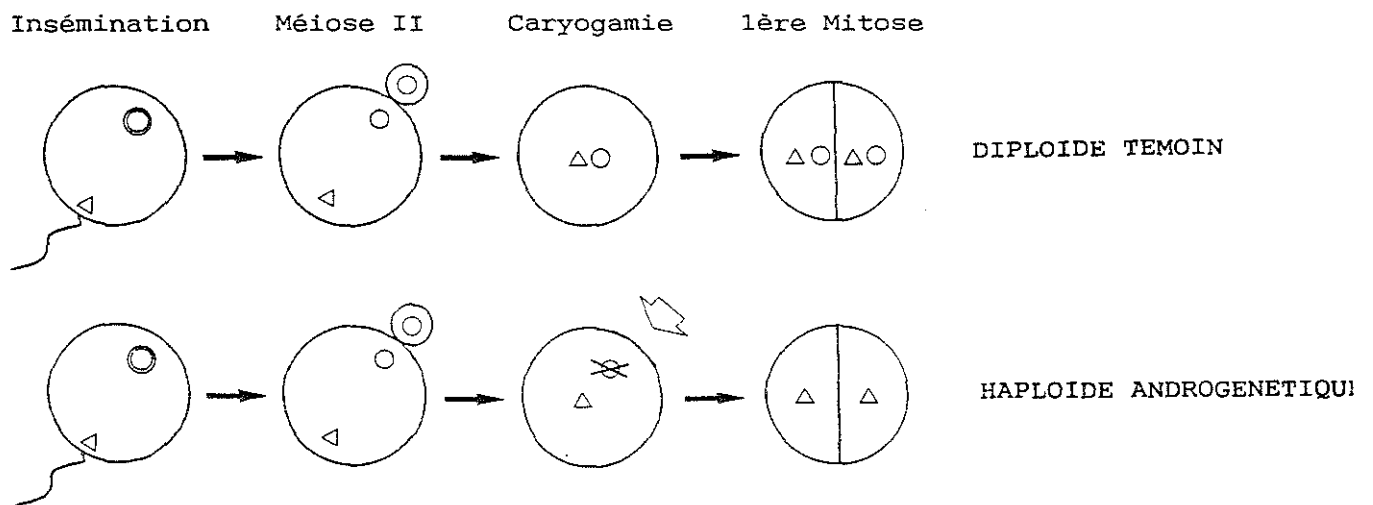


Figure 3 : Effet recherché par le choc de pression chez la truite et type d'individu attendu.

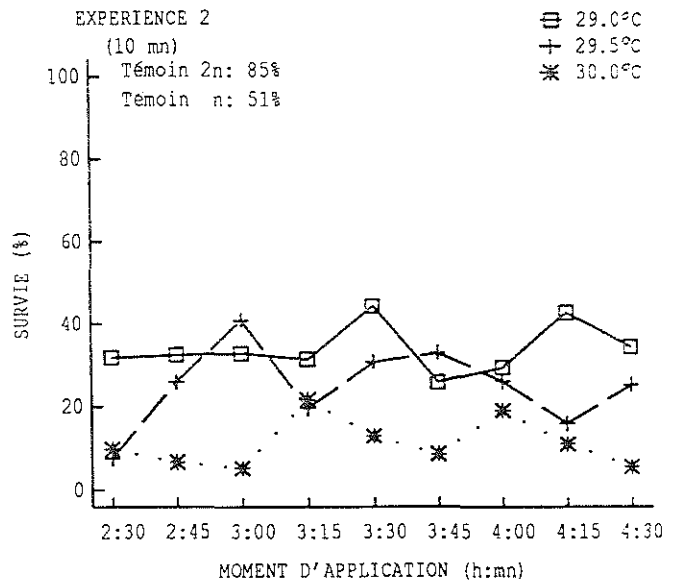
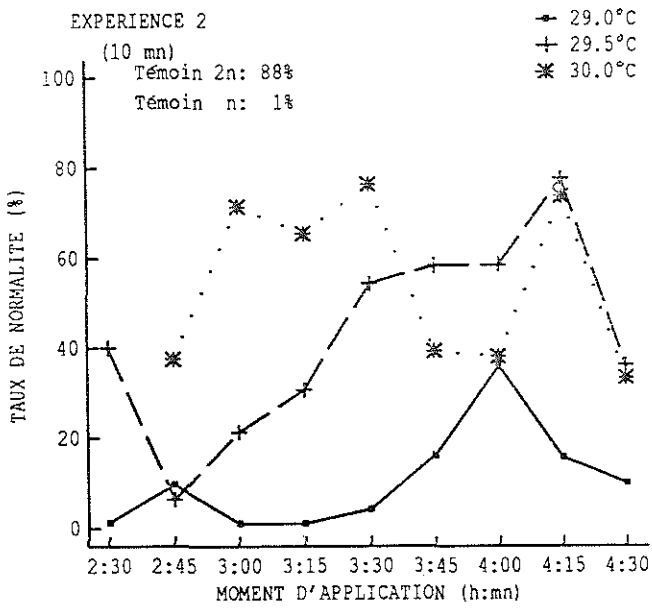
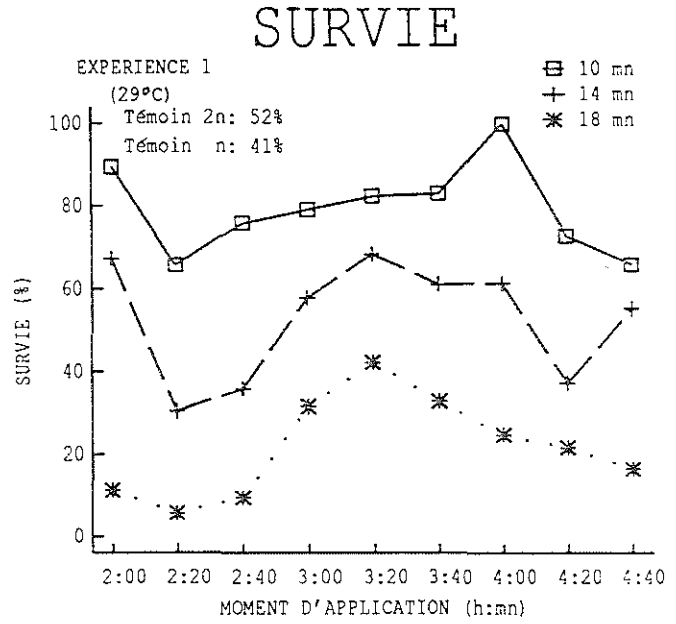
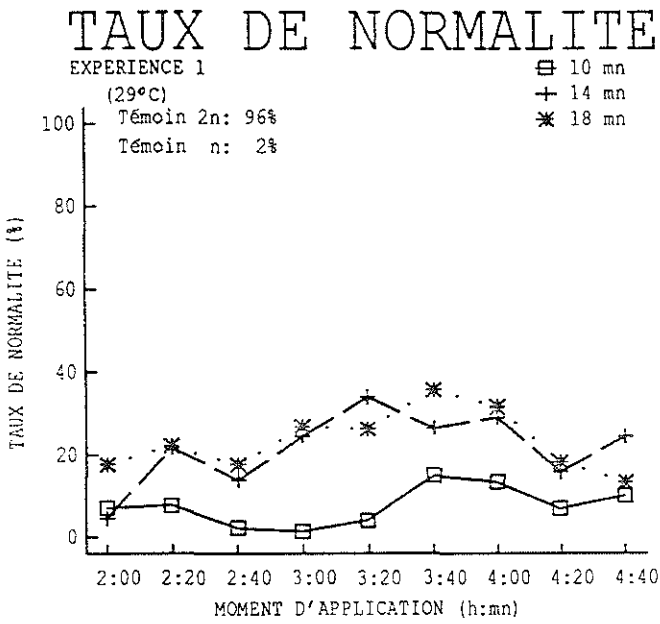


Figure 4 : Taux de normalité et survie au stade oeillé en fonction, d'une part, du moment d'application du choc chaud, et d'autre part de sa durée (expérience 1) ou de sa température (expérience 2). Au cours de ces expériences d'inhibition de la première mitose, les oeufs de truite ont été fécondés par du sperme irradié. Un fort taux de normalité et une survie élevée étaient recherchés. Le taux de normalité et la survie absolue des témoins haploïdes (n) et diploïdes (2n) sont indiqués sur les diagrammes.

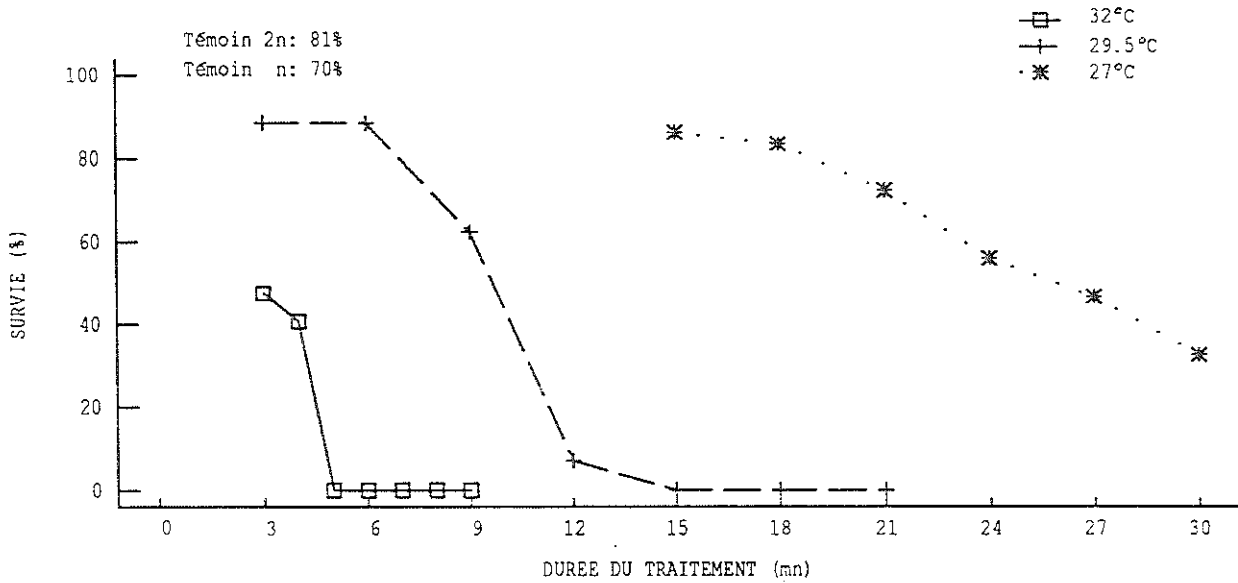


Figure 5 : Effet du couple température-durée du choc sur la survie au stade oeillé, chez la truite (inhibition de la première mitose). Le traitement a été appliqué à 3 h 45 après fécondation par du sperme irradié. Cette expérience 3 a défini les durées létales en fonction de la température du choc. La survie absolue du témoin haploïde (n) et celle du témoin diploïde (2n), à laquelle ont été rapportées les survies des lots traités, sont indiquées sur le diagramme.

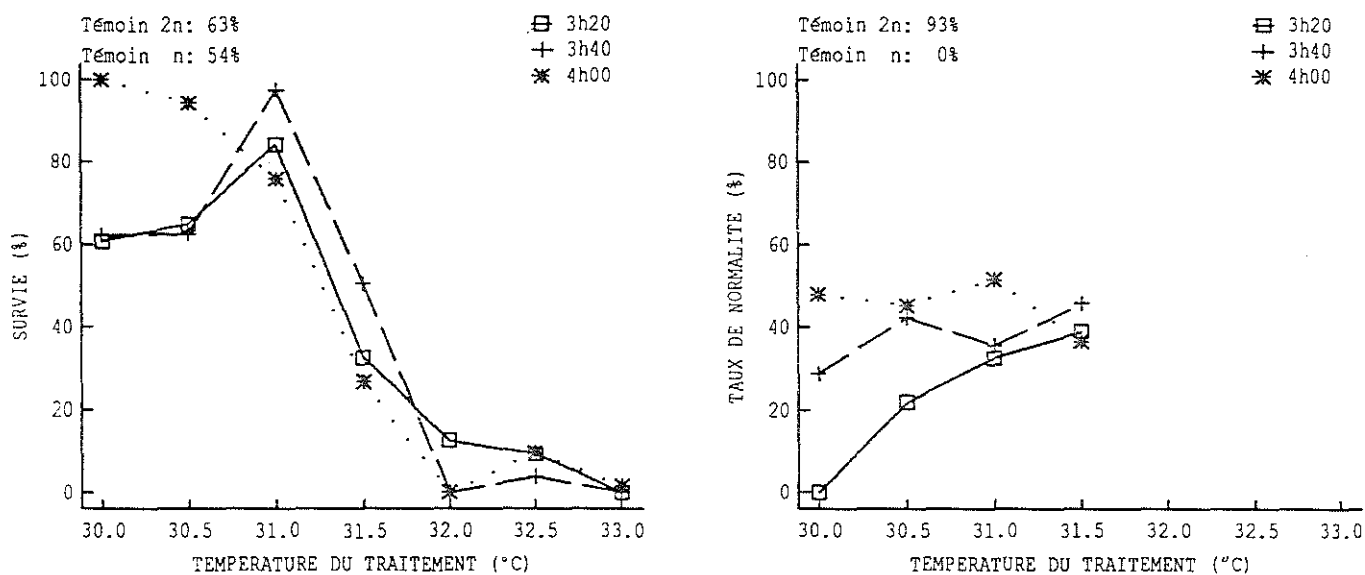


Figure 6a : Taux de normalité et survie au stade oeillé en fonction de la température et pour 3 moments d'application du choc, d'une durée de 5 mn. Le taux de normalité et la survie absolue des témoins sont indiqués sur les diagrammes (expérience 4 d'inhibition de la première mitose chez la truite).

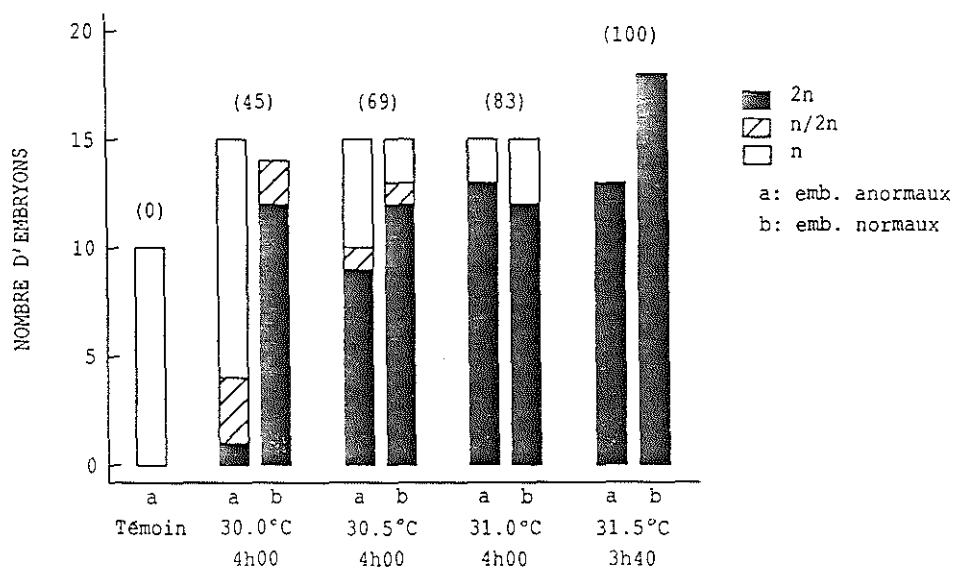


Figure 6b : Résultats de l'analyse caryologique des embryons issus des 4 meilleurs traitements de l'expérience 4. L'estimation du pourcentage global de diploïdes par rapport aux embryons est indiquée entre parenthèses.

