

Phylogéographie des huîtres de mangrove de l'Océan Atlantique Sud :
C. gasar et *C. rhizophorae*

*S. Heurtebise*⁴, *I. Boutet*^{4,2}, *B. Verden*^{4,2}, *S. Lapègue*⁴, *A. Leitão*^{4,3}, *C. Thiriot-Quiévreux*³,
*P. Garcia*², *P. Boudry*⁴.

⁴ IFREMER, Laboratoire de Génétique et Pathologie, La Tremblade.

² Institut de la Mer et du Littoral, La Rochelle.

³ Observatoire Océanologique, Villefranche-sur-mer.

Résumé

Les huîtres de mangrove englobent plusieurs espèces qui sont présentes sur différentes côtes. Dans la partie sud de l'Océan Atlantique, *Crassostrea rhizophorae* a été décrite le long des côtes sud américaines et *Crassostrea gasar* le long des côtes ouest africaines. Quinze populations de ces huîtres ont été échantillonnées dans ces deux zones géographiques. Leur polymorphisme a été étudié sur le fragment mitochondrial 16S par séquençage et analyse en RFLP, le caryotype de certains échantillons a aussi été examiné. Deux haplotypes ont été identifiés : le type *C. gasar* a été trouvé en Afrique, mais aussi pour la première fois en Amérique du Sud, alors que le type *C. rhizophorae* a été rencontré seulement sur les côtes d'Amérique du Sud. De plus, les deux espèces ont été observées sur le même site au Brésil. L'étude caryologique corrobore ce résultat. Finalement, un arbre phylogénétique a été construit à partir des séquences du fragment d'ADN 16S de différentes espèces de *Crassostrea* et indique une position intermédiaire de *C. gasar* entre les huîtres d'Asie (*C. gigas*, *C. ariakensis* et *C. angulata*) et d'Amérique (*C. virginica* et *C. rhizophorae*). Ces résultats soulèvent des questions sur l'origine de *C. gasar* en Amérique du Sud et l'état de sympatrie des deux espèces au Brésil. Ils ouvrent aussi de nouvelles perspectives concernant l'utilisation des huîtres de mangrove comme ressource génétique utile pour les programmes d'amélioration des huîtres.

PHYLOGÉOGRAPHIE DES HÙÎTRES CREUSES DE MANGROVE DE L' OCEAN ATLANTIQUE SUD :

C. gasar et *C. rhizophorae*

Auteurs : S. Heurtebise - J. Boulet - B. Yordan - S. Lapéque
A. Leitar - C. Thiriot-Quérois - P. Garcia - P. Baudry

IFREMER, Laboratoire de Génétique et d'Écologie, B.P. 21105, 44311 La Tremblade
Institut de la Mer de Littoral, Avenue L. Pasteur, Port de Plaisance, F-2980 La Rochelle
Chaire Centre Océanologique, BP 25, 83200 La Seyne-sur-Mer

Taxonomie des huîtres est difficile à établir à partir de :

- Critères Morphologiques (Plasticité de forme)
- Critères Géographiques (Introduction par l'homme d'espèces étrangères)

UTILISATION DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE



▼

Introduction | Matériel | Méthodes et Résultats | Conclusion | Perspectives

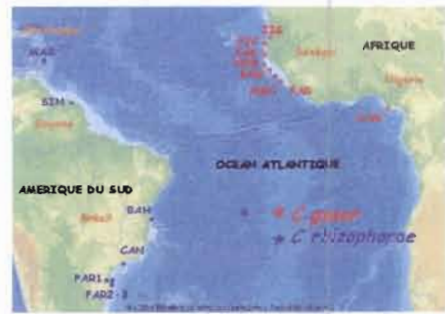
OBJECTIFS DE L'ETUDE

- Détermination de l'espèce de 15 populations d'huîtres creuses de mangrove de l'océan atlantique sud :
Utilisation de techniques de recherche du polymorphisme inter-spécifique appliquées au fragment mitochondrial 16S :
PCR-RFLP
SSCP
SEQUENCAGE
- Description du caryotype de *C. gasar*.
- Détermination du lien phylogénétique entre *C. gasar* et les autres espèces du genre *Crassostrea*.

