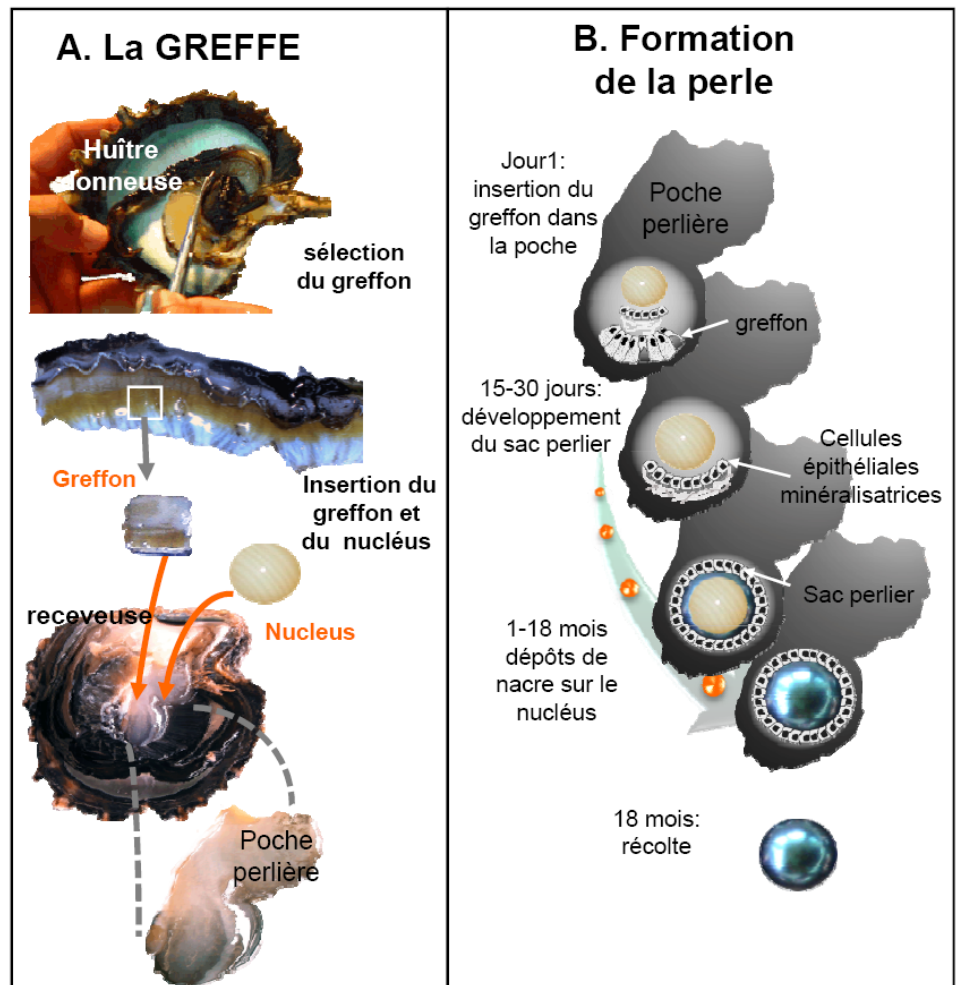


Département Lagons, Ecosystèmes et  
Aquaculture Durable en Polynésie  
française  
Rapport d'activités 2009



## Diffusion

### CONFIDENTIEL - USAGE INTERNE

	Exemplaires
- PDG, J.Y. Perrot	1
- DP2S, M. Héral	1
- DP2S-Adj, M-H Tusseau-Vuillemin	1
- DOP, B. Barnouin	1
- CST, J.L. Devenon	1
- DPCP-PG07, J.P. Baud	1
- DGOM, P. Lemercier	1
- DCOM, P. Pessey-Martineau	1
- Département BIOMAR, P. Durand	1
- Département AGSAE, T. Renault	1
- Département Economie Maritime	1
- Département PFOM, C. Cahu	1
- Département LEAD NC, L. Loubersac	1
- Département BOME, Evelyne bachère	1
Département des Laboratoires Côtiers Environnement Littoral et Ressources aquacoles (LER)	1
- Laboratoire Environnement Ressources de Normandie	1
- Laboratoire Environnement Ressources d'Arcachon	1
- Laboratoire Environnement Ressources de Boulogne-sur-Mer	1
- Laboratoire Environnement Ressources des Pertuis Charentais	1
- Laboratoire Environnement Ressources Finistère-Bretagne Nord	1
- Laboratoire Environnement Ressources Languedoc Roussillon	1
- Laboratoire Environnement Ressources Morbihan-Pays de Loire	1
- Laboratoire Environnement Ressources Provence-Azur-Corse	1
- Laboratoire d'Aquaculture Languedoc-Roussillon (LALR)	1
- Délégation Ifremer à la Réunion	1
- Délégation Ifremer en Martinique	1
IFREMER/Tahiti	
- D/CP	1
- C/LEAD	1
- Département LEAD PF	7
- Bibliothèque COP	2

## Sommaire

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>5</b>
PRESENTATION DE L'UNITE .....	5
<i>Implication du département LEAD/PF dans les programmes et projets de la DPCP .....</i>	6
<i>Rappel du mandat des différentes unités.....</i>	6
BILAN ET FAITS MARQUANTS DE L'ANNEE.....	7
<i>Evolution des programmes scientifiques.....</i>	7
<i>Politique régionale.....</i>	10
<b>MOYENS ET EFFECTIFS .....</b>	<b>12</b>
PERSONNELS STATUTAIRES AFFECTES AU DEPARTEMENT.....	12
MOUVEMENTS DE PERSONNEL .....	13
FORMATIONS REÇUES.....	13
<b>CREDITS AFFECTES AU DEPARTEMENT.....</b>	<b>14</b>
PGC07 : AQUACULTURE DURABLE .....	14
RECETTES .....	14
INFRASTRUCTURES - ÉQUIPEMENTS .....	15
<i>Missions en France, DOM-TOM et Étranger .....</i>	16
<i>Visites .....</i>	17
<b>OBJECTIFS ET RESULTATS 2009.....</b>	<b>19</b>
PROJET HUITRE PERLIERE - DOMESTICATION DE L'HUITRE PERLIERE (A070702) .....	19
<i>Introduction.....</i>	19
<i>A - Production de microalgues.....</i>	19
<i>B - Maîtrise de la reproduction.....</i>	23
<i>C - Amélioration génétique de l'huître donneuse de greffon .....</i>	27
<i>D - Ecophysiologie de la croissance coquillière et de la perle.....</i>	31
PROJET DEVELOPPEMENT DE LA PERLICULTURE «AMELIORATION DE LA QUALITE DE LA PERLE» (A070703) .....	34
<i>Optimisation de la greffe.....</i>	34
<i>Analyse fonctionnelle du sac perlier : analyse des bases moléculaires de la formation des perles -     biominéralisation et biomarqueurs de qualité .....</i>	37
<i>Analyse globale du transcriptome du greffon et du sac perlier .....</i>	38
<i>GDR ADEQUA.....</i>	47
OPTIMISATION DE LA COLLECTE DE NAISSAIN ET GESTION DES LAGONS (A070705) .....	50
<i>Reconnaissance spécifique des larves de l'huître perlière.....</i>	50
<i>Hétérogénéité environnementale.....</i>	52
<i>Distribution larvaire et recrutement .....</i>	54
<i>Ecophysiologie et modèle de croissance .....</i>	55
<i>Transport et dispersion larvaires .....</i>	56
PROJET DDPMOM «POISSONS LAGONAIRES» (A070909).....	58
<i>Objectifs et résultats.....</i>	58
SURVEILLANCE CREVETTICULTURE EN POLYNESIE (A070807).....	64
<b>PERSPECTIVES 2010.....</b>	<b>69</b>
<b>PUBLICATIONS 2009.....</b>	<b>72</b>
ARTICLES DANS REVUE A COMITE DE LECTURE .....	72
ARTICLES DANS REVUE SANS COMITE DE LECTURE .....	72
COMMUNICATIONS POUR COLLOQUE OU GROUPE DE TRAVAIL.....	72
ARTICLES DE VULGARISATION .....	75

RAPPORT FINAUX DE CONTRAT (CEE, FAO, CONVENTION).....	76
AUTRES TYPES DE RAPPORTS .....	76
MEMOIRES D'ETUDIANTS (INA-PG, DEA, ISPA, IUT, MAITRISE, INGENIEURS).....	77
<b>INDICATEURS DE PRODUCTION 2009 .....</b>	<b>78</b>

## Introduction

### PRESENTATION DE L'UNITE

Afin de mieux refléter la nature et l'évolution des travaux réalisés par Ifremer en Polynésie française, le département anciennement appelé Aquapoly, se dénomme depuis 2009 « Lagon, Ecosystèmes et Aquaculture Durable en Polynésie française ». L'organisation du département LEAD/PF comprend les trois unités suivantes : le Laboratoire Domestication de l'Huître perlière (LDHP), le Laboratoire Biotechnologie et Qualité de la perle (LBQP) et l'équipe Assistance Technique - Transfert, équipe qui a vocation à se transformer en service à part entière. Des équipes extérieures du ministère polynésien des ressources maritimes contribuent directement à nos travaux et sont hébergées dans nos locaux. Elles sont sous la responsabilité scientifique du département. La structure du département évoluera en tant que de besoin, en fonction du développement de nouvelles compétences. L'organigramme suivant est mis à jour pour 2009.

### Organigramme 2009 du Centre Océanologique du Pacifique



Les équipes des services du ministère polynésien des ressources maritimes sont composées d'un ingénieur en pathologie du Service de la pêche (SPE), d'un technicien du Service de la Perliculture (PRL) intégré au LBQP, de deux techniciens crevetticulture, et enfin de trois techniciens et deux cadres du SPE renforcés par deux CVD (équivalent des VAT), qui travaillent avec Eric Gasset, cadre Ifremer sur la pisciculture marine.

## Implication du département LEAD/PF dans les programmes et projets de la DPCP

Le département LEAD/PF met des moyens à disposition des programmes, projets et actions suivants :

### PG 05 Surveillance du milieu marin

PJ0503 surveillance de la contamination chimique

A050302E.2 Surveillance des polluants chimiques dans les eaux lagunaires de Polynésie française

### PG 07 Aquaculture durable

PJ0701 Observation analyse et prévision des performances conchylicoles

A070102A Veille zoosanitaire des huîtres perlières

PJ0706 Approche écosystémique

A070604 Etudes territorialisées

PJ0707 Développement durable de l'huître perlière

A070701 Animation

A070702 Domestication de l'huître perlière

A070703 Amélioration de la qualité des perles (3 sous-actions)

A070704 Animation du GDR ADEQUA

A070705 Optimisation de la collecte de naissain et gestion des lagons

PJ0709 Développement durable de la crevetticulture

A070807 Surveillance de la crevetticulture en Polynésie française

PJ0709 Développement durable de la pisciculture marine d'outre-mer

A070903A Abattage et conditionnement du Platax

A070908A Poissons lagunaires Polynésie

## Rappel du mandat des différentes unités

### Laboratoire Domestication de l'Huître perlière

Le laboratoire Domestication de l'huître perlière a deux grands objectifs :

Maîtriser la reproduction artificielle de l'huître perlière pour envisager une sélection génétique visant à améliorer la qualité des perles selon deux critères de sélection choisis : couleur et vitesse de croissance des perles. Ce travail inclut la vérification de l'intérêt d'utiliser des huîtres triploïdes comme receveuses de nucleus et de greffon pour améliorer la qualité des perles.

Analyser et comprendre les mécanismes du développement et de la dispersion des larves de *Pinctada margaritifera* dans les lagons perlicoles dans le but de rationaliser la collecte de naissain.

Ces actions font partie du programme fédérateur Perliculture Durable (PERDUR) dont le chef de laboratoire est coordinateur scientifique et du programme Pérennisation de la perliculture (FED) coordonné par A. Loyat du Service de la Perliculture de Polynésie française et qui a bénéficié d'un partenariat scientifique de la part de l'UPF et l'IRD.

### **Laboratoire Biotechnologie et Qualité de la perle**

La mission principale du laboratoire est de contribuer au développement des recherches sur l'optimisation de la greffe des huîtres perlières, l'étude des processus de minéralisation de la perle greffée et l'amélioration de la qualité de la perle.

Il a aussi pour mission d'apporter son soutien au Service de la Perliculture pour le réseau de veille zoosanitaire des huîtres perlières et un soutien au Service de la Pêche dans le domaine de la prophylaxie des différentes étapes d'élevage des poissons lagunaires et leurs pathologies.

Le chef de laboratoire a aussi pour mandat d'assurer la coordination scientifique du Groupe de Recherche sur l'Amélioration de la Qualité de la Perle ADEQUA.

### **Equipe assistance technique et transfert**

Le mandat global de cette équipe est d'accompagner le développement de la filière crevette et de créer une nouvelle activité en pisciculture de poissons lagunaires. Plus particulièrement, l'équipe Assistance technique et transfert assure le maintien de la souche polynésienne de *Penaeus stylirostris*, et prépare son transfert au futur Centre Technique Aquacole (CTA) de la Polynésie française. Elle développe des travaux portant sur l'aquaculture de crevettes en cages et sur l'élevage de géniteurs en floc bactériens. En matière de poissons lagunaires, l'équipe poissons, qui comprend un cadre IFREMER et des personnels du Service de la pêche et de l'Aquaculture, conduit des travaux sur la maîtrise du cycle biologique du Platax, et met au point les différentes phases d'élevage de cette espèce, avant transfert des techniques au CTA.

## **BILAN ET FAITS MARQUANTS DE L'ANNEE**

### **Evolution des programmes scientifiques**

#### **Perliculture**

En matière de domestication, on peut considérer que le cycle biologique a été maîtrisé, avec la production d'une trentaine de familles d'huîtres perlières. Bien que des difficultés subsistent, liées notamment à l'obtention problématique d'individus femelles matures, la reproduction de l'espèce est maintenant mieux connue, au point de pouvoir envisager d'atteindre prochainement l'objectif de production de 50 familles de pleins frères et sœurs. La possibilité de définir un programme de sélection sur certains caractères d'intérêt pour la perliculture se précise donc.

Concernant l'amélioration de la qualité des perles, une étude portant sur la comparaison des performances des nucléus commercialisés en Polynésie française a été conduite sur la base de greffes expérimentales. Les résultats obtenus montrent, entre autres, qu'il n'y a pas de différence significative entre les nucléi testés concernant les taux de maintien, rejet et mortalité, le poids et l'épaisseur de nacre des perles. Par contre, une différence significative entre les nucléi a été observée pour la qualité des perles (classification A, B, C, D ou rebut), pour la forme des perles, et pour la présence et le nombre de défauts à la surface des perles.

Des travaux ont été entrepris pour caractériser des gènes codant des protéines clés, marqueurs de la minéralisation chez *P. margaritifera*. Ce travail de caractère fondamental a pour objectif d'identifier des biomarqueurs permettant d'assister la sélection de certains paramètres liés à la biominéralisation. Différentes approches ont été développées pour identifier des marqueurs moléculaires de minéralisation, des approches dites « gènes candidats », « transcriptomique globale », et « protéomique ». Ces travaux ont permis pour la première fois de mettre en lumière les bases moléculaires de la formation des perles. L'approche SAGE a permis de mettre en évidence des gènes différentiellement exprimés au sein des tissus minéralisateurs.

## **Groupement de Recherche sur l'Amélioration de la Qualité de la Perle (GDR ADEQUA)**

### **Action 1 : Influence des facteurs externes sur la qualité des perles**

Les travaux réalisés dans le cadre de la convention n° 7.0007- MP/PRL ont montré que la hauteur de découpe des greffons influence les caractéristiques des perles (épaisseur de nacre, forme, qualité, diminution de certains défauts). Il est cependant important de rappeler que ces données sont issues à l'aide d'un échantillonnage restreint de perles. Dans ce contexte, une greffe expérimentale « Hauteur de découpe#2 » sera réalisée dès juin 2010 afin de confirmer les résultats obtenus et d'affiner la hauteur de découpe des greffons.

### **Action 3-1 : Développement de biomarqueurs de minéralisation**

A partir du séquençage de 276 735 ESTs, l'approche SAGE a finalement permis de sélectionner 118 marqueurs candidats. La finalisation de la caractérisation des isoformes de Pmarg-Nacrein, comme la caractérisation de Pmarg-Apsein, ainsi que l'étude de leur implication dans la formation et la qualité des perles est en cours. De plus, des analyses protéomiques ayant pour objectif de caractériser les protéines sécrétées par les cellules du greffon et du sac perlier ainsi que les protéines de la couche nacrée des coquilles et des perles ont apporté des premiers résultats innovants. Des expériences complémentaires de protéomique sur les extraits de perles devront confirmer les premiers résultats obtenus à savoir, des différences notables, pour ce qui est de la composition protéique, entre matrices de perles nacrées et matrices de nacre. L'ensemble de ces travaux ouvrent de nombreuses perspectives vers une meilleure compréhension du fonctionnement des tissus responsables de la minéralisation.

## **Crevetticulture**

L'action crevetticulture est rattachée depuis 2008 au projet DEDUCTION de Nouvelle-Calédonie. Ce rattachement a permis la reprise de contacts scientifiques réels entre les équipes Ifremer des différents sites et des contacts plus officiels avec les acteurs de la filière calédonienne. Des essais devraient être menés dès 2010 entre les deux sites du COP et de la Station d'Aquaculture de Saint-Vincent (Nouvelle-Calédonie) pour analyser la qualité des reproducteurs élevés en floc dans les conditions calédoniennes.

### Techniques d'élevage des crevettes en cages

Les résultats en 2009 ont permis de constater l'occurrence de pics de mortalité dans les élevages. Cependant, en absence d'ouverture de poste CVD en septembre 2009, les essais ont été arrêtés faute de personnel suffisant. La convention avec le Pays était aussi en attente de signature, la convention précédente s'étant terminée en avril 2009, et la suivante n'ayant pas été encore signée fin 2009. Ces essais devraient reprendre début 2010, un poste CVD devant être ouvert, et la convention étant prête à être signée.



### Analyses de pathogènes à déclaration obligatoire à l'OIE

Le rapport définitif des analyses 2008, est en cours de rédaction. Les échantillons d'analyse 2009 ont été envoyés en fin d'année au laboratoire du Docteur Lightner pour confirmation des résultats 2008, et classement de la souche locale dans les très rares souches reconnues SPF au niveau mondial.

### Assistance technique

L'année 2009 a été dans le prolongement de l'année précédente au niveau zootechnie crevettes : le suivi des fermes a été maintenu voire amplifié, en poursuivant les objectifs de fiabilisation des productions, de diminution des coûts de production.. Dans un premier temps, dans le cadre des possibilités d'actions de recherche communes NC/PF, des discussions ont été engagées sur la technique de gestion des reproducteurs notamment sur le système floc.

Le soutien au fonctionnement de l'écloserie actuelle de production de larves de crevettes, sise à Taravao, s'est poursuivi. Cependant, la société Aquapac a annoncé sa volonté d'arrêter l'affermage de l'écloserie au terme du contrat actuel en février 2010. Une structuration type coopérative des producteurs aquacoles pourrait voir le jour début 2010.

L'IFREMER a poursuivi son implication aux côtés des Services du Pays et du Ministère dans la démarche de mise en place du futur Centre Technique Aquacole de Vairao (VAIA). L'évolution du dossier est lente, en raison des changements multiples d'équipes ministérielles locales. Heureusement, l'Etat, dans le cadre de la crise et des aides au Pays, a décidé son implication à hauteur de 250 millions xpf au niveau de l'investissement. Les travaux devraient commencer réellement courant premier trimestre 2010.

### **Aquaculture des poissons lagunaires**

Le résultat le plus parlant est l'amélioration significative des performances de croissance. En effet, grâce à un gain de 20%, un poids de 1 kg est obtenu en un an, ce qui permet de préjuger d'une rentabilité satisfaisante des fermes désirant s'installer. Mais l'ensemble des séquences du cycle ont fait l'objet d'améliorations, que ce soit au niveau du conditionnement synchrone des géniteurs, de la fiabilisation des performances de croissance et de survie en élevages larvaires, ou de la lutte contre les parasites.

### **Manifestations scientifiques**

#### Eleventh Pacific Science Intercongress.

Ce congrès international qui s'est tenu à Papeete, du 2 au 6 mars 2009, a regroupé les travaux effectués au sein du Pacifique dans différentes disciplines. Plusieurs scientifiques du département ont présenté les résultats de leur recherche :

Yoann Thomas : Modélisation de la croissance et de la dispersion des larves d'huîtres perlières en lagon polynésien ;

Jonathan Fournier : Déterminisme environnemental de la croissance et de la reproduction d'huîtres perlière ;

Clémentine Linard : Ecophysiologie de la croissance coquillière de l'huître perlière, application à la croissance de la perle ;

Caroline Joubert : Amélioration de la qualité de la perle chez *Pinctada margaritifera* de Polynésie française : identification de gènes de la minéralisation et développement de biomarqueurs appliqués à la sélection d'huîtres donneuses de greffons ;

Jean Goguenheim et co-auteurs : poster général sur l'aquaculture polynésienne, regroupant deux présentations relatives à l'aquaculture polynésienne et au diagnostic des pathologies en aquaculture.

### Journées de la Pêche et de l'Aquaculture 2009

Ces journées, reprises après de longues années d'arrêt par le Ministère de la Pêche et de l'Aquaculture, se sont déroulées au port de pêche de Fare-Ute du 11 au 14 février 2009. Le SPE et l'Ifremer ont monté un stand commun affirmant leur partenariat étroit en matière d'aquaculture, en présentant des aquariums, des posters et des brochures avec recettes à disposition des visiteurs.

## **Politique régionale**

### **Relations avec l'Etat**

Le département est en contact avec plusieurs services de l'Etat tels que l'ADEME, avec laquelle une convention a été passée sur les énergies marines renouvelables, l'agence des Aires marines protégées ou le SHOM (projet d'installation d'un marégraphe sur le site de Vairao). Par ailleurs les relations avec le haut-commissariat sont très développées, (le DRRT, les administrateurs et les services fonctionnels). Plusieurs visites ou inaugurations ont été organisées sur le centre en 2009, et des agents Ifremer ont pu bénéficier de formations organisées par le haut-commissariat.

### **Relations avec le Pays**

Notre principal partenaire est le ministère des ressources maritimes et deux de ses services, le Service de la Pêche et de l'aquaculture, et le Service de la Perliculture. De nombreuses conventions sont passées avec ces services, permettant le financement de nos recherches, l'accueil de personnels, les modalités de transfert de connaissances, la valorisation des résultats, l'assistance technique aux filières aquacoles. Les contacts sont également nombreux avec la délégation polynésienne à la recherche et à la technologie, qui contribue à nos financements, et à la recherche de ceux-ci.

### **Relations IFREMER - UPF**

Dans le domaine de la perliculture, le renforcement des relations avec l'Université de Polynésie française se poursuit. L'Ifremer accueille et co-encadre quatre doctorants. L'Ifremer participe à la mise en place de l'Ecole doctorale UPF-UNC. Cette coopération très active a été mise en place de manière informelle en fonction des possibilités de financement des projets et de la disponibilité des équipes. Par ailleurs, une HDR d'un agent Ifremer (Gilles Le Moullac) a été soutenue auprès de l'UPF.

### **UMR EIO**

Dans le courant de l'année 2009, de nombreuses réunions se sont tenues entre les quatre partenaires suivants, qui regroupent l'essentiel des capacités de recherche en Polynésie française : l'Ifremer, l'IRD, l'institut Louis Malardé (institut polynésien), et l'université de Polynésie Française, dans le but de préparer un projet d'unité mixte de recherche fédérant les équipes qui souhaitent s'associer à ce projet. Le CRILOBE étant déjà membre d'une UMR, n'est pas concerné par cette démarche. Le travail de réflexion entamé a permis de dégager deux grands axes. L'un est centré sur l'approche systémique de la perliculture dans les lagons polynésiens, cette perliculture demeurant la deuxième activité à l'exportation dans un contexte de crise de production. L'autre axe porte sur la caractérisation des ressources naturelles, tant terrestres que marines, qui sont susceptibles de donner lieu à

valorisation, dans des îles à fort endémisme. D'autres équipes devraient venir enrichir de manière transverse, les deux thématiques principales. Un projet devrait être déposé à l'automne 2010 auprès de l'AERES, pour évaluation.

## **GOPS**

Le projet de grand observatoire du Pacifique Sud a pris corps. Il consiste à regrouper les activités d'observation du milieu naturel existant dans le Pacifique Sud, sur les PTOM dans un premier temps, et à proposer des stratégies de valorisation de ces données à différents niveaux. Un séminaire de définition a eu lieu en octobre 2009 en Nouvelle-Calédonie. Le Département LEAD PF sera amené à s'impliquer de façon croissante dans le GOPS au cours des années à venir.

## Moyens et effectifs

### PERSONNELS STATUTAIRES AFFECTES AU DEPARTEMENT

NOM et Prénom	Qualification	Projet
BELLIARD Corinne	G4	A070703-A070703A-A070908
BERNARDINO René	G5	A070807
BODOY Alain	Cadre IIA	Chef du Département AQUAPOLY
BUESTEL Dominique	Cadre III	Chef du Département AQUAPOLY
COCHARD Jean-Claude	Cadre III	A070702, Chef du Département AQUAPOLY (intérim)
CUZON Gérard	Cadre IIB	A070807
DUFOUR Robert	G6	A070807
GAREN Pierre	Cadre IIB	A070705
GASSET Eric	C1	A070908
GOGUENHEIM Jean	Cadre IIB	A070807
GUEGUEN Yannick	Cadre IIA	A070701- A070703A
HUI Bélanda	Cadre I	A070702
LEHARTEL Mathilde	G5	Secrétariat AQUAPOLY
LE MOULLAC Gilles	Cadre IIA	A070702
LEVY Peva	G5	A070703-A070703A-A070908
MAIHOTA Mayalen	G5	A070702
MONTAGNANI Caroline	Cadre I	A070703-A070703B
MORICEAU Jacques	G7	A070702
MATEHAU Ariiora	G4	A070702
SOYEZ Claude	G6	A070702
TAQUET Marc	Cadre III	Chef du Département AQUAPOLY
TEISSIER Hinano	G5	A070702
TEMATAUA Miriama	G5	Documentaliste
TETUMU Roger	G4	A070702
TIAPARI Jérôme	G6	A070702
VANAA Vincent	G5	A070702
VONAU Vincent	G5	A070702

#### CDD

- J. LEGRAND-MORICEAU : 17/08/09 au 20/06/10

## MOUVEMENTS DE PERSONNEL

Arrivées		Départs	
Nom	Projet	Nom	Projet
A. BODOY	Chef LEAD PF	D. BUESTEL	Chef AQUAPOLY
R. DUFOUR	A070807	J.C. COCHARD	A070702, Chef AQUAPOLY (intérim)
M. TAQUET	Chef AQUAPOLY	B. HUI	A070702
		A. MATEHAU	A070702

## FORMATIONS REÇUES

- CUZON Gérard                      Espagnol (Perfectionnement)
- Groupe de personnes              Statistiques

### Stages

- COURAUDON-REALE Marine (UFP - PPT) : 19/04/09 au 13/06/09
- FERNANDEZ Emilie (Université - Montpellier) : 19/03/09 au 12/06/09
- JOHNSTON Hereroa (Lycée Jules Ferry) : 02/06/09 au 10/07/09
- LEFORT Moana (Université de Pau) : 01/03/09 au 31/05/09
- MANON Cartier (ISTOM) : 08/07/09 au 08/10/09
- PETIT Aurélie (UPF - PPT) : 23/11/09 au 19/12/09
- RAOUX Aurore (Université de la Méditerranée) : 19/05/09 au 19/08/09
- THUILLIER Lucien (INTECHMER) : 09/03/09 au 12/06/09
- VIGNOT Juliette (UPF - PPT) : 06/04/09 au 19/06/09

## Crédits affectés au Département

### PGC07 : AQUACULTURE DURABLE

Budget Investissement	Intitulé	Dotation (€)
Huître perlière	Petits équipements	62 700
Crevette	Petits équipements	2 250
Poisson	Petits équipements	1 040
	<b>Total Investissement</b>	<b>65 990</b>
Budget Fonctionnement	Intitulé	Dotation (€)
Huître perlière	Achats	83 825
	Autres	42 050
	Missions	40 225
Crevette	Achats	16 350
	Autres	550
	Missions	5 600
Poisson	Achats	10 500
	Autres	3.700
	Missions	10.950
	<b>Total Fonctionnement</b>	<b>213 750</b>

### RECETTES

Libellé du Contrat	Contractant	N° Analytique	Montant (FCP/€)	Responsable du projet
PERDUR	ANR	A070701	502 387 4 210	Y. Gueguen
Etude des propriétés de nucléi Phase II	Service de la Perliculture	A070703	720 000 6 034	Y. Gueguen
Amélioration de la qualité de la perle	Service de la Perliculture	A070703	488 175 4 090	Y. Gueguen
Amélioration de la qualité de la perle	Service de la Perliculture	A070703	10.739.857 90 000	Y. Gueguen
Trident	Ministère de l'Outre-Mer	A070905	1.073.986 9 000	Y. Gueguen
Modélisation de la croissance et dispersion des larves d'huître perlière	Service de la Perliculture	A070705	1 296 840 10 868	P. Garen

Libellé du Contrat	Contractant	N° Analytique	Montant (FCP/€)	Responsable du projet
Pérennisation de la perliculture	FED	A070702	800 000 6 704	G. Le Moullac
Maîtrise technique de la production des poissons lagunaires	Service de la Pêche	A070908	9.000 000 75 420	E. Gasset
Prophylaxie des poissons lagunaires	Service de la Pêche	A070908	1 050 000 8 799	E. Gasset
Protocole d'abattage et conditionnement du Paraha peue	Service de la Pêche	A070908	960 000 8 045	E. Gasset
Vente de poissons		A070908	322 500 2 703	E. Gasset
Assistance technique crevette	Service de la Pêche	A070807	2.000 000 16 760	J. Goguenheim
Vente de crevettes		A070807	984 000 8 246	J. Goguenheim
<b>TOTAL FCP</b>			<b>29 937 745</b>	
<b>TOTAL €:</b>			<b>250 879</b>	

**Taux de couverture des dépenses de recherche (recettes/budgets) 89.7 %**

## INFRASTRUCTURES - ÉQUIPEMENTS

Surface du COP :	54 000 m2
Bâtiments techniques, laboratoires et bureaux	10
Surface des bureaux :	1 380 m2
Surface des laboratoires :	2 360 m2
Surface logistique tous services :	1 020 m2
Surface annexe :	1 390 m2
Bassins	
11 Bassins terre :	6 000 m2
19 Bassins scobalite :	400 m2
Réseaux	
Eau de mer	2 800 m3
Eau douce	2 000 m3
Air surpressé	1 000 m3
Alimentation électrique	
2 groupes électrogène puissance totale	600 KVA
Stations de pompage	
Station de pompage N°1 Trois pompes 350 m3/h	45 KW
Station de pompage N°2 Une pompe 30 m3/h	09 KW
Station air surpressé Trois surpresseurs	7 500 m3/h

## Activités diverses

### Missions en France, DOM-TOM et Étranger

#### Janvier

- C. BELLARD et C. JOUBERT : prélèvements d'échantillons (manteaux, poches) dans le cadre du projet ADEQUA 2 à Rangiroa.
- P. LEVY : récolte des perles de la manip nucleus à Rikitea.
- J. FOURNIER : suivi de la reproduction et de la croissance de l'huître perlière et des ressources planctoniques à Ahe.

