

---

Compte rendu de  
l'essai d'importation  
de variabilité génétique  
de *P. stylirostris*  
à Tahiti



**Résumé :**

La crevetteculture s'est développée à Tahiti grâce à la domestication de *P. stylirostris*, espèce introduite du Mexique et du Panama en plusieurs fois entre 1970 et 1980. Afin de compenser l'érosion dont la variabilité génétique de cette espèce a fait l'objet (par sélection et par dérive) en plus de 25 générations de domestication, une tentative de réintroduction de variabilité a été menée à partir de géniteurs mâles sauvages équatoriens croisés avec des femelles domestiquées de Tahiti. Une technique de réfrigération de sperme a été testée à cette occasion afin de limiter les risques sanitaires liés à cette opération. Des problèmes zootechniques et sanitaires (détection du virus du Taura Syndrom en quarantaine) ont empêché la sortie d'individus de seconde génération hors de quarantaine. Néanmoins cette opération a permis de confirmer à l'aide de marqueurs microsatellites la faible variabilité suspectée de la souche tahitienne et l'intérêt d'utiliser plusieurs mâles pour féconder une femelle (production de familles de demi frères).

**Abstract :**

Shrimp farming has been developed in Tahiti thanks to the domestication of *P. stylirostris* which was introduced from Mexico and Panama in several times between 1970 and 1980. In order to balance the 25 year erosion of the available genetic variability (due to selection and drift), re-introduction of variability was tried by mating wild Equatorian males with domesticated Tahitian females. Sperm refrigeration was tested and used in order to limit the sanitary risks linked to this importation. Zootechnical and sanitary problems (Taura Syndrom Virus was detected in the quarantine facilities) did not enable to take individuals of the second generation out of the quarantine. Nevertheless this trial enabled to confirm with microsatellites markers the suspected low variability of the Tahitian strain and the interest to use several males to inseminate each female (production of half-sib families)

**Mots-clés :**

Ressources génétiques, *P. stylirostris*, consanguinité, quarantaine

**Keywords :**

genetic resources, *P. stylirostris*, inbreeding, quarantine

**Commentaire :**

<b>INTRODUCTION</b>	<b>3</b>
<b>RAPPELS SUR L'HISTOIRE DES SOUCHES DISPONIBLES EN POLYNÉSIE ET EN NOUVELLE-CALÉDONIE</b>	<b>5</b>
<b>PRÉPARATION DE L'IMPORTATION</b>	<b>7</b>
Aménagement d'une quarantaine	7
Définition d'un protocole de traitement des effluents et de précautions sanitaires	8
Définition du protocole prévisionnel d'élevage	9
Définition des croisements à effectuer et de leur nombre	9
maturation des femelles	9
importation des boules de sperme	9
pontes et mise en élevage	10
élevage larvaire et prégrossissement	10
grossissement en salle de quarantaine	11
Prélèvements pour analyses génétiques	11
<b>BILAN DE LA MISSION EN EQUATEUR</b>	<b>11</b>
Acquisition et stockage d'animaux	11
Préparation des échantillons et des boules de sperme	11
Conditions de transfert	12
Obtention d'un certificat sanitaire	12
<b>SUIVI ZOOTECHNIQUE, SANITAIRE ET GÉNÉTIQUE DE L'IMPORTATION DE SANG NEUF</b>	<b>13</b>
Suivi zootechnique	13
Fécondations par sperme réfrigéré, pontes, élevages larvaires et prégrossissement	13
Grossissement	14
Maturation et reproduction	16
Contrôle sanitaire des animaux équatoriens et des élevages en quarantaine	18
Résultats de biologie moléculaire acquis à l'occasion de l'importation de sang neuf	19
Résultats en terme de variabilité génétique	20
Analyses de structure de parenté	22
<b>CONCLUSION</b>	<b>27</b>
<b>BIBLIOGRAGHIE</b>	<b>30</b>
<b>ANNEXE 1 : SIMULATIONS DE PERTE DE VARIABILITÉ GÉNÉTIQUE</b>	<b>31</b>



ANNEXE 2 : SUIVI DES PONTES, DES ÉLEVAGES LARVAIRES ET DU PRÉGROSSISSEMENT EN QUARANTAINE 34

ANNEXE 3 : FORMULATION DU GRANULÉ « SPÉCIAL QUARANTAINE » COMPARÉE AUX GRANULÉS DE « GROSSISSEMENT STANDARD » ET AU GRANULÉ « SPÉCIAL MATURATION » 35

ANNEXE 4 : EFFECTIFS ET POIDS MOYEN DES ANIMAUX À L'ÂGE DE 355 JOURS 36

## Introduction

En Nouvelle-Calédonie, on trouve une dizaine d'espèces lagunaires indigènes de crevettes Pénéides. Dans un premier temps, les travaux de recherche ont porté sur certaines de ces espèces et ont permis de mettre au point les techniques d'élevage, et notamment la maîtrise de l'ensemble du cycle biologique en captivité. Ces espèces indigènes se sont rapidement montrées peu performantes (faible croissance, production de petits animaux) ou mal adaptées à l'aquaculture (difficulté de pêche due à des comportements fouisseurs...).

Dans les lagons de Polynésie française, il n'y a pas de crevettes Pénéides.

La crevetticulture n'a donc pu développer dans ces 2 TOMs (à des échelles bien différentes !) que grâce à l'introduction et à la domestication d'espèces non indigènes, et en particulier d'une espèce d'Amérique latine, *P. stylirostris* intéressante pour ses bonnes performances de croissance jusqu'à 25 ou 30 g aussi bien en saison froide qu'en saison chaude. Quelques centaines d'individus avaient été expédiés essentiellement du Mexique et du Panama en plusieurs envois échelonnés de 1970 à 1980, à la fois en Nouvelle Calédonie (Station de Saint Vincent) et à Tahiti (Centre Océanologique du Pacifique – COP - ). Ces individus « fondateurs » étaient représentatifs de la variabilité génétique de leur population sauvage d'origine au sein de laquelle ils avaient été pris au hasard.

Dans les générations suivantes produites en captivité, la variabilité génétique initialement disponible (qui peut être définie comme la variabilité qui serait observée si tous les individus étaient élevés dans des conditions micro-environnementales strictement équivalentes) a nécessairement subi une érosion par deux phénomènes différents :

- D'une part, la disparition de certains gènes ou certaines combinaisons de gènes correspond au phénomène de domestication qui peut être défini comme une sélection pour une meilleure aptitude à l'élevage et à la reproduction en captivité : seuls ont été utilisés les géniteurs ayant survécu et aptes à se reproduire à l'issue du processus d'élevage. Accessoirement, une faible sélection a pu être faite, l'éleveur préférant toujours prendre les plus « beaux » individus pour constituer son stock de reproducteurs. Une partie de cette perte est favorable, puisqu'un certain nombre de gènes délétères ont probablement disparu à cette occasion (gènes corrélés à une mauvaise adaptation aux conditions de vie en bassin par exemple).
- D'autre part, la forte fécondité de cette espèce, comme pour la plupart des espèces aquacoles, a permis de la reproduire en captivité à partir d'un nombre relativement faible de géniteurs par rapport aux effectifs se reproduisant dans des populations sauvages et ceci d'autant plus que le maintien de la diversité et le contrôle de la consanguinité n'étaient pas des notions à l'ordre du jour durant la phase de mise au point zootechnique et de démarrage des filières de production. Certains goulots d'étranglement se sont produits, entraînant une perte de variabilité génétique inversement proportionnelle au nombre de géniteurs efficaces utilisés.

Cette perte potentielle de variabilité génétique est un facteur susceptible de limiter la réponse de ces souches à une pression de sélection donnée, qu'elle soit spontanée, ou orientée dans le cadre d'un schéma raisonné d'amélioration génétique, point de passage obligatoire à terme pour la filière de production.

Depuis plusieurs années, la réintroduction de « sang neuf » à Tahiti avait été identifiée comme une action prioritaire dans le cadre du programme de génétique crevette du COP et ceci bien que la perte réelle de variabilité génétique n'ait pas été évaluée de façon claire (mise au point laborieuse des marqueurs génétiques indispensables à une telle évaluation). On savait cependant que sur *P. vannamei* Garcia et al. (1997) avaient trouvé 22 allèles dans une population naturelle d'Equateur, et que Moore et al. (1997) avaient trouvé 5 à 24 allèles par locus microsatellite chez des familles de *P. japonicus* d'élevage, alors que les souches du COP présentaient de 1 à 4 allèles sur 3 locus microsatellites étudiés. Afin de limiter les risques sanitaires le plus possible, il avait été décidé d'introduire de variabilité génétique par la voie mâle en important du sperme de géniteurs sauvages.

L'objectif principal visé était de disposer au COP d'une ou plusieurs souches de *P. stylirostris* à base génétique large afin de :

- évaluer le gain génétique lié à la domestication de l'espèce, c'est à dire à la sélection spontanée pour de meilleures aptitudes à l'élevage ;
- développer des programmes de sélection expérimentale à long terme ;
- faciliter et rendre le plus fiable possible l'introduction de sang neuf en Nouvelle-Calédonie, en faisant jouer à la Polynésie le rôle de tampon sanitaire grâce à la quarantaine du COP ;

Deux autres objectifs, marginaux parce qu'ils auraient pu être atteints d'une autre façon, consistaient en :

- collecter des échantillons de tissus d'individus sauvages en nombre suffisant pour achever la mise au point des marqueurs génétiques et commencer à évaluer selon des critères objectifs la perte de variabilité génétique des souches du COP ;
- valider les techniques de réfrigération du sperme avec des males sauvages considérés *a priori* comme porteur de spermatophores de bonne qualité.

D'un point de vue sanitaire, et au delà de la première précaution consistant à n'introduire que du sperme et non pas des animaux entiers, une telle opération ne pouvait se faire qu'en menant un cycle biologique complet en quarantaine pour éviter l'introduction de pathogène dans les élevages Polynésiens. Or si l'élevage de la crevette, et en particulier celui de géniteurs, est maîtrisé depuis longtemps au COP, la zootechnie qui a été développée repose essentiellement sur l'élevage d'animaux en bassins de terre où la productivité naturelle a un rôle d'autant plus important que les densités sont faibles (1 à 10 ind/m<sup>2</sup>) pour la production de géniteurs. Aucun cycle d'élevage de *P. stylirostris* n'avait jamais été réalisé au COP en « hors-sol ».

Le présent rapport fait le bilan de l'essai de réintroduction de sang neuf à Tahiti qui a eu lieu en 1999-2000 au COP.

## Rappels sur l'histoire des souches disponibles en Polynésie et en Nouvelle-Calédonie

L'histoire des souches depuis la dernière introduction de 1980 n'est pas facile à retracer, principalement en ce qui concerne l'estimation de leurs effectifs efficaces au cours de leur domestication. On sait cependant que :

- les reproductions ont été menées parallèlement à Tahiti et en Nouvelle-Calédonie sans échange d'individus jusqu'en 1990, année pendant laquelle le stock complet de *P. stylirostris* du COP a été reconstitué à partir de géniteurs calédoniens (origine de la souche « TT ») ; l'intervalle de génération est de l'ordre de 8 mois en Nouvelle-Calédonie et 12 mois à Tahiti ;
- en 1992, l'Écloserie Polyvalente Territoriale de Taravao lançait sa première production à partir de géniteurs « TT » fournis par le COP (origine de la souche « EPT ») ;
- en 1993, une deuxième importation de géniteurs calédoniens fut réalisée à Tahiti (origine de la souche « CC ») ;
- pour les souches TT et CC maintenues au COP après leur ré-introduction de Nouvelle-Calédonie, le nombre minimal de géniteurs utilisés est fixé depuis 1994 à 16 mâles et 8 femelles. Pour les générations qui se sont succédées de 1990 à 1994, ce nombre peut également être estimé à 21 géniteurs efficaces (correspondant au croisement de 8 femelles avec 16 mâles).

