

I.U.T de BREST

Département BIOLOGIE APPLIQUEE

Année Universitaire 1993-1994

IFREMER
BIBLIOTHÈQUE
LA TREMBLADE

*Analyses biochimiques des huîtres plates O. edulis
diploïdes et triploïdes
et des huîtres creuses C. gigas de REMORA 93*



IFREMER Bibliothèque de la Tremblade



OLR 00463

 **IFREMER**

Servane FIXOT

12, rue des résistants
B.P. 86
56470 La Trinité sur mer

- 7 DEC. 94 - 088J

SOMMAIRE

	Page
Remerciements	3
PRÉSENTATION DE L'IFREMER	4
INTRODUCTION	5
ANALYSES BIOCHIMIQUES	6
1. Matériel et méthodes	7
1.1. Le matériel	7
1.2. La préparation des échantillons	7
1.2.1. La lyophilisation	7
1.2.2. Le broyage	7
1.2.3. Le stockage	7
1.2.4. La pesée	8
1.3. Les dosages	8
1.3.1. Les lipides	8
1.3.2. Les protéines	8
1.3.3. Les glucides	9
2. Etude statistique des méthodes d'analyses	10
2.1. Test de répétabilité	10
2.1.1. Principe et conditions expérimentales	10
2.1.2. Résultats et discussion	10
2.2. Intercalibration	11
2.2.1. Mise en place	11
2.2.2. Résultats et discussion	11
3. Caractéristiques biochimiques des huîtres creuses des stations REMORA en Bretagne	13
3.1. Caractéristiques du lot initial	14
3.2. Caractéristiques biochimiques des huîtres	14
3.2.1. Conditions expérimentales	14
3.2.2. Résultats et discussion	14
3.2.2.1. Le lot initial	14
3.2.2.2. En fin d'élevage	14
3.2.3. Analyse en Composante Principale des observations (A.C.P.)	17
3.2.3.1. Corrélation	17
3.2.3.2. Etude des individus	19
3.3. Conclusion	20

4. Caractéristiques biochimiques des huîtres plates diploïdes et triploïdes	21
Introduction	21
4.1. Le matériel biologique	21
4.2. La reproduction de l'huître plate	22
4.2.1. La sexualité d' <i>O. edulis</i> (in Marteil, 1976)	22
4.2.2. Evaluation de l'état sexuel	22
4.2.3. Evolution du taux de maturation sexuelle des lots expérimentaux	23
4.3. Analyses biochimiques	25
4.3.1. Conditions expérimentales	25
4.3.2. Traitement statistique des données	25
4.3.3. Résultats des analyses biochimiques	25
4.3.3.1. Les lipides	25
4.3.3.2. Les sucres totaux et le glycogène	26
4.3.3.3. Les protéines	26
4.3.4. Discussion	26
4.4. Conclusion	27
CONCLUSION	30
ANNEXES	31
Courbe : Pression = f (température)	32
Dosage des protéines	33
Dosage des lipides	34
Dosages des glucides	35
Résultats de REMORA 93	36
Induction de la triploïdie chez <i>O. edulis</i> : la réaction cellulaire	40
Contrôle de la ploïdie par imagerie numérique	41
Résultats des essais génétiques	42
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	49

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Jean-François Bouget, technicien au laboratoire d'IFREMER qui m'a encadré et conseillé sur le travail de laboratoire ainsi que pour la rédaction du rapport.

Je voudrais également remercier Joseph Mazurié, responsable du laboratoire et Gabriel Kergariou, Directeur de la station de La Trinité sur mer, pour m'avoir accueillie et permis de travailler dans les meilleures conditions.

Enfin, j'adresse mes sincères remerciements à Anne-Geneviève Martin ainsi qu'à toute l'équipe de la station sans le soutien et la gentillesse desquelles le déroulement du stage n'aurait pas été si agréable et si enrichissant.

PRÉSENTATION DE L'IFREMER

L'IFREMER (Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la MER) a été créé par décret du 5 juin 1984, fusionnant le CNEXO et l'ISTPM. C'est un établissement public à caractère industriel et commercial, placé sous la triple tutelle du Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche, du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, et du Ministère de l'Équipement, des Transports et du Tourisme. L'organisme s'est vu confier par le gouvernement une mission très large de recherche et de développement technologique pour la connaissance de l'océan et l'exploitation des ressources marines.

L'IFREMER gère un budget de 993 millions de francs. 1254 ingénieurs, chercheurs, techniciens, et administratifs, filiales non comprises (500 personnes) travaillent au siège social (Paris), dans 4 centres métropolitains (Brest, Nantes, Toulon, Boulogne), et un centre du Pacifique (Papeete), ainsi que dans les stations implantées sur le littoral métropolitain et outre-mer.

L'IFREMER de La Trinité sur mer est une des stations côtières rattachées administrativement au centre de Brest. Sa compétence est concrétisée par une assistance technique aux professions de la conchyliculture, et par l'émission d'avis vers les instances départementales ou régionales et les administrations. Par ailleurs, la station de La Trinité sur mer mène des recherches sur la conchyliculture en Bretagne. Elle se divise en 2 laboratoires :

- ◆ le laboratoire de la D.E.L. (Direction de l'Environnement du Littoral),
- ◆ le laboratoire de la D.R.V.-R.A. (Direction des Ressources Vivantes - Recherches Aquacoles).

Ce dernier est chargé du domaine de la conchyliculture sur le secteur géographique de la région Bretagne.

Les objectifs du laboratoire de la D.R.V.-R.A. se placent dans le cadre de 3 missions :

- ◆ des activités de Recherche portant sur l'amélioration des espèces cultivées et des techniques de production,
- ◆ une Assistance technique au secteur de production conchylicole impliquant le transfert des techniques de production et l'information sur les connaissances acquises,
- ◆ une Expertise pour le compte de l'Administration s'exerçant dans les domaines réglementaires (information sur les risques de transfert de maladies) et s'appuyant sur une bonne connaissance des mécanismes biologiques et du secteur professionnel de la conchyliculture.

Mon stage s'est déroulé au laboratoire de biochimie de la D.R.V.-R.A..

INTRODUCTION

Il existe 2 espèces d'huîtres sur nos côtes : Ostrea edulis, l'huître plate et Crassostrea gigas, l'huître creuse. Ces 2 espèces fondent l'essentiel de l'ostréiculture française. Si l'huître creuse a prospéré sur nos côtes depuis 1868 (C. angulata puis par C. gigas à partir de 1973), l'huître plate dont la production en 1960 approchait les 15000 à 20000 tonnes a failli disparaître. Deux épizooties ont successivement décimé les bancs d'huîtres plates en Bretagne. Martelia refringens dont la première apparition remonte à 1968 est un parasite de la glande digestive. Un autre parasite, le Bonamia ostreae, apparu en 1979 affecte le système circulatoire de l'huître plate. Cette épizootie a fait chuter la production à moins de 2000 tonnes (Grizel, 1985).

Les analyses biochimiques réalisées au cours du stage, sont effectuées dans le cadre de 2 programmes :

- ◆ le réseau de suivi de la croissance de l'huître creuse Crassostrea gigas en Bretagne (REseau MOLLusques - Ressources Aquacoles),

Ce réseau est destiné à fournir chaque année les informations sur la production d'huîtres creuses dans les principaux bassins d'élevage. Il permet aussi de caractériser les variations et de montrer d'éventuelles tendances.

- ◆ le contrôle des performances des huîtres plates Ostrea edulis génétiquement modifiées (REseau GENétique MOLLusques).

La mise en place de 2 Plans de Relance financés par l'Etat, la Région Bretagne et IFREMER entre 1984 et 1993 a permis la reprise des élevages dans les secteurs en eau profonde et une meilleure connaissance des épizooties (Martin et al, 1989). Un des grands axes de travail suivis au cours de l'année 1993 a été la génétique, avec la poursuite des travaux sur les souches résistantes et pour ce qui concerne l'étude, un test d'huîtres polyploïdes.

La composition biochimique reflète les réserves énergétiques et l'état physiologique des huîtres, elle fournit ainsi des indications sur les conditions d'élevage et sur l'influence de la polyploïdie.

Les Analyses

Biochimiques

1-MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1-LE MATÉRIEL

Matériel nécessaire à la préparation des échantillons et aux analyses :

- ◆ un lyophilisateur (Christ α 1-4)
- ◆ un broyeur à boule (pulvérisette 0 - Fritsch)
- ◆ une balance de précision (Sartorius research R 160 D)
- ◆ un congélateur (Boppas P 2100 VA)
- ◆ un dessiccateur (Nalgen 5317-0180)
- ◆ une centrifugeuse (GR4-22 - Jouan)
- ◆ un bloc chauffant (Liebisch)
- ◆ un spectrophotomètre (Shimadzu UV-160 - Roucaire)

1.2-LA PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Après la mesure des différents paramètres biométriques, les huîtres sont stockées au congélateur à -36°C .

1.2.1-La lyophilisation

Les échantillons congelés sont séchés pendant 48 h à l'aide du lyophilisateur du laboratoire de biochimie. La sublimation (passage direct de la glace à l'état de vapeur) se fait à basse température et à basse pression. La lyophilisation est optimisée en ajustant la pression de la chambre en fonction de la température des échantillons au moyen d'une électrovanne (Cf. courbe $P = f(t^{\circ})$ en annexe).

La lyophilisation permet la conservation des propriétés biochimiques des tissus. Suite à cette étape, le produit est parfaitement sec, et inchangé quantitativement et qualitativement.

Les échantillons sont remis au congélateur en attendant d'être analysés.

1.2.2-Le broyage

Les échantillons relyophilisés $\frac{1}{2}$ journée juste avant le broyage sont réduits en très fines particules à l'aide du broyeur à boule. Cette phase de la préparation des échantillons est particulièrement délicate. Le broyat d'un pool de 10 huîtres creuses de 2 ans est homogène. Par contre le broyage en individuel des huîtres plates a occasionnellement posé des problèmes, notamment sur les premiers prélèvements de polyploïdes, en raison de leur faible quantité de matière. Il se formait alors des plaques sur la boule et le support, ce qui biaise l'échantillonnage.

1.2.3-Le stockage

Entre les étapes de séchage, broyage, dosage, les échantillons sont stockés au dessiccateur contenant des cristaux de silicate (à déshumidifier régulièrement dans un four à 100°C , pendant $\frac{1}{2}$ journée). Ainsi, le biais pondéral dû à la réhumidification et le biais colorimétrique dû à l'altération des composants biochimiques sont limités.

1.2.4-La pesée

Les dosages sont réalisés sur une quantité connue de chair que l'on pèse après le séchage et le broyage au moyen d'une balance de précision (écart standard $\pm 0.02/0.1$ mg). Les quantités pesées sont d'environ d'une dizaine de mg. Le coefficient de variation (environ 2 %) est suffisant pour les pesées effectuées.

1.3-LES DOSAGES

Après 2 semaines de mise au point, le travail a été organisé de façon suivant :

- | | |
|-----------------------|--|
| • Lundi et mardi | - Broyage et pesée |
| • Mardi soir | - Ajout des 10 ml de NaOH 1N pour l'extraction des protéines |
| • Mercredi matin | - Préparation des solutions de dosages des protéines et de la gamme étalon |
| | - Mise en route de la coloration des protéines |
| • Mercredi après-midi | - Lecture des DO des protéines |
| | - Délipidation |
| • Jeudi | - Dosage des lipides si le chloroforme s'est complètement évaporé, sinon : |
| | - Dosage des glucides |
| • Vendredi | - Dosage des glucides ou des lipides |

Les solutions de dosage sont préparées pendant les temps d'attente. Elles sont à renouveler régulièrement, par conséquent les gammes étalons aussi.

1.3.1-Les lipides

Les lipides sont extraits et purifiés par la méthode de Bligh et Dyer (1959). La matière organique est oxydée en milieu acide et chauffée à 200°C, selon la méthode de Marsh et Weinstein. La réaction n'étant pas spécifique des lipides, l'extrait doit être d'une grande pureté.

Cf. protocole en annexe

1.3.2-Les protéines

La méthode colorimétrique de Lowry et al. (1951) permet le dosage des liaisons amides des protéines et des acides-aminés (tyrosine et tryptophane). La coloration se déroule en 2 étapes :

- La formation d'un complexe cuivrique avec les protéines.
- La réduction du phosphomolybdate (réactif de Folin-Ciocalteu) en milieu basique.

Le traitement préalable à la soude dénature partiellement les protéines, ce qui améliore la réaction avec le cuivre.

Cf. protocole en annexe

1.3.3-Les glucides

La méthode de Dubois et al. (1956) repose sur la formation de furfural ou d'hydroxyméthylfurfural en présence d'acide sulfurique concentré qui hydrolyse les polysides et déshydrate les oses, aboutissant à une cyclisation. Les furfurals issus des pentoses et les hydroxyméthylfurfurals issus des hexoses réagissent avec le phénol. Les oses réduits développent une coloration orangée.

Cf. protocole en annexe

2-ÉTUDE STATISTIQUE DES MÉTHODES D'ANALYSES

2.1-TEST DE RÉPÉTABILITÉ

2.1.1-Principe et conditions expérimentales

Le test de répétabilité a consisté à faire 10 analyses L.P.G. sur la même huître (*O. edulis*, lot D, n°13). Un broyat homogène de l'huître est réalisé. Les échantillons REMORA et REGEMO ont été traités de façon identique.

2.1.2-Résultats et discussion

Les résultats sont exprimés en pourcentage de matière sèche.

Tableau 1 : Composition biochimique des essais

	% L	% P	% ST	% Gly
	6,6	28,2		
	6,4	29,0	22,2	23,0
	6,2	29,7	24,6	22,2
	6,5	28,1	24,5	22,8
	6,3	27,4	25,4	23,3
	6,7	27,8	27,1	22,9
	6,4	27,9		
	6,8	28,0	25,5	23,6
	6,5	27,9	24,8	22,6
	6,4	29,6	23,6	21,8
Moyenne	6,5	28,4	24,7	22,8
Ecart type	0,18	0,75	1,34	0,55
CV %	2,79	2,64	5,42	2,41

Deux analyses de glucides n'ont pas été effectuées en raison d'un problème survenu lors de l'extraction des glucides (les tubes se sont cassés lors de la centrifugation).

Les coefficients de variation ont été calculés à partir de la moyenne et de l'écart-type :

$$CV \% = \frac{\text{Ecart-type} * 100}{\text{Moyenne}}$$

Les CV % des teneurs en protéines, lipides, sucres totaux et glycogène sont respectivement de 2.79, 2.64, 5.42 et 2.41 (tab. 1). L'erreur relative à la méthode peut être considérée comme négligeable pour un CV inférieur à 5 %. Le CV % des sucres totaux est plus important; mais il reste tout de même acceptable.

Compte tenu des coefficients de variation du test de répétabilité, les résultats des analyses biochimiques sont correctement interprétables.

Remarque : Le nombre d'essais est insuffisant pour avoir un test vraiment fiable. Pour cela, il aurait fallu un minimum de 20 essais. Le test est donc seulement indicatif.

2.2-INTERCALIBRATION

2.2.1-Mise en place du test

Dans le cadre du programme REMORA, les paramètres biochimiques des huîtres creuses sont analysés selon les mêmes protocoles, par plusieurs laboratoires couvrant les stations REMORA par secteurs. Afin de comparer les résultats, la mise au point d'un test d'intercalibration entre les laboratoires IFREMER concernés (Palavas, Port-en-Bessin, Arcachon, La Tremblade, Bouin et La Trinité sur mer) est nécessaire.

Le laboratoire de biochimie de La Trinité sur mer a envoyé, à chacun, des échantillons d'huîtres creuses et une feuille où étaient inscrites les pesées des échantillons. Les tubes fermés avec un bouchon en plastique contenaient une quantité connue de chair lyophilisée et broyée. Deux séries de tubes ont été préparées pour les dosages des protéines d'une part et pour ceux des lipides et des glucides d'autre part. Trois analyses (LPG) sur 5 huîtres différentes étaient ainsi effectuées.