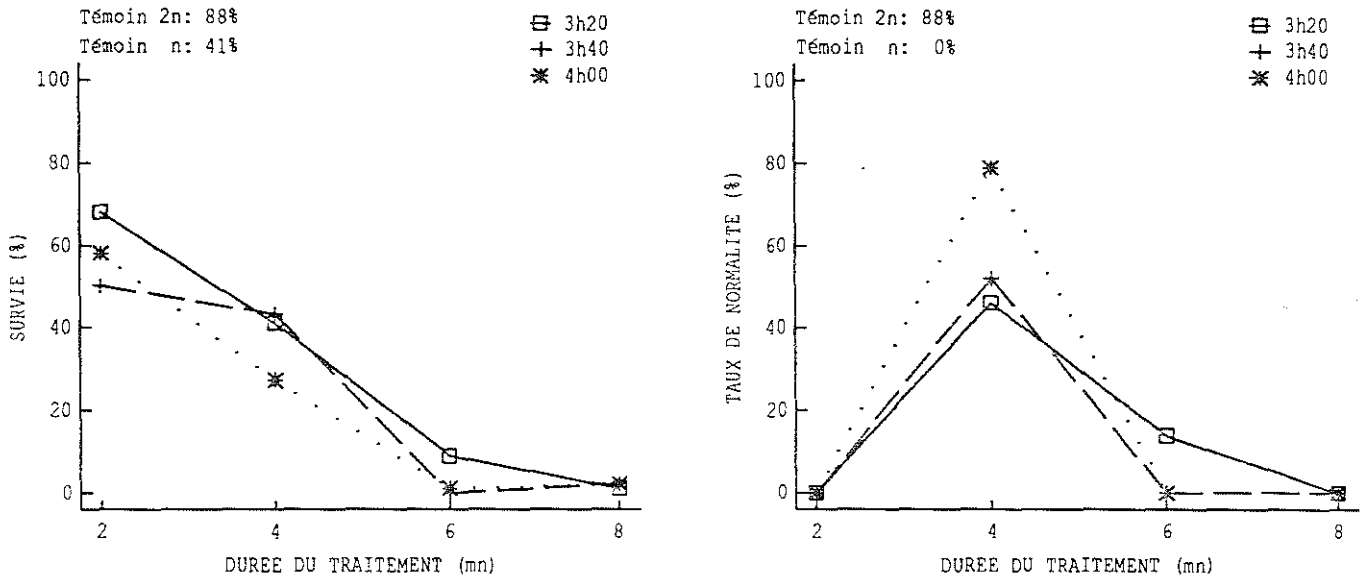


Figure 7a : Taux de normalité et survie au stade oeillé en fonction de la durée du choc à 32°C, et pour 3 moments d'application différents. Sur les diagrammes sont indiqués le taux de normalité et la survie absolue des témoins (expérience 5, inhibition de la première mitose chez la truite).

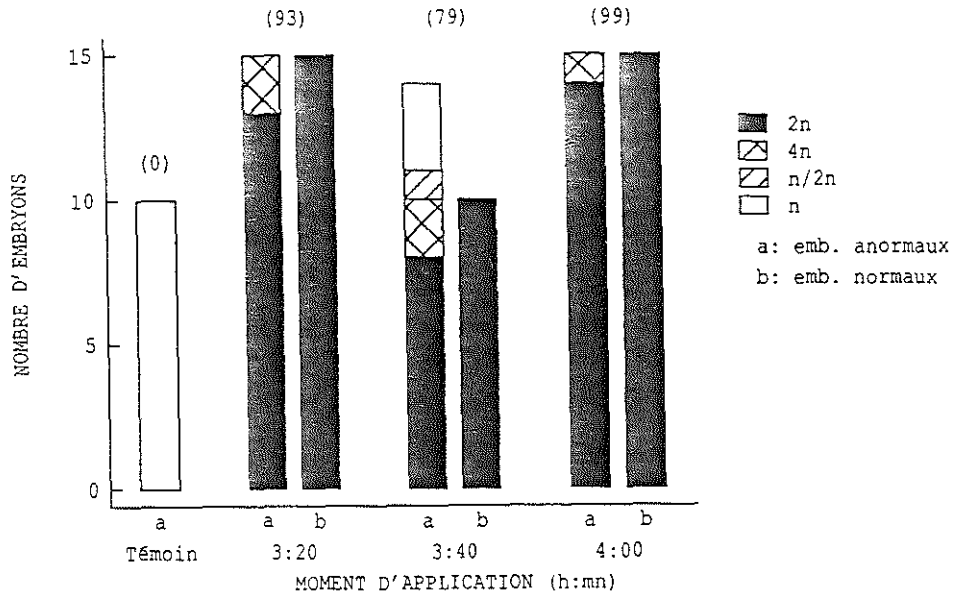


Figure 7b : Résultats de l'analyse caryologique des embryons issus des 3 traitements efficaces (durée de 4 mn) de l'expérience 5. L'estimation du pourcentage global de diploïdes par rapport aux embryons est indiquée entre parenthèses.

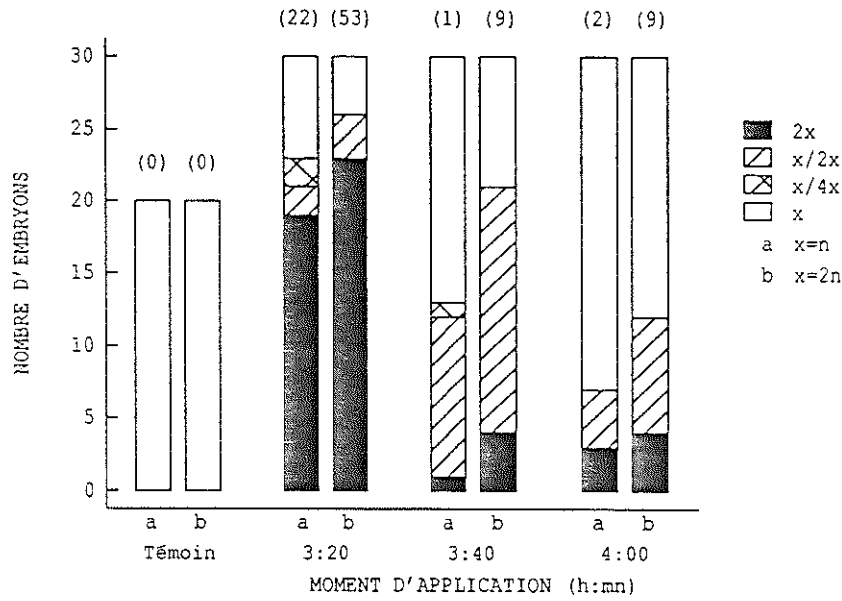


Figure 8a : Résultats de l'analyse caryologique des embryons provenant d'oeufs fécondés par du sperme irradié (a) ou intact (b). Le choc a duré 5 mn, à 31°C (expérience 6). L'estimation du pourcentage d'individus 2 x, c'est-à-dire diploïdes (a) ou tétraploïdes (b), par rapport au nombre initial d'ovules traités est indiqué entre parenthèses.

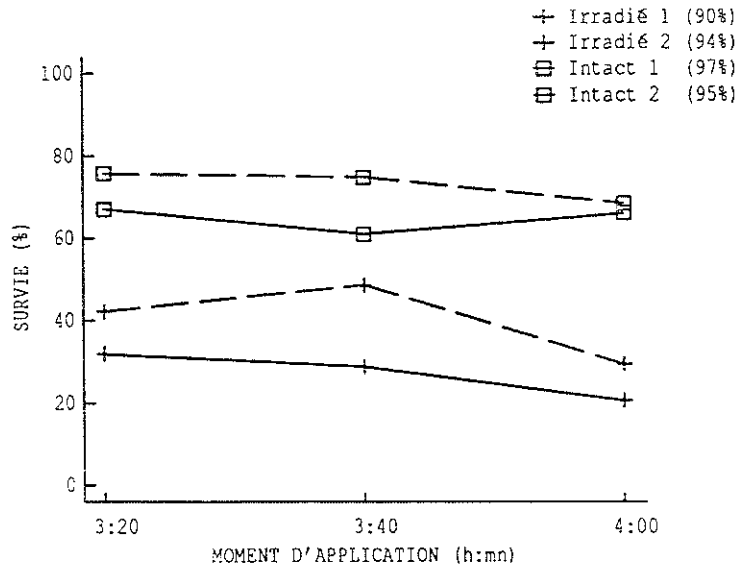


Figure 8b : Survie au stade oeillé des lots dupliqués (1 et 2) fécondés avec du sperme irradié ou intact et traités pendant 5 mn à 31°C (expérience 6, inhibition de la première mitose chez la truite). La survie absolue de chaque témoin est indiquée entre parenthèses.

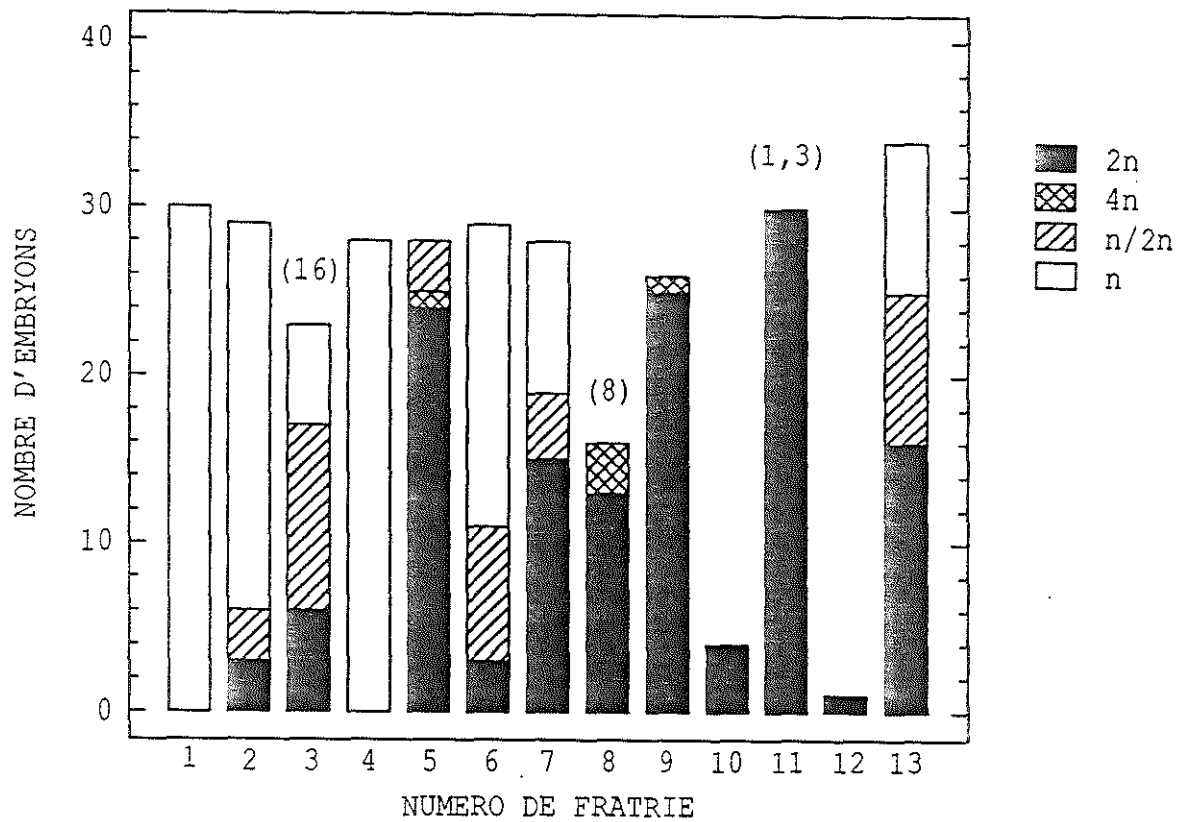


Figure 9 : Résultats de l'analyse caryologique des fratries gynogénétiques obtenues par un choc de 5 mn, à 30°C (n° 1 à 4) ou 31°C (n° 5 à 13) et appliqué 3 h 40) après fécondation. Les nombres entre parenthèses indiquent le pourcentage d'ovules diploïdes estimé d'après le nombre d'individus diploïdes éclos dans le témoin "sperme irradié" de la famille correspondante.

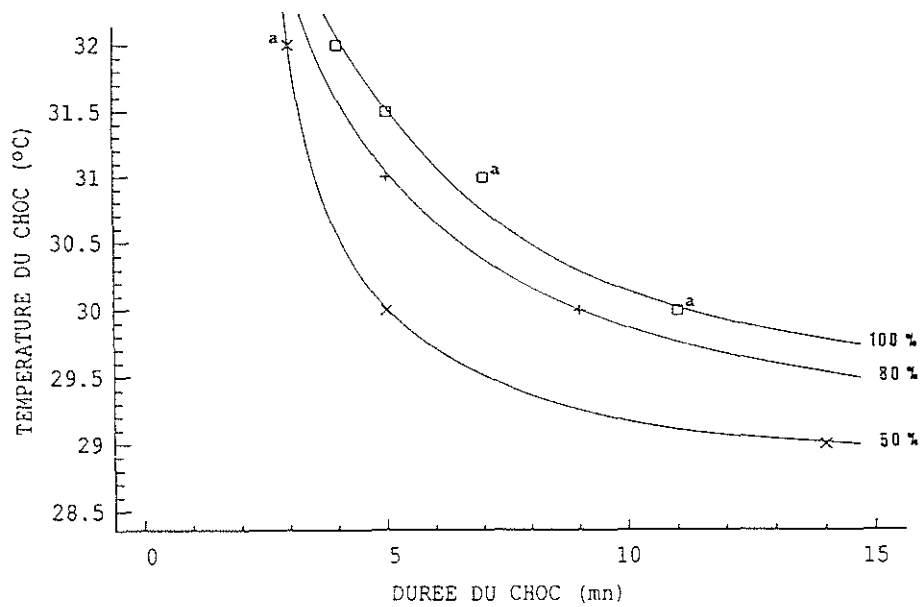


Figure 10 : Diagramme température-durée : courbes "d'iso-efficacité" du choc chaud en fonction du couple température-durée, dans la fenêtre de sensibilité 3 h 20 - 4 h 00 (courbes tracées à la main)
a : d'après E. Quillet (comm. pers.).

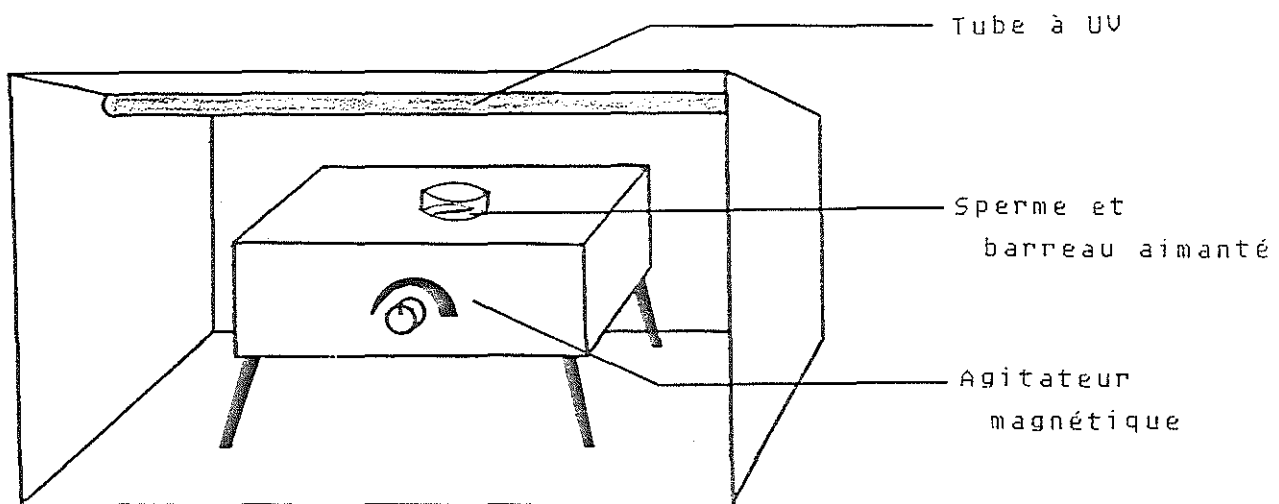


Figure 11 : Schéma du montage employé pour l'inactivation génétique du sperme par les rayons ultraviolets.

