

## L'EMISSION DES GAMETES CHEZ L'HUITRE PORTUGAISE (*CRASSOSTREA ANGULATA* LMK)

par Edouard HIS

LE DANTEC (1968) dans son travail sur l'écologie et la reproduction de l'huître portugaise dans le bassin d'Arcachon, relate quelques expériences de stimulation thermique de l'émission des produits génitaux. Il les a faites pour confirmer ses observations *in situ*, les variations de température étant vraisemblablement le facteur de stimulation externe le plus courant dans la nature.

Par contre l'acte d'émission des gamètes mâles ou femelles chez *Crassostrea angulata* n'a été l'objet, à notre connaissance, d'aucune étude particulière. D'une façon générale les auteurs semblent admettre que l'on peut étendre à toute l'espèce *Crassostrea* SACCO les résultats obtenus sur *C. virginica*, *C. gigas* et *C. commercialis*, essentiellement par les chercheurs américains et japonais.

Nous avons voulu le vérifier sur l'huître portugaise. D'autre part, les études de sex-ratio et de changement de sexe chez les lamellibranches hermaphrodites alternants doivent comporter des observations individuelles sur les gamètes et sur leur rythme d'émission (LUBET, 1959).

Or le prélèvement de produits sexuels par biopsie, accompagné de lésions de la valve supérieure de la coquille et du manteau, a pour effet d'entraîner des perturbations dans l'évolution ultérieure des sexes chez les sujets remis dans leur habitat naturel (GALTSOFF, 1964) ; la reconnaissance de l'état mâle ou de l'état femelle devra donc s'appuyer de préférence sur l'observation de produits sexuels émis par les huîtres.

Quant au rythme des émissions, il pourra être connu avec précision par l'observation des tracés obtenus au cours de l'enregistrement de l'activité valvaire. En effet des pontes de faible durée sont facilement repérables sur les myogrammes obtenus alors qu'elles peuvent échapper à l'attention si la quantité d'œufs émis est très faible.

A la lumière des résultats expérimentaux obtenus par GALTSOFF chez *C. virginica*, nous avons cherché à déclencher l'émission des produits sexuels chez *C. angulata* afin d'observer les phénomènes de ponte et d'éjaculation et d'enregistrer l'activité valvaire des huîtres au cours de l'acte sexuel.

### Quelques rappels anatomiques.

Une brève description du tractus génital chez l'huître facilitera la compréhension de l'expulsion du produit sexuel.

Les glandes génitales paires sont formées de nombreux acinis plus ou moins anastomosés, dont les courts canaux se relient pour constituer les conduits plus importants ; ceux-ci s'unissent en un gonoducte de chaque côté du corps. Les deux gonoductes débouchent dans le conduit uro-génital. Celui-ci se déverse dans la cavité suprabranchiale au voisinage de la partie antérieure du muscle adducteur. Canaux génitaux et gonoducte possèdent un épithélium cilié ; le conduit uro-génital présente de nombreuses cellules à mucus. A l'exception de fibres musculaires isolées situées dans le tissu conjonctif de la gonade et plus nombreuses chez le mâle dans la paroi du spermiducte, il n'existe aucun appareil musculaire susceptible de jouer un rôle important dans la ponte ou l'éjaculation. Soulignons l'absence d'organe sexuel accessoire.

Chez l'huître portugaise mûre la glande génitale apparaît comme une masse blanchâtre ramifiée

enveloppant comme une selle toute la masse viscérale. La simple observation macroscopique de la gonade permet d'apprécier son degré de maturité. Nous emprunterons à LE DANTEC une partie de son échelle des stades de développement de la glande génitale ; la ponte ou l'éjaculation ne se produisant qu'entre les stades 3H et 4 ou 4 et 5 ;

*stade 3H* : état maximum de réplétion de la gonade ; elle est hypertrophiée ; une épaisse couche blanc crème enveloppe la masse viscérale ; les gamètes sont très abondants et obtenus par pression légère ;

*stade 4* : régression du volume de la gonade ; la glande digestive est visible dans la partie antérieure notamment ; les gamètes sont moins abondants ; ce stade correspond ou à une déplétion partielle de la gonade ou à un stade de restauration entre deux émissions successives ;

*stade 5* : déplétion presque complète ; animal d'apparence « maigre » bien que l'on distingue encore quelques follicules.

Cette appréciation purement macroscopique nous suffit pour reconnaître les sujets réfractaires aux différentes stimulations.