Une hypothèse d'évaluation du nombre de géniteurs ayant participé à la reproduction des souches en Nouvelle-Calédonie depuis 1980, date de la dernière introduction, a été formulée par C. Goarant (comm. pers.) :

Années	Génération / Événements	Nombre de géniteurs présumés efficaces
1980	Dernière introduction d'animaux sauvages	
	G1	4 femelles et 8 mâles
	G2-G3	6 femelles et 12 mâles
1988	G4-G12	10 femelles et 20 mâles
	Démarrage de la 1ère écloserie industrielle	
	G13-G16	20 femelles et 40 mâles
1991	Démarrage de la 2ème écloserie industrielle	
	G17-G22	35 femelles et 70 mâles
1995	Démarrage de la 3ème écloserie industrielle	
	G23-G30	50 femelles et 100 mâles

Une hypothèse plus pessimiste, mais peut-être plus réaliste, compte tenu des pressions de sélection qui ont dû s'exercer lors de la domestication et compte tenu de la mémoire collective qui



mentionne des goulots d'étranglement majeurs (1 femelle x 1 mâle), consiste à diviser ces nombres par 2 et à intercaler 2 générations issues d'une seule femelle et d'un seul mâle.

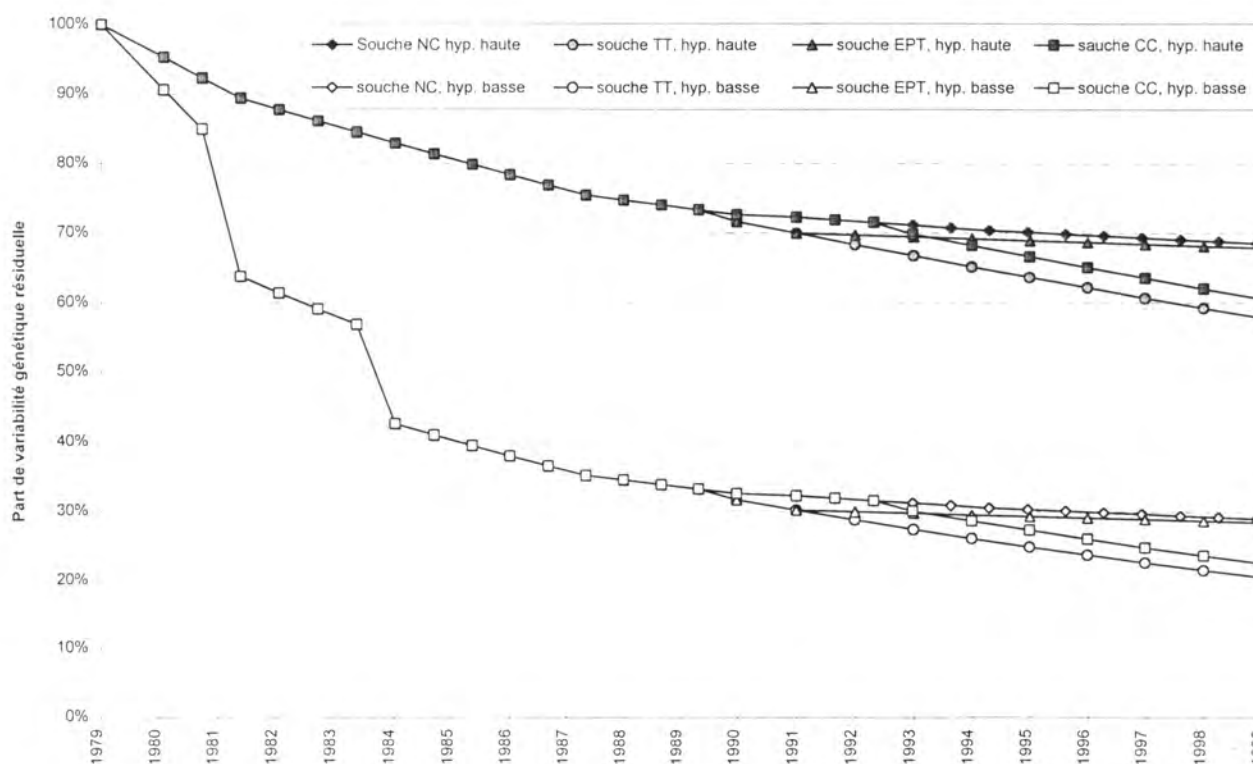
Parallèlement, on peut estimer le nombre de géniteurs utilisés par l'EPT à 50 femelles et 100 mâles par génération dans le cadre de ses productions.

Le tableau 1 récapitule le nombre de générations de divergence entre ces souches.

**Tableau 1 : nombre de générations de divergence entre les souches de *P. stylirostris* disponibles à Tahiti.**

	TT	EPT	CC
TT	-	7	9
EPT		-	9
CC			-

Ces faits et ces hypothèses permettent de simuler la perte de variabilité depuis 1980 sur les différentes souches actuelles (Annexe 1). Il en ressort que la variabilité résiduelle pourrait varier de 21% à 69% selon la souche et l'hypothèse de travail (figure 1).



**Figure 1 : simulation de pertes de variabilité génétique des différentes souches selon 2 hypothèses concernant les effectifs génétiques lors de la phase de domestication de 1980 à 1990.**

## Préparation de l'importation

### *Aménagement d'une quarantaine*

En 1998, l'ancienne écloserie poisson du COP a été réaménagée en zone de quarantaine:

- sur-élévation des seuils des portes donnant vers l'extérieur et vers les salles inutilisées du bâtiment ;
- étanchéification des sols du couloir, d'une salle d'élevage larvaire-prégrossissement et d'une salle de grossissement-maturation à l'aide de béton étanche
- condamnation des portes des salles inutilisées du bâtiment
- équipement de la salle d'élevage larvaire avec :
  - 1 éclosoir à 6 compartiments
  - 6 bacs d'élevage de 500 litres thermorégulés
- équipement du bac de 10m<sup>3</sup> de la salle de grossissement-maturation d'un circuit fermé (filtre à sable + filtre biologique)
- installation de puisards aveugles dans les salles d'élevage et d'un système de pompage vers une salle de chloration-déchloration des effluents (ancienne salle d'éclosion d'artemia)
- dédoublement des vannes de vidange des cuves de traitement (3 x 2m<sup>3</sup>)
- pose d'un faux plafond dans les 2 salles d'élevage quarantainisées.

Afin que l'opération envisagée puisse éventuellement déboucher sur une gestion raisonnée de la nouvelle variabilité introduite, le nombre de bacs d'élevage larvaire - prégrossissement fut porté à 8, nombre plus adapté à une gestion de la consanguinité par croisements rotatifs.

En outre, afin de pouvoir élever les lots de larves à très faible effectif qu'il était probable d'obtenir compte tenu du manque de rodage de la technique de réfrigération du sperme, 4 bacs de 50 litres furent installés en complément des bacs de 500 litres.

Enfin, comme les pontes de femelles tahitiennes fécondées avec du sperme importé ne devaient avoir lieu qu'en quarantaine, un « espace ponte » fut constitué avec :

- l'introduction dans le couloir et la salle de grossissement de 16 bacs de 200 litres.
- l'installation de 16 éclosoirs en salle d'élevage larvaire.
- l'aménagement d'un « passe-crevette » dans la porte du couloir pour permettre au technicien chargé de l'approvisionnement en femelles tahitiennes ayant mûri en salle de maturation (à l'autre extrémité du COP) de passer les animaux au technicien chargé des fécondations en quarantaine...

### **Définition d'un protocole de traitement des effluents et de précautions sanitaires**

Les eaux usées pompées depuis les bacs d'élevage et les puisards "aveugles" jusqu'aux cuves de traitements (3 bacs de 2 m<sup>3</sup>) ont été traitées au chlore en utilisant des pastilles d'hypochlorite de calcium disponibles sur le Territoire (traitement des eaux de piscine) afin de détruire les agents pathogènes potentiels de crevettes pouvant y être hébergés (bactéries et virus notamment). Les doses utilisées correspondaient à l'objectif d'obtention d'une concentration en chlore résiduel présent dans les cuves de traitement des eaux usées d'au moins 20 mg/l, après un temps de contact de deux heures minimum, pour une concentration initiale en chlore actif de 110 mg/l théorique. Les teneurs en chlore résiduel obtenues à l'issue des deux heures d'incubation ont été contrôlées à plusieurs reprises dans les cuves de traitement des eaux usées par titrage à l'iode. Celui-ci a été effectué au laboratoire afin de s'assurer que le seuil de 20 mg/l était bien respecté.

La deuxième règle consistait à laisser le chlore agir le plus longtemps possible avant sa neutralisation par le thiosulfate de sodium, ce dernier étant additionné aux eaux des bacs de traitement peu de temps avant la vidange au lagon des eaux préalablement traitées au chlore. Les bacs de traitement ont été équipés de bulleur afin qu'un bullage vigoureux puisse assurer un brassage important des eaux usées, la dissolution des pastilles de chlore et une répartition homogène en chlore dans le bac, et favoriser la perte de chlore sous forme gazeuse afin de limiter les quantités d'agent chimique utilisées pour neutraliser le chlore résiduel.

En raison du renouvellement partiel (10 à 20%) des eaux des deux bacs de grossissement/maturation effectué quotidiennement, deux bacs de traitement sur trois pouvaient être vidangés quotidiennement au lagon.

Les précautions sanitaires mises en place pour empêcher toute dissémination accidentelle de pathogènes en dehors des installations de quarantaine concernaient:

- Un accès limité du personnel habilité à travailler dans la salle de quarantaine et la désignation de deux responsables des installations à alerter en cas de problèmes décelés par les utilisateurs ou à solliciter en cas de demande d'informations sur des points particuliers.
- Le port de bottes individuelles avant d'entrer en salle de quarantaine
- La mise en place de pédiluves (passage obligatoire) remplies d'eau de Javel à 0,48° (titre chlorométrique) à l'entrée de la salle et en sortie de couloir
- L'usage de bassines remplies d'eau douce et d'eau de Javel à 0,48° pour le lavage des mains et la décontamination du petit matériel (verrerie essentiellement),
- La destruction des animaux retrouvés morts et autres déchets souillés (papier absorbant, piluliers,...) par autoclavage à 121°C pendant 20 min.

## **Définition du protocole prévisionnel d'élevage**

### **Définition des croisements à effectuer et de leur nombre**

L'exploitation optimale des installations des infrastructures et des souches disponibles au COP passait par :

- l'utilisation de femelles issues de la souche TT et de la souche CC
- la fécondation de chaque femelle par 2 mâles au lieu d'un seul mâle ( $2 < Ne < 2.67$  au lieu de  $Ne=2$  par ponte, où  $Ne$  = Nombre de géniteurs efficaces)
- la constitution de 8 lots d'élevages larvaires multiparentaux ( $Ne \geq 16$ ) plutôt que 8 familles de pleins frères ( $Ne=16$ )

Comme on disposait de 16 pondoires, et d'un délai d'environ 4 jours pour utiliser le sperme réfrigéré, on pouvait obtenir au mieux 64 pontes. En tablant sur un taux de réussite de 30% lié à la réfrigération du sperme, on pouvait espérer raisonnablement environ 20 pontes, soit 2 à 3 pontes mélangées dans chacun des 8 bacs de quarantaine.