#### Février

- P. LEVY : récolte des perles de la manip nucleus à Ahe.
- J.C. COCHARD, B. HUI et C. SOYEZ : collectage des perles sur expériences triploïdes à Rangiroa.
- C. JOUBERT et J. LE GRAND : prélèvements d'échantillons (manteaux, poches) dans le cadre du projet ADEQUA 2 à Rangiroa.

#### Mars

- J. MORICEAU : greffe expérimentale de familles d'huîtres perlières à Takapoto.

#### Avril

- G. CUZON : participation à la World Aquaculture Society à Vécruz - Mexique.
- G. LE MOULLAC - C. SOYEZ : récolte des perles de la 2<sup>ème</sup> greffe triploïdes à Rangiroa.

#### Mai

- P. GAREN : participation à comité de thèse de Y. THOMAS à Brest. Contacts avec B.ANDRAL, responsable de l'action à Toulon et D. CLAISSE, chef du projet «Contaminants» à Nantes.
- B. HUI, C. SOYEZ et V. VONAU : tests de fécondation cryoconservation à Rangiroa.
- C. JOUBERT, J. LE GRAND et E. FERNANDEZ-ORTEGA : prélèvements d'échantillons (manteaux, poches) dans le cadre du projet ADEQUA 2 à Rangiroa.

#### Juin

- Y. GUEGUEN : bureau exécutif du programme P7 à Nantes - France.
- J. GOGUENHEIM : participation à la réunion avec la filière crevette sur les géniteurs en floc en Nouvelle-Calédonie.
- J. FOURNIER : suivi de la croissance de l'huître perlière à Takaroa.

#### Juillet

- C. SOYEZ et C. HERBINGER : récolte des perles et héritabilité des couleurs (génétique) aux Gambiers.

#### Août

- Y. GUEGUEN : participation à la réunion GDRI « biodiversité des récifs coralliens » à Monaco.
- J. GOGUENHEIM : contacts avec C. VILLARD, responsable du budget crevetticulture, Université de Montpellier et CREUFOP pour la programmation des stagiaires 2010 en France.

#### Septembre

- G. LE MOULLAC : contacts avec les généticiens des centres Ifremer Brest et la Tremblade.



## **Octobre**

- E. GASSET : participation au projet commun inter DOM-COM en Martinique.
- J. FOURNIER : suivi de la croissance de l'huître perlière à Ahe et à Takaroa.

## **Novembre**

- E. GASSET : participation au séminaire «Domestication des poissons» à Montpellier.
- G. CUZON : évaluation de la faisabilité de l'aliment crevette en Polynésie française en liaison avec les spécialistes métropolitains.
- Y. GUEGUEN, C. JOUBERT, J. LE GRAND, C. MONTAGNANI : prélèvements d'échantillons (manteaux, poches) pour le projet ADEQUA 2 à Rangiroa.
- J. GOGUENHEIM : contacts avec la filière crevetticole de Nouvelle-Calédonie (SASV, ferme EORI, ERPA, Provinces Sud) en Nouvelle-Calédonie.
- J. GOGUENHEIM : contacts avec l'Université de Montpellier et CREUPOP pour décision stagiaires 2010 en France.
- P. LEVY : contacts avec les parasitologues du CRIOBE - Moorea.

## **Décembre**

- P. GAREN : participation au jury de thèse de Y. THOMAS à Brest.

## **Visites**

### **Janvier**

- T. ALPHA, Ministre de l'Education, de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, en charge des transports terrestres.
- M. LE PENNEC, professeur à l'Université de Polynésie française.

### **Février**

- M. STEPHAN, représentant de Madame le Ministre de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche en France.

### **Mars**

- Représentants de l'Ambassade de Nouvelle-Zélande et de l'Institut Cawthron.
- Chercheurs coréens.
- Directeurs des instituts de recherche en France.
- N. DAVIES, Directeur du GUMP et S. PLANE, chercheur du CRIOBE.

### **Avril**

- S. YEN KAI SUN, chef du Service de la Pêche.
- Stagiaires d'Api formation (SEFI).

### **Juin**

- Perliculteurs de Ahe, Gambiers et Faite.

### **Juillet**

- T. ROFRITSCH, Ministre des Ressources de la Mer.
- B. LUCIDOR, de l'ADEME.

### **Septembre**

- M. COLSON, représentant d'un cabinet d'audit privé pour le programme FED.
- N. METZLER, Chef de la Subdivision maritime et aéroports de la Direction de l'Equipement.

### **Octobre**

- M. BERTHON, secrétaire général adjoint du Haut-Commissariat en Polynésie française.

**Novembre**

- D. ROJAT, ingénieur de l'AFD en France et P. PERIE, chargé de mission à Papeete.
- J.F. TALLEC, Secrétaire Général de la mer, Gouvernement français.
- Madame A. BUZIN, présidente de l'IRSN, accompagnée de D. CHOMPON, Directeur de l'Environnement, J.M. PEREZ, Chef du Service Sesure et de N. CHAPTAL-GRADOZ, adjointe au Chef du Service Sesure.
- P. LEMERCIER, DGOM Ifremer, représentant le PDG.

**Décembre**

- P. SASAL, du CRIOBE, accompagné de R. ADLARD (Queensland museum), H. PALM (University of Dusseldorf), et T. CRIBB (University of Queensland).

## Objectifs et résultats 2009

### PROJET HUITRE PERLIERE - DOMESTICATION DE L'HUITRE PERLIERE (A070702)

#### Introduction

L'objectif principal de l'action «Domestication de l'huître perlière» est de créer les conditions nécessaires à la mise en oeuvre d'un programme de sélection d'huîtres perlières donneuses de greffon pour l'industrie perlière.

Il s'agit principalement :

- de mettre au point les techniques d'élevage en éclosérie adaptées à la production des familles qui constitueront le stock fondateur de ce futur programme ;
- de se donner les moyens de contrôler les croisements au moyen de la cryopréservation des spermatozoïdes et du conditionnement des reproducteurs ;
- de démontrer l'héritabilité des caractères phénotypiques sur lesquels portera cette sélection (couleur et croissance de la perle dans un premier temps).

En 2009, les travaux menés en Domestication ont eu pour objectifs :

- d'accroître la maîtrise de la reproduction :
  - par la mise au point du processus de cryoconservation des spermatozoïdes ;
  - par l'amélioration de la zootechnie larvaire ;
  - par la mise au point du processus complet d'élevage de l'huître perlière ;
  - en analysant *in situ* l'impact de la température et du niveau trophique sur le comportement nutritionnel, la gamétogenèse et l'effort de reproduction.
- de mettre en place les conditions de l'amélioration génétique de l'huître perlière :
  - en élargissant la base du stock fondateur pour la sélection génétique pour atteindre les 50 familles ;
  - en analysant la croissance des familles ;
  - en engageant les travaux sur l'évaluation des bases génétiques de la couleur et de la croissance de la perle en collaboration avec Christophe Herbingier (Université de Dalhousie).
- de poser les bases de l'écophysiologie de la croissance coquillière et de la qualité de la perle.

Deux thèses ayant débuté en 2008 se poursuivent :

- l'une portant sur le déterminisme environnemental de la croissance et de la reproduction par Jonathan Fournier. Ce travail, financé par le 9ème FED et coordonné par l'UPF, consiste à analyser quantitativement les performances de croissance, de reproduction et de recrutement de l'huître perlière en milieu lagunaire ;
- l'autre thèse porte sur l'écophysiologie de la croissance coquillière et la qualité de la perle par Clémentine Linard. Ce travail s'inscrit dans l'action 1 du GDR Adequa.

#### A - Production de microalgues

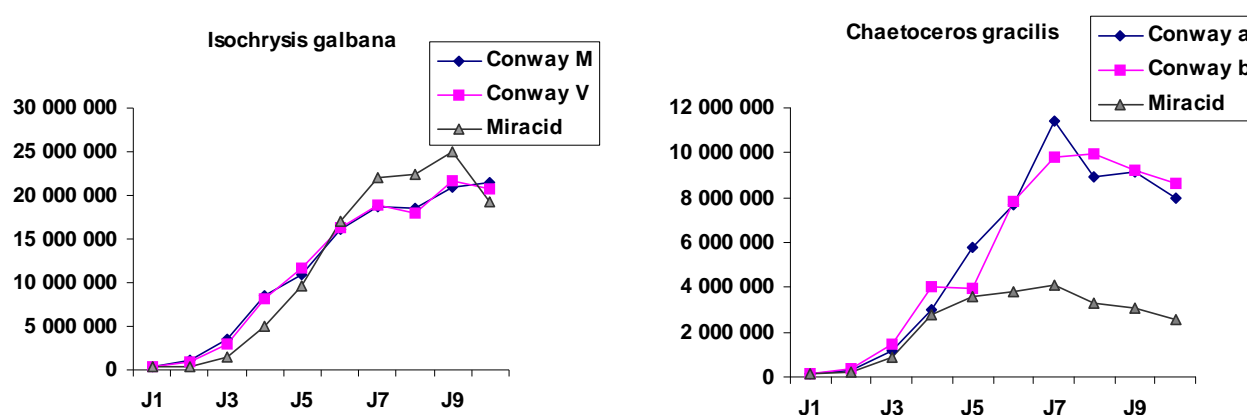
La demande en microalgues est croissante pour faire face aux problématiques de la domestication de l'huître perlière : conditionnement, élevage larvaire, fixation, nurserie, et

pour les travaux en physiologie et écophysiologie. L'objectif est d'assurer une production régulière, en diminuant le coût de production. La démarche de substitution du milieu Conway par un engrais horticoles a déjà été entamée.

### Substitution du Milieu Conway par un engrais horticole

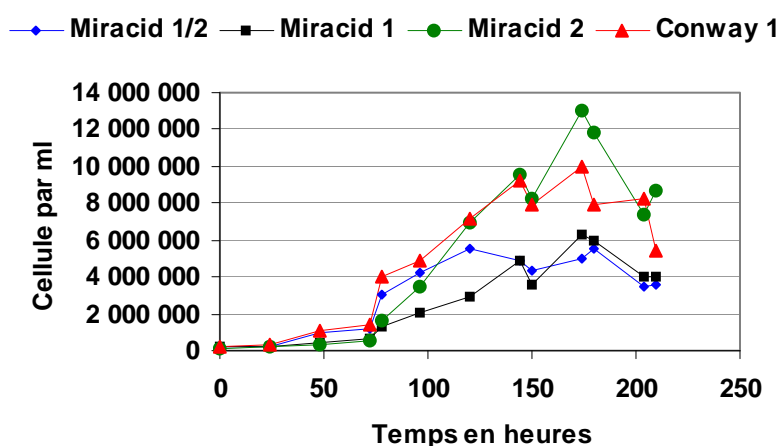
Dans la chaîne de production, le Conway est remplacé par du Miracid pour les volumes de production de 300L. Cependant aucune étude n'avait été réalisée pour ajuster la concentration dans le but d'obtenir une croissance identique entre les 2 engrais.

Les expérimentations conduites sur *Isochrysis galbana* et *Chaetoceros gracilis* ont montré que la dose équivalente de Miracid à celle du Conway permettait une croissance identique pour *I. galbana*, alors que la croissance de *C. gracilis* est beaucoup plus faible (figure 1). Cela suggère que les besoins sont satisfaits pour *I. galbana* alors que la faible croissance de *C. gracilis* avec Miracid suggère 2 hypothèses : excès ou manque.



**Figure 1 :** Comparaison de la croissance des microalgues *Isochrysis galbana* et *Chaetoceros gracilis* avec le milieu nutritif de Conway et l'engrais horticole Miracid.

L'hypothèse excès ou manque a donc été testée. Le résultat indique qu'en doublant la dose de Miracid la croissance de *Chaetoceros* est identique au Conway. (figure 2)



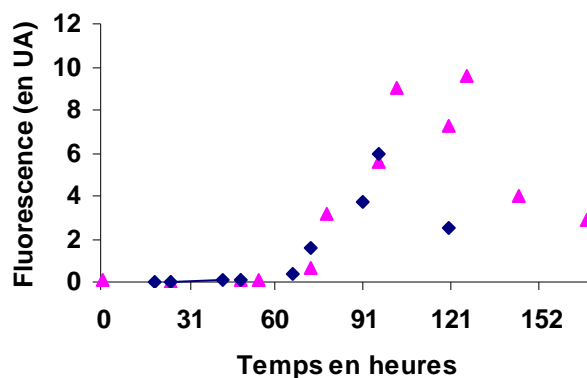
**Figure 2 :** Comparaison de la dose de Miracid sur la croissance de *Chaetoceros gracilis*

L'utilisation du Miracid peut ainsi être généralisée à tous les stades de la production d'algues en batch (du 2L au 300L) en veillant à fournir à *C. gracilis* une dose 2 fois plus importante qu'à *I. galbana*.

### **Production d'algues en grand volume**

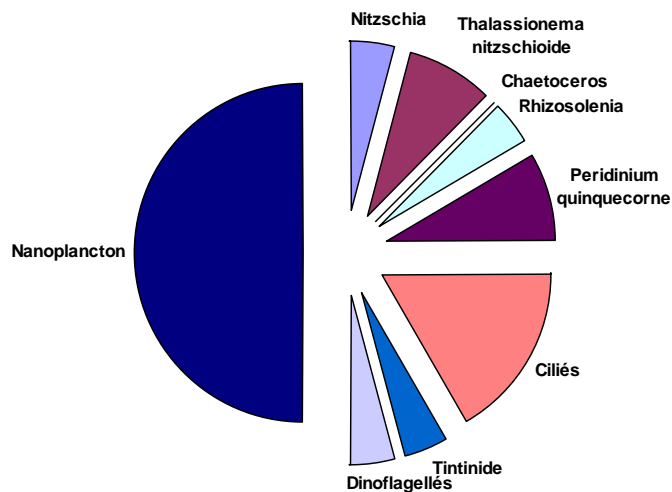
Le prégrossissement des naissains en nurserie exige la production de grandes quantités d'algues, en bacs de 10 m<sup>3</sup>, afin de permettre une croissance plus rapide qu'en lagon et de protéger ces naissains des prédateurs. Le cocktail Iso-chaeto satisfait aux besoins des naissains. Toutefois, cela limite la diffusion de cette technique puisqu'il faut toujours une salle d'algues pour fournir l'inoculum.

L'objectif est de tester le développement de microalgues dans des bassins extérieurs de 10 m<sup>3</sup> remplis avec de l'eau de mer non filtrée, sans apport d'inoculum d'algues. Le Miracid est utilisé comme engrais. Le bloom d'algues est caractérisé pour la croissance mesurée par fluorimétrie et par un comptage au microscope. Les espèces dominantes sont repérées et identifiées.

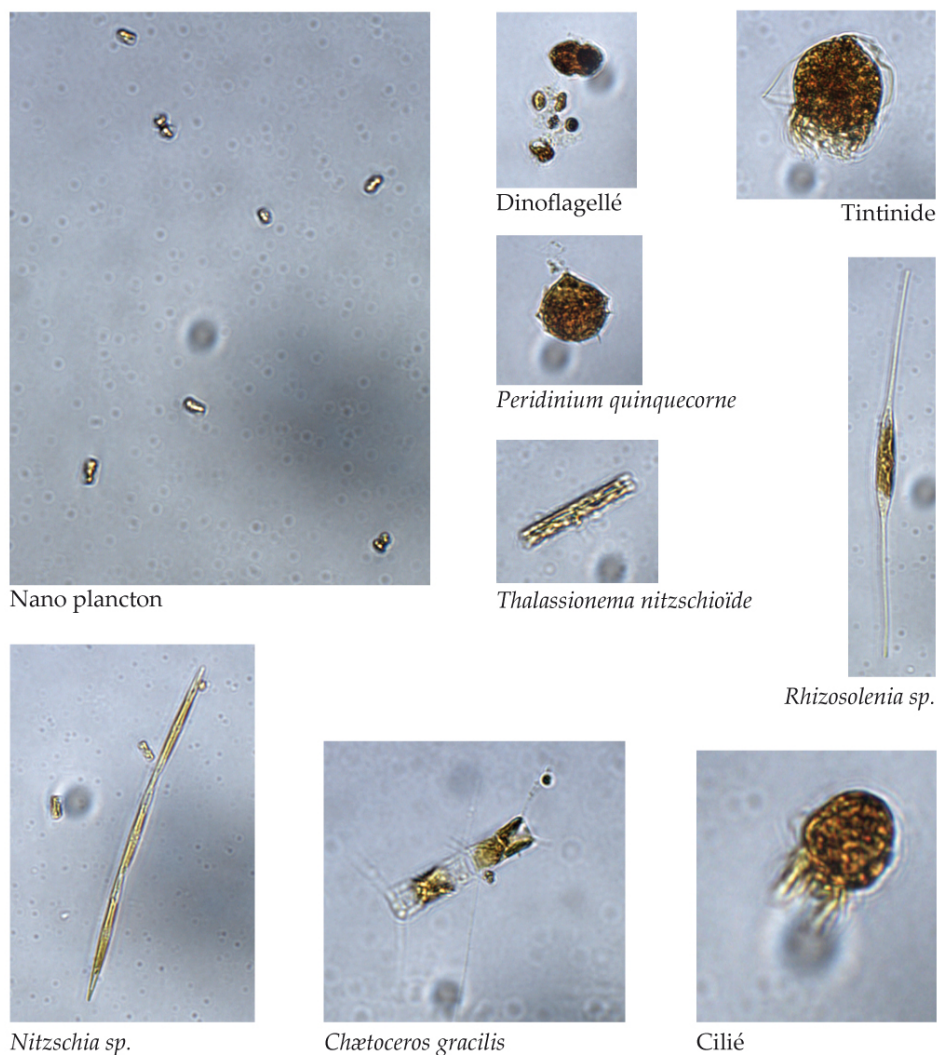


**Figure 3 :** Croissance du bloom d'algues en grand volume (10m<sup>3</sup>).

La culture atteint son maximum entre 4 et 5 jours. Les espèces d'algues présentes dans le bloom ont été décrites. Cette description est toutefois grossière. Le nanoplancton représente la moitié des organismes présents dans le milieu (figure 4, figure 5).



**Figure 4** : Distribution des espèces de microalgues se développant en l'absence d'inoculum dans les cultures en grand volume (10m3).

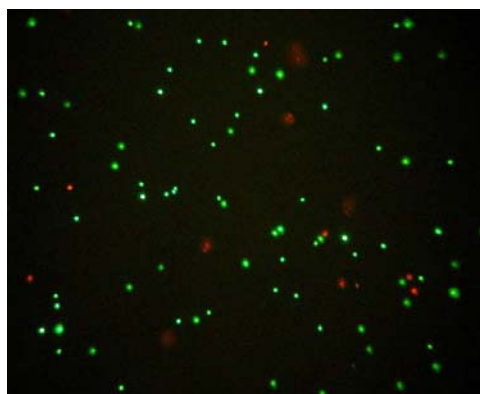


**Figure 5** : Principales espèces de microalgues présentes dans les cultures

## B - Maîtrise de la reproduction

### ***Etude la viabilité des spermatozoïdes cryoconservés***

Le contrôle des croisements chez l'huître perlière *Pinctada margaritifera* permet la création de familles possédant des caractères d'intérêt. Ce contrôle nécessite une méthode efficace de conservation des gamètes. L'objectif de ce travail est d'évaluer l'impact de la cryoconservation et sur la viabilité et la motilité des spermatozoïdes de *P margaritifera*. La viabilité est évaluée à l'aide du kit de coloration Live/Dead Sperm Viability (Molecular Probes). La motilité est évaluée au microscope selon l'échelle de Christen et al (1987). L'étude révèle que la cryoconservation dans l'azote liquide à -196°C affecte la viabilité des spermatozoïdes d'environ 30% (fig 6). Après décongélation la motilité est nulle, mais peut être réactivée partiellement par un activateur, le DCSB4. Les résultats obtenus avec la cryoconservation permettent d'envisager la création de cryobanques pour la conservation des patrimoines génétiques.

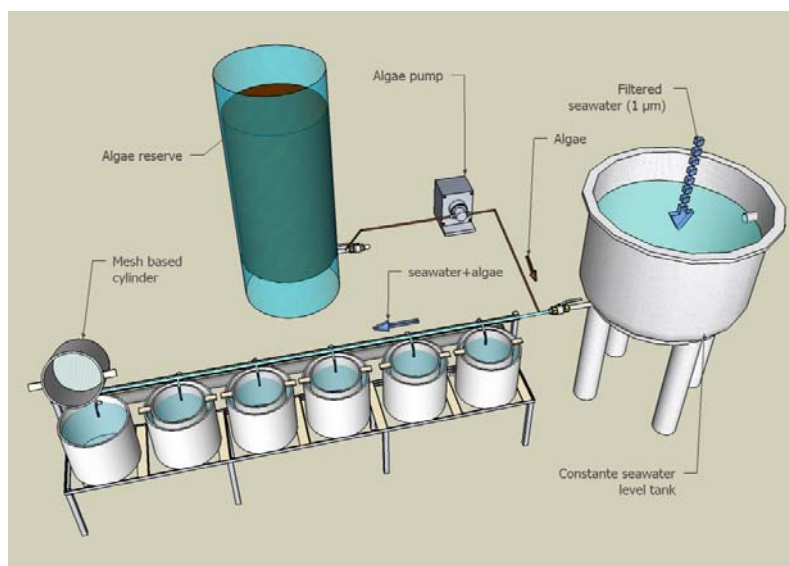


**Figure 6** : Spermatozoïdes colorés à l'aide du kit Live/Dead Sperm Viability (L-7011, Molecular Probes).

Le protocole de cryoconservation permet de produire des larves viables atteignant le stade de fixation. Une 1<sup>ère</sup> application relative à la fécondation d'ovocytes émis le jour de la fécondation à partir des paillettes de sperme cryoconservé dans l'azote liquide depuis décembre 2008 a été réalisée. Les taux de fécondation et d'éclosion ont été supérieurs à 80 %. Le lot témoin (sperme frais) et le lot testé (sperme cryoconservé) ont fourni respectivement 169 900 et 233 200 larves oeillées avec la technique d'élevage larvaire en renouvellement continu. La survie (25%) et la croissance larvaire du lot expérimental ne montrent pas de différence significative de comportement (croissance-survie) avec le lot témoin.

### ***Elevage Larvaire en renouvellement continu***

La zootechnie larvaire a été modifiée et la production en système statique a été abandonnée au profit d'un système en renouvellement continu (fig 7). Une structure d'élevage a été réalisée au COP. Des gains impressionnants en terme de rendement et survie réperée, de plus de 25% au stade oeillé, ont été obtenus et validés en zone de production. Les derniers élevages réalisés en système continu ont permis de produire 693.000 larves oeillées qui ont été mises en micronurserie pour la fixation.



**Figure 7 :** Schéma du système d'élevage larvaire en renouvellement continu

Ce système d'élevage sera transféré au Service de la Perliculture au cours de l'année 2010.

### ***Élevage en lagon***

En 2009, le nombre plus élevé de naissains produits pose le problème de l'absence de connaissance des méthodes d'élevage des premiers stades en lagon. La taille des naissains passés en mer ne permet pas le perçage de la coquille pour la fixation en chapelets. Ces naissains sont actuellement placés dans des paniers d'élevage : les aquapurses en plastique dont la maille est de 5 mm.

#### **Analyse des mortalités**

En l'absence d'information, les familles 905 à 910, soit 47000 naissains, ont été distribués, dans 66 paniers à raison de 250 et 1500 animaux par panier, début octobre 2009. Le bilan après 2 mois d'élevage révèle un taux de mortalité moyen de 46%.

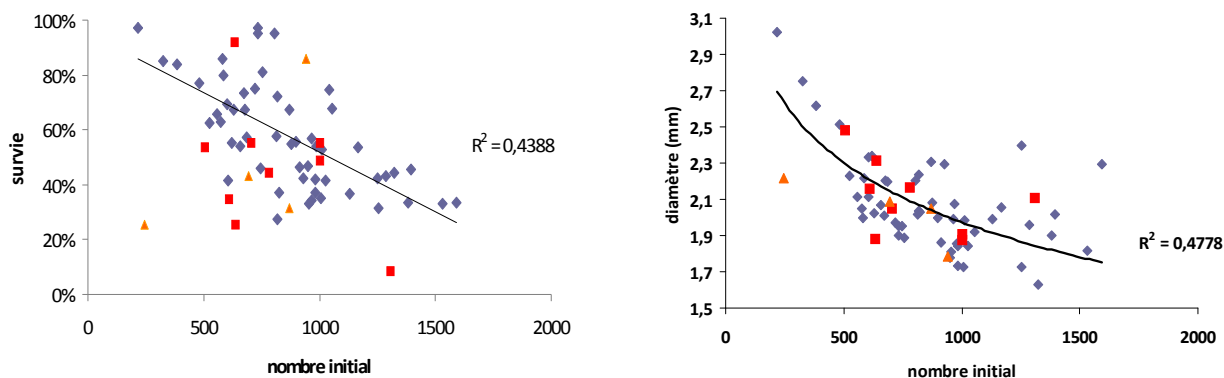
L'analyse de la mortalité révèle 2 facteurs principaux à l'origine des mortalités :

- la densité de naissains par panier ;
- la présence de prédateurs gastéropodes du genre *Cymatium*.

La régression de type linéaire établie entre le nombre initial de naissain et la survie (fig 8a) après 2 mois d'élevage est significative. Cette relation est établie sans les valeurs de survie des paniers où des prédateurs ont été observés.

La relation nombre initial et croissance de type log (fig 8b) est significative, cette relation est aussi établie sans les valeurs moyennes de taille des naissains où des prédateurs ont été observés.





**Figure 8** : Effet de la densité sur la survie (a) et la croissance (b). Losanges bleus : survie sans prédateur, carrés rouge : survie avec 1 prédateur, triangle orange : survie avec 2 prédateurs.

A l'issue de ces observations, il apparaît que le nombre de naissains par Aquapurse doit se situer aux alentours de 500 pour espérer après 2 mois, 80% de survie et la meilleure croissance. Il subsiste le problème des prédateurs : une étude comportementale du *Cymatium* en aquarium et dans l'écosystème qui se développe dans le panier d'élevage devrait être réalisée pour espérer minimiser l'impact de la prédation.

### ***Besoin en structuration de données***

Le Laboratoire "Domestication de l'Huître Perlière" produit un grand nombre de données dans le cadre de ses activités sur les techniques de production de naissain d'huître perlière et sur l'héritabilité de la croissance et de la couleur de la perle. Archivées dans de nombreux classeurs Excel, de formats différents, ces données sont difficilement exploitables en l'état pour réaliser des analyses statistiques et pour retracer l'historique des familles. Une mission du responsable bases de données du département LEAD/NC (Benoît Soulard) a permis de présenter un état des lieux des données disponibles au LDHP ainsi que des outils mis en place pour les gérer. Dans un second temps, une évaluation des besoins de l'équipe a été réalisée afin d'aboutir à un ensemble de constats et de recommandations pour la mise en œuvre d'un système de gestion de base de données qui permettrait à terme de bancariser de façon pérenne et sécuriser les données du laboratoire et d'en faciliter la saisie, le contrôle et l'extraction au quotidien.

### ***Déterminisme environnemental de la croissance et de la reproduction***

L'analyse du déterminisme environnemental de la croissance et de la reproduction a été engagée dans le cadre de la thèse de Jonathan Fournier.

L'objectif principal de l'année 2009 était de mesurer l'influence des variations de concentration en plancton sur la reproduction en milieu naturel. Pour atteindre cet objectif, un suivi de l'abondance des ressources planctoniques et de la reproduction d'une population de pintadines a été réalisé entre février et juin 2009 sur l'atoll d'Ahe (Archipel des Tuamotu, Polynésie Française).

Tous les dix jours, 80 individus ont été prélevés, la hauteur de leur coquille était mesurée, puis ils étaient disséqués et leurs organes (muscles, manteau, branchie, masse viscérale) pesés. Quarante individus ont été fixés au formaldéhyde salé afin de mesurer l'Indice Gonadique Numérique (IGN) qui correspond à la proportion occupée par la surface de la gonade dans le plan sagittal de la masse viscérale. Les organes des 40 individus restants ont été congelés afin d'être lyophilisés. La concentration en glycogène a été mesurée dans le muscle et le manteau par la méthode de Dubois (1956). Tous les trois jours, trois

prélèvements d'eau étaient réalisés près de la filière d'élevage des pintadines afin de mesurer, par dosage fluorimétrique, la concentration en chlorophylle  $a$  d'origine nano/microplanctonique. Les paramètres météorologiques ont été fournis par la station Météo France située sur l'atoll voisin de Takaroa.