Remarque : L'envoi des échantillons broyés dans des tubes fermés par un bouchon en plastique a posé un problème pour plusieurs laboratoires : l'échantillon s'étant répandu dans le bouchon il n'a pas pu être entièrement récupéré. Cette perte a pu occasionner un biais des résultats. Lors d'une prochaine intercalibration, la solution consisterait à envoyer les échantillons dans des tubes fermés avec du parafilm.

2.2.2-Résultats et discussion

Plusieurs laboratoires n'ayant pas encore réalisé les analyses, les résultats obtenus à La Trinité sur mer seront uniquement comparés à ceux d'Arcachon (tab. 2).

Tableau 2 : Moyenne des 3 résultats obtenus à chaque analyse

Site	Numéro de l'huître	% L	% P	% ST	% Gly
La Trinité sur mer	Oe QE 5	6,61	25,97	28,72	29,81
	Oe QE 11	6,38	29,45	22,06	21,59
	Oe QE 28	6,76	28,63	22,98	20,49
	Oe QE 1	6,73	30,57	16,72	14,28
	Oe QE 12	6,78	23,66	33,10	32,22
Arcachon	Oe QE 5	5,75	23,66	29,09	28,89
	Oe QE 11	4,90	27,54	22,20	20,49
	Oe QE 28	5,18	28,29	20,41	20,00
	Oe QE 1	5,01	29,12	15,57	14,50
	Oe QE 12	6,38	21,21	33,86	31,66

Les teneurs en lipides et en protéines obtenues à Arcachon sont systématiquement inférieures à celles obtenues à La Trinité sur mer. Pour les sucres totaux et le glycogène, les résultats obtenus à Arcachon sont tantôt supérieurs, tantôt inférieurs à ceux obtenus à La Trinité sur mer.

Cette tendance peut être expliquée par une différence d'application des protocoles et des appareils (en particulier, le spectrophotomètre), entre les 2 stations. Toute fois, même s'il ne doit pas être très important, le biais dû à la perte de matière lors du transport semble prépondérant. Cette tendance sera à confirmer après comparaison avec les résultats des autres stations.

Par ailleurs, la réalisation d'un test de répétabilité par les laboratoires concernés permettrait de vérifier si cette tendance ne résulterait pas de la méthode.

3-CARACTÉRISTIQUES BIOCHIMIQUES DES HÛÎTRES CREUSES DES STATIONS REMORA EN BRETAGNE

Ce chapitre fait suite au rapport présentant les caractéristiques de croissance de l'année 1993 (A. Littaye-Mariette, 1994).

Le réseau de surveillance de la croissance des huîtres creuses REMORA couvre l'ensemble du territoire français. Il a pour objectif d'établir les caractéristiques de base de la production ostréicole dans les principaux bassins et de définir les conditions d'élevage les plus performantes.

Les paramètres analysés (tab. 3) au terme de la période expérimentale d'élevage sont les principaux indicateurs de la croissance, et de la qualité de la coquille et de la chair.

Tableau 3 : Paramètres mesurés

	Échantillon	Paramètre
initial	200 huîtres	- longueur, largeur, épaisseur (mm), poids individuel (1/100g)
	30 huîtres	- chambrage - recherche parasite - paramètres biochimiques
fin d'élevage	Poche	- poids net (1/10g)
	100 huîtres	- longueur, largeur, épaisseur (mm) - poids individuel (1/100g) - nbr huître morte - longueur huître morte - CIS (Coef. de forme d'Ismaï et Sakai) $\frac{\text{épaisseur} \times 100}{(\text{longueur} + \text{largeur}) / 2}$
	30 huîtres	- poids coquille vide - poids chair égoutée - poids chair sèche - chambrage - recherche parasite - indice de condition (Lawrence et Scott, 1982) $\frac{\text{poids sec} \times 1000}{\text{poids total} - \text{poids coquille}}$ - indice de qualité (norme afnor, nfv 45-056) $\frac{\text{poids chair égoutée} \times 100}{\text{poids total}}$
	3 lots de 10 huîtres	- paramètres biochimiques (lipides, protides, glucides)

En 1993, les paramètres biochimiques des stations REMORA en Bretagne ont été évalués, en fin d'élevage, au laboratoire de biochimie de La Trinité sur mer, et pour le lot initial, au laboratoire de biologie et biotechnologies marines de l'Université de Caen sous la direction de Michel Mathieu.

3.1-CARACTÉRISTIQUES DU LOT INITIAL

L'échantillon initial d'huîtres de 18 mois est issu d'un lot unique capté à Arcachon, et prégressi en poche durant un an dans le golfe du Morbihan. Les huîtres ont été calibrées avant leur mise en poche et la répartition entre les sites (fig. 1). La phase d'élevage s'est déroulée de mars à novembre 1993. La structure expérimentale d'élevage est la poche plate traditionnelle contenant 200 huîtres au départ.

Tableau 4 : Caractéristiques biométriques du lot initial

	Longueur (mm)	Largeur (mm)	Poids (g)
Moyenne	67.02	23.84	30.63
Écart type	6.50	3.38	4.04

3.2-CARACTÉRISTIQUES BIOCHIMIQUES DES HUÎTRES

3.2.1-Conditions expérimentales

Les analyses (lipides-glucides-protéines) ont été réalisées sur de la chair d'huître lyophilisée et finement broyée, selon les protocoles habituels (cf. annexes). Pour chaque site, on disposait de 30 huîtres, réparties avant le broyage en 3 pools de 10, représentatifs du pool à analyser. Les analyses ont été effectuées en doublet sur chaque pool.

3.2.2-Résultats et discussion

3.2.2.1-Le lot initial

La chair des huîtres du point initial est composée en pourcentage de chair sèche de 50.5 % de protéines, de 15.2 % de lipides, et de 13 % de sucres totaux dont 4 % de glycogène. Ces teneurs sont celles d'un lot normal. Il serait intéressant de comparer les résultats des prochains suivis par rapport aux caractéristiques biochimiques du lot initial REMORA 93.

3.2.2.2-En fin d'élevage

Le graphique en radar (fig. 2) représente le pourcentage du composant considéré pour les différents sites (courbe en gras). Chacun d'eux possède son propre axe qui rayonne à partir du point central. Le cercle positionne la moyenne sur chaque axe.

Le tableau 5 et la figure 2 montrent une hétérogénéité des teneurs en principaux composants biochimiques des huîtres entre les sites. Certains se distinguent par leur forte teneur en protéines (CA2, RB1 et RB2), d'autres par leur forte teneur en lipides (AB2, PB2 et RB3), d'autres encore par un taux de glucides élevé (RB3, QB2, PP2 et MX2) ou faible (RB2, CA2 et GM2).

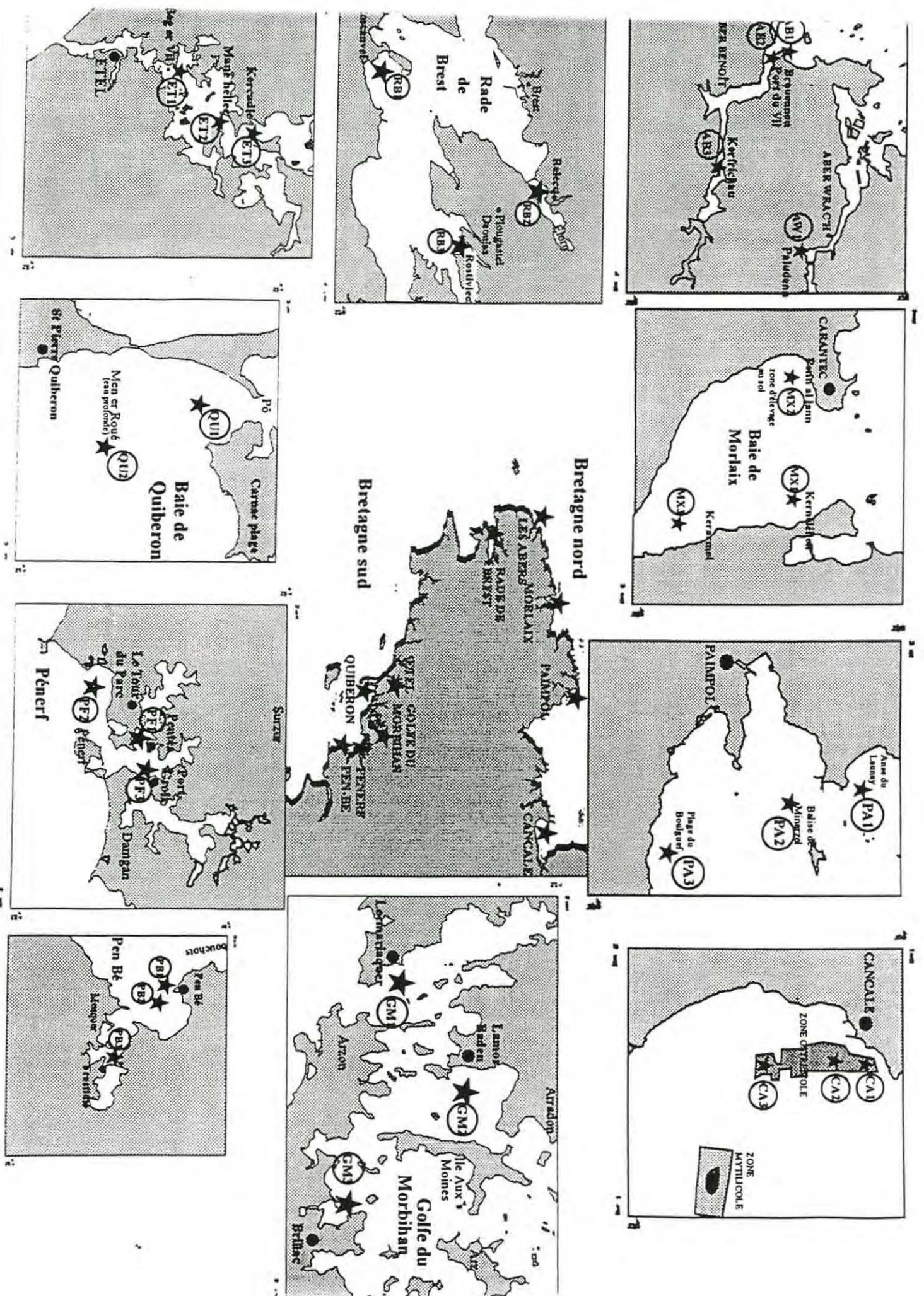


Figure 1 : stations REMORA

Tableau 5 : Principaux composants biochimiques en pourcentage de chair sèche

Site	Point	Protéines	Lipides	Sucres totaux	Glycogène
Aber Benoît	AB 2	51,28	13,81	9,78	8,86
Cancale	CA 2	57,70	7,37	5,35	4,63
Etel	ET 2	52,43	7,49	6,60	5,66
Golfe du Morbihan	GM 2	50,66	7,25	6,52	4,79
Morlaix	MX 2	50,80	7,37	8,56	9,16
Paimpol	PP 2	49,69	8,88	10,12	10,77
Pen Bé	PB 2	50,76	10,18	9,52	7,25
Penerf	PF 2	49,54	8,07	7,95	7,69
Quiberon	QB 1	54,20	8,61	7,98	5,80
	QB 2	50,98	8,52	10,18	9,77
Rade de Brest	RB 1	58,81	8,35	6,36	5,66
	RB 2	59,86	7,26	5,77	2,82
	RB3	49,36	9,92	12,74	10,39
Moyenne		52,77	8,70	8,26	7,17

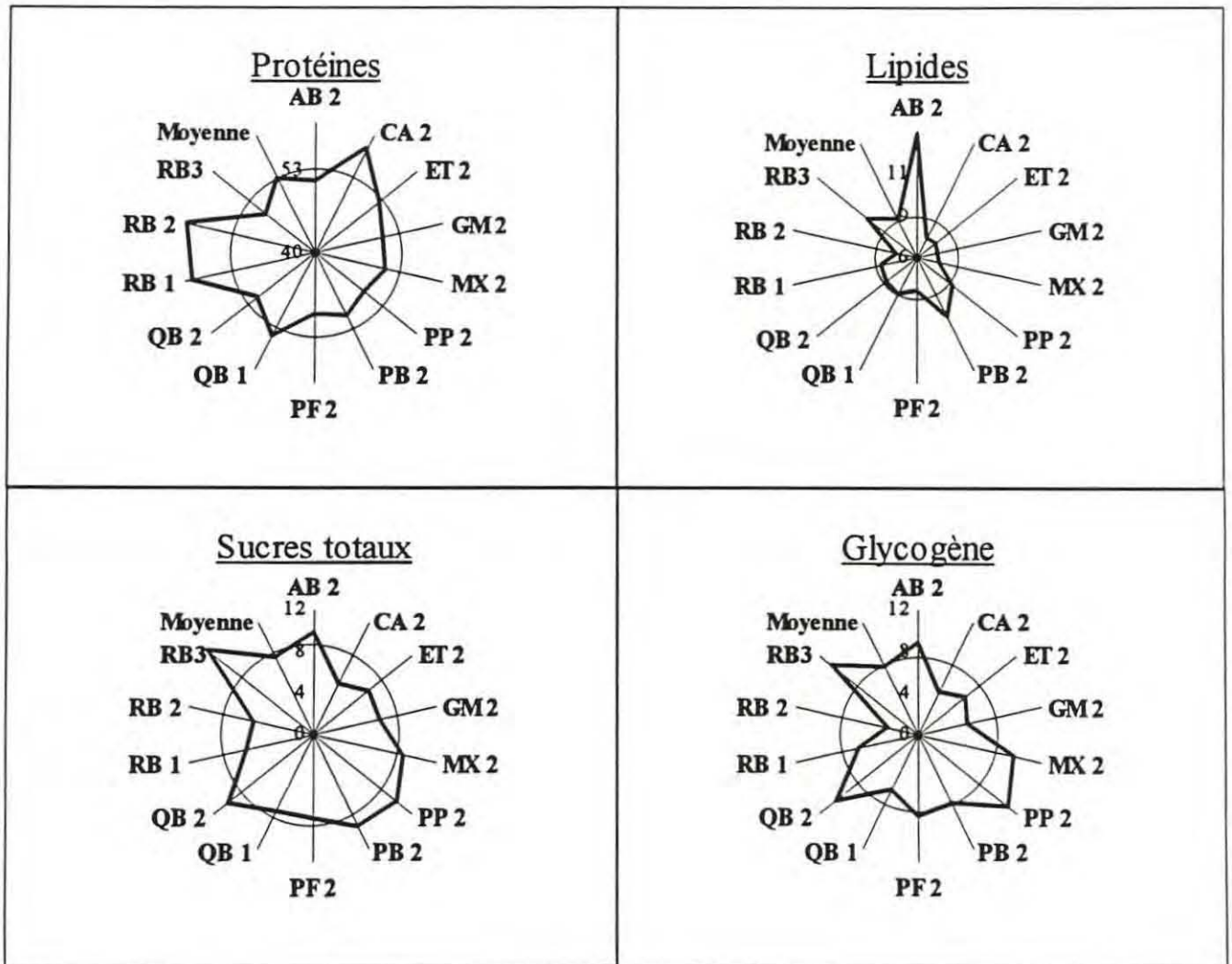


Figure 2 : Représentation en radar des principaux composants biochimiques en pourcentage de chair sèche

3.2.3-Analyse en Composante Principale des observations (A.C.P.)

Une A.C.P. est réalisée à l'aide du logiciel STAT-ITCF sur l'ensemble des données biochimiques (protéines, lipides, sucres totaux et glycogène). Afin de regrouper les stations selon leurs caractéristiques biochimiques, les paramètres de croissance les plus représentatifs (indice de qualité, longueur et croissance pondérale) sont positionnés en variables supplémentaires.