En résumé, on visait la production de :

- 4 lots correspondant chacun à 2-3 croisements femelles TT x mâles sauvages
- 4 lots correspondant chacun à 2-3 croisements femelles CC x mâles sauvages

### **maturation des femelles**

- Afin de disposer sur 4 jours de 32 femelles TT et 32 femelles CC, il était prévu :
- d'utiliser les 4 bassins de maturation de la zone à photopériode décalée de l'écloserie
  - de transférer, chaque jour de fécondation, les femelles prêtes à être fécondées en quarantaine dans des bailles munies de couvercles afin de ne pas les stresser à la lumière.

### **importation des boules de sperme**

Pour des raisons logistiques, c'est en Equateur que les mâles sauvages ont été recherchés pour cette opération d'introduction.

L'objectif était de disposer du matériel biologique suivant :

- 160 boules numérotées de spermes réfrigérées, 2 à 2 identiques (mélange hétérogène de spermatozoïdes de 2 mâles). Pour augmenter la variabilité le plus possible, on a veillé par la suite à n'utiliser chaque mâle qu'une fois, et donc à réserver l'usage de la 2ème boule pour recommencer une fécondation qui n'aurait pas été suivie d'une éclosion significative ;



- les pléopodes numérotés des 160 mâles ayant fourni ces boules de sperme afin de faire des analyses génétiques sur ces animaux (évaluation de la variabilité génétique sauvage disponible en Equateur, recherche de parenté sur les pontes à obtenir en quarantaine) ;
- les tissus conservés de ces mêmes 160 mâles afin de faire une étude histologique de ces animaux et de contrôler leur état sanitaire ;
- les boules de sperme de 15 mâles supplémentaires, conservées ensemble dans un fixateur pour histologie pour compléter l'étude diagnostic de la population échantillonnée.

Le matériel nécessaire pour la mission de terrain comportait : flacons (préparés à l'avance d'origine COP), Ciseaux, éponge abrasive, seringues, un marqueur résistant à l'eau, Boîtes de rangement de flacons

Quelques précautions devaient évidemment être prises :

- 1) Nettoyer les ciseaux à l'eau (de bassin) + éponge abrasive avant chaque prélèvement de tissus ;
- 2) Entourer les flacons de parafilm pour éviter les fuites d'alcool ou de fixateur durant le transport.

### **pontes et mise en élevage**

L'ensemencement des bassins d'élevage larvaire était prévu sur 4 voire 5 jours en respectant les principes suivants :

- fécondation du plus grand nombre possible de femelles tahitiennes, en cherchant à équilibrer les contributions des souches TT et CC ;
- éclosion séparée des pontes ;
- après l'obtention de la 8ème famille, mélange équilibré des croisements de même type et de même âge au fur et à mesure de l'obtention de nouvelles pontes ;
- densité initiale 50-100 ind/litre.

### **élevage larvaire et prégrossissement**

Au delà de PL15, l'élevage devait être mené comme suit :

- densité d'élevage de 500 ind/bac ;
- alimentation mixte artemia + micro-particules ajustée quotidiennement en fonction des refus ;
- renouvellement d'eau séquentiel.

L'objectif de production était de 100 individus marqués de plus de 1 gramme par lot.

## **grossissement en salle de quarantaine**

L'ensemencement du bac de 10m<sup>3</sup> muni d'un circuit fermé était prévu de la façon suivante :

- tri des plus gros animaux de chacun des 8 lots
- double marquage des animaux sortis des 500L vers le 10m<sup>3</sup> (soit 8 x 100 = 800 animaux transférés)
- maintien pendant quelques jours des deux structures par sécurité

L'objectif final était :

- en termes de production de géniteurs : 16 mâles et 16 femelles par lot (256 géniteurs au total)
- en termes de reproduction : reproduire 8 mâles et 8 femelles par lot primaire, soit 128 géniteurs à reproduire (32 croisements 2x2).

## **Prélèvements pour analyses génétiques**

Afin de contrôler le nombre de mâles ayant effectivement fécondé une femelle donnée lors des croisements définis ci dessus, des prélèvements pour recherche de parenté par marqueur génétique avaient été prévus :

- sur les mâles équatoriens (prélèvement des pléopodes déjà mentionnés) ;
- sur les femelles tahitiennes ayant effectivement fourni une ponte fécondée ;
- sur leurs descendants en quarantaine aux stades nauplii, post-larve et juvénile.

## **Bilan de la mission en Equateur**

### ***Acquisition et stockage d'animaux***

L'achat des animaux ne pouvait se faire en un seul jour et en un seul lieu, vu la quantité importante souhaitée. Un bassin de 20m<sup>3</sup> et 50cm de profondeur mis a disposition par l'aquarium de Valdivia a permis de stabuler les mâles dans des conditions non optimales (renouvellement d'eau périodique et limité, température de stockage entre 30°C et 32°C, malgré les ombrières installées. L'alimentation était constituée de crevettes mâles morts durant les transports, de calmar frais acheté sur place et de granulé de type Nippai. Le transport entre lieu d'achat et lieu de stockage durait au moins 1H15 et fut réalisé en sacs de 6 litres avec de la glace pour refroidir l'eau et réduire le stress des animaux (5-6 mâles par sac).

### ***Préparation des échantillons et des boules de sperme***

La préparation des échantillons et des boules de sperme a pu être faite suivant le protocole prévu grâce à l'aide des membres des équipes du laboratoire CARRERA (implantations de Libertad, Guayaquil) et de l'aquarium de Valdivia.

Les 160 mâles ont été achetés à des pêcheurs au coût de 6\$ l'individu. Ces 160 mâles, numérotés 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b, ....., 80a et 80b, ont été transférés dans les installations de l'aquarium de Valdivia, ont été traités comme suit :

- déspermeation du mâle 1a à droite
- déspermeation du mâle 1b à droite
- production d'une boule de sperme n°1D
  
- déspermeation du mâle 1a à gauche
- déspermeation du mâle 1b à gauche
- production d'une boule de sperme n°1G
  
- prélèvement pléopodes du mâle 1a et fixation dans un eppendorf n° 1a
- prélèvement pléopodes du mâle 1b et fixation dans un eppendorf n° 1b
  
- injection en multipoints de fixateur pour histologie (Davidson) à la seringue dans les tissus du mâle n°1a et immersion dans le flacon de 180ml n°1a prévu à cet effet.
- injection en multipoints du fixateur pour histologie (Davidson) à la seringue dans les tissus du mâle n°1b et immersion dans le flacon de 180ml n°1b prévu à cet effet.

puis :

- déspermeation du mâle 2a à droite
- déspermeation du mâle 2b à droite
- production d'une boule de sperme n°2D
- déspermeation du mâle 2a à gauche

etc...

*NB : Préparation du fixateur de Davidson:*

<i>*éthanol 95%:</i>	<i>330 ml</i>
<i>*formaldéhyde 37-40% :</i>	<i>220 ml</i>
<i>*acide acétique :</i>	<i>115 ml</i>
<i>*eau distillée:</i>	<i>335 ml</i>

### **Conditions de transfert**

Les conditions de transfert ont été précaires : la température a oscillé entre 0°C et 14°C dans la glacière finalement utilisée en remplacement du Réfrigérateur portable vendu par Bioblock et qui s'est avéré défectueux lors des tests avant le départ.

L'arrivée au COP a eu lieu 56 heures après les prélèvements.

### **Obtention d'un certificat sanitaire**

Le certificat fourni par l'Institut des Pêches, autorité sanitaire compétente du pays exportateur, ne répondait pas aux exigences des autorités Polynésiennes définies par l'arrêté n°575 CM du 19/04/99



car il aurait dû attester que les mâles ayant fourni la semence ne présentaient aucun signe clinique d'infection à baculovirus, WSSV, TSV, IHHNV, YHV. Les autorités sanitaires Polynésiennes ont accepté de confier les échantillons au COP en attente d'un certificat modifié, puis ont finalement accepté un certificat établi par le laboratoire d'analyse lui-même.

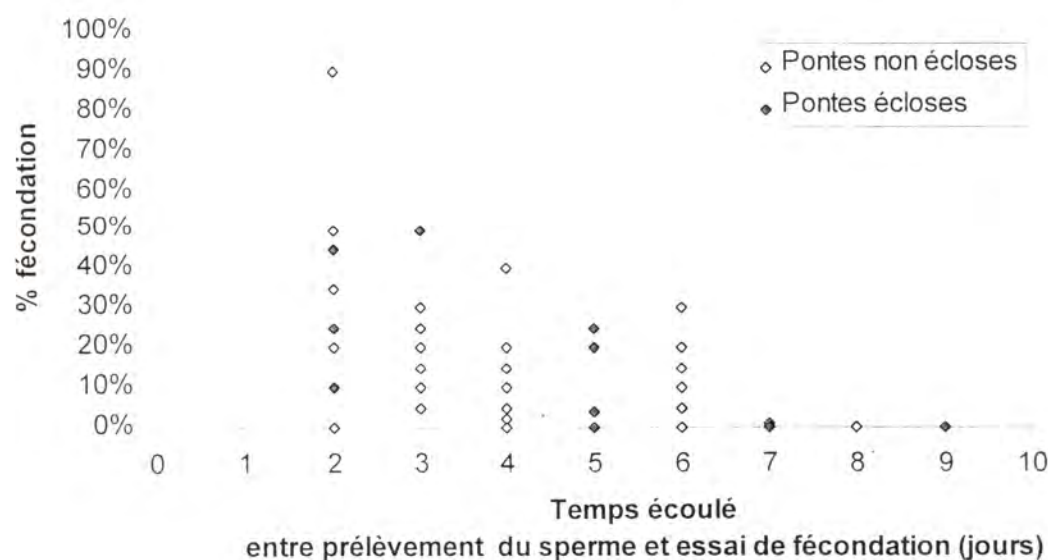
## Suivi zootechnique, sanitaire et génétique de l'importation de sang neuf

### Suivi zootechnique

#### Fécondations par sperme réfrigéré, pontes, élevages larvaires et prégrossissement

Le tableau et l'annexe 2 résument d'un point de vue zootechnique ce qui a pu être réalisé grâce à la technique de réfrigération du sperme :

- 87 femelles du COP ont été utilisées pour des essais de fécondation du 07/05/99 au 14/05/99:
  - . 86 essais avec des mélanges de sperme de 2 mâles dont :
    - 85 correspondant à une importation de sperme sous forme de boule réfrigérée,
    - 1 essai correspondant à une importation d'ampoules spermatiques
  - . 1 essai avec le sperme d'un seul mâle importé sous forme d'ampoule spermatique
  
- 53 pontes ont été fécondées (61% des essais) et les taux de fécondation ont varié de quelques pourcent à 90% (figure 2).
  
- 15 pontes ont produit au moins 1 nauplius (figure 2 et annexe 2). Le faible pourcentage de pontes fécondées ayant éclos (28%), pourrait provenir d'une qualité insuffisante des géniteurs femelles utilisés, ou de l'altération des spermatozoïdes lors du transport.