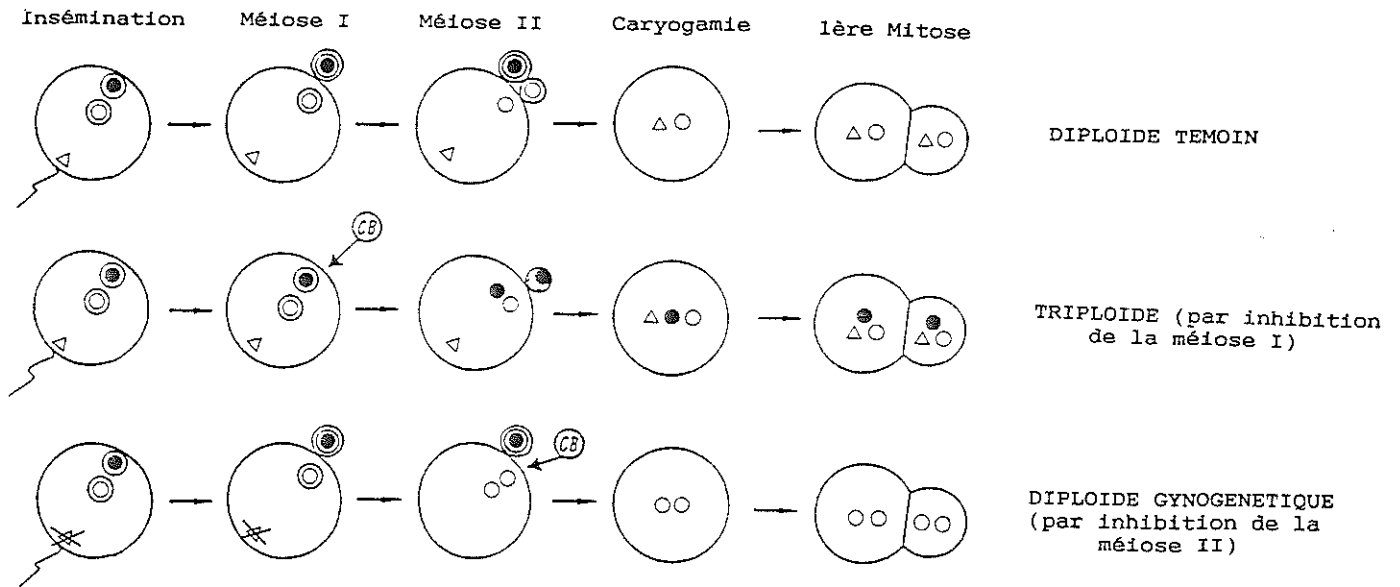


Figure 12 : Effets recherchés par le traitement avec la cytochalasine B et types d'individus attendus après une insémination par du sperme irradié ou intact.

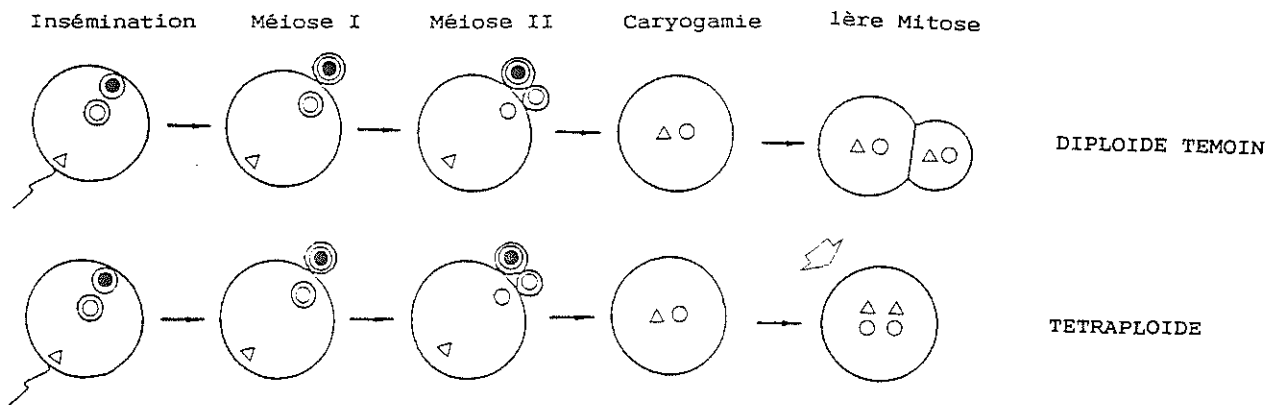


Figure 13 : Effet recherché par le choc de pression chez l'huître et type d'individu attendu.

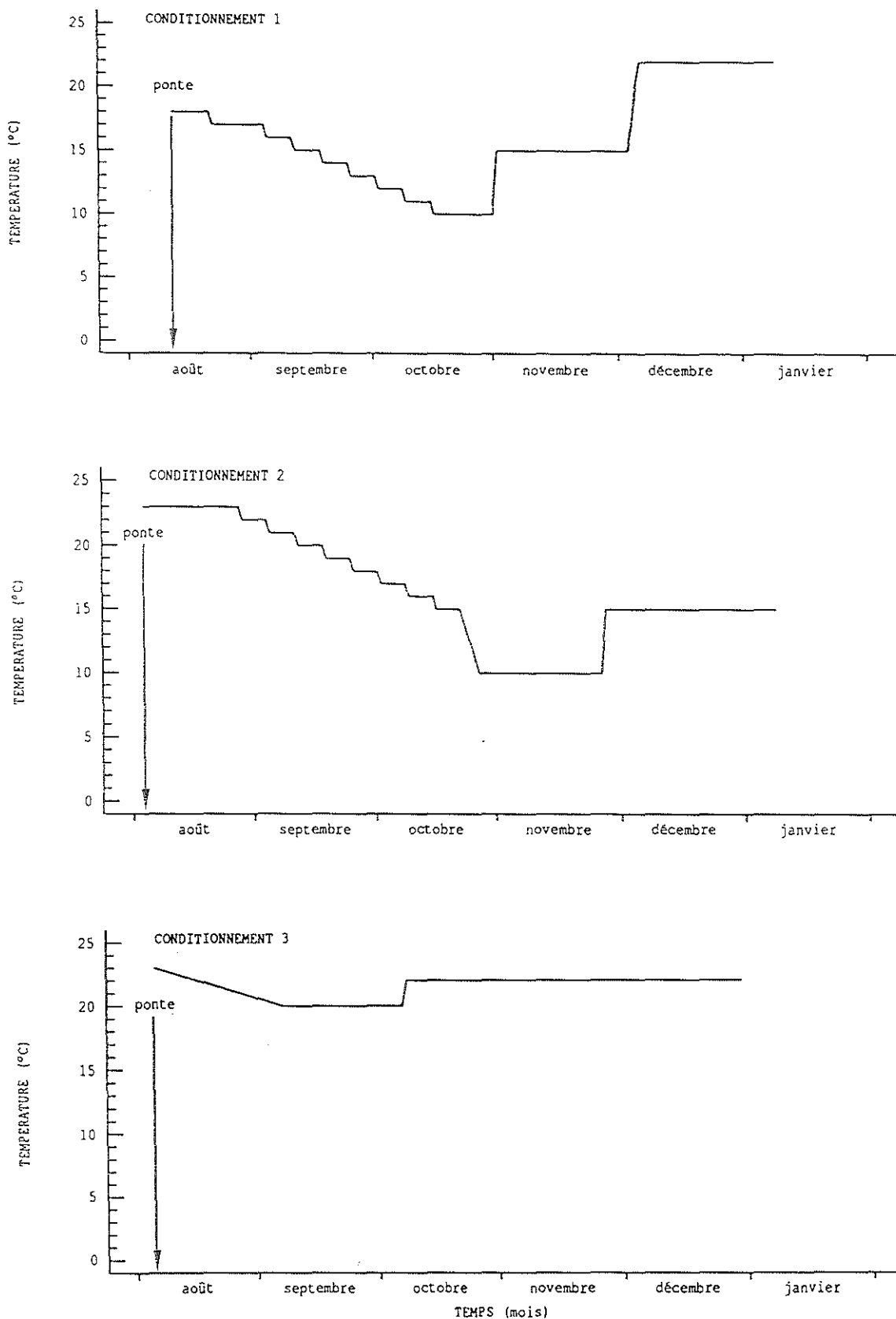


Figure 14 : Courbes de température des 3 conditionnements testés pour l'induction d'une maturation automnale chez l'huître *C. gigas*.

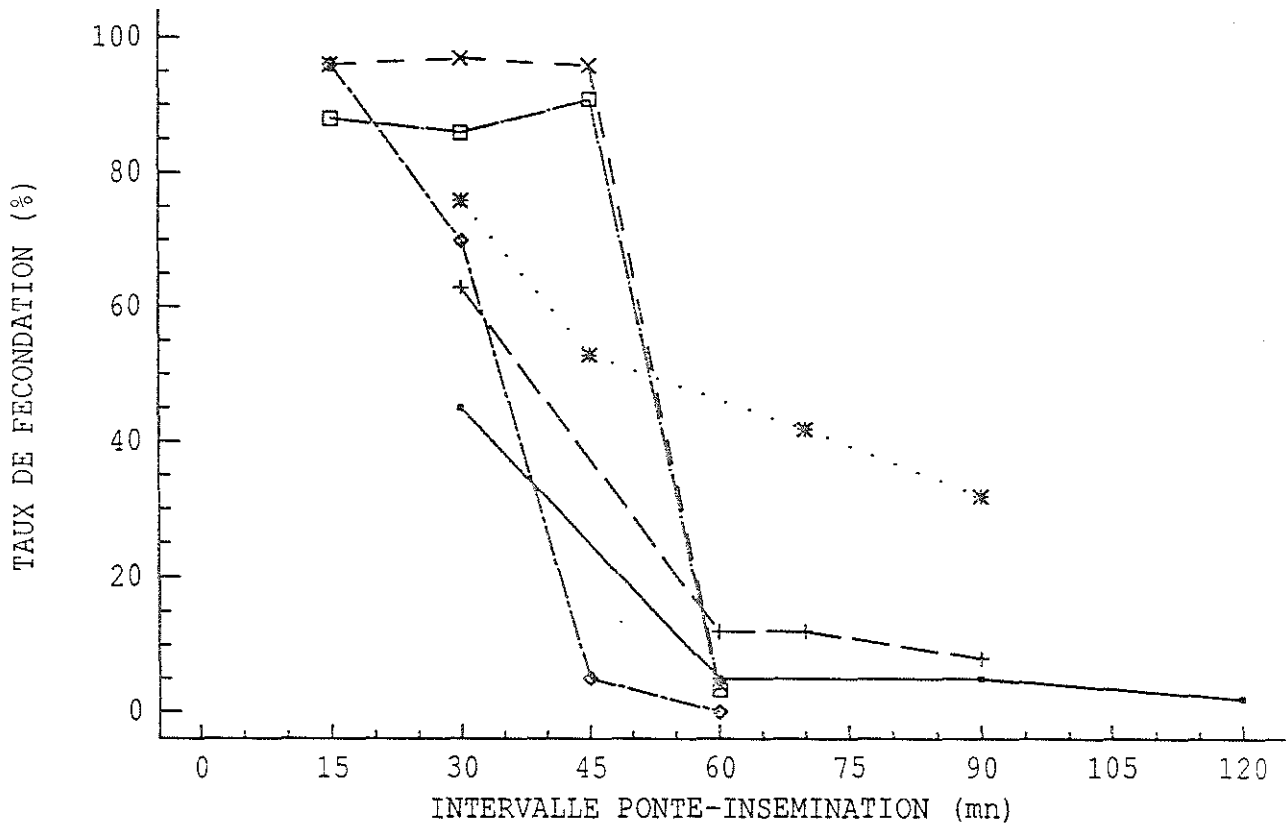


Figure 15 : Taux de fécondation en fonction de l'intervalle de temps entre la ponte des ovules et l'insémination (vieillesse des ovules) chez l'huître *C. gigas*. Les pontes de 6 femelles ont été individuellement inséminées par un pool de sperme. Les géniteurs ont mûri hors saison (pontes en mars).

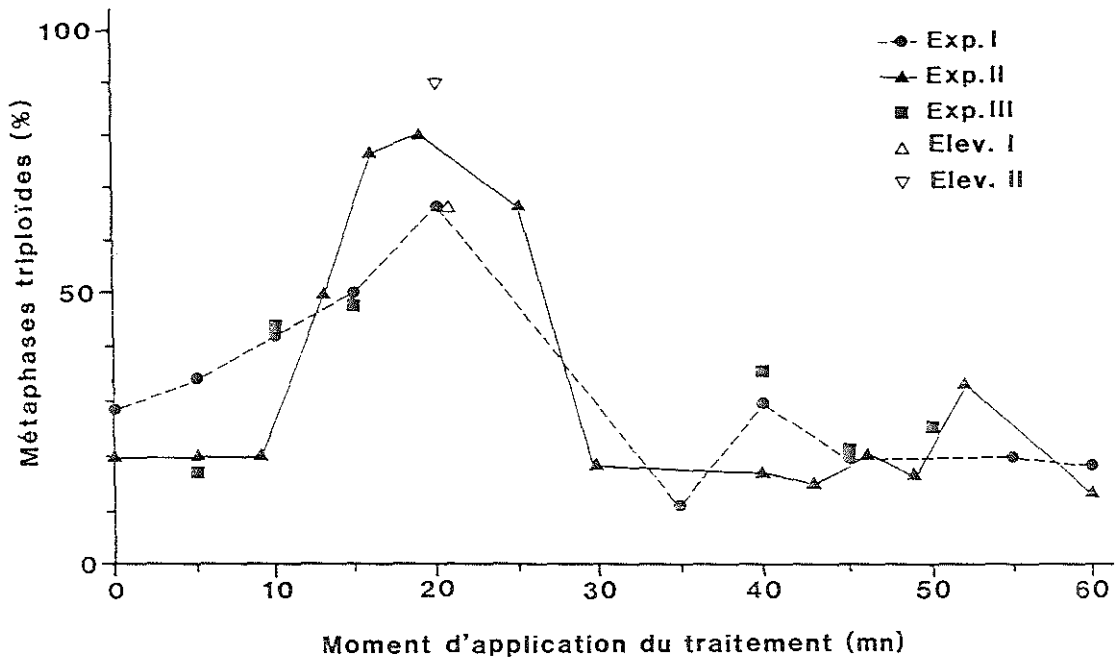


Figure 16 : Pourcentage d'embryons triploïdes chez la palourde, en fonction du moment d'application du traitement avec la CB. Les résultats des 3 expériences de mise au point et de 2 inductions destinées à l'élevage sont reportés sur le graphe.