3.2.3.1-Corrélation

Tableau 6 : Matrice de corrélation

	lip	st	gly	sl	prot	long	cp	iq
lip	1.000							
st	0.584	1.000						
gly	0.463	0.894	1.000					
sl	-0.135	-0.042	-0.453	1.000				
prot	-0.317	-0.717	-0.762	0.220	1.000			
long	0.071	0.302	0.332	-0.082	-0.570	1.000		
cp	0.285	0.216	0.163	0.025	-0.405	0.753	1.000	
iq	0.851	0.576	0.468	-0.009	-0.487	0.127	0.219	1.000

Le tableau 6 met en évidence des corrélations :

- ◆ Entre les paramètres biochimiques,
 - Le glycogène avec les sucres totaux à 89.4 %
 - Les protéines avec le glycogène à 76.2 %
 - Les protéines avec les sucres totaux à 71.7 %
 - Les lipides avec les sucres totaux à 58.4 %
 - Les lipides avec le glycogène à 46.3 %
 - Les sucres libres avec le glycogène à 45.3 %

Il existe une forte corrélation entre les substances de réserves lipidiques et glucidiques d'une part, et entre les glucides et les protéines d'autre part. Les teneurs en protéines et en substances de réserves sont en opposition (coefficient de corrélation négatif).

- ◆ Entre les paramètres de croissance,
 - La croissance pondérale avec la longueur à 75.3 %
- ◆ Entre les paramètres biochimiques et les paramètres de croissance.
 - Les lipides avec l'indice de qualité à 85.1 %
 - Les sucres totaux avec l'indice de qualité à 57.6 %
 - La longueur avec les protéines à 57 %
 - les protéines avec l'indice de qualité à 48.7 %
 - Le glycogène avec l'indice de qualité à 46.8 %

Les substances de réserves lipidiques et glucidiques ainsi que les protéines sont fortement corrélées avec l'indice de qualité. Les protéines sont aussi fortement corrélées à la longueur.

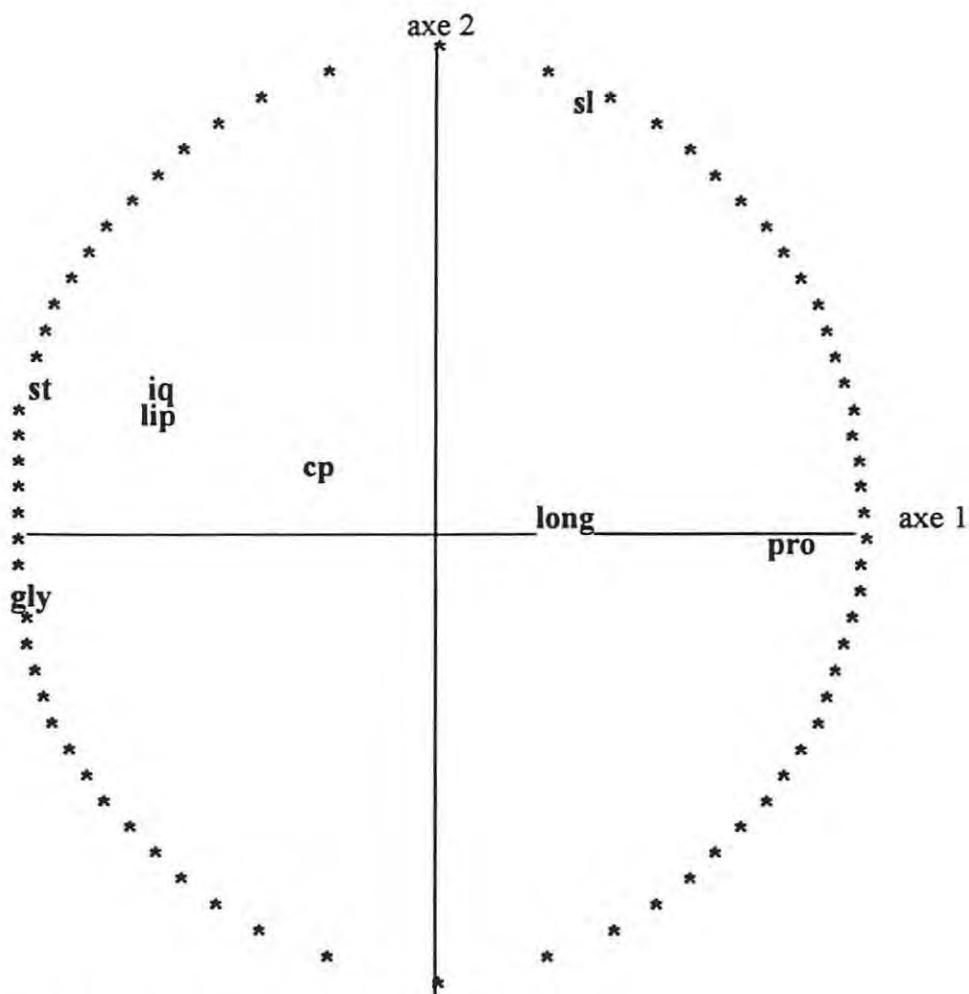


Figure 3 : Cercle des corrélations

Le plan formé par les axes 1 et 2 (fig. 3) explique 80.4 % de l'information initiale (axe 1 : 60.2 % - axe 2 : 20.2 %).

Tableau 7 : Composantes principales (\cos^2) des variables sur les axe 1 et 2

	Axe 1	Axe 2	$\Sigma \cos^2$
lip	0.4154	0.0646	0.4800
st	0.8445	0.0969	0.9414
gly	0.9166	0.0185	0.9351
sl	0.1366	0.8304	0.9670
prot	0.6951	0.0004	0.6955

L'axe 1 est représenté par l'opposition entre les réserves (lipides et glucides) et les protéines (tab. 7). L'axe 2 est essentiellement caractérisé par les sucres libres.

Les variables iq, cp et long ont été introduites en tant que variables supplémentaires, afin de les situer par rapport aux paramètres biochimiques. La variable iq se positionne près des variables lip, st et gly.

3.2.3.2-Etude des individus

Les individus sont représentés sur un plan. Il ne faut pas oublier que toute représentation plane est une image déformée et contractée du nuage de points représentant les observations. Par conséquent il est important de savoir si chacun des points projetés sur le plan est proche de celui-ci. Il faudra ainsi examiner la valeur du cosinus de l'angle formé par un point et sa projection sur le plan. La somme des \cos^2 des 2 axes de chaque individu (tab. 8) donne une idée de la qualité de leur représentation sur le plan.

Tableau 8 : Composantes principales des individus (\cos^2) sur les axes 1 et 2

Site	Axe 1	Axe 2	$\Sigma\cos^2$
CA2	0.8935	0.0785	0.9720
PP2	0.7962	0.1461	0.9423
MX2	0.2079	0.5355	0.7434
AB2	0.4824	0.0002	0.4826
RB1	0.4397	0.2714	0.7111
RB2	0.8516	0.1279	0.9795
RB3	0.5838	0.3437	0.9275
ET2	0.4691	0.2929	0.7620
QB1	0.4003	0.5987	0.9990
QB2	0.7420	0.0839	0.8259
GM2	0.4282	0.0186	0.4468
PF2	0.1682	0.2829	0.4511
PB2	0.1781	0.7582	0.9363

On constate que pour plus des 2/3 des individus, la somme des \cos^2 est supérieure à 0.50. On peut considérer que ces individus sont bien représentés sur le plan déterminé par les axes 1 et 2. Les sites AB2, GM2 et PF2 sont moyennement bien représentés.

La comparaison des résultats des ACP réalisées pour REMORA 1992 et REMORA 1993 montre que les axes sont définis différemment, en particulier l'axe 2 est essentiellement caractérisé par les sucres totaux à 99 % en 1992, et par les sucres libres à 83 % en 1993.

La teneur en sucres libres est calculée à partir des sucres totaux et du glycogène. En 1993 les taux sont très faibles (plus faible qu'en 1992) et sont de l'ordre du coefficient de variation de la méthode de dosage des glucides. Il serait donc hasardeux d'en tenir compte dans l'interprétation, les autres paramètres biochimiques étant beaucoup plus caractéristiques.

Une A.C.P. permet d'établir un regroupement des stations de caractéristiques voisines (fig. 4) :

- RB2, CA2 et RB1 : forte teneur en protéines
- QB1, GM2, ET2 et PF2 : intermédiaires
- AB2, PP2, PB2, MX2, QB2 et RB3 : réserves glucidiques et / ou lipidiques importantes

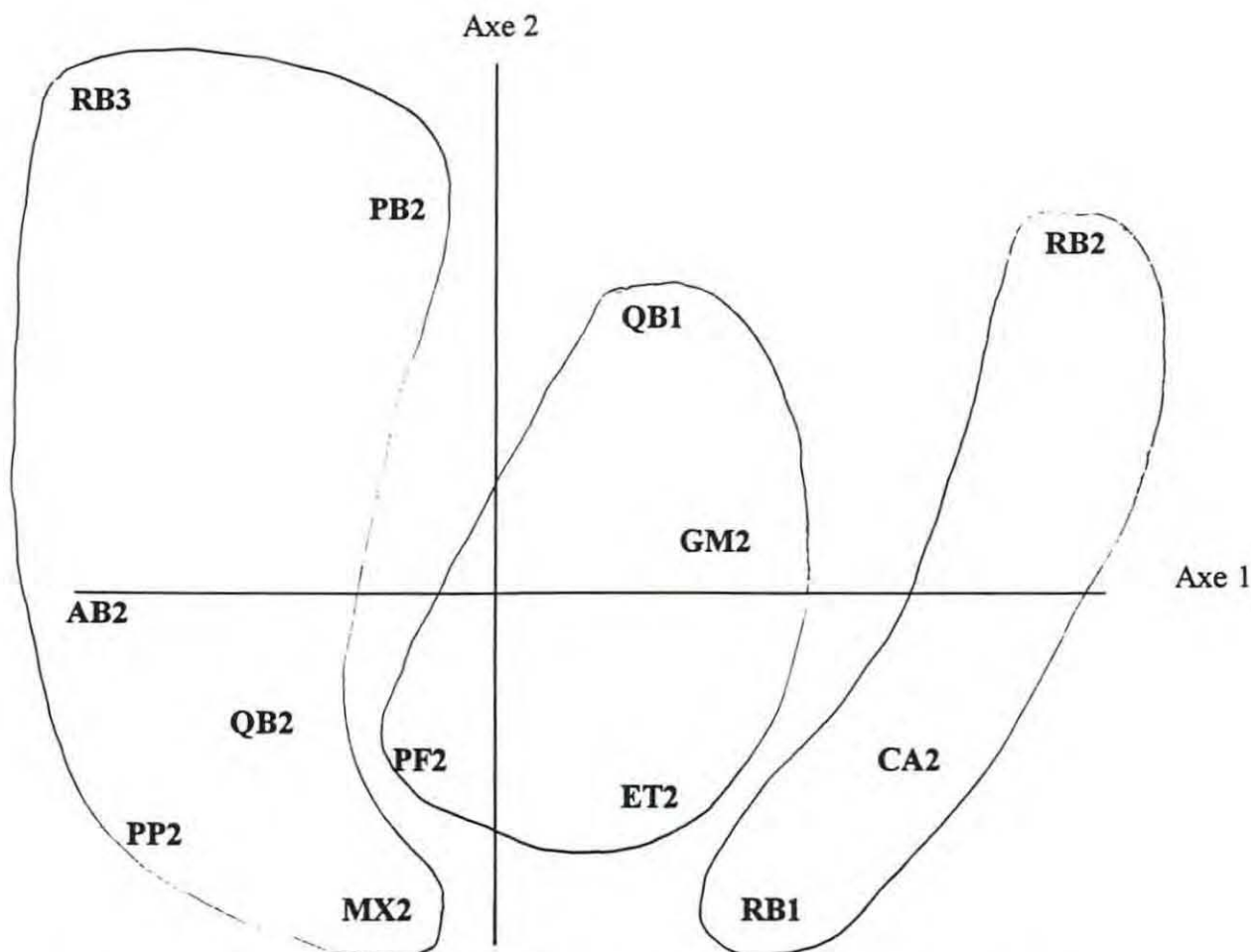


Figure 4 : Représentation des stations dans le plan formé par les axes 1 et 2

3.3-CONCLUSION

En fin d'élevage, les résultats de REMORA 93 en Bretagne montrent que la chair des huîtres creuses est composée en moyenne de 52.8 % de protéines, de 8.7 % de lipides et de 8.3 % de sucres totaux dont 7.2 % de glycogène. La moyenne des teneurs en lipides et en sucres totaux a baissé par rapport au point 0. Notons tout de même que les analyses en début et en fin d'élevage n'ont pas été effectuées dans le même laboratoire, cela a peut-être une incidence sur les différences observées. Il serait intéressant de comparer l'évolution de ces paramètres en fonction de la qualité du lot initial avec les résultats des analyses REMORA à venir.

Par ailleurs, une forte corrélation entre les paramètres biochimiques et l'indice de qualité a été constatée. Ainsi, quelques sites se détachent : l'Aber Benoît où les huîtres ont une teneur en lipides élevée, comme les années précédentes ; les points 1 et 2 de la rade de Brest, ainsi que Cancale 2 produisent des huîtres à forte teneur en protéines ; le point 2 de la rade de Brest se distingue aussi par une teneur en glucides très faible comme les années précédentes ; le point 3 de la rade de la rade de Brest, ainsi Morlaix 2, Paimpol 2 et Quiberon 2 sont caractérisés par un taux de glucides relativement élevé.

4-CARACTÉRISTIQUES BIOCHIMIQUES DES HÙITRES PLATES DIPLOÏDES ET TRIPLOÏDES

INTRODUCTION

Les programmes relatifs à l'amélioration génétique des espèces ont été restructurés en 1993 dans le cadre du réseau national REGEMO (REseau GENétique Mollusques). Les principaux participants sont, d'une part l'écloserie expérimentale de La Tremblade et la nurserie de Bouin chargées de produire et de prégresser le matériel biologique expérimental, d'autre part les autres laboratoires côtiers chargés de tester sur le terrain les souches produites (cf. organigramme fig. 5).

Le laboratoire de La Trinité sur mer est particulièrement concerné par les travaux sur l'huître plate *O. edulis* et les palourdes *R. philipparum* et *R. decussatus*, espèces importantes en Bretagne.

Ces trois dernières années ont vu la poursuite des travaux sur les souches résistantes et la mise en place d'essais de polyploïdisation.

L'effort de reproduction chez les mollusques bivalves est prioritaire sur la croissance. Dès le printemps, le métabolisme énergétique est monopolisé par la gamétogénèse, induisant ainsi un retard de croissance et une modification des qualités organoleptiques de la chair (Héral & Deslous-Paoli, 1983 in Gérard et al., 1993).

La triploïdisation a pour but d'entraîner une réduction de l'activité gonadogénétique au profit de la croissance. Des résultats positifs ont déjà été enregistrés chez *C. gigas* aux Etats Unis (Allen et Downing, 1986, 1990 in Gérard et al., 1993)

4.1-LE MATÉRIEL BIOLOGIQUE

Plusieurs lots d'huîtres triploïdes ont été produits à l'écloserie de La Tremblade en 1991 par traitement des oeufs à la cytochalasine B après fécondation selon la méthode décrite par Gendreau et Grizel (1990), (cf. schéma de la réaction cellulaire en annexe).

Après une période de prégrossissement, 2 lots de 2000 individus ont été mis en élevage en mai 1992, l'un en Baie de Quiberon, l'autre en Méditerranée. Les 2000 individus placés en Baie de Quiberon ont été répartis en 4 poches-casiers surélevées, par -5 mètres en dessous du zéro des cartes.

La ploïdie est déterminée par imagerie numérique (cf. résumé du principe Gérard et al., 1991, en annexe). Le taux de triploïdes initial étant de 70 %, les 30 % réfractaires au traitement (huîtres diploïdes) servent de témoins.

L'étude biochimique s'inscrit dans un protocole de suivi des performances qui inclut divers paramètres (la mortalité, la croissance, la qualité de la chair, la maturation sexuelle, le taux d'infestation par *Bonamia ostreae* et par *Polydora sp.*, et le taux de triploïdie (Martin et al., 1994). Seuls seront reportés ici les résultats concernant le cycle sexuel et la biochimie.