**Figure 2 : pouvoir fécondant du sperme réfrigéré en fonction du temps**



- Pour des raisons logistiques, ces 15 pontes ont été regroupées en 9 lots dont 7 ont atteint le poids moyen de 1g après des écrémages successifs pour les lots à effectifs les plus élevés. Ces 7 lots correspondent à :

- 1 famille descendant d'un seul mâle ;
- 4 familles descendant potentiellement de 2 mâles ;
- 2 lots multiparentaux descendant potentiellement de 2 femelles et 4 mâles.

Le nombre de mâles ayant réellement participé à cette réintroduction de sang neuf pouvait donc être estimé lors du passage en bac de grossissement à 7 au minimum et 17 au maximum (indépendamment de toute analyse de parenté par marqueur génétique).

**Tableau 1 :** introduction de sang neuf

	Nb mâles Equateur ayant réellement participé	Nb femelles COP ayant réellement participé	Structure génétique de la population hybride COP x Equateur
essais fécondation	165	87	86 x (1f x 2m) + 1 x (1f x 1m)
stade nauplii	15-29	15	14 hs fam + 1 fs fam
stade PL	9-17	9	8 hs fam + 1 fs fam
stade 1g	7-17	7-9	7 lots : 1fs fam + 4 hs fam + 2x(2hs fam)

abréviations : *hs fam* : familles de demi-frères  
*fs fam* : familles de pleins frères

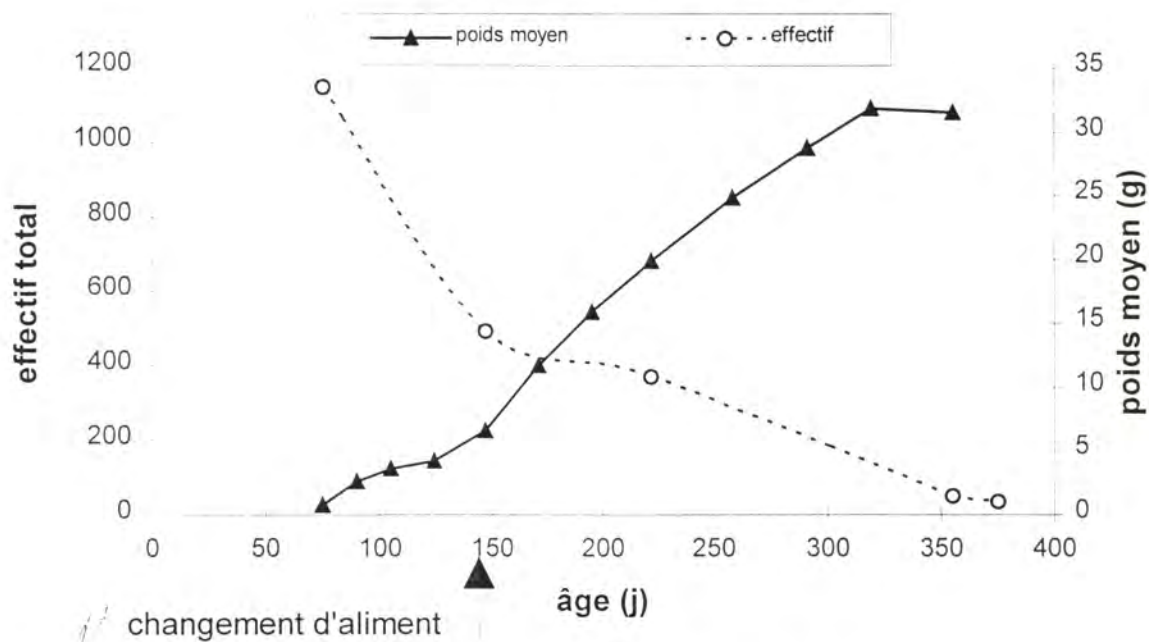
NB : Le nombre de mâles équatoriens ayant réellement participé à la fécondation d'une femelle du COP a pu être précisé dans 3 familles grâce à l'utilisation de marqueurs génétiques. Les résultats sont détaillés plus loin.

Dès ce stade, l'objectif qui avait été fixé (20 pontes fécondées par 2 mâles), ne pouvait donc être atteint qu'à environ 50%.

## Grossissement

A l'âge de 75 jours (0.8g de poids moyen), 1149 individus issus des 7 lots disponibles ont été triés, marqués et transférés en bac de 10m<sup>3</sup> ( 164 +/- 60 ind/lot ), puis nourris 3 fois par jour sur granulé mocal et PGN. La table d'alimentation a été calculée en fixant le taux de nutrition du premier jour à 8% de la biomasse et en estimant la survie à 100% et le taux de croissance de 10% par jour pendant 15 jours puis à 0.15g/j pendant 130 jours.

Le suivi de la croissance par échantillonnage a révélé une mauvaise croissance jusqu'à l'âge de 147 jours (poids moyen 6.6g soit 0.08g/j) (figure 1). Aucun refus alimentaire n'étant observé, les rations alimentaires n'ont pas été diminuées, ce qui a conduit à pratiquer un taux de nutrition réel de 20%/j. L'objectif étant de ne pas laisser le cannibalisme s'installer, ce taux élevé pouvait sembler pertinent, d'autant qu'une partie du granulé était piégé par le filtre à sable du circuit fermé.



**Figure 3 : croissance et survie de la population en quarantaine**

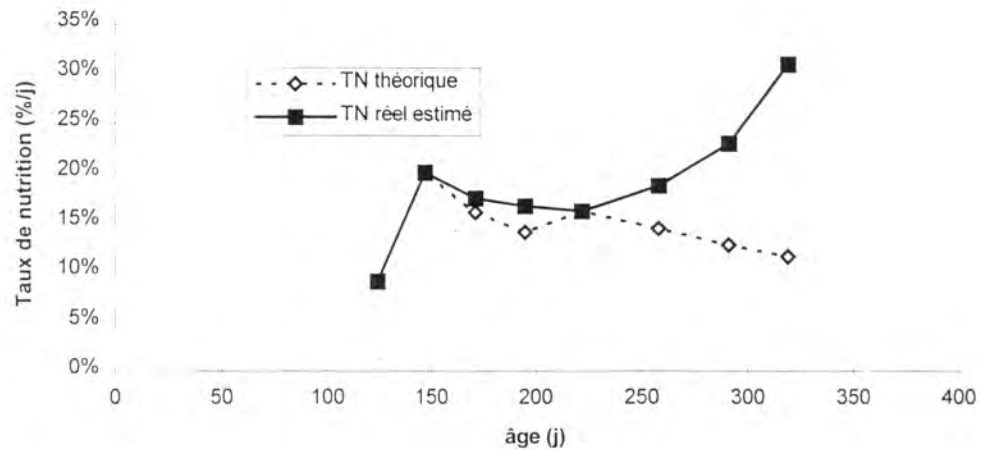
A ce stade, 2 mesures ont été prises pour compenser ce retard de croissance qui pouvait être préjudiciable à la qualité des futurs reproducteurs :

- dédoublement en 2 bassins de 10m<sup>3</sup>
- changement d'aliment, avec incorporation à hauteur de 25 à 50 % de la ration alimentaire d'un granulé proche dans sa formulation d'un granulé de type maturation (annexe 4)

La vitesse de croissance est remontée à 0.2g/j puis s'est stabilisée à 0.15g/j jusqu'à l'âge de 319 jours avant de s'annuler. Le retard initial de croissance n'a pas permis aux animaux de dépasser 31.4g de poids moyen à l'âge de 355 jours (35 g pour les femelles, 28g pour les mâles, cf annexe 3).

Parallèlement, une érosion chronique de l'effectif a fait progressivement chuter l'effectif à 52 animaux à 355 jours (figure 4) , mais les 7 lots multiparentaux étaient toujours tous représentés à cette date (annexe 3).

Cette chute d'effectif inattendue et inobservée à cause de la turbidité de l'eau d'élevage au delà du 222<sup>ème</sup> jour d'élevage s'est accompagnée d'une augmentation du taux de nutrition réel jusqu'à 30%, alors que celui ci aurait dû diminuer (figure 4). Ce problème a probablement contribué à la mauvaise qualité de l'élevage.



**Figure 4 : taux de nutrition pratiqués au cours de l'élevage**

En fait, la gestion des bassins de grossissement s'est avérée difficile à cause de la quasi impossibilité de pêcher intégralement la population pour évaluer son effectif (capacité de traitement des effluents inférieure au volume du bac) : l'eau du bac étant trouble, il était difficile d'y évaluer la mortalité au quotidien et les refus alimentaires. Il était difficile de faire le choix entre un suivi plus serré des effectifs qui n'aurait pu se faire qu'en stressant les animaux (pêche à la senne, confinement sans recirculation de l'eau pendant 24 heures) et un suivi plus léger.

### **Maturation et reproduction**

Malgré la mauvaise croissance et le poids moyen très faible pour des animaux d'un an et la mauvaise qualité constatée des mâles (nécroses des spermatophores), il a été décidé de tenter la reproduction des animaux ayant survécu à ce premier cycle en quarantaine afin de démontrer la faisabilité d'un cycle en quarantaine, à défaut d'avoir réussi une véritable importation de variabilité génétique. Pour ne pas hypothéquer les chances de reproduction des femelles de quarantaine par la mauvaise qualité des mâles de quarantaine, il a été décidé de féconder ces femelles par des mâles du COP et ceci bien que cette stratégie soit contestable du point de vue gestion de la consanguinité.



Ainsi pour les femelles, on a procédé comme suit :

- les 18 femelles disponibles le 16/05/2000 ont été regroupées dans un seul bac de 10m<sup>3</sup> et ont été soumises à une photopériode décalée et où elles ont reçu une alimentation mixte granulé + calmar + moules ;
- 12 ont survécu jusqu'à l'épédonculation, et ont reçu une bague numérotée pour les reconnaître facilement ;
- 2 femelles ont mûri 2 fois de suite et ont été fécondées artificiellement. Le tableau 4 donne les résultats obtenus :

**Tableau 4 : essais de reproduction des femelles G1 (F-40<sup>aine</sup> N°6 et N°12) et des mâles G1 (m-40<sup>aine</sup> N°11 et N°12)**

	ref femelle	famille 40aine	date épédonculation	date fécondation	ref mâles	Nb Oeufs	% fécondation	Nb nauplii
essai N°1	f-40 <sup>aine</sup> N°6	3	11-jun	14-jun	m-COP N°1 + N°2 + N°3 + N°4	80000	3%	0
essai N°1bis	f-40 <sup>aine</sup> N°6	3	11-jun	17-jun	m-COP N°5 + N°6 + N°7	56000	8%	8000
essai N°2	f-40 <sup>aine</sup> N°12	6	14-jun	17-jun	m-COP N°8 + N°9 + N°10	222000	21%	48000
essai N°2bis	f-40 <sup>aine</sup> N°12	6	14-jun	19-jun	m-40 <sup>aine</sup> N°11 + m-40 <sup>aine</sup> N°12	240000	0%	0

- La survie du premier lot était proche de 0 au bout de 24 heures, tandis la seconde famille a pu être élevée pendant 4 jours avant que la décision soit prise de détruire tous les animaux de la quarantaine compte tenu du fait de la découverte tardive qu'au moins une des familles de la quarantaine avait été porteuse du TSV.