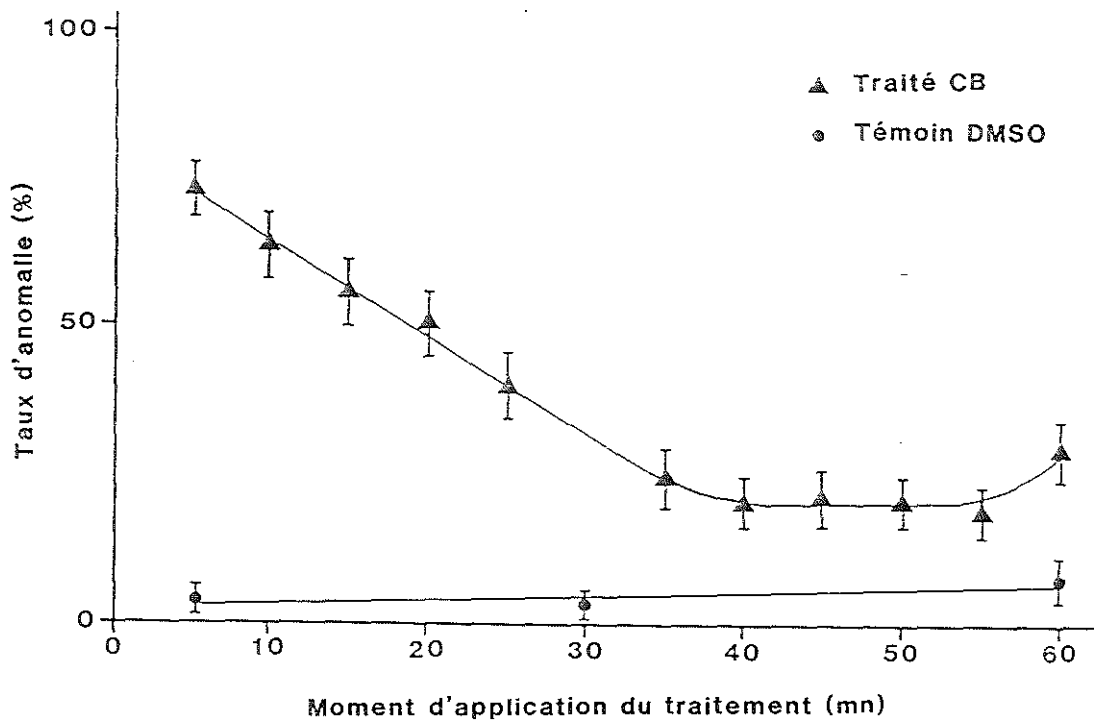


Figure 17 : Taux d'anomalie dans les lots traités avec la CB et dans les témoins traités avec le DMSO seulement, en fonction du moment d'application. Ces observations ont été faites sur des palourdes âgées de 7 heures. Les traits verticaux correspondent aux intervalles de confiance à 95 % (n = 300).

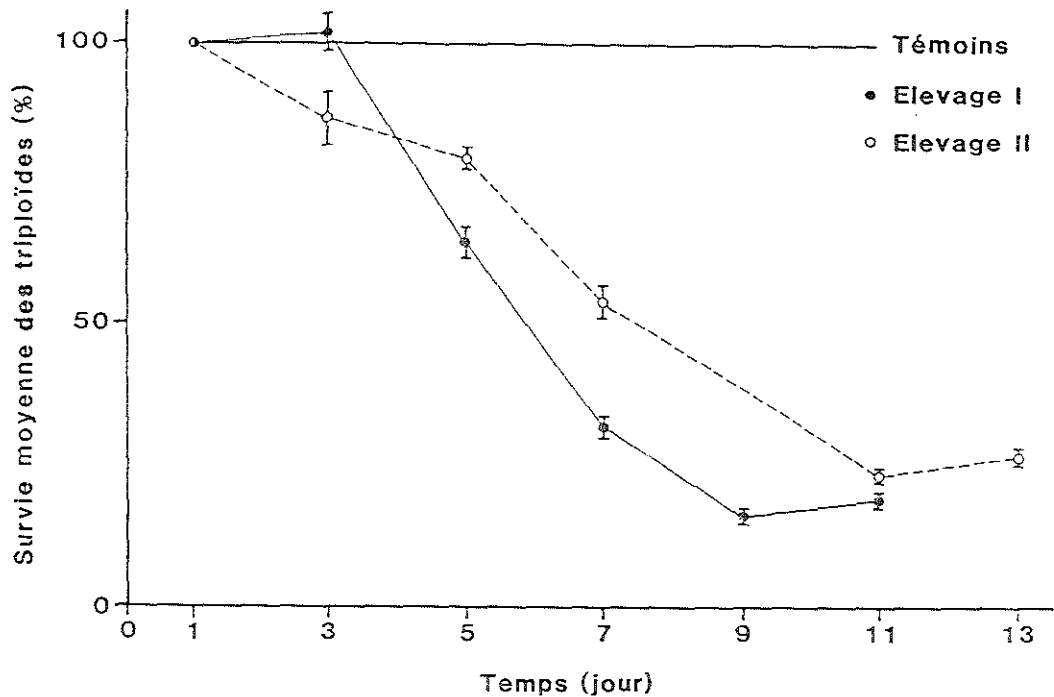


Figure 18a : Survie moyenne (2 réplicats) des lots triploïdisés rapportée à celle des témoins, pendant l'élevage larvaire, chez la palourde. Deux élevages successifs ont été menés. Les traits verticaux représentent l'erreur standard de la moyenne des 2 réplicats. La survie absolue des témoins s'élevait à 18,4 % dans l'élevage I et à 34,3 % dans l'élevage II.

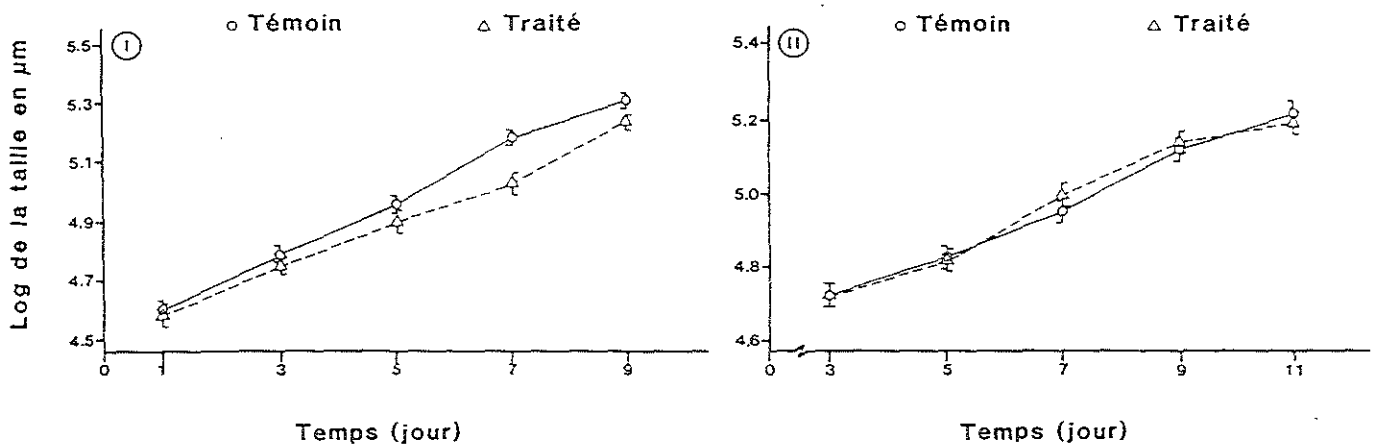


Figure 18b : Croissance des lots traités et des témoins (moyenne des duplicats) dans les deux élevages larvaires de palourdes. Les traits verticaux représentent les intervalles de confiance à 95 %, calculés d'après la variance résiduelle de l'ANOVA.

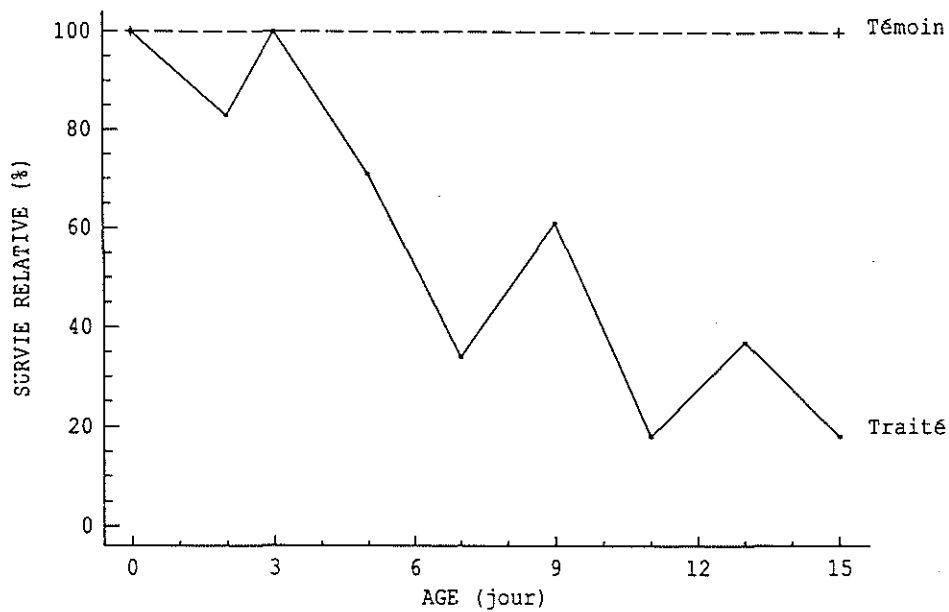


Figure 19a : Survie du lots traité, rapportée au témoin, dans l'élevage larvaire de pétoncles. La survie absolue du témoin s'élevait à 21 % au jour 15.

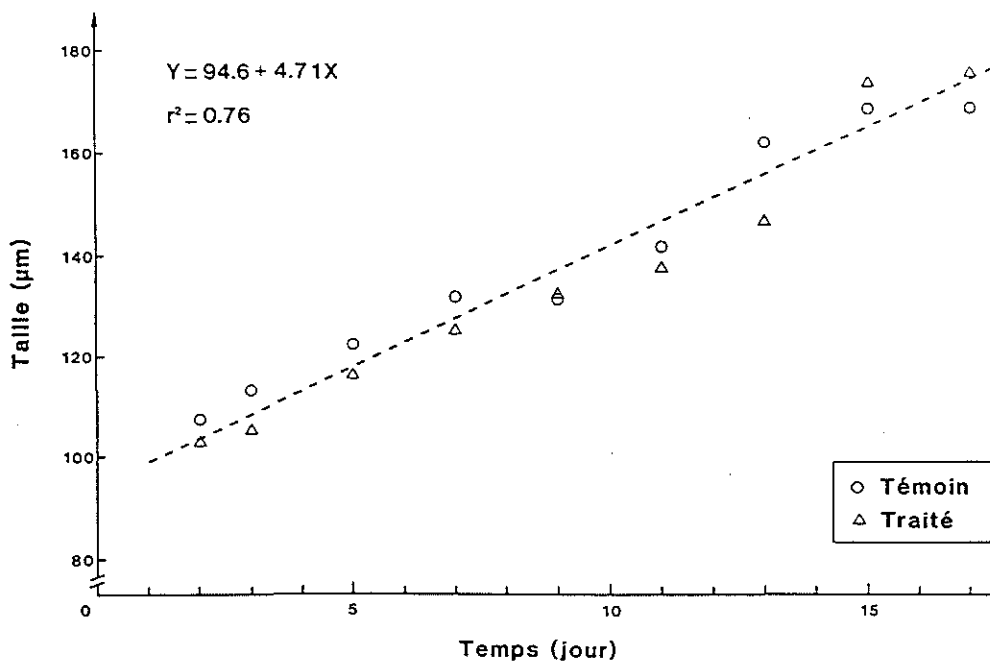


Figure 19b : Croissance larvaire du lot traité avec la CB et de son témoin chez le pétoncle. Aucune différence significative n'ayant été détectée entre les deux lots, une droite de régression a été ajustée aux données regroupées. Son équation et le coefficient de détermination (hautement significatif, pour $n = 540$) sont indiqués sur le graphe.

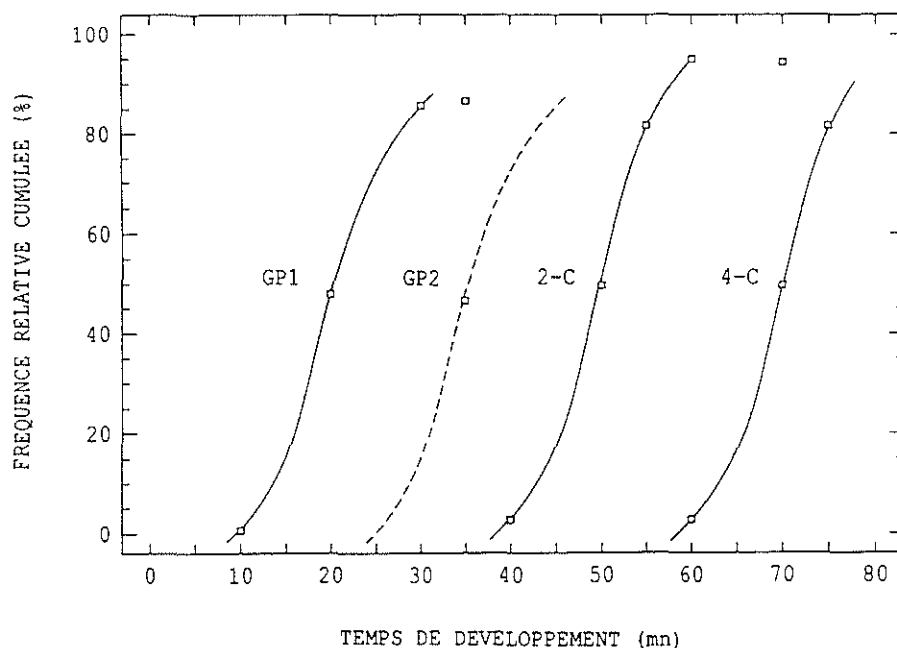


Figure 20 : Moments d'apparition du premier et du second globule polaire (GP1 et GP2) et des stades 2- et 4- cellules (2-C et 4-C) chez la palourde. Les sigmoïdes (tracées à la main) représentent les fréquences relatives cumulées de chaque stade présent dans la population (300 individus par comptage).

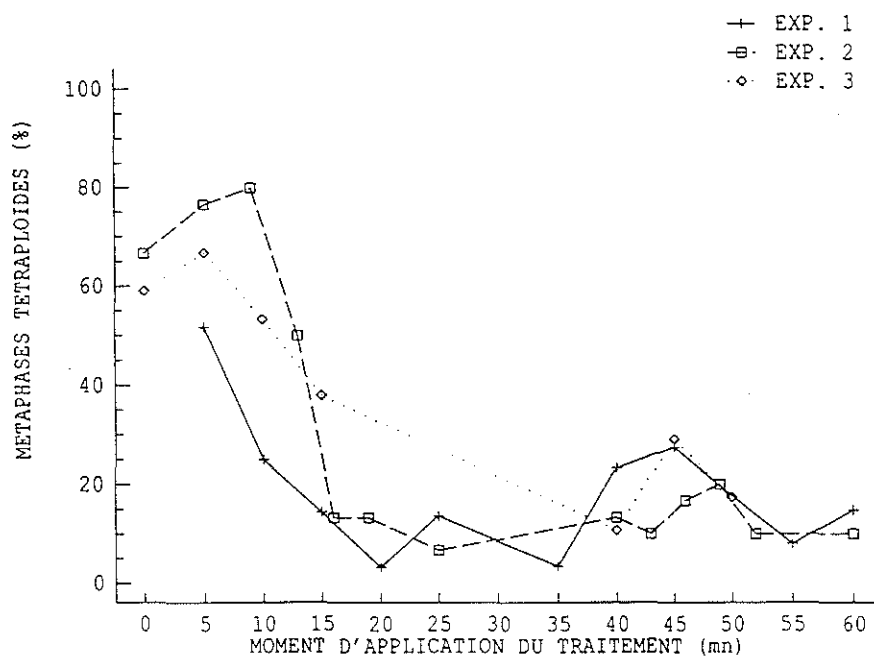


Figure 21 : Pourcentage d'embryons tétraploïdes, chez la palourde, en fonction du moment d'application du traitement (CB). Les résultats de 3 expériences de mise au point sont rapportés.