4.2-LA REPRODUCTION DE L'HUÎTRE PLATE

4.2.1-La sexualité d'*O. edulis* (in Marteil, 1976)

L'huître plate *O. edulis* est une espèce à hermaphrodisme successif et à sexualité consécutive rythmique (Coe, 1943). Elle est aussi larvipare : la fécondation a lieu dans la cavité palléale de l'huître femelle. Les larves sont incubées pendant 8 à 9 jours entre les valves. La séquence des différentes phases de la reproduction des huîtres présente un caractère rythmique:

- une phase de repos sexuel hivernal,
- une phase estivale de multiplication, maturation et émission des gamètes,

Au cours de l'été, les huîtres peuvent reconstituer leurs gonades et pondre de nouveau. Dans les conditions normales, on relève dans le Morbihan au moins 3 séries de pontes (Marteil, 1969) s'étalant de début juin à mi-septembre selon la température de l'eau.

4.2.2-Evaluation de l'état sexuel

L'évaluation de l'état sexuel chez *O. edulis* peut se faire par observation macroscopique selon la description donnée ci-dessous (tab. 9).

Tableau 9 : Evaluation de l'état sexuel chez *O. edulis*, d'après Marteil, 1957, 1960 in Marteil, 1976

Stade	Etat sexuel	Appellation
0-6	Gonade vide; correspond au repos sexuel ou à la fin de l'expulsion des gamètes	Très maigres ou maigres
1	Début de la gamétogénèse; multiplication des gonies.	Peu grasses
2	Gonades bien développées mais la dissociation des gamètes reste difficile.	Grasse
3	Stade dit de réplétion maximale; gonade hypertrophiée; une épaisse couche blanc-crème enveloppe la masse viscérale; les gamètes sont très abondants et obtenus par pression très légère.	Très grasses
4	les oeufs viennent d'être émis, ils forment dans la cavité palléale une masse blanche « laiteuse ».	Laiteuses
5	L'incubation est terminée; les coquilles larvaires donnent à la masse des embryons une coloration gris-ardoise.	Ardoisées
6	Gonade entièrement vide; masse digestive bien visible; coloration grisâtre de la chair. Stade se confondant avec le stade 0.	

4.2.3-Evolution du taux de maturation sexuelle des lots expérimentaux

Les huîtres sont en élevage depuis mai 92. Les stades de maturation déterminés pour quelques prélèvements ont été réalisés par simple observation macroscopique et par observation des produits sexuels sur les frottis destinés à l'examen pathologique.

Tableau 10 : Pourcentage d'huîtres aux différents stades de maturation

	Diploïdes			Triploïdes		
	20-avr-93	29-jun-93	23-jul-93	20-avr-94	29-jun-94	23-jul-94
0	57,14	27,27	18,75	82,61	52,08	88,64
1	33,33	27,27	43,75	17,39	41,67	9,09
2	9,52	9,09	31,25		4,17	2,27
3		9,09	6,25		2,08	
4		18,18				
5		9,09				

En avril, on constate la présence de produits sexuels en formation sur les individus diploïdes (stade 2 - 9 %) et triploïdes (stade 1 - 17 %). Fin juin, on trouve des stades plus évolués de la gamétogénèse, allant jusqu'au stade 5 (9 %) pour les diploïdes et jusqu'au stade 3 (2 %) pour les triploïdes. Fin juillet, 6 % de diploïdes sont au stade 3 et 2 % de triploïdes au stade 2 (tab. 10 et fig. 6 et 7).

Le taux d'individus en cours de maturation en avril, juin et juillet est plus élevé pour les diploïdes que pour les triploïdes, de même que le degré de maturation. On a pu observer quelques diploïdes achevant leur maturation, mais aucun triploïde.

Cependant, il est difficile de distinguer macroscopiquement une huître plate au stade 0 d'une huître ayant pondu (stade 6). On a donc pu confondre des huîtres ayant achevé leur maturation avec des huîtres au stade 0. On a pu également passer à côté d'une ponte, le pas de prélèvement étant trop large.

On ne connaît donc pas la quantité réelle d'huîtres arrivées à maturation, mais l'activité gamétogénétique a été beaucoup moins importante chez les triploïdes que chez les diploïdes.

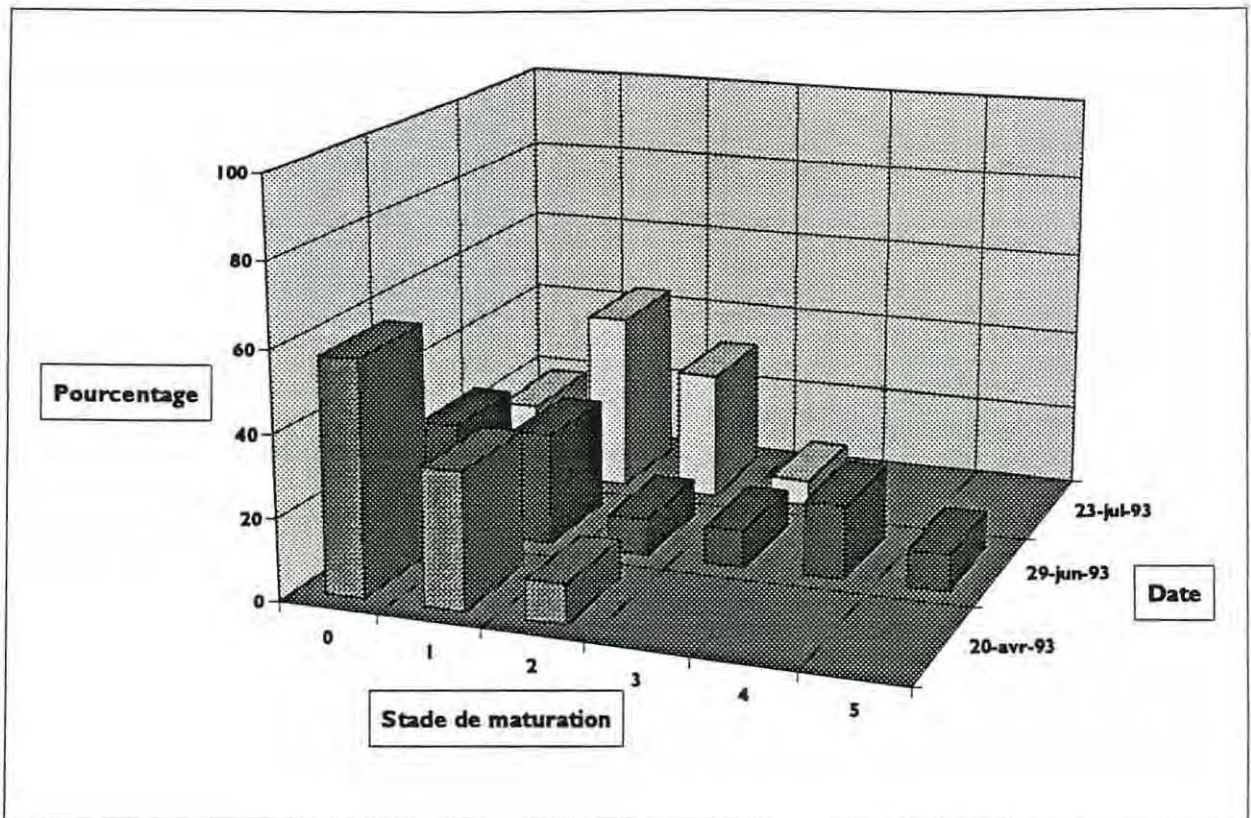


Figure 6 : Huîtres diploïdes (pourcentages) classées selon leur stade de maturation

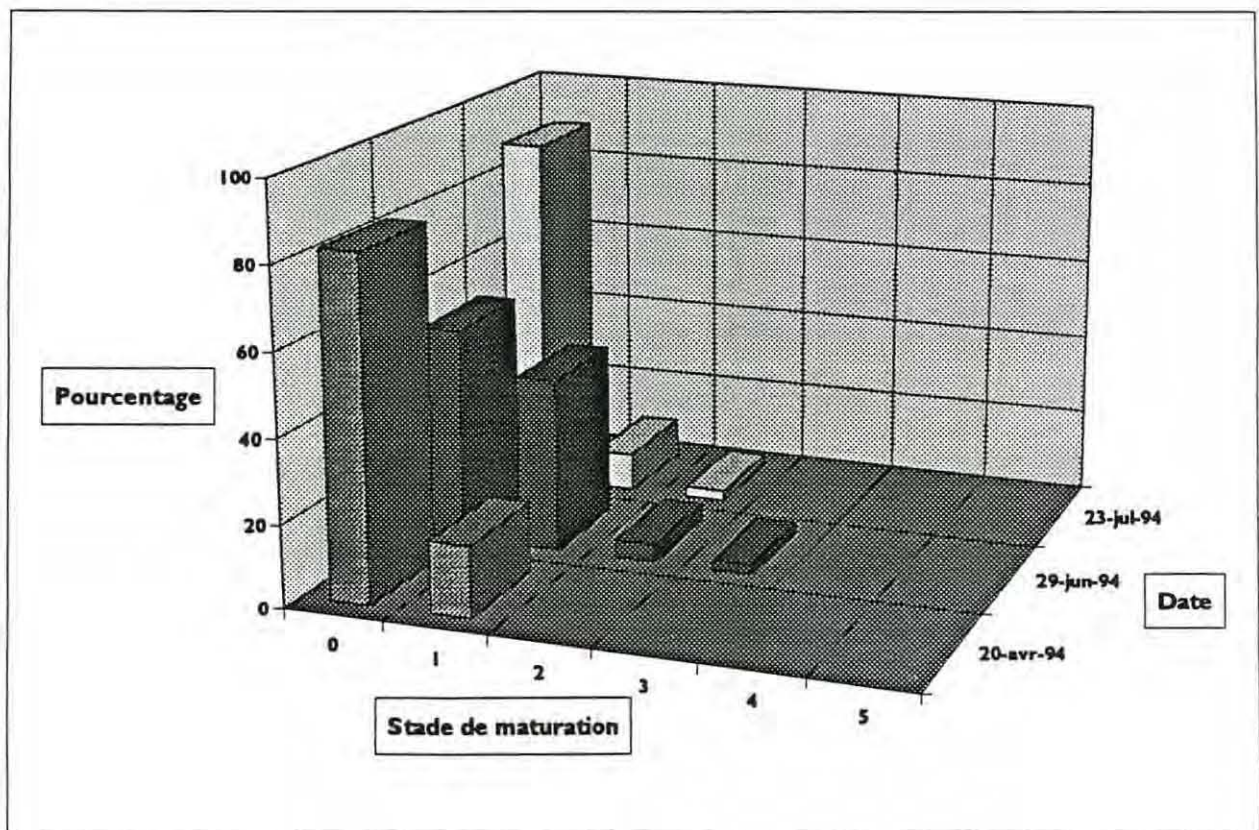


Figure 7 : Huîtres triploïdes (pourcentages) classées selon leur stade de maturation

4.3-ANALYSES BIOCHIMIQUES

4.3.1-Conditions expérimentales

Les paramètres biochimiques sont suivis individuellement sur 7 lots de 60 huîtres correspondant à 7 prélèvements (tab. 11) selon les protocoles en annexe.

Tableau 11 : Calendrier des prélèvements et nombre d'individus analysés par lot

	17-nov-92	11-fev-93	19-avr-93	29-jun-93	23-jul-93	30-sep-93	02-dec-93
	A	B	C	D	E	F	G
Diploïdes	25	20	20	11	16	28	15
Triploïdes	22	40	21	45	42	27	37

Le calendrier des prélèvements couvre une année entière ; on peut ainsi mettre en évidence l'existence du biochimique.

Les dosages n'ont pas été effectués sur les huîtres dont la ploïdie n'était pas déterminée (quelques cas dans les lots B, C, F, G). Le broyage des huîtres, notamment des premiers lots a posé quelques difficultés, probablement à cause de la petite taille des échantillons (poids sec : environ 0.3 g). Le broyat n'étant pas homogène, la chair de certaines huîtres n'a donc pas été analysée.

Pour les huîtres riches en glucides il a fallu augmenter la quantité de TCA lors de l'extraction. L'échantillon ainsi dilué ne sort pas de la gamme étalon.

Pour l'interprétation des résultats, il a fallu tenir compte du fait que l'indétermination de la ploïdie et les difficultés rencontrées lors du broyage ont diminué les effectifs des lots déjà petits et inégaux (cf. tab. 11).

4.3.2-Traitement statistique des données

Une première approche statistique a été tentée. Les données des prélèvements montrant des différences marquées entre les deux lots ont été examinées (prélèvements D, E et F, correspondant respectivement à fin juin, fin juillet et mi-septembre).

L'examen des histogrammes de fréquences des valeurs observées montre une grande variabilité intra-lot et, semble-t'il, une évolution au cours de l'année dans la distribution des données. Il semble se dégager, surtout pour les triploïdes, une « tête de lot » et une « queue de lot ». L'étude devant se poursuivre une année, il sera nécessaire de vérifier cette tendance par un examen approfondi des données en tenant compte des autres paramètres recueillis, pour utiliser les tests les plus appropriés. Ceci dépassant le cadre de ce rapport, il est fait, ici, une présentation de l'évolution des courbes et une discussion autour des différences observées qui devra être précisée ultérieurement.

4.3.3-Résultats des analyses biochimiques

L'évolution des paramètres biochimiques des diploïdes et des triploïdes est présentée dans les figures 9 à 12 en pourcentage de chair sèche. Les résultats bruts sont en annexe.

4.3.3.1- Les lipides (fig 8)

Les lipides sont les principaux composants des produits sexuels. Les fluctuations observées chez les diploïdes et chez les triploïdes sont peu importantes, mais on observe tout de même une évolution dans les 2 groupes : les teneurs en lipides augmentent de 5.7 à 7.7 % pour les diploïdes et de 5.3 à 7.7 % pour les triploïdes, de mi-novembre à fin juillet ; puis les taux des 2 classes d'individus diminuent et se rejoignent début décembre à 6.6 %. Fin juin, on constate chez les diploïdes une chute de la teneur en lipides et une autre moins importante fin septembre.

4.3.3.2-Les sucres totaux et le glycogène (fig.9 et 10)

Les sucres totaux sont principalement représentés par le glycogène. Une phase d'accumulation des sucres totaux de 7.5 à 26 % chez les diploïdes et de 5.5 à 30 % chez les triploïdes est observée de mi-février à fin juin. Par la suite, on observe une diminution des teneurs en sucres dans les 2 groupes. Cette chute est cependant plus rapide chez les diploïdes. Début décembre, les teneurs en sucres totaux se rejoignent (17 %).

4.3.3.3-Les protéines (fig. 11)

La croissance est liée à la teneur en protéines de la chair. Le cycle des protéines présente une évolution inverse de celui des glucides. On observe une augmentation des teneurs au début de l'hiver (mi-novembre à mi-février) identique chez les diploïdes et les triploïdes. Ensuite on constate une baisse à 29.5 % pour les 2 groupes. Puis à partir de juillet, les teneurs augmentent de nouveau de façon plus importante chez les diploïdes (de 29.5 à 38.7 %), que chez les triploïdes (de 29.5 à 33.3 %), observation liée à la baisse du pourcentage de glucides. Fin juillet, on remarque une petite chute de la teneur en protéines chez les triploïdes. Fin décembre les taux baissent à nouveau et se rejoignent à 32 %.

4.3.4-Discussion

Les modifications de composition biochimiques des mollusques observées tout au long de l'année sont liées à la reproduction et aux variations de la disponibilité des ressources alimentaires dans le milieu (Besançon, 1993).

En général, la teneur en lipides est représentative du cycle de la gamétogénèse, les produits sexuels étant riches en lipides. Les teneurs en lipides augmentent pendant la phase de maturation, puis baissent au moment de la ponte.