Parmi les 18 mâles disponibles le 16/05/2000, 5 ont survécu jusqu'au 22 juin, date de la chloration finale de la quarantaine liée à la découverte tardive de TSV dans les élevages. Seuls 2 présentaient des spermatozoaires suffisamment peu nécrosés pour tenter une fécondation qui s'est soldée par un échec (essai N°2 bis du tableau 4)



## Contrôle sanitaire des animaux équatoriens et des élevages en quarantaine

Des céphalothorax de géniteurs *P. stylirostris* mâles équatoriens ayant servi aux prélèvements de spermes, ainsi que des post larves issues des élevages en quarantaine au COP ont été traités pour l'histologie afin de détecter la présence éventuelle de pathogènes majeurs présents en Amérique latine, tels les virus IHHNV, TSV, White Spot virus et Rickettsioses NHP. Le COP s'est doté de sondes nucléiques commerciales vendues par la société Diagzotics implantée aux Etats Unis, afin de réaliser des hybridations *in situ* sur coupe histologique. Ce type de tests de détection des pathogènes de crevettes nous apparaissait en effet comme celui présentant actuellement les meilleures garanties en terme de spécificité. L'hybridation *in situ* présente en outre l'avantage, en cas de suspicion de la présence d'un pathogène, de recueillir l'avis d'autres pathologistes par la simple observation au microscope des lames histologiques d'intérêt. En effet ces lames histologiques ont une conservation illimitée dans le temps, du moins en théorie.

Le choix des prélèvements histologiques à analyser (post larves élevées en quarantaine et cephalothorax de mâles équatoriens ayant participé à l'opération d'importation de sang neuf) a été conditionné par:

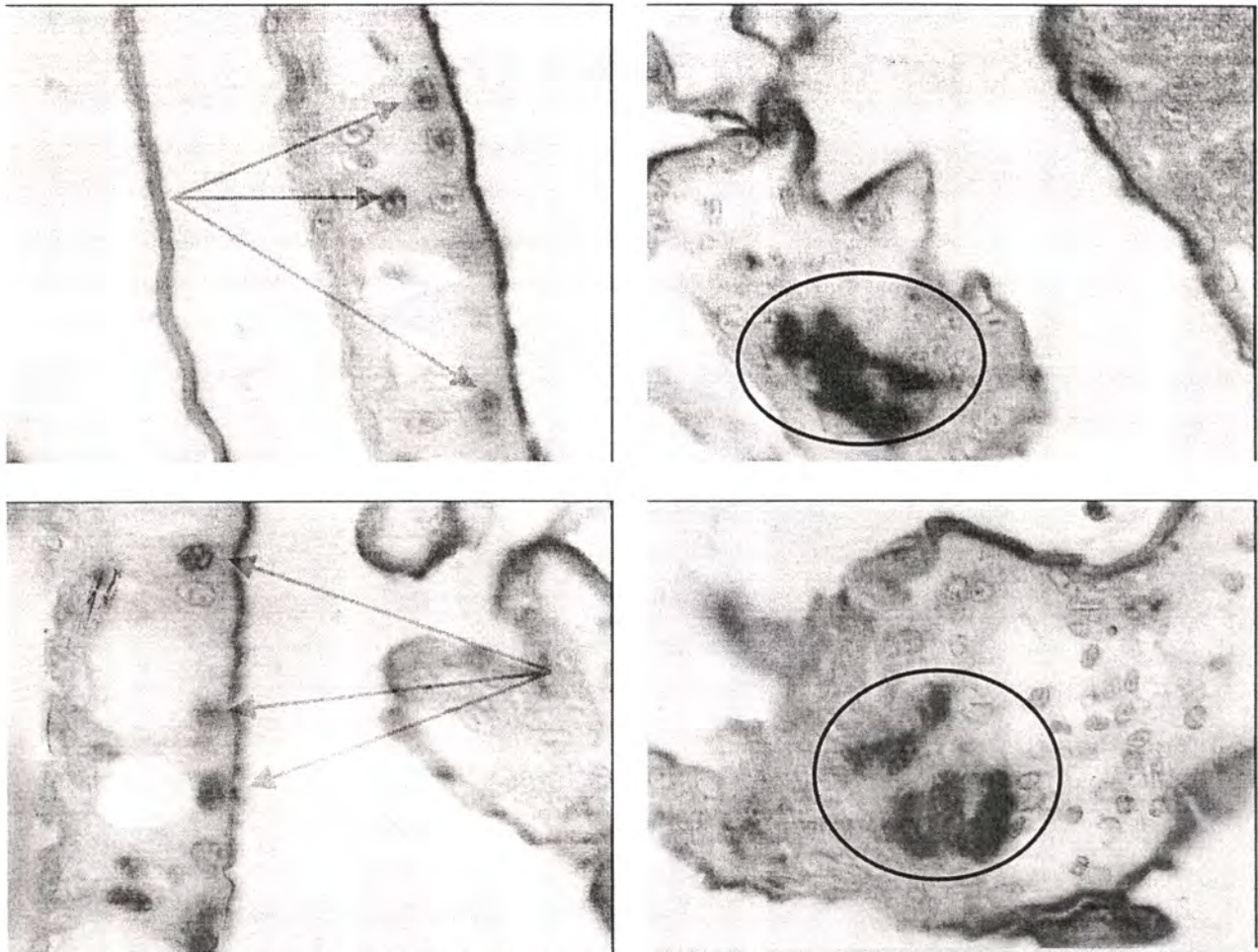
- Le coût élevé des kits de diagnostic correspondant aux pathogènes mentionnés ci dessus: 5\$ US/lame histologique, ne permettant de traiter qu'un effectif réduit d'échantillons compte tenu du budget du Laboratoire.
- Une priorité donnée dans le traitement des prélèvements histologiques de crevettes équatoriennes ayant effectivement participé à l'opération d'introduction de sang neuf (P1) avec l'obtention de larves viables de crevettes *P. stylirostris* issues des croisements entre les femelles du COP et le sperme réfrigéré des mâles sauvages d'origine équatorienne.
- Des contraintes techniques telles la recherche du virus TSV chez les post larves élevées en quarantaine seulement. En effet il est reconnu qu'une fixation prolongée (au delà de 24h dans un fixateur tel celui de Davidson) provoque une dégradation des ARNs viraux, ce qui explique que les céphalothorax de crevettes sauvages ramenés d'Equateur n'aient pas été utilisés pour le dépistage du TSV),
- La disponibilité d'un effectif suffisant de post larves autorisant un prélèvement, destructif par définition, pour l'histologie.

Les résultats des recherches diagnostiques sont les suivants:

Recherche des virus	Nature du prélèvement	Nombre d'individus traités	Pourcentage de positifs
IHHNV	Céphalothorax des crevettes mâles équatoriennes	25 dont 22 en priorité 1 (P1)	2/25=8%
TSV	post larves entières	68 des lots 1,2,3,6 et 7	3/68= 4.4% (Les 3 animaux positifs appartenant tous au lot 6)

La présence de TSV est révélée par l'hybridation de la sonde spécifique de TSV au niveau du cytoplasme de quelques cellules infectées du tissu conjonctif sous cuticulaire, de l'épithélium cuticulaire ou des branchies (dépôts noirâtres) (Figure 5). De façon remarquable, du TSV n'a été détecté que dans un seul lot (lot 6), issu d'un croisement pour lequel l'ampoule spermatique entière d'un mâle avait été utilisée (contrairement aux lots 1, 2, 3 et 5 où seules des boules de sperme avaient été employées).





**Figure 5 : photos de coupes histologiques de cellules infectées par le TSV (les flèches et les zones entourées indiquent les signaux d'hybridation de la sonde spécifique de ce pathogène)**

D'autres pathogènes (WSV, NHP) ont également été recherchés, cependant les témoins positifs fournis avec le kit se sont révélés être négatifs après hybridation. Il n'a par conséquent pas été possible de conclure sur le statut sanitaire des crevettes ayant participé à l'opération d'importation de sang neuf en quarantaine au COP vis à vis de ces deux pathogènes.

### ***Résultats de biologie moléculaire acquis à l'occasion de l'importation de sang neuf***

A partir du matériel génétique rapporté d'Equateur et de celui issu de la quarantaine, le laboratoire de biologie moléculaire du COP s'est attaché à 3 questions :

- achever la mise au point technique et la définition des protocoles d'utilisation de différents marqueurs utilisables sur *P. stylirostris*
- avoir une première évaluation de la richesse allélique des souches du Cop par rapport à la souche sauvage d'Equateur
- effectuer une recherche de parenté au sein des différentes familles produites en quarantaine et déterminer le nombre réel de mâles équatoriens ayant participé aux fécondations.

Ce travail a fait l'objet d'un rapport de vateriat d'Olivier Mouchel (2000), dont sont extraits les résultats essentiels pour les besoins du présent rapport.

## Résultats en terme de variabilité génétique

### 1) Données relatives à la diversité allélique

Sept marqueurs ont pu être utilisés sur une trentaine d'animaux. Le tableau 5 ci dessous synthétise les résultats obtenus en termes de diversité allélique au sein des populations étudiées.

**Tableau n°5: Nombre et taille des allèles observés par locus pour chaque population.**

Locus	Nombre d'allèles observés dans la population sauvage [données manquantes]	nombre d'allèles observés dans la population COP [données manquantes]	allèles spécifiques à la population COP	gamme de taille des allèles [taille moyenne en pb]	rapport du nombre d'allèles de la population COP avec la population sauvage
Vanna.01	25 [5]	2 [4]		335-478  394]	8 %
Vanna.02	24 [4]	2 [2]	1 (621 pb)	521-791  559]	8 %
EF2	8 [4]	2 [0]		419-435  427]	25 %
Pstyli.05	14 [2]	1 [0]		125-214  175]	7 %
Pstyli.07	12 [2]	3 [3]	2 (499 et 516 pb) ?	499-588  561]	25 %
<i>Pstyli.09b</i>	16 [15]	3		50-248	
Pstyli.19	19	3 [0]		161-223  205]	16%

#### Remarques :

\* La taille moyenne des allèles à un locus est une valeur indicative déterminée par le calcul simple de la moyenne de toutes les tailles observées au moins une fois à un locus.

\* La valeur des données manquantes se réfère au nombre d'individus de la population non génotypés pour un locus, sachant que les conditions d'expérimentations ont limité le nombre d'essais réalisés et qu'il sera possible de compléter les données manquantes à l'avenir.

En supposant que la diversité allélique globale « originelle » dans la population sauvage soit du même ordre que dans les populations sauvages mexicaines et panaméennes se trouvant être à l'origine des populations tahitiennes et calédoniennes de *Penaeus stylirostris*, et avec la limite de l'effectif restreint des deux populations étudiées, la perte de variabilité de la population du COP après plus de 20 générations en captivité par rapport à la population sauvage est flagrante en termes de diversité allélique comme le montre le tableau n°1.

En outre, le nombre d'allèles cumulés pour 6 locus (Pstyli.05, Pstyli.07, Pstyli.19, Vanna.01, Vanna.02, EF2) est beaucoup plus élevé pour la population sauvage (102 soit un nombre moyen d'allèles à un locus de 17) que pour la population COP (16 soit un nombre moyen d'allèles à un locus de 2,2).

Concernant la population COP, un allèle semble fixé, l'allèle 158 sur Pstyli.05 qui est le seul observé à ce locus. Pour quatre autres locus, on peut conjecturer que quatre allèles pourraient être fixés ou non en quelques générations en fonction des schémas de croisement mis en œuvre: l'allèle



412 (Vanna.01), l'allèle 621 (Vanna.02), l'allèle 427 (EF2), et l'allèle 204 (locus Pstyli.19). En outre, l'importance des différences de taille pour les allèles observés à un locus microsatellite laisse soupçonner d'importants effets-fondateurs, c'est à dire que les allèles observés présentant des tailles très différentes les unes des autres et sans allèles intermédiaires résulteraient des précédents goulots d'étranglements dans la population.