#### **Dispositif expérimental et protocole des expériences.**

Les huîtres sont fixées sur un support par du ciment à prise rapide et leur valve supérieure est reliée par un fil de nylon à un levier inscripteur à encre. On les place après prélèvement au parc, soit dans un aquarium de verre de 30 litres chauffé par une résistance électrique thermostatée soit dans un bain-marie de même contenance. La salinité est comprise entre 28 et 30 p. mille et la température constante au 1/2 degré près. Pendant la durée des expériences l'oxygénation de l'eau de mer est maintenue à un niveau élevé au moyen d'un aérateur compresseur.

Une première série d'essais a été réalisée en maintenant les sujets en expérience pendant 6 heures consécutives et en contrôlant leur activité valvaire par des cylindres à révolution lente (22 mm par heure). L'emploi de ce dispositif simple et peu encombrant peut permettre de contrôler le comportement des sujets pendant plusieurs heures et même plusieurs jours (His, 1969).

Nous nous en sommes tenu à l'étude d'une population d'huîtres de « pignots » âgées de 3 ans, provenant des zones les plus océaniques du bassin d'Arcachon (Cap-Ferret). Ces huîtres sont en effet les plus précoces de notre région : elles atteignent avant les autres le stade instable au cours duquel la réceptivité à la stimulation est à son maximum (LE DANTEC). Les sujets ont été soumis à une double stimulation :

choc thermique par passage de la température de l'eau de mer (19 à 22°) à la température de 32° ;

stimulation chimique par des suspensions de produits sexuels d'individus mûrs.

Dans ce cas, les effets des deux excitations se renforcent et l'on obtient le maximum de chances de succès. Les sujets qui, après ouverture et selon l'aspect macroscopique de la gonade sont susceptibles d'expulser leurs gamètes et n'ont pas réagi sont considérés comme réfractaires.

Dans une seconde série d'essais les huîtres étaient maintenues en expérience pendant deux heures et leur activité valvaire contrôlée par enregistrement à l'aide de cylindres à révolution rapide. Nous avons utilisé des sujets d'âge variable et de provenances diverses recueillis pendant la saison de reproduction dans le bassin d'Arcachon : juillet à septembre inclus. Nous avons obtenu des myogrammes plus précis que précédemment, se prêtant à l'analyse.

Précisons enfin que nous avons observé les huîtres pendant toute la durée de l'expérience afin de détecter les émissions même faibles de produits génitaux. Enregistrements et observations directes font que les pontes ou les éjaculations n'ont pu échapper à notre attention.

#### **Résultats obtenus.**

Entre le premier juin et le 7 juillet 1969, 50 huîtres de « pignots » ont été soumises pendant 6 heures à la double stimulation thermique et chimique. Malgré l'état avancé de réplétion de la gonade aucun sujet n'a réagi ; nous avons noté après ouverture 26 femelles dont 24 au stade 3H et 24 mâles dont 23 au stade 3H. Les autres individus des deux sexes n'avaient pas encore atteint ce stade de maturité. L'observation des produits sexuels des individus mûrs par frottis au microscope

permettait d'observer soit des ovules piriformes de grande taille nettement isolés les uns des autres, soit des spermatozoïdes très mobiles ; les deux étaient émis par l'orifice uro-génital à la moindre pression sur la gonade. Toutefois les huîtres n'avaient pas encore atteint la phase instable ou « phase excitable » pendant laquelle toute variation brusque des conditions externes déclenche ponte ou éjaculation (LUBET, 1959). Ceci semble renforcer l'opinion de LE DANTEC pour les huîtres portugaises du bassin d'Arcachon. Cet auteur en effet a souligné l'importance des conditions de milieu pendant les mois qui précèdent la maturité (janvier à mai) ; les conditions défavorables de milieu au printemps de l'année 1969 dans notre région ont retardé la période de la première ponte.

Du 5 au 9 juillet nous avons pu déclencher les premières émissions. Sur 16 femelles soumises à la double stimulation thermique et chimique pendant 6 heures, 2 seulement au stade 3H ont été réfractaires (12,5 %). Toutes les huîtres qui avaient réagi se trouvaient en fin d'expérience au stade 4. Les pontes ont duré de 6 à 106 minutes ; les périodes de latence (temps écoulé entre l'application de la double stimulation et la réponse) ont varié de 12 à 90 minutes. Parmi les *Crassostrea angulata* non réfractaires, 2 individus, si l'on considère la faible importance de leur ponte (6 à 12 minutes) et l'état de déplétion de la gonade à l'ouverture (stade 4), venaient, semble-t-il, d'émettre leurs produits dans le milieu naturel avant leur prélèvement. Dans tous les cas positifs nous avons pu observer des œufs en cours de segmentation ; prélevés et conservés en eau de mer aérée à la température de 25°, ils donnaient naissance à des larves véligères nageant de façon très active. Au-delà de 72 heures de conservation ces dernières étaient détruites par les bactéries et protozoaires ciliés qui proliféraient dans le milieu.