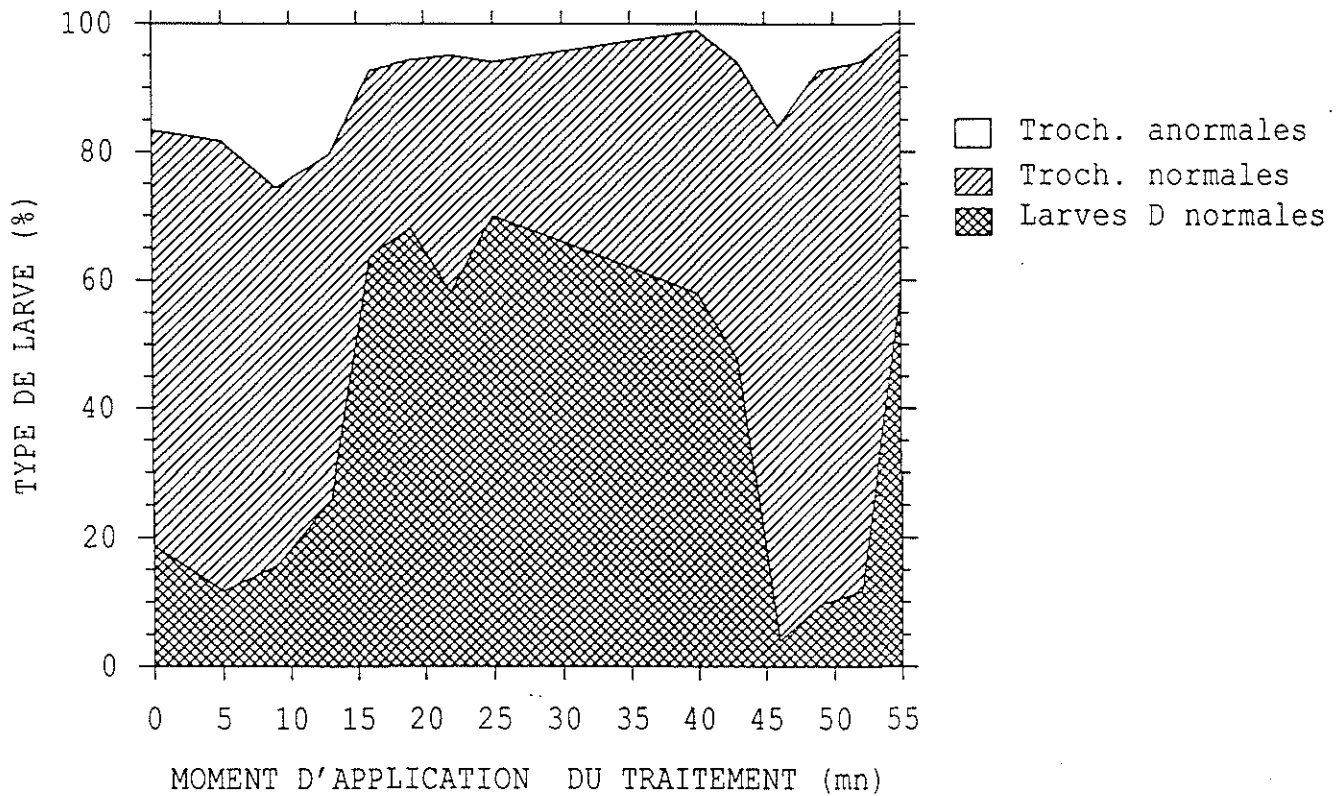


Figure 22 : Pourcentages de larves D normales et trochophores normales et anormales en fonction du moment d'application du traitement (CB). L'observation a été faite sur des larves de palourdes âgées de 26 heures. Le témoin était composé de 84 % de larves D et 16 % de larves trochophores normales.

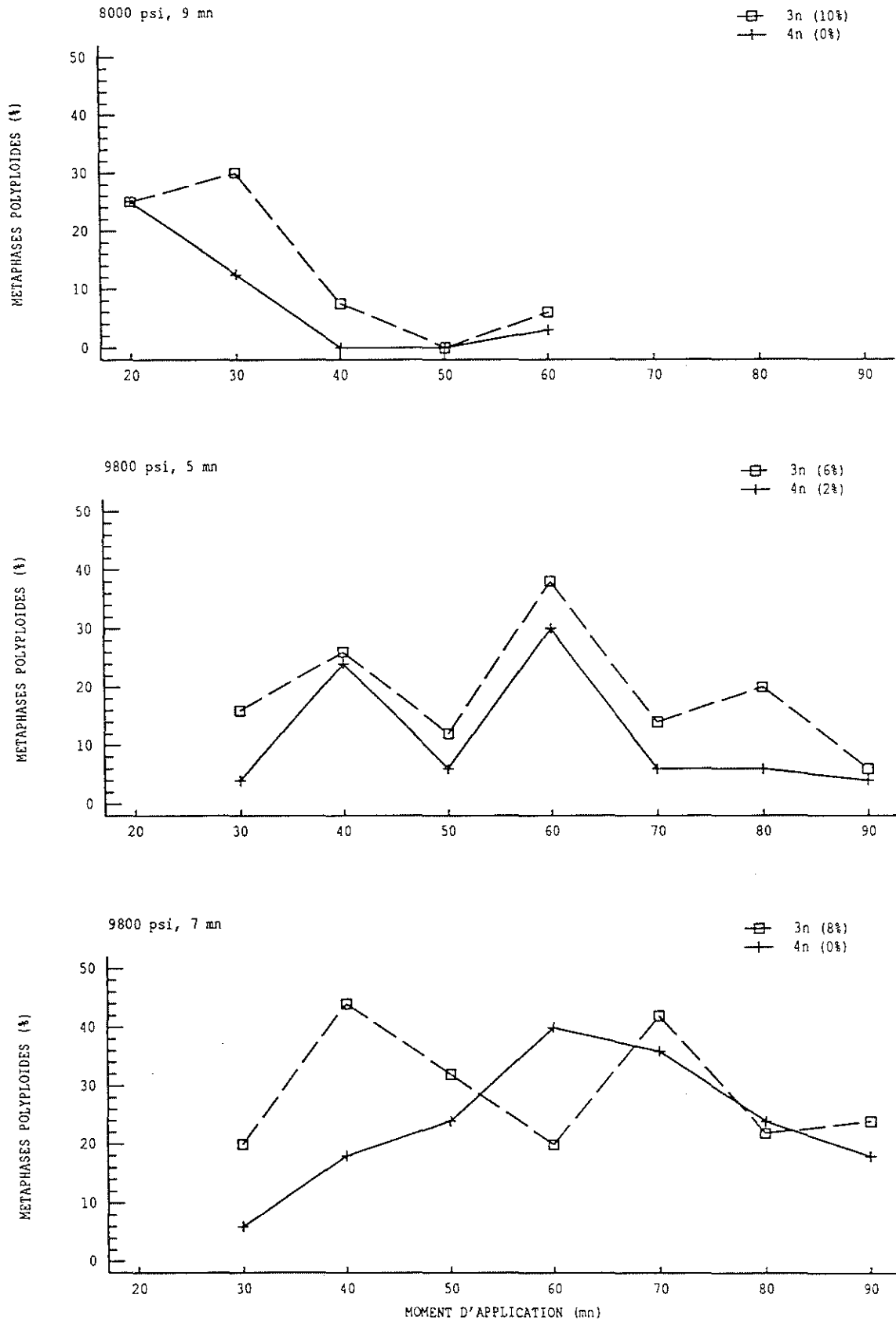


Figure 23 : Pourcentage d'embryons triploïdes et tétraploïdes produits par des chocs de pression de différentes intensités et appliqués à divers moments du développement, chez l'huître. Le taux de triploïdes et de tétraploïdes enregistré dans le témoin est indiqué entre parenthèses pour chaque expérience.

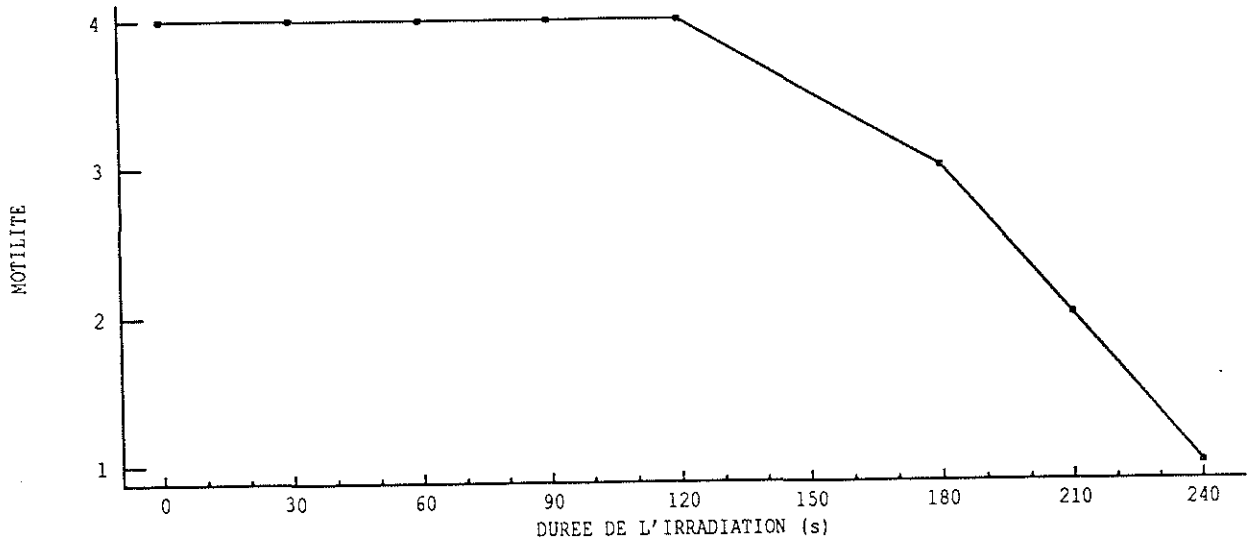


Figure 24 : Motilité des spermatozoïdes d'huître en fonction de la durée d'exposition aux rayons UV. Echelle de motilité : 4 = motilité normale, identique au témoin (tous les spermatozoïdes nagent rapidement) ; 3 = motilité affectée (presque tous les spermatozoïdes nagent, mais moins rapidement que dans le témoin) ; 2 = faible motilité (les spermatozoïdes nagent sur place) ; 1 = plus de motilité (les spermatozoïdes semblent être affectés de mouvements browniens).

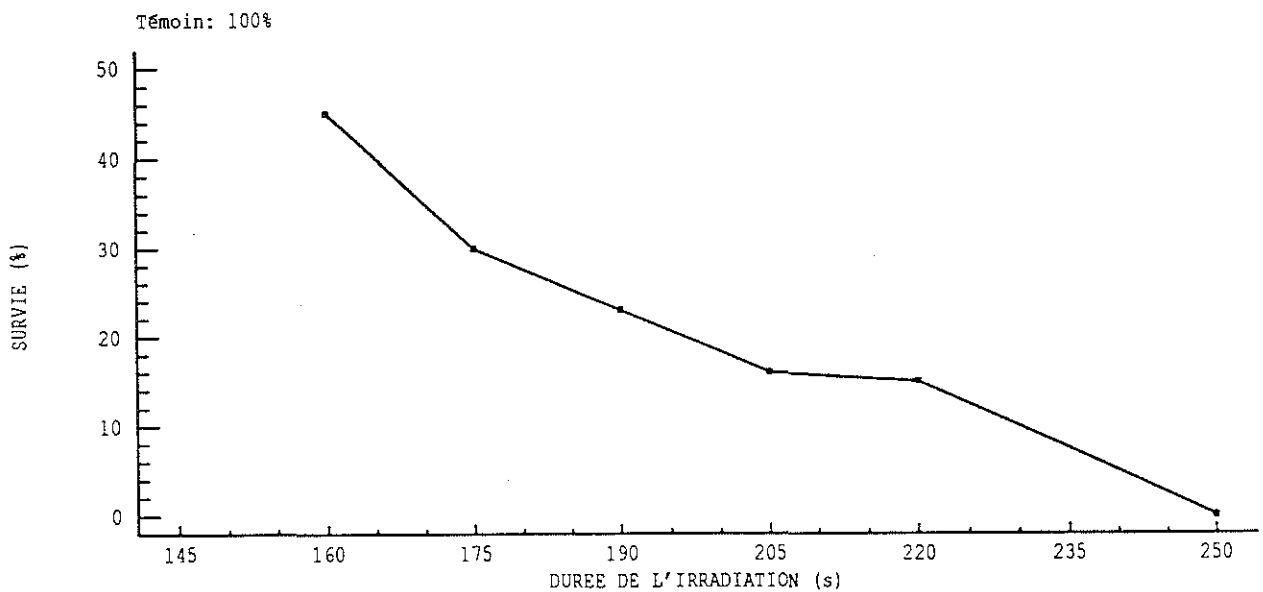


Figure 25 : Survie des lots fécondés avec du sperme ayant reçu des doses croissantes de rayonnement UV (témoin = 100 %), chez l'huître.

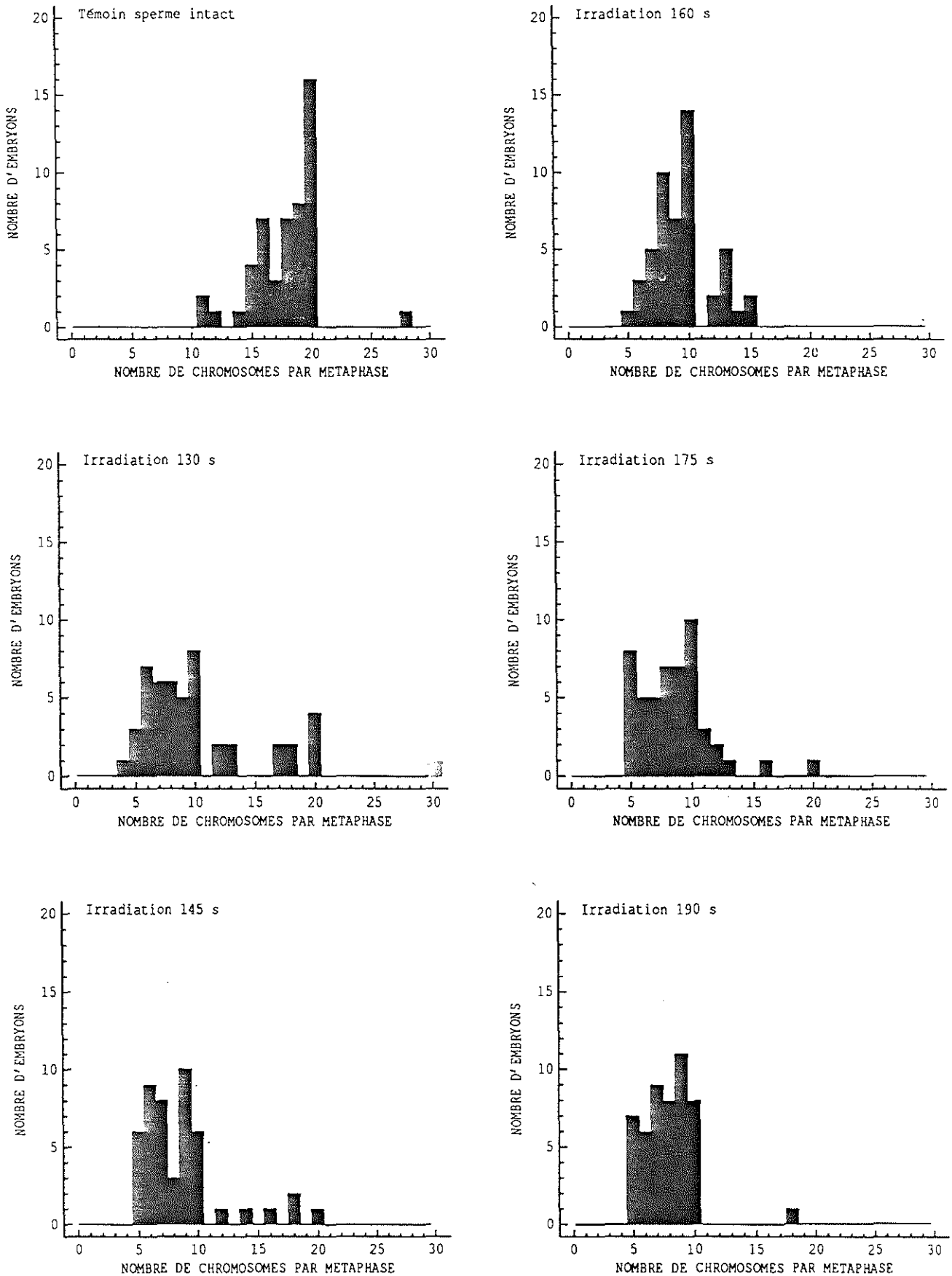


Figure 26 : Comptages chromosomiques effectués dans des lots fécondés avec du sperme irradié pendant des durées croissantes. Chez l'huître, le nombre diploïdes est 20.