## 2) Niveaux d'hétérozygotie par locus

### Population COP

L'hétérozygotie moyenne est restreinte (16%) par rapport à la valeur enregistrée sur la population sauvage (59 %) ; on remarque aussi qu'à deux locus (EF2 et Pstyli.05) nous n'avons que des individus homozygotes.

La valeur de l'hétérozygotie observée au locus Pstyli.07 (50%) s'écarte nettement de la valeur de l'hétérozygotie moyenne à un locus pour la population (16 %) ainsi que de la gamme des valeurs d'hétérozygotie des autres locus : 0 à 18% (tableau n°6). Cet écart peut être expliqué par différents phénomènes. En premier lieu viennent les effets conjugués sur les résultats que peuvent avoir d'une part le hasard lors des prélèvements, et d'autre part l'effectif restreint de la population étudiée. Il est également possible, comme nous l'avons déjà évoqué par ailleurs, que la prise en compte dans l'analyse de bandes amplifiées qui ne soient pas réellement des allèles vienne surévaluer cette estimation (cf. photo n°4 page 17).

Les futures expérimentations pourront permettre de trancher à ce niveau.

### Population sauvage

La valeur de l'hétérozygotie moyenne (59%) de la population sauvage est beaucoup plus élevée que celle de la population COP; on observe un facteur quatre entre ces valeurs (16% contre 59%). La comparaison des valeurs locus par locus entre les deux populations montre également cette distorsion, excepté au locus Pstyli.07 où l'écart se resserre et où l'on observe une hétérozygotie moyenne de 50% dans la population du COP contre 68% dans la population sauvage.

Dans cette population, une seule valeur d'hétérozygotie au locus EF2 (12%) s'écarte des autres, comprises entre 61 et 85 %, et se montre nettement inférieure à l'hétérozygotie moyenne (59%). La nature même du marqueur peut expliquer cette différence, les marqueurs microsatellites étant généralement reconnus plus variables que les marqueurs introniques.

**Tableau n°6: Pourcentage d'individus hétérozygotes pour six locus chez les populations COP et sauvage.**

	Vanna.01	Vanna.02	EF2	Pstyli.05	Pstyli.07	Pstyli.19	moyenne
Population souche COP	18	15	0	0	50	13	16 %
Population sauvage	64	85	12	61	68	69	59 %

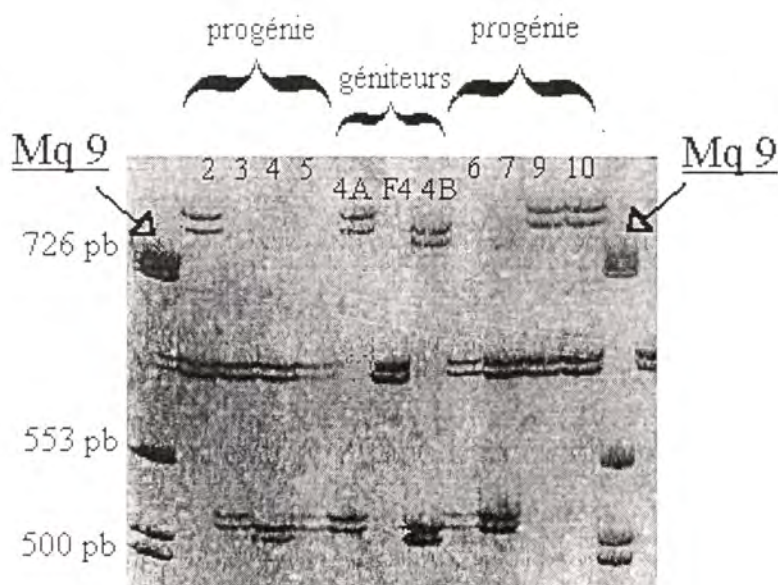
## Analyses de structure de parenté

### a) Résultats des analyses de structure de parenté

#### 1) Analyses réalisées

Des analyses de structure de parenté ont été effectuées sur cinq familles différentes. Ces cinq familles (n°1, 2, 3, 6, 7) sont celles qui ont fourni des pontes viables et qui auraient donc été impliquées dans l'apport de "sang neuf". Rappelons que chaque famille était issue du croisement d'une femelle de souche COP avec 2 mâles équatoriens. Les prélèvements ont été faits à différents stades (nauplii, post-larves, géniteurs) en vue d'analyses ultérieures.

Nous présentons à titre d'exemple un gel d'analyse de structure de parenté correspondant à la famille n°3 au locus Vanna.02 (Figure 6).



**Figure 6 : Analyse de structure de parenté pour la famille n°3 avec le locus Vanna.02**

Concernant les lots n°1, 2 et 3, nous avons génotypé les deux mâles équatoriens, la femelle COP ainsi que 8 à 10 individus issus de la ponte de cette femelle et prélevés au hasard au stade "post-larve". Sur chaque famille, nous avons testé de 1 à 7 marqueurs génétiques.

Une analyse de parenté a été effectuée sur le lot 3 avec le locus EF2. La ségrégation des allèles au cours de la révélation du gel semblait cohérente et analysable, cependant un problème technique n'a pas permis de récupérer ce gel en l'état, et les limites du laboratoire en termes de réactifs n'ont pas permis de reproduire l'expérimentation. C'est pourquoi ce résultat ne peut être présenté ; cependant ce marqueur semble utilisable en analyse de structure de parenté.

Concernant les deux autres lots n°6 et 7, seule la femelle de souche COP et 10 individus de la descendance ont été étudiés, puisque nous ne disposons pas d'échantillons de tissus permettant de génotyper les mâles utilisés pour la fécondation. Si l'on écarte au préalable la présence d'allèles nuls (se référant aux résultats observés par ailleurs), on observe le même profil sur les deux lots: apport par le ou les mâle(s) fécondateur(s) du même allèle que celui présenté par la femelle (204 pb), ainsi que d'un autre allèle de taille différente, 200 pb environ (lot 6, voir tableau 10) et 210 pb (lot 7, voir tableau 11). La ségrégation des allèles dans la descendance ne permet pas de conclure sur la participation respective des mâles, puisque dans chaque famille les deux allèles apportés par le(s) mâle(s) (*rappel* : 204 et 210 pb pour la famille n°6, 200 et 204 pb pour la famille n°7) ont pu être amenés par des gamètes issus du même mâle hétérozygote, ou par chacun des deux mâles.

Remarquons que l'observation de l'apport d'au minimum 3 allèles paternels différents dans la progénie de ces deux familles aurait permis de conclure de façon positive sur la participation effective des deux mâles dans la fécondation. L'analyse d'un plus grand nombre d'individus de la descendance et/ou l'utilisation d'autres locus pourrait permettre d'apporter de nouveaux éléments. En effet, pour la famille n°3 seul l'individu n°4 se montre porteur d'un allèle du mâle 4B (cf. tableau n°8) et nous permet de conclure à la double fécondation de la femelle.

## 2) Présentation des résultats

Les résultats sont exposés dans les tableaux n°4 (famille 2), 5 (famille 3), 6 (famille 1), 7 (famille 6), 8 (famille 7). Ces informations sont synthétisées dans le tableau n°9.

*Remarque* : Dans les tableaux, une case vide en réfère à un individu non analysé, et un point d'interrogation se rapporte à une information manquante ou ambiguë ne permettant pas de conclure sur le génotype de l'individu.



**Tableau n°7: Résultat des analyses de parenté pour la famille n°1**

Individus	1	2	3	4	5	7A	F7	7B	6	7	8	9	10
génotype Vanna.01 <i>parents présumés</i>	412/356 F7/7A	412/356 F7/7A	412/412 F7/?	412/356 F7/7A	412/412 F7/?	356/412	412/412	354/412	412/356 F7/7A	412/354 F7/7B	412/412 F7/?		412/412 F7/?
génotype Vanna.02 <i>parents présumés</i>	621/791 F7/7A		621/543 F7/7A	621/791 F7/7A		543/791	621/621	602/722	621/791 F7/7A		621/543 F7/7A		621/602 F7/7B
génotype Pstyli.19 <i>parents présumés</i>	204/204 F7/?	204/170 F7/7A	204/170 F7/7A	204/170 F7/7A	204/170 F7/7A	170/204	204/204	204/222	204/170 F7/7A	204/222 F7/7B	204/204 F7/?	204/170 F7/7A	204/222 F7/7B
<i>recherche de paternité</i>	4A	4A	4A	4A	4A				4A	4B	4A	4A	4B

**Tableau n°8 : Résultat des analyses de parenté pour la famille n°3**

Individus	n°1	n°2	n°3	N°4	n°5	4A	F4	4B	n°6	n°7	n°8	n°9	n°10
génotype Vanna.01 <i>parents présumés</i>		621/732 F4/4A	621/528 F4/4A	621/521 F4/4B	621/528 F4/4A	528/732	621/621	521/723	621/528 F4/4A	621/528 F4/4A		621/732 F4/4A	621/732 F4/4A
génotype Vanna.02 <i>parents présumés</i>	412/358 F4/4A	412/417 F4/4A	412/358 F4/4A	412/353 F4/4B	412/358 F4/4A	358/417	412/412	343/360	412/358 F4/4A	412/358 F4/4A	412/417 F4/4A	412/417 F4/4A	412/417 F4/4A
génotype Pstyli.05 <i>parents présumés</i>	158/158 F4/4A	158/162 F4/4A	158/162 F4/4A			158/162	158/158	144/204	158/162 F4/4A	158/162 F4/4A	158/158 F4/4A	158/158 F4/4A	
génotype Pstyli.07 <i>parents présumés</i>	516/? F4/?	516/? F4/?	516/564 F4/4A	516/556 F4/4B		564/564	516/516	556/571	516/564 F4/4A	516/564 F4/4A	516/564 F4/4A		
génotype Pstyli.09b <i>parents présumés</i>	240/? F4/?	240/? F4/?	234/250 F4/4A	240/? F4/?	240/? F4/?	234/234	240/250	240/240	250/? F4/?	234/250 F4/4A	240/? F4/?		
génotype Pstyli.19 <i>parents présumés</i>		204/203 F4/4A	204/203 F4/4A	204/233 F4/4B	204/203 F4/4A	203/209	204/204	233/233	204/229 F4/4A	204/229 F4/4A	203/204 F4/4A	203/204 F4/4A	204/229 F4/4A
<i>recherche de paternité</i>	4A	4A	4A	4B	4A				4A	4A	4A	4A	4A

**Tableau n°9 : Résultat des analyses de parenté pour la famille n°2**

Individus	1	2	3	4	5	11A	F11	11B	6	7	8	9	10
génotype Pstyli.19	204/225	204/225	204/229	204/209	204/225	203/229	204/204	209/225	204/209	204/209	204/229	204/209	204/225
recherche de paternité	F11/11B	F11/11B	F11/11A	F11/11B	F11/11B				F11/11B	F11/11B	F11/11A	F11/11B	F11/11B

**Tableau n°10 : Résultat des analyses de parenté pour la famille n°6**

Individus	1	2	3	4	5	mâle?	F "amp?"	mâle?	6	7	8	9	10
génotype Pstyli.19	204/210	204/204	204/210	204/210	204/204	?	190/204	?	204/204	204/210	204/210	204/204	204/204
recherche de paternité	F"am?"/?	F"am?"/?	F"am?"/?	F"am?"/?	F"am?"/?				F"am?"/?	F"am?"/?	F"am?"/?	F"am?"/?	F"am?"/?