Nous rapporterons enfin le résultat assez surprenant obtenu sur une huître de même provenance que les précédentes et maintenue depuis plusieurs jours à la salinité de 11,7 ‰ et à la température de 21°. L'observation du myogramme obtenu par enregistrement de son activité valvaire permettait d'observer un changement marqué du tonus musculaire qui annonçait vraisemblablement une ponte. Après stimulation par une suspension de sperme l'huître a réagi par l'émission de gamètes femelles. La ponte a duré 74 minutes et a permis d'obtenir un enregistrement identique aux précédents. Nous avons pu observer des œufs fécondés et les premiers stades de segmentation, mais au bout de 12 heures les cellules en division n'ont pas été retrouvées. L'huître ayant été maintenue dans le bac où se déroulaient les phénomènes de segmentation, on peut supposer que les œufs en division ont été déposés avec les pseudo-fèces, à moins que la métamorphose complète ne puisse se dérouler normalement à cette salinité. Il sera intéressant de déterminer dans quelles limites de salinité, aux températures d'été, se produisent les réactions de ponte, de fécondation et de segmentation des œufs aboutissant au stade véligère.

Enfin pendant la même période du 5 au 9 juillet, l'éjaculation a été observée chez 7 mâles soumis à la double stimulation (100 % d'excitabilité). La durée des émissions a varié de 7 à 91 minutes, mais dans la plupart des cas le phénomène présentait de nombreuses interruptions. Après ouverture et examen de la gonade, tous les sujets se trouvaient au stade 4 à l'exception de l'individu qui n'avait éjaculé que pendant 7 minutes (stade 3H).

#### **Emission des produits sexuels femelles.**

GALTSOFF a montré chez *Crassostrea virginica* que la ponte comprend 3 phases distinctes : évacuation des œufs de l'ovaire, contraction du muscle adducteur et ouverture du manteau. On peut aisément observer les deux derniers phénomènes en plaçant les sujets en expérience contre l'une des parois d'un aquarium de verre. Nous avons utilisé ici des *Crassostrea angulata* provenant de zones diverses du bassin d'Arcachon au cours de l'été 1969. En effet les huîtres des différentes stations ne parviennent que rarement ensemble à maturité (LE DANTEC). Nous avons donc des chances de rencontrer des sujets dans leur phase instable pendant la durée de nos essais. Nous avons pu observer la ponte de 10 huîtres portugaises supplémentaires et enregistrer leur activité valvaire soit après la double stimulation (5 sujets), soit par action d'une suspension de sperme (4 sujets).

Les enregistrements ont été réalisés avec des cylindres à révolution lente (fig. 1, contrôle de l'activité valvaire pendant plusieurs heures) et avec des cylindres à révolution rapide (fig. 2, analyse précise des myogrammes au cours de la ponte).

La ponte s'annonce généralement par un relâchement inhabituel du muscle adducteur ; on note un « bâillement » marqué de l'huître (fig. 1).

On peut alors observer le comportement particulier du manteau. Chez l'huître qui filtre normalement, les tentacules marginaux de ses deux lobes occupent des positions sensiblement parallèles aux bordures des valves ; ils prennent ici une position perpendiculaire par rapport à la précédente et obstruent la cavité palléale ; ils ménagent toutefois une petite fenêtre ovale située dans la région oppo-