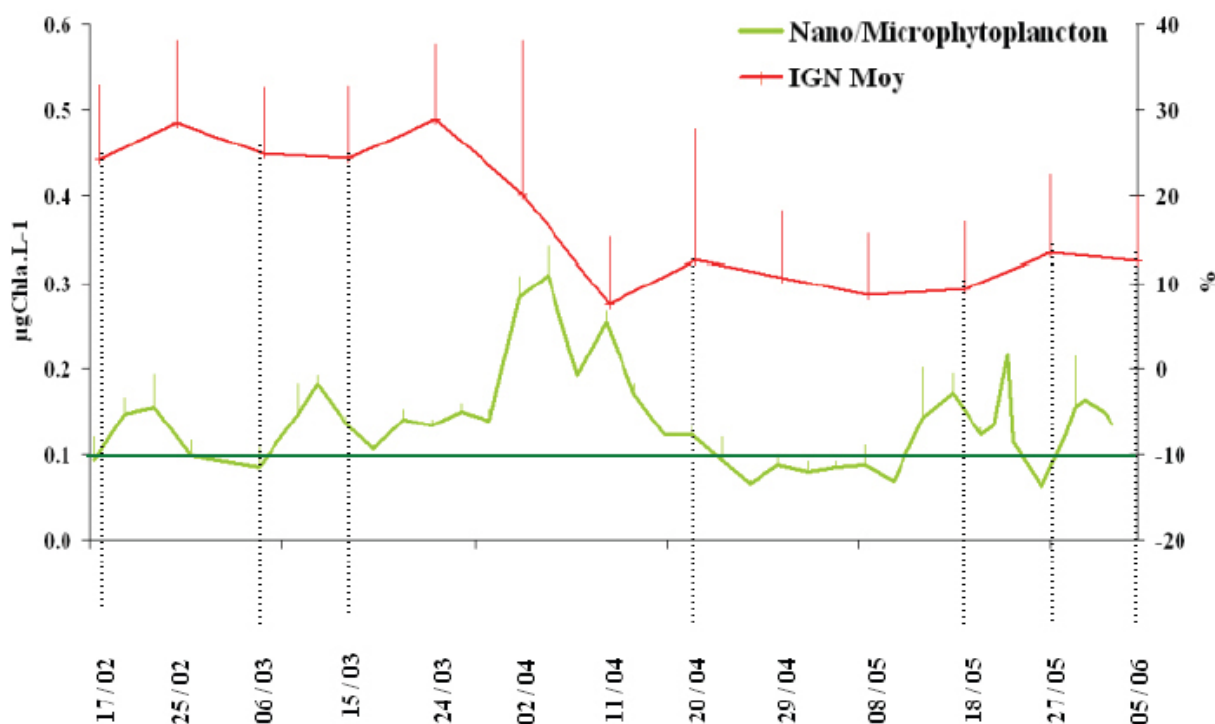
Ainsi, une corrélation positive significative a pu être établie entre la vitesse du vent et la concentration en nano/microphytoplancton (tableau 1). Les valeurs de l'IGN présentent des phases de croissance et de décroissance, pour des valeurs plus ou moins constantes de la concentration en nano/microphytoplancton. Lorsque cette dernière était en moyenne inférieure à  $0,1 \mu\text{g Chl} a.L^{-1}$ , la vitesse moyenne d'accroissement de l'IGN était de  $+0,06\%$  par jour tandis que celle de la décroissance moyenne était de  $-0,05\%$  par jour. Lorsque la concentration moyenne en nano/microphytoplancton était de  $0,19 \mu\text{g Chl} a.L^{-1}$ , la vitesse moyenne d'accroissement de l'IGN était de  $+0,5\%$  par jour tandis que celle de sa décroissance était de  $-2\%$  par jour (figure 9). De plus, entre le 24 mars et le 11 avril, la concentration moyenne en nano/microphytoplancton a atteint  $0,19 \mu\text{g Chl} a.L^{-1}$ , l'IGN moyen a diminué de  $75\%$  (de  $29,0\%$  à  $7,5\%$ ), celui du poids sec moyen des huîtres perlières de  $23\%$  (de  $8,3\text{g}$  à  $6,4\text{g}$ ) et celui des masses viscérales de  $45\%$  (de  $3,1\text{g}$  à  $1,7\text{g}$ ). Durant cette émission massive de gamètes, la concentration moyenne en glycogène dans le muscle adducteur a chuté de  $63\%$  (de  $148,6 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$  à  $55,3 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ ).

Ces premiers résultats nous permettent d'affirmer que la vitesse de maturation des gonades et l'émission des gamètes chez *P. margaritifera* dépendent directement de la concentration en phytoplancton dans le milieu. Malgré un fort asynchronisme des stades de maturité dans la population, une forte concentration en nano/microphytoplancton pendant une période de 20 jours entraîne une émission massive de gamètes pour l'ensemble des individus. Cette émission de gamètes correspond à une perte de poids sec moyen de  $23\%$  et à une consommation importante du glycogène stocké dans le muscle. Cette étude nous a permis de mettre clairement en évidence la stratégie de reproduction opportuniste de *P. margaritifera* qui accumule des gamètes dans la gonade lorsque la concentration en nano/microphytoplancton est suffisamment élevée et les libère lorsque la gonade atteint sa taille maximale.

A terme, l'ensemble des connaissances acquises sur le terrain, en laboratoire et dans la littérature permettront d'élaborer un modèle bioénergétique de croissance et de reproduction de type DEB (Dynamique Energy Budget) qui contribuera à fournir des indicateurs biologiques et environnementaux nécessaires à une gestion rationnelle du collectage des naissains de pintadine par les perliculteurs.

**Tableau 1 :** Résultat du test de corrélation de Spearman entre la quantité de phytoplancton total, de nano/microphytoplancton et de picophytoplancton ( $\mu\text{g Chl} a.L^{-1}$ ) et la vitesse du vent ( $m.s^{-1}$ ).

Corrélation de Spearman	Rho	Z	P
Vent (J+ J-1) VS Phytoplancton Total	0.698	4.188	<0.0001
Vent (J+ J-1) VS Nano/Microphytoplancton	0.642	3.850	0.0001
Vent (J+ J-1) VS Picophytoplancton	0.541	3.248	0.0012



**Figure 9** : Variation de l'IGN et de la concentration en nano/microphytoplancton entre le 17 février 2009 et le 5 Juin 2009. Les barres représentent les écarts-types.

## C - Amélioration génétique de l'huître donneuse de greffon

### ***Elevages larvaires***

Le système statique d'élevage larvaire a été abandonné au profit d'un système en renouvellement continu. Les familles 901 à 904 et 907 à 910 ont été réalisées dans la structure de micro-nurserie composée de bacs rectangulaires accueillant 4 cylindres de 40 L équipés à la base d'une maille de 40µm. Les familles 905, 906 et 911 à 914 ont été produites dans la nouvelle structure dédiée.

**Tableau 2** : bilan synthétique des rendements en éclosion

N° famille	Origine géniteur	Condition nement géniteurs	Larves D	Larves oeillées	Sortie fixation	Sortie nurserie	Taux de transfert (%)
901	Vairao	0	3 700 000	14 000	510	72	0.5
902	Vairao	0	3 700 000	42 000	5 330	1 700	4.0
903	Vairao	0	3 700 000	500	550	26	5.2
904	Vairao	0	3 700 000	3 200	550	84	2.6
905	Rangiroa	0	2 800 000	495 000	7 200	2 400	0.5
906	Rangiroa	0	820 000	196 000	51 000	33 600	17.1
907	Rangiroa	0	1 000 000	13 000	2 200	2 200	16.9
908	Rangiroa	0	0				
909	Rangiroa	0	1 800 000	169 000	6 300	900	0.5
910*	Rangiroa	0	1 200 000	232 000	53 000	8 000	3.4

911	Takapoto	1 mois	800 000	26 000	1 400	En cours	
912	Takapoto	1 mois	1 000 000	9 000	400	En cours	
913	Takapoto	1 mois	1 800 000	296 000	9 800	En cours	
914	Takapoto	1 mois	2 600 000	328 000	15 900	En cours	
Bilan 2009			28 620 000	1 823 000 6.3%	154 000 8.4%	49 000 38%	2.6%
Rappel 2008			23 000 000	170 000 0.7%	9 400 5%	1 970 21%	1.2%

### **Analyse de la croissance des familles élevées à Vairao**

La croissance des familles produites depuis 2005 et élevées dans le lagon de Vairao a été analysée avec le modèle de croissance de Von Bertalanffy selon la formule

$$Y = H_{\infty} [1 - e^{-k(t-t_0)}]$$

où Y représente la hauteur au temps t,  $H_{\infty}$  est la hauteur asymptotique, t l'âge, k exprime la vitesse de croissance jusqu'à l'asymptote. La croissance est exprimée par la mesure de la hauteur de la coquille. Une méthode de mesure plus fiable que la mesure directe, utilisant l'analyse de prises de vue numérique avec le logiciel d'analyse d'image « Image J » a été développée. La taille des huîtres est exprimée en diamètre équivalent (Deq). Les résultats (Tableau 3) définissent les performances moyennes de croissance par famille. Cette analyse est toutefois préliminaire puisque, tant que l'asymptote n'est pas consolidée, les constantes k et  $Deq_{\infty}$  peuvent évoluer avec l'âge des huîtres. Cependant, cette méthode d'analyse présente l'avantage de décrire correctement la croissance puisque les données prédites par les modèles sont bien corrélées aux moyennes réelles. De plus, cette approche permettra une analyse comparée des familles entre différents sites d'élevage.

**Tableau 3 : constantes mathématiques de la croissance des familles**

familles	âge (ans)	k	Deq <sub>∞</sub>	R <sup>2</sup>
			(mm)	
058	3,8	0,33	147,1	0,98
610	3,12	0,64	106,5	0,97
612	3,12	0,90	89,6	0,89
613	3,02	0,35	146,2	0,94
615	3,02	0,43	124,3	0,94
616	2,53	0,43	95,2	0,98
617	2,53	0,34	125,5	0,80
618	2,53	0,33	154,1	0,88
619	2,47	0,36	110,2	0,91
620	2,47	0,25	189,2	0,82
621	2,47	0,77	114,2	0,94
622	2,47	0,40	125,7	0,94
701	2,30	0,82	86,1	0,85
702	2,28	0,47	122,2	0,91
703	2,28	0,51	111,6	0,90

704	2,28	1,05	73,4	0,90
732	1,51	0,27	175,9	0,97
733	1,43	0,23	260,7	1,00
801	1,32	0,24	213,9	1,00
804	1,32	0,30	187,6	0,98
805	1,32	0,21	214,1	0,99
806	1,32	0,21	220,4	0,96

La représentation modélisée de la croissance des huîtres perlières montre la tendance de la croissance de *P margaritifera* à Vairao. Nous constatons que l'asymptote de croissance n'est pas encore atteinte pour les huîtres les plus anciennes. La comparaison de quelques familles sans lien de parenté, nées et élevées simultanément dans l'écloserie du COP, fait apparaître une composante génétique de la croissance.

### **Constitution de lots de reproducteurs sélectionnés précocement pour la couleur**

Les naissains de la famille 616 ont été triés en janvier 2007 selon la couleur exprimée sur la coquille. Une partie de ces huîtres a été testée comme huîtres donneuses de greffon lors d'une greffe expérimentale à Takapoto en mai 2008. Ce test n'a pas abouti cette année, car les huîtres sont tombées sur le fond, les filets d'élevage se sont désagrégés. L'hypothèse du lien entre la couleur exprimée au stade naissain et la couleur de la perle issue de ces huîtres comme donneuses de greffon sera de nouveau testée au cours d'une prochaine greffe expérimentale. Préalablement, ces huîtres seront mises en conditionnement pour tenter une reproduction intra-familiale, pour autant que des femelles soient détectées.

Une famille constituée en mai 2009 a fait l'objet d'un tri précoce des naissains en fonction de leur couleur (figure 10). Trois « classes de couleurs » ont été distinguées : vert-jaune, rouge et gris. Ces naissains ont été élevés en nurserie avant d'être transférés en mer. Ces huîtres pourront être testées comme huîtres donneuses de greffon dans 2 ans.



**Figure 10** : Tri visuel (gauche) et naissains triés : gris, vert-jaune, rouge (droite).

## Héritabilité des critères de croissance et de couleur

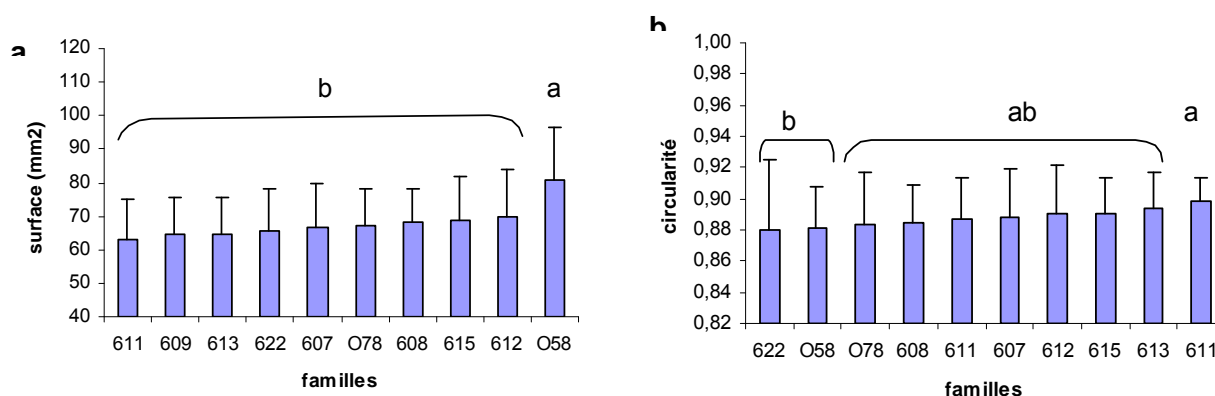
Les perles issues des greffes de mai 2008 ont été récoltées en juillet 2009. Les données recueillies permettront (i) d'estimer la variance totale pour la croissance et de la couleur des perles et keshi et (ii) de calculer la portion de cette variance qui est attribuable à la différence entre les différents greffons d'une même donneuse (variance intra-individuelle), à la différence entre les différentes donneuses d'une même famille (variance inter-individuelle) et à la différence entre les différentes familles (variance inter-famille). Nous pourrions ainsi évaluer l'héritabilité des caractères couleur et vitesse de croissance de la perle. De plus, comme les mêmes familles de donneuses ont été utilisées dans deux environnements très différents, nous pourrions aussi évaluer l'impact de l'environnement et de l'interaction «génétique-environnement» sur ces caractères.

### - Analyse de la croissance des perles

En Mai 2008, deux campagnes de greffes ont été réalisées avec des donneuses provenant de familles connues, qui avaient été produites dans l'écloserie de Vairao (Ifremer). Deux familles de 2005 (codes 058 et 078) et 9 familles de 2006 (codes 607, 608, 609, 611, 612, 613, 615, 616, et 622) ont été utilisées. Les donneuses de ces familles ont été greffées en parallèle dans deux îles très différentes, Takapoto (Tuamotou nord-est) et Mangareva (Gambiers), sur des receveuses non triées provenant du collectage local.

Sur chaque site, entre 10 et 12 huîtres donneuses par famille ont participé à la greffe. Chaque donneuse de greffon permet de greffer 15 receveuses. 1935 greffes ont été effectuées à Takapoto, et 1500 greffes aux Gambiers.

Pour l'instant, seules les données biométriques des perles récoltées aux Gambiers ont été analysées. Les perles ont été mesurées à partir de photos numériques pour leur surface ( $\text{mm}^2$ ) et leur circularité (rapport des axes majeurs et mineurs de l'ellipse incluant la perle). Ces premiers résultats indiquent que la croissance des perles pourrait avoir un déterminisme familial. Les perles issues des donneuses de la famille O58 (nées en 2005) ont été significativement plus grandes que celles des autres familles (Figure 11a). S'il semble y avoir un déterminisme familial de la circularité, ce déterminisme ne suit pas la même loi que la croissance de la perle : deux groupes statistiquement différents ont été décelés. Les perles les plus rondes ont été associées aux greffons de la famille 611 alors que les familles 622 et O58 ont été associées aux perles les moins rondes.



**Figure 11** : Analyse de la taille la perle exprimée par la surface maximale de la perle (a) et de la circularité (minor/major) (b).. Les moyennes sont comparées entre elles à l'aide du test HSD de Tukey. Les moyennes sont présentées avec l'écart type.

### - Analyse de la couleur des perles

Malgré l'appréciation subjective de la couleur des perles, un premier classement a été réalisé par simple examen visuel. Le classement est effectué avec 6 classes de couleur dont

une nuance Aubergine-Vert. Une analyse de fréquence des couleurs au sein des familles indique que la fréquence des couleurs est différente entre les familles ( $\chi^2=193$ ,  $ddl=45$ ,  $P<0,0001$ ) (surlignée couleur jaune dans le tableau 4). A l'opposé, certaines couleurs sont significativement moins fréquentes chez certaines familles (surlignées couleur saumon Tableau 4).

**Tableau 4** : Analyse de la fréquence des couleurs, test de  $\chi^2$ , significativité par case : en jaune fréquence plus élevée, couleur saumon fréquence plus faible.

	Aubergine	Vert	Auberg-Vert	Gris	Jaune	blanc
O58	<	>	<	>	<	<
O78	>	<	<	>	>	<
607	>	<	>	<	>	<
608	>	<	<	>	>	>
609	>	<	<	>	<	<
611	<	>	<	<	<	<
612	<	>	<	<	<	<
613	<	>	>	<	<	<
615	<	>	<	>	>	<
622	<	>	>	<	<	>

Dès le début de l'année 2010, la couleur des perles sera analysée à partir de photos numériques prises avec un système dédié couplant une chambre photographique à luminosité constante (ScanCube) et un appareil photo numérique. Ce système permettra de standardiser la prise de vue et de quantifier les couleurs.

De plus, une partie des perles récoltées sera sciée en deux. Une moitié sera conservée sur le site de Vairao, la seconde sera mise à disposition de l'équipe d'Orsay pour l'analyse fine de la couleur et les recherches sur les pigments (Action 4 du GDR).

## D - Ecophysiologie de la croissance coquillière et de la perle

L'analyse de l'influence des facteurs de l'environnement a été engagée dans le cadre de la thèse de Clémentine Linard.

### Travaux réalisés In situ

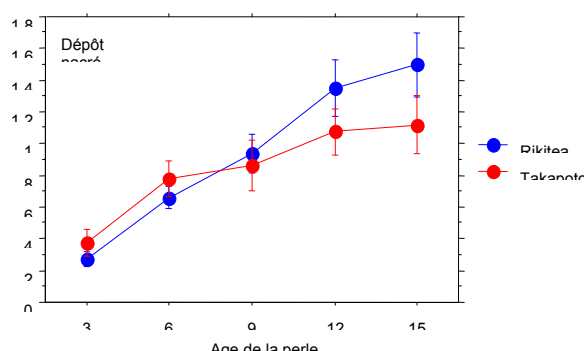
**Takapoto** (Archipel des Tuamotu) et **Mangareva** (Archipel des Gambiers) ont été sélectionnés pour tester l'influence de la diversité thermique, trophique et hydrologique des sites sur la croissance et la qualité des perles produites. Pour cela, 720 individus ont été greffés en Mai 2008 sur les deux sites. L'échantillonnage a débuté 5 mois après la campagne de greffe. Une évaluation du taux de maintien a été réalisée au début en Décembre 2008. Au cours de cette mission toutes les huîtres porteuses d'une perle ont reçu une injection de calcéine de manière à marquer la perle au début de la saison chaude. Tous les 3 mois pendant 18 mois, un échantillon de 60 pintadines est récolté. L'ensemble des critères de qualité est relevé. Durant l'année 2009, les 3ème, 4ème et 5ème prélèvements ont été effectués. Le site de Takapoto ayant subi une perte de 1/3 des effectifs en raison de la dégradation anormale des kangaroos (filets d'élevage), le dernier temps de prélèvement a été supprimé. Les coquilles et les perles sont récoltées à chaque temps de prélèvement.

### - Croissance coquillière

La comparaison entre Takapoto et Mangareva révèle que les épaisseurs coquillières et nacrées au niveau du bord dorsal sont significativement plus importantes à Takapoto qu'à Mangareva.

### - Croissance perlière

La comparaison entre les sites révèle que la croissance des perles est significativement plus élevée à Mangareva qu'à Takapoto, notamment à partir du 12<sup>ème</sup> mois où les profils de croissance des perles entre les deux sites deviennent différents. La comparaison entre les sites révèle une différence significative de l'épaisseur de la couche nacrée des perles entre Takapoto et Mangareva (Figure 12).



**Figure 12** : Epaisseur du dépôt nacré (mm) des perles à Takapoto et Mangareva.

## Travaux réalisés en milieu contrôlé

### Effet combiné de la température et du niveau trophique

Cette approche est constituée de deux séries d'expérimentations menées pendant 2 mois au moyen du banc d'écophysiologie automatisé, pour analyser les influences combinées du niveau trophique (1 500 vs 15 000 cell/ml) et de la température (21, 26, 30°C) sur la croissance et la qualité coquillière et perlière, chez des jeunes huîtres non greffées et des vieilles huîtres greffées. Les coquilles des huîtres ont été marquées à la calcéine par immersion au début de l'expérimentation et les perles ont été marquées par injection de calcéine dans la poche perlière au début de l'expérimentation.

### - Croissance coquillière

Les dépôts nacrés ont été mesurés au microscope en fluorescence, sur les sections de coquilles marquées à la **calcéine**. La **température** influence significativement le dépôt de nacre qui est significativement plus important à 30°C qu'à 21°C aux bords ventral et dorsal des pintadines. Le **niveau trophique** module la croissance coquillière chez les jeunes pintadines. Chez les plus vieilles pintadines, quelque soit le régime trophique considéré, le dépôt nacré est significativement plus important au niveau du bord dorsal que du bord ventral.

### - Croissance de la perle.

La température et le niveau trophique appliqués n'ont pas influencé de façon significative l'épaisseur de la couche nacrée des perles. Mais la **qualité** des perles est affectée par la température notamment au niveau de la présence de cratères à la surface. Il y a eu significativement plus de défaut à 21°C qu'à 26 et 30°C ( $\text{Khi}^2=11.713$ ,  $\text{ddl}=2$ ,  $p=0.003$ ).



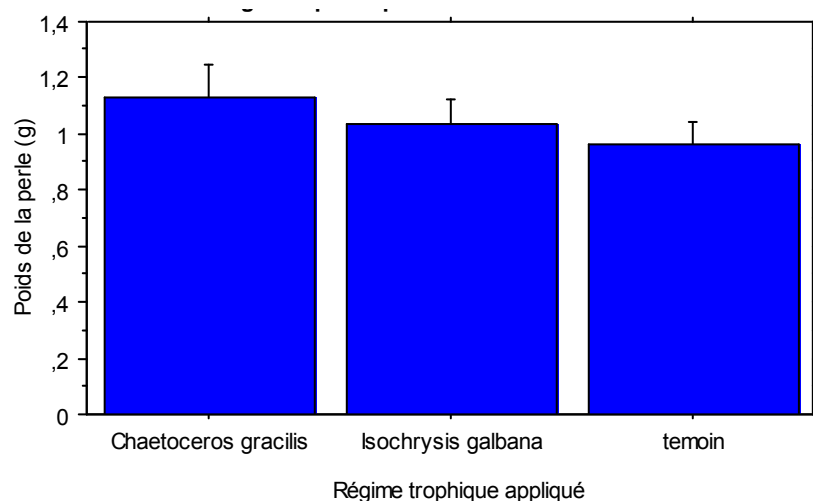
A l'issue de ces expériences, une évaluation du lustre sera réalisée sur les perles ainsi qu'une mesure du dépôt de nacre réalisée pendant le conditionnement. Une analyse plus fine des lamelles d'aragonite pourra être réalisée en fonction des résultats obtenus en collaboration avec l'équipe d'Orsay.

### Impact de la qualité trophique

Une expérimentation consistant à comparer 2 sources de nourriture sur les perles a été réalisée en laboratoire. Les huîtres greffées depuis 9 mois ont été acheminées depuis l'atoll de Takapoto. Deux régimes alimentaires constitués respectivement avec *Isochrysis galbana* et *Chaetoceros gracilis* ont été comparés à l'eau de mer. Les perles ont été récoltées après 2 mois de conditionnement alimentaire.

#### *Croissance de la perle*

Le poids des perles est influencé de façon significative par la qualité de la ressource trophique. Les perles sont significativement plus grosses lorsque les huîtres sont nourries avec *Chaetoceros gracilis* par rapport à celles des animaux du lot témoin (eau de mer sans apport d'algues supplémentaire) (Figure 13). Par contre, en 2 mois d'expérimentation, la qualité trophique n'influence pas de façon significative l'ensemble des paramètres caractérisant l'état de surface des perles. Concernant la morphologie des perles, aucun effet n'a été démontré sur la forme.



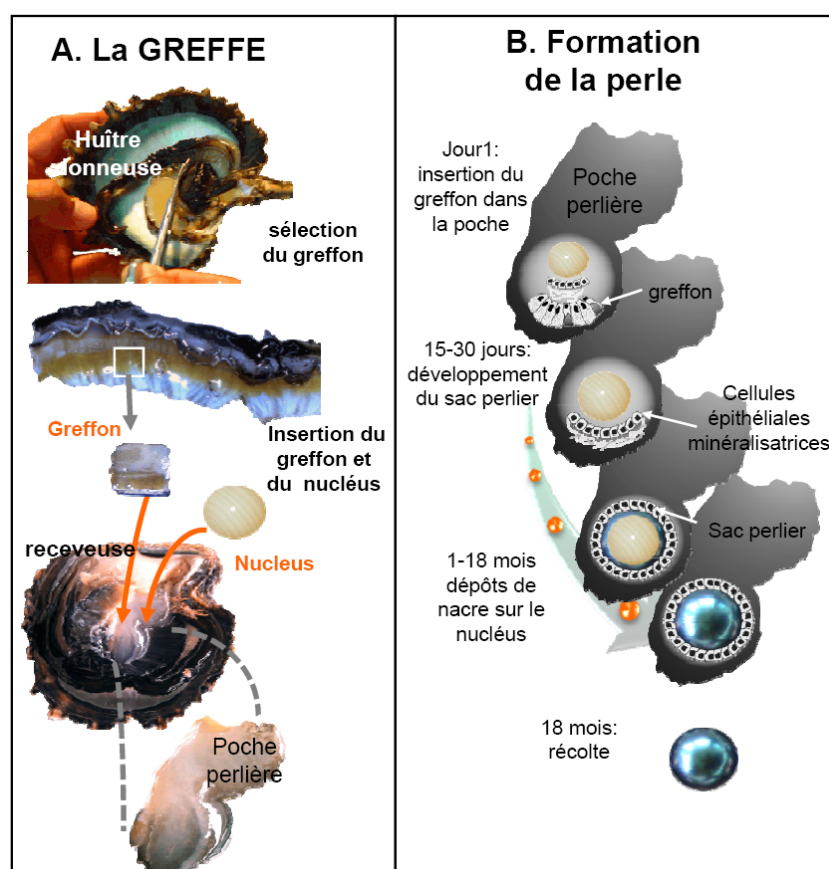
**Figure 13** : Poids des perles selon la condition trophique appliquée (*Chaetoceros gracilis*, *Isochrysis galbana*, témoin eau de mer).

## PROJET DEVELOPPEMENT DE LA PERLICULTURE «AMELIORATION DE LA QUALITE DE LA PERLE» (A070703)

### Optimisation de la greffe

#### Contexte

Les perles de culture de Tahiti proviennent de la greffe et de l'élevage en milieu naturel des huîtres perlières, *P. margaritifera*. Après une première phase de collecte puis d'élevage des huîtres qui durera deux ans environ, les huîtres perlières sont greffées. La greffe est l'opération au cours de laquelle, le greffon, petite portion de manteau d'une huître perlière "donneuse", est inséré dans la poche perlière d'une huître "receveuse", avec un nucléus qui servira de "noyau" à la perle (Figure 14). La fusion des tissus du greffon avec ceux de la poche perlière et la prolifération des cellules épithéliales externes aboutissent à la mise en place d'un sac perlier qui est à l'origine des couches organiques et minérales déposées autour du nucléus, qui constituent la perle. Une perle est ainsi récoltée entre 12 et 18 mois après la greffe.



**Figure 14** - Les différentes étapes de la greffe et de la formation de la perle. A : Greffe. B : Formation du sac perlier et de la perle au sein de la poche perlière (Illustration C.Montagnani).

Les greffes chez l'huître perlière *P. margaritifera* sont pratiquées en Polynésie française depuis plus de 40 ans. Elles ont été au début le privilège d'une main-d'œuvre japonaise puis progressivement aujourd'hui chinoise, hautement spécialisée, dont le savoir-faire a été jalousement préservé. Sans partage réel des connaissances, les techniques de greffe et de sur-greffe se sont multipliées. Les étapes de l'élevage des huîtres perlières, menant de la

greffe jusqu'à l'obtention d'une perle ne sont donc pas standardisées ni suffisamment maîtrisées. Il en résulte des taux de mortalités post-opératoires, des taux de rétention du nucléus et des qualités de perles très hétérogènes d'un greffeur à l'autre.

### **Comparaison des performances des nucléus commercialisés en Polynésie française**

Un des facteurs influençant directement la réussite de la greffe est la qualité du nucléus (nature et enrobage). Différents types et qualités de nuclei sont disponibles depuis plusieurs années en Polynésie française, standards (en nacre de moule du Mississippi, *Amblema plicata*), enrobés de substances particulières (« bio ») et reconstitués (bironite). Les fournisseurs attribuent aux nuclei enrobés appelés « bio » des propriétés diverses (activités antibactériennes, substances favorisant la cicatrisation, la formation du sac perlier et/ou la production de perles de qualité supérieure) dont la plupart n'ont pas été démontrées. Afin d'étudier les performances des nuclei, une campagne de greffe expérimentale a été menée en 2004 pour comparer sept nuclei « bio », trois nuclei « standards » et trois nuclei enrobés par des substances qui présentent des propriétés cicatrisantes et/ou inflammatoires (Cochennec-Laureau *et al.* 2005). Cette étude a permis de démontrer que l'utilisation de nuclei « bio » semble limiter les réactions inflammatoires consécutives aux opérations de greffe et permettre une cicatrisation plus rapide des huîtres receveuses, les rendant moins sensibles aux infections bactériennes. Même si une variabilité importante de la qualité des perles obtenues a été observée, ces travaux avaient aussi démontré une supériorité des nuclei « bio » en termes de taux de maintien et de qualité des perles (Cochennec-Laureau *et al.* 2005). De plus, il semblait que l'utilisation des nuclei préparés à partir de nacre de *P. margaritifera* augmente de manière significative le pourcentage de perle de qualité A.

Dans ce contexte, une expérimentation a été mise en place en 2007, avec pour objectif de tester les performances des principaux nuclei commercialisés en Polynésie française et de compléter les travaux/résultats de la greffe expérimentale réalisée en 2004 (Cochennec-Laureau *et al.* 2005). Pour cela, trois fermes dans trois sites différents (Ahe, Rikitea, Tahaa) ont été choisis pour réaliser cette expérience, en concertation avec le Service de la Perliculture. 8 nuclei ont été testés. La description du protocole est détaillée dans la figure 15.

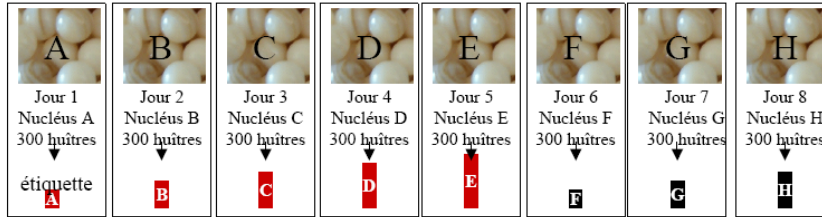
6663 greffes ont été réalisées, environ 300 par nucleus et par site. Les résultats de la greffe et les perles obtenues avec les différents nuclei utilisés ont été analysées en termes de poids, qualité, forme, épaisseur de nacre déposée, défauts de surface, taux de rétention, de mortalité et de rejet.