Le cycle lipidique observé chez les diploïdes et les triploïdes peut être expliqué par la maturation d'une partie des huîtres. Cependant, les fluctuations observées sont très faibles. Heurtebise et Garnier (in REGEMO, 1993) ont remarqué chez les huîtres creuses des fluctuations beaucoup plus importantes en période estivale, notamment entre début et fin juillet, où les taux chutent brutalement de 15.5 à 8 %. Par ailleurs, on considère que pour des huîtres creuses diploïdes, le poids de gamètes augmente avec l'âge. Deslous-Paoli et Héral (non publié

in Barnabé, 1989) admettent qu'il représente 7 % pour des huîtres de un an, 60 % pour des huîtres de 2 ans et 80 % pour des huîtres de 3 ans. Les huîtres plates de l'étude, âgées de 2 ans, sont en moyenne de petite taille, avec une variabilité très grande entre les individus, ceci peut expliquer les faibles fluctuations de lipides observées.

Chez les diploïdes, la légère variation de la teneur en lipides fin juin et fin juillet peut correspondre une reconstitution de produits sexuels à la suite d'une émission de gamètes.

Le cycle des glucides montre des fluctuations plus importantes au cours de l'année et entre les 2 lots d'huîtres : une forte augmentation de janvier à avril, qui se ralentit ensuite pour les diploïdes, et une diminution à partir de juin. Pendant la période estivale, les triploïdes maintiennent un taux de glucides supérieur à celui des diploïdes, sans doute lié à une moindre utilisation des glucides pour la gamétogénèse.

Le cycle de reproduction ne suffit pas à expliquer les variations des glucides. L'abondance de nourriture favorise la constitution de réserves de ces composants. Ceux-ci sont par contre utilisés lorsque l'apport de nourriture est réduit.

Les variations printanières et estivales des protéines, sont inversement corrélées aux variations des glucides pendant ces 2 périodes.

Les différences s'annulent en décembre pour l'ensemble des paramètres biochimiques.

4.4-CONCLUSION

Les huîtres diploïdes et triploïdes suivent un cycle biochimique parallèlement aux différentes phases de la maturation sexuelle. Des différences entre les 2 lots sont constatées pour les glucides et les protéines pendant la période estivale. Il n'y a cependant pas globalement de différences observées en fin d'année entre les 2 lots. Un examen plus précis des données du dernier prélèvement montre toutefois une plus grande variabilité intra-lot chez les triploïdes. Une année d'élevage supplémentaire est nécessaire pour démontrer l'intérêt ou non de la triploïdisation, en augmentant la taille des échantillons prélevés et en tenant compte dans l'analyse de l'ensemble des données de la variabilité intra-lot.

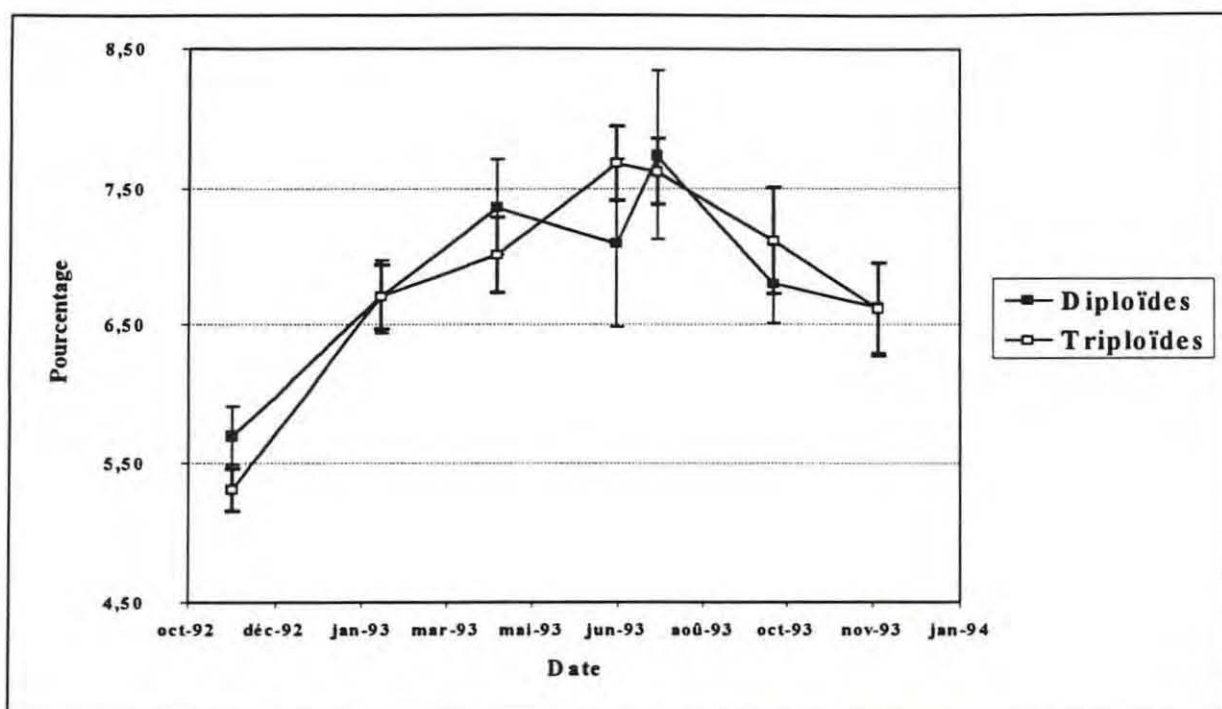


Figure 8 : Evolution de la teneur en lipides chez les diploïdes et les triploïdes en pourcentage de chair sèche

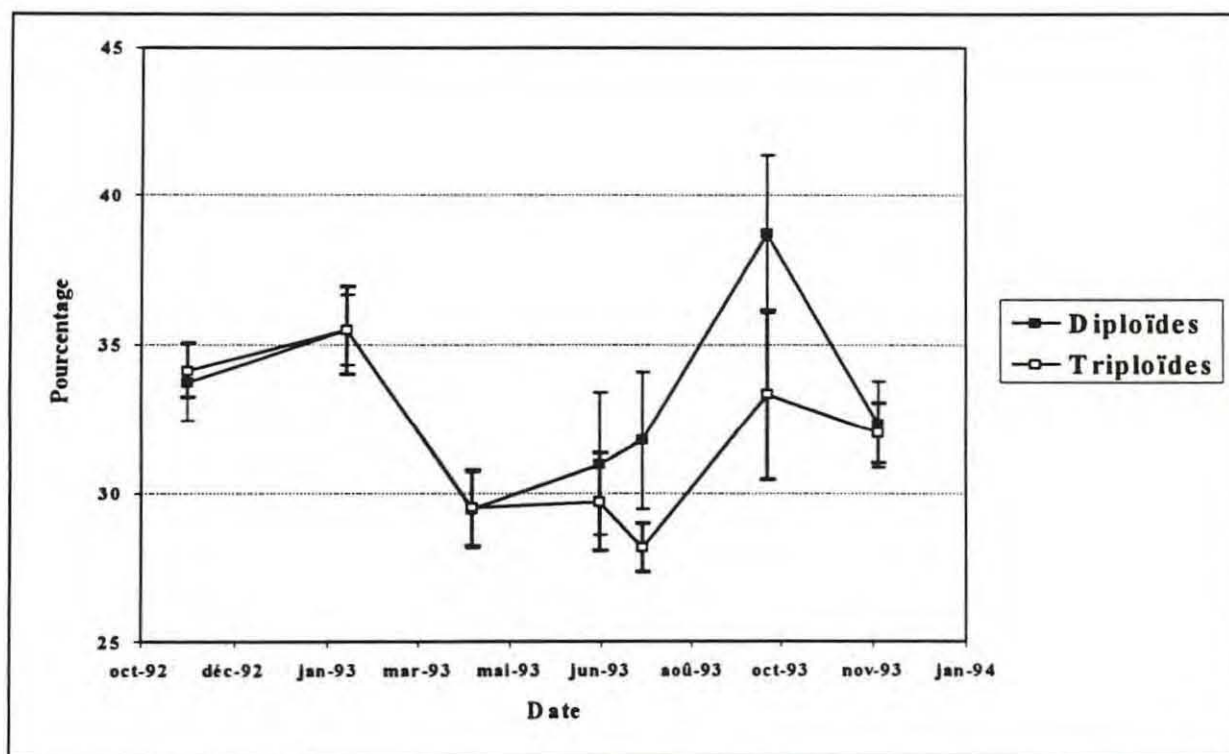


Figure 11 : Evolution de la teneur en protéines chez les diploïdes et les triploïdes en pourcentage de chair sèche

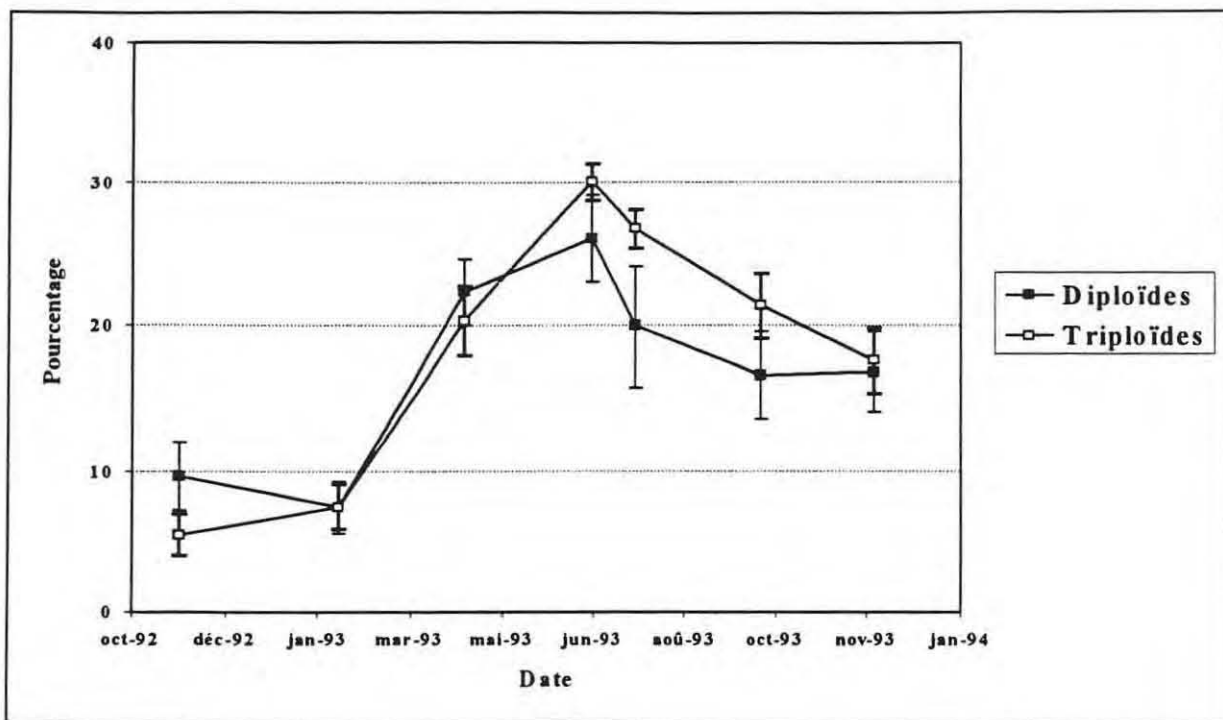


Figure 9 : Evolution de la teneur en sucres totaux chez les diploïdes et les triploïdes en pourcentage de chair sèche

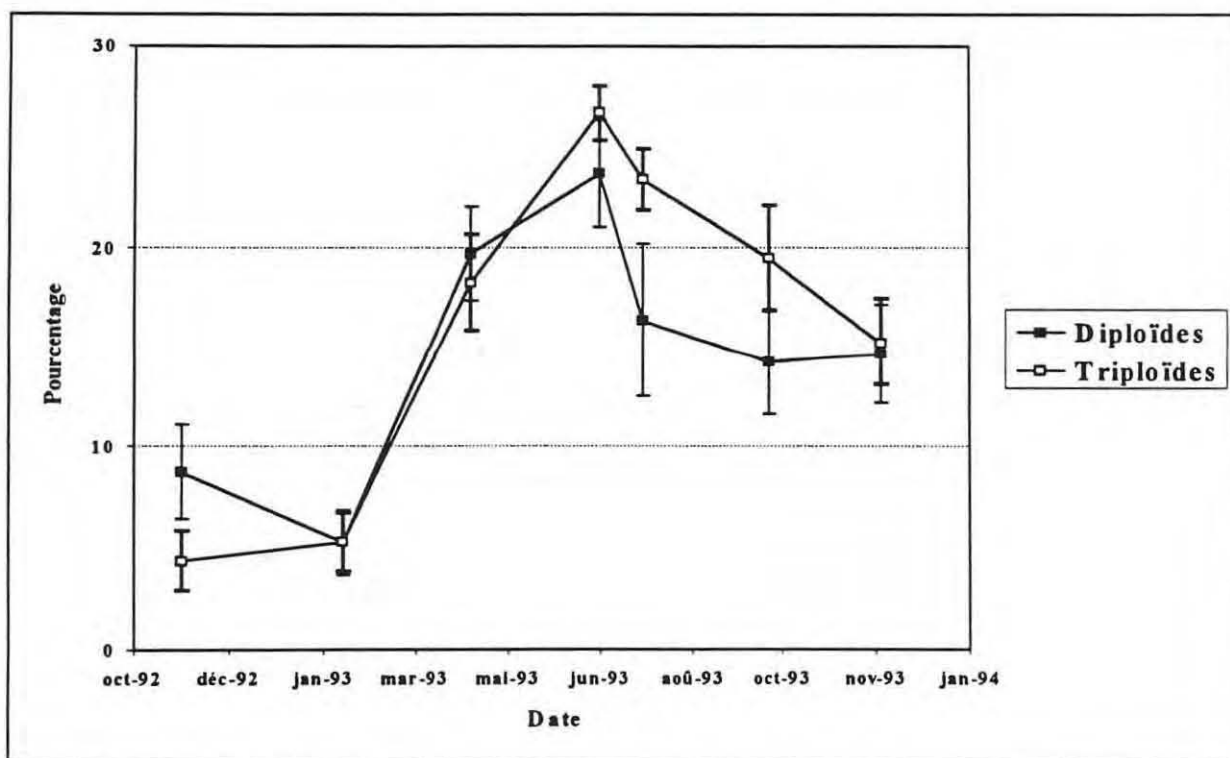


Figure 10 : Evolution de la teneur en glycogène chez les diploïdes et les triploïdes en pourcentage de chair sèche

CONCLUSION

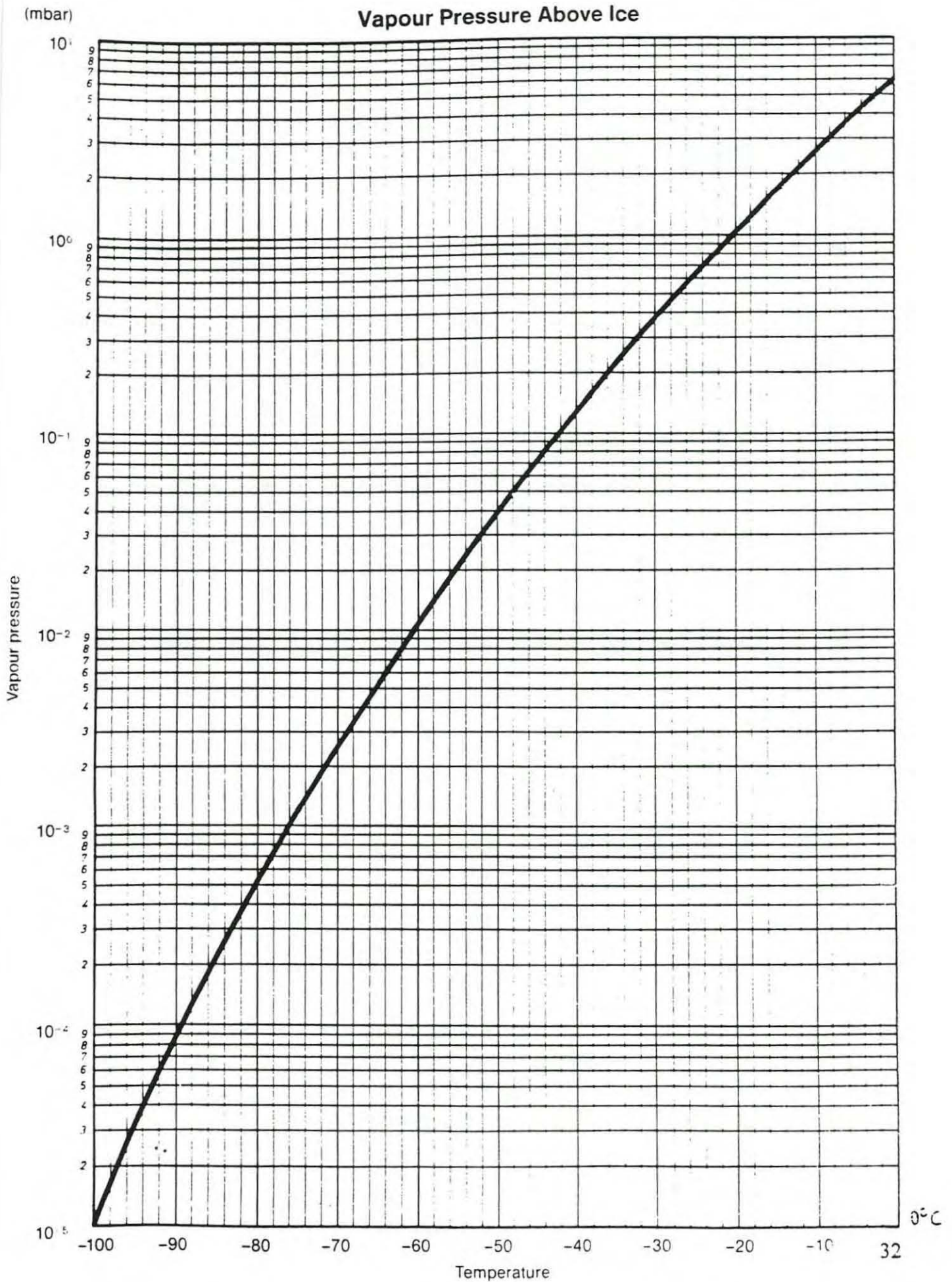
La connaissance de la composition biochimique de tout organisme comestible est importante puisqu'elle reflète leurs qualités organoleptiques (S. Boromthanasri, 1986).