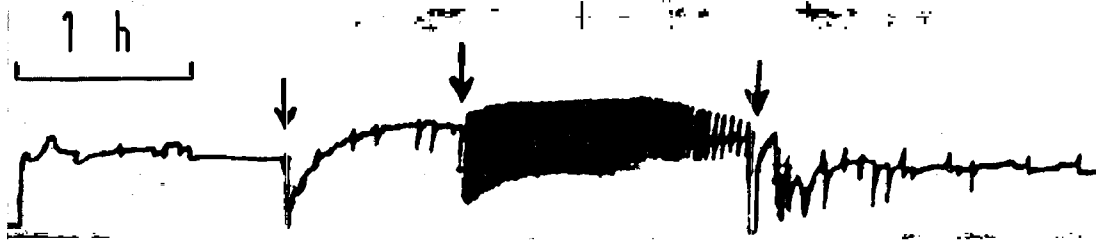


FIG. 1. — Aspect général de l'activité valvaire chez *C. angulata* au cours d'une ponte déclenchée par une suspension de sperme. La faible vitesse de déroulement permet de contrôler l'activité valvaire pendant plusieurs jours. Température 21°, salinité 28 ‰ ; déroulement de gauche à droite ; la position supérieure de la courbe correspond à la position ouverte des valves. Après une période de fermeture d'environ 1 heure, l'huître s'est ouverte normalement. La première stimulation (flèche), après une réaction de fermeture brutale, est suivie d'une ouverture avec changement marqué et progressif du tonus musculaire annonçant la ponte. La seconde stimulation est immédiatement suivie de l'émission des œufs. La partie sombre de la courbe est due aux battements valvaires : de par leur fréquence et de par la faible vitesse de déroulement, ils sont confondus. L'émission a été abondante et a duré plus d'une heure. On remarque en fin de réaction un ralentissement progressif des battements valvaires. L'huître s'étant vidée (stade 4) une nouvelle stimulation ne redéclenche pas le phénomène. Il y a enfin retour au niveau habituel du tonus musculaire caractéristique de l'huître qui filtre normalement.

sée à la charnière en position légèrement antérieure. Pendant ce temps le muscle adducteur présente une activité inhabituelle qui se traduit par des mouvements alternatifs de fermeture et d'ouverture des valves. L'abaissement brutal de la valve droite s'accompagne de l'expulsion d'un nuage d'œufs qui sont projetés à plusieurs centimètres de l'huître femelle. La valve operculaire se soulève lentement à nouveau en marquant un léger palier, avant d'occuper la même position baïllante. Son abaissement soudain accompagne l'émission d'un nouveau nuage de gamètes. Le phénomène peut se reproduire avec une régularité remarquable pendant plus d'une heure ; puis les contractions, rapides au début, voient leur rythme diminuer et le phénomène s'estompe. Sa fin peut même passer inaperçue sur les enregistrements.

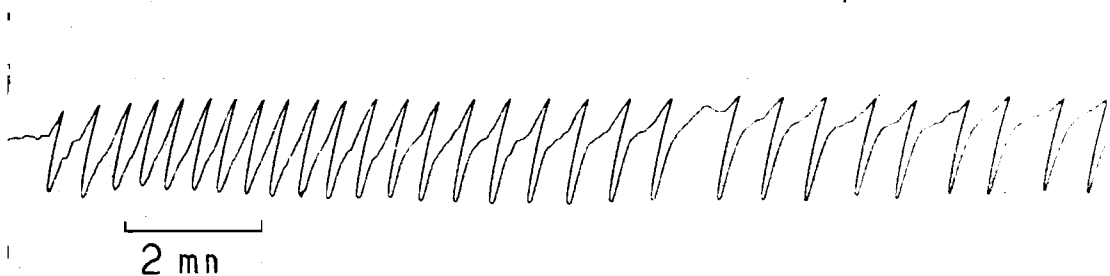


FIG. 2. — Partie d'un myogramme obtenu au cours d'une ponte par l'utilisation d'un cylindre à révolution rapide. Ceci permet l'interprétation fine de l'acte de ponte. Remarquer l'uniformité de l'amplitude de relâchement, la rythmicité et la régularité des battements et le léger ralentissement en fin de réaction. Noter le palier de chaque phase ascendante. Ponte obtenue par stimulation thermique chez *Crassostrea angulata*. La position supérieure de la courbe correspond à la position ouverte des valves.

Le myogramme de la figure 2 est très voisin de ceux obtenus par GALTISOFF pendant la ponte de *Crassostrea virginica*, *C. gigas* et *C. commercialis*. La même interprétation peut en être donnée :

Lorsque les œufs pénètrent dans la cavité épibranchiale les deux bords du manteau viennent se rejoindre ; ils ménagent une fenêtre ovale et isolent partiellement la cavité palléale du milieu extérieur. Le cheminement des ovules le long des tractus génitaux est dû à la seule activité ciliaire de

l'épithélium qui les borde ; puis les gamètes femelles pénètrent dans les tubes aquifères des branchies, qu'ils traversent par les ostia pour se déverser dans la cavité palléale. Le passage des œufs au travers des branchies se produit lorsque le muscle adducteur a atteint environ la moitié de son relâchement maximal ; ce dernier se ralentit un moment, ce qui se traduit sur le myogramme par le palier de la phase ascendante. Le déversement des produits au travers des ostia et leur passage dans la cavité palléale correspond à l'amplitude maximale d'ouverture des valves. La contraction brutale du muscle et l'abaissement violent de la valve droite produisent la projection des produits sexuels sous forme d'un jet canalisé par l'étroite fenêtre ménagée par les tentacules du manteau.