1- Les résultats obtenus montrent qu'il n'y a pas de différence significative entre les nuclei testés concernant :

- les taux de maintien, rejet et mortalité,
- le poids et l'épaisseur de nacre des perles.
- 

Une différence significative entre les nuclei a été observée pour :

- la qualité des perles (classification A, B, C, D ou rebut),
- la forme des perles,
- la présence et le nombre de défauts à la surface des perles.

**Mission n°1: greffe expérimentale dans les fermes d'accueil: entre les 15/10/07 et 11/11/07**


Étiquetage: l'étiquette (fournies par Ifremer) de couleur et longueur différente par nucléus

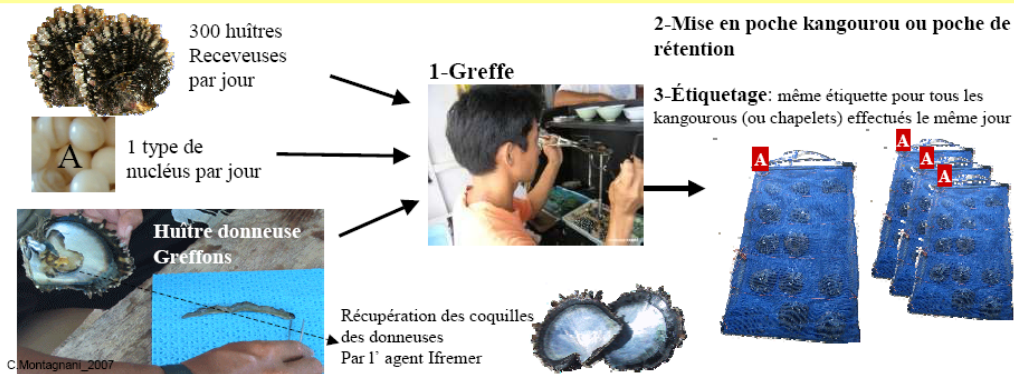
**Exemple: une journée de greffe**


Figure 15 : Description du protocole de greffe

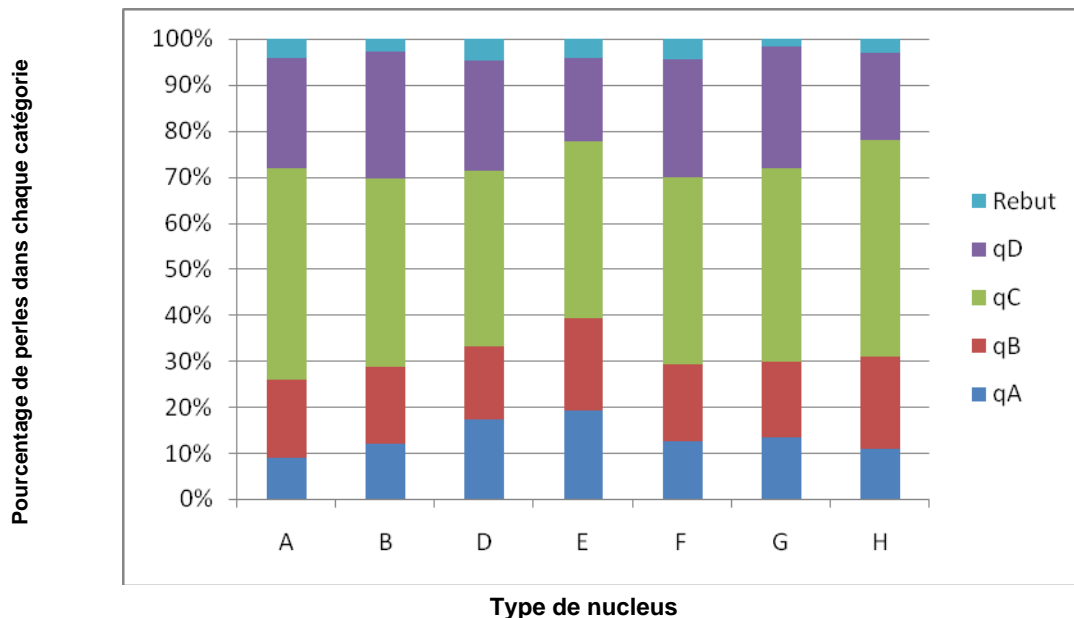


Figure 16 : Influence du type de nucleus utilisé sur la catégorie des perles (%). La classification des perles: selon les différentes catégories A (qA), B (qB), C (qC), D (qD) et Rebut a été réalisées par le PRL

- 2- L'analyse des résultats obtenus avec les différents nuclei montre que les nuclei D et E semblent sortir du lot avec significativement plus de perles classées A (Figure 16). Le nucleus E donne en plus significativement moins de perles classées C et D.

A l'opposé, les nuclei A et H donnent quant à eux significativement moins de perles classées A ou B. Dans le cadre de cette expérimentation, l'absence d'enrobage (nucleus H) ou la nature de l'enrobage du nucleus A ont eu un impact significativement défavorable sur la qualité des perles récoltées en comparaison aux autres nuclei.

- 3- Si l'absence d'enrobage (nucleus H) semble être corrélée à une baisse de la qualité des perles obtenues, aucune différence significative n'a été observée sur les taux de maintien/rejet/mortalités tous sites confondus.
- 4- Le nucleus G est produit à partir de nacre de *P. margaritifera* pour lequel il avait été démontré une amélioration significative du pourcentage de perle de qualité A. (Cochennec-Laureau *et al.* 2005). Les résultats obtenus dans le cadre de cette convention indiquent que ce nucleus n'a pas d'effet significatif sur le poids, la qualité, la forme, l'épaisseur de nacre déposée, la présence de défauts à la surface, ni sur le taux de rétention, de mortalité et de rejet. La seule différence significative observée, et qui est néanmoins importante, est que ce nucleus diminue le nombre de rebuts par rapport aux autres nuclei et donc augmente le pourcentage de perles commercialisables.

En conclusion, les résultats obtenus confirment que le nucleus a un impact déterminant sur la qualité des perles obtenues et que ce critère vient s'ajouter aux autres critères que sont les pratiques d'élevage, la qualité du greffeur, la qualité des nacres donneuses et receveuses. Les travaux réalisés apportent des informations capitales pour la compréhension de la diversité des récoltes obtenues au sein des fermes perlières. Ils peuvent servir aussi pour préconiser des conseils aux greffeurs afin de standardiser leurs méthodes pour obtenir des perles de meilleure qualité. Enfin, ces analyses soulignent la complexité des mécanismes mis en jeu et des critères à prendre en compte pour la formation d'une perle de qualité. L'ensemble de ces points confirme la nécessité de continuer de développer des recherches en perliculture pour approfondir ces connaissances et apporter aux professionnels des outils d'optimisation de la production et d'amélioration de la rentabilité des entreprises. En effet, vu les différences observées entre les nuclei enrobés (tous sauf un préparés à partir de nacre de moule du Mississippi), et dans la perspective de produire un nucleus polynésien à partir de nacre de *Pinctada*, des recherches sur les molécules des enrobages et leur impact sur la qualité des perles sont à développer.

*Ces travaux ont aussi été réalisés dans le cadre convention N° 7.0030- MP/PRL entre le Service de la Perliculture et l'Ifremer Tahiti (Gueguen et al., 2009).*

## Analyse fonctionnelle du sac perlier : analyse des bases moléculaires de la formation des perles - biominéralisation et biomarqueurs de qualité

### **Introduction**

A la lumière de l'ensemble des travaux entrepris jusqu'alors, il est désormais évident que les causes d'imperfections à la surface des perles sont multifactorielles (technique de greffe, mécanismes cellulaires et génétiques...). De plus, bien que la structure des cristaux ou la nature des protéines composant les coquilles des huîtres soient aujourd'hui bien étudiées, les bases moléculaires de la formation des perles restent largement méconnues. L'objectif de ces travaux est d'approfondir les connaissances concernant les processus de minéralisation de la perle afin de mieux comprendre les dysfonctionnements aboutissant à la formation de perles à défauts. Pour cela, notre approche consiste à avoir une vision intégrée des événements de transcriptomique (et protéomique) ayant lieu au niveau des tissus responsables de la greffe (greffons, poche perlière).

Des travaux ont été entrepris pour caractériser des gènes codant des protéines clés, marqueurs de la minéralisation chez *P. margaritifera*. Différentes approches ont été développées pour identifier des marqueurs moléculaires de minéralisation, des approches dites « gènes candidats », « transcriptomique globale », et « protéomique ». La caractérisation, ainsi que celle des nouveaux « marqueurs » isolés, permettra de mieux comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires de la greffe et de la formation des perles, et constitue le préalable à l'objectif appliqué de développer des outils d'évaluation et de sélection des huîtres donneuses de greffons de « haute qualité minéralisatrice ».

## Analyse globale du transcriptome du greffon et du sac perlier

Cette étude consiste à développer une approche globale d'analyse du transcriptome afin de caractériser des gènes exprimés au sein des cellules épithéliales des greffons et de poches perlières, impliqués dans la minéralisation. Cette approche sera menée sur deux types de greffons, sur la base des résultats déjà obtenus sur la caractérisation de zones fonctionnelles distinctes du manteau (Montagnani *et al.* 2006). La technologie SAGE (Serial Analysis of Gene Expression) a été choisie, car elle permet d'identifier l'ensemble des gènes exprimés dans un échantillon, et offre ainsi une vision globale des événements de transcriptomique encore inexplorés. Il s'agira de développer des biomarqueurs (gènes différentiellement exprimés) en corrélation avec la qualité des perles.

Ces travaux sont réalisés dans le cadre d'un projet doctoral débuté en novembre 2007 par C. Joubert, dans le cadre d'une collaboration entre le Laboratoire « Biotechnologie et Qualité de la Perle (LBQP-Ifremer) et la société Skuld-Tech. Sur la base des échantillons fournis par le LBQP et la greffe ADEQUA#1, une banque EST de manteau et 4 banques SAGE ont été réalisées. Pour une meilleure exploitation de ces données par les différents partenaires, la base de données en ligne Oyster a été créée par le partenaire Skuld-Tech (<http://www.skuldtech.com/perdur/oyster.html>).

Deux approches complémentaires ont ainsi été développées :

### Approche EST :

L'approche EST (Expressed Sequences Tags, ou Etiquetage des séquences transcrites), menée sur des cellules de manteau, a abouti au séquençage de plus de 276 735 ESTs. Ces ESTs ont été assemblées permettant d'obtenir 70 751 séquences uniques, dont 20 371 contigs. Ces séquences ont fait l'objet d'une annotation fonctionnelle de type Gene Ontology qui a pu mettre en évidence un profil révélateur d'un tissu impliqué dans des fonctions de biominéralisation.

Une approche gène-candidat menée *in silico* sur les séquences de la banque EST nous a permis d'identifier par homologie de séquence une centaine de gènes potentiellement impliqués dans les processus de biominéralisation chez *P. margaritifera* :

- 70 protéines de bivalves ont ainsi été identifiées, parmi lesquelles on retrouve l'ensemble des protéines déjà identifiées chez *P. margaritifera* (sauf la calconectin), *P. fucata*, *P. maxima*, mais également *P. nobilis* (sauf la calprismin) et *A. rigida*.
- 38 séquences homologues à des protéines de gastéropodes potentiellement impliquées dans la biominéralisation ont également pu être identifiées chez *P. margaritifera*.
- Cette recherche d'homologie de séquences a été étendue à l'ensemble des espèces minéralisant le carbonate de calcium (CaCO<sub>3</sub>) pour lesquelles sont disponibles des séquences dans les bases de données publiques. Les protéines impliquées dans la régulation du calcium et des carbonates, ainsi que les protéines de la matrice organique ont ainsi été retrouvées chez l'oursin (*Strongylocentrotus purpuratus*), les otolithes de poissons, et différentes espèces de coraux et de coccolithophoridés. Les résultats montrent une assez bonne conservation des séquences protéiques impliquées dans les fonctions de transport direct du calcium et des carbonates. En revanche, contrairement à ce qui a pu être observé chez les mollusques, les protéines impliquées dans les

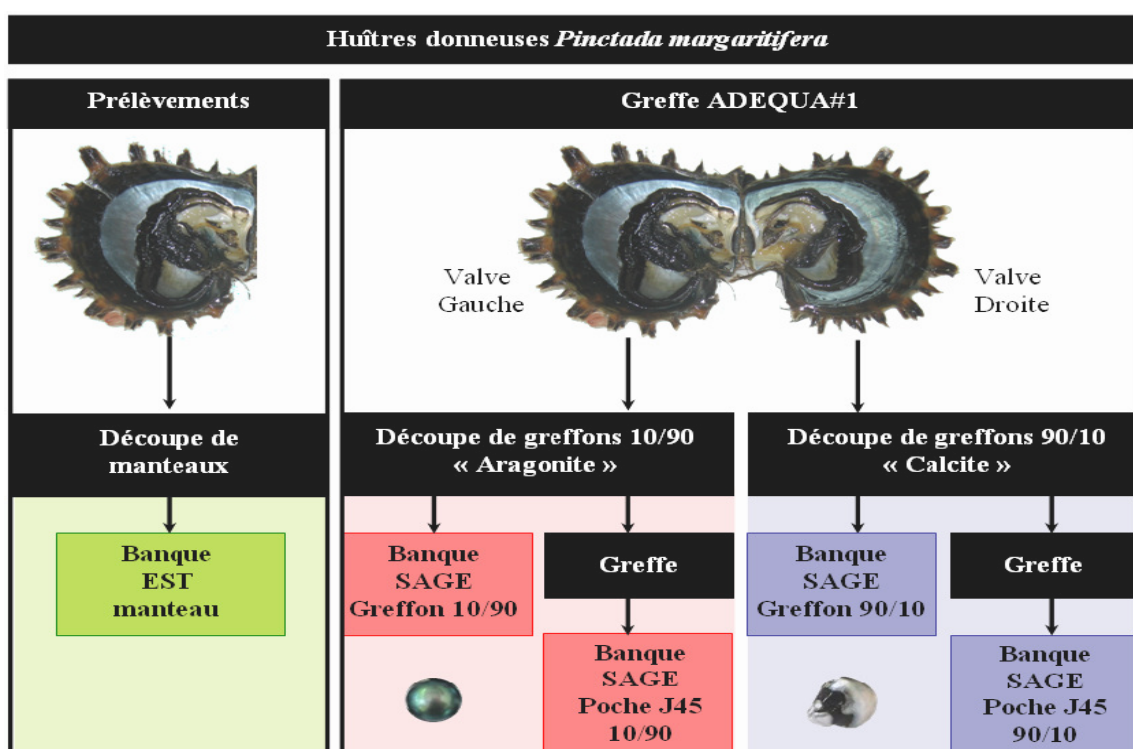
processus de nucléation, de croissance ou d'inhibition de la croissance des cristaux ne présentent que peu d'homologie avec celles de la banque EST de *P. margaritifera*.

Les données contenues dans la banque EST, et notamment l'ensemble des gènes identifiés par approche gène-candidat comme étant impliqués dans les processus de biominéralisation sont autant de biomarqueurs potentiels de la qualité de la perle. Une sélection parmi ceux-ci sera ajoutée à la liste des biomarqueurs candidats afin d'étudier leur expression au sein des tissus biominéralisateurs en qPCR. Notamment, leurs profils d'expression au sein de greffons de hauteurs de découpe 10/90 et 90/10 (voire bourrelet et central). Des poches perlières issues de ces types de greffons seront analysés afin d'étudier une corrélation éventuelle avec la qualité des perles.

## Approche SAGE :

### Grefe expérimentale « ADEQUA#1 »

La greffe expérimentale ADEQUA #1 (Figure 17), réalisée au centre des métiers de la Nacre et de la Perle (CMNP) en novembre 2007, réalisée dans le cadre du GDR « Amélioration de la Qualité des Perles (ADEQUA). Elle avait pour objectif d'obtenir des échantillons de deux types de greffons et de poches perlières, 3 et 59 jours après greffe, afin d'en comparer leur transcriptome mais aussi leur protéome (travaux réalisés en collaboration avec le laboratoire "Physiologie et Ecophysiologie des Mollusques Marins" <http://www.unicaen.fr/ufr/ibfa/lbbm/> dans le cadre du GDR ADEQUA). Ces échantillons de greffons et de poches perlières ont été utilisés pour la constitution des quatre banques SAGE. La banque EST a été réalisée à partir d'échantillons de manteaux de *P. margaritifera*. Deux banques SAGE ont été réalisées à partir d'échantillons de greffons: (i) une banque SAGE de greffons de valve gauche (10/90) et (ii) une banque SAGE de greffons de valve droite (90/10). Les deux autres banques SAGE ont été réalisées à partir d'échantillons de poches perlières : (i) une banque SAGE de poches perlières issues d'une greffe avec un greffon de valve gauche (10/90) et (ii) une banque SAGE de poches perlières issues d'une greffe avec un greffon de valve droite (90/10).



**Figure 17** : Démarche de la greffe ADEQUA#1 pour l'analyse du transcriptome.

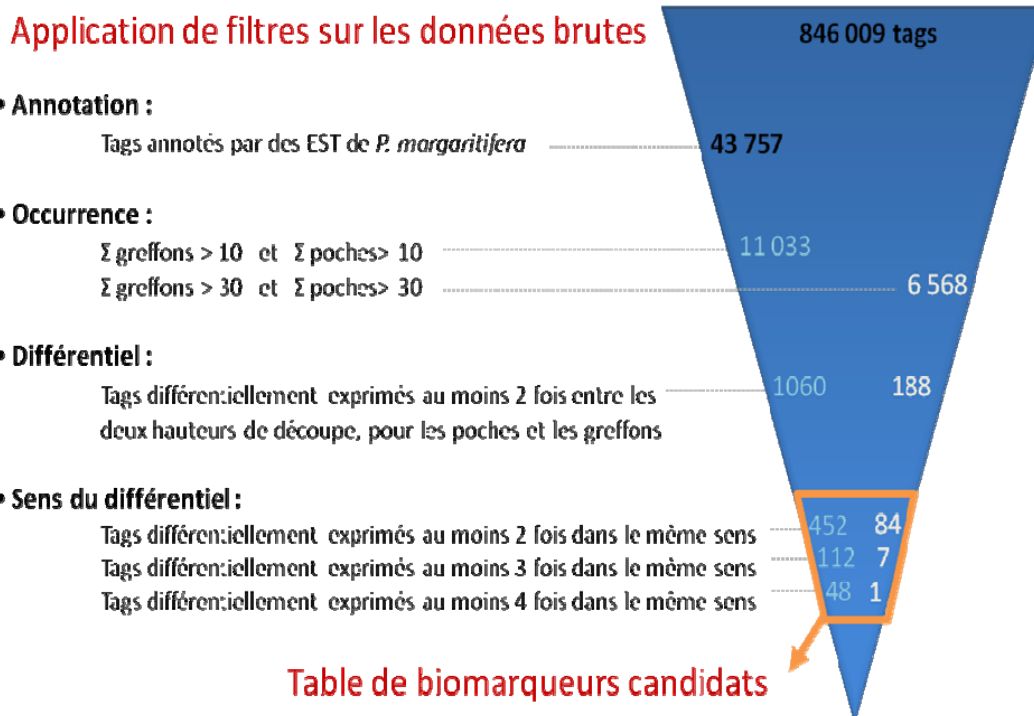
La recherche de biomarqueurs candidats consiste en la sélection de tags différentiellement exprimés entre les différentes banques SAGE. Cette sélection repose sur l'application successive d'un certain nombre de filtres aux données brutes. En fonction du type de filtre appliqué et des banques que l'on souhaite comparer entre elles, le nombre de tags différentiellement exprimés est variable. Chaque table constituée à l'issue de l'application de ces différents filtres représente une base de travail à partir de laquelle ont été sélectionnés les biomarqueurs candidats (Figure 18). Une première sélection de tags, à valider par qPCR, a ainsi été établie. 26 couples d'amorces ont été dessinés pour des tags différentiellement exprimés au moins six, cinq et quatre fois entre les banques de greffons 10/90 et 90/10, et exprimés avec un même niveau de différentiel entre les banques de poche perlière.

Par ailleurs, une recherche complémentaire par BlastN sur NCBI des contigs/EST ayant servis à l'annotation des tags différentiellement exprimés au moins quatre fois ont révélé certaines homologies intéressantes. Un contig présente notamment une homologie avec un ARNm codant l'aspéine, une protéine de la matrice coquillière de l'huître perlière *Pinctada fucata* caractérisée comme directement impliquée dans les processus de biominéralisation. Un contig présente également une homologie avec un ARNm codant une protéine de la matrice coquillière de la coquille St Jacques commune *Mizuhopecten yessoensis*. La sélection « en aveugle » de tags correspondant à des transcrits ayant des homologies avec des séquences impliquées dans les processus de biominéralisation chez des bivalves illustre la puissance de la technique SAGE.

La sélection des Tags est en phase de finalisation. Ensuite, ces « biomarqueurs candidats » devront être validés. La validation des biomarqueurs consiste à corrélérer les profils des tags observés dans les banques SAGE à une réalité biologique par qRT-PCR à partir d'échantillons de greffons et de poches perlières de différentes hauteurs de découpe (10/90 et 90/10), puis par la mise en relation de l'expression de ces biomarqueurs avec la qualité des perles.



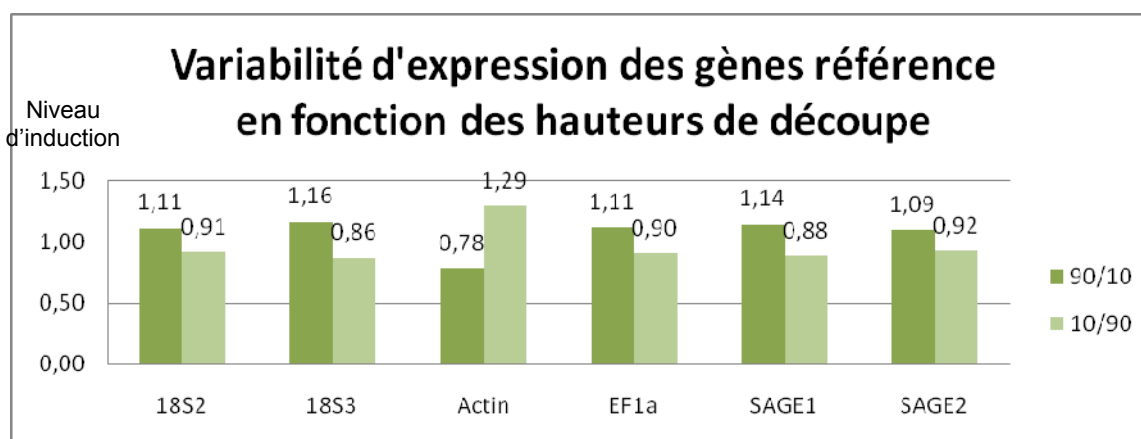
## Banques SAGE Criblage des données brutes



**Figure 18** : Illustration de filtres utilisés pour le criblage des banques SAGE

Cette validation est précédée de la mise au point des conditions de qPCR et du choix des gènes de référence. Pour cela, l'efficacité et la spécificité des couples d'amorce ont été testées, ainsi que la variabilité individuelle d'expression des gènes de référence. Deux des gènes les plus couramment utilisés sont les gènes codant pour la  $\beta$ -actine et la sous-unité ribosomale 18S. Le gène codant pour le facteur d'élongation 1 $\alpha$  (Ef-1 $\alpha$ ) est également un gène de référence classiquement utilisé en qRT-PCR. Il a notamment été utilisé comme gène de référence chez *P. fucata* dans le cadre d'étude de gènes impliqués dans la biominéralisation. Une série de couples d'amorces mise au point par le LBQP pour ces trois gènes ( $\beta$ -actine, 18S et Ef-1 $\alpha$ ) a été utilisée afin de valider ces derniers comme gènes de référence en qRT-PCR dans le cadre de l'analyse différentielle. Enfin, deux derniers couples d'amorce pour des gènes de référence ont été testés : SAGE1 et SAGE2. Ces deux gènes ont été sélectionnés dans le cadre de l'analyse de l'approche SAGE à partir de tags annotés présentant un niveau d'expression identique pour chacune des quatre banques. Ces deux gènes ont donc un niveau d'expression identique entre les deux zones fonctionnelles étudiées (hauteur de découpe 90/10 et 10/90), et ce pour les deux types de tissus minéralisateurs (greffons et poches).

La variabilité de l'expression des gènes de référence en fonction des hauteurs de découpe a été évaluée en qPCR pour les six couples d'amorces spécifiques (Figure 19). Parmi les 6 couples d'amorce spécifiques, les trois couples les plus stables ont été retenus pour servir de gènes de référence dans le cadre des expériences de qRT-PCR de validation des biomarqueurs, à savoir les gènes SAGE2, 18S2 et EF1a.



**Figure 19** : Variabilité d'expression des gènes de référence en fonction des hauteurs de découpe. La variabilité de l'expression a été déterminée pour les deux hauteurs de découpe 90/10 et 10/90 par la méthode du  $2^{-\Delta C_t}$  pour les 6 couples d'amorces spécifiques

En conclusion, quatre banques SAGE ont été constituées à partir des tissus de *P. margaritifera* impliqués dans la biominéralisation de la perle (greffons et poche perlière) représentatifs de zones fonctionnelles distinctes du manteau potentiellement corrélées à la qualité des perles. Plus de 4 millions de tags ont été séquencés et annotés grâce aux séquences de la banque EST. L'application d'un certain nombre de filtres sur les données brutes a permis de sectionner un ensemble de tags différentiellement exprimés entre les deux conditions expérimentales étudiées. Ces tags constituent les biomarqueurs candidats à valider en qPCR.

Dans cette optique, la mise au point des conditions de qPCR a été entreprise. Cette mise au point a été finalisée par la sélection de 3 gènes de référence qui serviront de contrôles dans le cadre des expériences de validation des biomarqueurs candidats. Une série de 26 couples d'amorces a été dessinée. Ces amorces seront prochainement utilisées afin d'analyser l'expression de ces gènes différentiellement exprimés sur des échantillons de greffons et de poches perlières correspondant aux deux zones fonctionnelles potentiellement associées à la qualité du dépôt.

Différents types d'échantillons sont à notre disposition pour réaliser cette validation. Dans un premier temps, les échantillons de la greffe expérimentale « Optimisation de la greffe », pourront être utilisés en qPCR. Cette greffe avait pour objectif de tester l'influence de la hauteur de découpe des greffons sur les caractéristiques des perles obtenues à l'issue d'une greffe et d'une surgreffe (convention n° 7.0007 du 11 novembre 2007 entre le Service de la Perliculture et l'Ifremer – Tahiti). De plus, nous disposons des perles pour cette expérience, qui ont été classées par le Service de Perliculture, et dont les caractéristiques ont toutes été évaluées au LBQP (convention n° 7.0007 Mai 2009). Cela nous permettra donc de mettre directement en relation l'expression des biomarqueurs au sein de ces tissus et la qualité des perles. Nous disposons également d'échantillons de greffons et de poches perlières provenant des greffes expérimentales ADEQUA#1 et ADEQUA#2. Les perles de la greffe ADEQUA#1 ont été récoltées et sont en cours d'analyses. La greffe ADEQUA#2 est encore en cours et s'achèvera en Mai 2010. Les échantillons obtenus grâce à ces deux greffes serviront de répétition biologique dans le cadre des expériences de validation des biomarqueurs en qPCR.

De façon appliquée, les biomarqueurs développés pourront servir de « marqueurs de sélection » d'huîtres donneuses de greffons de « haute propriété » de minéralisation. Ces marqueurs pourront alors être directement appliqués aux travaux d'amélioration génétique des huîtres donneuses.

## Identification de marqueurs de minéralisation - approche « gènes candidats »

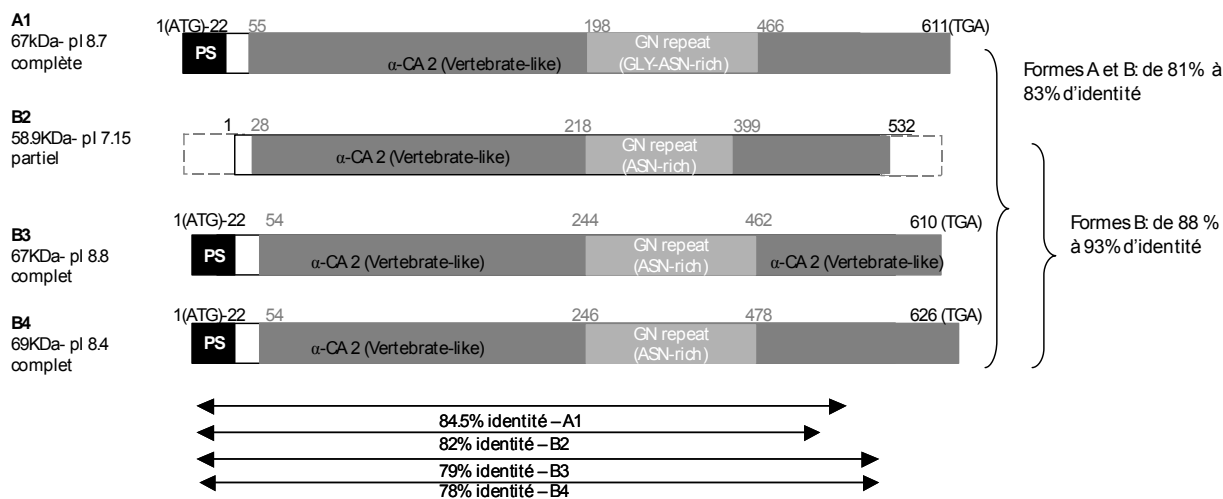
### Caractérisation de gènes de minéralisation

Trois familles de gènes impliqués dans les processus de minéralisation ont maintenant été identifiées à partir de manteaux de *P. margaritifera*. Outre le gène de la *Perline*, dont nous avons obtenu précédemment la séquence complète (Montagnani *et al.* 2006), l'identification des séquences complètes des gènes de la famille *Calcine* a été poursuivie et l'identification d'un troisième gène, appelé *Aspéine*, a été entreprise.