**Tableau n°11 : Résultat des analyses de parenté pour la famille n°7**

Individus	1	2	3	4	5	mâle?	F "5+6"	mâle?	6	7	8	9	10
génotype Pstyli.19	204/200	204/204	204/204	204/204	204/204	?	204/204	?	204/200	204/200	204/200	204/200	204/204
recherche de paternité	F "5+6"/?	F "5+6"/?	F "5+6"/?	F "5+6"/?	F "5+6"/?				F "5+6"/?	F "5+6"/?	F "5+6"/?	F "5+6"/?	F "5+6"/?

**Tableau n°12 : Tableau récapitulatif des résultats des analyses de parenté pour les familles n° 1, 2, 3.**

	Nombre de mâles intervenus dans la fécondation	individus de la progénie attribués au mâle "A"	individus de la progénie attribués au mâle "B"	individus non analysés	individus indéterminés
<b>Famille n°1</b>					
Vanna.01	2	4	1	1	4
Vanna.02	2	5	1	4	
Pstyli.19	2	6	2		2
<i>Contribution de chaque mâle</i>		<b>80 %</b>	<b>20 %</b>		<b>0 %</b>
<b>Famille n°2</b>					
Pstyli.19	2	2	8		
<i>Contribution de chaque mâle</i>		<b>20 %</b>	<b>80 %</b>		<b>0 %</b>
<b>Famille n°3</b>					
Vanna.01	2	9	1		
Vanna.02	2	7	1	2	
Pstyli.05	2	7		3	
Pstyli.07	2	4	1	3	2
Pstyli.19	2	8	1	1	
<i>Contribution de chaque mâle</i>		<b>90 %</b>	<b>10 %</b>		<b>0 %</b>



## Conclusion

L'importation de sang neuf a clairement échoué puisque aucune descendance n'est disponible. En fait deux facteurs indépendants expliquent cet échec :

- la présence de TSV dans au moins une famille issue des croisements mâles sauvages x femelle COP qui aurait conduit à détruire tous les animaux de la quarantaine, même si les élevages s'y étaient déroulés de façon satisfaisante du point de vue zootechnique ;
- les mauvaises performances zootechniques en quarantaine qui n'ont pas permis de produire des géniteurs G1 en quantité et qualité suffisante pour sortir de quarantaine une G2 .

Du point de vue sanitaire, il est intéressant de noter que la famille porteuse de TSV est une des 2 familles issues d'un croisement avec un mâle dont on a importé l'ampoule spermatique entière. On peut se poser la question de savoir si la contamination a eu lieu par les tissus de l'ampoule.

Du point de vue zootechnique, la quarantaine utilisée pour cet essai souffrait d'une mauvaise conception de départ, qui s'explique en partie par le choix de réutiliser de vieilles infrastructures inadaptées :

- De nombreux bacs de 10 à 50 litres sont indispensables pour l'élevage larvaire de familles à faible effectif (quelques centaines de nauplii dans certains cas) compte tenu que la réfrigération du sperme ne permet pas d'obtenir des familles de nauplii de grand effectif. A l'avenir, l'utilisation de bacs de 500 litres comme ceux qui ont été utilisés ne devrait correspondre qu'à un prégrossissement prolongé de lots multiparentaux obtenus par un mélange équilibré de plusieurs familles ayant passé le stade de post-larves et que les techniques de recherche de parenté par marqueur génétique pourront différencier. La mise en place d'une mini-écloserie de quarantaine passe par un rodage qu'il est possible d'effectuer avec des animaux du COP.
- L'insuffisance des cuves de traitement (6 m<sup>3</sup> pour 10 puis 2 x 10m<sup>3</sup> d'élevage) a rendu difficile le suivi des bacs de grossissement et de maturation (vidange devant s'étaler sur 2 jours avec confinement des animaux pendant 24 heures) en particulier pour contrôler les effectifs globaux et par famille. Le sur-nourissage des bacs lié à la surévaluation des effectifs a entraîné une pollution chronique des bacs. La mise au point d'un protocole de grossissement en eau claire est un point de passage préalable obligatoire qui est réalisable avec les souches tahitiennes.

Au delà de ce constat d'échec, le travail effectué a quand même permis de tirer quelques résultats et leçons utiles :

- en conservation du sperme, la réfrigération sur plusieurs jours a démontré un certain potentiel dans le cadre d'un transfert de souches par la voie mâle. La médiocre qualité des femelles disponibles lors de cet essai pourrait avoir minimisé l'efficacité de la méthode de réfrigération.

- en nutrition, il semble que le granulé spécial quarantaine formulé par le COP permette de compenser au moins en partie les déficiences du granulé de grossissement adapté à l'élevage en bassin de terre ;

- en biologie moléculaire, le rodage des techniques sur du matériel génétique plus variable que celui du COP a permis une première estimation de la perte de variabilité génétique du cheptel tahitien et la recherche de parenté à l'aide de marqueurs moléculaires a démontré qu'une femelle pouvait bien être fécondée par 2 mâles. Cela ouvre la porte à des expérimentations pour évaluer la faisabilité de production de familles de demi-frères à partir de 3, 4, ...10 mâles, la limite physique étant l'impossibilité de diluer le sperme de crevette et la nécessité de travailler avec des morceaux de boule de sperme ayant gardé leur pouvoir collant ;

- d'un point de vue logistique, l'outil quarantaine nécessaire à une telle opération reste à construire et à fiabiliser : au delà des techniques de construction qui restent perfectibles (sols fissurés à l'étanchéité douteuse après une année d'utilisation), la prise en compte de marges de sécurité passe par :

- . la mise en place de seuils suffisamment hauts et l'installation d'alarmes de niveau suffisamment bas pour éviter tout débordement accidentel de la quarantaine vers l'extérieur;
- . la quarantainisation de la salle de traitement ;
- . l'augmentation de la capacité de traitement des effluents.

En outre, il est utile de rappeler que l'importation de sang neuf à Tahiti avait été identifiée comme une action prioritaire à une époque où l'évolution des programmes de génétique crevette n'avait pas encore fait l'objet d'une analyse globale sur les 2 Territoires de Polynésie Française et de Nouvelle-Calédonie. Depuis, l'évolution progressive des programmes crevette vers la Nouvelle-Calédonie permet de se reposer la question de savoir si l'introduction de sang neuf doit être nécessairement tentée à Tahiti. En Nouvelle-Calédonie où l'élevage de la crevette est réellement développé, il convient de bien indiquer aux acteurs de la filière les enjeux d'une telle opération :

- l'importation de sang neuf est une opération lourde, qui comporte des risques sanitaires (cf introduction de pathogènes même en ne travaillant qu'avec du sperme) ;
- il n'est pas impossible que le progrès génétique lié à la domestication spontanée de la souche de Nouvelle Calédonie depuis son introduction soit important et qu'il rende pour plusieurs générations toute nouvelle population synthétique peu performante par rapport au cheptel dont disposent les éleveurs ;

- le bénéfice potentiel à long terme d'une importation de sang neuf ne peut être estimé qu'en évaluant la variabilité génétique disponible en Nouvelle-Calédonie à partir d'un échantillonnage raisonné du cheptel et de son génotypage à l'aide des marqueurs génétiques disponibles.

La décision de retenter une importation de variabilité génétique en Nouvelle Calédonie est donc un problème de gestion de risque (risque d'introduction de pathogène *vs* risque de ne plus pouvoir faire évoluer génétiquement la souche domestiquée). Dans la mesure où on considère que la recherche en aquaculture doit servir la filière, il semble donc nécessaire que cette décision soit prise par l'ensemble des acteurs de la filière avec l'éclairage que fournit l'analyse de la variabilité génétique disponible sur ce Territoire (Goyard *et al.*, 2002).



## Bibliographie

- Garcia, D.K., Dhar, A., Alcivar-Warren, A.A., 1996. Molecular analysis of a RAPD marker (B20) reveals presence of two microsatellites and differential mRNA expression in *Penaeus vannamei*. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 5(1), 1-83.
- Goyard E., Arnaud S., Vonau V., Bischoff V., Mouchel O., Goguenheim J., Goarant C., Pham D., Aquacop (2002). Evaluation de la variabilité génétique de *P. stylirostris* disponible en Nouvelle Calédonie. Rapport Interne IFREMER, DRV/RST/RA/2002-02, 18pp
- Moore, S.S., Whan, V., Davis, G.P., Byrne, K., Hetzel, D.J.S., Preston, N., 1999. The development and application of genetic markers for the Kuruma prawn *Penaeus japonicus*. *Aquaculture* 173(1-4), 19-32
- Mouchel O., 2000. Contribution au développement et à l'étude de marqueurs génétiques chez la crevette *P. stylirostris* : rapport de vatarariat ; 47pp.

## annexe 1 : simulations de perte de variabilité génétique

La part de variabilité génétique conservée à chaque génération peut être estimée par la formule suivante :

$$[ V(G_{n+1}) - V(G_n) ] / V(G_n) = 1 - 1 / (2.N_e)$$

avec :  $N_e = 4 / ( 1/N_m + 1/N_f )$  où

$N_e$	= nb de géniteurs efficaces
$N_m$	= nb de mâles utilisés
$N_f$	= nb de femelles utilisées

Les tableaux A1 et A2 fournissent pour les 4 souches NC, TT, EPT et selon les 2 hypothèses explicitées dans le corps du texte l'évolution du nombre de géniteurs efficaces et la variabilité génétique résiduelle de génération en génération.

**Tableau A1 : Simulations selon l'hypothèse haute**

hypothèse haute																
Génération	NC				TT				EPT				CC			
	année	Nf	Nm	variabilité résiduelle	année	Nf	Nm	variabilité résiduelle	année	Nf	Nm	variabilité résiduelle	année	Nf	Nm	variabilité résiduelle
0	1979			100%	1979			100%	1979			100%	1979			100%
1	1980	4	8	95%	1980	4	8	95%	1980	4	8	95%	1980	4	8	95%
2	1981	6	12	92%	1981	6	12	92%	1981	6	12	92%	1981	6	12	92%
3	1981	6	12	89%	1981	6	12	89%	1981	6	12	89%	1981	6	12	89%
4	1982	10	20	88%	1982	10	20	88%	1982	10	20	88%	1982	10	20	88%
5	1983	10	20	86%	1983	10	20	86%	1983	10	20	86%	1983	10	20	86%
6	1983	10	20	85%	1983	10	20	85%	1983	10	20	85%	1983	10	20	85%
7	1984	10	20	83%	1984	10	20	83%	1984	10	20	83%	1984	10	20	83%
8	1985	10	20	81%	1985	10	20	81%	1985	10	20	81%	1985	10	20	81%
9	1985	10	20	80%	1985	10	20	80%	1985	10	20	80%	1985	10	20	80%
10	1986	10	20	78%	1986	10	20	78%	1986	10	20	78%	1986	10	20	78%
11	1987	10	20	77%	1987	10	20	77%	1987	10	20	77%	1987	10	20	77%
12	1987	10	20	75%	1987	10	20	75%	1987	10	20	75%	1987	10	20	75%
13		20	40	75%		20	40	75%		20	40	75%		20	40	75%
14	1989	20	40	74%	1989	20	40	74%	1989	20	40	74%	1989	20	40	74%
15	1989	20	40	73%	1989	20	40	73%	1989	20	40	73%	1989	20	40	73%
16	1990	20	40	73%	1990	8	16	72%	1990	8	16	72%	1990	20	40	73%
17		35	70	72%	1991	8	16	70%	1991	8	16	70%		35	70	72%
18	1992	35	70	72%	1992	8	16	68%	1992	50	100	70%	1992	35	70	72%
19	1992	35	70	71%	1993	8	16	67%	1993	50	100	69%	1992	35	70	71%
20	1993	35	70	71%	1994	8	16	65%	1994	50	100	69%	1993	8	16	70%
21	1994	35	70	71%	1995	8	16	64%	1995	50	100	69%	1994	8	16	68%
22	1994	35	70	70%	1996	8	16	62%	1996	50	100	69%	1995	8	16	67%
23	1995	50	100	70%	1997	8	16	61%	1997	50	100	68%	1996	8	16	65%
24	1996	50	100	70%	1998	8	16	59%	1998	50	100	68%	1997	8	16	63%
25	1996	50	100	70%	1999	8	16	58%	1999	50	100	68%	1998	8	16	62%
26	1997	50	100	69%									1999	8	16	61%
27	1998	50	100	69%												
28	1998	50	100	69%												
29	1999	50	100	69%												