Les mouvements valvaires observés au cours de la ponte ne peuvent être confondus avec aucun autre. L'uniformité et l'amplitude de relâchement du muscle, la régularité des contractions surtout en début de réaction, la présence d'un palier au milieu de la phase de relâchement, les caractérisent nettement.

Notons enfin que nous avons voulu vérifier les possibilités d'excitation de la femelle de l'huître portugaise par le sperme de *C. gigas* ; en effet cette dernière stimule l'émission des produits génitaux chez *C. virginica*. Les essais ont été fructueux. De plus nous avons pu observer dès les premières heures la segmentation des œufs fécondés aboutissant comme précédemment à la formation de larves véligères.

### Emission des produits sexuels mâles.

Si les individus mâles sont plus sensibles à la stimulation thermique ou chimique, les manifestations de l'émission, par contre, sont beaucoup plus discrètes ; les courbes obtenues par enregistrement de l'activité valvaire ne permettent pas de détecter à coup sûr l'évacuation du sperme (fig. 3A et B).

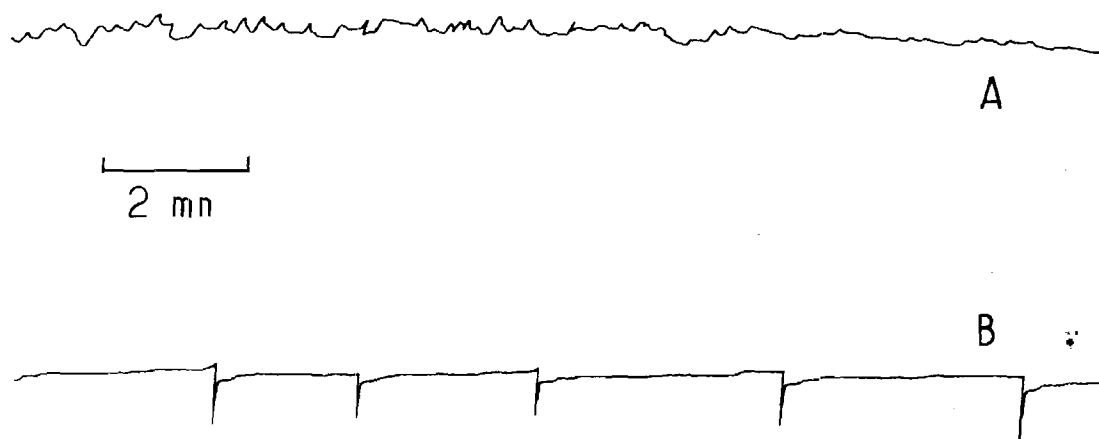


FIG. 3. — Différents aspects de l'activité valvaire chez deux *Crassostrea angulata* au cours de l'éjaculation. Les deux valves étaient largement ouvertes.

L'éjaculation chez *C. virginica* est provoquée par de nombreuses substances chimiques : sperme, suspension d'œufs ou « egg water » - c'est-à-dire eau de mer ayant contenu des ovules mûrs, et dont ceux-ci ont été éliminés par filtration ou par centrifugation -, extraits d'algues, thyroïdine, etc. Nous nous sommes limité à l'utilisation de suspensions de produits génitaux de *C. angulata* et au cours d'une expérience positive d'une suspension de gamètes de *C. gigas*. La réponse des sujets a été variable dans son ampleur : l'évacuation du sperme peut durer quelques dixièmes de secondes puis s'arrêter pour reprendre à chaque nouvelle stimulation ; elle peut aussi se poursuivre sans interruption marquée pendant plus d'une heure et dans ce cas l'eau du bac ou du bain-marie prend un aspect laiteux caractéristique. L'émission des spermatozoïdes ne fait intervenir ni le manteau ni le muscle adducteur ; les produits sexuels, cheminant par activité ciliaire de l'épithélium qui borde les conduits génitaux, sont déversés par le tractus uro-génital dans le cloaque d'où ils sont entraînés par le courant cloacal. Pendant ce temps, et comme chez *Crassostrea virginica*, l'activité musculaire de l'huître est très variable. Nous avons pu observer des éjaculations pendant lesquelles la valve supérieure,

nettement bâillante, restait pratiquement immobile. Dans d'autres cas nous remarquons des contractions plus ou moins importantes du muscle adducteur sans qu'il y ait de relation avec le déversement des spermatozoïdes (fig. 3 A et B).