Ainsi, les informations apportées par les analyses biochimiques effectuées sur les huîtres creuses de programme REMORA, a permis d'établir un classement des sites de production en Bretagne.

Les analyses biochimiques effectuées dans le cadre du contrôle de performances des huîtres plates triploïdes par rapport aux diploïdes, montrent des différences de la composition de la chair entre les 2 populations. Cependant, de nombreux éléments n'ont pas été pris en compte dans cette étude. Les essais se poursuivant encore un an, un traitement global des données sera effectué.

Les méthodes d'analyses utilisées sont assez lourdes. Elles nécessitent une bonne organisation du travail. De plus, le traitement des données et la rédaction du rapport m'ont familiarisée à l'utilisation de différents logiciels(Word, Excel sous Windows). Ce rapport conclut non seulement le stage, mais il participe aussi à l'élaboration de différents rapports internes IFREMER en tant que rapport intermédiaire.

Annexes



DOSAGE DES PROTEINES

EXTRACTION

- Peser 8 à 10 mg de chair lyophilisée et broyée dans un tube cristal de 10 ml
- Ajouter 10 ml de NaOH 1N, boucher le tube
- Agiter par retournements
- Laisser une nuit à température ambiante

MODE OPÉRATOIRE

- Mettre dans un tube cristal de 10 ml:
 - ◊ 0.5 ml de l'échantillon dilué (agiter par retournements avant le pipetage), ou de l'étalon
 - ◊ 0.5 ml d'H₂SO₄ 1N pour ramener à pH neutre
 - ◊ 5 ml de la solution D
- Laisser 1h30mn à température ambiante pour que la coloration bleu-violacée se développe au maximum
- Mesure la DO à 750 nm

GAMME ÉTALON

- Faire l'étalonnage avec de l'albumine de boeuf de 0 à 500 µg/ml
- Préparation de la solution mère à 500 µg/ml : mettre 0.5 ml d'albumine à 10 g/100 ml dans une fiole de 100 ml que l'on ajuste avec du NaOH 1N
- Gamme :

Concentration en µg/ml	Solution mère en ml	NaOH 1 N en ml
500	5	0
400	4	1
300	3	2
200	2	3
100	1	4
0	0	5

L'étalonnage n'étant pas linéaire on calcule la droite de régression entre chaque point de la gamme étalon.

SOLUTIONS DE DOSAGE

- Solution A : Na₂CO₃ à 2 % dans du NaOH 0.1N
- Solution B : CuSO₄ à 0.5 % dans de l'eau distillée
- Solution C : Tartrate de sodium à 1 % dans de l'eau distillée
- Solution D : 100 ml de A + 2 ml de B + 2 ml de C
- Solution E : Réactif Folin-Ciocalteu dilué au ½

Les résultats exprimés en équivalent albumine de boeuf sont transformés en pourcentage de matière sèche.

$$\% = \frac{\text{Concentration en } \mu\text{g/ml}}{\text{Poids en mg}}$$

DOSAGE DES LIPIDES

EXTRACTION ET PURIFICATION

- Peser 6 à 7 mg de chair lyophilisée et broyée dans un tube en propylène de 10 ml
- Ajouter 1 ml de chloroforme et 2 ml de méthanol absolu
- Homogénéiser à la spatule si nécessaire
- Centrifuger 10 mn à 3000 t/mn
- Soutirer le surnageant dans un tube en verre de 10 ml résistant à 200 °C
- Répéter l'opération
- Séparer les 2 phases par ajout de 4 ml d'eau distillée
- Centrifuger pendant 10 mn à 3000 t/mn
- Soutirer et jeter la phase aqueuse
- Evaporer le chloroforme à l'étuve à 60 °C

MODE OPÉRATOIRE

- Ajouter 10 ml d'H₂SO₄ concentrée
- Placer dans le bloc chauffant 20 mn à 200 °C
- Homogénéiser
- Refroidir
- Lire la DO à 360 nm

GAMME ÉTALON

Solution mère à 750 µg/ml à partir de 15 mg d'acide tripalmitique dilué dans 20 ml de chloroforme

Gamme :

Concentration en µg/ml	Solution mère en ml	Chloroforme en ml
1500	2	0
1125	1.5	0.5
750	1	1
375	0.5	1.5
0	0	2

Faire évaporer le chloroforme et traiter comme les échantillons

Il n'est pas nécessaire de refaire souvent l'étalonnage car la solution utilisée pour le dosage (H₂SO₄ concentrée) est stable.

L'étalonnage est linéaire. Les résultats sont exprimés en équivalent tripalmitate puis transformés en pourcentage de matière sèche.

$$\% = \frac{\text{Concentration en } \mu\text{g/ml}}{10 * \text{Poids en mg}}$$

DOSAGE DES GLUCIDES

EXTRACTION

- Ajouter 3 ml d'acide trichloroacétique à 15 % sur le culot de chair délipidée et séchée
- Placer à 10 °C pendant une heure
- Homogénéiser à la spatule
- Centrifuger 10 mn à 3000 t / mn
- Pipetter 0.5 ml du surnageant dans 2 tubes en propylène; l'un servira au dosage des sucres totaux et l'autre au dosage du glycogène
- Ajouter 4 ml d'éthanol absolu pour précipiter le glycogène
- Centrifuger à 300 t / mn
- Jeter le surnageant (le culot de glycogène est très peu visible)
- Ajouter 0.5 ml d'H₂O bouillante

MODE OPÉRATOIRE

- Ajouter 1 ml de phénol dans les tubes pour le dosage des sucres totaux et du glycogène
- Laisser reposer 40 mn à température ambiante
- Ajouter 5 ml d'H₂SO₄ concentrée
- Attendre 10 mn avant de lire la DO à 490 nm

GAMME ÉTALON

Faire l'étalonnage dans du T.C.A. à 15 % avec du glucose; en prendre 0.5 ml et suivre le mode opératoire

Gamme :

Concentration en µg / ml	Glucose à 1 mg / ml	T.C.A. à 15 % en ml	Tube précédent mélangé en ml
500	1	1	
250		1	1
125		1	1
62.5		1	1
0		1	

En cas de forte teneur en glucides, on peut augmenter la quantité de T.C.A. lors de l'extraction.

L'étalonnage est linéaire. Les résultats sont exprimés en équivalent glucose puis transformés en pourcentage de matière sèche.

$$\% = \frac{\text{TCA en ml} * \text{Concentration en } \mu\text{g/ml}}{10 * \text{Poids en mg}}$$

Résultats REMORA 93

Site	Pool	% L	% ST	% P	% Gly	% SL	% TOT
Cancale 2 Poche sans jonc	1	6,9	5,2	60,6			72,6
		7,2	5,4	56,1	4,4	1,0	68,7
	Moyenne	7,1	5,3	58,3			70,6
	2	7,4	5,3	64,4			77,2
		6,6	5,4	55,4	4,8	0,6	67,4
	Moyenne	7,0	5,4	59,9			72,3
	3	8,4	5,0	61,5			75,0
		7,7	5,8	48,2	4,7	1,1	61,8
	Moyenne	8,1	5,4	54,9			68,4
	Moyenne Totale	7,4	5,4	57,7	4,63	0,90	70,4
Paimpol 2	1	10,2	10,6	58,5			79,2
		8,9	9,3	47,9	10,4	-1,0	66,2
	Moyenne	9,5	9,9	53,2			72,7
	2	8,7	9,3	48,3			66,2
		8,1	10,2	45,6	10,4	-0,2	63,9
	Moyenne	8,4	9,7	46,9			65,1
	3	8,9	11,0	50,2			70,1
		8,5	10,4	47,7	11,6	-1,2	66,5
	Moyenne	8,7	10,7	48,9			68,3
	Moyenne Totale	8,9	10,1	49,7	10,77	-0,82	68,7
Morlaix 2 poche sans jonc	1	8,8	10,5	49,7	8,5	2,0	69,1
		6,6	7,5	51,4	10,2	-2,6	65,5
	Moyenne	7,7	9,0	50,6	9,3	-0,3	67,3
	2	7,7	8,7	54,6	9,3	-0,6	71,0
		6,2	9,0	42,6	9,1	-0,2	57,7
	Moyenne	6,9	8,8	48,6	9,2	-0,4	64,4
	3	8,2	8,1	56,7			73,0
		6,7	7,6	49,8	8,7	-1,1	64,1
	Moyenne	7,4	7,8	53,3			68,5
	Moyenne Totale	7,4	8,6	50,8	9,16	-0,50	66,7
Aber Benoit 2	1	12,4	11,1	52,7			76,2
		11,1	8,7	49,3	10,5	-1,8	69,1
	Moyenne	11,8	9,9	51,0			72,7
	2	15,6	11,9	46,5			74,0
		14,8	8,6	49,7	10,3	-1,8	73,0
	Moyenne	15,2	10,2	48,1			73,5
	3	13,3	10,7	55,1	4,7	6,0	79,1
		15,7	7,6	54,5	9,8	-2,2	77,9
	Moyenne	14,5	9,2	54,8	7,3	1,9	78,5
	Moyenne Totale	13,8	9,8	51,3	8,86	0,04	74,9

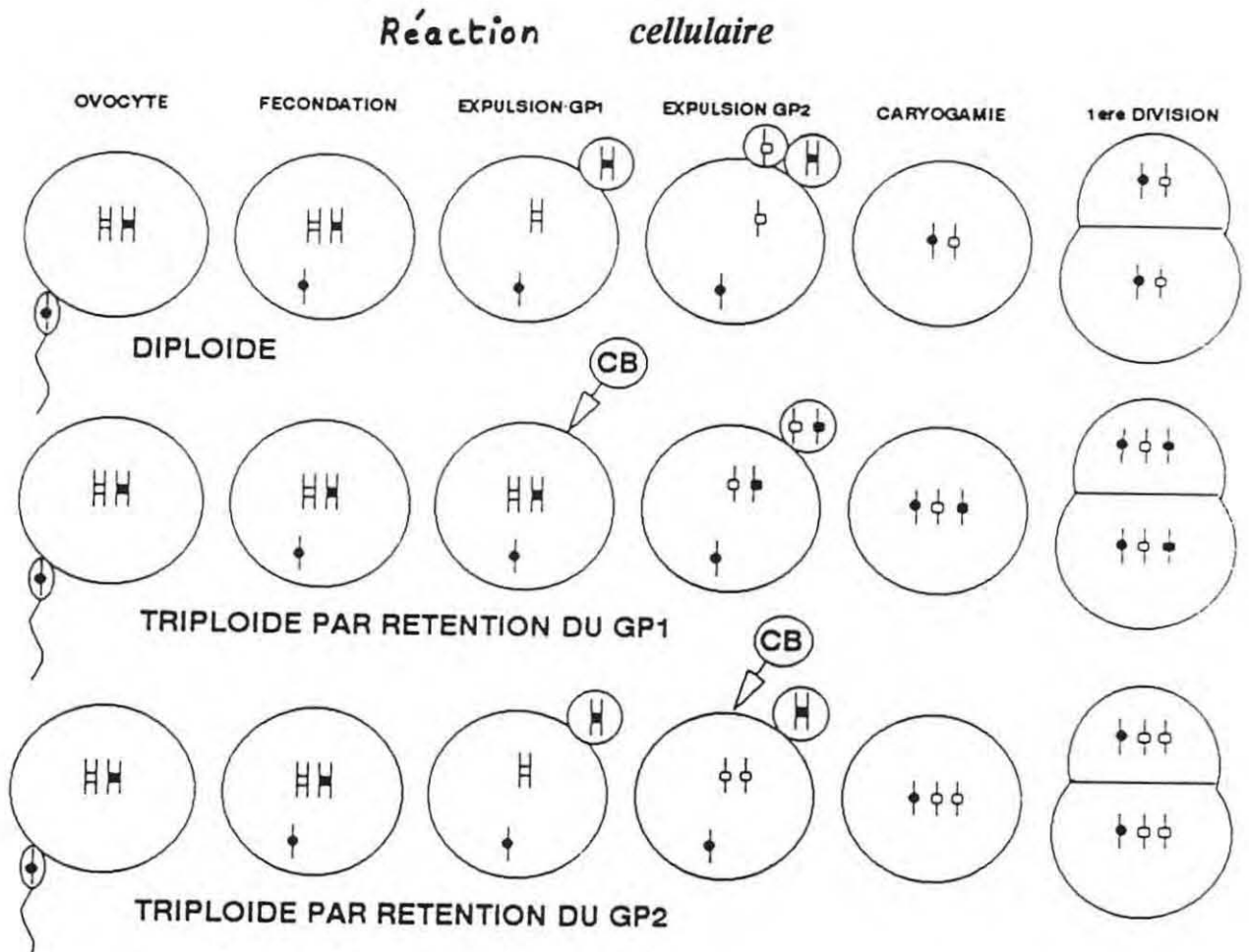
Site	Pool	% L	% ST	% P	% Gly	% SL	% TOT
Rade de Brest 1 Rostiviec	1	7,7	7,8	53,8			69,2
		7,4	5,4	60,7	5,5	-0,1	73,5
	Moyenne	7,5	6,6	57,2			71,3
	2	9,6	7,5	64,6			81,7
		7,9	6,2	55,5	6,0	0,1	69,6
	Moyenne	8,8	6,8	60,1			75,6
	3	10,7	5,4	67,0	4,0	1,4	83,1
		6,8	6,0	51,2	7,1	-1,1	64,0
	Moyenne	8,7	5,7	59,1	5,5	0,1	73,6
	Moyenne Totale	8,4	6,4	58,8	5,7	0,1	73,5
Rade de Brest 2 Releck de Kerhuon	1	7,6	3,0	61,8	3,16	-0,25	72,3
		6,3	7,6	57,1	1,2	6,5	71,1
	Moyenne	7,0	5,3	59,4	2,2	3,1	71,7
	2	7,8	4,6	60,5	4,1	0,5	72,9
		8,1	6,4	62,0	2,8	3,5	76,4
	Moyenne	7,9	5,5	61,3	3,5	2,0	74,7
	3	6,5	3,5	60,2	3,4	0,1	70,3
		7,3	9,5	57,5	2,3	7,2	74,3
	Moyenne	6,9	6,5	58,9	2,8	3,7	72,3
	Moyenne Totale	7,3	5,8	59,9	2,8	2,9	72,9
Rade de Brest 3 Roscanviel	1	8,7	10,1	50,7	9,8	0,4	69,5
		9,7	11,6	45,0	8,2	3,4	66,3
	Moyenne	9,2	10,9	47,8	9,0	1,9	67,9
	2	9,9	11,2	57,2	9,2	2,0	78,3
		9,8	12,1	52,0	10,7	1,4	73,9
	Moyenne	9,9	11,6	54,6	9,9	1,7	76,1
	3	10,5	14,6	45,3	9,7	4,9	70,4
		10,9	16,8	46,0	14,7	2,0	73,6
	Moyenne	10,7	15,7	45,6	12,2	3,4	72,0
	Moyenne Totale	9,9	12,7	49,4	10,4	2,3	72,0
Etel 2 poche sans jonc	1	7,4	8,4	56,0			71,8
		7,5	6,5	49,0	6,1	0,4	63,0
	Moyenne	7,5	7,5	52,5			67,4
	2	8,5	6,6	57,2	5,2	1,4	72,2
		6,4	5,7	50,3	6,0	-0,3	62,4
	Moyenne	7,5	6,2	53,7	5,6	0,6	67,3
	3	7,7	5,9	53,2			66,8
		7,4	6,5	48,9	5,4	1,1	62,8
	Moyenne	7,6	6,2	51,1			64,8
	Moyenne Totale	7,5	6,6	52,4	5,66	0,66	66,5