**Tableau A2 : Simulations selon l'hypothèse basse**

hypothèse basse																
NC																
TT																
EPT																
CC																
Génération	année	Nf	Nm	variabilité résiduelle	année	Nf	Nm	variabilité résiduelle	année	Nf	Nm	variabilité résiduelle	année	Nf	Nm	variabilité résiduelle
0	1979			100%	1979			100%	1979			100%	1979			100%
1	1980	2	4	91%	1980	2	4	91%	1980	2	4	91%	1980	2	4	91%
2	1981	3	6	85%	1981	3	6	85%	1981	3	6	85%	1981	3	6	85%
3	1981	1	1	64%	1981	1	1	64%	1981	1	1	64%	1981	1	1	64%
4	1982	5	10	61%	1982	5	10	61%	1982	5	10	61%	1982	5	10	61%
5	1983	5	10	59%	1983	5	10	59%	1983	5	10	59%	1983	5	10	59%
6	1983	5	10	57%	1983	5	10	57%	1983	5	10	57%	1983	5	10	57%
7	1984	1	1	43%	1984	1	1	43%	1984	1	1	43%	1984	1	1	43%
8	1985	5	10	41%	1985	5	10	41%	1985	5	10	41%	1985	5	10	41%
9	1985	5	10	39%	1985	5	10	39%	1985	5	10	39%	1985	5	10	39%
10	1986	5	10	38%	1986	5	10	38%	1986	5	10	38%	1986	5	10	38%
11	1987	5	10	37%	1987	5	10	37%	1987	5	10	37%	1987	5	10	37%
12	1987	5	10	35%	1987	5	10	35%	1987	5	10	35%	1987	5	10	35%
13		10	20	35%		10	20	35%		10	20	35%		10	20	35%
14	1989	10	20	34%	1989	10	20	34%	1989	10	20	34%	1989	10	20	34%
15	1989	10	20	33%	1989	10	20	33%	1989	10	20	33%	1989	10	20	33%
16	1990	10	20	33%	1990	4	8	32%	1990	4	8	32%	1990	10	20	33%
17		17	35	32%	1991	4	8	30%	1991	4	8	30%		17	35	32%
18	1992	17	35	32%	1992	4	8	29%	1992	25	50	30%	1992	17	35	32%
19	1992	17	35	32%	1993	4	8	27%	1993	25	50	30%	1992	17	35	32%
20	1993	17	35	31%	1994	4	8	26%	1994	25	50	30%	1993	4	8	30%
21	1994	17	35	31%	1995	4	8	25%	1995	25	50	29%	1994	4	8	29%
22	1994	17	35	31%	1996	4	8	24%	1996	25	50	29%	1995	4	8	27%
23	1995	25	50	30%	1997	4	8	23%	1997	25	50	29%	1996	4	8	26%
24	1996	25	50	30%	1998	4	8	22%	1998	25	50	29%	1997	4	8	25%
25	1996	25	50	30%	1999	4	8	21%	1999	25	50	28%	1998	4	8	24%
26	1997	25	50	30%									1999	4	8	23%
27	1998	25	50	29%												
28	1998	25	50	29%												
29	1999	25	50	29%												

## annexe 2 : suivi des pontes, des élevages larvaires et du prégrossissement en quarantaine

FECONDATIONS & PONTES								ELEVAGES LARVAIRES & PREGROSSISSEMENT					
Date ponte	Référence Mâles Equateur	référence Femelles COP	Date ponte	Nb oeufs	% fécondation	Nb nauplii	Ref prélèvement de Nauplii	LOTS	structure génétique du lot	référence prélèvements Post-Larves 23/06/1999	référence prélèvements Post-Larves 28/06/99 & 29/06/99	référence prélèvements Post-Larves 21/07/99	nombre de PL marquées
08/05/99	13 d	F 13-d	08/05/99	236667	50%	5000	F13-d x (M13a+M13b)	0	HS fam	-	-	-	0
07/05/99	7 d	F 7-d	07/05/99	116666	10%	2000	F7-d x (M7a+M7b)	1	HS fam	Lot 1 <2.5mm	Lot 1 < 3mm	Lot 1 (30ind/ 3 tubes)	212
	11 d	F 11-d	07/05/99	66667	45%	8000	F11-d x (M11a+M11b)	2	HS fam	Lot 2 < 2mm	Lot 2 < 2.5mm	Lot 2 (17ind/ 1 tube)	177
	4 d	F 4-d	07/05/99	150000	25%	10000	F4-d x (M4a+M4b)	3	HS fam	Lot 3 < 2mm	Lot 3 < 2.5mm	Lot 3 (30ind/ 3 tubes)	225
12/05/99	64 d	F 64-d	12/05/99	106667	0%	1000	non-prélevé	4	mélange 2 HS fam	non-prélevé	non-prélevé	Lot 4 (30ind/ 3 tubes)	134
	77 d	F 77-d	12/05/99	180000	0%	500	non-prélevé						
10/05/99	40 d	F 40-d	10/05/99	153333	4%	20	non-prélevé	5	mélange 5 HS fam	-	-	-	0
	55 d	F 55-d	10/05/99	176667	0%	20	non-prélevé						
	58 d	F58-d	10/05/99	153333	0%	1000	F58-d x (M58a+M58b)						
	65 d	F 65-d	10/05/99	306667	0%	10	non-prélevé						
	75 d	F 75-d	10/05/99	93333	0%	10	non-prélevé						
	Mamp ?	Famp?	10/05/99	186667	20%	35000	Famp? x (Mamp ?)	6	FS fam	Lot 6 < 2mm	Lot 6 < 2.5mm	Lot 6 (30ind/ 3 tubes)	186
	Mamp5 +Mamp6	Famp 5+6	10/05/99	150000	25%	20000	Famp 5+6 x (Mamp5+Mamp6)	7	HS fam	Lot 7 < 2mm	Lot 7 < 2.5mm	Lot 7 (30ind/ 3 tubes)	169
14/05/99	23 g	F23-g	14/05/99	106667	0%	100	non-prélevé	8	mélange 2 HS fam	non-prélevé	non-prélevé	non-prélevé	46
	29 g	F29-g	14/05/99	126667	0%	3	non-prélevé						



annexe 3 : formulation du granulé « spécial quarantaine » comparée aux granulés de « grossissement standard » et au granulé « spécial maturation »

INGREDIENTS	« Spécial quarantaine »	Granulé grossissement commercial « P G N »	« Special maturation »
FARINE POISSON	0,136	0,430	-
FISH ROE	-	-	-
CREVETTE congelée	-	-	-
CALMAR congelé	-	-	-
CPSP	0,042	-	-
MOULES	-	-	-
SLURRY LYOPH	0,100	-	0,060
CALMAR LYOPH	0,300	-	0,360
FARINE CREVETTE	-	-	0,150
LEVURE BEL	0,120	0,050	0,120
FARINE FROMENT	0,05	0,320	-
GLUTEN FROMENT	0,100	-	0,100
PROCON	-	0,100	0,060
SOJA	0,06	-	-
LACTOSERUM		0,020	-
ROVIMIX 1730	0,020	0,010	0,030
CHOLINE	0,005	0,005	0,005
HUILE DE POISSON	0,030	0,020	0,030
MEGAPREMIX	-	-	-
LECTHINE	0,02	0,010	0,010
MELASSE CANNE	-	-	-
HUILE foie de morue	-	-	-
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,005	0,015	0,010
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	0,005	0,020	0,020
CaHPO <sub>4</sub>	0,0025	-	-
Mg Cl <sub>2</sub>	0,01	-	0,010
PX1	-	-	0,010
PINK Carophyll	-	-	0,0005
PERMICOL	-	-	-
Alginate de Na	-	-	0,0200
Sodium hexametaphos	0,00005	-	0,0100
TOTAL	1 Kg	1 Kg	1 Kg



annexe 4 : effectifs et poids moyen des animaux à l'âge de 355 jours

lot multiparental	Données	sexe		
		f	m	Total
1	Min poids			
	Moyenne poids		30,40	30,40
	Max poids			
	NB poids		1	1
2	Min poids	29,8	23,2	23,2
	Moyenne poids	36,63	27,38	31,34
	Max poids	43,8	28,9	43,8
	NB poids	3	4	7
3	Min poids	25,6	27,5	25,6
	Moyenne poids	36,73	29,73	33,23
	Max poids	47,8	33	47,8
	NB poids	4	4	8
4	Min poids	39,9	22,1	22,1
	Moyenne poids	44,65	24,40	34,53
	Max poids	49,4	26,7	49,4
	NB poids	2	2	4
6	Min poids	25,1	22,5	22,5
	Moyenne poids	33,11	27,08	30,10
	Max poids	46,6	32,2	46,6
	NB poids	11	11	22
7	Min poids		28,9	28,9
	Moyenne poids	42,80	29,15	33,70
	Max poids		29,4	42,8
	NB poids	1	2	3
8	Min poids	28,9	28,2	28,2
	Moyenne poids	32,68	29,00	31,10
	Max poids	37,7	29,5	37,7
	NB poids	4	3	7
Total Min poids		25,1	22,1	22,1
Total Moyenne poids		35,35	27,81	31,43
Total Max poids		49,4	33	49,4
Total NB poids		25	27	52

N° RI DRV	DEPARTEMENT	LABORATOIRE	AUTEURS	TITRE	DATE SORTIE	DIFFUSION	NB PAGES	TIRAGE
DRV/RA								
RA-2002-01	RA	Port en Bessin	Ropert M., R. Olivesi	Etat de l'activité mytilicole sur le secteur de Quend- plage (Picardie)	janv			
RA-2002-02	RA	Tahiti	Goyard E., S. Arnaud, V. Vonau, V. Bischoff, O. Mouchel, J. Goguenheim, C. Goarant, D. Pham et AQUACOP	Evaluation de la variabilité génétique de <i>P.</i> <i>stylirostris</i> disponible en Nouvelle-Calédonie	fevrier	libre	18	
RA-2002-03	RA	Tahiti	Goyard E., J. Goguenheim, D. Saulnier, O. Mouchel, G. Cuzon et AQUACOP	Compte rendu de l'essai d'importation de variabilité génétique de <i>P. stylirostris</i> à Tahiti	février	libre	36	
DRV/RH								
DRV/VP								
DRV/SEM								





**IFREMER**