### Conclusions.

Les manifestations des phénomènes d'émission des oocytes et des spermatozoïdes chez *Crassostrea angulata* LMK sont identiques à celles décrites par les auteurs américains pour *C. virginica*.

Chez l'huître portugaise nous avons pu déclencher l'émission des produits sexuels soit par stimulation thermique ou chimique (suspension de gamètes de *C. angulata* ou *C. gigas*), soit par action des deux facteurs conjugués. Les individus mâles semblent plus facilement excitables (100 % d'excitabilité sur une population donnée contre 87,5 % de femelles). Les réactions de ponte peuvent être obtenues à une salinité aussi basse que 11,7 ‰. Nous nous proposons dans des expériences ultérieures de faire varier les salinités dans nos bacs d'essai et de vérifier les possibilités d'émission et de fécondation.

L'émission des produits sexuels résultant d'une stimulation provoquée est préférable aux prélèvements par biopsie pour les expériences de fécondation artificielle et d'élevage de larves d'huîtres. Elle élimine les causes d'erreurs sur l'estimation du degré de maturité des produits sexuels.

Les manifestations de l'éjaculation sont peu apparentes ; elles ne s'accompagnent d'aucune activité particulière du manteau ou du muscle adducteur et sont difficilement décelables par observation des enregistrements de l'activité valvaire des huîtres.

Par contre, les réactions de ponte sont caractéristiques et permettent par enregistrement de repérer même les émissions de très faible durée. Leur déroulement correspond à un mécanisme efficace de dispersion des œufs dans le milieu (GALTSOFF). La densité des œufs est en effet supérieure à celle de l'eau de mer et leur émission sous forme de jet à plusieurs centimètres de l'huître femelle augmente la durée de maintien en suspension ; par suite les chances de fécondation sont plus grandes ce qui favorise la survie de l'espèce chez cet organisme sédentaire dépourvu d'organe sexuel accessoire.

### BIBLIOGRAPHIE

- GALTSOFF (P.-S.), 1938 a. — Physiology of reproduction of *Ostrea virginica*. I Spawning reactions of the female and male. — *Biol. Bull.*, **74** (3) : 461-486.
- 1938 b. — Physiology of reproduction of *Ostrea virginica*. II Stimulation of spawning in the female oyster. — *Ibid.*, **75** : 286-307.
- 1940. — Physiology of reproduction of *Ostrea virginica*. III Stimulation of spawning in the male oyster. — *Ibid.*, **78** : 117-135.
- 1961. — Physiology of reproduction in Molluscs. — *Americ. Zoologist.*, **1** : 273-289.
- 1964. — The American oyster *Crassostrea virginica* GMELIN. — *U.S. Fish. Wildl. Serv. Fish. Bull.*, **64** : 480 p.
- GRASSÉ (P.), 1960. — *Traité de Zoologie, Anatomie, Systématique, Biologie*, **5** (2). — Paris, MASSON et Cie Edit.
- HIS (E.), 1969. — Un dispositif simple permettant d'étudier le comportement des huîtres. Exemple d'application : comportement de *Crassostrea angulata* LMK aux basses salinités. — *Cons. int. Explor. Mer, Com. Moll. et Crust.*, ronéo n° K 11.
- LE DANTEC (J.), 1968. — Ecologie et reproduction de l'huître portugaise (*Crassostrea angulata* LMK) dans le bassin d'Arcachon et sur la rive gauche de la Gironde. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **32** (3) : 241-361 (thèse Fac. Sci. Bordeaux, 5 juillet 1967, n° 51).
- LUBET (P.), 1951. — Sur les modalités de l'éjaculation et de la ponte chez *Chlamys varia* L. (Moll. lamellibr.). — *C.R. Acad. Sci.*, Paris, **236** : 1680-1681.
- 1959. — Recherches sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les Mytilidés et les Pectinidés (Mollusques bivalves). — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **23** (4) : 389-548.