▼

Introduction | Matériel | Méthodes et Résultats | Conclusion | Perspectives

LOCALISATION DES POPULATIONS ETUDEES ET DES ESPECES PRESUMES



▼

Introduction | Matériel | Méthodes et Résultats | Conclusion | Perspectives


OBTENTION DES FRAGMENTS D'ADN ET DETECTION DU POLYMORPHISME

Extraction de l'ADN

Amplification par PCR du fragment mitochondrial 16S


RFLP

Polymorphisme de longueur des fragments de restriction (Digestion par les enzymes *Taq I* et *HindIII*)



SSCP

Polymorphisme de conformation de l'ADN simple brin



Séquençage

Alignement des bases


R: AAAGC TCTACGCCTT A
R: AAAGC TCTACGCCTT AA

▼

Introduction | Matériel | Méthodes et Résultats | Conclusion | Perspectives

Etude du fragment MITOCHONDRIAL 16S

Par RFLP :



Identification de 2 haplotypes d'huîtres parmi les 15 populations étudiées :

- 4 populations de type *C. rhizophorae* toutes Sud Américaines
- 11 populations de type *C. gasar*
- 8 populations africaines et 3 sud Américaines


Ex: Digestion par l'enzyme *TaqI*

▼

Introduction | Matériel | Méthodes et Résultats | Conclusion | Perspectives

Etude du fragment MITOCHONDRIAL 16S

Par SSCP :



A A A A A B A B B


A haplotype *C.gasar*
B haplotype *C.rhizophorae*

Confirmation des résultats de RFLP par la présence de 2 types d'huîtres différents

Introduction Matériel Méthodes et Résultats Conclusion Perspectives

Etude du fragment MITOCHONDRIAL 16S

Par Séquençage:
seulement 2 séquences différentes ont été obtenues et attribuées à 2 types différents



Type A *C.gasar*
Type B *C.rhizophorae*

Type A: AAAGCATCTACGCCTTGAAGCTATAAT
Type B: AAAGCTTCTACGCCTTAAAGCTATAAT

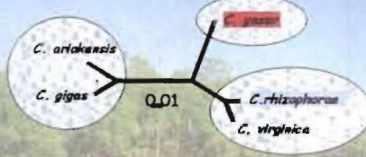
Confirmation des résultats obtenus en RFLP et SSCP

A C G T A C G T
Type A Type B

Introduction Matériel Méthodes et Résultats Conclusion Perspectives

Comparaison des séquences du fragment 16s d'individus des populations étudiées avec les séquences publiées d'autres espèces du genre *Crassostrea*


Arbre phylogénétique



Indication d'une position intermédiaire de *C.gasar* entre le groupe *C. gigas*-*C. ariakensis* et le groupe *C. virginica*-*C. rhizophorae*

Introduction Matériel Méthodes et Résultats Conclusion Perspectives

Etude des caryotypes de 2 populations d'huîtres provenant du Sénégal et de Guyane Française



Les 2 caryotypes sont très similaires
Effectif de 2n=20 chromosomes comportant 6 paires métacentriques et 4 paires submetacentriques

Caryotypes différents de ceux obtenus par différents auteurs sur *C.rhizophorae*

Introduction Matériel Méthodes et Résultats Conclusion Perspectives

Localisation des Populations et types génétiques associés



Introduction Matériel Méthodes et Résultats Conclusion Perspectives

- Détermination de 2 types d'huîtres parmi les 15 populations étudiées qui correspondraient aux espèces *C.gasar* et *C.rhizophorae*
- Présence des 2 espèces en Amérique du Sud et surtout première description génétique de la présence de *C.gasar*
Présence naturelle ?
ou introduction artificielle ?
- Présence des 2 espèces en sympatrie au Brésil
2 espèces différentes ?

Introduction Matériel Méthodes et Résultats Conclusions Perspectives

- Etendre l'échantillonnage à toute la côte atlantique de l'Amérique du Sud :
Déterminer l'aire de répartition des 2 espèces et celles d'éventuelles autres espèces
- Réaliser des croisements expérimentaux entre les 2 espèces vivant en sympatrie au Brésil :
Estimer l'isolement reproductif
- Utiliser d'autres marqueurs moléculaires :
*Etudier le polymorphisme intra-spécifique au sein des populations de type *C. gasar* de part et d'autre de l'Atlantique*
Confirmer les résultats obtenus avec le marqueur 16S en inter-spécifique

Introduction | Matériel | Méthodes et Résultats | Conclusion | Perspectives