Des avancées ont ainsi été réalisées sur la caractérisation des gènes « *calcine* ». La recherche par homologie de séquence d'un gène codant la « Nacrein » identifiées chez d'autres organismes nacrés (huîtres perlières, burgau) combinée à l'analyse de séquences à partir de la banque d'EST de *P. margaritifera* a permis de mettre en évidence un total de 13 séquences protéiques différentes de Calcine (homologue de la Nacrein). Ces séquences ont pu être réparties en 2 groupes (A et B) comportant 4 isoformes (A1, B2, B3, B4). Les séquences complètes de 3 isoformes (A1, B3, B4) ont été obtenues à ce jour (Figure 20). Les analyses des séquences protéiques déduites montrent que toutes les isoformes possèdent deux domaines anhydrase carbonique de type alpha séparés par une zone de répétition des acides aminés GN qui semble propre aux protéines de mollusques. La plus forte homologie rencontrée pour ces protéines Calcine est avec la protéine de type Nacrein N66 (78 à 85% d'identité) isolée à partir de la zone nacrée des coquilles de *Pinctada maxima*. De plus, les sites catalytiques des protéines de la famille des anhydrases carboniques semblent être bien conservés tout comme les sites de liaison au zinc, essentiels pour le fonctionnement de cette metallo-enzyme (Figure 21). On retrouve en effet, 27 des 40 résidus conservés de ce site, dans la séquence de la forme A1 et 26 dans les formes B suggérant la conservation de cette fonction enzymatique chez les huîtres perlières.

## Calcine-Nacrein

### *P. margaritifera*



**Figure 20** : Comparaison des séquences protéiques des différentes isoformes de Calcine de *P. margaritifera* entre elles et avec une séquence homologue de l'huître perlière *P. maxima* (Nacrein N66). Les domaines caractéristiques conservés au sein des protéines sont indiqués par des cadres (domaine anhydrase carbonique en gris foncé, domaine de répétition GN en gris clair, les peptides signaux sont indiqués en noir (PS)).

Par ailleurs, nous avons montré que ces gènes étaient exprimés uniquement au niveau de l'épithélium minéralisateur du manteau chez *P. margaritifera*. Ces données ont été complétées par l'analyse de l'expression de ces isoformes au sein de différents manteaux d'huîtres perlières révélant que plusieurs formes peuvent être exprimées chez un même individu. Ces résultats suggèrent donc la présence de multiples protéines de type Calcine au sein du tissu minéralisateur. Ces analyses seront complétées par une quantification du taux d'expression de ces différentes isoformes au sein des tissus minéralisateurs (greffons, manteaux, sacs perliers), notamment sur les échantillons issus de la greffe ADEQUA2.

Ces dernières analyses devront nous éclairer sur le rôle spécifique que pourrait jouer ces isoformes et leur implication dans la qualité des perles. En effet, les protéines homologues à la Calcine, analysées chez divers mollusques, ont été isolées au sein des couches nacrées de coquilles. Cependant, la Nacrein a également pu être mise en évidence au sein des couches prismatiques, et les transcrits ont pu être localisés à tous les niveaux de l'épithélium minéralisateur du manteau suggérant que ce type de protéines pouvait être impliqué à tous les niveaux de la minéralisation de la coquille. Ces études ont également mis en évidence une régulation négative des dépôts de nacre par ces protéines mais ne font pas mention d'une telle diversité de séquence par organisme. Comme on peut le voir, un paradoxe semble exister quand au rôle de ces protéines dans la minéralisation des coquilles qui pourrait reposer sur l'existence d'une grande variété de protéines aux propriétés minéralisatrices différentes. Il sera donc intéressant de déterminer le niveau d'implication de chacune de nos isoformes dans la régulation des mécanismes de biominéralisation liées à la formation d'une perle.

```

αCA active site
Pmarg_B2 -----DDHYMDMDKTYRNRWGNCHYSGGSSCDAGFSYN 33
Pmarg_B3 MWRMTTLLHLTSLVLVLIPLCHCASMHRHDHYMDMDKTYRNRWGNCH-SGGNSCDAGFSYN 59
Pmarg_B4 MWRMTTLLHLTSLVLVLIPLCHCASMHRHDHYMDMDKTYRNRWGNCHYSGGSSCDAGFSYN 60
Pmarg_A1 MWRMTTLLHLTSLVLVLIPLCHCASMHRHDHYMDMDQTYPDRWGNCHYSGGSSCDAGFSYN 60
Hs_CA2 -----MSHHWGYGKHNGPEHWHKDFPIA 23

αCA active site
Pmarg_B2 REQSEEQCHGPDWHTISSCFKACGSKERQSPINIWSHRALFR-ILPRLKFKPHMKSLDT 92
Pmarg_B3 REQSEEQCHGPDWHTISSCFKACGSKKRQSPINIWSHRALFR-RLPRLKFKPHMKSLDT 118
Pmarg_B4 REQSEEQCHGPDWHTISSCFKACGSKERQSPINIWSHRALFRHKLRLKFKPHMKSLDT 120
Pmarg_A1 R----KICQGPYYWHTISSCFKACGSKKRQSPINIWSHRAVFLPYLRLKFKPHMKSLDT 116
Hs_CA2 K-----GERQSPVDIDTHTAKYDPSLKLPLSVSYDQATSLR 58

NN HAFN E IQ H H SEH
Pmarg_B2 KVSNHQNHAFPEFDSSEDEKLVKLVKLVLDGHIYKFRNLHIHIGKSRKRGSEHSVDRHFTPM 151
Pmarg_B3 KVSNHQNHAFPEFDSSEDEKLVKLVKLVLDGHIYKFRNLHIHIGKSRKRGSEHSVDRHFTPM 177
Pmarg_B4 KVSNHQNHAFPEFDSSEDEKLVKLVKLVLDGHIYKFRNLHIHIGKSRKRGSEHSVDRHFTPM 179
Pmarg_A1 EVTNHQNRAPFEPEDGSKLVKLVLDGHIYKFRNLHIHIGKSRKRGSEHSVDRHFTPM 176
Hs_CA2 ILNNG--HAFNVEFDDSDQKAVLKGGLDGTYRLIQHFHWGSLDQGGSEHTVDDKYYAA 116

E H V F L V G
Pmarg_B2 EAHLVFRHDEKKEIKPSRIWLGKNYNGSNEFVVVGVFLEVGEDEGYDEPDDECKRILKG 211
Pmarg_B3 EAHLVFRHDEKKEIRPPRIWLGKNYNGSNEFVVVGVFLEVGEDEGYDEPDDECKRILKG 237
Pmarg_B4 EAHLVFRHDEKKEIKPSRIWLGKNYNGSNEFVVVGVFLEVGEDEGYDEPDDECKRILKG 239
Pmarg_A1 EAHLVFRHDEKKEIKPPRVKFGVVRGRNQFVVVGVFLEVGEDEGYDEPDDECKRILKG 236
Hs_CA2 ELHLVHWNTKYG-----DFGKAVQPDGLAVLGIKLVKGSAPG----- 155

(...)

αCA active site
Pmarg_B2 KSLDVEITPEMVLPPINRYQYYTYEGSLTTPPCNETVLWVVEKCHVQVSRRLVDALRNVE 513
Pmarg_B3 KGLDVEITPEMVLPPIKYRQYYTYEGSLTTPPCDETVLWVVEKCHVQVSRRLVDALRKVE 579
Pmarg_B4 KSLDVEITPEMVLPPIKYRQYYTYEGSLTTPPCNETVLWVVEKCHVQVSRRLVDALRKVE 595
Pmarg_A1 KGLDVEITPEMVLPPIKYRQYYTYEGSLTTPPCNETVLWVVEKCHVQVSRRLVDALRNVE 580
Hs_CA2 -----FDPGRLLP--ESLDYWTYPGSLTTPPLLECVTWIVLKEPISVSSEQVLKFRKLN 229

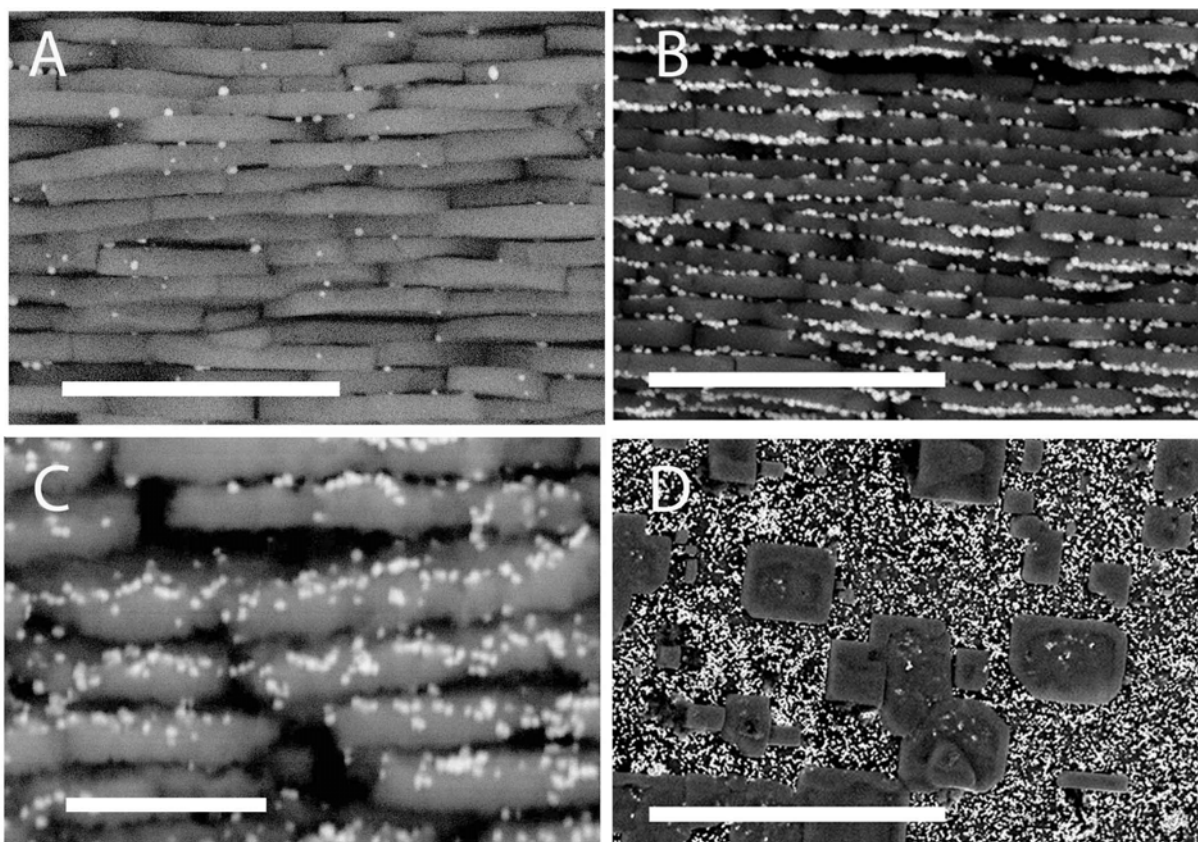
αCA active site
Pmarg_B2 GYDDGTTLKSKFGTRRPTQR----- 532
Pmarg_B3 GYDDGTTLKSKFGTRRPTQRNIKPVVYKNF I 610
Pmarg_B4 GYDDGTTLKSKFGTRRPTQRNIKPVVYKNF I 626
Pmarg_A1 GYEDGATLSKYGTRRPTQRNKHPLPVYKNF I 611
Hs_CA2 FNGEGEPEELMVDNWRPAQPLKNRQIKASF I 260

```

**Figure 21** : Alignement des séquences protéiques des isoformes de la Calcine et d'un représentant des anhydrase carbonique de type alpha (CA) chez l'homme. Les résidus composant la signature du site actif des anhydrases carboniques de type alpha sont indiqués au dessus de l'alignement et surlignés en gris lorsqu'ils sont conservés.

La finalisation de la caractérisation de cette famille de gènes (Calcine), comme la caractérisation du gène de l'aspéine, ainsi que l'étude de leur implication dans la formation et la qualité des perles sera poursuivie. Les analyses transcriptomiques permettront de tester l'implication de chaque isoforme dans les processus de minéralisation de la perle (localisation et quantification de l'expression au sein des tissus minéralisateurs) et d'établir si une des isoformes pourrait représenter un biomarqueur potentiel de minéralisation.

Par ailleurs, une protéine Perline recombinante et un anticorps dirigé contre cette protéine avaient été produits. En collaboration avec le laboratoire « Biogéosciences » (B.Marie et F.Marin, CNRS-Université de Bourgogne), l'analyse des propriétés biochimiques et la localisation de cette protéine a été entreprise. Nous avons pu montrer que la Perline possédait des capacités de liaison à la chitine et au calcium. Elle a été spécifiquement localisée au sein des cristaux d'aragonite (nacre) dans l'épaisseur des coquilles (figure 22). Ces données ont donc permis de confirmer l'implication de cette protéine dans la structure de la nacre.



**Figure 22** : Immuno-localisation de la protéine Perline au sein des coquilles d'huître. Images en microscopie électronique à balayage (mode retrodiffusé) de coupes de nacre marquées à l'aide d'un anticorps polyclonal dirigé contre la protéine Perline recombinante (dilution 1/1000). A à C : vues transversales ; D : vue interne de la zone de formation de la nacre. A) contrôle négatif sans anticorps. Les barres d'échelles représentent des longueurs de 10  $\mu\text{m}$  (A,B) , 2  $\mu\text{m}$  (C) and 40  $\mu\text{m}$  (D).

## Conclusion

En conclusion, ces travaux ont permis pour la première fois de mettre en lumière les bases moléculaires de la formation des perles. Ce processus biologique appelé biominéralisation était jusqu'alors largement méconnu chez cette espèce d'huître perlière, *Pinctada margaritifera*.

L'approche globale employée a reposé sur l'étude des différents tissus minéralisateurs impliqués dans la biominéralisation des perles (greffon, sac perlier) à différents niveaux moléculaires : niveaux génomique comme protéomique. Ces approches d'analyse des cellules épithéliales des greffons et de poches perlières avaient pour but de caractériser des gènes ou protéines impliqués dans la minéralisation et de développer des biomarqueurs associés à la qualité de la perle.

A ce jour, les premières étapes d'analyse du transcriptome ont été réalisées avec la constitution des quatre banques SAGE de greffons et de poches perlières, et de la banque EST de manteau. L'approche EST a permis d'obtenir une base de données génomiques jusqu'alors inexplorée constituée de 20371 contigs. Ces données ont permis de mettre en évidence la conservation de 70 protéines de bivalves impliquées dans les processus de biominéralisation, 38 chez les gastéropodes. Associées aux trois familles de gènes par ailleurs identifiés par une approche « gènes candidats », ces séquences représentent autant de voies d'exploration nouvelles des processus de minéralisation mais aussi de

biomarqueurs potentiels de la qualité des perles. L'approche SAGE a permis de mettre en évidence des gènes différenciellement exprimés au sein des tissus minéralisateurs.

La validation des biomarqueurs potentiels ainsi identifiés est réalisée par PCR quantitative en utilisant les ADNc issus de greffons et poches perlières provenant de deux greffes expérimentales indépendantes, dont la dernière est en cours de réalisation. Le taux d'expression de ces gènes pourra alors être associé, ou non, à la qualité des perles.

Les gènes marqueurs de la minéralisation développés par cette approche seront ensuite directement utilisés dans des études de caractérisation fonctionnelle des tissus responsables de la minéralisation : le manteau, le greffon et la poche perlière. Ce travail pourra être abordé sous deux aspects distincts, mais tout à fait complémentaires :

- *Une quantification de l'expression de ces marqueurs par PCR quantitative* : Ces résultats apporteront un éclairage plus précis sur le niveau d'expression de ces marqueurs à l'échelle tissulaire ou individuelle, et constitueront une aide précieuse pour la sélection des greffons et des individus présentant de grandes qualités de minéralisation.

- *Une analyse du patron d'expression de ces marqueurs par Hybridation In Situ (HIS) au sein des différents compartiments de la greffe* : Cette démarche est particulièrement intéressante dans le cadre de l'étude du déterminisme des défauts, car elle permettra d'identifier des zones fonctionnelles du manteau impliquées dans un type de minéralisation donné.

Parallèlement à la caractérisation fonctionnelle des biomarqueurs identifiés via l'étude de leurs profils d'expression, une caractérisation biochimique a également été entreprise sur certains candidats. Associés aux analyses structurales des différents compartiments de la greffe, ces approches constituent autant d'outils qui pourront être appliqués afin de déterminer le niveau d'implication de ces biomarqueurs dans les processus de biominéralisation.

Les données obtenues permettront ainsi d'avoir une vision globale des événements de transcriptomique et protéomiques encore inexplorés, et ouvriront de nombreuses pistes vers une meilleure compréhension du fonctionnement des tissus responsables de la minéralisation. Tous ces gènes constitueront autant de marqueurs potentiels de la qualité de la perle qui pourront constituer des outils de sélection d'huîtres donneuses de greffon de hautes propriétés minéralisatrices.

## GDR ADEQUA

L'amélioration de la qualité des perles est un axe essentiel des recherches menées depuis 2003 par le Laboratoire de Biotechnologie et Qualité de la Perle du centre Ifremer de Tahiti en collaboration avec le Service de la Perliculture Polynésien. Dans le cadre de l'aboutissement de plusieurs années de recherche fructueuse concernant des sujets exprimés par les professionnels de la perliculture, un nouveau groupe de recherche scientifique (GDR) s'est construit autour de la problématique des défauts des perles. Il s'agit du GDR ADEQUA pour « Amélioration DE la QUALité des perles de Polynésie ». En construction depuis 2006, le GDR ADEQUA officiellement démarré né fin 2008. Il est prévu sur 4 ans et est financé par le Pays et l'Ifremer.

L'intérêt du GDR réside dans la pluridisciplinarité des 10 laboratoires impliqués et dans l'harmonisation des objectifs. Le GDR a permis d'ouvrir la voie à un nombre élargi d'experts et de moyens techniques, auxquels une recherche localisée en Polynésie seule ne pourrait répondre. Il regroupe les laboratoires de l'Ifremer Tahiti, Montpellier, les Universités de Polynésie, Caen, Orsay et Dijon, le laboratoire EPHE, Criobe et les laboratoires de Skuldtech et Texinfine. Le GDR se concrétise par un protocole d'accord entre l'Ifremer, les laboratoires et le Pays qui fixe les orientations de recherche et définit la propriété et la diffusion des résultats. Le premier comité de pilotage du GDR a eu lieu le 11 mars 2009 à Tahiti en présence des représentants du Service de la Perliculture, des représentants des professionnels de la perliculture, de la déléguée à la Recherche de Polynésie, et de l'Ifremer.

Différents résultats ont été présentés et discutés. Ils ont concerné l'étude de paramètres importants pour la réussite de la greffe : facteurs environnementaux (température, nourriture, site d'élevage), zootechnie (mesures d'hygiène, nettoyage, préparation des huîtres receveuses) et de l'acte opératoire de greffe (choix et découpe des greffons...). Par ailleurs, des résultats préliminaires ont concerné un des points fondamentaux de la recherche menée dans le GDR : l'amélioration des connaissances sur les cellules minéralisatrices du greffon et du sac perlier et la compréhension des relations entre ces cellules et les caractéristiques des perles récoltées (type de minéral déposé autour du nucleus, aragonite ou calcite, couleur, présence ou non de défauts, croissance, forme...). Enfin, la description des principaux défauts des perles et leur origine (cerclage, piqûres...) ainsi que l'identification de la couleur des perles ont été abordés. A l'issue des 4 ans, ces travaux devraient permettre d'obtenir d'importantes données qui pourront apporter des réponses concrètes et applicables pour maîtriser et améliorer la qualité des perles : sélection des huîtres donneuses de greffons pour leur couleur et/ou pour la croissance des perles produites ; solutions pratiques pour améliorer la réussite de la greffe par une standardisation technologique : sélection d'un greffon de qualité, du meilleur nucleus, du meilleur enrobage, techniques de greffe maîtrisées...

Outre l'implication de l'Ifremer dans les activités scientifiques du GDR, les équipes de Polynésie organisent pour l'ensemble des partenaires du GDR la greffe expérimentale appelée ADEQUA#2. L'ensemble des échantillons récoltés dans le cadre de cette greffe expérimentale permettra aux équipes de recherche impliquées de le GDR de réaliser une analyse dynamique des différents compartiments de la greffe depuis le greffon, la mise en place du sac perlier, de son devenir au cours de la greffe et de son implication dans la minéralisation et la qualité des perles. Cette greffe expérimentale a débuté en novembre 2008 et a été réalisée à l'antenne du PRL de Rangiroa (Tuamotu, Polynésie française) (Figure 23). Au cours de cette greffe, toutes les huîtres greffées ont été identifiées en fonction des huîtres donneuses de greffon, ce qui permet d'échantillonner en parallèle, des sacs perliers provenant des mêmes huîtres donneuses pour chaque laboratoire. Les temps de prélèvements s'échelonnent jusqu'à mai 2010: J0 (greffons) puis J1- J7- J21 -M2 -M3 -M6-M12 - M18 (poches perlières).

Au 1er décembre 2009, 7 points de prélèvements ont été réalisés et les principales données concernant ces greffes sont les suivantes:

- Rappel des paramètres de greffe :
  - o Nombres d'huîtres greffées : 1952
  - o Nombre d'huîtres donneuses : 40
  - o Greffons : afa/afa, Nucléus : 2.4 bio
- Echantillonnages:
  - o Analyses transcriptomique et biochimique : 1000 échantillons de greffons, poches perlières et perles
  - o Analyses protéomique globale (partenaire GDR) : 360 échantillons de greffons et poches perlières
  - o Analyses cristallographiques (partenaire GDR) : 360 échantillons de perles
  - o Analyses des mécanismes cellulaires de mise en place du sac perlier (partenaire GDR) : 201 échantillons de greffons et poches perlières.





**Figure 23 : Photos prises lors de la greffe expérimentale.** A gauche, huîtres perlières *Pinctada margaritifera* préparées pour la greffe et à droite, greffeurs préparant ses greffons, juste avant l'acte de greffe. Ces échantillons de greffons seront analysés pour déterminer l'impact de l'huître donneuse sur la qualité finale de la perle.

A l'issue de ces six missions, le plan d'échantillonnage a pu être respecté. 12 mois après la greffe, le contrôle est complet et nous observons des taux de rejet de 10.1% et de mortalité de 14.7% qui permettent d'envisager une bonne continuation des échantillonnages pour le dernier prélèvement, 18 mois après la greffe. Une analyse de la qualité des perles récoltées jusqu'alors sera réalisée début 2010 (prise photos, épaisseur de nacre, poids, défauts de surface) et les résultats seront fournis aux différents partenaires pour compléter et éclairer leurs analyses.

## Bibliographie

- Cochennec-Laureau N., Cochard J.C, Levy P., Haffner P. et Tréguier C. (2005). Etude comparative de la qualité des nucleus commercialisés en Polynésie Française : influence sur la qualité de la perle. Rapport de convention Ifremer – PRL n° 4.0019.
- Gotliv, B. A., N. Kessler, et al. (2005). "Asprich: A novel aspartic acid-rich protein family from the prismatic shell matrix of the bivalve *Atrina rigida*." *Chembiochem* 6(2): 304-14.
- Marin, F., R. Amons, et al. (2005). "Caspartin and calprismin, two proteins of the shell calcitic prisms of the Mediterranean fan mussel *Pinna nobilis*." *J Biol Chem* 280(40): 33895-908.
- Marin, F. and G. Luquet (2004) Molluscan shell proteins *C.R. Palevol* 3: 469-492.
- Montagnani C., Belliard C., Hui B., Levy P., Cochennec-Laureau N. (2006). Etude du déterminisme des défauts à la surface des perles de l'huître perlière, *Pinctada margaritifera*. Rapport de convention Ifremer- PRL n° 5.0117.
- Takeuchi, T. and K. Endo (2006). "Biphasic and dually coordinated expression of the genes encoding major shell matrix proteins in the pearl oyster *Pinctada fucata*. *Mar Biotechnol* (NY) 8(1): 52-61.
- Tréguier C., Hui B., Montagnani C., Cochennec-Laureau N. (2006) Analyse de l'opération de greffe pour en optimiser les résultats. Rapport final de la convention Ifremer- PRL N° 6.0133
- Tsukamoto, D., I. Sarashina, et al. (2004). "Structure and expression of an unusually acidic matrix protein of pearl oyster shells." *Biochem Biophys Res Commun* 320(4): 1175-80.

## OPTIMISATION DE LA COLLECTE DE NAISSAIN ET GESTION DES LAGONS (A070705)

L'objectif général de cette étude est d'améliorer la connaissance scientifique sur les larves d'huîtres perlières, et sur les conditions de leur développement jusqu'à la fixation. L'objectif appliqué qui en découle est à terme l'élaboration d'outils permettant une gestion intégrée et durable de l'activité de captage de naissain de *Pinctada margaritifera*.

Le travail de cette action est organisé en trois axes :

- définition d'un outil pour la reconnaissance spécifique des larves
- étude de la ressource trophique et de la distribution larvaire dans un lagon atelier (Ahe, archipel des Tuamotu).
- étude de l'écophysiologie larvaire et développement d'un modèle de croissance puis d'un modèle de dispersion.

### Reconnaissance spécifique des larves de l'huître perlière

Pour mener des études sur la croissance et le suivi de cohortes larvaires *in situ*, il est nécessaire de disposer d'un outil de reconnaissance des larves de *P. margaritifera* qui soit non destructif, qui permette l'identification individuelle des larves, leur comptage et la détermination de leur stade de développement. Cet outil doit aussi permettre la lecture rapide d'une série temporelle de prélèvements.

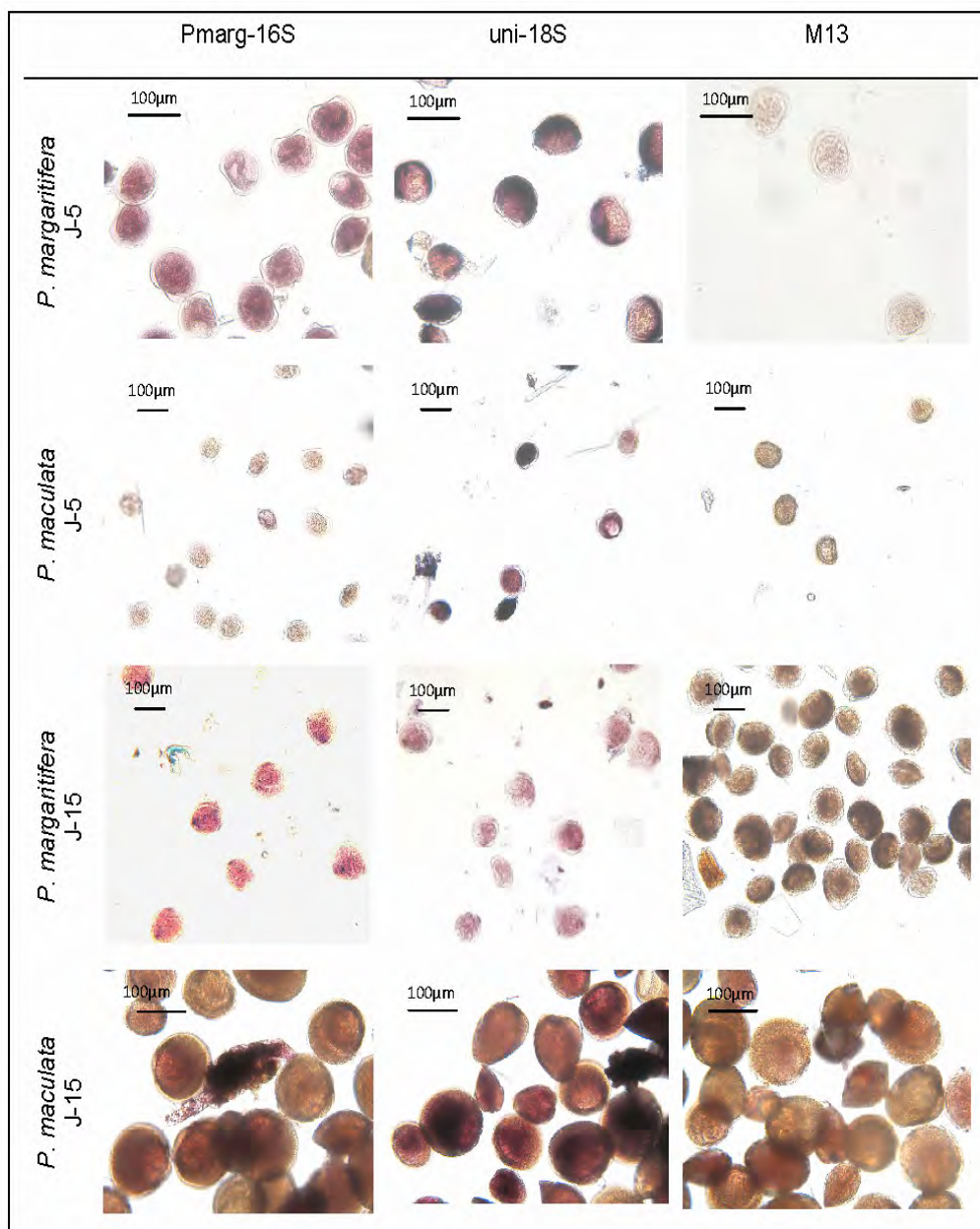
Évaluée en premier lieu, la reconnaissance morphologique des larves a montré ses limites, par la non discrimination spécifique entre *P. margaritifera* et *P. maculata*. L'adaptation d'une méthode d'immunomarquage aux larves de *P. margaritifera* par l'obtention d'anticorps de cette espèce a été ensuite menée. Mais les résultats des marquages réalisés n'ont pas plus permis d'atteindre une spécificité suffisante pour les besoins de l'étude, les larves des deux espèces étant également marquées à environ 80%.

Nous nous sommes alors basés sur le récent développement d'une méthode d'hybridation *in situ* pour l'identification des larves d'espèces de bivalves de milieu tempéré (Le Goff-Vitry *et al.*, 2007 ; Pradillon *et al.*, 2007). Cette méthode, non destructive, permet d'identifier les larves à partir du marquage coloré de sondes spécifiques hybridées au matériel génétique des larves.

Une sonde spécifique codant pour le gène 16S de l'ARN ribosomal de *P. margaritifera* a été identifiée. Parallèlement, une sonde universelle codant pour le gène 18S de l'ARN ribosomal et une sonde non spécifique ont été respectivement identifiées et utilisées comme contrôles positif et négatif. Après vérification de la spécificité des sondes par la technique du « dot-blot » sur des extraits d'ADN des deux espèces *P. margaritifera* et *P. maculata*, la technique d'hybridation *in situ* a été appliquée sur des échantillons mono-spécifiques de larves des deux espèces à deux stades de développement (5 et 15 jours). Enfin, l'hybridation *in situ* a été appliquée à des échantillons présentant des proportions variables des deux espèces avec des larves âgées de 5 jours.