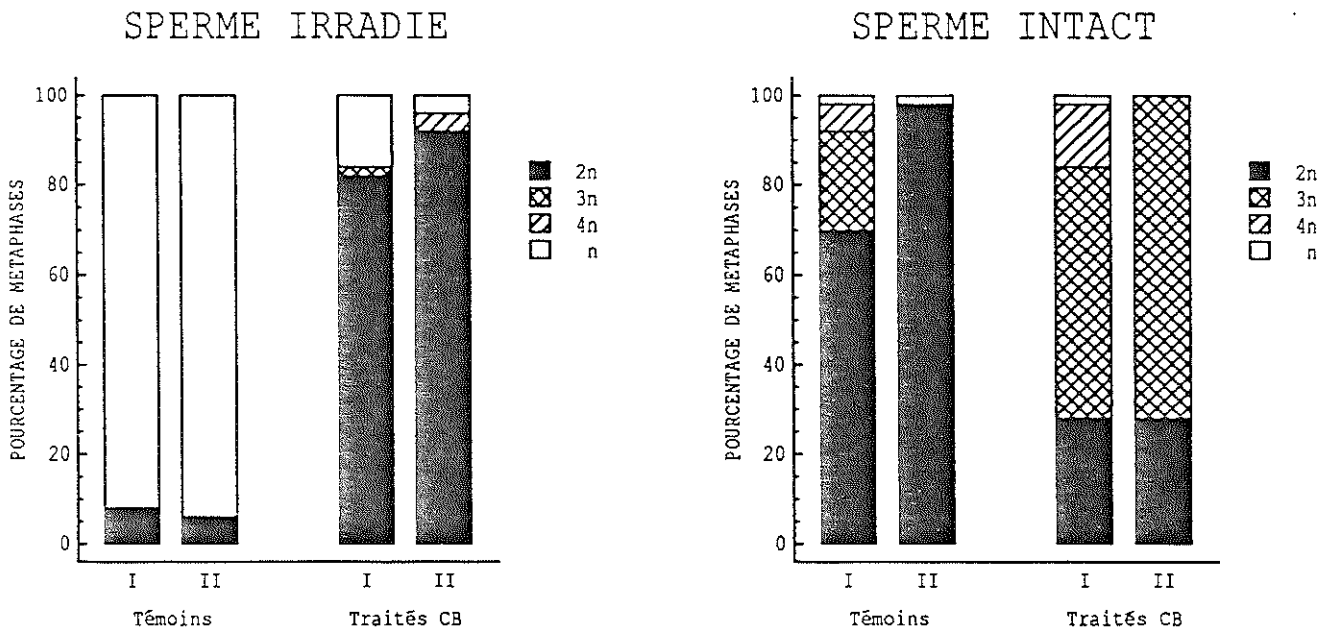


Figure 27 : Résultats caryologiques de deux expériences (I et II) de restauration de la diploïdie après gynogénèse, chez l'huître. Des oeufs fécondés avec du sperme irradié ou intact ont été traités avec la CB à 25 mn pour retenir un globule polaire.

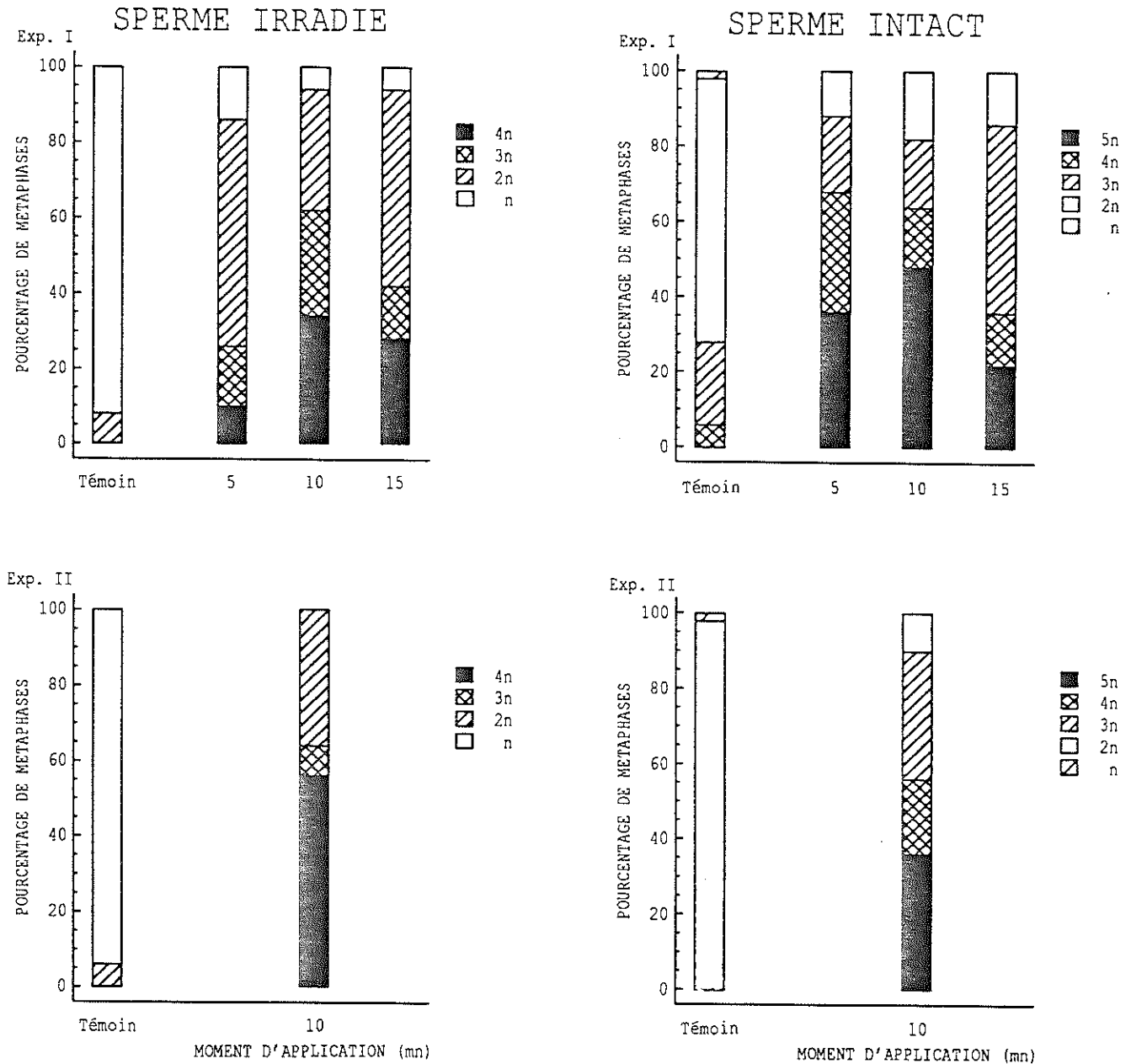


Figure 28 : Résultats caryologiques de deux expériences d'induction de la tétraploïdie dans des oeufs gynogénétiques, chez l'huître. Les oeufs fécondés avec du sperme irradié et ceux fécondés avec du sperme intact (témoin) ont été traités précocement avec la CB. Les pourcentages de métaphases polyploïdes, enregistrés lors de l'expérience I ont varié en fonction du moment d'application du traitement. L'expérience II a confirmé la ploïdie des produits obtenus.

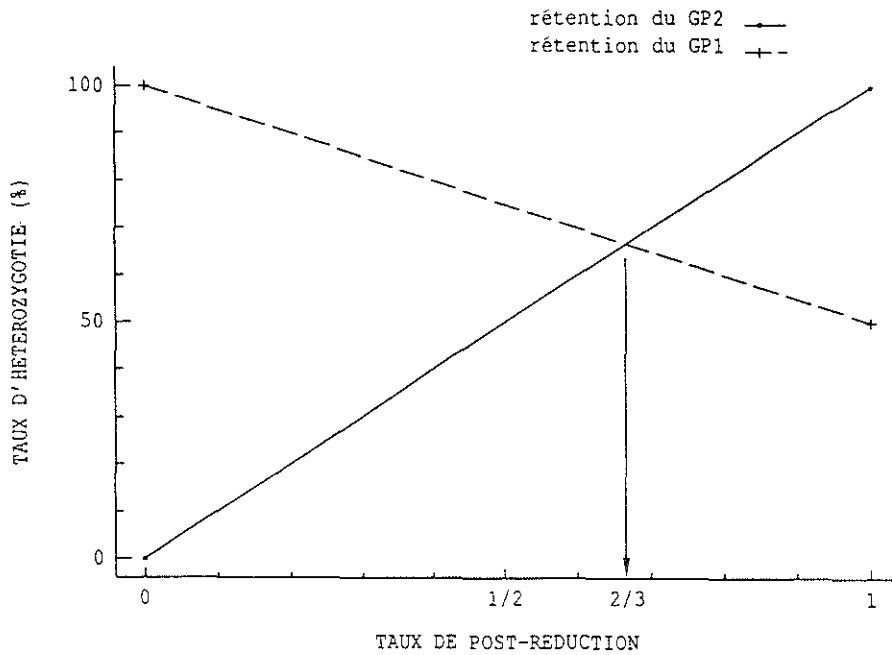


Figure 29 : Taux d'hétérozygotie obtenu par rétention du GP1 ou du GP2 en fonction du taux de post-réduction p . Pour un gène lié au centromère, $p = 0$. Pour un gène indépendant du centromère, $p = 2/3$. En présence de phénomène d'interférence, p est supérieur à $2/3$ et peut atteindre 1 (interférence totale = 1 et 1 seul crossing-over systématique entre le gène et son centromère). Ce phénomène est observé chez les poissons (Guyomard, 1984, 1986).

Tableau 1 : Protocoles expérimentaux de la mise au point de l'endomitose par choc chaud chez la truite arc-en-ciel.

Expérience n°	Température °C	Durée mn	Moment h : mn	Témoins ^a		Lots traités ^a		Souche ^b
				Irr.	Nor.	Irr.	Nor.	
1	29	10 - 18 (4) ^c	2:00 - 4:40 (20)	1	1	27	-	GAT
2	29 - 30 (0,5)	10	2:30 - 4:30 (15)	3	1	27	-	GAT
3	27	15 - 30 (3)	3:45	1 } 1	1	20	-	GAT
	29,5	3 - 21 (3)	3:45					
	32	3 - 9 (1)	3:45					
4	30 - 33 (0,5)	5	3:20 - 4:00 (20)	4	1	21	-	GAT
5	32	2 - 8 (2)	3:20 - 4:00 (20)	1	1	12	-	GAT
6	31	5	3:20 - 4:00 (20)	2	2	6	6	P

a : Nombre de lots témoins ou traités réalisés avec du sperme irradié (Irr.) ou normal (Nor.).

b : GAT : souche Gournay Automnale Tardive, P : souche Printanière.

c : Les nombres entre parenthèses représentent les intervalles entre les temps ou températures testés.

Tableau 2 : Protocoles expérimentaux de la mise au point de l'androgenèse haploïde par choc de pression chez la truite arc-en-ciel.

Expérience n°	Pression psi	Durée mn	Moment h : mn	Témoins ^a		Souche ^b
				Irr.	Nor.	
1	8 500	2 - 6 (2) ^c	1:00 - 2:20 (20)	1	1	GAT
2	9 500	2 - 6 (2)	1:20 - 2:20 (20)	1	1	GAT
3	7 500	2 - 6 (2)	1:00 - 2:20 (20)	1	1	GAT
4	8 000	2 - 6 (2)	1:00 - 2:20 (20)	1	1	GAT
5	9 000	2 - 6 (2)	1:00 - 2:20 (20)	1	1	P

a : Nombre de lots témoins ou traités réalisés avec du sperme irradié (Irr.) ou normal (Nor.).

b : GAT : souche Gournay Automnale Tardive, P : souche Printanière.

c : Les nombres entre parenthèses représentent les intervalles entre les temps ou températures testés.

Tableau 3 : Taux d'anomalie et survie (nombre entre parenthèses) au stade oeillé, en fonction des 3 paramètres variables du choc de pression. Les nombres encadrés correspondent aux lots étudiés en caryologie.

Pression (psi) Durée (mn)	7 500			8 000			8 500			9 000			9 500		
	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
Moment (h : mn)															
1 : 00	7,2 (86)	20,2 (78)	17,9 (67)	8,9 (103)	16,7 (96)	20,9 (104)	14,9 (98)	28,8 (95)	36,1 (85)	- (98)	- (98)	- (100)			
1 : 20	10,0 (55)	16,9 (76)	14,3 (98)	14,3 (79)	18,6 (90)	18,1 (83)	12,6 (100)	19,1 (95)	29,4 (65)	- (98)	- (99)	- (101)	3,5 (131)	5,6 (176)	13,5 (103)
1 : 40	10,1 (40)	12,7 (56)	20,4 (44)	12,3 (97)	11,1 (89)	23,0 (53)	14,9 (97)	20,3 (85)	76,2 (42)	- (99)	- (76)	- (26)	4,4 (140)	28,8 (87)	24,3 (40)
2 : 00	12,0 (57)	14,9 (65)	43,1 (57)	10,2 (97)	25,8 (77)	26,7 (47)	26,1 (98)	49,5 (51)	100 (3)	- (96)	- (41)	- (10)	11,7 (120)	16,4 (59)	43,3 (16)
2 : 20	6,1 (38)	40,3 (48)	68,0 (39)	10,7 (100)	58,2 (54)	75,0 (4)	22,3 (98)	59,1 (55)	96,0 (6)	- (93)	- (14)	- (0)	68,5 (46)	0 (2)	- (0)
Témoin sperme normal (survie absolue)	7,3 (53,1)			7,1 (62,9)			10,2 (97,9)			- (99)			3,1 (44,2)		
Témoin sperme irradié (survie relative au témoin normal)	-			90,2 (13)			85,5 (64)			-					

Tableau 4 : Moyennes des taux d'anomalie \bar{A} et des survies \bar{S} par modalité des facteurs durée, moment et pression du choc.
n = nombre de traitements entrant en compte dans le calcul de la moyenne.