Site	Pool	% L	% ST	% P	% Gly	% SL	% TOT
Quiberon 1	1	8,9	8,4	59,3	5,8	2,7	76,6
	Le Pô	9,2	6,1	49,3	8,0	-2,0	64,5
	Moyenne	9,0	7,2	54,3	6,9	0,4	70,6
	2	9,4	11,9	58,5	1,4	10,5	79,8
		8,1	8,3	49,8	8,8	-0,5	66,2
	Moyenne	8,7	10,1	54,2	5,1	5,0	73,0
	3	8,2	6,8	56,7	4,8	2,0	71,7
		7,9	6,3	51,6	5,9	0,4	65,8
	Moyenne	8,1	6,6	54,1	5,4	1,2	68,8
	Moyenne Totale	8,6	8,0	54,2	5,8	2,2	70,8
Quiberon 2	1	10,3	8,2	52,9	5,2	3,0	71,3
Men er Roué		8,5	9,4	49,2	11,9	-2,5	67,2
(eau profonde)	Moyenne	9,4	8,8	51,1	8,5	0,3	69,3
	2	8,4	9,8	53,2	7,4	2,5	71,4
		7,7	8,3	50,6	8,4	-0,1	66,6
	Moyenne	8,0	9,1	51,9	7,9	1,2	69,0
	3	8,3	11,1	53,0	13,4	-2,3	72,5
		8,0	14,2	46,9	12,3	1,9	69,1
	Moyenne	8,1	12,7	50,0	12,9	-0,2	70,8
	Moyenne Totale	8,5	10,2	51,0	9,8	0,4	69,7
G. Morbillan 2	1	5,7	4,5	51,5	5,6	-1,1	61,7
		7,9	5,7	56,7	4,9	0,7	70,3
	Moyenne	6,8	5,1	54,1	5,3	-0,2	66,0
	2	7,2	3,9	52,7	4,3	-0,4	63,8
		6,6	4,1	52,4	3,0	1,0	63,1
	Moyenne	6,9	4,0	52,5	3,6	0,3	63,5
	3	8,0	10,4	46,7	3,7	6,7	65,1
		8,0	10,6	44,0	7,3	3,4	62,6
	Moyenne	8,0	10,5	45,3	5,5	5,0	63,8
	Moyenne Totale	7,3	6,5	50,7	4,8	1,7	64,4
Pénerf 2	1	8,8	8,0	51,8	5,9	2,1	68,6
		7,9	7,1	52,0	6,4	0,7	67,1
	Moyenne	8,4	7,6	51,9	6,2	1,4	67,9
	2	8,8	9,0	52,4	10,1	-1,1	70,2
		8,4	10,8	46,5	9,9	0,9	65,7
	Moyenne	8,6	9,9	49,4	10,0	-0,1	67,9
	3	7,4	6,5	46,8			60,7
		7,1	6,2	47,8	6,1	0,2	61,1
	Moyenne	7,3	6,4	47,3			60,9
	Moyenne Totale	8,1	8,0	49,5	7,69	0,55	65,6

Site	Pool	% L	% ST	% P	% Gly	% SL	% TOT
Pen Bé 2	1	9,7	9,9	49,0			68,6
		10,4	10,9	48,8	8,3	2,6	70,1
	Moyenne	10,0	10,4	48,9			69,3
	2	10,5	9,5	52,6			72,6
		10,3	9,3	51,9	9,0	0,4	71,6
	Moyenne	10,4	9,4	52,3			72,1
	3	10,9	7,7	51,1	4,4	3,3	69,7
		9,3	9,8	51,1	7,3	2,5	70,3
	Moyenne	10,1	8,7	51,1	5,9	2,9	70,0
	Moyenne Totale	10,2	9,5	50,8	7,25	2,18	70,5

INDUCTION DE LA TRIPLOÏDIE PAR RÉTENTION DES GLOBULES

POLAIRES QUELQUES MINUTES APRÈS LA FÉCONDATION



C.B : Cytochalasine B
G.P. : Globule polaire

Figure extraite du rapport interne RIDAV-93 022 / La Tremblade

CONTROLE DE LA PLOIDIE PAR IMAGERIE NUMÉRIQUE

Résumé extrait de Gérard et al. 1991

L'induction de la triploïdie chez les mollusques bivalves par traitement chimique des oeufs, nécessite un contrôle à chaque génération.

Cette vérification est habituellement effectuée par comptage des chromosomes. La technique utilisée n'est réalisable que sur les stades trocophores et sur les juvéniles mesurant de 5 à 30 mm.

Dans le domaine de la cytologie quantitative, le développement récent de la cytométrie à balayage a permis de mettre au point une méthode facilement applicable au contrôle de la ploïdie aux différents stades de la croissance des mollusques bivalves.

Pour la préparation des échantillons, les branchies sont séchées sur du papier absorbant, puis des empreintes sont réalisées par apposition des tissus sur des lames histologiques. Une fois séchées, les lames sont fixées pendant 10 mn au Bohm-Sprenger pour les conserver.

Le contenu du noyau est mis en évidence par la réaction de Feulgen-Rossenbeck (Giroud, 1987 ; Lavaill, 1988).

La mesure de la densité optique intégrée d'une cinquantaine de cellules par rapport à la densité optique intégrée d'individus diploïdes de référence permet de calculer un indice d'A.D.N. qui est proche de 1 pour les diploïdes et de 1.5 pour les triploïdes.

Cette technique utilisable en routine est plus fiable et plus rapide que le comptage des chromosomes, et plus simple que la cytométrie de flux.

L'appareil utilisé à l'IFREMER de La Tremblade est un analyseur d'images microscopiques à balayage automatique SAMBA TM 2005 développé par TITN Alcatel complété par un logiciel d'application « Ploïdie version 1-04 ».

LOT A

Diploïdes					Triploïdes				
n°	% P	% L	% ST	% Gly	n°	% P	% L	% ST	% Gly
1	37,83	4,92	2,54	1,54	2	35,64	5,38	3,03	1,90
3	34,50	6,03	6,62	6,08	6	31,79	5,42	6,58	4,94
4	32,82	5,24	7,51	5,75	9	36,37	5,29	2,55	1,40
5	34,85	5,71	4,42	3,55	19	37,42	4,95	0,79	0,29
7	32,09	6,02	15,49	14,40	21	35,18	5,07	7,43	5,79
8	31,21	5,13	11,74	10,52	23	30,86	4,70	7,48	5,95
10	36,57	5,38	1,42	0,68	24	35,82	5,19	2,29	1,46
11	34,90	5,23	5,01	4,61	26	35,28	5,61	6,68	6,25
12	35,55	5,40	6,71	5,26	27	33,02	4,60	6,66	5,87
13	36,89	6,50	18,75	16,62	28	35,21	5,51	6,21	5,27
14	29,37	6,77	18,31	20,16	29	31,08	5,22	4,69	3,89
15	33,54	5,65			31				
16	38,27	5,18	1,89	0,92	32	32,84	5,22	2,77	1,51
17	32,36	6,35	14,16	13,12	36				
18	36,03	5,21	2,33	1,79	38				
20	37,48	5,46	7,09	6,15	39	35,49	5,95	4,58	3,81
22	34,06	5,45	10,54	10,42	42				
25	37,99	5,52	5,94	5,52	44	37,14	5,21	4,78	3,06
30	28,43	6,56	17,41	16,16	45		5,29	2,72	1,85
33					46				
34	32,84	6,40	11,92	11,10	47				
35	27,78	6,64	17,80	17,23	48	32,30	5,38	4,14	2,13
37	30,38	5,55	10,61	9,02	49	35,17	5,68	3,88	2,30
40					50	35,81	5,07	3,78	2,95
41	35,48	5,85	10,55	8,87	51	31,06	5,93	16,06	15,15
43	36,65	5,29	1,43	0,57	55	32,86	5,96	10,29	9,26
52					56	30,26	5,54	13,33	11,89
53	25,61	5,93	19,72	18,57	57	35,42	5,08	1,92	0,92
54	33,18	4,96	10,81	9,50	58				
Nombre	26	26	25	25	59				
Moyenne	33,72	5,70	9,63	8,72	60	34,64	4,97	3,64	2,16
Ecart-type	3,37	0,55	5,93	5,99	Nombre	22	23	23	23
IC	1,30	0,21	2,33	2,35	Moyenne	34,12	5,31	5,49	4,35
CV %	9,99	9,64	61,61	68,68	Ecart-type	2,17	0,36	3,67	3,65
					IC	0,91	0,15	1,50	1,49
					CV %	6,37	6,82	66,82	83,92

LOT B

Diploïdes					Triploïdes				
n°	% P	% L	% ST	% Gly	n°	% P	% L	% ST	% Gly
3	33,52	7,17	8,50	5,94	1	34,97	5,85	5,61	2,49
8	33,15	6,38	4,43	1,70	2	36,68	6,79	7,42	3,33
11	30,25	8,02	13,36	9,49	4	37,29	6,49	1,98	0,57
17	36,64	7,55	0,41	0	5	34,22	7,35	8,17	4,11
19	37,67	6,75	1,70	0,37	6	30,92	5,88	4,66	2,84
22	36,64	6,97	10,58	8,82	7	33,59	7,89	11,65	9,84
25	35,31	6,67	4,03	2,94	9	39,94	6,86	8,93	8,21
35	36,83	6,86	8,59	6,78	10	33,37	5,10	2,99	2,91
39	34,08	6,10	10,38	6,81	12	37,02	5,24	3,18	3,10
40	31,94	6,75	10,34	6,41	13	34,44	5,88	2,23	2,03
41	37,75	6,84	2,53	0	14	37,74	6,63	6,66	4,55
44	32,26	5,92	4,63	1,64	15	33,15	5,79	4,62	2,66
46	39,64	5,98	8,48	6,26	16	37,50	6,12	3,82	2,73
49	35,83	6,58	11,67	10,12	18	35,64	6,23	4,19	2,82
51	38,71	6,19	1,75	0,67	20	37,51	6,43	1,99	0,80
52	34,81	7,58	12,69	11,31	21	33,05	5,86	4,54	1,35
55	37,83	5,99	6,27	4,48	23	35,10	5,76	1,77	0
56	31,47	7,23	13,39	8,53	24	35,15	7,62	13,36	10,63
59	38,03	6,70	11,14	9,09	26	37,25	6,63	5,43	1,89
60	36,71	5,82	4,41	3,12	27	33,16	7,39	12,78	8,67
Nombre	20	20	20	20	28	36,10	6,27	7,22	6,24
Moyenne	35,45	6,70	7,47	5,22	29	34,75	7,17	12,35	11,71
Ecart-type	2,66	0,61	4,22	3,70	30	34,51	5,89	3,19	1,89
1C	1,16	0,27	1,85	1,62	31	46,96	7,96	0,41	0,06
CV %	7,49	9,05	56,51	70,86	32	42,19	6,24	3,35	2,32
					33	42,21	5,94	8,05	6,78
					34	33,43	6,88	14,88	13,21
					36	35,66	6,18	6,24	5,33
					37	36,51	5,74	1,66	0
					38	40,27	5,95	7,02	5,69
					42	35,19	5,89	2,50	2,47
					43	33,69	6,13	9,47	5,95
					45	31,81	6,13	2,37	2,37
					47	30,54	7,15	15,65	14,44
					48	35,44	5,99	1,26	1,06
					50	28,81	7,59	12,27	8,33
					53	33,46	7,27	9,16	7,52
					54	31,65	6,22	5,16	3,81
					57	32,45	6,77	10,71	6,46
					58	28,81	8,41	18,40	15,45
					Nombre	40	40	40	40
					Moyenne	35,30	6,49	6,68	4,92
					Ecart-type	4,64	0,77	5,24	4,65
					1C	1,44	0,24	1,62	1,44
					CV %	13,14	11,86	76,36	94,60

LOT C

Diploïdes					Triploïdes				
n°	% P	% L	% ST	% Gly	n°	% P	% L	% ST	% Gly
1	28,92	6,45	24,53	23,34	6	32,92	8,23	16,53	13,37
2	29,72	6,67	20,30	14,32	7	29,25	7,22	18,70	16,36
3	27,75	7,66	21,15	16,92	8	28,02	6,61	17,56	15,68
4	26,98	7,27	30,11	26,37	9				
5	30,84	8,04	25,13	21,34	10	26,95	7,38	12,06	11,46
12	31,46	7,66	18,80	17,48	11	27,17	7,34	23,13	21,94
16	24,00	7,61	28,22	27,56	14	26,89	6,45	24,55	23,56
17	28,05	7,19	28,03	23,15	20				
19	32,05	6,45	19,65	17,96	21	29,16	6,77	18,97	15,86
23					22	25,57	8,76	24,03	22,81
32	32,26	8,02	23,62	20,48	25	30,99	6,56	24,31	22,94
34	26,00	7,25	25,09	24,85	26	31,53	6,68	15,29	14,48
35					27	27,31	6,58	26,46	24,70
36	32,99	8,31	18,80	15,52	28	31,85	7,06	15,78	13,27
41	31,46	7,10	19,49	17,88	29	29,77	8,02	17,50	14,80
42	28,57	7,51	25,94	23,83	30	33,75	6,81	12,22	11,13
47	32,29	8,12	26,81	20,92	31	37,48	6,64	32,12	25,68
48	27,90	7,07	9,77	8,49	37	26,53	6,86	24,70	24,13
51	29,42	6,33	18,39	16,19	38	25,03	6,24	24,63	21,97
53	27,28	6,20	17,93	17,17	45	28,73	6,09	12,95	10,70
55	35,74	9,44	14,52	12,38	46				
57					50	29,85	6,58	14,38	10,66
60	25,29	6,97	29,14	28,47	54	31,78	7,16	23,39	21,83
Nombre	20	20	20	20	58	28,63	7,17	26,39	26,18
Moyenne	29,45	7,37	22,27	19,73	Nombre	21	21	21	21
Ecart-type	2,93	0,79	5,27	5,23	Moyenne	29,48	7,01	20,27	18,26
1C	1,28	0,35	2,31	2,29	Ecart-type	3,02	0,66	5,57	5,51
CV %	9,94	10,72	23,69	26,82	1C	1,29	0,28	2,38	2,36
					CV %	10,24	9,45	27,47	30,18