Le résultat des hybridations *in situ* sur les échantillons mono-spécifiques (Figure 24) nous a permis de distinguer avec succès les deux espèces, au stade larve-D et larve évoluée (15 jours). Cependant, nous avons connu plus de difficultés pour identifier les larves évoluées, principalement du fait de l'épaisseur de leur coquille qui a rendu moins efficace l'étape de perméabilisation. Néanmoins, le marquage des larves aux deux stades de développement s'est avéré positif avec le même protocole d'hybridation. Les hybridations sur des

échantillons bi-spécifiques nous ont permis de discriminer les larves de *P. margaritifera* de celles de *P. maculata* et de retrouver les proportions attendues.

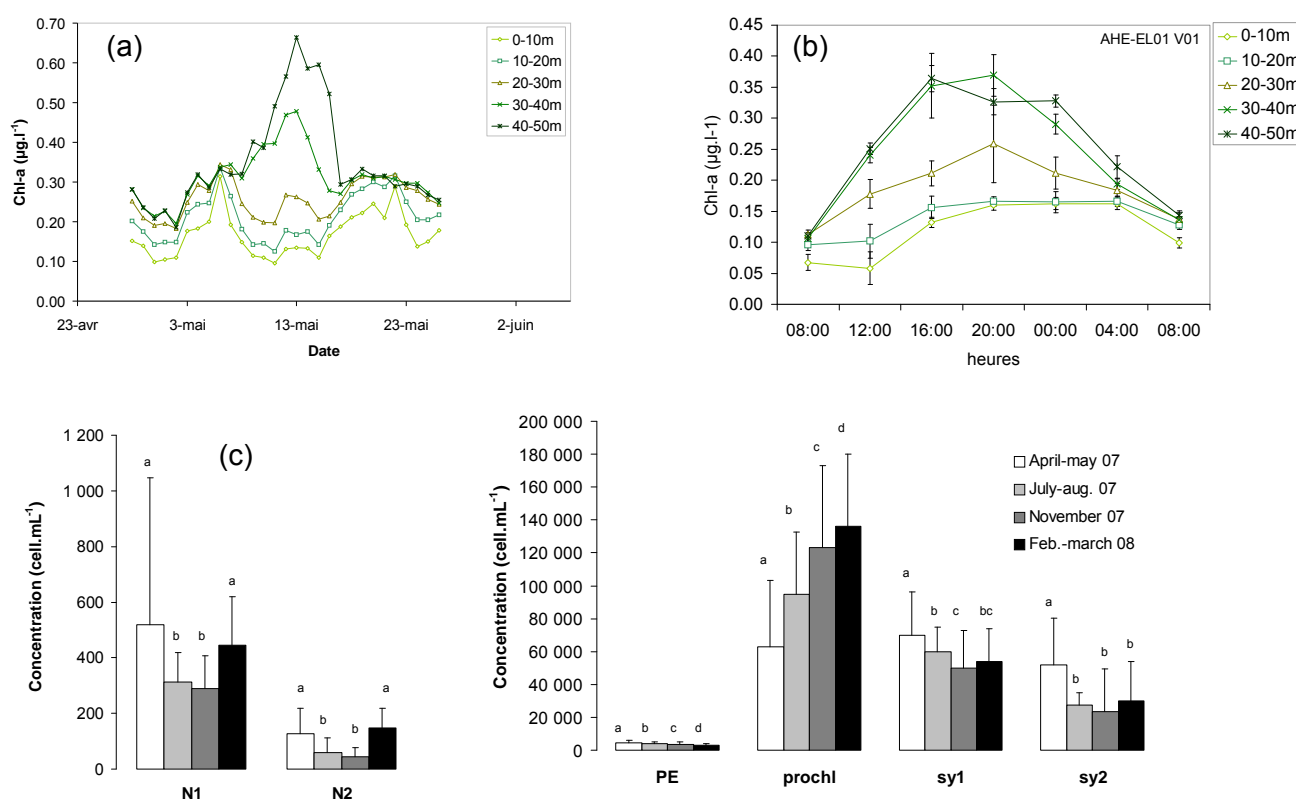


**Figure 24** : Marquages par hybridation *in situ* sur des échantillons monospécifiques de larves d'âges différents. La sonde spécifique de *P. margaritifera* (Pmarg-16S), la sonde témoin positive (Uni-18S) et la sonde témoin négative (M13) ont été appliqués sur des larves J5 et J15 de *P. margaritifera* et *P. maculata*. Les barres d'échelle sont représentées sur les images.

Nous disposons à présent d'une méthode d'identification spécifique des larves de l'huître perlière. Si la méthode a été définie, le protocole de sa mise en œuvre au-delà du laboratoire doit encore être clairement établi. Il nous reste à valider l'outil sur des séries d'échantillons de plancton naturel reflétant la variété de ceux qui devront être examinés. L'objectif sera bien de rendre possible une utilisation en routine de cette méthode sur un grand nombre de prélèvements.

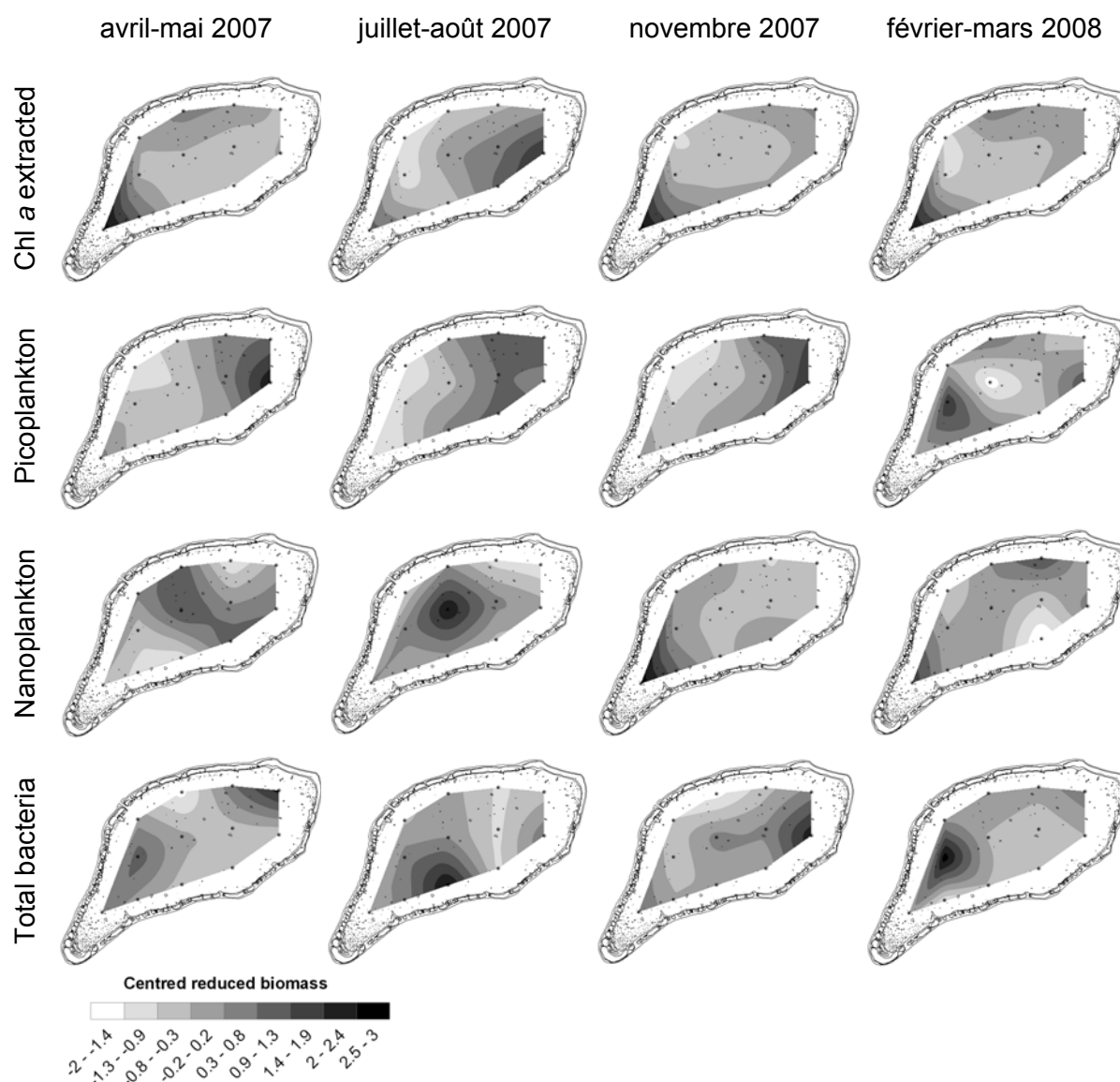
## Hétérogénéité environnementale

L'analyse des prélèvements des quatre campagnes réalisées *in situ* sur l'atoll de Ahe a permis de mettre en évidence une variabilité spatio-temporelle significative des concentrations aux différents niveaux d'étude. En ce qui concerne la chlorophylle-a *in vivo*, une nette stratification verticale apparaît lors des périodes de faible vent (Figure 25.a), avec un cycle nyctéméral marqué (Figure 25.b). Notre étude a également permis d'identifier les différentes communautés pico et nano-planctoniques présentes dans le lagon d'Ahe. Ainsi deux communautés de nano-plancton (N1 et N2) et 4 communautés de pico-plancton : *Prochlorococcus* (prochl), des pico-eucaryotes (PE) et deux *Synechococcus* (sy1 et sy2) ont été identifiées. Les communautés pico-planctoniques représentent  $83\% \pm 4\%$  de la biomasse autotrophe totale. Des variations de leurs concentrations ont été mises en évidence à courte échelle temporelle (Figure 25.c) ainsi qu'à l'échelle saisonnière (Figure 25.d).



**Figure 25** : Extrait de résultats exposant (a) la variation de la concentration en Chlorophylle-a *in vivo* par tranches d'eau de 10m au cours de la première campagne, (b) la variation nyctémérale de la concentration en Chlorophylle-a *in vivo* au cours d'un cycle de 24h sur la station V01 en avril 2007 et (c) la variation des concentrations des différentes communautés pico et nano-planctoniques au cours des quatre campagnes.

Des variations significatives ont été montrées à toutes les échelles. La variation temporelle intra campagne de cette biomasse phytoplanctonique est significative à petite échelle, avec une stratification verticale en période de vent faible et un mélange en vent fort. La variation inter campagne est également significative, la biomasse étant plus élevée en période plus chaude.



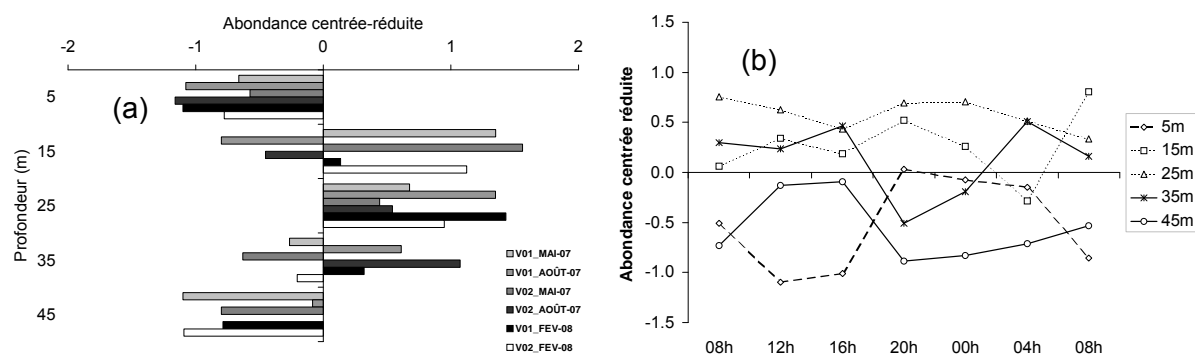
**Figure 26** : Variations à l'échelle du lagon des valeurs centrées-réduites de la concentration en Chlo-a totale et de la biomasse du pico-, du nano- et du bactérioplancton au cours des 4 campagnes.

Localement, en termes de Chl-a in vivo, la colonne d'eau est significativement stratifiée et des gradients horizontaux apparaissent. Le coefficient moyen de variation à 5 m est supérieur à 20% pour les communautés de *Syneccoccus* et le nano-plancton. A l'échelle du lagon, la biomasse phytoplanctonique montre une structure est-ouest avec 2 zones plus concentrées près des côtes est et ouest et une zone moins concentrée en face de la passe (Figure 26).

Les profils verticaux montrent une stratification significative avec une biomasse de phytoplancton plus élevée dans les eaux plus profondes, particulièrement au centre et à l'ouest. Des variations quantitatives de la ressource trophique telles qu'elles ont été mises en évidence sont susceptibles d'influencer le développement larvaire. Une évaluation de la relation entre hétérogénéité environnementale et paramètres de développement des larves doit être réalisée.

## Distribution larvaire et recrutement

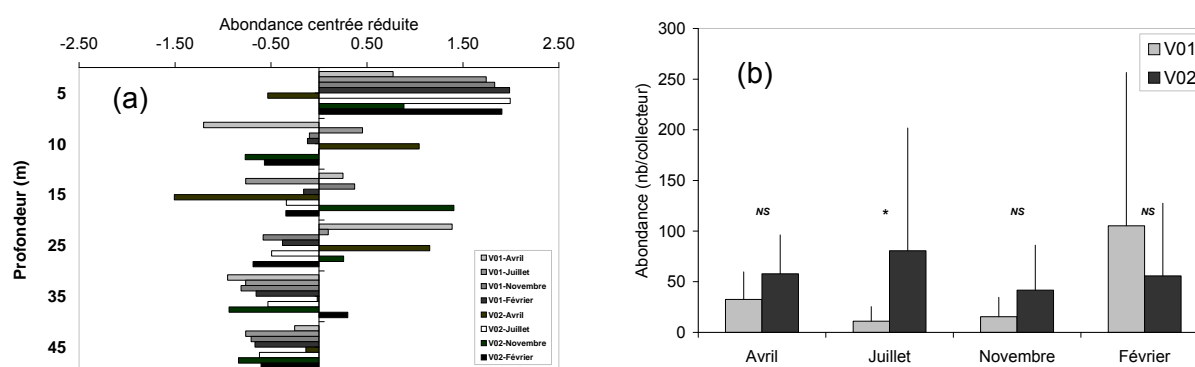
L'analyse des échantillons de plancton récoltés permet d'identifier les patrons de répartition des larves de bivalves aux différentes échelles spatio-temporelles. Il apparaît ainsi une nette structuration verticale des concentrations en larves de bivalves (Figure 27.a). Ces dernières sont principalement réparties en début de journée dans la tranche d'eau médiane, entre 15 et 35 mètres de fond. Les suivis sur 24h mettent cependant en évidence l'existence d'une migration verticale vers la surface la nuit et vers le fond la journée (Figure 27.b).



**Figure 27** (a) abondances centrées réduites de larves de bivalves le long du gradient bathymétrique pour les 2 stations et les 3 cycles, (b) évolution des abondances centrées réduites dans les 5 tranches d'eau étudiées au cours des cycles nyctéméraux

A l'échelle du lagon, une structuration spatiale apparaît nettement d'est en ouest et deux zones plus concentrées sont identifiées à l'est et à l'ouest alors qu'une 3ème zone moins concentrée est située face à la passe. Une variation saisonnière apparaît mais la structure générale se maintient avec des transferts apparents entre zones.

Enfin, l'analyse des collecteurs expérimentaux disposés au cours des quatre campagnes, permet d'identifier une profondeur privilégiée à 5 mètres pour la fixation des larves de nacre (Figure 28.a). D'autre part, des fixations de nacres sont observées à chaque saison avec une variabilité spatiale significative pour une des 4 campagnes et une collecte cumulée supérieure en période chaude (Figure 28.b).



**Figure 28.**(a) : bilan des abondances centrées réduites de naissain de *P. margaritifera* le long du gradient bathymétrique pour les 2 stations et les 4 campagnes et (b) abondance en naissains de *P. margaritifera* moyennée sur la colonne d'eau pour les deux stations de collectage aux quatre périodes étudiées (écarts types représentant la variation sur la colonne d'eau).

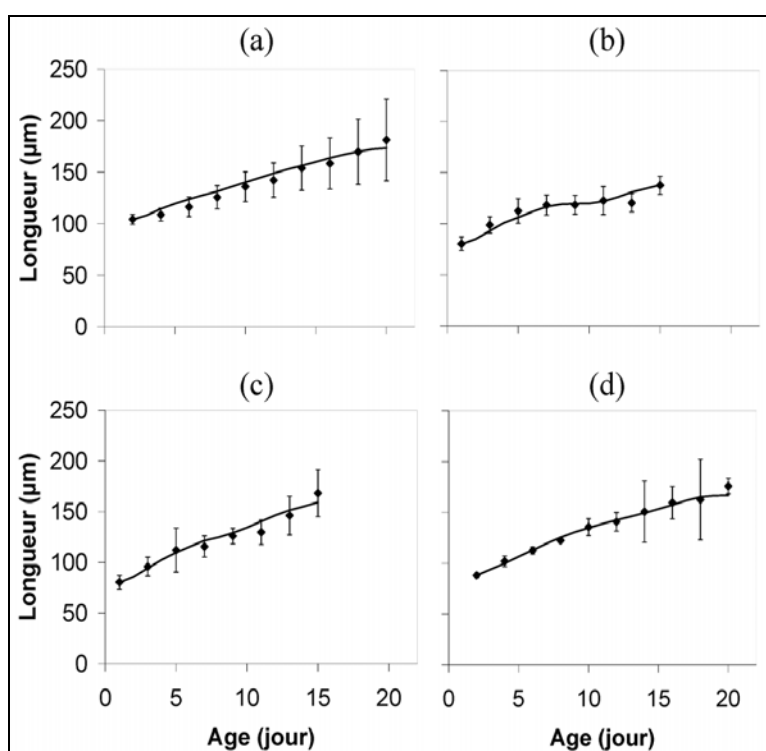
Des larves de bivalves ont été identifiées tout au long de l'année avec une concentration moyenne de 18550 larves.m-3. Les concentrations les plus élevées ont été enregistrées durant les périodes les plus chaudes. La fixation de naissains de *P. margaritifera* semble suivre le même profil, les meilleurs résultats étant obtenus en février-mars 2008.

## Ecophysiologie et modèle de croissance

Le modèle utilisé répond à la théorie du budget d'énergie dynamique (DEB). Il est fonction de deux variables forçantes : température et concentration en nourriture.

Il s'agit ici (1) d'adapter le modèle DEB à la larve de l'huître perlière, (2) de valider le modèle sur des données de croissance obtenues dans différentes conditions et (3) d'appliquer le modèle pour évaluer l'impact des variations spatio-temporelles de l'environnement, mesurées dans le lagon d'Ahé, sur les performances de croissance et le collectage de l'huître perlière. Les paramètres spécifiques du modèle, qui gouvernent la fonction d'ingestion, l'effet de la température et l'allométrie entre la longueur et le bio-volume des larves ont été déterminés à partir d'expérimentations et de données de la littérature. Les données de croissance utilisées pour la validation du modèle sont extraites de trois conditions : en élevage avec des algues de culture, en élevage avec du plancton naturel et sur la croissance d'une cohorte sauvage.

Les simulations de validation reproduisent correctement les croissances observées dans les trois conditions avec un forçage par la température et la concentration en Chlo-a. Seul le paramètre de demi-saturation,  $X_k$ , a nécessité un ajustement en fonction du type de milieu considéré, lié à la qualité de la ressource trophique différente selon les conditions d'élevage (figure 29).



**Figure 29** : comparaison des croissances larvaires de *P. margaritifera* observées (points  $\pm$  écart type) et simulées (ligne continue) : (a) élevage en circuit ouvert alimenté par des algues de culture ( $X_k = 0.83 \mu\text{g Chl a l}^{-1}$ ), (b) élevage en circuit ouvert alimenté par l'eau du lagon d'Ahé ( $X_k = 0.30 \mu\text{g Chl a l}^{-1}$ ), (c) élevage en mésocosme alimenté par l'eau du lagon d'Ahé ( $X_k = 0.30 \mu\text{g Chl a l}^{-1}$ ), (d) cohorte identifiée *in situ*, dans le lagon d'Ahé ( $X_k = 0.15 \mu\text{g Chl a l}^{-1}$ ).

La modification de quatre paramètres primaires, spécifiques dans la théorie DEB, permet d'adapter avec succès le modèle au stade larvaire de l'espèce *P. margaritifera*. D'autre part, nous avons pu extraire le caractère adaptatif lié à la modification de ces paramètres. Les larves de *P. margaritifera* montrent en effet la capacité d'exploiter de faibles concentrations en nourriture ainsi qu'une gamme de tolérance thermique restreinte correspondant aux conditions hydrobiologiques rencontrées dans les eaux tropicales oligotrophes qui caractérisent l'aire de répartition de *P. margaritifera*.

Une première application du modèle, avec l'hypothèse théorique d'une absence de dispersion, nous a permis par ailleurs d'approcher l'influence du milieu sur les capacités de croissance des larves de *P. margaritifera* dans le lagon d'Ahe. Il en ressort l'effet prépondérant de la structuration verticale de la ressource trophique sur le déterminisme des variations spatiales de croissance des larves. Dans les conditions hydro-biologiques mesurées au cours de la période considérée, la probabilité de fixation des larves apparaît relativement faible. En effet, en considérant une dispersion de taille de type normale avec un écart type de 15 %, en moyenne 3 % des individus d'une cohorte atteint le stade pédi-vélégère au bout de 29 jours de développement.

## Transport et dispersion larvaires

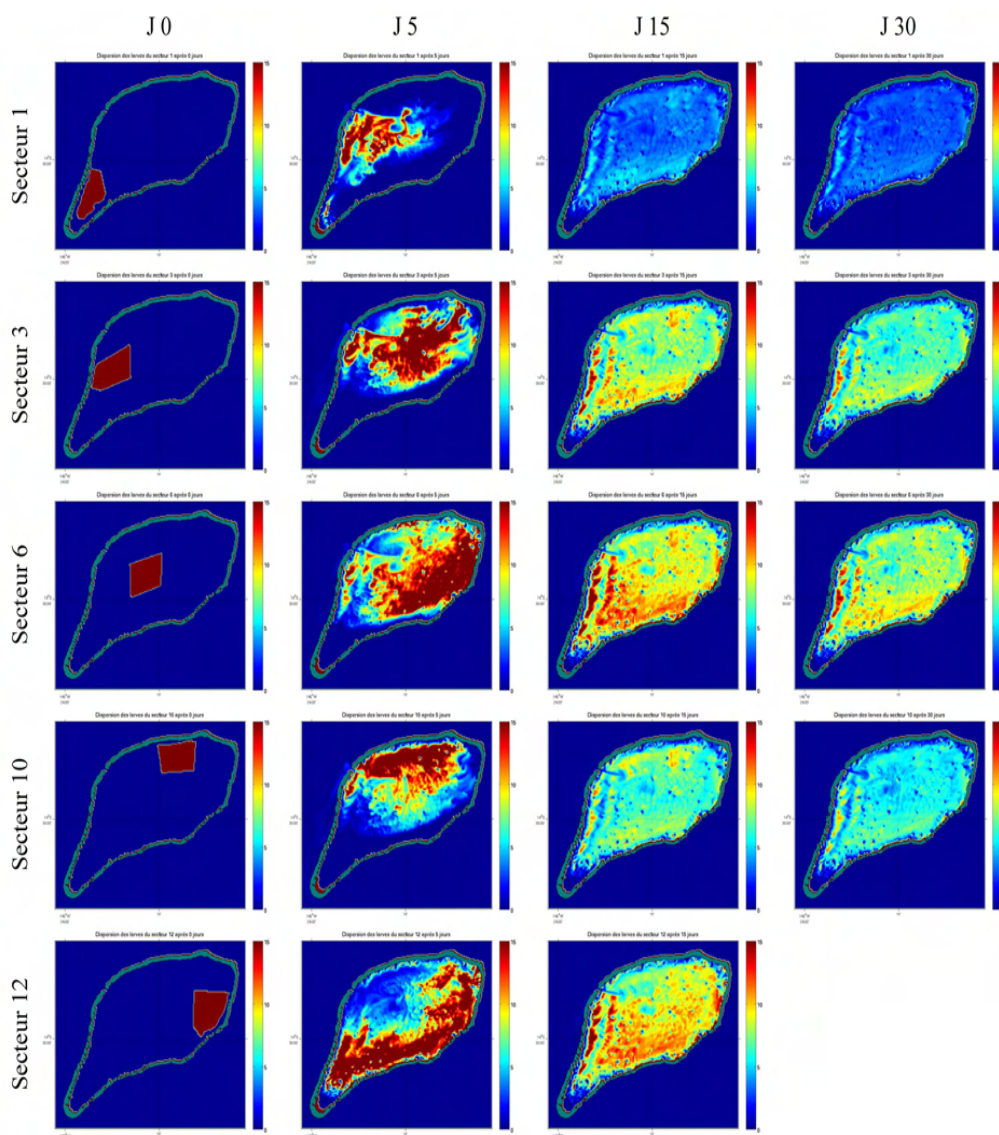
L'étude de la dispersion larvaire et de ses conséquences sur la fixation et la structure des populations adultes constitue un élément de première importance pour le collectage de l'huître perlière.

Les objectifs de cette étude sont (1) de calibrer et valider un modèle de nage verticale pour les larves de bivalves, (2) de valider le modèle de transport intégrant le modèle de nage sur des données de dispersion acquises *in situ* et (3) de mesurer la connectivité intra-lagonaire afin d'identifier les secteurs «sources» et «puits» et ainsi évaluer l'impact de la dispersion larvaire sur la variabilité du recrutement de l'huître perlière.

Un modèle de nage vertical est calibré et validé sur des données de terrain. Ce modèle empirique permet de reproduire correctement la migration nyctémérale observée, les animaux se déplaçant vers la surface la nuit et vers le fond pendant la journée. Le modèle de transport intégrant ce modèle de nage est validé sur le suivi d'une cohorte larvaire observée *in situ* à l'échelle du lagon et assimilable à des larves d'huître perlière *P. margaritifera*. L'évolution des concentrations s'ajuste correctement pour la majorité des stations, et les concentrations finales observées et simulées au terme du suivi, présentent, elles aussi, un bon ajustement.

Une application théorique du modèle de transport nous permet par ailleurs d'identifier un schéma de la dispersion larvaire en fonction des conditions météorologiques (direction et force du vent). Les capacités de dispersion des larves de bivalve apparaissent importantes à l'échelle du lagon, quel que soit le secteur d'origine de ces dernières. Cette dispersion est en revanche nettement influencée par les conditions de vent et revêt de ce fait un caractère saisonnier marqué. Les conditions de vent estival vont ainsi favoriser l'homogénéisation des concentrations à l'échelle du lagon (Figure 30) et les conditions de vent hivernal vont, quant à elles, favoriser la rétention et donc le maintien des larves dans leur secteur d'origine.





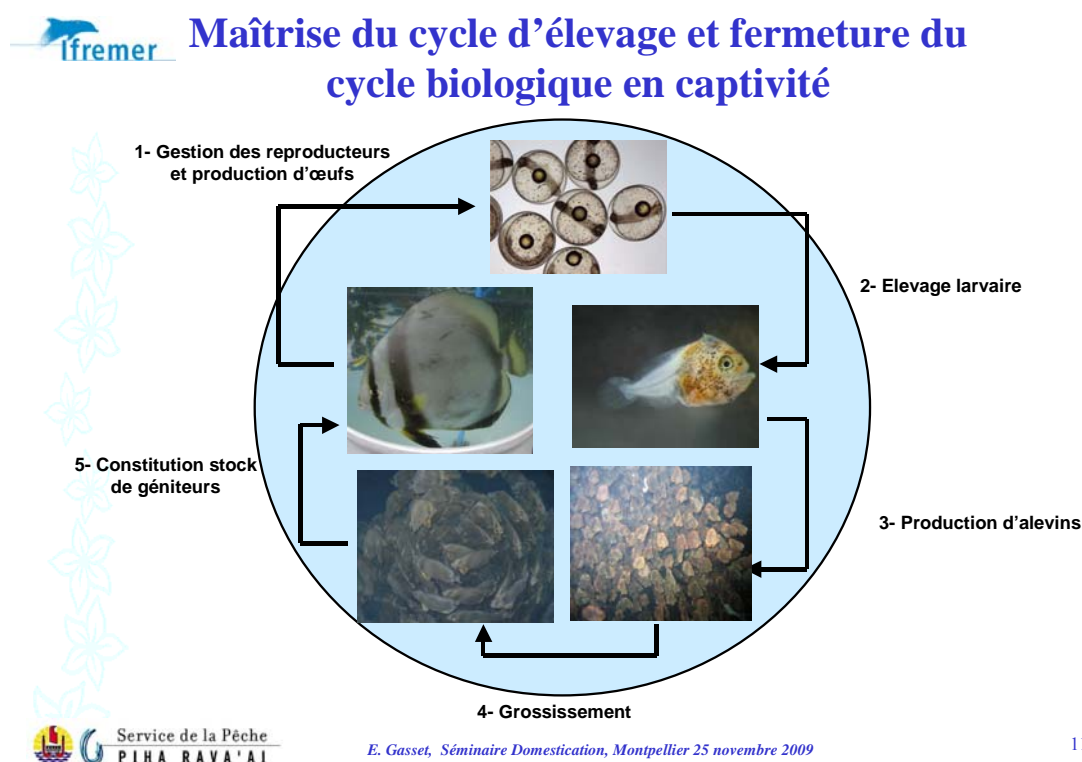
**Figure 30** : cartographie des dispersions larvaires simulées en condition de **vent estival** ( $90^\circ$ ,  $6 \text{ m s}^{-1}$ ) à partir des secteurs 1, 3, 6, 10 et 12, après 0, 5, 15 et 30 jours de simulation.

Par ailleurs, le taux d'export des larves, vers l'océan ou bien dans des secteurs non exploitables, semble indépendant des conditions de vent ; il est évalué en moyenne à 1 % du stock total par jour. Ce taux d'export est en revanche hétérogène à l'échelle du lagon, les secteurs proches de la passe étant nettement plus soumis à ce processus.

## PROJET DDPMOM «POISSONS LAGONAIRES» (A070909)

### Objectifs et résultats

Cette deuxième année de la convention de collaboration Ifremer/SPE n°8.0020, 2009 se caractérise par l'apport de réponses essentielles concernant l'élevage de *Platax orbicularis* ou Paraha peu en Polynésie. A l'issue de cette année, la maîtrise des différentes phases du cycle biologique de cette espèce indigène (figure 31) rend possible le transfert du savoir-faire vers la filière de production. La première étape de ce transfert avec changement d'échelle s'est concrétisée en novembre avec l'inauguration par le Pays et l'Etat de la mise en travaux du centre technique VAIA (Vairao-Aquaculture) qui pourra fournir aux producteurs des alevins de Paraha peu dès le premier trimestre 2011.