	Taux d'anomalie		Survie	
	\bar{A}	n	\bar{S}	n
Durée (mn)				
2	14,8	19	90,2	24
4	24,4	19	73,4	24
6	41,5	18	49,7	24
Moment (h : mn)				
1 : 00	19,1	9	92,3	12
1 : 20	14,7	12	96,6	15
1 : 40	21,5	12	71,4	15
2 : 00	31,6	12	59,6	15
2 : 20	45,8	11	39,8	15
Pression (psi)				
7 500	21,2	15	60,3	15
8 000	23,2	15	78,2	15
8 500	40,6	15	71,5	15
9 000	-	0	69,9	15
9 500	20,0	11	76,7	12

Tableau 5 : Estimation du pourcentage d'embryons haploïdes (par rapport aux embryons vivants) produits par les meilleurs traitements.

Moment (h : mn)	Pression (psi)	Durée (mn)	Haploïdes (%)	Individus examinés	Taux d'anomalie	Survie
1 : 00	8 500	6	8,0	18	36,1	85
1 : 20	8 500	6	16,3	18	29,4	65
	9 000	4	16,7	30	-	99
1 : 40	7 500	6	6,1	20	20,4	44
	8 500	6	4,5	17	76,2	42
2 : 00	7 500	6	38,6	19	43,1	57
	8 500	4	8,2	18	49,5	51
2 : 20	7 500	4	12,7	19	40,3	48
		6	39,4	19	68,0	39

Tableau 6 : Coefficients de corrélation des rangs r (de Spearman) entre le pourcentage d'embryons haploïdes (H), le taux d'anomalie (A), la survie (S) et le produit A x S. Le degré de signification de r est indiqué par p (hypothèse nulle $r = 0$; test unilatéral).

r p	H	A	S	A x S
H		0,095	0,15	- 0,19
A	0,420		- 0,505	—
S	0,354	<0,001		—
A x S	0,332	—	—	

Tableau 7 : Survie et niveaux de ploïdie des lots issus de mâles diploïdes ou tétraploïdes et traités par un choc de 6 mn à 7 500 psi.

Ploïdie paternelle	Moment du choc	Survie ^a		Résultats caryologiques					
		1	2	n	2n	3n	4n	aneuploïdes	total
2n	1 h 40	97	93	1	28			1	30
	2 h 00	94	93		28			2	30
	2 h 20	93	87,5		30				30
	témoin	100	99		20				20
4n	1 h 40	55	50			29	1		30
	2 h 00	51	50		3	26		1	30
	2 h 20	52	48			31	1		32
	témoin	53	48			19			19

a : survie absolue des réplicats 1 et 2 (en pourcentage).

Tableau 8 : Pourcentage des différents niveaux de ploïdie induits par le traitement le plus efficace de l'expérience 1 (29°C, 14 mn, 3 h 20). Le nombre d'individus est indiqué entre parenthèses.

	Lot traité			Témoin gynogénétique		
	embryons normaux (36/94)	embryons anormaux (58/94)	population totale (94)	embryons normaux (9/195)	embryons anormaux (186/195)	population totale (195)
Diploïdes	96 (23)	20 (7)	49	67 (6)	2 (1)	5
Tétraploïdes	0	11 (4)	7	11 (1)	0	0,5
Haplo-diploïdes	4 (1)	11 (4)	8	0	0	0
Aneuploïdes	0	5 (2)	3	0	0	0
Haploïdes	0	53 (19)	33	22 (2)	98 (44)	94,5
Total examiné	100 (24)	100 (36)	100	100 (9)	100 (45)	100

Tableau 9 : Taux d'éclosion des lots issus des meilleurs traitements de diploïdisation (expériences 4 et 5, endomitose chez la truite).

Traitement	% de diploïdes	Survie (relative)	
		Stade oillé	éclosion
31,0°C ; 5 mn ; 4 h 00	83	76	15
31,5°C ; 5 mn ; 3 h 40	100	50	4
32,0°C ; 4 mn ; 3 h 20	93*	41	7
32,0°C ; 4 mn ; 3 h 40	79	43	20
32,0°C ; 4 mn ; 4 h 00	99*	27	8

* Les individus restants sont tétraploïdes

Tableau 10 : Taux d'éclosion des lignées gynogénétiques obtenues par choc tardif (suppression de la 1ère mitose) et précoce (rétention du 2ème globule polaire) et de leur témoin diploïde.

Mâle	Femelle	Choc tardif	Choc précoce	Témoin
A	1	0	-	69
	2	16	110	66
	3*	15	109	45
	4	0	-	66
B	5	1	61	76
	6	0	57	68
	7	1	86	74
C	8*	3	35	79
	9	4	78	91
	10	1	37	40
D	11*	2	76	93
	12	0	58	76
	13	3	44	97

* non-disjonction méiotique observée dans le témoin haploïde : 3 = 16 % ;
8 = 7 % ; 11 = 1,3 %.

Tableau 11 : Génotypes des individus gynogénétiques obtenus par choc chaud (30°C, 5 mn, 3 h 40) et de leurs témoins, pour les cinq loci enzymatiques étudiés.

Locus	Génotypes parentaux		Témoins			Gynogénétiques		
	mâle	femelle ^a	AA	AB	BB	AA	AB	BB
Cpk - 1	AA = 100/100	AA = 100/100	10			18		
Idh - 3	AB = 100/120	AB = 100/120	3	5	2	6		12
Mdh - 3	AB = 100/66	AA = 100/100	5	5		17	1 ^b	
Pgm - 2	AB = 100/75	BB = 75/75		6	4			18
Sod - 2	BB = 160/160	AA = 100/100		10		17	1 ^b	

a : génotype déduit d'après ceux des témoins et celui du mâle.
b : même individu, hétérozygote à 2 loci.

Tableau 12 : Paramètres du traitement des oeufs de mollusques par la CB.

	<u>R. philippinarum</u>	<u>C. gigas</u>	<u>C. varia</u>
Concentration de CB ^a dans l'eau de mer	1 mg/l (2 μ mol/l)	0,5 mg/l (1 μ mol/l)	1 mg/l (2 μ mol/l)
durée du traitement	15 mn	15 mn	15 mn
durée du rinçage ^b	15 mn	15 mn	15 mn
température d'incubation et de traitement	25°C	25°C	20°C
concentration des oeufs traités	10.10 ⁶ à 20.10 ⁶ /l	environ 5.10 ⁶ /l	1,5.10 ⁶ /l
volume d'un lot expérimental	250 ml	500 ml	250 ml
moments d'application testés	de 0 à 60 mn par intervalle de 3 ou 5 mn	de 5 à 40 mn par intervalle de 5 mn	10, 20 et 30 mn
génomés recherchés	triploïde, tétraploïde	triploïde, gynogénétiques diploïde et tétraploïde	triploïde

a : Préalablement dissoute dans du DMSO à raison de 1 mg/ml.

b : Solution de rinçage : 1 ml de DMSO/l d'eau de mer.

Tableau 13 : Protocole expérimental de recherche d'un traitement antimitotique par choc de pression chez l'huître. Les durées de choc sont indiquées (en mn) pour chaque pression et moment d'application testés.

Moment (mn)	Pression (p.s.i.)			
	8 000	9 000	9 500	10 000
20	9	9	-	9
30	9	9	5 - 7	9
40	9	9	3 - 5 - 7	9
50	9	9	3 - 5 - 7	9
60	9	9	3 - 5 - 7	9
70	-	-	3 - 5 - 7	-
80	-	-	3 - 5 - 7	-
90	-	-	5 - 7	-

Tableau 14 : Protocoles de préparation chromosomique chez la truite (embryons) et les bivalves (embryons et naissain).

		Truite ^a	Bivalves	
		embryons	embryons	naissain ^c
Individus traités	Age Taille	9 à 15 j 3 à 5 mm	6 à 15 h ^b environ 70 µm	quelques mois 5 mm
Blocage mitotique	Agent Concentration Durée Température	Colchicine 0,2 g/l 14 à 17 h 10°C	Colchicine 0,2 g/l 2 à 3 h ^b 20 à 25°C	Colchicine 0,2 g/l 14 à 17 h 20 à 25°C
Dissection	Organe Milieu	embryon entier NaCl à 8g/l	- -	branchies eau de mer
Choc hypotonique	Solution (dans l'eau distillée) Durée	Citrate trisodique 8 g/l 20 mn	eau de mer diluée ^b 25 à 30 % ^b 20 mn	eau de mer diluée 25 % 1 h
Fixation	Fixateur Durée Température	Carnoy (acide acétique 1 : éthanol 3) 2 h à 2 j 4°C	Carnoy 1 h 30 à 2 j ^b 4°C	Carnoy 1 h 30 à 2 j 4°C
Dissociation cellulaire	Agent Durée Méthode	acide acétique à 50 % 3 à 5 mn individuelle	acide acétique à 50 % 10 à 15 mn ^b par groupe de 10 000 à 50 000 embryons ^b	acide acétique à 50 % 10 mn individuelle
Coloration	Colorant Tampon pH Durée	Giensa à 4 % 0,1 M tris - PO ₄ 6,8 à 7 30 mn	Giensa à 4 % 0,1 M tris - PO ₄ 7 10 mn	Giensa à 4 % 0,1 M tris - PO ₄ 6,7 10 mn

a : D'après Chournot et Happe (1986).

b : Ayant fait l'objet d'une mise au point préalable.

c : D'après Thiriou-Quiévreux et Ayraud (1982).

Tableau 15 : Comparaison des pourcentages de triploïdes estimés chez les embryons et dans le naissain de palourde (4 mois) pour les élevages I et II. Les estimations ont été faites sur les deux répliquats, demeurés séparés au stade naissain (1 et 2), pour l'élevage II.

	Elevage I		Elevage II		
	Embryons	Naissain	Embryons	Naissain 1	Naissain 2
Triploïdes	20	19	27	9	5
Diploïdes	7	17	2	15	14
Tétraploïdes	3	0	1	0	0
Total	30	36	30	24	19
Pourcentage de triploïdes	66,7 52,7		90	37,5 26,3	
χ^2 , 1 ddl	1,3 ($p > 0,05$)		0,6 ($p > 0,05$)		
χ^2 , 2 ddl			24,2 ($p < 0,001$)		

Tableau 16 : Etude de la gamétogenèse dans un lot témoin et un lot traité (contenant 53% de triploïdes) chez la palourde japonaise.

Témoins	Prolifération ou stade I	Maturation ou stade II	Maturité ou stade III	Involution	Total
mâles	0	0	10	2	12
femelles	0	6	7	2	15
Total sexables	0	6	17	4	27
indifférenciés					3
Total examinés					30
Traités					
mâles	1 + 2a	7	3 + 3a	0	16
femelles	13	5	9	0	27
total sexables	16	12	15	0	43
indifférenciés					17
total examinés					60

a : figure de maturation atypique.

Tableau 17. Tableau synoptique des meilleurs traitements de triploïdisation chez les mollusques. L'intensité du traitement correspond à la concentration de CB, à l'écart de température (+ ou -), ou à la pression selon le type de traitement. Le nombre d'individus examinés est indiqué entre parenthèses.

¹ moyenne de 2 et 4 expériences respectivement.

¹ ou larves trochophores, ² larves véligères de 250 µm

Espèce	Intensité du traitement	Pourcentage de triploïdes		Références
		Embryons	Naissain	
Traitement avec la CB (mg/l)				
<u>Crassostrea virginica</u>	0.1	59(22)	-	Stanley <u>et al.</u> , 1981
	1.0	75(4)	74(46)	"
<u>Crassostrea gigas</u>	1.0	-	88 ^{**} (15-30)	Downing et Allen, 1987
	0.5	67.2(38)	-	Yamamoto <u>et al.</u> , 1988
	1.0	80(30)	-	Ce travail (non publié)
<u>Pinctada fucata martensii</u>	0.5	65.4(188)	-	Uchimura <u>et al.</u> , 1989
	0.5	>95(-)	100(20)	Wada <u>et al.</u> , 1989
<u>Ostrea edulis</u>	1.0	70(30)	90(30)	Gendreau, 1988
<u>Mytilus edulis</u>	0.5	67(9)	-	Beaumont et Kelly, 1989
<u>Mya arenaria</u>	1.0	-	100(30)	Allen <u>et al.</u> , 1982
	1.0	-	44(-)	Mason <u>et al.</u> , 1988
<u>Tapes semidecussatus</u> (= <u>Ruditapes philippinarum</u>)	0.5	68 [*] (9-12)	-	Beaumont et Contaris, 1988
	0.5	50 ^{**} (80)	-	Gosling et Nolan, 1989
	1.0	75.8 [*] (30)	52.7(36)	Ce travail (Dufy <u>et al.</u> , 1990)
<u>Argopecten irradians</u>	0.1	-	94(90)	Tabarini, 1984
<u>Pecten maximus</u>	0.5	29(17)	-	Beaumont, 1986
<u>Chlamys nobilis</u>	0.5	-	88(17)	Komaru <u>et al.</u> , 1988
<u>Chlamys varia</u>	1.0	78.5(42)	-	Ce travail (Baron <u>et al.</u> , 1989)
Choc thermique (°C)				
<u>Crassostrea gigas</u>	(+)9-10	76(46)	-	Quillet et Panelay, 1986
	(+)17	83.3(60)	-	Yamamoto <u>et al.</u> , 1988
	(-)20	66.7(60)	-	"
<u>Pinctada fucata martensii</u>	(+)11	>90(-)	-	Wada <u>et al.</u> , 1989
	(-)19	>55(-)	-	"
	(-)20	-	52(31)	"
<u>Mytilus edulis</u>	(+)12	97.4(26-50)	-	Yamamoto et Sugawara, 1988
	(-)19	85.3(26-50)	-	"
	(+)10	25(100)	-	Beaumont et Kelly, 1990
<u>Tapes semidecussatus</u>	(+)4	56(45)	-	Gosling et Nolan, 1989
<u>Haliotis discus hannai</u>	(+)15	60-80(150)	-	Arai <u>et al.</u> , 1986
	(-)17	70-80(150)	-	"
	(-)17	-	72(58)	Fujino <u>et al.</u> , 1987
Choc de pression (psi)				
<u>Crassostrea gigas</u>	7200	60 ² (-)	-	Allen <u>et al.</u> , 1985
	6000-8000	57 ² (14)	63(41)	Chaiton <u>et al.</u> , 1985
	7000	50(40)	-	Ce travail (non publié)
<u>Ostrea edulis</u>	7000	73.3(30)	-	Gendreau, 1988
<u>Haliotis discus hannai</u>	2900	60(150)	-	Arai <u>et al.</u> , 1986

PLANCHES

Planche 1. Coupe histologique de palourde femelle diploïde témoin.