LOT D

Diploïdes					Triploïdes				
n°	% P	% L	% ST	% Gly	n°	% P	% L	% ST	% Gly
49	23,11	6,89	33,79	32,07	2	27,64	6,00	23,65	23,42
1	31,73	6,79	17,11	16,35	3	24,18	7,14	33,99	32,06
6	26,79	8,33	30,90	28,73	4	24,57	6,59	32,39	30,29
9	29,13	5,34	22,97	21,46	5	24,97	7,15	31,89	27,03
14	29,06	9,34	24,91	22,37	7	25,65	7,15	26,13	24,63
28	33,62	7,75			8	24,09	7,22	28,82	26,13
29	36,23	5,63	20,68	19,61	10	25,38	7,11	29,60	26,38
35	34,98	6,37	30,03	26,47	11	26,38	7,83	23,12	21,01
42	35,86	7,50	30,10	25,42	12	32,31	8,90	30,91	27,18
48	26,09	7,07	29,56	27,78	13	28,23	6,13	24,04	22,85
52	31,02	7,32	20,92	18,64	15	24,25	6,83	29,72	25,56
54	34,08	6,75	25,26	21,35	16	24,44	9,13	28,15	24,00
Nombre	12	12	11	11	17	27,79	7,93	27,30	22,61
Moyenne	30,98	7,09	26,02	23,66	18	25,95	6,33	28,44	21,05
Ecart-type	4,21	1,10	5,24	4,81	19	20,83	7,44	34,78	28,75
1C	2,38	0,62	3,10	2,84	20	22,45	6,69	29,60	24,63
CV %	13,60	15,48	20,14	20,33	21	23,69	7,27	31,40	23,98
					22	31,32	9,44	36,00	30,97
					23	23,90	7,09	30,96	27,70
					24	25,62	8,52		
					25	26,54	6,79	32,63	21,66
					26	26,35	7,34		
					27	28,02	6,44	21,02	35,23
					30	34,94	8,50	33,94	28,79
					31	35,91	6,05	27,98	23,49
					32	29,67	7,91	35,46	29,37
					33	55,96	8,33	27,01	21,68
					34	35,42	9,11	29,40	25,09
					36	32,71	8,83	34,55	31,42
					37	31,47	8,52	24,41	23,14
					38	33,33	9,00	21,29	22,10
					39	32,56	8,26	31,93	29,04
					40	30,74	7,89	33,80	32,15
					41	31,66	8,30	35,64	31,81
					43	33,10	6,26	25,96	23,62
					44	32,68	8,14	35,48	34,60
					45	32,73	8,81	34,84	29,92
					46	37,53	8,56	25,14	24,15
					47	34,09	8,99	36,03	32,02
					50	28,54	8,08	38,21	38,21
					51	28,74	6,35	28,28	20,16
					53	33,69	8,05	30,86	27,28
					55	31,14	7,35	35,75	34,74
					56	24,83	7,35		
					57	36,26	7,80	27,50	25,98
					58	36,12	8,68	20,00	18,46
					59	23,82	7,67	37,94	22,48
					60	33,48	7,59	28,17	24,12
					Nombre	48	48	45	45
					Moyenne	29,70	7,68	30,09	26,69
					Ecart-type	5,84	0,94	4,70	4,55
					1C	1,65	0,27	1,37	1,33
					CV %	19,67	12,23	15,61	17,06

LOT E

Diploïdes					Triploïdes				
n°	% P	% L	% ST	% Gly	n°	% P	% L	% ST	% Gly
1	30,57	6,73	16,72	14,28	2	26,69	7,08	24,07	20,51
3	35,58	7,02	20,83	12,04	4	23,80	7,72	33,10	21,21
10	28,50	6,84	22,99	21,41	5	25,97	6,61	28,72	29,81
11	29,45	6,38	22,06	21,59	6	30,12	7,04	18,67	15,37
13	29,21	9,60	22,19	18,02	7	27,29	6,75	24,98	12,57
14	24,53	7,11	35,18	30,61	8	26,34	7,05	26,59	24,07
19	25,60	7,27	32,38	24,69	9	24,40	7,29	32,80	24,87
28	28,63	6,76	22,98	20,49	12	23,66	6,78	33,10	32,22
41	39,53	7,67	2,58	1	15	24,98	7,29	31,01	24,55
45	33,13	9,43	21,58	17,31	16	25,39	6,70	25,39	21,41
49	31,69	8,05	20,17	17,24	17	28,31	7,11	24,53	23,67
52	41,37	10,78	9,72	6,15	18	26,38	6,07	25,97	24,08
54	35,99	8,55	18,98	17,48	20	30,98	6,66	24,17	21,04
56	35,00	6,55	5,69	2,50	21	26,62	6,88	26,20	23,85
58	30,69	7,46	26,22	21,24	22	25,55	6,92		
60	28,96	7,51	18,18	16,23	23	26,82	8,05	26,70	22,86
Nombre	16	15	16	16	24	22,26	7,19	30,06	25,15
Moyenne	31,75	7,73	19,90	16,39	25	29,36	8,46	31,94	26,24
Ecart-type	4,69	1,25	5,49	7,87	26	25,49	7,57	25,08	22,97
IC	2,30	0,61	4,16	3,84	27	29,84	7,43	20,03	17,21
CV %	14,77	16,23	41,66	48,02	29	30,99	7,38		
					30	29,42	7,65	24,38	23,73
					31	26,37	9,06	32,43	29,39
					32	28,81	7,47	26,39	26,30
					33	27,68	8,16	27,88	26,14
					34	27,05	9,43	31,06	31,82
					35	30,20	8,06	29,58	27,47
					36	28,07	7,63	25,66	26,63
					37	26,96	9,09	28,97	26,03
					38	31,69	7,72	26,97	24,68
					39	26,52	8,84	30,92	26,48
					40	27,98	7,60	35,83	33,70
					42	30,16	8,05	25,17	24,18
					43	26,22	8,80	34,27	31,45
					44	32,42	7,70	20,03	16,42
					46	35,66	8,59	31,55	26,87
					47	27,89	6,17	22,32	16,51
					48	31,65	7,19	21,05	16,55
					50	31,33	7,80	19,99	16,49
					51	32,03	7,76	22,82	19,94
					53	30,42	7,40	24,12	19,17
					55	29,07	9,45	18,99	16,10
					57	31,09	7,25	24,58	22,55
					59	28,10	8,46	23,92	20,09
Nombre	44	44	43	42					
Moyenne	28,14	7,67	16,71	13,19					
Ecart-type	3,74	0,92	4,44	4,98					
IC	1,91	0,44	1,24	1,50					
CV %	5,75	10,76	16,61	21,27					

LOT F

Diploïdes					Triploïdes				
n°	% P	% L	% ST	% Gly	n°	% P	% L	% ST	% Gly
2	32,51	6,14	20,93	15,95	1	33,42	6,86	23,23	21,11
3	29,22	8,03	28,63	18,57	5	26,05	8,08	25,70	29,28
4	38,87	6,40	7,21	4,21	6	48,72	6,69	21,63	19,57
13	45,90	6,14	11,28	10,45	7	26,38	8,50	31,40	27,21
14	31,77	6,92	17,19	16,27	8	32,10	8,39	24,12	19,46
15	31,91	6,78	17,32	15,10	9	36,79	7,07	17,75	15,41
16	33,90	6,12	16,33	12,98	10	41,70	4,63	21,88	19,29
17	37,67	7,54	25,57	19,33	11	39,94	7,63	26,39	21,39
19	25,80	8,70	29,18	24,76	12	29,69	7,15	24,89	20,96
26	28,86	7,34	26,62	25,77	18	28,17	7,14	26,56	22,54
27	32,76	6,19	18,96	13,96	20	32,48	7,14	17,35	14,82
34	46,61	6,44	16,10	15,44	21	29,03	7,10	26,20	22,31
35	42,96	6,95	20,33	20,08	22	43,88	6,26	20,18	19,65
36	48,53	6,82	7,43	7,41	23	32,92	7,83	15,32	14,27
37	42,60	6,82	28,60	27,84	24	38,92	8,06	19,73	16,90
38	38,85	5,74	8,13	6,22	25	42,26	6,42	16,34	14,51
43	49,28	6,76	9,79	9,36	28	37,70	6,78	4,79	0
45	43,70	7,32	22,91	21,94	29	37,12	6,18	9,34	5,51
47	30,01	7,02	26,79	23,77	30	10,53	7,23	15,38	14,76
48	46,40	7,18	2,02	0,67	32	35,49	8,48	29,14	28,63
52	47,70	5,84	12,37	8,38	33	27,13	6,61	23,70	28,54
53	36,53	8,04	10,60	8,64	39	42,32	6,90	17,26	18,44
54	38,93	7,07	9,44	8,59	42	29,96	4,21	23,02	
55	34,45	7,37	19,31	18,41	44	25,34	8,48	28,72	29,81
56	42,24	4,99	4,32	3,46	46	28,51	7,98	22,26	21,95
57	51,80	6,24	5,39	5,18	49	37,32	6,80	24,60	23,17
58	41,71	6,47	20,86	19,71	50	29,38	6,51	15,57	13,10
59	32,30	6,89	19,00	17,05	51	29,38	8,04	24,20	24,08
Nombre	28	28	28	28	Nombre	28	28	28	27
Moyenne	38,71	6,79	16,52	14,27	Moyenne	33,31	7,11	21,31	19,51
Ecart-type	7,20	0,77	8,06	7,34	Ecart-type	7,63	1,04	5,97	6,89
1C	2,67	0,29	2,99	2,72	1C	2,82	0,39	2,21	2,60
CV %	18,60	11,39	48,79	51,43	CV %	22,89	14,65	28,00	35,27

LOT G

Diploïdes					Triploïdes				
n°	% P	% L	% ST	% Gly	n°	% P	% L	% ST	% Gly
1	29,69	7,00	23,59	19,48	2	31,41	7,47	26,03	21,33
6	28,59	6,53	21,94	20,25	3	31,61	4,52	14,97	13,17
8	29,94	5,91	15,91	15,38	4	33,10	4,77	16,03	14,18
12	30,13	6,73	19,81	15,85	5	24,04	6,90	27,51	30,23
16	26,87	6,38	22,58	21,07	7	32,00	6,26		
18	35,65	6,74			10	36,01	5,22	10,89	8,77
19	32,55	6,24	17,01	14,79	11	29,19	8,80		
26	34,58	7,01	15,85	14,13	13	35,27	6,21	13,33	10,12
30	35,54	5,40	1,26	0,67	14	36,36	5,50	7,46	5,41
36	37,80	6,99	12,02	10,80	15	32,23	7,21	24,81	21,61
37	33,81	6,09	14,39	10,62	17	31,56	4,68	11,56	9,85
43	31,42	7,47	18,85	15,97	20	28,74	8,20	28,50	26,21
44	31,81	5,95	17,89	17,32	21	27,49	6,18	19,06	15,56
45	35,17	8,02	20,03	17,45	22	32,65	7,22	21,90	20,28
48	32,83	6,11	14,08	12,68	23	36,36	6,37	14,70	11,88
49	30,42	7,27	16,25	13,37	24	30,43	6,34	23,38	20,20
Nombre	16	16	15	15	25	37,42	6,55	7,86	4,93
Moyenne	32,30	6,61	16,76	14,65	27	34,65	7,26	13,36	10,41
Ecart-type	2,98	0,67	5,41	4,98	28	28,20	7,33	20,16	22,02
IC	1,46	0,33	2,74	2,52	29	35,74	7,12		
CV %	9,21	10,15	32,30	33,97	31	29,74	9,34	18,82	16,07
					32	28,65	6,91	26,05	21,57
					33	32,84	5,86	10,75	8,41
					35	27,84	8,26	25,67	21,97
					38	30,04	6,46	23,24	19,56
					41	34,36	8,08	15,89	14,52
					42	35,51	6,06	5,98	6,39
					46	33,99	6,72	16,49	14,88
					47	30,82	6,84	24,02	22,56
					50	33,31	5,97	13,07	9,77
					51	32,55	5,75	11,58	10,21
					52	27,54	7,50	25,24	23,97
					53	33,91	5,67	7,21	4,72
					54	35,85	6,08	12,48	10,41
					55	26,53	7,75	30,37	24,89
					56	34,76	5,36	9,59	9,49
					57	27,18	6,20	26,50	22,79
					58	31,49	5,74	15,37	12,76
					59	33,32	6,56	17,98	15,46
					60	35,82	7,07	11,39	9,06
					Nombre	40	40	37	37
					Moyenne	32,01	6,61	17,55	15,29
					Ecart-type	3,26	1,08	6,93	6,74
					IC	1,01	0,34	2,23	2,17
					CV %	10,20	16,41	39,51	44,09

Références

Bibliographiques

Barnabé G., 1989. Aquaculture vol. 1. 358-359

Bayne B.L., Thompson R.J 1976, Widdows J., 1978. Physiologie I. In Bayne B.L., Ed Marine mussels-Their ecology and physiology. *Cambridge University Press, I.B.P. 10, 121-206.*

Besançon P., 1993. coord Elzière P..La valeur nutritionnelle des coquillages in Les coquillages 193-202.

Bligh E.G., Dyer W.F., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J. biochem. physiol.*, 911-917.

Boromthanasarat S., 1986. Sujet de thèse : les bouchots à Mytilus edulis L. dans l'enclos estuarien du bassin de Marennes-Oléron : Aspect biologique et bioénergétique. 86-102.

Deslous-Paoli J.M., et Héral M., 1988. Biochemical composition and energie value of Crassostera gigas (Thunberg) cultured in the bay of Marennes-Oléron. *Aquat. Living. Resour.*, 239-249.

Dubois M., Gilles K.A., Rebec P.A., Smith F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 350-356.

Dufy C. & Diter A., 1990. Polyploidy in the Manila clam Ruditapes philiparum L. Chemical induction and larval performances of triploids. *Aquat. Living Res.*, 55-60.

Gendreau S. & Grizel H., 1990. Induced triploidy in the European flat oyster, Ostrea edulis L. *Aquaculture* 90, 229-238.

Gérard A., Peignon J.M. et D. Chagot, 1992. Contrôle de la ploïdie par imagerie numérique dans des expériences d'induction de la triploïdie chez les mollusques bivalves. *Communication ICES, C. M. 1991 / F. 12 Réf. K*

Gérard A. et coll., 1993. Obtention de souches conchylicoles performantes par polypléidisation (4^{ème} partie). Rapport interne IFREMER RIDRV 92-22-RA La Tremblade.

Gouet J.P., 1974. Les comparaisons de moyennes et de variances, application à l'agronomie. *ICTF*

Héral M., Deslous-Paoli J.M., 1983. Valeur énergétique de la chair de l'huître creuse: C. gigas estimée par mesures microcalorimétriques et dosages biochimiques. *Oceanologica Acta*, vol. 6, n° 2 193-199.

Heurtebise S., Garnier J., 1993. in REGEMO, compte rendu des 13-14 décembre (Nantes)

Littaye-Mariette A., 1994. REMORA, Résultats de l'année 93.

Lowry O.M., Roseborough N.I., Farrand A.L., Randal R.J., 1951. Protein measurement with the phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 263-275.

Marteil I., 1976. La conchyliculture française fasc. 2, tome XL, Biologie de l'huître et de la moule, revue des travaux de l'institut des pêches maritimes.

Martin A.G., et al., 1994. Relance de l'huître plate, Rapport de synthèse des travaux, année 1993 Contrat de Plan Etat-Région Bretagne. *Rapport interne IFREMER, en cours.*

Philippeau G., 1986. Comment interpréter les résultats d'une A.C.P.. *Publication ITCF Paris.29-47.*

Rapport d'activités, 1993. RA La Trinité sur mer. *Rapport interne IFREMER*

REGEMO, 1993. Compte rendu de la réunion des 14 et 15 av. 93 à La Tremblade. *Rapport interne IFREMER.*