**Figure 31** : description du cycle d'élevage du Platax

Des interrogations importantes ont été levées notamment dans la phase du grossissement en cages dans le lagon. Les réponses qui concernent les aspects zootechniques (stratégie alimentaire) et zoo-sanitaires (prévention contre le parasitisme) ont permis des gains importants en terme de performances biologiques des animaux. Ces résultats associés aux optimisations réalisées sur les autres phases de l'élevage (voir chapitre Objectifs et résultats) présentent aujourd'hui un socle solide pour le développement durable de l'élevage de Paraha peu dans les lagons polynésiens.

## Résultats scientifiques

### **Gestion génétique des reproducteurs**

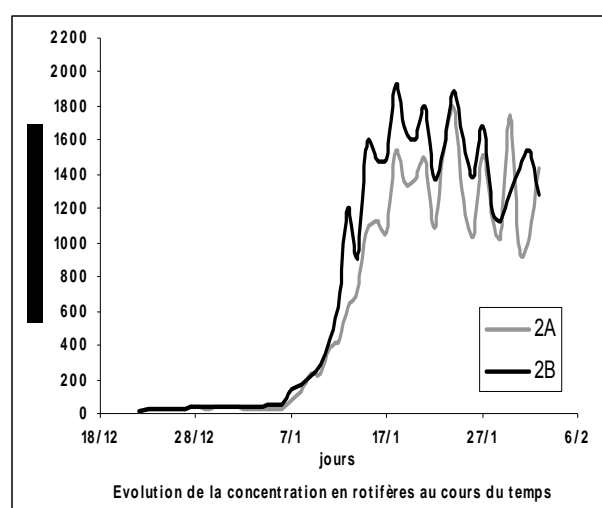
Les travaux antérieurs ont permis la définition chez *Platax orbicularis* d'une méthodologie de synchronisation environnementale des reproducteurs. Des pontes synchrones sont depuis obtenues en routine sur les différents lots. Dans un objectif de gestion génétique des futurs reproducteurs nous devons réaliser des pontes individualisées par couple (pontes bi-parentales). Avec des difficultés liées notamment à la sensibilité (stress) des reproducteurs lors de leur isolement du groupe, nous avons pu lancer en 2009 la production des 2 premières familles (bi-parentales) dont la parenté est parfaitement connue. Ces animaux marqués précocement permettront en outre d'apporter des réponses complémentaires sur l'évolution du sex-ratio, sur l'entrée en puberté et sur le dimorphisme pondéral en fonction du sexe des individus.

### **Fiabilisation de la production d'alevins**

Les derniers élevages larvaires réalisés en 2008 n'ont pas donné les résultats escomptés à cause, en grande partie, de la mauvaise maîtrise des productions de proies vivantes (rotifères). L'objectif de 2009 consiste tout d'abord à redéfinir les méthodes de référence en terme de production de proies, de larves et d'alevins. Ces méthodes une nouvelle fois étalonnées seront la base du transfert vers l'écloserie de production du pays, et serviront dans un second temps de témoin pour tester les améliorations envisagées, comme la séquence alimentaire en phase larvaire et la nouvelle installation en phase de sevrage/alevinage.

Une méthode de production de rotifères (*Brachionus plicatilis*) pour l'élevage larvaire de *Platax orbicularis* avait été décrite en 2007 après plusieurs mois d'expérimentation. Cette méthode mettait en avant la qualité biologique des proies, la limitation du développement de la flore bactérienne (fiabilité) et enfin la rationalisation des volumes (diminution des coûts de production). Afin de pouvoir lancer des expérimentations larvaires basées sur un approvisionnement en rotifères de qualité irréprochable et en quantité non limitante, nous avons donc remis en œuvre en 2009 cette procédure de production de rotifères de façon plus expérimentale.

L'évolution des concentrations en rotifères d'un duplicat est présentée sur la figure 32. Les concentrations moyennes se situent entre 1200 et 1400 rotifères par ml à partir de la première filtration. Les fluctuations enregistrées d'un jour à l'autre sont induites par la diminution de rotifères dans le bassin après la production pour les besoins des larves. Le taux moyen de femelles avec au moins un œuf est proche de 20 % avec les valeurs les plus importantes (jusqu'à 60 %) lors de la phase de montée du bassin (avant production) sur algues uniquement. Chaque duplicat permet de produire en moyenne 234 millions de rotifères par jour.



**Figure 32 :** Evolution des concentrations en rotifères

Cette mise en œuvre expérimentale de la méthode de production de rotifères décrite en 2007 (figure 33) permet donc apporter des réponses claires quant à sa validité. Elle montre que :

- ✓ les duplicats ont une évolution et une productivité similaire ;
- ✓ les cultures sont stables dans le temps (après le début de la période de production), et aucun accident de production n'est enregistré ;
- ✓ cette méthode de culture permet la conservation de concentrations importantes (> 1200 rotifères par ml) sur de longue période.



**Figure 33** : production de rotifères

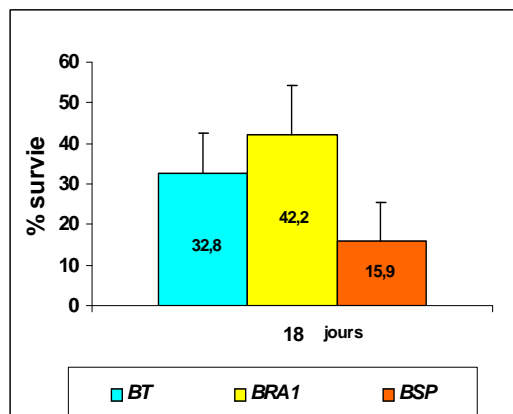
Ces résultats nous permettent de reprendre nos expérimentations en phase larvaire au cours desquelles nous tenterons en 2009 d'optimiser la gestion et la qualité de l'alimentation des larves en début d'élevage. Les différentes séquences testées sont présentées tableau 5.

**Tableau 5** : Présentation des facteurs testés sur 3 séquences de production d'alevins de *Platax*

Facteurs testés	Séquence « standard »	Séquence « période rotifère longue + artémia enrichi »	Séquence « période rotifère longue + sevrage précoce »
Nom des bassins	<b>BT</b>	<b>BRAI</b>	<b>BSP</b>
Nb de réplicats	3	3	2
N° bassin	1 3 6	2 5 7	4 8
Séquence Rotifères	J3 – J10	J3 – J14	J3 – J14
Séquence Nauplii artémia (AF)	J8 – J12	/	/
Séquence Artémia pré-grossis (Salt Creek)	J12 – J18	J12 – J18	/
Séquence micro-Gemma 150 / 300	J15 – J18	J15 – J18	J12 – J18

Après 18 jours d'élevage, l'hétérogénéité des résultats obtenue au sein des réplicats empêche de conclure clairement quant à l'effet du traitement sur la survie. Sur l'ensemble des bassins, les bons résultats de survie obtenus au cours de cette expérimentation montrent en premier lieu l'effet positif du mode de gestion de la première alimentation des larves. Nous avons mis en évidence que des concentrations en rotifères maintenues en permanence entre 5 et 10 individus par ml permettaient aux larves de réussir leur entrée dans la vie trophique de façon homogène et efficace. Les difficultés rencontrées lors de nos deux essais larvaires précédents (2008) dans la production de rotifères n'avaient pas permis le maintien de ces concentrations. Les résultats de survie obtenus sur les bassins témoins ( $32,8 \pm 9,9$  %) placent cet élevage dans les meilleurs niveaux de survie obtenus sur la méthode de référence.

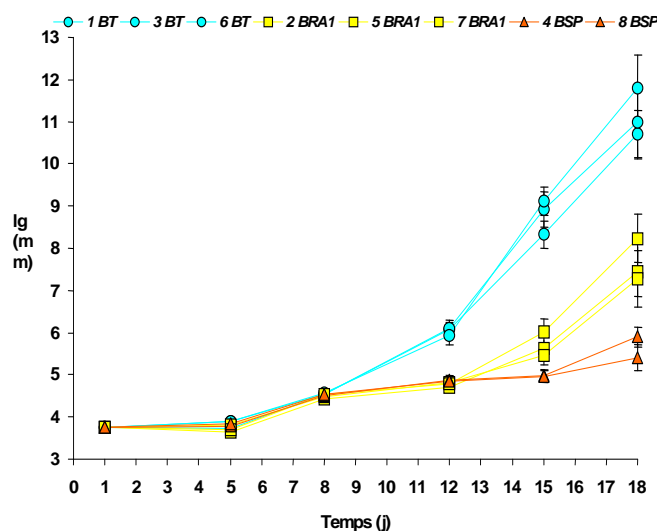
Les survies importantes obtenues sur les bassins BRA1 (42,2 ± 12,3 %) montrent également que cette séquence alimentaire (sans nauplius d'artémia) mérite d'être approfondie car elle permet un passage plus facile des périodes critiques de l'élevage comme la métamorphose.



**Figure 34** : Taux de survie obtenus en fonction des élevages larvaires.

Les résultats de survie concernant les 2 bassins en sevrage précoce sont hétérogènes (10 et 20 %) mais représentent une avancée importante sur cette méthode simplifiée d'élevage par rapport à notre 1<sup>er</sup> essai réalisé en 2007. A cette époque, les résultats de survie sont homogènes avec une moyenne aux alentours de 5%. La mise en œuvre d'un matériel spécifique a joué un rôle positif dans la prise alimentaire et dans la rapidité d'acceptation des particules par les larves.

En terme de croissance, nous observons de fortes disparités des longueurs des larves entre les différents traitements dès les premières distributions d'artémia (figure 35). Parallèlement, il apparaît également au sein des bassins qui reçoivent des artémia une forte augmentation du coefficient de variation des longueurs des individus. Cette évolution est mise en relation avec les capacités différentes de chaque larve à se nourrir rapidement sur artémia. Un décalage de quelques heures dans la prise alimentaire, pour les larves les plus réactives qui vont profiter du meilleur rapport « proies/énergie » apporté par les premières captures d'artémia par rapport aux rotifères, peut expliquer l'hétérogénéité obtenue au sein d'un même bassin puis entre les différents traitements.



**Figure 35**: Evolution des croissances des alevins en fonction des séquences alimentaires testées

Il semble donc que les rotifères tels qu'ils sont gérés ne suffisent pas à assumer les besoins alimentaires des larves étant donné les retards de croissance obtenus sur les lots BRA1 et BSP par rapport au témoin. Par contre, ce type de proies apporte une réponse favorable en terme d'homogénéité des croissances. Malgré une évolution favorable de la prise alimentaire, les résultats de croissance obtenus avec la micro-particule restent encore très en deçà de ceux obtenus avec les artémia enrichis. Ce résultat peut être expliqué par le niveau énergétique et la digestibilité de la particule utilisée (Cahu, 1998, 2001, Petton, 2002,

Sekoa, 2008). Les croissances obtenues au cours de ce travail sont proches de celles obtenues précédemment en sevrage précoce avec des valeurs beaucoup plus faibles en fin de la phase larvaire (6 mm contre 11 pour le témoin). Nous avons toutefois montré en 2007 que comme pour de nombreuses espèces qui subissent ce sevrage précoce, une croissance compensatrice intervient ensuite et permet, dans le cas du Platax, de rattraper la croissance des lots témoins dès le jour 40 en phase alevinage.

Cette expérimentation a permis d'envisager d'importants progrès. Ces progrès qui passent par une maîtrise plus grande de la séquence alimentaire et de la qualité de chaque proie proposée doivent permettre le développement le plus homogène possible du plus grand nombre de larves au sein de la population. La poursuite de ces améliorations devra aborder l'effet de cette alimentation en tenant compte (1) du mode de distribution, de l'allocation et la prise alimentaire (2) de l'énergie digestible en fonction du bol alimentaire, (3) de la qualité nutritionnelle de l'aliment ingéré.

### Amélioration des performances biologiques des animaux en grossissement en cages

Cette amélioration est le résultat d'un travail mené sur deux axes principaux, la lutte contre le parasitisme et la stratégie d'alimentation. Dès 2008, l'identification du parasite (*Neobenedenia melleni*) particulièrement virulent sur nos installations expérimentales a permis de mettre au point un traitement efficace à base de peroxyde hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), produit réputé non rémanent. Sa mise en œuvre par baignade directement dans les cages (bâche imperméable, oxygène) et sa posologie ont fait l'objet de nombreux essais qui ont montré son efficacité sur cet ectoparasite.



Figure 36 : cages d'élevage expérimental

Parallèlement à cette amélioration des conditions sanitaires, le travail sur la stratégie d'alimentation basée sur la gestion de la satiété et l'élimination quasi totale du non-ingéré a permis une amélioration importante des résultats dans cette phase de grossissement. Elle se traduit par une augmentation de la croissance de l'ordre de + 20 % par rapport au lot antérieur, avec un indice de conversion alimentaire fortement amélioré (de 2.5 à 1.4). Aujourd'hui un poids final supérieur à 1000 g est atteint après 12 mois d'élevage en cage (figure 37).

#### Amélioration de l'indice de conversion et de la croissance

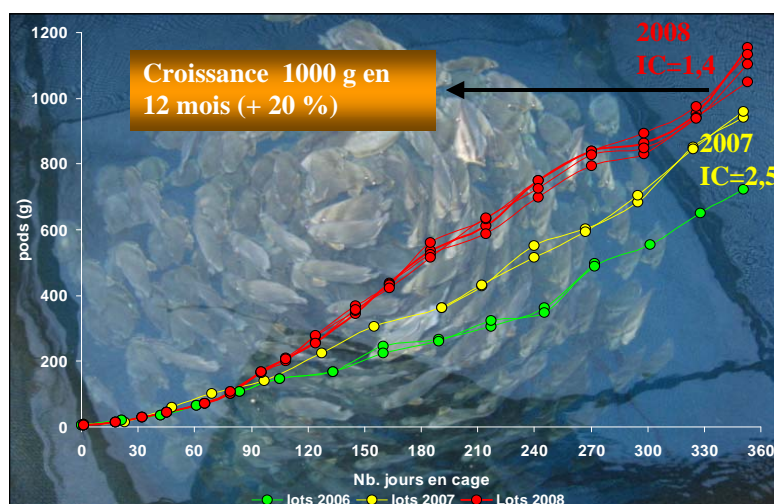


Figure 37 : Amélioration de l'indice de conversion et de la croissance.

L'évaluation de la qualité de ces animaux qui a fait l'objet d'un travail spécifique en 2008 (caractérisation biochimique, sensorielle, rendement de filetage, DLC) se poursuit aujourd'hui par l'étude de la relation entre ces critères de qualité et différentes méthodes d'abattage.

Un travail sur la définition de la Rigor Mortis (figure 38) spécifique à notre espèce a également été initié. Ces travaux se poursuivront et s'achèveront en 2010.



**Figure 38** : Exemple de *Rigor Mortis*

L'amélioration globale des résultats dans cette phase a permis de reprendre le travail d'analyse technico-économique de la production de Paraha. En effet, un niveau minimum de certains paramètres d'élevage tels que la survie, la croissance, l'efficacité alimentaire devait être acquis avant de lancer des travaux d'analyse économique.

Ce travail est réalisé par le bureau d'étude « Vai Consulting » sur la base de l'étude réalisée en 2006 qui portait sur «L'étude économique d'une ferme d'élevage en cage de *Polydactylus sexfilis*» après redéfinition du type de modèle de production et de son dimensionnement. Pour être en phase avec les installations du partenaire privé choisi (Bora-Bora Aquaculture) pour les essais préliminaires de grossissement sur un site de production, le dimensionnement s'est porté sur une ferme d'une production de 50 tonnes de Paraha par an à un poids final de 950 g (ferme semi-industrielle, figure 39).



**Figure 39** : Cage d'élevage semi-industriel de poissons marins

Les autres hypothèses zootechniques sont résumées dans le tableau 6. Ces données de bases permettent de faire les estimations techniques de l'unité de production. Pour 50 tonnes de production, elle se compose de 31 modules d'élevage de 75 m<sup>3</sup> pour 4 cycles annuel de mise en cages de 66 500 alevins au total. La structure des coûts d'une année de routine donne un prix de vente fixé à 2 000 FCFP du kilo. Le coût de production est proche de 900 FCFP du kilo pour un investissement global qui est de l'ordre de 50 millions.

**Tableau 6** : Hypothèses zootechniques retenues pour l'évaluation économique de la filière

Hypothèse zootechnique	Unité	Valeur
Charge maximale finale	Kg/m <sup>3</sup>	18
Survie	%	80%
Taille à la récolte	kg	0,95
Indice de conversion	-	1,8
Durée élevage en cage	Jours	293

## SURVEILLANCE CREVETTICULTURE EN POLYNESIE (A070807)

L'objectif global de l'action crevetticulture à l'Ifremer est d'apporter un soutien au Pays pour mettre en place un développement durable de la filière crevettes, en stagnation depuis de nombreuses années, et fragilisée par des dérives zootechniques récurrentes. Il s'agit d'approvisionner le marché local en diminuant les importations (50 tonnes de production locale pour 600 tonnes importées), créant ainsi des emplois, tout en développant une utilisation harmonieuse des ressources lagonaires.

Ce travail est réalisé en partenariat avec le Service de la Pêche dans le cadre de conventions. La dernière convention (23/05/2007 - 31/03/2009) a donné lieu à un rapport de convention, et les réflexions sur la convention 2009-2010 ont été engagées : malheureusement, celle-ci n'a pas été signée avant la fin de l'année 2009, pour de multiples raisons. Les travaux ont donné lieu à de très nombreux contacts résumés dans le tableau 7 ci-dessous.

**Tableau 7 : visites de fermes et réunions organisées au cours de l'année 2009**

Contacts avec la filière et l'PEPT (estimation)	Réunions périodiques Ifremer - SPE à Vairao	Réunions extérieures	Visites extérieures sur les fermes
82	18 + 2 au Ministère (MRM)	8 + JPA	10

En complément à ces réunions et visites, des réunions plus spécifiques ont été diligentées avec différents partenaires :

- ✓ les services vétérinaires ;
- ✓ les porteurs de projets éventuels (E. Leogite, Asha, Lehartel, etc ..),
- ✓ des contacts multiples avec les conseillers du Ministère des ressources marines,
- ✓ la participation au Grenelle de la Mer et aux Etats généraux de l'Outre-mer,
- ✓ les premiers contacts et réunions sur l'éventualité d'un développement de production locale d'aliment aquacole avec la société SANGUES et une approche de la société Morinda pour incorporation de Noni aux aliments.

Au-delà, des contacts en métropole avec :

- ✓ le bureau d'étude IDEE,
- ✓ la société Green Sea de Mèze (patons d'algues),
- ✓ et le projet de tri de crevettes avec Masteil de l'Ifremer Nantes.

Le partenariat Ifremer-SPE se fait par une mutualisation de moyens en équipements et un travail d'équipe avec le personnel mis en place sur les différentes opérations. C'est une réelle réussite ces dernières années, au travers d'une collaboration entre les deux équipes crevettes et poissons qui s'est renforcée dans le cadre d'un Service Ifremer-SPE Assistance Technique Aquacole crevettes-poissons. Néanmoins, le non remplacement de L. Mou - Vehiatua lors de son départ en retraite (remplacement qui était prévu dans le cadre de la GPEC 2007), augure une période délicate, les départs en retraite devant s'accélérer alors que le travail de mise en place du CTA/VAIA et du transfert des techniques sera en



cours de réalisation. Le remplacement de ce départ en retraite par l'ouverture d'un poste sur un profil jeune biologiste à former pour devenir l'expert crevettes puis environnement Ifremer en Polynésie n'a toujours pas été finalisé. Le retour d'un technicien Ifremer de Nouvelle-Calédonie a reporté ce recrutement nécessaire pour participer au développement des filières aquacoles en Polynésie française.

L'ouverture en Polynésie française des accords VCAT devrait permettre avec les CVD de maintenir tant bien que mal l'effectif de l'équipe crevettes SPE-Ifremer.

## Soutien à la filière

### Accompagnement de la filière

Plusieurs types de réunions ont eu lieu entre les différents acteurs (Ministère, services, Ifremer, fermiers), mais en-dehors du CTA et des actions techniques SPE-Ifremer, aucune action concrète n'a été mise en place pour la filière malgré plusieurs projets affichés : agrément et aides aux aquaculteurs, défiscalisation, fiscalité adaptée, etc... La crise de gros secteurs (Pêche, Perliculture, Tourisme) et l'instabilité politique ne sont pas totalement étrangers aux retards de décisions. Celles-ci seront à prendre rapidement pour donner une lisibilité au développement aquacole (plan spécifique au secteur) et attirer des investisseurs et des porteurs de projet en parallèle avec le démarrage du CTA.

Une protection de la production locale a été envisagée de plusieurs façons avec les services concernés : protection sanitaire, protection économique progressive au moins vis-à-vis des produits non commercialisés légalement (importations par des passagers provenant de Nouvelle-Calédonie estimées à environ 10 Tonnes/an). A ce jour, rien n'a encore été décidé. Une protection des cheptels polynésiens vis-à-vis des pathogènes potentiels (importation de produits crus) doit elle aussi être mise en place, condition sine qua non de la venue de nouveaux investisseurs. Il importe de signaler, après des analyses demandées par le SPE au laboratoire de référence de l'OIE, l'avantage sanitaire de la souche polynésienne de crevettes déclaré par l'autorité compétente polynésienne à l'OIE pour l'année 2008. Cet atout devrait être confirmé en 2009 et permettre de valider l'état sanitaire de notre souche de *Litopenaeus stylirostris*, à savoir l'absence de pathogènes à déclaration obligatoire à l'OIE dans l'ensemble des élevages polynésiens de crevettes.

Par comparaison, nos voisins calédoniens présentent dans leurs élevages de *Litopenaeus stylirostris* le virus IHNN à déclaration obligatoire à l'OIE qui entraîne désormais des mortalités dans les cheptels calédoniens, et deux vibrios responsables de mortalités (syndrome d'hiver et syndrome d'été) et de la réalisation d'une seule production de crevettes par an (au lieu de 2 en Polynésie française).

## Gestion des souches de crevettes polynésiennes

### Gestion des lots de reproducteurs en «floc bactérien»

Les essais d'élevage de géniteurs en «saison chaude» se sont poursuivis, mais sont dépendants pour les essais à venir du maintien d'un effectif Ifremer-SPE stable. Pour rappel, la production de géniteurs sur «milieu floc bactérien» est une solution validée pour le CTA. Les essais doivent être interrompus, les bacs étant la propriété du SPE et étant intégrés au futur CTA. L'EAD, qui gère le chantier, s'est engagé à réactiver les bassins pour le début du mois de décembre 2010. Une nouvelle présentation a été faite sur les résultats «floc» en Nouvelle-Calédonie fin 2009. Suite à cette réunion avec la filière calédonienne fin 2009, il a été décidé de démarrer ce type d'élevage de manière expérimentale en Nouvelle-Calédonie à la station de St-Vincent.

la réalisation de tout ou partie de l'élevage des reproducteurs en milieu plus contrôlé (bassins en scobalite de type « floc bactérien ») est essentielle à l'obtention tout au long de

l'année de géniteurs de qualité. En effet, les derniers résultats en fin de saison chaude 2009 (maturation avril-mai) confirment complètement ceux obtenus lors de la précédente convention sur la nécessité de la phase finale de production de géniteurs en saison chaude en milieu plus contrôlé de type « floc bactérien ». Ces résultats sont décrits dans le tableau 8 suivant :

**Tableau 8 : Comparaison des performances reproductives de *L. stylirostris* au cours de trois séquences d'élevages**

	<b>Floc (souche TE)</b>	<b>Bassin terre (souches TE+SS)</b>	<b>Floc (souche SS)</b>
<b>Nb de femelles</b>	160	40+85 (EPT)	80
<b>Nb pontes sur 5 j</b>	31	1	14
<b>Pourcentage pontes ou Nb pontes/fem/jour</b>	19,4% 0,19	0,8% 0,008	17,5% 0,18
<b>Pm femelle</b>	42,1	47,6	53,2
<b>nb œufs</b>	156 935	100 000	185 714
<b>Tx fécondation</b>	41,9%	30,0%	35,5%
<b>Nb œufs fécondés</b>	65 730	30 000	65 893
<b>Nb Nauplii</b>	<b>29 874</b>	<b>10 000</b>	<b>36 072</b>
<b>Taux éclosion</b>	45,5%	33,3%	54,7%

Le tableau 8 ci-dessus montre à nouveau l'intérêt d'utiliser des bassins en floc pour produire des géniteurs performants (nombre de pontes par femelle par unité de temps) et de qualité (nombre de nauplii par femelle). Par la suite, un suivi de 38 femelles mises en bassins durant les 5 semaines de période de production larvaire nous a permis d'estimer le nombre de pontes par jour : entre 4 et 6, soit 0,11 à 0,16 ponte/femelle/jour. Ceci permet de montrer que les résultats obtenus durant les 5 premiers jours sont relativement bien maintenus sur une période de 5 semaines, ce qui valide la qualité des géniteurs femelles obtenus en saison chaude après élevage en floc bactérien (cf. rapport convention 2005-2006).

Ces travaux confortent notre choix technique de production de géniteurs au CTA avec :

- ✓ une phase I en bassin terre de 3,5 mois,
- ✓ une phase II après sexage en bassin terre ou en bac scobalite de 3,5 mois,
- ✓ une phase III de production de géniteurs en bassins scobalite de 3,5 mois.

## **Techniques d'élevage des crevettes en cages**

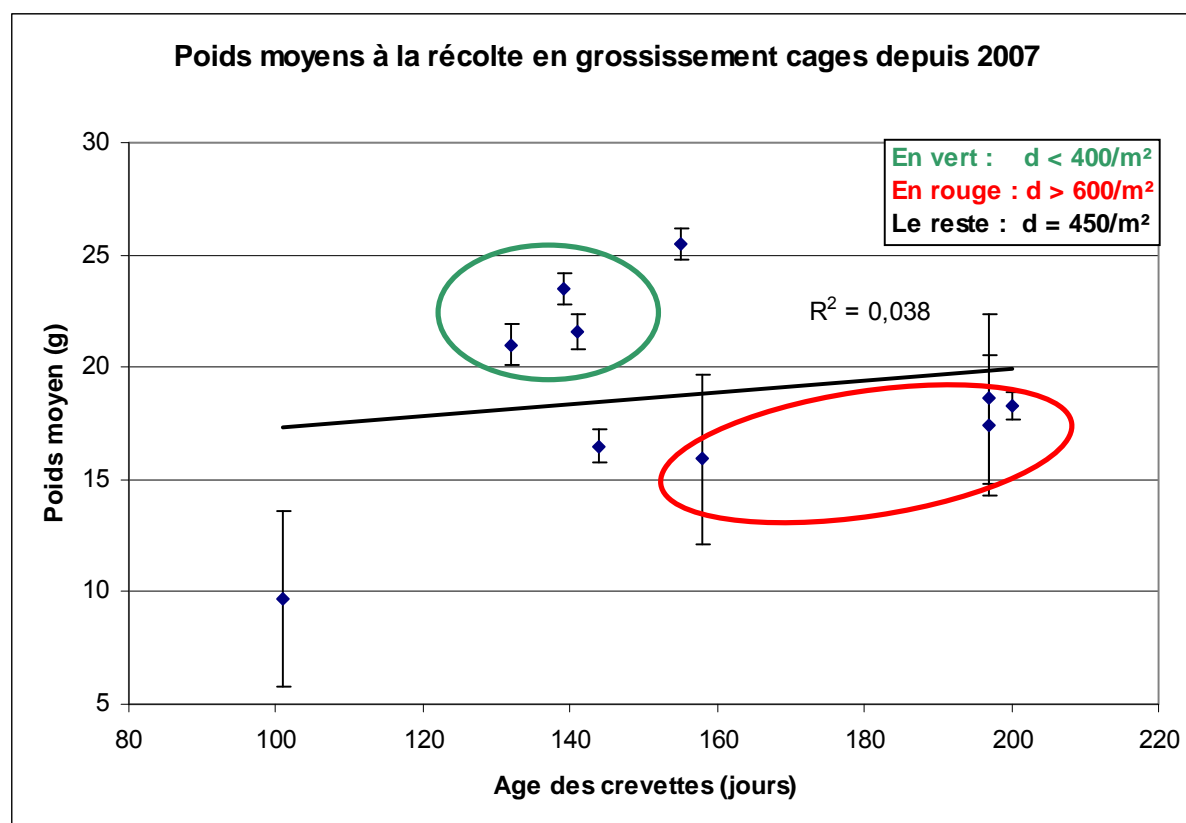
### Procédures d'élevage et d'essais

Les essais d'élevages de crevettes en cages se sont poursuivis en 2009 lors des trois premiers trimestres. Seuls des essais de grossissement ont pu être menés, faute de temps et d'effectif. A ces problèmes d'effectif, se sont rajoutés le déclassement du quai du Centre et sa destruction, ce qui n'autorisait plus les élevages en bot de quai et nécessitaient un repositionnement qui est en cours. Il reste plusieurs points à fiabiliser en particulier en prégrossissement les problèmes de prédateurs (crabes et mollusques), et en grossissement le problème de pics de mortalité en période de mue.

### Grossissement en cages

Durant la période de cette nouvelle convention, seul l'essai G03 2008, démarré fin 2008 et qui s'est terminé en fin de la convention (courant mai 2009) a pu être réalisé. Cependant, l'ensemble des résultats des 7 grossissements expérimentaux en cages (10 lots) menés depuis le démarrage des essais au COP est décrit et discuté dans les rapports de CVD de Romain BOUDET et Alain BIGOT. Lors de ce dernier essai, un effet densité a été constaté : il semble que la densité initiale optimale de début de grossissement se situe aux alentours de 300 à 400 individus/m<sup>2</sup>, puisque des ralentissements de croissance avec apparition précoce de la phase plateau sont observés à des densités initiales (712/m<sup>2</sup>) et finales (250/m<sup>2</sup>) élevées.

La figure ci-après qui compare l'ensemble des résultats de grossissement en cages nous permet de conforter ce constat à travers les éléments suivants : Un coefficient de corrélation très faible, nous indiquant donc une hétérogénéité des croissances que nous imputons en grande partie à la densité d'élevage, et une nette séparation des poids moyens finaux obtenus entre des densités initiales faibles (<400/m<sup>2</sup>) et fortes (>600/m<sup>2</sup>), quelles que soient la saison et les autres conditions d'élevage. Il semble donc acquis qu'il faille limiter la densité initiale à un maximum de 450 individus par m<sup>2</sup> et à un optimum à définir selon les conditions d'élevage en cages. Pour rappel, la densité en élevages en bassins terre se situe entre 15/ m<sup>2</sup> et 45/ m<sup>2</sup>, et en technique hyper-intensive, en bassins béton, de 120/ m<sup>2</sup>.



En conclusion, Les essais de grossissement réalisés depuis 3 ans (cf. tableau récapitulatif en fin de paragraphe grossissement) ont permis, malgré des pics de mortalité fréquemment observés, d'améliorer et d'identifier plusieurs facteurs de réussite importants.