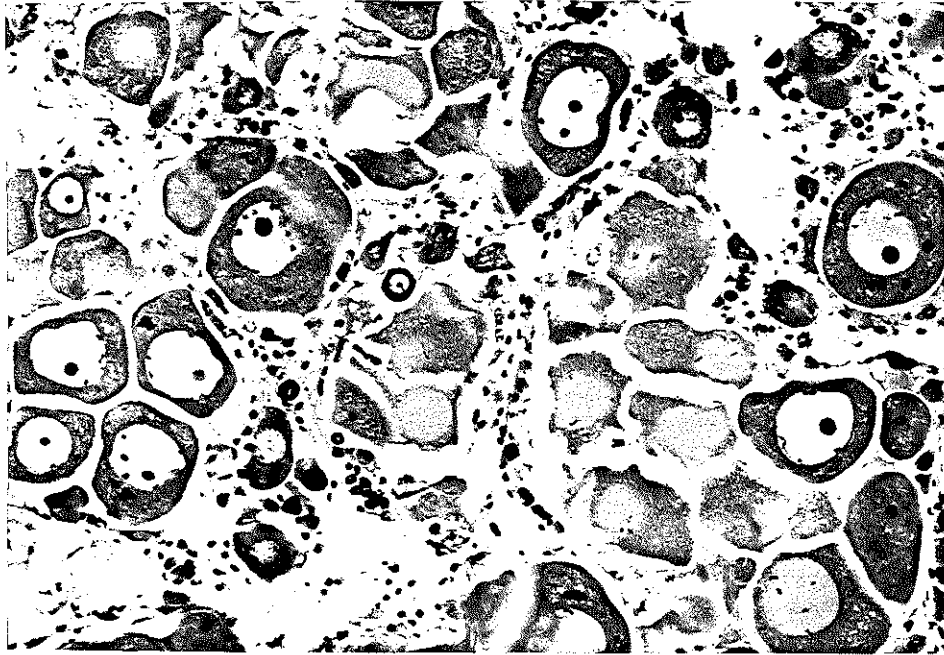
a : phase de maturation (grands ovocytes attachés à la lame basale des acini). x350.

b : stade de maturité (grands ovocytes occupant toute la lumière des acini). x350.

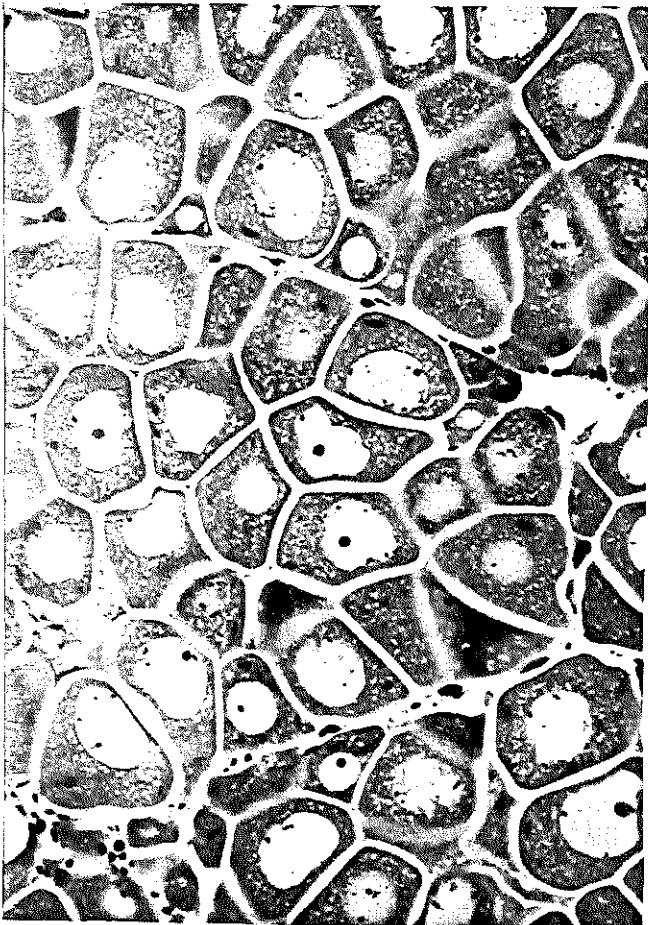
c : phase d'involution (lyse ovocytaire et présence d'hémocytes). x350.

PLANCHE 1

a



b



c



Planche 2. Coupe histologique de gonade de palourde.

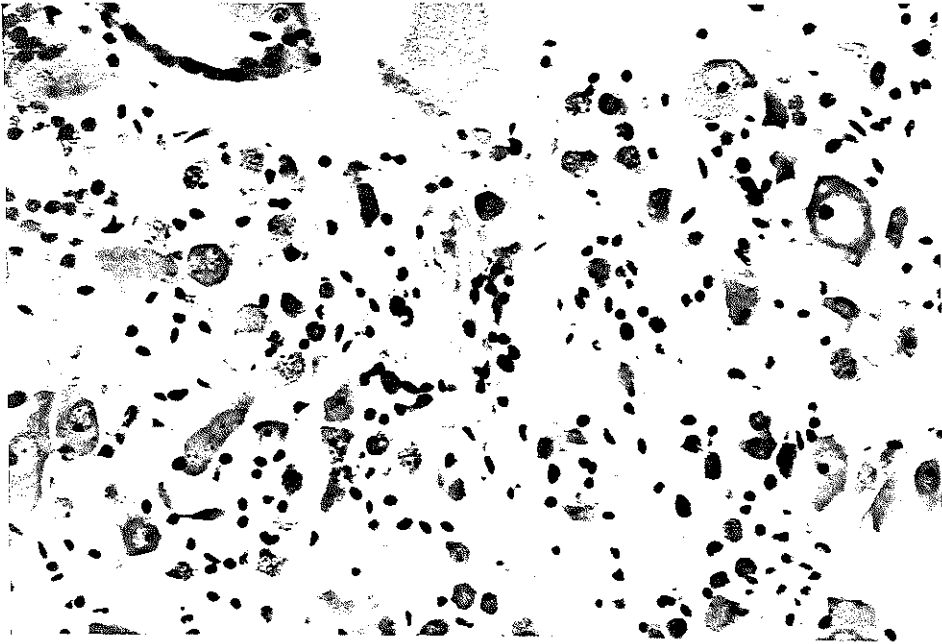
a : femelle du lot triploïdisé en phase de prolifération (petits ovocytes et ovogonies). x350.

b : mâle diploïde témoin au stade III (spermatozoïdes uniquement). x175.

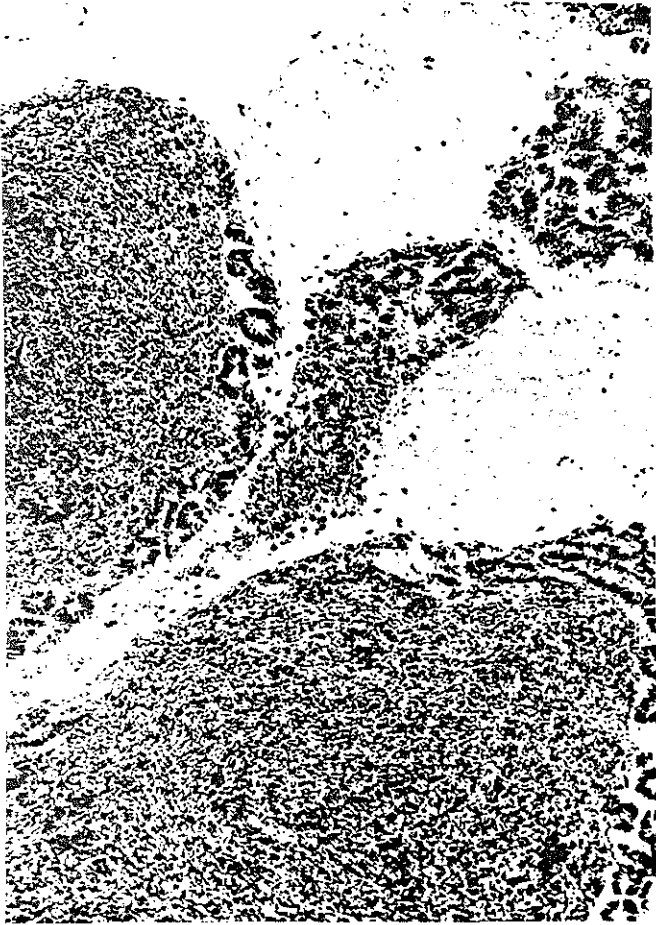
c : mâle diploïde témoin en phase d'involution (lyse des spermatozoïdes). x175.

PLANCHE 2

a



b



c



Planche 3. Coupe histologique de gonade de palourde mâle du lot triploïdisé.

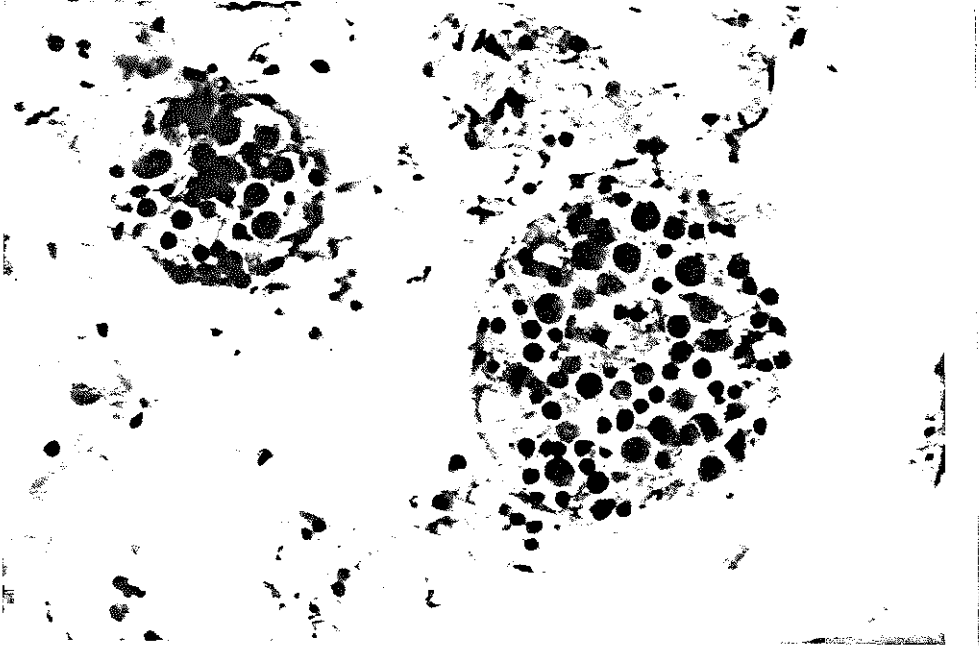
a : stade I (série spermatique sans spermatozoïde). x350.

b : stade II (série spermatique avec spermatozoïdes). x175.

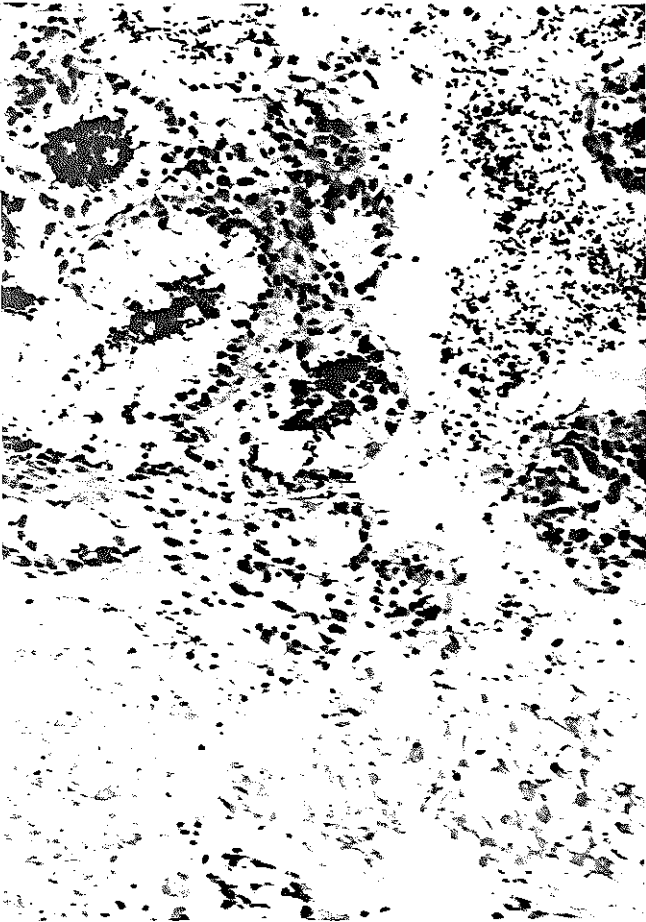
c : figure de maturation atypique (présence de stades précoces de maturation et de quelques spermatozoïdes). x350.

PLANCHE 3

(a)



(b)



(c)

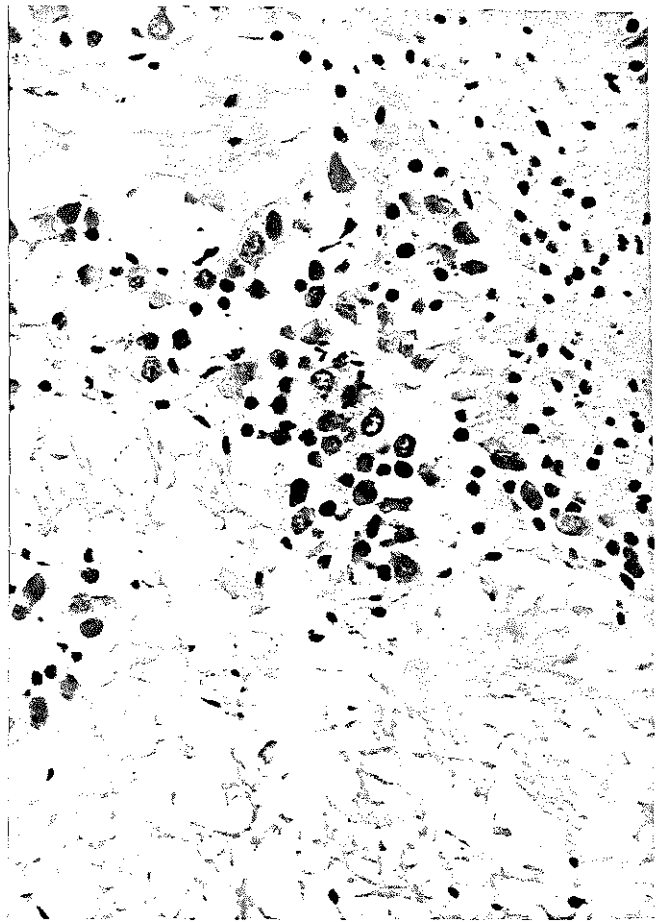


Planche 4. Plaques métaphasiques d'embryons d'huître creuse.

a : cellule haploïde d'origine gynogénétique ($n=10$). x1000.

b : cellule diploïde témoin ($2n=20$). x1000.

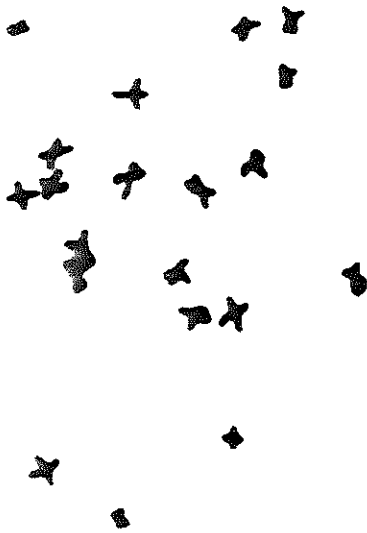
c : cellule triploïde ($3n=30$). x1000.

PLANCHE 4

a



b



c

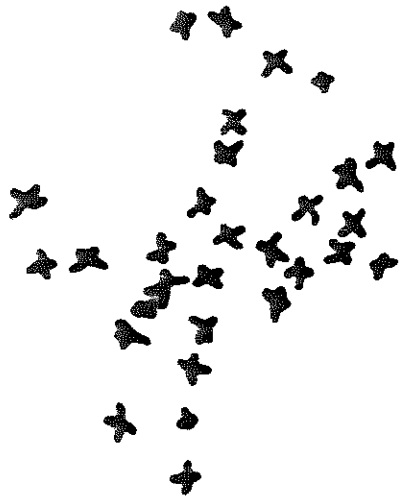


Planche 5. Plaques métaphasiques d'embryons d'huître creuse.

a : cellule tétraploïde d'origine gynogénétique ($4n=40$). x900.

b : cellule pentaploïde ($5n=50$). x900.

PLANCHE 5

a



b