Les principales améliorations réalisées sont les suivantes : l'utilisation de l'éclairage de nuit pour attirer le zooplancton, et l'utilisation de filets et supports mis en eau de façon précoce (3 semaines) afin de développer du bio-fouling permettant de fournir un complément alimentaire frais. D'autres paramètres sont encore à améliorer pour fiabiliser les résultats. Les plus importants sont les suivants : maîtrise des apports en aliment frais (zooplancton et

bio-fouling), et obtention d'un aliment de qualité pour pallier ou anticiper tout problème de pic de mortalité, peut-être lié à des blocages de la mue suite à une carence alimentaire.

Les différents résultats et observations obtenus sur les essais de grossissement en cage ont permis de valider une technique de grossissement permettant d'obtenir des crevettes de taille commerciale en cages pour une biomasse finale minimale de l'ordre de 2,5 à 3 kg/m<sup>3</sup>. Cependant, sur la base du potentiel observé (biomasse finale de 5 à 6 kg/m<sup>2</sup> avec des indices de conversion comparables aux bassins), il est nécessaire d'améliorer les survies et les indices de conversion via un meilleur contrôle de l'alimentation et des paramètres environnementaux. Ensuite, il faudra s'atteler à définir le seuil de rentabilité d'une ferme d'élevage de crevettes en cages.

### **Actions aliments aquacoles**

Les activités en matière de nutrition de crevettes et poissons ont été nombreuses notamment au travers de travaux menés par des étudiants co-dirigés dans quelques universités. La thématique principale reste le remplacement des protéines animales par des protéines végétales pour la crevette d'élevage.

Ces approches ont un caractère pluri-spécifique qui donne un intérêt supplémentaire à l'approche. De plus l'intérêt se porte non seulement sur les performances de croissance mais également sur la qualité du produit final grâce notamment à une étude sur le contenu en collagène du muscle de crevette. Ces travaux portent également sur les effets de facteurs anti-nutritionnels tels ceux portés par des protéines d'origine végétale comme le tourteau de soja. L'examen des phytates a amené une réponse positive chez la crevette qui peut mieux utiliser la source d'acides aminés du soja tout en évitant les effets négatifs des phytates avec un résultat en termes de gain de poids en structure expérimentale.

Enfin l'intérêt pour le «floc» bactérien et son utilisation dans les élevages de crevettes donne lieu à des synthèses et des publications notamment sur la phase de maturation des crevettes en captivité avec des résultats pour le moins surprenants et dont il faut fournir l'explication rationnelle grâce à des analyses ciblées sur les acides gras.

## Perspectives 2010

Au cours de l'année 2009 se sont dessinées des perspectives d'évolution, tant de notre structuration, avec le projet de création de l'UMR en Polynésie française, que de nos programmes, avec l'émergence de deux nouvelles thématiques, sur les énergies marines renouvelables et sur les contaminants chimiques.

### Projet de création d'une UMR en Polynésie française

*«A partir de deux projets initiaux, l'un sur une «étude systémique de la perliculture en Polynésie française», porté par l'IFREMER et l'UPF, l'autre sur les « substances naturelles d'origine terrestre et marine », par l'IRD et l'UPF, des discussions en mars 2009, lors du 11<sup>ème</sup> congrès PSI, à Tahiti, avec des représentants de la direction de l'IRD, de l'IFREMER et de l'UPF, ont permis d'évoluer vers un projet thématiquement beaucoup plus large. Portant sur la «connaissance et la valorisation des ressources naturelles de la Polynésie française», il associait les trois organismes scientifiques dans un nouveau partenariat».*

Cette annonce, issue d'un document de travail sur une future UMR polynésienne, résume la situation de ce dossier au début de l'année 2009. Un quatrième partenaire, l'Institut Louis Malardé, s'est joint au groupe initial, pour participer aux discussions intenses qui ont jalonné l'année 2009. Le projet d'UMR s'est orienté vers la connaissance de l'« **Environnement Insulaire Océanien** ». La participation de l'Ifremer à cette UMR reste centrée sur une approche systémique de la perliculture (et accessoirement d'autres formes d'aquaculture), qui constitue l'un des deux axes forts de cette UMR. L'autre axe est dédié à l'étude des ressources naturelles terrestres et marines, et l'Ifremer y participe également avec deux chercheurs impliqués. La structure définitive de l'UMR en équipes et axes transversaux n'est pas achevée à fin 2009, mais les deux axes principaux devraient être conservés.

Pour l'axe concernant l'approche écosystémique de la perliculture, le projet d'UMR reprend les thématiques actuellement développées par IFREMER, sur l'amélioration de la qualité des perles, et sur la maîtrise du cycle biologique de l'espèce. S'y ajoutent d'une part, un volet sur le fonctionnement de l'écosystème perlicole, dans le but de définir l'impact, positif ou négatif des activités perlicoles sur cet écosystème et sur la durabilité de la filière, et d'autre part, un volet portant sur la biodiversité en milieu lagunaire et les modifications qu'elle peut subir du fait de l'exploitation des ressources.

Une difficulté majeure dans le processus de création de l'UMR réside dans l'incertitude concernant la participation des sciences humaines, présentes à l'université de Polynésie française, aux thématiques définies lors des nombreuses réunions préparatoires. D'autres groupes de recherche de l'UPF (en mathématique, en informatique) doivent également se positionner vis-à-vis du projet en question. Un document de synthèse sera envoyé pour avis aux tutelles en juin 2010, Un dossier de création sera soumis à l'AERES en octobre 2010, et si l'évaluation réalisée en 2011 est favorable, une création pourrait être effective au 1<sup>er</sup> janvier 2012.

### Domestication

L'amélioration des productions d'algues devra être intensifiée avec la mise en place d'une démarche qualité sur cet aspect. Le transfert du système d'élevage larvaire en continu mis au point par le COP vers le service de la perliculture devrait être effectif l'an prochain. La

production de familles de nacres devra également être poursuivie, afin d'atteindre en 2010 l'objectif de 50 familles. Il convient de réfléchir dès à présent, au transfert partiel de ces familles vers le service de la perliculture, afin d'alléger la charge de travail zootechnique de l'équipe filière. Enfin, des travaux doivent être initiés pour améliorer nos connaissances sur le déterminisme du sexe chez cette espèce protandrique. Des résultats positifs sur l'obtention plus précoce de femelles permettraient de réduire considérablement la durée d'un programme de sélection basée sur l'héritabilité de la couleur, programme qui nécessite une participation effective et volontaire de la profession pour assurer sa réalisation.

### **Amélioration de la Qualité des Perles**

Les perspectives de recherche dans ce domaine sont intimement liées avec celles du GRD ADEQUA, avec une programmation sur quatre ans jusqu'en 2012. Les différentes actions du GDR décrivent bien les domaines dans lesquels sont attendus des résultats permettant de redonner à la perliculture de Polynésie une compétitivité sur les marchés internationaux. Connaître l'influence des facteurs externes sur la qualité de la perle, permet d'améliorer la conduite des élevages. Améliorer la qualité du nucleus est un facteur important de contrôle de la qualité des perles produites. L'analyse du processus de minéralisation, du choix du greffon à la minéralisation de la perle, a pour objectif d'identifier des biomarqueurs de qualité, objectif en bonne voie grâce à la thèse de Caroline Joubert. La couleur de la coquille et de la perle semble, d'après les premiers résultats, obéir à un facteur génétique permettant la sélection. Ce point mérite donc toute notre attention. Le programme de constitution de lots sélectionnés permettra d'exploiter, si elle est confirmée l'an prochain, l'héritabilité des critères de croissance et de couleur. Enfin le recensement des défauts des perles sera réalisé au cours des années 2010 et 2011.

### **Pisciculture**

Les résultats importants obtenus cette année, permettent de prévoir avec confiance les premiers transferts vers le secteur professionnel en 2010. Le Pays maintient une implication forte dans la filière, avec les débuts des travaux du Centre technique aquacole, qui se situe juste à côté de nos installations. Sur le plan scientifique, l'effort doit maintenant porter sur l'amélioration génétique et sur l'évaluation des rejets biologiques des animaux, grâce à une installation expérimentale dédiée.

### **Crevetticulture**

Dans le cadre de la collaboration SPE-Ifremer, nos efforts doivent porter en 2010 sur les points suivants :

- Gestion de la souche de reproducteur et obtention de la spécification « Pathogen-free » pour cette souche ;
- Poursuivre le programme d'expérimentation des élevages de crevettes en cages, en insistant notamment sur les problèmes de mortalité à la mue, et sur le choix de la qualité des aliments ;
- Apporter notre assistance technique au Service de la Pêche et aux professionnels, en assurant la formation des techniciens en aquaculture du futur CTA ;
- Assister le Pays à la mise place et au démarrage de deux écloséries sur le site de Vairao ;
- Participer à l'élaboration du projet prenant la suite de DEDUCTION, qui devra inclure les activités de recherche sur l'élevage de crevettes en cages et sur floc bactérien, menés en Polynésie française.

### **Energies marines renouvelables**

Les discussions actuelles avec l'Etat, le Pays et l'ADEME permettent d'espérer, en 2010, la signature d'une convention portant sur l'identification du potentiel hydrodynamique (courants de passes d'atolls) pour l'installation de prototypes d'éoliennes. Dans ce cadre, IFREMER devra réaliser les mesures de courants nécessaires sur l'atoll de Hao, à partir de l'année 2010.

### **Contaminants chimiques**

Ifremer est en discussion avec son partenaire le laboratoire LESE de l'IRSN, pour obtenir le financement et la réalisation d'une étude portant sur la méthodologie de mise en place d'un réseau de suivi des contaminants chimiques. En effet, dans les îles hautes, les diverses activités humaines, y compris l'agriculture peuvent générer des sources de pollution chimiques susceptibles de venir contaminer le lagon littoral. Le travail portera sur la qualification d'espèces de filtreurs (dont l'huître perlière), en tant que bio-accumulateurs permettant de concentrer les polluants en question. Des expériences de contamination-décontamination permettront de sélectionner le meilleur modèle biologique pour servir d'accumulateur, dans un futur réseau de surveillance de la qualité des eaux marines.

## Publications 2009

### ARTICLES DANS REVUE A COMITE DE LECTURE

**Cochennec-Laureau N., Montagnani C., Saulnier D., Fougerouse A., Levy P., and Lo C.,** (2009). A histological examination of grafting success in pearl oyster *Pinctada margaritifera* in French Polynesia (Accepté octobre 2009) *Aquatic Living Resources*.

**Jackson D.J., C. McDougall, B. Woodcroft, P. Moase, R.A. Rose, M. Kube, R. Reinhardt, D.S. Rokhsar, C. Montagnani, C. Joubert, D. Piquemal and M. Bernard** (2009). Degnan « *Parallel evolution of nacre building gene sets in molluscs* ». *Mol. Biol. Evol.*, Advance Access published on November 13, 2009; doi: doi:10.1093/molbev/msp278

**David R., C Tréguier, C Montagnani, C Belliard, P Levy, G Nédélec, V Joufoques, G Remoissenet, Y Gueguen and N Cochennec-Laureau** (2010) Molecular detection of betanodavirus from the farmed fish, *Platax orbicularis* (Forsska) (Ephippidae), in French Polynesia. *Journal of Fish Diseases*. doi:10.1111/j.1365-2761.2009.01136.x

**Suárez, J. A., Gaxiola, G., Mendoza, R., Cadavid, S., Garcia, G., Alanis, G., Suárez, A., Faillace, J. and Cuzon G.** (2009). Substitution of fish meal with plant protein sources and energy budget for white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture*, **299**: 116-129.

**Maldonado C, G. Cuzon, E. Guzmán, R. Brito, L. Soto, L. Arena and G. Gaxiola** (2009). Effect of an herbivorous diet on energy balance of *Litopenaeus vannamei* at selected ontogenetic stages. *Aquaculture*, **296** : 123-128.

**Galindo C., G. Gaxiola, G. Cuzon, X. Chiappa-Carrara** (2009). Physiological and biochemical variations during the molt cycle in juvenile *Litopenaeus vannamei* under laboratory conditions. *Journal of Crustacean Biology*, **29** (4) : 544-549.

**Sammouth S., E. Roque d'Orbcastel, E. Gasset, G. Lemarié, G. Breuil, G. Marino, S. Fivestald, J.L. Coeurdacier and J. P. Blancheton** (2009). Effect of density on sea bass (*Dicentrarchus labrax*) performance in a tank-based recirculating system. *Aquacultural Engineering Mar*; **40** (2) : 72-78.

### ARTICLES DANS REVUE SANS COMITE DE LECTURE

**Brehmer P., G. Sancho, E. Josse, M. Taquet, S. Georgakarakos, D. Itano, G. Moreno, P. Palud, V. Trygonis, R. Aumeeruddy, C. Girard, C. Peignon, J. Dalen and L. Dagorn** (2009). Monitoring fish communities at drifting FADS : an autonomous system for data collection in an ecosystems approach. *ICES ASC 2009, Theme session I*.

### COMMUNICATIONS POUR COLLOQUE OU GROUPE DE TRAVAIL

#### Présentations orales

**Buestel D, J.C. Cochard, C. Lo et M. Le Pennec** (2009). La perliculture polynésienne à la croisée des chemins. *Pacific Science Inter-congress, March 2-6, 2009, Tahiti*.



**Buestel D. et M. Taquet** (2009). Ifremer in French Polynesia. *Pacific Inter-Congress, March 2-6, 2009, Tahiti, French Polynesia.*

**Cochennec-Laureau N., C. Lo C et Y. Gueguen** (2009). Comité de pilotage de la deuxième réunion du GDR ADEQUA et organisation du GDR. *Réunion du comité de pilotage du GDR ADEQUA, 11 mars 2009, Tahiti.*

**Cochennec-Laureau N, C. Montagnani, Y. Gueguen, J.C. Cochard and C. Lo.** (2009). Collaborative network ADEQUA aiming to improve of pearl quality of *Pinctada margaritifera* in French Polynesia. *World Aquaculture Society, 25-27 septembre, Veracruz, Mexique.*

**Cochard J.C., M. Bellais, J.C. Herbinger, B. Hui, G. Le Moullac and C. Lo** (2009). The use of triploid in the production of Tahitian black pearls. *Pacific Science Inter-congress, March 2-6, 2009, Tahiti.*

**David R., N. Cochennec-Laureau, Y. Gueguen, M.E. Soupé, C. Belliard, P. Levy, E. Gasset, M. Maamaatuaiahutapu, G. Remoissenet and A. Van Cam** (2009). Biosecurisation and health program for a sustainable aquaculture of *Platax orbicularis* (Ephippididae finfishes) in French Polynesia. *Pacific Science Inter-congress, March , 2009, Tahiti.*

**Fournier J, C. Dupuis, M. Bouvy, L. Charpy, B. Durieux, G. Le Moullac and J.C. Cochard** (2009). Nutritional Behaviour of the Pearl Oyster *Pinctada margaritifera* in the Lagoon of Ahe (Tuamotu archipelago, French Polynesia). *Pacific Science Inter-congress, March, 2-6, 2009, Tahiti*

**Gasset E., G. Remoissenet, M. Maamaatuaiahutapu and D. Covès** (2009). Démarche de domestication d'une nouvelle espèce de poisson lagonaire (*Platax orbicularis*) en Polynésie française. Prise en compte des aspects de durabilité. *Présentation au 2<sup>ème</sup> séminaire «domestication aquacole», CIRAD, Montpellier, 25 et 26 novembre 2009.*

**Gaxiola G, G. Cuzon G, Ceccaldi** (2009). Digestive physiology. In Browdy G and Jory D editors. The rising tide : proceedings of the Special Session on sustainable shrimp farming. *World Aquaculture Society, Baton Rouge Louisiana USA ISBN: 978-1-888807-08-0.*

**Gueguen Y.** (2009). Présentation de la convention Ifremer-PRL 7.0007 « Optimisation de la greffe ». *Centre des Métiers de la Nacre et de la perliculture. Rangiroa, Polynésie française, 18 novembre 2009.*

**Gueguen Y.** (2009). Présentation de la convention Ifremer-PRL 7.0030 « Etude des propriétés des nuclei commercialisés en Polynésie française ». *Centre des Métiers de la Nacre et de la perliculture. Rangiroa, Polynésie française, 18 novembre 2009.*

**Joubert C., C. Montagnani, Y. Gueguen, M. Le Pennec, D. Piquemal and N. Cochennec-Laureau** (2009). Improvement of french polynesian pearls quality : transcriptomic SAGE approach for identification of biomineralization markers in *Pinctada margaritifera* oyster. *Pacific Science Inter-congress, March, , 2-6, 2009, Tahiti .*

**Joubert C.** (2009). Improvement of French Polynesian pearls quality : Global transcriptomic approach for identification of biomineralization markers in *Pinctada margaritifera*. *Conseil de groupement du GDR ADEQUA, mars 2009, Tahiti.*

**Joufoques V, E. Gasset et M. Maamaatuaiahutapu** (2009). Une nouvelle espèce en pisciculture marine tropicale : *Platax orbicularis*. Importance du contrôle de la reproduction.

Présentation aux 2èmes journées de la recherche filière piscicole. Paris le 1er et 2 juillet 2009. Diaporama 11p.

**Kamermans, P. Buck, B., Bodoy, A., Brenner, M., Cranford, P., Fraser, D., Krause, G.,** 2009. Report of the working group on marine shellfish culture (WGMASC); 7-9 April 2009, Bremerhaven, Germany, 85 p.

**Linard C.** (2009). Ecophysiologie de la Pintadine : croissance et qualité coquillière et perlière. *Conseil de groupement du GDR ADEQUA, mars 2009, Tahiti.*

**Linard C., J.C. Cochard, G. Le Moullac, J. Moriceau, B. Hui, M. Maihota and C. Soyez** (2009). Measurement of pearl oyster shell and pearl growth with calcein fluorochrome. *Pacific Science Inter-congress, March, 2-6, 2009.*

**Montagnani C.** (2009). Amélioration de la qualité de la perle de *Pinctada margaritifera*. *Centre des Métiers de la Nacre et de la perliculture, Rangiroa, Polynésie française, 18 novembre 2009.*

**Montagnani C., C. Belliard, C. Joubert, J. Le Grand, P. Levy, B. Marie et Y. Gueguen** (2009). Amélioration de la qualité des perles de *P. margaritifera* : comprendre les processus de formation et de biominéralisation des perles. *Conseil de groupement du GDR ADEQUA, mars 2009, Tahiti.*

**Thomas Y., P. Garen, A. Mazzella, A. Bennett et C. Courties** (2009). Variation spatio-temporelle du pico et du nano plancton dans le lagon de AHE. Résultats du suivi AHE : avril 2007 à mars 2008. Comparaison avec les résultats préliminaires de l'AP1. *Atelier FED, Papeete, Tahiti, 28 février 2009.*

**Thomas Y., P. Garen, A. Bennett et M. Le Pennec** (2009). Dispersion larvaire dans le lagon de AHE. Résultats du suivi *in situ* d'avril 2007 à mars 2008. *Atelier FED, Papeete, Tahiti, 28 février 2009.*

### Posters

**Gasset E., D. Covès et J. Goguenheim** (2009). Contribution de l'Ifremer à un développement durable de l'aquaculture en Polynésie française. *11ème Inter-congrès des Sciences du Pacifique et 2èmes Assises de la Recherche française dans le Pacifique, du 02 au 06 mars 2009, à Tahiti - Polynésie française.*

**Gasset E., D. Covès, R. David, G. Remoissenet, J. Goguenheim et M. Maamaatuaiahutapu** (2009). Développement durable de l'aquaculture lagonaire et biodiversité. *11ème Inter-congrès des Sciences du Pacifique et 2èmes Assises de la Recherche française dans le Pacifique, du 02 au 06 mars 2009, à Tahiti - Polynésie française.* **Montagnani C., C. Joubert, C. Belliard, P. Levy, M.E. Soupe, J. Legrand, C. Tréguier, N. Cochennec-Laureau and Y. Gueguen** (2009). Improvement of the pearl quality produced by the oyster *Pinctada margaritifera* in French Polynesia : characterization of cellular and molecular processes from the grafting to the pearl formation. *Pacific Science Inter-congress, March, 2-6, 2009, Tahiti.*

**Hui B., M. Demoy-Schneider, G. Le Moullac, J. Moriceau, V. Vonau, J.C. Cochard and M. Le Pennec** (2009). Gamete cryopreservation, an asset for a durable perliculture in French Polynesia. *Pacific Science Inter-congress, 2-6 Mars 2009, Tahiti.*

**Le Moullac G., C. Soyez, M. Sham-Koua and J.C. Cochard** (2009). Assessment of nutritional requirements of the oyster *Pinctada margaritifera* according to the temperature. *Pacific Science Inter-congress, March, 2-6, 2009, Tahiti.*

**Le Moullac G., B. Hui, V. Vonau, P. Levy and J.C. Cochard** (2009). Impact of food conditioning on gonadic activity in the oyster *Pinctada margaritifera*. *Pacific Science Inter-congress, March, 2-6, 2009, Tahiti.*

**Montagnani C., C. Belliard, B. Marie, F. Marin, C. Joubert, D. Piquemal and N. Cochennec-Laureau** (2009). Functional characterization of biomineralization markers to understand shell and pearl formation in the pearl oyster *Pinctada margaritifera* from French Polynesia. *Pacific Science Inter-congress, March, 2-6, 2009, Tahiti.*

**Thomas Y, P. Garen, A. Mazzella, A. Bennett, C. Courties** (2009). Ecology of the pearl oyster (*Pinctada margaritifera*) larvae in a French Polynesian atoll lagoon (Ahe): I. Spatio-temporal variability of the trophic resources. *Pacific Science Inter-congress, March, 2-6, 2009, Tahiti.*

**Thomas Y., P. Garen, E. Levesque, A. Bennett and M. Le Pennec** (2009). Ecology of the pearl oyster (*Pinctada margaritifera*) larvae in a French Polynesian atoll lagoon (Ahe, French Polynesia) : II. dispersal and recruitment. *Pacific Science Inter-congress, March, 2-6, 2009, Tahiti.*

**Thomas Y., S. Pouvreau and P. Garen** (2009) Application of a DEB model to the pearl oyster (*Pinctada margaritifera*) larvae. *DEB Symposium, Brest, avril 2009.*

**Schmitt N., F. Marin, N. Cochennec-Laureau, M. Demoy-Schneider and M. Le Pennec** (2009). Comparison of nuclei proteins pattern extracted from *Amblema* spp and *Pinctada* spp. *Pacific Science Inter-congress, March, 2-6, 2009, Tahiti.*

**David R, N. Cochennec-Laureau, Y. Gueguen, M.E. Soupé, C. Belliard, P. Levy, E. Gasset, M. Maamaatuaiahutapu, A. Van Cam et G. Remoissenet** (2009). Techniques of diagnosis in fish pathology *Pacific Science Inter-congress, March, 2-6, 2009, Tahiti.*

## ARTICLES DE VULGARISATION

**Cochennec-Laureau N. et C. Tréguier** (2009). L'opération de greffe décryptée. *Te Reko Parau n°20*, 13-14.

**Cochennec-Laureau N. et C. Montagnani** (2009). Comprendre les défauts des perles pour améliorer leur qualité. *Te Reko Parau n°20*, 15-17.

**Cochennec-Laureau N., A. Fougerouse, et H. Bichet** (2009). Réseau de veille sanitaire. *Te Reko Parau n°20*, 30-33.

**Anonyme** (2009). Dossier Energies Renouvelables - Interview de l'Ifremer dans le n°2 de la revue *Pacifique Business de juillet 2009.*

**Thomas Y.,**(2009). Pérenniser la perliculture par l'optimisation des stratégies de captage. *Te Reko Parau n° 20*, 28-29.

**Dagorn L. et M. Taquet** (2009). Poissons sur écoute. *Les dossiers de la Recherche, août 2009, porte folio.*

## RAPPORT FINAUX DE CONTRAT (CEE, FAO, CONVENTION)

Perliculture Durable en Polynésie française (2009). *Rapport Final, programme intégré Etat-Polynésie française PERDUR*, 133p.

**Gueguen Y., C. Montagnani, C. Tréguier, M.E. Soupé, C. Belliard, J. Le Grand, F. Riquet, P. Levy, J.C. Cochard, N. Cochenec-Laureau** (2009). Optimisation de la greffe - Phase II. Mai 2009. ). *Rapport final de la convention n° 7.0007- MP/PRL Entre le Service de la Perliculture et l'Ifremer Tahiti (complément du rapport fourni en Novembre 2008)*.

**Gueguen Y., C. Montagnani C., J. Le Grand, C. Belliard, P. Levy, N. Cochenec-Laureau et M.E. Soupé** (2009). Etude des propriétés de nuclei commercialisés en Polynésie française (Phase II). *Rapport final de la convention N° 7.0030- MP/PRL entre le Service de la Perliculture et l'Ifremer Tahiti*.

**Knockaert C., J. Cornet, M. Cardinal, E. Gasset, M. Maamaatuaiahutapu et D. Coves** (2009). Caractérisation de la qualité du *Platax orbicularis* issu d'aquaculture. Transformation - Composition chimique - Caractérisation sensorielle. *Rapport final de convention Ifremer/SPE N° 7.0017/MPA/SPE*.

**Knockaert C.** (2009). Définition d'un protocole d'abattage et de conditionnement du Paraha peue *Platax orbicularis* d'élevage. *Rapport intermédiaire de la convention 8.0033 Ifremer/SPE*.

**Goguenheim J., G. Remoissenet, G. Cuzon, R. Bernardino, L. Vehiatua, S. Flohr, T. Blais, R. Boudet et A. Bigot.** Assistance Technique et au Développement Durable de la filière crevettes en Polynésie Française. *Rapport final de la Convention n°7.0023 du 23 mai 2007, rédigé par l'Ifremer et le Service de la Pêche*.

## AUTRES TYPES DE RAPPORTS

**Gasset E., V. Joufoques , R. David , M. Maamaatuaiahutapu, A. Teissier, T. Tamata et S. Dupieux** (2009). Premiers résultats de sex-ratio, puberté et dimorphisme sexuel chez le Paraha peue (*Platax orbicularis*) en élevage. Compte-rendu d'expérience, *convention Ifremer/SPE n° 8.0020*.

**Gasset E., V. Joufoques, C. Fauvel, D. Covès, et J.C. Falguière** (2009). Mise au point de la fécondation artificielle chez le Paraha peue *Platax orbicularis* en Polynésie française. *Projet d'étude inter DOM/COM Martinique /Tahiti*.

**Gasset E., V. Joufoques , R. David , M. Maamaatuaiahutapu, A. Teissier, T. Tamata et S. Dupieux** (2009). La production, l'enrichissement et la gestion de l'alimentation de rotifères (*Brachionus plicatilis*) pour l'élevage larvaire du *Paraha peue*. Compte-rendu d'expérience, *convention Ifremer/SPE n° 8.0020*.

**Gasset E., V. Joufoques , R. David , M. Maamaatuaiahutapu, A. Teissier, T. Tamata, S. Dupieux** (2009). Effet de la séquence alimentaire sur la survie, la croissance et l'hétérogénéité de *Platax orbicularis* en élevage larvaire. Compte-rendu d'expérience, *convention Ifremer/SPE n° 8.0020*

## MEMOIRES D'ETUDIANTS (INA-PG, DEA, ISPA, IUT, MAITRISE, INGENIEURS)

**Cartier M.** (2009). Aspects techniques et économiques de la perliculture en Polynésie Française. Contribution à l'étude de la reproduction de l'huître perlière *Pinctada margaritifera*. ISTOM-Cergy-Pontoise.

**Couraudon-Reale M.** (2009). Filtration et assimilation de la matière organique et du microplancton par l'huître perlière sur l'atoll de Ahe. *L3 Sc. Vie, Université de la Rochelle*.

**Fernandez-Ortega E.** (2009). Sélection des gènes impliqués dans les mécanismes de biominéralisation chez *Pinctada margaritifera* & mise au point de leur validation par qRT-PCR. MASTER BGAE Spécialité : *Bioressources Aquatiques en Environnement Méditerranéen et Tropical, Université Montpellier 2*.

**Lefort M.** (2009). Analyse de la croissance de l'huître *Pinctada margaritifera*. *Master 1, Université de Anglet*.

**Raoux A.** (2009). Relation entre l'environnement et la croissance coquillière de *Pinctada margaritifera* : approche descriptive et expérimentale. *Master I Océanographie, Biologie et Ecologie Marine. Centre d'océanologie de Marseille - Université de la Méditerranée*.

**Vignot J.** (2009). La viabilité des spermatozoïdes de l'huître *Pinctada margaritifera*. *Institut Universitaire de Technologie de St Brieuc, «Biologie appliquée option Analyses biologiques», Université de Rennes*.

**Petit A.** (2009) Contribution aux recherches sur l'huître perlière: essai d'un engrais horticoles sur la croissance des microalgues. *L3, S V T, Université de Polynésie française*.

**Thullier L.** (2009). Optimisation de l'incubation du Paraha Peue (*Platax orbicularis*). *Rapport de stage DESTA, CNAM*.

## INDICATEURS DE PRODUCTION 2009

<b>Fiche n°4</b>	Articles destinés au grand public	
<b>Fiche n°36</b>	Autres publications et rapports à diffusion restreinte (rapports de convention et de recherche)	13
<b>Fiche n°10</b>	Communications scientifiques et technologiques en réunions professionnelles	20
<b>Fiche n°</b>	Thèses et HDR de personnels de l'Ifremer de l'année écoulée	4
<b>Fiche n°12</b>	Nombre d'avis et expertises ayant donné lieu à un document écrit	2
<b>Fiche n°35</b>	Nombre de doctorants accueillis dans des locaux de l'Ifremer et dans les UMR contractualisées pour des périodes supérieures à trois mois	4
<b>Fiche n°37</b>	Nombre de post-doctorants accueillis dans les mêmes conditions	0
<b>Fiche n°38</b>	Nombre de docteurs d'Etat et de personnels HDR dans les effectifs CDI de l'Ifremer	3
<b>Fiche n°39</b>	Nombre de personnels ayant donné des cours	4
<b>Fiche n°40</b>	Nombre d'heures de cours	
<b>Fiche n°41</b>	Nombre de stagiaires pour une durée supérieure à 5 jours bac à bac+2	2
<b>Fiche n°42</b>	Nombre de stagiaires pour une durée supérieure à 5 jours bac à bac+3 et plus	7
<b>Fiche n°43</b>	Nombre de missions de chercheurs de l'Ifremer à l'étranger	3
<b>Fiche n°44</b>	Séjours de plus de 2 mois de chercheurs étrangers dans des laboratoires IFREMER	
<b>Fiche n°47</b>	Nombre de visites de délégations étrangères	7